

## UJI EFEK EKSTRAK DAN FRAKSINASI DAUN SALUNG (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D

Eka Maya Cristiandari

Akademi Kebidanan Persada Palembang, Indonesia

E-mail: [ekamaya\\_c@yahoo.com](mailto:ekamaya_c@yahoo.com)

Diterima : 25 Juni 2018

Direvisi : 05 Juli 2018

Disetujui : 05 Agustus 2018

### ABSTRAK

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian yang utama dengan jumlah penderita yang terus bertambah setiap tahunnya. Proses timbulnya kanker payudara merupakan kejadian kompleks yang melibatkan berbagai faktor. Selain adanya defek pada gen BRCA1 dan BRCA2, masih banyak kelainan yang pada prinsipnya meningkatkan aktivitas proliferasi sel serta kelainan yang menurunkan atau menghilangkan regulasi kematian sel. Tanaman salung merupakan tanaman famili *rubiceae* yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pengobatan diduga mengandung unsur senyawa antikanker pada sel kanker payudara T47D. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak dan fraksi *Psychotria viridiflora* Reinw .ex. Blume dalam menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi pada sel kanker payudara secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan sel T47D payudara sebagai objek dan menggunakan beberapa konsentrasi dari ekstrak dan fraksi daun salung.

Hasil penelitian menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol 360 µg/ml, fraksi n-heksan 215,31 µg/ml, fraksi etil asetat 103,9 µg/ml, fraksi etanol air 498,57 µg/ml dan 49,55 cisplatin µg/ml. Sehingga dari hasil IC<sub>50</sub> diketahui fraksi yang aktif dari daun salung adalah fraksi etil asetat. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi daun salung memiliki aktivitas sitotoksik mampu berperan dalam menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi.

**Kata kunci** : Daun salung, ekstrak, fraksi

### ABSTRACT

Cancer is the one of the main causes of death with total patient that growing every year. Process to become a breast cancer will be complex that involves some factor. In addition to defects on BRCA 1 and BRCA 2 gene, there are a lot abnormalities that principally increase cell proliferation activity and decrease or eliminate regulation of cell death. Salung plants is rubiceae family that need as treatment is suspected to contain elements of anticancer on T47D breast cancer cell. The objective of this study was to assess the activity of the extract and fraction of *Psychotria viridiflora* Reinw. ex. Blume in inducing apoptotic and inhibiting proliferation on breast cancer cell *in vitro*. This study used T47D cell breast cancer as an object and used some concentrations from extract and fraction of salung leaves .

The result showed IC<sub>50</sub> extract ethanol 360 µg/ml, n-hexsan fraction 215,31 µg/ml, ethyl acetat fraction 103,9 µg/ml, water ethanol fraction 498,57 µg/ml and cisplatin 49,55 µg/ml. Based on value of IC<sub>50</sub> active fraction of salung leaves in ethyl acetat fraction for further testing the researcher only performs the test on the only active fraction of ethyl acetat fraction. So can be concluded that the extract

and fraction of salung leaves have cytotoxic activity, acting in inducing apoptotic and inhibiting proliferative.

**Keyword: Salung Leaves, extracts, fractions**

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian yang utama dengan jumlah penderita yang terus bertambah setiap tahunnya. Sel kanker pada awalnya adalah sel normal, karena adanya kerusakan komponen berubah menjadi sel ganas yang tumbuh tidak terkendali (Ruddon, 2007). Kerusakan sel bisa disebabkan oleh berbagai hal, antara lain infeksi virus, paparan senyawa karsinogenik (senyawa kimia yang dapat menimbulkan proses pembentukan sel kanker), paparan radiasi sinar radioaktif (sinar X dan ultra violet), faktor genetik dan gaya hidup (Mangan, 2003). Proses timbulnya kanker payudara merupakan kejadian kompleks yang melibatkan berbagai faktor. Selain adanya defek pada gen BRCA1 dan BRCA2, masih banyak kelainan yang pada prinsipnya meningkatkan aktivitas proliferasi sel serta kelainan yang menurunkan atau menghilangkan regulasi kematian sel (Nugrahaningsih, 2004). Menurut WHO kejadian kanker payudara sebanyak 1.677.000 kasus. Kanker payudara merupakan kanker yang paling banyak di derita oleh kaum wanita dengan jumlah 883.000 kasus. Di negara berkembang terdapat 794.000 kasus dan merupakan penyebab kematian pada wanita di negara berkembang yaitu sebanyak 324.000 kasus, insidennya semakin tinggi diseluruh dunia (Houghton, 2012). Kanker payudara merupakan penyakit genetik, akibat akumulasi kelainan genetik dalam jaringan. Pada penderita kanker payudara yang baru terdiagnosa dapat ditemukan

adanya mutasi. Mutasi ini dapat melibatkan sedikitnya 4-6 gen regulator utama, yang berada di kromosom sel kanker payudara. Gen-gen ini berperan menjaga keseimbangan fisiologis antara proliferasi, apoptosis dan diferensiasi (Harris, 1986). Gen tumorsupressor ini berfungsi mengendalikan proliferasi atau diferensiasi sel sedangkan gen *p53* mengkode protein yaitu protein *p53* yang berperan di sejumlah proses seluler yaitu transkripsi gen, reparasi DNA, siklus sel, stabilitas genomik, dan apoptosis. Sel T47D dipengaruhi oleh adanya *p53*. *P53* merupakan protein supresor tumor yang berperan utama dalam menentukan stabilitas genetik dan proliferasi sel (Harris, 1996). Sel T47D adalah model sel kanker payudara yang belum resisten terhadap agen kemoterapi doxorubicin, tetapi diketahui memiliki gen *p53* yang telah termutasi. Jika *p53* tidak dapat mengikat respons element pada DNA, maka akan mengurangi atau menghilangkan kemampuannya dalam meregulasi siklus sel dan menginduksi apoptosis (Schafer, *et al.*, 2000). Upaya penyembuhan kanker payudara dengan cara pembedahan, kemoterapi, terapi hormon, terapi radiasi, dan terapi imunologi antikanker belum memberikan hasil yang optimal dikarenakan obat tersebut bekerja tidak spesifik, karena selain menyerang sel kanker juga merusak sel normal. Selain itu metode terapi kanker masih tergolong mahal. Penggunaan tumbuhan alami untuk keperluan pengobatan, hingga saat ini masih diminati sebagian besar

penduduk di Indonesia sebagai pilihan pengobatan alternatif (Ibrahim, 2010). Menurut penelitian golongan senyawa dalam *herbal medicine* mengandung antara lain alkaloid, flavonoid, minyak atsiri/terpenoid, dan tanin yang mempunyai potensi sebagai antikanker. Flavonoid berperan dalam in aktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel, induksi apoptosis dan diferensiasi, inhibisi angiogenesis, dan pembalikan resistensi multi-obat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme tersebut (Ren 2003). Antioksidan dan antikanker dalam senyawa flavonoid dapat membantu menginduksi apoptosis sehingga sel yang tidak terkontrol akibat kerusakan genetik dapat ditekan pertumbuhannya (Silalahi, 2006). Senyawa flavonoid dapat menunda siklus sel sehingga menghambat proliferasi melalui mekanisme yang diperantarai penurunan enzim *Xanthin Oksidase Siklooksigenase* (COX) dan *Lipooksigenase* (LOX) yang diperlukan dalam proses prooksidasi (Roth, 1986). Sedangkan senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu proliferasi sel karena senyawa alkaloid mampu mengikat tubulin (komponen penyusun peptidoglikan) yang dapat menghambat polimerasi protein (Harbone, 2004). Penelitian ini telah dilakukan terhadap beberapa tanaman yang termasuk dalam famili *rubiaceae* antara lain: tanaman daun kaca piring (*Gardenia Jasminoides* Ellis), tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans* Merr & Perry), tanaman gambir (*Uncaria gambir*), tanaman mengkudu (*Morinda Citrifolia* L), dan tanaman kopi (*Coffea* L). Adapun kandungan

senyawa yang terdapat dalam tanaman famili *rubiaceae* diketahui mengandung senyawa antikanker dan digunakan sebagai obat tradisional, misalnya daun kaca piring (*Gardenia Jasminoides* Ellis) yang mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid berpotensi menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi pada sel (Lestari, 2010), gambir (*Uncaria gambir*) mengandung senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan (Noviantri dkk, 2004), sarang semut (*Myrmecodia pendans* Merr & Perry) mengandung flavonoid dan tanin yang memiliki aktivitas antiproliferasi dan antikanker (Budhiani, 2007), buah mengkudu yang mengandung senyawa alkaloid mampu mengacaukan gen sel kanker saat melakukan proliferasi pada sel kanker payudara (Wang *et al.*,2007) serta biji kopi yang mengandung senyawa alkaloid yang bersifat antikanker dan antioksidan (Haquea *et al.*,2013). Metode yang digunakan dalam penapisan senyawa aktif antikanker dapat dilakukan dengan cara *kemotaksonomi* yaitu didasarkan pada kemiripan kandungan kimia pada familia atau genus tanaman yang sama. Tanaman salung merupakan tanaman famili *rubiaceae* yang dimanfaatkan oleh masyarakat Musi Rawas sebagai pengobatan secara turun menurun untuk mengobati berbagai penyakit (Salni, 2009), diduga mengandung unsur senyawa yang sama sehingga penelitian ini diajukan untuk mengetahui fraksi-fraksi senyawa antikanker yang terkandung dari ekstrak dan fraksinasi daun salung (*Psychotria viridiflora*) serta efek pada sel kanker payudara T47D.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Blender, tabung elemeyer, corong, kertas saring, *rotary evaporator*, gelas ukur, labu pisah 1000 ml, penangas air, cawan petri, tiang penyangga, botol, timbangan analitik, plat silica, mikropipet 10, 20, 200 dan 1000  $\mu$ l, botol duran 100 ml, *conical tube*, pipet pasteur steril atau mikropipet 1000  $\mu$ l, tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, 96-*well plate*, 6-*well plate*, *conical tube*, dan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 595 Nm dan 550 Nm, *vortex*, tabung sentrifus 1,5 ml, rak tabung kecil, sentrifugator, inkubator CO<sub>2</sub>, penangas air (37°C) dan FACS-Calibur, simplisia dari daun salung, pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol air, cisplatin, sel T47d yang merupakan koleksi dari laboratorium parasitologi UGM, FBS (*Fetal Bouvin Serum*) 10%, penisilin-streptomisin 1%,fungizone 0,5%, tripsinEDTA(*Ethylenediaminetetraacetic acid*) 0,25%, PBS dan MK (DMEM/RPMI),3-(4,5dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT), SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*) 10% dalam 0,01 N HCl, stok sampel (10mg) dalam eppendorf, pelarut DMSO, Media Kultur (MK), Phosphat Buffer Saline (PBS), tripsin-EDTA 0,25%, RNase, Propidium iodide, Triton-X, buangan untuk media bekas dan PBS

### Jalannya Penelitian

#### Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dan fraksinasi simplisia daun salung dilakukan di Laboratorium Kampus Biologi UNSRI Indralaya Palembang.

### Penentuan Golongan Senyawa

Golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi aktif akan ditentukan dengan uji KLT. Prosedur uji KLT adalah sebagai berikut fraksi aktif dengan konsentrasi 1% ditotolkan pada plat silika gel F<sub>254</sub> ukuran 1cm x 7cm, kemudian dikembangkan dengan eluen/ fase gerak yang sesuai, biarkan hingga eluen sampai diujung plat silika gel F<sub>254</sub> lalu dikeluarkan dan biarkan mengering. Plat silika gel F<sub>254</sub> disemprotkan dengan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% lalu diletakkan diatas *hot plate*. Diamati bercak warna yang muncul

### Preparat dan Panen Sel

Sel diambil dari tangki nitrogen cair, kemudian dicairkan dalam penangas air 37°C. Setelah itu disemprot dengan etanol 70%, sel dalam cryotube dimasukkan ke dalam LAF dan dipindahkan dengan menggunakan mikropipet ke dalam tabung conikel yang berisi suspensi sel disentrifugasi pada 600 rpm selama 5 menit, lalu supernatan dibuang. Selanjutnya ditambahkan media yang baru kedalam konikel yang berisi pelet dan disuspensikan hingga homogen. Suspensi sel ditumbuhkan dalam *tissue culture dish* yang diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% dengan suhu 37°C. Kondisi sel selanjutnya diamati di bawah mikroskop kemudian diinkubasi pada inkubator CO<sub>2</sub> 5%. Setelah 24 jam dilakukan penggantian media kultur. Sel ditumbuhkan sampai konfulen dan jumlahnya cukup untuk perlakuan. Setelah konfulen dilakukan panen sel dengan cara membuang media kultur lalu dicuci dengan PBS 2x untuk melepas sel dari dasar *culture dish* ditambahkan tripsin-EDTA 0,25% kemudian diinkubasi selama 3 menit dalam

inkubator CO<sub>2</sub>, tripsin\_EDTA diinaktivasi dengan menambahkan media kultur kemudian suspensi sel diresuspensi lalu suspensi sel dipindahkan pada *conical tube*. Jumlah sel dihitung dengan menggunakan *hemocytometer* dan *cell counter*.

. Rumus Perhitungan sel T47D yaitu:

$$\frac{\Sigma \text{ sel/mL}}{\frac{\Sigma \text{ sel A} + \Sigma \text{ sel B} + \Sigma \text{ sel C} + \Sigma \text{ sel D}}{4}} \times 10^4$$

### **Pembuatan Larutan Stok Uji Ekstrak dan Fraksi**

Sebelum dilakukan uji sitotoksitas, terlebih dahulu dibuat larutan stok sampel dengan cara mencampur ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi etanol air dari daun salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) dengan media DMEM (*Dulbecco's modification of Eagle medium*). Larutan stok dibuat dengan cara menimbang ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi etanol air dari daun salung kemudian ditambah DMSO atau tween sebanyak 30  $\mu$ l dan ditambahkan dengan media DMEM hingga 1000  $\mu$ l, sehingga diperoleh konsentrasi tertentu. Dari konsentarsi larutan tersebut kemudian dibuat seri kadar dan larutan dalam berbagai kadar tersebut dapat diujikan pada sel T47D. Pembuatan larutan uji ini dilakukan didalam Laminar Air Flow Cabinet secara aseptis (Utami, 2011).

### **Uji Sitotoksitas**

Dari uji ini dapat diperoleh kadar yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel atau IC<sub>50</sub> yang

merupakan parameter ketoksikan sehingga dapat diketahui kisaran kadar yang berefek toksik terhadap sel kanker. Uji sitotoksitas ini dilakukan dengan metode MMT assay. Sebelum dilakukan uji sitotoksitas terlebih dahulu dilakukan preparasi dan panen sel. Jumlah sel dihitung dengan menggunakan *hemocytometry*.

Setelah panen sel dibuat larutan stok sampel sehingga diperoleh konsentrasi 640; 320; 160; 80; 40  $\mu$ l/ml untuk ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol air 640; 320; 160; 80; 40  $\mu$ l/ml untuk Cisplatin diencerkan dengan DMEM sehingga diperoleh konsentrasi 200, 100, 50, 25  $\mu$ l/ml.

Selanjutnya sel diberi perlakuan ekstrak dan fraksi, setelah itu diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam, kemudian tiap sumuran diberi larutan MTT sejumlah 10  $\mu$ l, empat jam kemudian dilanjutkan dengan pemberian reagen stopper (SDS 10 % dalam HCL 0,01 N). Kemudian plate dibungkus dengan kertas atau aluminium foil dan inkubasikan ditempat gelap pada temperatur kamar selama semalam. Setelah 24 jam plate dimasukkan ke dalam ELISA *reader* Baca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 550 nm. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 550 nm, yaitu panjang gelombang optimum agar diperoleh pengukuran yang peka dan spesifik.

Data dari uji sitotoksitas digunakan untuk menghitung kadar yang menyebabkan hambatan proliferasi sel 50% (IC<sub>50</sub>) dengan analisa probit. Persentase sel hidup setelah perlakuan pada masing-masing kadar dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ kematian sel} = \frac{(\text{Abs kontrol sel} - \text{Abs perlakuan})}{\text{Abs kontrol sel}} \times 100\%$$

Dibuat grafik, dihitung prosentase kematian sel dan dianalisis harga  $IC_{50}$ . Untuk menentukan  $IC_{50}$ , diperlukan persamaan kurva standar dari % kematian sel sebagai sumbu y dan konsentrasi fraksi antioksidan sebagai sumbu x.  $IC_{50}$  dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi  $IC_{50}$ . Semakin besar harga  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Anggrianti, 2008).

#### Analisis Data

Uji sitotoksik diperoleh dari hasil pembacaan absorbansi dengan menggunakan ELISA reader pada setiap sumuran yang kemudian dikonvensi dalam persen sel hidup (viabilitas sel) dengan menggunakan Microsoft Excel 2007. Pada uji sitotoksik presentase sel yang hidup digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi yang dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel banyak 50% dari populasi sel. Dalam menentukan nilai  $IC_{50}$  menggunakan Microsoft Excel 2007 (Regresi Linear dari % kematian sel dan kadar konsentrasi perlakuan). Data persen kematian sel ditampilkan dalam bentuk grafik garis. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dengan mengganti nilai  $y=50$  (Ghosal and Mandal, 2012).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### HASIL

#### Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume)

Pada hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa dari 250 gram simplisia daun salung dihasilkan sebanyak 45,7 gram ekstrak yakni 18,20% dari jumlah simplisia. Kandungan ekstrak dalam simplisia berbeda-beda tergantung pada jumlah senyawa organik didalamnya. Ekstrak yang sudah dijadikan pasta dibagi lagi untuk perlakuan ekstrak etanol terhadap sel kanker payudara T47D seberat 13,9 gram atau kadar ekstraknya sebesar 30,4%.

Ekstrak kental daun salung difraksinasi dengan metode fraksi cair-cair (FCC) menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan metanol air (polar), dari fraksinasi tersebut didapatkan berat masing-masing fraksinasi sebagai berikut:

**Tabel 1 Hasil Fraksinasi (*Psychotria viridiflora* Reinw .Ex. Blume)**

| Pelarut            | Berat (gram) | Persentase (%) |
|--------------------|--------------|----------------|
| Fraksi n-heksan    | 4,7          | 14,8           |
| Fraksi etil asetat | 8,4          | 26,4           |
| Fraksi etanol air  | 18,7         | 58,8           |
| Total              | 31,8         | 100            |

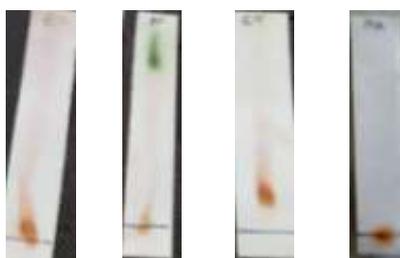
Dari tabel 1 dapat dilihat hasil fraksinasi ekstrak daun salung yang memiliki berat lebih besar adalah fraksi etanol air dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan etil asetat. Hal tersebut dikarenakan pelarut etanol air mempunyai kemampuan memisahkan senyawa

dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya (Hutauruk, 2010). Ketiga macam fraksi yang diperoleh akan diuji aktivitas antikankernya terhadap sel T47D untuk menentukan fraksi aktifnya.

## PEMBAHASAN

### Penentuan Golongan Senyawa

Untuk menentukan golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi daun salung menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yaitu mengamati bercak warna yang muncul.



Gambar 1 Uji KLT Daun Salung (1) Ekstrak, (2) Fraksi N-heksan, (3) Fraksi Etil Asetat, (4) Fraksi etanol Air

Pada pengamatan bercak yang muncul setelah uji KLT pada Gambar 1 diatas, maka hasil uji KLT dirangkum dalam tabel 2 dibawah ini:

**Tabel 2 Hasil Uji KLT Ekstrak dan Fraksi Daun Salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. ex Blume)**

| Bahan Uji          | Warna Bercak                                       | Golongan Senyawa                        |
|--------------------|--|---|
| Ekstrak etanol     | Coklat, merah muda, orange, hijau Hijau dan orange | Terpenoid, alkaloid flavonoid dan tanin |
| Fraksi n-heksan    | Merah muda dan Coklat                              | Terpenoid dan flavonoid                 |
| Fraksi etil asetat | Coklat   | Alkaloid dan Flavonoid                  |
| Fraksi etanol air  |  | Tanin                                   |

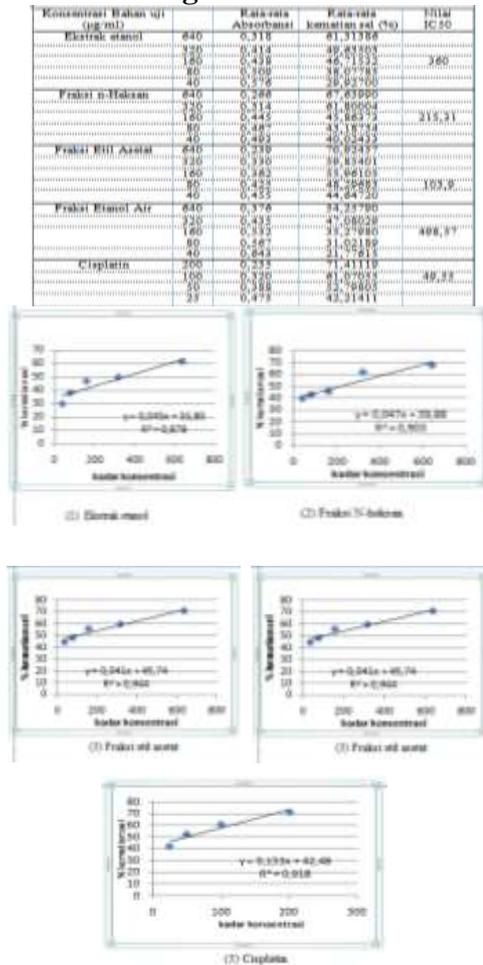
Pada uji KLT diatas menunjukkan bahwa pada ekstrak dan fraksi daun salung terdapat komponen terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Dimana kandungan senyawa antikanker dalam daun salung belum pernah diteliti, maka digunakan metode dengan cara *kemotaksonomi* yaitu didasarkan pada kemiripan kandungan kimia pada famili atau genus yang sama. Hal ini sejalan dengan penelitian yang tanaman satu famili *rubiceae* seperti daun mengkudu memiliki kandungan penting seperti flavonoid, alkaloid (Budhiani, 2007). Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Lestari (2010), dimana hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam daun kaca piring yang satu famili dengan daun salung mengandung terpenoid dan flavonoid, serta biji kopi yang mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid (Haqea *et al.* 2013), Subroto dan Saputro (2006) menyebutkan bahwa ekstrak dari sarang semut mengandung flavonoid, alkaloid dan tanin.

### Uji Sitotoksik

Uji sitotoksisitas merupakan uji *in vitro* yang pada umumnya menggunakan kultur sel. Uji ini merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui potensi ketoksikan senyawa terhadap sel kanker dan dapat digunakan sebagai acuan untuk menentukan kadar pada uji selanjutnya yaitu uji antiproliferasi. Dari uji ini dapat diperoleh kadar yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel atau  $IC_{50}$  yang merupakan parameter ketoksikan sehingga dapat diketahui kisaran

kadar yang berefek toksik terhadap sel kanker.

**Tabel 3 Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Salung**



Gambar 2 Grafik Persamaan Linear Antara % Kematian dengan Kadar Konsentrasi, (1) Ekstrak Etanol, (2) Fraksi N-heksan, (3) Fraksi Etil Asetat, (4) Fraksi Etanol Air, (5) Cisplatin.

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa kematian sel (% sel mati) berbeda-beda disetiap konsentrasi perlakuan yang diberikan. Kematian sel yang tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat dimana pada konsentrasi 640

µg/ml terdapat 70,9% sel yang mati. Kemudian disusul oleh fraksi n-heksan dengan konsentrasi 640 µg/ml terdapat 67,6% sel mati. Pada sel T47D yang diberi perlakuan dengan fraksi etanol air hanya sedikit sel yang mati dimana pada konsentrasi 640 µg/ml terdapat 54,5% sel yang mati. Uji sitotoksitas dilakukan untuk konfirmasi dari kemampuan sitotoksik bahan uji terhadap sel T47D. Berdasarkan tabel 4.3 diatas diketahui bahwa aktivitas sitotoksik sebagai antikanker pada sel T47D ditunjukkan oleh ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun salung. Hal ini ditunjukkan dengan semakin tinggi konsentrasi bahan uji semakin meningkat persen kematian sel T47D. Sedangkan pada fraksi etanol air persen kematian sel T47D hampir tidak terhambat oleh fraksi etanol air. Hal ini terlihat pada konsentrasi 640 µg/ml terdapat 54,25% sel T47D yang mati sehingga bisa dikatakan fraksi etanol air tidak toksik. Kematian sel terbesar terjadi pada fraksi etil asetat yang dimana pada konsentrasi tertinggi yaitu 640 µg/ml jumlah sel T47D yang mati 70,9%. Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan senyawa aktif yang mempunyai efek sitotoksik adalah fraksi etil asetat.

Berdasarkan tabel 4.3 dan gambar 4.6 nilai IC<sub>50</sub> yang terendah adalah fraksi etil asetat dengan nilai IC<sub>50</sub> 103,9 µg/ml dan merupakan fraksi paling aktif. Nilai tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat cukup berpotensi untuk dikembangkan dalam penelitian lebih lanjut mengingat kandungan senyawanya yang belum murni. Nilai IC<sub>50</sub> dari fraksi etil asetat untuk masuk dalam kategori cukup aktif sebagai senyawa yang memiliki

aktivitas sitotoksik ekstrak terhadap sel kanker hal ini sesuai dengan Weerapreeyakul *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa klarifikasi aktivitas sitotoksik ekstrak terhadap sel kanker dapat digolongkan kategori sangat aktif jika nilai  $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ , kategori aktif jika nilai  $IC_{50}$  10-100  $\mu\text{g/ml}$  dan kategori cukup aktif jika nilai  $IC_{50}$  100-500  $\mu\text{g/ml}$ .

Pada *cisplatin* yang merupakan kontrol positif nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan sangat rendah yaitu 49,55  $\mu\text{g/ml}$  sehingga lebih toksik dari ekstrak dan fraksi daun salung. Tingkat keberhasilan terapi kanker dengan *cisplatin* sebanding dengan tingginya dosis yang diberikan. Akan tetapi, penggunaannya dibatasi oleh efek sampingnya terhadap jaringan normal. Di antara berbagai efek samping yang mungkin terjadi pada penggunaan *cisplatin*, seperti *ototoksisitas*, *gastrotoksisitas*, supresi sumsum tulang, dan reaksi alergi. Efek samping utama yang membatasi pemberian dosis *cisplatin* adalah nefrotoksisitas (Kurniandari, 2015)

Belum ada penelitian mengenai aktivitas antikanker dari ekstrak dan fraksi daun salung namun berdasarkan penelitian sebelumnya pada tumbuhan satu famili *rubiceae*, berdasarkan penelitian Yulia (2009) pada fraksinasi daun mengkudu menunjukkan nilai  $IC_{50}$  yang rendah 6,9  $\mu\text{g/ml}$  dan menunjukkan adanya kenaikan persen kematian sel.

#### A. KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan: Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol daun salung pada sel T47D kanker payudara sebesar 360  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi n-heksan sebesar 215,31

$\mu\text{g/ml}$ , fraksi etil asetat sebesar 103,9  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi etanol air sebesar 498,57  $\mu\text{g/ml}$ . Jadi fraksi yang mempunyai aktivitas cukup baik adalah fraksi etil asetat. Golongan senyawa yang aktif terdapat dalam ekstrak dan fraksi daun salung mengandung alkaloid dan flavonoid.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada: Dr. dr. H. Mgs. Irsan Saleh, M.Biomed selaku ketua program studi Biomedik, Drs. Joko Marwoto, MS, selaku koordinator BKU, DR. Salni, MSi selaku Pembimbing satu yang telah membimbing dengan baik, dr. Triwani, M.Kes selaku pembimbing dua, seluruh staf dosen dan karyawan bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Kedua orang tuaku yang selalu mensupportku, suami dan ketiga buah hatiku yang selalu mendukung dan memberi doa, Direktur dan Seluruh Staf Akademi Kebidanan Persada Palembang yang telah membantu dalam penyelesaian Tesis ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, R., Sugeng, R., 2004, *Aktivitas Antioksidan dan Antiradikal Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, L)*, Laporan Penelitian lembaga penelitian UGM, Yogyakarta.
- Anggrianti, Padmi., 2008. *Uji Sitotoksik ekstrak etanol 70% buah kemukus (Piper cubeda L) terhadap sel payudara*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Aziz AYM, Omar RA, Subramani T, Yeap KS, Ho YW, Ismail HN, *et al. Damnacanthol Is A Potent Inducer Of Apoptosis With*

- Anticancer Activity By Stimulating p53 and p21 Genes In MCF-7 Breast Cancer Cells.* 526 Jurnal e-Biomedik (eBm), Volume 3, Nomor 1, Januari-April 2015  
Oncology Letters. 2014.7: 1479-1484.
- Budiani DR., Setiawan Y., Wijono WY., Pesik RN. 2007, *Pengaruh Ekstrak Batang Sarang Semut (Myrmecodia pendans, Merr & Perry) Terhadap Ekspresi Protein p53 Mutan Galur Sel Kanker Payudara T47D.* PIT,IAPI Banjarmasin
- Burdall, E.S., Hanby M.A., Landsdown, R.J.M., dan Speirs, V., 2003, *Breast Cancer Cell Line, Breast Cancer Res.*, 5(2): 89-95.
- CCRC, 2009.*Penghitungan sel.* Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.  
<http://www.ccrc.farmasi.ugm.ac.id>  
. Diakses pada tanggal 14 Desember 2016
- Cooper GM and Hausman RE, 2004, *The Cell: A Molecular Approach*, Fifth Edition, ASM Press and Sinauer Associates, Inc.
- Dalimartha, S., 2004, *Deteksi Dini Kanker dan Simplisia Antikanker*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Doyle, A.,and Griffiths J. B., 2000. *Cell and Tissue Culture for medical Research*, John Willey & Sons LTD, England
- Dhulipala, V.C., Welshons, W.V., and Reddy, C.S., 2006, *Cell Cycle Proteins in Normal and Chemically Induced Abnormal Secondary Palate Development: a Review*, Human Exp. Toxicol. 25: 675-682
- Freshney, RI. 2005. *Culture of Animal Cell: A Manual of Basic Techique.Fifthy Edition.* New Jersey. J willey
- Fisher DE. 1994. *Apoptosis in cancer therapy: crossing the threshold.* Cell.78: 539-542
- Gewies A, 2003. Introduction of apoptosis. *Aporeview* 1:1-26
- Hanahan, D. dan Weinberg, A.R. 2002. The Hallmarks of Cancer . Cell. 100: 57-70
- Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G. Et al., 2010. *Extraction Thechnologies for Medicinal and Aromatic Plants.* ICS UNIDO. Trieste.p.21-22
- Harborne.2004. *Metode Fitokimia Penunutan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.*Ed II.Bandung : ITB
- Harris.DC. 2003. *Quantitaive Chemical Analysis* 6th Ed. Philadelphia (US): WH Freeman and Co
- Haqea MR, Ansaria SA, Raskish A. 2013. *Coffea arabica seed extract stimulate the cellular immune function and cyclophosphamide-induced immunosupression in mice.*Iranian J Pharmaceutic Res 12 (1):101-108
- Hermawati,R,&Sasmito,S.2014.*Khasiat Ajaib Sarang Semut.*Jakarta:Padi.  
<http://www.abcam.com/indeks.html/datasheet=14899>,diakses Desember 2016.Jakarta
- Hermansyah., Herlina SugiyanaM Harashima.2010.*Yeast Saccharomycess Cerevisiae as model to identtify mengkudu as an anticancer medicinal plants candidates with antiproliferatif properties.*
- Ibrahim, Syarif dan Syarifuddin Wahid. 2010. *Immunotherapy on Breast Cancer* The Indonesia Journal of medical Science, 2 (1): 54-60

- Kimball.JW. 1990 .*Biology*. Erlangga. Jakarta.
- Robbins and cotran Pathologic basic of disease, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2005
- Kurniandari,N.,Susantiningsih, T., dan Berawi, K. N.,2015. Efek ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebagai senyawa nefroprotektor terhadap gambaran histopatologis ginjal yang diinduksi cisplatin. *Majority*, 4 (9) ;140-143
- Lapenna, S., and Giordano, A., 2009, *Cell Cycle Kinases as Therapeutic Targets for Cancer*, Nat. Rev. Drug Discov. 8(7): 547-566
- Larasati, Sarmoko. 2012. *Regulasi siklus sel, cancer chemoprevention Research Center*, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Lestari, P. (2013). *Efek Kombinasi Ekstrak Aktif Daun Poguntano (Picria fel-terrae Lour.) dengan Doxorubicin terhadap Sel Kanker Payudara secara In Vitro*. Tesis. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Mangan Y. 2009. *Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker*. PT. Agro Media Pustaka, Jakarta..
- Meiyanto,E.,R.,Fitria,danR.,Sugeng. 2007. 'Efek Sitotoksik Fraksi Semipolar Ekstrak Metanolik Kulit Batang Cangkring (Erytharina Fusca Lour.) Terhadap Sel Hela'.Majalh Obat Tradisional,11(41):11
- Nugrahaningsih, *Ekspresi Protein Bcl-2 pada Kanker Mammae*, M Med Indonesiana, 2004, Vol. 39 : 53 – 57.
- Putra SE. 2007. *Alkaloid: Senyawa Organik terbanyak di Alam*. [www.chem-Is-Try.org/artikel\\_kimia/biokimia/alkaloid\\_senyawa\\_organik\\_terbanyak\\_di\\_alam](http://www.chem-Is-Try.org/artikel_kimia/biokimia/alkaloid_senyawa_organik_terbanyak_di_alam) [internet]. [diunduh 2014 Maret 13].
- Rebecca A. Alderden, Matthew D. Hall, and Trevor W. Hambley. 2006. *The Discovery and Development of Cisplatin*. J. Chem. Ed 83: 728-724
- Ren,W.,Qiao,Z.,Wang,H.,Zhu,L.,Zhang,L.,2003,*Flavonoids:Promosing Anticancer Agents*,Medicinal Reserach Review,23(4):519-534
- Ritiasa, K., dkk.,2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Departemen Kesehatan RI DIRJEN POM Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Rudhon AY. *Gangguan Siklus Sel Dan Mutasi Gen Pada Kanker Payudara* 2007. 04: (10). CDK-209.
- Robbins, S. L., Kumar, V., & Cotran, R. S. (2002). *Dasar patologi penyakit*. Edisi 5. Alih bahasa : Tjarta, A., Himawan, S., Kurniawan. Jakarta : EGC.
- Robinson, T.1995.*Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*,ITB:Bandung
- Roth A, Kuballa B, Bounthanh P, Sevent T, Beck JP, Anton R, 1986. *Cytotoxic Activity of Polyndoline Alkaloids of Psychotria For steriana (Rubiaceae)* Universitas Louis Pasteur.France
- Salni, 2003.*Karakterisasi dan Uji Aktifitas Topikal Senyawa antibakteri dari Daun Karamunting (Rhodormyrtus tomenfusa (Ait) Hassk Desertasi* Penerbit ITB
- Savitri A, Larasati A,Utami EDR.2015.*Kupas Tuntas Kanker Payudara, Leher Rahim dan Rahim*.Pustaka Baru Press.Yogyakarta

- Smeltzer, S.C. & Bare B.G. (2002). *Buku ajar keperawatan medikal bedah edisi 8 volume 1*. Jakarta : EGC.
- Soeksmanto A, Subroto, MA, Wijaya H, Simanjuntak P. 2010. *Anticancer Activity testfor Extract of Sarang Semut Plant( Myrmecodya Pendens) to HeLa and MCM-B2Cells*. Pakistan Journal of Biological Science 13(3): 148-151.
- Subroto, M.A & Saputro H. 2006. *Gempur penyakit dengan sarang semut*. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal.2
- Sudiana IK. *Patobiologi Molekuler Kanker*. Jakarta: Salemba Medika; 2008.p. 29-32.
- Ulfa M,2010.*Flowcitometry untuk Evaluasi Aktivitass obat Antiplasmodial pada Gametosit Plasmodium Falciparum*.Malaria Journal:9:49
- Utami Dewi,2011.*Aktifitas Sitotoksik Isolat 5 Fraksi EtilAsetat Ekstrak Petroleumeter Daun Phaleria Macro Carva (Scheff) boerl.Pada Turunan Kanker Serviks manusia (Hela)*. Jurnal Ilmiah Kefarmasian,1(1):17-25.
- Wang YM, West JB, Jensen JC, Nowick D, Su C, Palu AK, et al. *Morinda Citrifolia (NONI): A Literature Review And Recent Advances In Noni Research*. Acta pharmacol Sin. 2012. 233: 1127-1141.
- Yulia .2009. *Uji Penghambatan Proliferasi Sel Hela dan Sel Raji oleh Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda Cirifolia)* Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
- Zampieri, L., Bianchi, P., Ruff, P., dan Arbuthnot, P., 2002, *Differential modulation by estradiol of P-glycoprotein drug resistance protein expression in cultured MCF7 and T47D breast cancer cells*, *Anticancer Res.*, 22 (4):2253-9.