

24082013
186/FK/2013

LAPORAN AKHIR PENELITIAN KEMITRAAN

Tema:
Kedokteran Tropis



Judul:

Analisis Kandungan Senyawa Kimia dan Uji Antikanker Ekstrak Etanolik Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Sel Kanker Serviks HeLa

oleh :

Rifki Febriansah, M.Sc., Apt.	(173 188)
Hanik Chafidhoturrofiah	(20100350002)
Miftah Rizkiani	(20100350022)

Laporan penggunaan dana penelitian
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
Tahun Anggaran 2012/2013

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
JULI, 2013**

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul : Analisis Kandungan Senyawa Kimia dan Uji Antikanker Ekstrak Etanolik Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) pada Sel Kanker Serviks HeLa
2. Bidang : Kesehatan / Kedokteran Tropis
3. Ketua Tim Pengusul :
- a. Nama Lengkap : Rifki Febriansah, M.Sc., Apt.
 - b. Jenis Kelamin : Pria
 - c. NIK : 173 188
 - d. Disiplin Ilmu : Farmasi Bahan Alam
 - e. Pangkat/Golongan : Asisten Ahli / IIIB
 - f. Jabatan : -
 - g. Fakultas/Jurusan : FKIK / Farmasi
 - h. Alamat : Jl. Lingkar Barat, Tamantirto, Kasihan, Bantul
 - i. Telp/Fax : 0274387656 ext. 201 / Fax. 0274387646
 - j. Alamat Rumah : Mutihan RT 04 Wirokerten Banguntapan Bantul
 - k. Telp/Fax : 081804042212
 - l. E-mail : briansyah_rifki@yahoo.com
4. Jumlah Anggota Tim : 2 orang
Nama Anggota Tim : 1. Hanik Chafidhoturrofiah
2. Miftah Rizkiani
5. Waktu Program : 5 bulan
6. Belanja yang diusulkan : Rp. 3.500.000,00

Yogyakarta, 9 Juli 2013

Mengetahui

Dekan FKIK UMY



dr. H. Ardi Pramono, Sp.An., M.Kes

NIK 173 031

Ketua Tim Pengusul

Rifki Febriansah, M.Sc., Apt.

NIK . 173 188

Mengetahui

Kepala LP3M Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Dr. Mukti Fajar ND SH M Hum

PERSONALIA PENELITIAN

- a. Ketua Peneliti : Rifki Febriansah
- b. Nama Lengkap dan Gelar : Rifki Febriansah, M.Sc., Apt.
- c. Golongan Pangkat dan NIK : IIIB / 173 188
- d. Jabatan Fungsional : Asisten ahli
- e. Jabatan Struktural : -
- f. Fakultas/Program Studi : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan / Farmasi
- g. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
- h. Bidang Keahlian : Farmasi Bahan Alam
- i. Waktu untuk Penelitian ini : 5 jam/minggu
- j. Tema (*khusus KPD*) : Kedokteran Tropis
- k. Susunan Tim Peneliti :
- l. Tenaga Laboran/Teknisi : Linggar Wulan Utami
- m. Pekerja Lapangan : -
- n. Tenaga Administrasi : -

JUDUL PENELITIAN

Analisis Kandungan Senyawa Kimia dan Uji Antikanker Ekstrak Etanolik Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) pada Sel Kanker Serviks HeLa

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang insidensinya semakin meningkat dari tahun ke tahun. Kanker serviks merupakan penyebab kematian ketiga akibat kanker di Amerika Serikat (*National Cancer Institute, 2010*). Pengobatan kanker menggunakan kemoterapi memberikan banyak efek samping, terutama pada sel normal. Efikasi agen kemoterapi juga diturunkan dengan adanya resistensi sel kanker (*multi drug resistance mechanism*). Untuk itu dikembangkan penelitian tentang penggunaan senyawa yang berasal dari alam sebagai agen kemoprevensi yang berpotensi sebagai agen pendamping kemoterapi. Agen kemoprevensi dimaksudkan untuk meningkatkan sensitivitas sel kanker dan mengurangi efek samping akibat agen kemoterapi. Agen kemoprevensi umumnya memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan tumor melalui mekanisme *cell cycle arrest*, pemacuan apoptosis (Fisher, 1994) ataupun menghambat ekspresi protein yang berperan dalam *Multi Drug Resistance* (Kitagawa, 2006).

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai agen antikanker payudara adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). Buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dipercaya mengandung tiga senyawa penting yang berperan dalam pengatasan kanker, yakni damnachantal, proxeronine dan alizarin yang mampu menghambat perkembangan sel kanker. Damnachantal memiliki efek antitoksik, dalam hal ini sebagai antikanker dan juga sebagai antibiotik alami sehingga mampu menjaga organ tubuh yang belum terserang kanker untuk menolak kanker, sedangkan proxeronine berfungsi untuk meregenerasi sel yang rusak pada organ yang hancur karena kanker sehingga pulih kembali dan alizarin berfungsi sebagai pemutus hubungan pembuluh darah dan nutrisi ke sel kanker atau tumor dan menyebabkan jaringan kanker akan kering / luruh kemudian mati.

Dalam penelitian ini akan diuji apakah ekstrak buah Mengkudu mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker Serviks HeLa. HeLa merupakan sel kanker serviks yang diambil dari pasien kanker wanita berusia 76 tahun dan dikembangkan menjadi sel uji. Pengujian yang akan dilakukan adalah identifikasi kandungan senyawa kimia dan uji sitotoksik dari ekstrak tersebut pada sel kanker serviks.

b. Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah kandungan senyawa kimia pada ekstrak etanolik buah Mengkudu yang mempunyai efek sitotoksik pada sel kanker Serviks HeLa?
2. Apakah ekstrak etanolik buah Mengkudu mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker Serviks HeLa?

c. Keaslian Penelitian

Ekstrak etanolik buah Mengkudu terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Bintang, 2011). Ekstrak etanolik buah Mengkudu menunjukkan sinergisme dengan doxorubicin pada sel MCF-7, sehingga mampu memacu apoptosis pada sel MCF-7. Ekstrak tersebut juga menginduksi apoptosis dan menekan ekspresi Bcl-2 pada sel myeloma NS-1 (Yasmina, 2005). Namun, aktivitas ekstrak etanolik buah Mengkudu terhadap sel kanker serviks HeLa belum pernah ditelusuri. Penelitian yang akan dilakukan ini berbeda dari penelitian-penelitian yang pernah dilakukan karena menitikberatkan pada pengamatan sitotoksik pada sel HeLa oleh perlakuan ekstrak etanolik buah Mengkudu sebagai dasar pengembangan ekstrak etanolik buah Mengkudu untuk agen kokemoterapi kanker serviks.

d. Faedah Penelitian

Penelitian ini bukanlah penelitian awal melainkan lanjutan dari hasil-hasil penelitian yang sudah ada guna mendapatkan informasi yang lebih mendalam mengenai aktivitas ekstrak etanolik buah Mengkudu sebagai agen kemopreventif. Untuk itu dipilih jenis sel kanker serviks. Penelitian ini melengkapi data penggunaan ekstrak etanolik buah Mengkudu sebagai agen kokemoterapi selain dengan doxorubicin. Pengujian ekstrak etanolik buah Mengkudu tunggal terhadap sel HeLa diperlukan untuk memperoleh kondisi yang sama dengan pengujian kombinasi agar hasilnya dapat dibandingkan. Hasil akhir penelitian ini adalah diperolehnya agen kokemoterapi yang poten dari bahan alam. Hasil penelitian ini akan memberikan informasi yang berharga bagi dunia sains penemuan obat karena memberikan pendekatan sistematis dalam pengembangan agen kokemoterapi di Indonesia. Pendekatan ini diharapkan dapat dilakukan juga di berbagai tempat riset di Indonesia.

e. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan senyawa kimia dan menguji aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik buah Mengkudu terhadap sel kanker serviks HeLa.

2. Tujuan Umum

a) Untuk Pengembangan Keilmuan Farmasi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar ilmiah bagi pengembangan ekstrak etanolik buah Mengkudu sebagai agen kemopreventif untuk kanker serviks.

b) Untuk Pembangunan Nasional

Penelitian ini dapat dijadikan pemacu kreativitas dan keaktifan peneliti untuk mengeksplorasi kekayaan bahan alam dalam rangka pengembangannya sebagai agen terapi untuk berbagai penyakit, khususnya penyakit kanker, yang angka kejadiannya terus meningkat dari waktu ke waktu, termasuk di Indonesia.

f. Tinjauan Pustaka

1. Kanker dan Kanker Serviks

Kanker adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan pengaturan multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler (Ganiswara dan Nafrialdi, 2005). Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh ketidakaturan kerja hormon sehingga mengakibatkan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas (Tjay dan Rahardja, 2002).

Kanker serviks (*Cervical Carcinoma*) adalah suatu penyakit neoplasma yang ganas yang berasal dari *parenchyma*. Penyakit ini oleh *World Health Organization* (WHO) dimasukkan ke dalam *International Classification of Diseases* (ICD) dengan kode nomor 174. Kanker serviks dapat terjadi karena adanya beberapa faktor genetik yang diturunkan dari orang tua kepada anaknya. Gen pensupresi tumor yang berperan penting dalam pembentukan kanker serviks diantaranya adalah gen E6 dan E7 (Moningkey dan Kodim, 1998).

Gejala klinis kanker serviks dapat berupa benjolan pada serviks, erosi atau eksema. Umumnya berupa benjolan yang tidak nyeri pada serviks. Benjolan itu mulanya kecil dan semakin besar lalu melekat pada kulit dan menimbulkan perubahan pada lapisan serviks menjadi tertarik ke dalam (retraksi), berwarna merah muda atau kecoklat-coklatan sampai menjadi oedema hingga kulit kelihatan seperti kulit jeruk (*peau d'orange*), mengkerut, atau timbul borok (ulkus) pada payudara. Borok itu makin lama makin besar dan mendalam sehingga dapat menghancurkan serviks, sering berbau busuk dan mudah berdarah (Handoyo, 1990).

2. Ekstraksi dan Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewan menurut cara yang cocok di luar metode farmasi (Ganiswara dan Nafrialdi, 2005).

dasar penyarian adalah maserasi, perlokasi, dan soxhletasi. Pemilihan terhadap ketiga metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (Anonim, 1989). Maserasi adalah salah satu metode dari ekstraksi dimana terjadi proses penetrasi pelarut ke dalam sel melalui dinding sel. Pelarut akan melarutkan zat aktif, kemudian membawanya keluar sel berdasarkan perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan diluar sel. Pelarut yang keluar membawa zat aktif, akan digantikan oleh pelarut baru. Hal tersebut terjadi berulang-ulang hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Untuk mengekstraksi senyawa yang terkandung dalam tanaman diperlukan pelarut yang sesuai.

Identifikasi senyawa kimia dilakukan dengan metode KLT. Yaitu dilakukan dengan elusi pada pelat KLT yang sudah dialiri dengan fase gerak tertentu yang sesuai dengan senyawa kimia yang akan diamati. Hasil elusi dari KLT dapat diamati dengan pereaksi semprot atau di bawah sinar UV 254 dan 366 nm.

3. Uji Sitotoksik

Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT *assay* (Junedy, 2005). Uji MTT *assay* merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. (Doyle dan Griffith, 2000). Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai IC_{50} merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Miyanto, 2003). Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Melannisa, 2004). Akhir dari uji sitotoksitas dapat memberikan informasi persen sel yang mampu bertahan dihidup, sedangkan pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle and Griffiths, 2000 *cit* Nurrochmad, 2001).

4. Sel HeLa

Sel HeLa merupakan salah satu model sel kanker serviks yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel tersebut diambil dari jaringan serviks seorang wanita Kaukasian berumur 76 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel *adherent* (melekat) yang dapat ditumbuhkan dalam media penumbuh RPMI yang mengandung *foetal bovine serum* (FBS) 10% dan antibiotik Penicilin-Streptomycin 1% (Anonim, 2007). Sel HeLa memiliki karakteristik antara lain resisten agen kemoterapi (Mechetner *et al.*, 1998; Aouali *et al.*, 2003), mengkodekan reseptor estrogen (ER +), overekspresi Bel 2 (Butt *et al.*, 2000; Amundson

II. METODOLOGI PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Alat-alat gelas, flakon, timbangan analitik (Sartorius), eppendorf (Brand), vorteks, autoklaf (Hirayama), inkubator CO₂ (Heraceus), *Laminar Air Flow Hood* (Labconco), *tissue culture flask* (Nunc), tabung konikal 15 ml steril (Falcon), sentrifus (Sorvall), haemositometer (Nebauer), *cell counter*, *yellow tip* (Brand), *blue tip* (Brand), mikropipet (Gilson), mikroskop inverted (Zeiss), *96-well plate* (Nunc), *shaker* (Gemmy), ELISA reader (Bio-Rad), *24-well plate* (Nunc).

2. Bahan Penelitian

a. Bahan utama

ekstrak etanolik buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang tumbuh di daerah Kotagede, Yogyakarta.

c. Bahan uji sitotoksisitas

Sel kanker serviks. Digunakan jenis HeLa, diperoleh dari Prof. Tatsuo Takeya (Nara Institute of Science and Technology, Jepang) melalui Prof. Dr. Edy Meiyanto, M.Si, Apt. *Media*. Sel HeLa ditumbuhkan pada media *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) yang mengandung *Foetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) (Gibco), penisillin-streptomisin 1% (v/v) (Gibco).

Larutan pencuci Phosphat Buffer Saline (PBS).

Pelarut. Digunakan dimetil sulfoksida (DMSO) untuk preparasi larutan uji dengan konsentrasi tidak lebih dari 0,2% .

Reagen MTT. MTT [3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] 5 mg/ml dalam media kultur.

Reagen stopper sodium dodesil sulfat (SDS) dalam HCl 0,1%.

Selain bahan-bahan di atas juga digunakan Tripsin-EDTA untuk membantu melepas sel yang melekat pada *flask* maupun *plate*.

Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian apabila tidak dikatakan lain berarti

b. Cara Kerja

1. Sterilisasi alat

Semua alat yang akan dipakai dicuci dengan menggunakan sabun dan dikeringkan, kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C, dengan tekanan 15 lb lalu dikeringkan dalam oven. Pengerjaan dilakukan secara aseptis dalam *Laminar Air Flow Hood* (LAF) yang telah disterilisasi dengan sinar UV selama 30 menit, disemprot etanol 70% dan dilap.

2. Pembuatan larutan media dan media kultur

Larutan RPMI dibuat dengan melarutkan RPMI dalam aquades, ditambah 2,0 gram NaHCO₃ dan 2,0 gram Hepes. Larutan selanjutnya distirer sampai homogen kemudian dibuffer dengan HCl encer 1N hingga pH 7,2-7,4 diukur dengan pH meter. Selanjutnya larutan disaring dengan filter polietilensulfon steril 0,2 µm secara aseptis. Media kultur dibuat dengan cara mencampurkan larutan RPMI steril dengan FBS 10%, dan penisilin-streptomisin 1% secara aseptis di dalam LAF.

3. Preparasi sel

Sel yang inaktif dalam ampul diambil dari tangki nitrogen cair, segera dicairkan pada suhu 37°C, kemudian ampul disemprot dengan etanol 70%. Ampul dibuka dan sel dipindahkan ke dalam tabung konikal steril berisi media kultur. Suspensi sel disentrifugasi dengan kecepatan 3000 *rpm* selama 5 menit, supernatan dibuang, pellet ditambah 1 ml media penumbuh yang mengandung 10% FBS, resuspensi perlahan hingga homogen, selanjutnya sel ditumbuhkan dalam beberapa *tissue culture flask* kecil, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO₂. setelah 24 jam, media diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen dan jumlahnya cukup untuk penelitian.

4. Panen sel

Setelah jumlah sel cukup, media dibuang dan sel dicuci koloninya dengan jalan penambahan larutan PBS dan jika perlu resuspensikan perlahan, buang larutan tersebut, tambahkan larutan 1 ml tripsin 2,5% pada sel, namun agar merata ditambah 3 ml larutan PBS, diamkan selama 3-5 menit agar tripsin bekerja dengan baik. Sel dipindah ke dalam tabung konikal steril dan ditambah PBS sampai volume 10 ml dan disentrifugasi pada 3000 *rpm* selama 3 menit. Sel dicuci dua kali menggunakan media yang sama dan dihitung jumlah selnya menggunakan haemositometer. Suspensi sel ditambah jumlah media kultur sehingga diperoleh konsentrasi sel sebesar 5×10^3 sel/100 µl dan siap digunakan untuk

5. Pembuatan larutan uji

ekstrak etanolik buah Mengkudu dibuat stok dengan kadar 2×10^5 $\mu\text{g/ml}$ dalam DMSO. Selanjutnya dari larutan stok tersebut dibuat seri konsentrasi dalam media kultur.

7. Uji sitotoksisitas menggunakan metode MTT (Mosmann, 1983)

Sel dengan kepadatan 5×10^3 sel/sumuran didistribusikan ke dalam *plate* 96 sumuran dan diinkubasi selama 48 jam untuk beradaptasi dan menempel di dasar sumuran. Keesokannya media diambil, dicuci PBS kemudian ditambahkan 100 μL media kultur yang mengandung DMSO 0,2% saja (kontrol) atau sampel uji dalam bentuk tunggal (Ekstrak etanolik buah Mengkudu) diinkubasi selama 24 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung sampel dibuang, dicuci dengan 100 μL PBS. Kemudian ke dalam masing-masing sumuran ditambahkan 100 μL media kultur yang mengandung 5 mg/ml MTT, inkubasi lagi selama 4 jam pada suhu 37°C . Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu. Setelah 4 jam, media yang mengandung MTT dibuang, dicuci PBS kemudian ditambahkan larutan *stopper* SDS dalam HCl 0,1% 200 μL untuk melarutkan kristal formazan. Digoyang di atas *shaker* selama 10 menit kemudian dibaca dengan dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm.

c. Analisis dan Pengolahan Data

1. Uji sitotoksisitas

Data yang diperoleh berupa absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persen sel hidup dan dianalisis dengan statistik, menggunakan metode uji korelasi yang diikuti dengan uji signifikansi untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Persen sel hidup dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{Hidup} = \frac{\text{Absorbansi Sel Dengan Perlakuan} - \text{Absorbansi Kontrol Media}}{\text{Absorbansi Kontrol Sel} - \text{Absorbansi Kontrol Media}} \times 100\%$$

Dari data % sel hidup dan log konsentrasi dihitung nilai IC_{50} menggunakan analisis probit (SPSS 14.0) untuk mengetahui potensi sitotoksisitasnya. Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang menyebabkan 50% sel hidup.

JADWAL KEGIATAN PENELITIAN

Jadwal Kegiatan	Bulan				
	1	2	3	4	5
Tahap Uji					
1. Tahap Persiapan					
a. determinasi tanaman	√				
b. pengumpulan bahan tanaman	√				
2. Tahap Pelaksanaan					
a. percobaan pendahuluan					
• persiapan ekstrak etanolik buah mengkudu		√			
• pemekatan ekstrak etanolik buah mengkudu		√			
• kontrol kualitas ekstrak etanolik		√			
• persiapan sel		√			
b. uji sample terhadap sel		√	√	√	
c. pengamatan setelah perlakuan			√	√	
3. Tahap Penyelesaian					
a. pengumpulan data penelitian				√	
b. pengolahan data				√	√
c. analisis data					√
d. penyusunan laporan akhir					√
e. pengumpulan laporan akhir					√

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak dan Analisis Kimia

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menyari 750 g simplisia mengkudu dengan etanol 70% sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 64 g. Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dipercaya mengandung tiga senyawa penting yang berperan dalam pengatasan kanker, yakni damnachantal, proxeronine dan alzarin yang mampu menghambat perkembangan sel kanker.

Uji Sitotoksisitas terhadap sel Hela

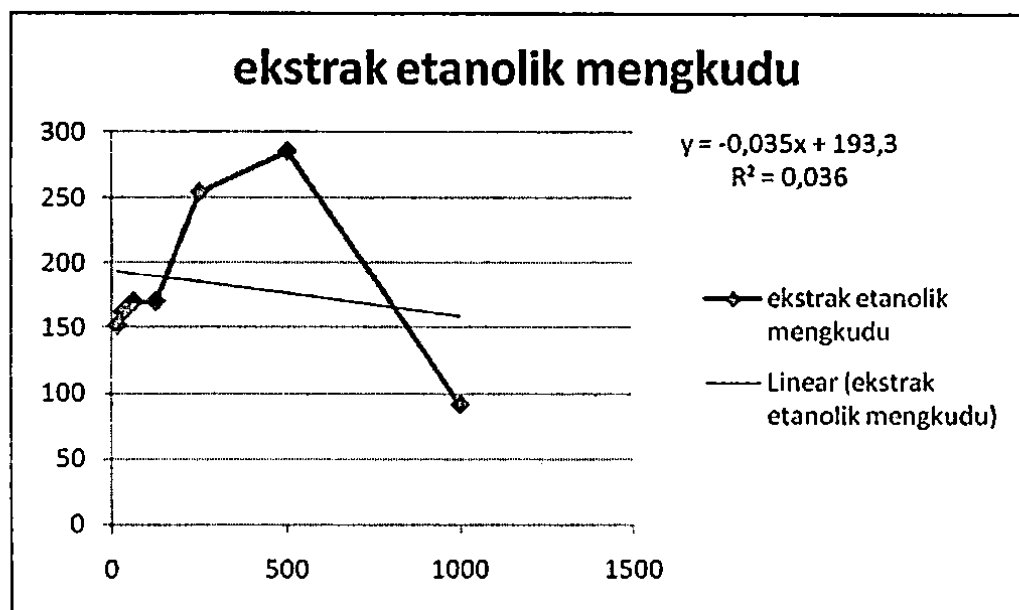
Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel (Kurnijasanti *et al.*, 2008). Salah satu metode yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah MTT *assay*. Metode ini merupakan pengembangan dari metode Tada *et al.*, 1986 dengan cara menghitung absorbansi sel hidup menggunakan *colorimetric assay* MTT. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi Kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal *et al.*, 2009).

MTT *assay* digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Hasil analisis probit menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak buah mengkudu seperti yang diperlihatkan pada tabel 1.

Pada uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik buah mengkudu terhadap sel kanker serviks hela menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 4.094 $\mu\text{g/ml}$. Suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik apabila memiliki nilai $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$ (Mans, *et al.*, 2000). Dengan demikian ekstrak tersebut dinyatakan tidak aktif.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik buah mengkudu terhadap pertumbuhan sel kanker serviks hela.

Konsentrasi	1	2	3	4	Rata-rata	% Hidup
15,625	0,588	0,5	0,534	0,531	0,53825	151,7489
31,25	0,575	0,544	0,561	0,579	0,56475	161,6802
62,5	0,589	0,566	0,592	0,597	0,586	169,644
125	0,583	0,604	0,551	0,608	0,5865	169,8314
250	0,922	0,804	0,78	0,741	0,81175	254,2473
500	0,874	0,869	0,966	0,87	0,89475	285,3529
1000	0,396	0,405	0,366	0,342	0,37725	91,41162
IC 50 : 4094						



Gambar 1. Profil efek sitotoksik ekstrak etanolik buah mengkudu terhadap sel Hela dengan metode MTT.

Berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak tersebut, ekstrak etanolik buah mengkudu pada inkubasi 24 jam dikategorikan mempunyai efek sitotoksik yang rendah (Jenett Siems *et al*, 1999). meskipun demikian, ekstrak etanolik buah mengkudu tetap memiliki efek sitotoksik, namun membutuhkan dosis yang cukup besar. Hal ini ditunjukkan dengan didapatkannya nilai IC_{50} yang cukup besar yaitu 4.094 $\mu\text{g/ml}$.

KESIMPULAN

berdasarkan hasil yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa :

- Ekstraksi dengan etanol 70% dari 750 g simplisia buah mengkudu menghasilkan 64 g

- b. nilai IC_{50} ekstrak etanol buah mengkudu terhadap sel kanker hela adalah 4.094 $\mu\text{g/ml}$, sehingga dapat disimpulkan jika ekstrak etanolik buah mengkudu kurang poten sebagai agen khemopreventif pada sel kanker serviks HeLa.

RINCIAN BIAYA PENELITIAN

Nama	Jumlah	Satuan	Harga Satuan, Rp.	Jumlah, Rp. (dalam ribuan)
Buah Mengkudu	10	kg	40.000	400
Tripsin	1	mg	913.000	913
Asam asetat glasial	1	l	150.000	150
Na_2SO_4 anhidrat	1	g	6.440	6,4
Aquabides	1	botol	200.000	200
Etanol teknis	1	L	20.000	20
HCl	1	L	180.000	180
Sel MCF-7	1	flash	750.000	750
Penisilin-streptomisin (Gibco)	1	botol	200.000	200
Fungizon (Gibco)	1	botol	300.000	300
Filter 0,22 mM (Whatman)	1	buah	25.000	25
DMSO (Sigma)	1	liter	500.000	500
DMEM (Gibco)	1	pak	1.762.500	1762,5
MTT	1	kit	900.000	900
PBS	1	pak	55.200	55,2
SDS	1	Ucl	289.000	289
Etidium bromida 10 ml	1	botol	174.000	174
Akridin oranye 20 gr	1	g	92.000	92
Eppendorf tube	50	buah	500	25
Blue tips	1	pak	300.000	300
Yellow tips	1	pak	200.000	200
96-well plate	1	buah	40.000	40
Coverslips	1	pak	250.000	250
Cover glass	1	boks	100.000	100
Slide glass	1	boks	100.000	100
Centrifuge tube 15 ml	2	buah	20.000	40
Culture flask	2	buah	25.000	50
Flacon	10	buah	2000	20
Parafilm	1	rol	200.000	200
Whatman Filter paper, d = 7 cm	1	pak	201.400	201,4
Spreader	2	buah	15.000	30
Cawan petri	2	buah	50.000	100
Running ELISA	2	kali	30.000	60
Masker	1	boks	40.000	40
Sarung tangan	1	boks	50.000	50
Tissue	2	rol	2500	5
Total				

DAFTAR PUSTAKA

- Bos FX., Ribes J., & Borrás J. 1999. Epidemiology of Primary Liver Cancer. *Sem. Liver Disease*. 19 (3): 271-285.
- BPOM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Depkes RI.
- Crank, G. 1992. Environmental Carcinogen. *Majalah Farmasiz Indonesia*. 3(4):8-16.
- Ganiswara, S., Setyabudi, R., Suyatna, FD., dan Purwastyastuti. 1995. dalam Ganiswara, S. (Ed.) *Farmakologi dan Terapi*, Edisi II, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Ganiswara, S.G. 1995. '*Farmakologi dan Terapi*'. Bagian farmakologi Fakultas Kedokteran UI: Jakarta.
- Hanahan, D. and Weinberg, R.A. 2000. The Hallmarks of Cancer, *Cell*, 100: 57-70.
- Macdonald, F., Ford C.H.J. 1997. *Molecular Biology of Cancer*. Bio Scientific Publisher, Oxford, United Kingdom.
- Maronpot, R.R. 1991. Chemical Carcinogenesis, in Hascheck, W.M., dan Rousseaux, C.G., (Ed), *Handbook of Toxicologic Pathology*, Academic Press, Inc., San Diego.
- Meiyanto, E. 1999. 'Kurkumin Sebagai Obat Anti Kanker : Menelusuri Mekanisme Aksinya', *Majalah Farmasi Indonesia*, 10 (4): 224-236.
- Meiyanto, E. 2002. *Biologi Molekuler*, Buku Ajar, Proyek QUE Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Mitchell, W. 1998. *Plant Medicine*, Private Publication, Seattle.
- Mulyadi. 1997. *Kanker, Karsinogen, Karsinogenesis, dan Antikanker*. Cetakan pertama, Penerbit PT. Tiara Wacana Yogya, Yogyakarta.
- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., and Rodwell V.W.1990.'*Kanker, Oncogen dan Faktor-faktor Pertumbuhan* : dalam Biokomia Harper, diterjemahkan oleh Hartono A. edisi 2, penerbit EGC, Jakarta.
- Ogata, N., Kamimura, T. and Asakura, H. 1991. *Hepatology*, 13, 31.
- Pitot, H.C., 1993, The Molekuler Biology of Carcinogenesis, *Cancer*, (72) : 962-970.
- Rizali, E., dan Auerkari, E.I. 2003. *Teknik pewarnaan Silver (AgNOR) sebagai Salah Satu Cara Menentukan Aktivitas Proliferasi Sel Tumor dan Apoptosis*, JKGI; 10(3) : 41-45.
- Schneider, K. A. 1997. *Cancer Genetics, Encyclopedia of Human Biology*, 2nd Edition , Vol.2, Academic Press, London, 312-315.

Smart, R.C. and Akunda, J.K. 2001. Carcinogenesis, in Hodgson, E., dan Smart, R., C., 2001, *Introductions to biochemical Toxicology*, 3rd Ed., A John Wiley & Sons, Inc., New York.

Sofyan, R. 2000. Terapi Kanker pada Tingkat Molekuler, *Cermin Dunia Kedokteran*, 127: 5-10.

Sugiyanto, Sudarto, B., Meiyanto, E., Nugroho, A.E., dan Jenie U.A. 2003. Aktivitas Antikarsinogenik Senyawa yang Berasal dari Tumbuhan, *Majalah Farmasi Indonesia*, 14(4): 216-225.

Tiindarbumi, D. and Mengunluyama, B. 2002. *Cancer in Indonesia: Present and Future*. Jau

28

28

