

*Anticancer Activity of Bandotan Leaves Extract (Ageratum conyzoides L.) in  
WiDr Colon Cancer*

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN  
BANDOTAN (*Ageratum conyzoides*) PADA SEL KANKER COLON WiDr  
SECARA IN VITRO**

**Pembayun Sekar Kinanti<sup>1</sup>, Yoni Astuti<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Medical School, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah  
Yogyakarta

<sup>2</sup>Biochemistry Departement, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas  
Muhammadiyah Yogyakarta

**ABSTRACT**

**Introduction:** Colon cancer is one of the most common causes of death in the world. This is because this disease is usually only known after entering the advanced stage, which causes cancer cells to metastasize to other organs. Colon cancer WiDr is a derivative of HT-29 colon cancer cells that has a life cycle capability every 15 hours. Various studies on cancer treatment have now been carried out. One of them is by using bandotan leaf extract (*Ageratum conyzoides L.*). Bandotan leaves contain alkaloids, flavonoids, tannins and saponins which have anticancer effects. This study aims to determine the cytotoxic and antimigration capabilities of bandotan leaf ethanol extract (EEDB) on WiDr colon cancer cells.

**Method:** EEDB cytotoxic activity test on WiDr colon cancer cells was performed use the MTT Test method to find out the IC<sub>50</sub> EEDB value. Test cytotoxic is carried out in vitro to determine a cytotoxic potential compound. Furthermore, the antimigration activity of cells was observed through testing migration with the scratch wound healing assay to obtain percent closure, then analyzed using the one way ANOVA method to determine the significant differences in EEDB.

**Results:** Bandotan leaf ethanol extract has potential as a moderate anticancer agent for WiDr with an IC<sub>50</sub> value of 794,029 µg / ml. Giving Doxorubicin to the WiDr colon cancer cells has an IC<sub>50</sub> value 10.64 µg / ml. Bandotan leaf ethanol extract has the potential as an antimigration agent for WiDr colon cancer cells with a final percentage of closure 4.42% by giving 1/4 IC<sub>50</sub> of bandotan leaf ethanol extract concentration.

**Conclusion:** There is a significant difference between the administration of bandotan leaf ethanol extract with cytotoxic ability and migration of WiDr colon cancer cells in vitro.

**Keywords:** Ethanol extract of bandotan leaves, WiDr cells, cytotoxic, cell migration.

## INTISARI

**Pendahuluan :** Kanker kolon merupakan salah satu sebab kematian terbanyak di dunia. Hal ini disebabkan karena penyakit ini biasanya baru diketahui setelah memasuki fase stadium lanjut, yang menyebabkan sel kanker sudah metastasis ke organ tubuh yang lain. Kanker kolon WiDr merupakan turunan dari sel kanker kolon HT-29 yang memiliki kemampuan siklus daur hidup selama 15 jam. Berbagai penelitian mengenai pengobatan kanker saat ini telah banyak dilakukan. Salah satunya dengan menggunakan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*). Daun bandotan memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang memiliki efek antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan sitotoksik dan antimigrasi ekstrak etanol daun bandotan (EEDB) pada sel kanker kolon WiDr.

**Metode :** Uji aktivitas sitotoksik EEDB pada sel kanker kolon WiDr dilakukan menggunakan metode Uji MTT untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  EEDB. Uji sitotoksik dilakukan secara *in vitro* untuk menentukan potensi sitotoksik suatu senyawa. Selanjutnya, aktivitas antimigrasi sel diamati melalui uji migrasi dengan *scratch wound healing assay* untuk memperoleh persen penutupan, kemudian dianalisis dengan menggunakan metode *one way anova* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan pemberian EEDB.

**Hasil :** Ekstrak etanol daun bandotan memiliki potensi sebagai agen antikanker kolon WiDr *moderate* dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 794,029  $\mu\text{g/ml}$ . Pemberian Doxorubicin pada sel kanker kolon WiDr memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 10,64  $\mu\text{g/ml}$ . Ekstrak etanol daun bandotan memiliki potensi sebagai agen antimigrasi sel kanker kolon WiDr dengan persentase akhir penutupan sebesar 4,42 % dengan pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun bandotan sebanyak  $\frac{1}{4} IC_{50}$ .

**Kesimpulan :** Terdapat perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak etanol daun bandotan dengan kemampuan sitotoksik dan migrasi sel kanker kolon WiDr secara *in vitro*.

**Kata Kunci :** Ekstrak etanol daun bandotan, sel WiDr, sitotoksik, migrasi sel.

## **PENDAHULUAN**

Penyakit kanker kolon merupakan jenis kanker terbesar yang menyerang perempuan dan laki-laki di seluruh dunia<sup>1</sup>. Penyebab tersering munculnya penyakit kanker biasanya dipengaruhi antara lain oleh obesitas, kurangnya konsumsi makanan berserat, kurangnya aktivitas fisik, merokok, serta konsumsi alkohol. Kanker kolon menurut karakteristiknya dikenal dua jenis, yaitu kanker kolon WiDr dan kanker kolon HT-29<sup>2</sup>.

Suatu kanker ganas memiliki kemampuan untuk bisa bermetastase<sup>3</sup>. Salah satu tahapan metastase adalah dengan migrasi. Berbagai cara pengobatan kanker sudah dilakukan untuk penanggulangannya, seperti penggunaan bahan alami untuk membantu proses penyembuhan. Indonesia kaya akan tumbuhan alam yang berpotensi sebagai agen antikanker, salah satunya adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides*). Dari penelitian yang telah dilakukan, daun sirsak (*Annona muricata L.*) mengandung

senyawa *acetogenin* yang berperan sebagai agen sitotoksik sel kanker (Patel & Patel, 2016)<sup>4</sup>. Pada penelitian yang dilakukan oleh Lubis dan Febriansyah (2016)<sup>5</sup> menyatakan bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 306µg/ml, tetapi dalam penelitian ini belum dilakukan uji antimigrasi pada sel kanker MCF-7. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji potensi antimigrasi ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) terhadap kultur sel kanker kolon WiDr. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk mengembangkan pengobatan alternatif dalam terapi kanker.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

**Alat :** Penelitian menggunakan *cultur dish*, pipet tip, mikropipet, *96 wellplate*, *24*

*well plate*, sentrifuse, mikroskop, gelas beker, inkubator, dan kamera.

**Bahan :** Penelitian menggunakan ekstrak mentah etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides*), sel kanker kolon WiDr, reagen MTT, *stopper*, media RPMI, PBS, tripsin, FBS.

### **Jalannya Penelitian**

#### **Uji Sitotoksik MTT**

Uji sitotoksik MTT dilakukan dengan cara terlebih dahulu menanam sel pada *96 well plate* dengan jumlah sel per sumuran sebanyak  $5 \times 10^3$ . Kemudian sel diinkubasi sampai menjadi konfluen. Sel yang sudah konfluen kemudian dicuci dengan PBS lalu dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) dan Doxorubicin sebanyak  $100 \mu\text{L}$ /sumuran, kemudian diinkubasi dalam suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam sampai efek sitotoksik terlihat.

Kontrol yang digunakan dalam uji sitotoksik MTT antara lain adalah kontrol

media, kontrol sel, dan kontrol positif dengan menggunakan obat antikanker Doxorubicin. Pemilihan Doxorubicin sebagai kontrol positif dikarenakan sel kanker kolon WiDr bersifat resisten dengan pemberian *5-FU*<sup>6</sup>. Setelah efek sitotoksik terlihat, kemudian diberikan MTT sebanyak  $100\mu\text{L}$  tiap sumuran dan diinkubasi selama 4-6 jam agar terbentuk kristal formazan. Saat kristal formazan telah terbentuk kemudian ditambahkan *stopper* dan dilapisi dengan aluminium foil selama satu malam di tempat yang tertutup. Sel yang telah didiamkan semalam kemudian dibaca absorbansinya dengan *ELISA reader* pada gelombang cahaya 595 nm.

#### **Uji Antimigrasi**

Uji antimigrasi dilakukan dengan cara terlebih dahulu menanam sel kanker kolon WiDr pada *24 well plate* dengan jumlah sel per sumuran sebanyak  $2 \times 10^4$ . Sel diinkubasi sampai konfluen 80%. Setelah sel konfluen keudian dibuat

goresan secara vertikal menggunakan *yellow tip* dengan luas yang sama. Sel yang telah digores kemudian diberi ekstrak etanol daun bandotan dan Doxorubicin dengan konsentrasi  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{3}{4}$  nilai  $IC_{50}$ . Setelah semua prosedur dilakukan, sel kembali diinkubasi dalam inkubator dan diamati setiap 12 jam.

### **Analisis Hasil**

Teknik analisis data dari uji sitotoksik ekstrak etanol daun sirsak ini dianalisis nilai  $IC_{50}$ -nya dengan menggunakan regresi linier dari log konsentrasi sedangkan data yang diperoleh dari uji antimigrasi ekstrak etanol daun sirsak dianalisis dengan menggunakan program pengolah data SPSS yaitu uji ANOVA satu jalan (One way ANOVA), karena pada penelitian kali ini sampel terdiri dari beberapa kelompok yang berbeda.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas

Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

### **Hasil pengamatan uji sitotoksik daun bandotan (*Ageratum conyzoides*)**

Pada pengamatan uji sitotoksik didapatkan hasil terjadinya perubahan warna ungu pada sel yang ditanam dalam *96 well plate*. Warna ungu ini menunjukkan adanya pembentukan kristal formazan hasil dari reduksi suksinat tetrazolium<sup>7</sup>. Kristal ini merupakan produk berwarna dari hasil substrat metabolik sel hidup, sehingga dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *ELISA reader*. Persentase sel yang hidup dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Sel hidup} = \frac{(A-C)-(B-C)}{(B-C)} \times 100 \%$$

Keterangan :

A : Rata-rata absorbansi perlakuan, B : Rata-rata absorbansi kontrol sel, C : Rata-rata absorbansi media

Persentase sel hidup ini dihitung dengan menggunakan regresi linier untuk mencari nilai IC<sub>50</sub> dari larutan uji. Nilai IC<sub>50</sub> yang didapatkan nantinya akan digunakan sebagai acuan pemberian konsentrasi pada uji antimigrasi pada sel kanker kolon WiDr.

**Tabel 1.** Viabilitas sel WiDr dengan perlakuan EDB

<b>Konsentrasi (µg/ml)</b>	<b>Rata-rata Absorbansi Sampel</b>	<b>Viabilitas Sel (%)</b>
160	1,10 ± 0,06	91
320	1,05 ± 0,01	84
500	0,96 ± 0,02	70
640	0,88 ± 0,14	58
800	0,83 ± 0,08	50

**Tabel 2.** Rata-rata Absorbansi kontrol sel perlakuan Doxorubicin

<b>Rata-rata Absorbansi</b>	Kontrol Sel 1,1606
	Kontrol Media 0,5101

Berdasarkan hasil uji sitotoksik tunggal EDB, konsentrasi ekstrak terendah 160 µg/mL mampu membunuh 9% sel WiDr, sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu 800 µg/ml mampu membunuh 50% sel WiDr. Adapun nilai IC<sub>50</sub> EDB adalah 794,029 µg/ml. Data ini menunjukkan penurunan viabilitas sel berbanding lurus dengan kenaikan pemberian konsentrasi ekstrak yang mengikuti persamaan regresi linier  $y = -0,025x + 75,36$ . Sel kanker yang diberi ekstrak dengan konsentrasi paling rendah hanya dapat membunuh sel kanker yang sedikit, demikian juga jika konsentrasi EDB ditingkatkan maka akan membunuh sel kanker semakin banyak.

**Tabel 3.** Viabilitas sel WiDr terhadap Doxorubicin

<b>Konsentrasi (µg/ml)</b>	<b>Rata-rata Absorbansi Sampel</b>	<b>Viabilitas Sel (%)</b>
75	0,75 ± 0,05	57
150	0,80 ± 0,006	45
200	0,88 ± 0,01	38

Nilai  $IC_{50}$  Doxorubicin dalam efek sitotoksik pada sel kanker kolon WiDr jauh lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak etanol daun bandotan, yaitu  $10,73\mu\text{g/mL}$  sehingga potensi ekstrak daun bandotan lebih rendah dibandingkan Doxorubicin. Namun, bukan berarti ekstrak etanol daun bandotan tidak mempunyai aktivitas antikanker, karena nilai  $IC_{50}$  yang terletak diantara  $100\text{--}1000\mu\text{g/ml}$  menunjukkan bahwa ekstrak tersebut dapat diklasifikasikan sebagai agen sitotoksik kanker yang *moderate*, artinya ekstrak etanol daun bandotan ini masih bisa dikatakan sebagai agen antikanker karena efek toksisitasnya. Toksisitas adalah kemampuan suatu senyawa yang dapat menimbulkan kerusakan pada sel. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maharani (2017) menyebutkan bahwa ekstrak etanol utuh yang masih memiliki senyawa polar, non polar dan semi polar dapat menghambat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak yang telah dipisahkan fraksi-fraksinya

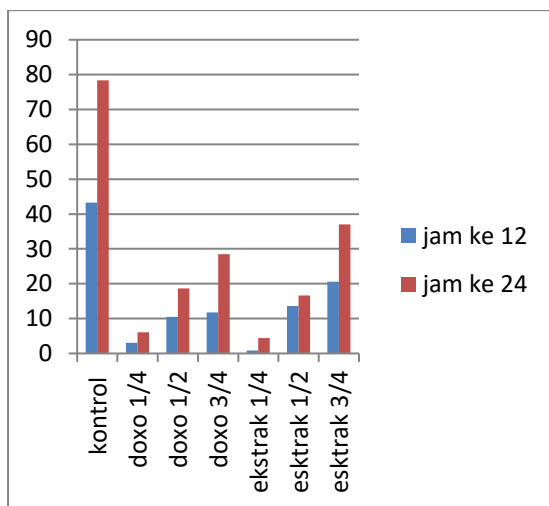
karena senyawa polar, non polar dan semi polar tersebut akan bekerja secara sinergis bersama-sama untuk menghambat aktivitas sel kanker.

Efek sitotoksik suatu tumbuhan pada dasarnya disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan tersebut seperti alkaloid, flavonoid, glikosid, saponin, dan tanin (Amadi, *et al.*, 2012)<sup>6</sup>. Pada penelitian yang lain menyebutkan bahwa flavonoid adalah salah satu senyawa yang berperan besar dalam kemampuan sitotoksik terhadap sel kanker. Cara kerja flavonoid dalam kemampuan sitotoksik dilaporkan oleh Ren (2003) bahwa senyawa flavonoid berperan dengan cara menghambat kinerja semua Cdk yang merupakan regulator dari daur sel. Sedangkan tanin dan saponin berperan dengan cara menghambat replikasi DNA ( Yildirim dan Kutlu, 2015)<sup>7</sup>.

## Hasil pengamatan uji antimigrasi

Pengamatan uji antimigrasi ekstrak etanol daun bandotan terhadap sel kanker kolon WiDr dilakukan secara berkala setiap 12 jam. Hasil rerata perhitungan aktivitas migrasi sel kanker kolon WiDr diamati pada Gambar 1.

**Gambar 1.** Persentase penutupan migrasi sel WiDr



Hasil persentase penutupan yang ditunjukkan oleh gambar 1 menunjukkan aktivitas migrasi sel kanker pada kontrol sangat tinggi. Hal ini terjadi karena pada perlakuan kontrol tidak diberikan larutan uji apapun. Sedangkan hasil penutupan migrasi dengan persentase terkecil ditunjukkan oleh perlakuan yang diberikan

ekstrak etanol daun bandotan dengan konsentrasi  $1/4$  IC<sub>50</sub>.

**Tabel 4.** Hasil analisis menggunakan *one way anova* penutupan migrasi sel kanker WiDr pada jam ke 12 dan 24

Penutupan	% Migrasi	% Migrasi
	Jam ke-12	Jam ke-24
Kontrol	43,27 ± 1,22	78,32 ± 3,06
Doxo 1/4	3,00 ± 1,91	6,11 ± 5,81
Doxo 1/2	10,52 ± 2,14	18,69 ± 3,96
Doxo 3/4	11,78 ± 2,91	28,48 ± 6,18
Ekstrak 1/4	0,81 ± 0,78	4,42 ± 2,94
Ekstrak 1/2	13,57 ± 2,22	16,60 ± 2,72
Ekstrak 3/4	20,62 ± 5,66	37,00 ± 0,85
<b>Signifikansi</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>

Tabel 4 memperlihatkan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun bandotan pada  $1/4$  IC<sub>50</sub> menunjukkan persentase penutupan migrasi yang paling kecil jika dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun bandotan mampu menghambat migrasi sel kanker colon WiDr dengan konsentrasi yang sangat kecil yaitu  $1/4$  IC<sub>50</sub>.



## DAFTAR PUSTAKA



Esktrak  $1/4$  IC<sub>50</sub> jam ke- 0



Esktrak  $1/4$  IC<sub>50</sub> jam ke- 24

**Gambar 2.** Penutupan *scarath wound* healing sel kanker WiDr

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 794,029 µg/ml. Pada pengamatan selama 24 jam ekstrak etanol daun bandotan memiliki aktivitas antimigrasi pada konsentrasi  $1/4$  IC<sub>50</sub>. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan terbukti dapat digunakan sebagai agen kemopreventif untuk pencegahan kanker secara in vitro.

1. Kemenkes, 2010. Buku Acuan Pencegahan Kanker Payudara dan Kanker Leher Rahim. Direktorat pengendalian penyakit tidak menular. Ditjen PP & PL. Jakarta : Kementrian kesehatan RI
2. CCRC, (2014).Kanker Kolon WiDr. *Cancer Chemopreventive Research Center* Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
3. Price A. Sylvia., Wilson M. Lorraine.(2006). Buku Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Jakarta: EGC. Hlm.150-154.
4. Sunarjo H. (2005). Sirsak dan Srikaya: Budidaya untuk Menghasilkan Buah Prima. Penebar Swadaya: Depok
5. Diferiansyah, O. (2015) ‘Effect the soursop leaves extract as an anticancer’, 4, pp. 70–74.
6. Amadi, B. A., \*Duru, M.K.C., and Agomuo, E.N. (2012). Chemical profiles of leaf, stem, root and flower of *Ageratum conyzoides*. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2 (4):428-432
7. Yildirim I. And Kutlu Turkan,(2015). ‘Anticancer Agents : Saponin and Tannin. *International Journal of Biological Chemistry*, 9:332-340.’