

Efek Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) dalam Melawan Sel Kanker Payudara T47D

Yurnanda Ambar Mustika^{1*}, Haryoto^{1*}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: yurnandaa@gmail.com

*Email: haryotosaroyo@gmail.com

Abstrak

Keywords:
Sitotoksik;
Antikanker;
Sirsak; *Annona muricata*; T47D.

Kanker payudara adalah keganasan yang berawal dari jaringan payudara. Kanker sudah diderita oleh 1,4% masyarakat Indonesia pada tahun 2013. Pengobatan kanker dilakukan dengan operasi, kemoterapi, dan radiasi. Pengobatan tersebut mahal dan memiliki banyak efek samping, sehingga dibutuhkan pengobatan alami. Sirsak (*Annona muricata*) memiliki aktivitas antikanker karena bijinya mengandung senyawa asetogenin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui IC_{50} dari ekstrak etanol biji sirsak terhadap sel T47D. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%. Uji sitotoksik dilakukan dengan membuat tiga seri konsentrasi yaitu 62,50; 250; serta 500 $\mu\text{g/mL}$ dari ekstrak biji sirsak. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT assay. MTT assay didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium berwarna kuning menjadi kristal formazan yang berwarna ungu. Jumlah formazan yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel yang masih hidup setelah perlakuan. Jumlah formazan selanjutnya dibaca absorbansinya menggunakan ELISA reader. Hasil dari penelitian diperoleh persamaan regresi linier untuk ekstrak biji sirsak yaitu $y = -151,40x + 466,80$. Persamaan tersebut menghasilkan IC_{50} ekstrak biji sirsak terhadap sel T47D sebesar 67,33 $\mu\text{g/mL}$.

1. PENDAHULUAN

Kanker adalah terjadinya pertumbuhan sel yang tidak terkendali, invasi pada jaringan lokal, serta bermetastasis ke organ tubuh yang lain. Kanker payudara adalah keganasan yang berawal dari jaringan payudara (Dipiro *et al.*, 2005). Kanker sudah diderita oleh 1,4% atau 347.792 masyarakat Indonesia pada tahun 2013 (Kementrian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan, 2015). Pengobatan kanker dilakukan dengan operasi, kemoterapi, dan radiasi, namun masih banyak efek samping dan memerlukan biaya yang tinggi, untuk itu dibutuhkan pengobatan secara alami (Arifianti *et al.*, 2014).

Pengobatan secara alami untuk pengobatan kanker bisa menggunakan ekstrak tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antikanker, antitumor atau antimetastatik. Sirsak (*Annona muricata* L.) adalah tanaman daerah tropis yang dapat digunakan dalam pengobatan demam, nyeri, penyakit kulit, infeksi bakteri, hipertensi, diabetes serta kanker (Coria-Tellez *et al.*, 2016). Biji Sirsak mengandung senyawa asetogenin seperti murikatakin, annonasin, korosolon, solamin, isoannonasin, goniotalamis, dan gigantetrosin yang memiliki aktivitas sebagai antikanker (Moghadamtousi *et al.*, 2015). IC_{50} ekstrak biji sirsak terhadap sel T47D sebesar $20,36 \pm 1,58 \mu\text{g/mL}$ (Arifianti *et al.*, 2014).

Penelitian mengenai aktivitas sitotoksik biji sirsak terhadap sel T47D belum banyak dilakukan, sehingga penelitian ini dilakukan juga untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol biji sirsak terhadap sel T47D sehingga menambah referensi mengenai aktivitas ekstrak etanol biji sirsak terhadap sel kanker payudara T47D.

2. METODE

Penelitian mengenai efek sitotoksik ekstrak etanol daun biji sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap sel T47D tergolong kategori penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian berupa *Post Test Only with Control Group*. Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah neraca analitik (Precisa XT 120A), blender, almari pengering, bejana maserasi, corong *buchner*, kompresor, *rotatory evaporator* (Heidolph), *water bath*, *Elisa reader* (ELX 800 Bio Tech), *96-well plate* (Iwaki), mikroskop kultur (CKX41 Olympus), *Cytotoxic Safety Cabinet* *Cyoculture*, inkubator CO₂ (Binder), sentrifuge (Sigma), alat-alat gelas (pyrex), tissue culture flask (Nunclon), counter, mikropipet (Soccorex), blue tip dan yellow tip (Greiner), effendorf, tabung kolonial steril (Nunclon). Penelitian ini membutuhkan bahan-bahan seperti biji sirsak, etanol 96%, sel T47D, media kultur RPMI 1640 (Gibcobl), DMSO (Dimethyl Sulfoxide), reagen MTT, SDS 10% (Sodium Dicyetyl Sulfate).

Penelitian uji sitotoksik terhadap ekstrak biji sirsak ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Kimia Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Biji sirsak diperoleh dari warung penjual jus di daerah Universitas Muhammadiyah Surakarta dan sekitarnya. Ekstraksi dilakukan dengan metode perendaman (maserasi) dalam pelarut etanol 96% (1:7,5). Metode MTT dilakukan untuk uji sitotoksiknya. Metode ini berdasarkan pada perubahan reagen MTT menjadi kristal formazan berwarna ungu.

Panen sel T47D dilakukan apabila kultur sel sudah mencapai sekitar 80%. Media dalam kultur sel di buang. Sel T47D dicuci dengan menggunakan larutan PBS dan diresuspensikan perlahan. Sebanyak 3 mL larutan tripsin EDTA 0,25% ditambahkan ke dalam sel dan diinkubasi selama 3-5 menit. Inkubasi ini dilakukan agar EDTA dapat memecah sel dengan optimal. Sel kemudian dipindahkan ke tabung konikal steril. PBS ditambahkan hingga 10 mL. Sel dicuci dengan media yang sama sebanyak dua kali, baru kemudian jumlah sel dihitung di bawah mikroskop.

Larutan uji dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak etanol biji sirsak dalam 100 µL DMSO kemudian ditambahkan media RPMI hingga 10 mL. sebanyak. ditambahkan media RPMI ad 1 mL. seri konsentrasi dari larutan uji dibuat sebesar 62,5; 125,0; dan 250 µg/mL

Uji sitotoksik dengan metode MTT dilakukan dengan mengisi *96-well plate* dengan 100 µL suspensi sel kanker T47D, sisakan beberapa sumuran untuk kontrol pelarut. Inkubasi dilakukan selama 24 jam (hingga konfluen 80%). Sel yang telah konfluen selanjutnya medianya dibuang dan ditambah dengan 100 µL masing-masing seri konsentrasi dari ekstrak etanol biji sirsak. Ditambahkannya pula 100 µL media pada sumuran yang lain sebagai kontrol sel dan kontrol pelarut, diinkubasi selama 24 jam. setelah 24 jam, medianya dibuang dan ditambahkan reagen MTT 0,3% sebanyak 100 µL pada setiap sumuran. Didiamkan selama 2 jam. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 100 µL SDS 10% dalam 0,01N HCl. Setelah 24 jam, dibaca dengan menggunakan *Elisa reader* pada panjang gelombang 550 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

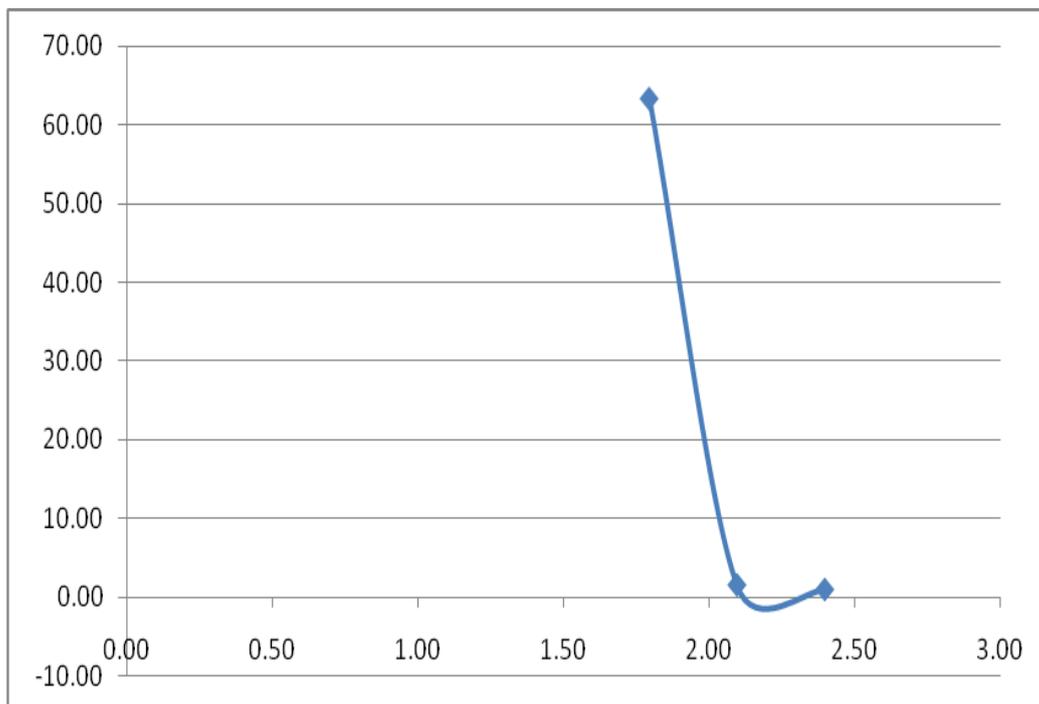
Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling mudah dengan rendemen ekstraksi tinggi. Maserasi dilakukan dengan merendam material di dalam pelarut. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena memiliki kemampuan ekstraksi yang luas untuk menyari metabolit sekunder. Etanol 96% juga merupakan pelarut pilihan utama yang digunakan untuk mengekstraksi metabolit sekunder yang strukturnya belum diketahui untuk tujuan skrining (Saifudin, 2002). Biji sirsak dikeringkan untuk menghilangkan kandungan air dan di haluskan menggunakan blender agar menjadi partikel yang lebih kecil. Penghalusan material dilakukan supaya pelarut bisa mencapai tempat senyawa yang akan di ekstrak berada di dalam sel atau ruang antar sel (Saifudin, 2002).

Serbuk biji sirsak sebanyak 1,43 gram direndam dalam 10,725L etanol 96% (perbandingan 1:7.5). Setelah emparasi campuran bahan dan pelarut disaring menggunakan corong buchner untuk memisahkan ampas dengan larutan. Larutan yang diperoleh di evaporasi pada suhu 60°C untuk menghilangkan pelarut etanol dari ekstrak. Ekstrak yang diperoleh diuapkan diatas water bath agar sisa pelarut yang masih tertinggal bisa menguap semua. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 63,085 gram, sehingga rendemen ekstraksi yang diperoleh sebesar 4,41%.

Uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol biji sirsak dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak etanol biji sirsak terhadap sel T47D. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT *assay*. Metode ini berdasarkan pada banyaknya jumlah formazan yang terbentuk akibat perubahan garam tetrazolium (reagen MTT) menjadi formazan berwarna ungu karena adanya pembelahan cincin tetrazolium oleh suksinat dehidrogenase di dalam mitokondria (Fotakis *and* Timbrell, 2005).

Ekstrak etanol daun ashitaba, biji sirsak, dan kombinasinya dengan metotreksat diujikan pada sel kanker payudara T47D. Pengamatan mikroskopis terlihat bahwa sel T47D yang masih hidup dan yang sudah mati akan memiliki perbedaan. Sel yang masih hidup menyerupai daun, inti sel transparan, warnanya cerah, dan masih menempel pada sumuran dalam bentuk memanjang dan bergerombol. Sedangkan pada sel yang mati berbentuk bulat, berwarna hitam, dan melayang pada media.

Aktivitas sitotoksik ditentukan dengan menghitung nilai IC_{50} dari ekstrak etanol biji sirsak. Data absorbansi yang diperoleh dari pembacaan dengan ELISA reader digunakan untuk perhitungan prosentase jumlah sel hidup. Persamaan kurva baku pengaruh konsentrasi terhadap respon prosentase sel hidup diperoleh seperti pada gambar berikut:



Gambar 1. Persamaan regresi linier. Pengaruh perubahan konsentrasi terhadap prosentase sel hidup

Gambar 1 menunjukkan hubungan antara log konsentrasi dari ekstrak etanol biji sirsak dan metotreksat dengan prosentase sel hidup rata-rata. Penelitian menunjukkan hasil yang fluktuatif, sehingga perubahan konsentrasi ekstrak biji sirsak tidak memberikan respon yang linier terhadap penurunan persen sel hidup.

Persamaan regresi linier yang diperoleh pada Gambar 1 digunakan untuk perhitungan nilai IC₅₀. IC₅₀ menunjukkan konsentrasi untuk menghambat 50% dari populasi sel hidup. IC₅₀ dihitung dari persamaan regresi linier sebagai antilog dari x dengan y=50. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa IC₅₀ dari ekstrak etanol biji sirsak pada sel T47D sebesar 20,36 ± 1,58 µg/mL pada sel T47D (Arifianti *et al.*, 2014). IC₅₀ hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. IC₅₀ ekstrak etanol daun ashitaba, biji sirsak, dan metotreksat terhadap sel T47D

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata % sel hidup	Persamaan kurva baku	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak biji sirsak	62,50	63,41	Y= -104,03x + 240,46	67,61
	125	1,58		
	250	0,99		

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol biji sirsak terhadap sel T47D adalah sebesar 67,61 µg/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 67,61 µg/mL dari ekstrak etanol mampu menghambat 50% populasi sel T47D. Suatu ekstrak memiliki aktivitas sitotoksik yang poten apabila nilai IC₅₀-nya kurang dari 100 µg/mL. Aktivitasnya menjadi moderat apabila IC₅₀-nya berada antara 100-1000 µg/mL. Ekstrak tidak memiliki aktivitas sitotoksik jika IC₅₀ lebih dari 1000 µg/mL (Prayong *et al.*, 2008). Hasil penelitian diperoleh nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol biji sirsak sebesar 67,61. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak biji sirsak memiliki aktivitas sitotoksik yang poten dalam menghambat sel kanker payudara T47D.

4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki IC₅₀ sebesar 67,61 µg/mL terhadap sel T47D.

REFERENSI

- Arifianti L., Sukardiman, Studiawan H., Rakhmawati, Megawati L., 2014, Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel Kanker Mamalia Secara In Vitro, Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, 1(2), p.1.
- Coria-Tellez A.V., Montalvo-Gonzalez E., Yahia E.M., and Obledo-Vazquez E.N., 2016, *Annona muricata*: A Comprehensive Review on its Traditional Medicinal Uses, Phytochemicals, Pharmacological Activities, Mechanisms of Action and Toxicity, Arabian Journal of Chemistry.
- DiPiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Matzke G.R., Wells B.G., and Posey L.M., 2008, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, McGraw-Hill, New York.
- Fotakis, G., and Timbrell, J.A., 2005, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride, *Toxicology Letters*, 160, pp. 171–177.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2015, Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Kementerian Kesehatan Indonesia, pp.2-3.

- Moghadamtousi S.Z., Fadaeinasab M., Nikzad S., Ali H.M., and Kadir H.A., 2015, *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities, *International Journal of Molecular Sciences*, 16, pp. 15625-15658.
- Prayong, P., Barusrux, S., Weerapreeyakul, N., Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants, *Fitoterapia*, 79, pp. 598–601.
- Saifudin, A., 2002, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep Dan Teknik Pemurnian*, deepublish punlisher, Yogyakarta.