

Uji Sitotoksik 3 Fraksi Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap Sel Kanker Serviks

Dina Ayu Amalia^{1*}, Haryoto²

^{1,2}Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: dinaayuamalia@gmail.com

Abstrak

Keywords:
Ashitaba;
sitotoksik; sel
HeLa; fraksi,
MTT Assay; IC₅₀.

*Kanker serviks merupakan penyakit yang cukup banyak diderita oleh wanita. Ashitaba (*Angelica keiskei*) memiliki banyak kandungan senyawa, diantaranya santoangelol dan 4-Hidroksiderisin yang dilaporkan memiliki efek sitotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dari ketiga fraksi daun ashitaba terhadap sel kanker serviks HeLa. Penelitian dimulai dari ekstrak etanol daun ashitaba yang difraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut organik n-heksan dan etil asetat, sehingga diperoleh fraksi non polar, semi polar, dan polar. Ketiga fraksi diuji efek sitotoksik terhadap sel HeLa menggunakan metode MTT assay. Seri konsentrasi ketiga fraksi yang digunakan masing-masing yaitu 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 µg/mL. Kontrol positif menggunakan paclitaxel. Data yang diperoleh berupa absorbansi yang berbanding lurus dengan jumlah persentase sel hidup. Aktivitas sitotoksik ditunjukkan dengan nilai IC₅₀. Hasil IC₅₀ menggunakan metode MTT Assay fraksi semi polar sebesar 351,99 µg/ml, memiliki aktivitas sitotoksik kategori moderat. Sedangkan fraksi yang lain tidak dapat diukur nilai IC₅₀nya. Sementara kontrol positif paclitaxel mempunyai nilai IC₅₀ 9,72 µg/ml. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin potensial sebagai antikanker.*

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang menjadi salah satu pusat keanekaragaman hayati di dunia dan mendapat julukan sebagai negara *megabiodiversity* (Triyono, 2013). Terdapat sekitar 25.000-30.000 spesies tanaman yang tumbuh di Indonesia dengan persentase tanaman di Asia sebanyak 90% dan 80% dari tanaman yang ada di dunia (Erdelen, 1999). Obat modern yang berkembang saat ini sebagian besar berasal dari tumbuhan (Hoareau dan DaSilva, 1999). Salah satu sumber potensial sebagai obat kemoterapi adalah tumbuhan (Sukardiman, *et al.*, 2006). Kanker merupakan penyakit penyebab kematian kedua di negara berkembang (Jemal *et al.*, 2011). Kanker yang banyak diderita perempuan di Indonesia adalah kanker payudara dan kanker serviks, sementara untuk pria yaitu kanker paru dan kanker kolorektal (Kementerian kesehatan RI, 2016). Menurut *American Cancer Society*, kanker serviks diawali dari sel yang melapisi leher rahim yakni bagian bawah uterus (rahim). Penyakit ini merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia pada tahun 2013, yaitu sebesar 0,8% (Kementerian kesehatan RI, 2015). Salah satu yang banyak digunakan adalah tanaman ashitaba. *Angelica keiskei* atau biasa disebut ashitaba, merupakan spesies dari famili seledri. Berdasarkan penelitian, ashitaba dapat menginduksi terjadinya apoptosis pada sel kanker perut (Takaoka *et al.*, 2008).

2. METODE

2.1 Fraksinasi

Ekstrak ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades dengan etanol dengan perbandingan 1:4 hingga larut. Selanjutnya dipartisi dengan pelarut organik berurutan dimulai dari n-heksan terlebih dahulu, digojog hingga membentuk 2 lapisan kemudian dipisahkan dan diulang hingga beberapa kali. Fraksi aquades dipartisi dengan etil asetat, dilakukan hal yang sama seperti fraksi n-heksan, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dilanjutkan dikeringkan di atas *waterbath* hingga fraksi menjadi kental. Residu yang merupakan fraksi etanol:aquades sebagai fraksi polar.

2.2 Uji Sitotoksik terhadap sel HeLa

Selanjutnya, uji sitotoksik menggunakan metode MTT *assay*. Sel HeLa yang sudah konfluen 80% diujikan dengan fraksi polar, semi polar, dan non polar dengan seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 µg/mL. Dimasukkan seri konsentrasi sampel dari yang terendah sesuai dengan denah di *96 well-plate*. Kemudian diinkubasi 24-48 jam dan diamati adanya efek sitotoksik. Setelah itu dimasukkan reagen MTT ke dalam *96 well-plate*, kemudian diinkubasi selama 2 jam. Setelah inkubasi, ditambahkan larutan SDS 10% dalam 0,01 N HCl sebanyak 100 µL, plat dibungkus dengan kertas, disimpan satu malam pada tempat gelap dengan suhu kamar. Selanjutnya, dilakukan pembacaan absorbansi dengan *Elisa reader* pada panjang gelombang 550 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Fraksinasi

Metode yang digunakan untuk pemisahan ini adalah partisi cair-cair. Partisi cair-cair adalah suatu metode untuk menarik senyawa dari suatu campuran menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga terbentuk dua bagian yang mudah dipisahkan, salah satu pelarut yang digunakan adalah air (Schaller, 2013). Hasil kering yang diperoleh masing-masing fraksi dari ekstrak etanol daun *ashitaba* dapat dilihat sebagai berikut (Tabel 1).

Tabel 1. Berat kering hasil fraksinasi ekstrak etanol daun *ashitaba*

Fraksi	Berat (Gram)
Non Polar	2,52
Semi Polar	0,67
Polar	0,86

Berdasarkan tabel di atas hasil terbanyak diperoleh oleh fraksi non polar yaitu sebesar 2,52 gram. Hal ini dapat terjadi lebih banyak senyawa yang tertarik ke pelarut organik n-heksan dibanding dengan pelarut organik yang lain.

3.2. Uji sitotoksik

Sel HeLa yang masih hidup direaksikan dengan reagen MTT, membentuk kristal formazan yang tidak larut berwarna ungu. kristal tersebut melarut dengan penambahan larutan SDS, warna ungu yang semakin pekat berbanding lurus dengan banyaknya sel yang hidup. Diukur absorbansi pada *Elisa reader* dengan panjang gelombang 550 nm. Semakin besar nilai absorbansinya menunjukkan tingginya persentase sel hidup. Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antikanker dilihat dari nilai IC_{50} . Data pada Tabel 2 menunjukkan hasil perhitungan IC_{50} dari ekstrak dan masing-masing fraksi.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ uji sitotoksik

Sampel	Hasil		
	Regresi Linier	R ²	IC ₅₀
Fraksi Polar	Y= -0,227x + 109,86	0,0022	∞ µg/mL
Fraksi Semi Polar	Y= -76,025x +243,6	0,7043	351,99 µg/mL
Fraksi Non Polar	Y= -3,6472x +109,45	0,1186	5,75 x 10 ¹⁶ µg/mL

Berdasarkan tabel di atas fraksi semi polar memiliki nilai IC₅₀ paling kecil jika dibandingkan dengan fraksi yang lain yaitu sebesar 351,99 µg/mL. Nilai IC₅₀ dalam kisaran 100 hingga 1000 µg/mL termasuk memiliki aktivitas sitotoksik yang moderat yang digunakan sebagai kemopreventif (Prayong et al., 2008).

4. KESIMPULAN

Fraksi semi polar dari ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei*) menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 351,99 µg/mL menunjukkan efek sitotoksik moderat yang dapat digunakan sebagai pencegahan (kemopreventif) dan dapat menghambat pertumbuhan dari sel kanker.

REFERENSI

- American Cancer Society, 2017, *Cancer Facts for Women*, Terdapat di: <https://www.cancer.org/healthy/find-cancer-early/womens-health/cancer-facts-for-women.html> [Diakses pada 24 Januari 2018].
- Erdelen WR., Adimihardja K., Moesdarsono H., Sidik, 1999, Biodiversity, traditional medicine and the sustainable use of indigenous medicinal plants in Indonesia, *Indigenous knowledge and development monitor*, 7 (3), 3-6.
- Hoareau L., and DaSilva E.J., 1999, Medicinal Plants: A Re-emerging Health Aid, *Journal of Biotechnology*, 2 (2), 57-63.
- Jemal A., Bray F., Mellisa M., Ferlay J., Ward E., and Forman D., 2011, Global Cancer Statistics, *A Cancer Journal for Clinicians*, 61 (2), 69-90
- Kemendes RI, 2015, *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*, Kemendes RI, Jakarta.
- Kemendes RI, 2016, *Hilangkan mitos tentang kanker*, Terdapat di: <http://www.depkes.go.id/article/view/201407070001/hilangkan-mitos-tentang-kanker.html> [Diakses pada 24 Januari 2018].
- Prayong P, Barusrux S, Weerapreeyakul N., 2008, Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants, *Fitoterapia*, 79 (7): 598-601.
- Takaoka S., Hiroshige H., Kazuya O., and Nami I., 2008, Chalcones from *Angelica keiskei* Induce Apoptosis in Stomach Cancer Cells, *Journal of Herbs Spices & Medical Plants*, 14 (3-4), 166-174.

- Triyono K., 2013, Keanekaragaman Hayati dalam Menunjang Ketahanan Pangan, *Jurnal Inovasi Pangan*, 11 (1), 12-22.
- Schaller C.P., 2013, Solvent Partitioning (Liquid-Liquid Extraction), Terdapat di: [https://chem.libretexts.org/Demonstrations_and_Experiments/Basic_Lab_Techniques/Liquid-Liquid_Extraction/Solvent_Partitioning_\(Liquid_-_Liquid_Extraction\)](https://chem.libretexts.org/Demonstrations_and_Experiments/Basic_Lab_Techniques/Liquid-Liquid_Extraction/Solvent_Partitioning_(Liquid_-_Liquid_Extraction)) [Diakses pada 24 Januari 2018].
- Sukardiman, Ekasari W., and Hapsari P.P., 2006, Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kultur Sel Kanker Myeloma, *Media kedokteran hewan*, 22 (2), 104-111.