

EFEK EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SALUNG (*Psychotria viridiflora*) Reinw. ex. Blume PADA SEL KANKER SERVIKS HeLa

Arlina Ismaryani

Akademi Kebidanan Persada Palembang

ABSTRAK

Informasi Artikel :

Diterima : April 2018

Disetujui : Mei 2018

Dipublikasikan : Juni 2018

*Korespondensi Penulis :

Arlina401@gmail.com

Menurut *World Health Organization* (WHO), kanker serviks menduduki urutan kedua dari penyakit kanker yang menyerang perempuan di dunia dan urutan pertama untuk wanita di negara berkembang. Etiologi utama kanker serviks adalah infeksi persisten virus *Human Papilloma Virus* (HPV). Tumbuhan Salung telah dimanfaatkan secara turun temurun untuk mengobati berbagai macam penyakit. Tujuan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak dan fraksi daun salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) sebagai antiproliferasi dan penginduksi apoptosis pada sel kanker serviks HeLa. Penelitian ini termasuk penelitian eksperimen dengan desain penelitian *post test only control design*. Subjek pada penelitian ini adalah kultur sel HeLa. Konsentrasi ekstrak dan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi methanol air menggunakan konsentrasi 640; 320; 160; 80; 40 µg/ml, sedangkan *cisplatin* menggunakan konsentrasi 200; 100; 50; 25 µg/ml. Hasil penelitian didapatkan nilai IC_{50} ekstrak 380,7 µg/ml, fraksi n-heksan sebesar 229,3 µg/ml, fraksi etil asetat sebesar 116,8 µg/ml, dan fraksi methanol air sebesar 562,8 µg/ml, sehingga fraksi etil asetat mempunyai aktivitas sitotoksik kategori cukup aktif dilihat dari nilai IC_{50} . Dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi daun salung memiliki efek sitotoksik, berperan sebagai antiproliferasi dan penginduksi apoptosis pada sel kanker serviks HeLa.

Kata Kunci: Daun Salung, Ekstrak, Fraksi

ABSTRACT

According to the *World Health Organization* (WHO), cervical cancer ranks second of cancer that affects women in the world and the first order for women in developing countries the main etiology of cervical cancer is persistent infection of the virus *Human Papilloma virus* (HPV). Plant Salung have been used for generations to treat various diseases. The purpose of the study to determine the effects of leaf extracts and fractions salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) as the anti-proliferation and inducer of apoptosis in HeLa cervical cancer cells. This research was experimental research design with *post test only control design*. Subjects in this study were HeLa cell. Concentration of extracts and n-hexane fractions, ethyl acetate fraction, the fraction of water using a methanol concentration of 640; 320; 160; 80; 40 µg/ml, while *cisplatin* using a concentration of 200; 100; 50; 25 µg/ml. The results showed IC_{50} extract value 380,7 µg/ml. n-hexane fraction amounted to 229,3 µg/ml. ethyl acetate fraction of 116,8 µg/ml, and amounted to 562,8 µg/ml fraksimethanol water, so that the ethyl acetate fraction had enough categories active cytotoxic activity seen from the IC_{50} . It can be concluded that the extracts and fractions of leaves salung have a cytotoxic effect, acts as an anti-proliferation and inducer of apoptosis in HeLa cervical cancer cell.

Keywords: Leaf Salung, extracts, fraction

PENDAHULUAN

Menurut *World Health Organization* (WHO), kanker serviks menduduki urutan kedua dari penyakit kanker yang menyerang perempuan di dunia dan urutan pertama untuk wanita di negara berkembang. Dari data badan kesehatan dunia diketahui terdapat 493.243 jiwa per tahun penderita kanker serviks baru di dunia dengan angka kematian karena kanker ini sebanyak 273.505 jiwa per tahun. Di Indonesia, terdapat 90-100 kasus kanker serviks per 100.000 penduduk. Kasus baru kanker serviks ditemukan 40-45 kasus per hari (Pitkin *et al.*, 2003).

Etiologi utama kanker serviks adalah infeksi persisten virus *Human Papilloma Virus* (HPV). Infeksi dengan HPV mengakibatkan terjadinya integrasi genom DNA HPV dengan *host* sehingga terjadi gangguan atau hilangnya gen E2, virus yang menyebabkan terekspresinya onkogen virus E6 dan E7. Produk E6 dan E7 menghambat aktivitas tumor supresor p53 dan protein rb (Chakrabarti and Krishna, 2003). P53 berfungsi sebagai faktor transkripsi gen-gen yang terlibat pada fase *checkpoint* siklus sel dan proses apoptosis. Proliferasi sel yang tidak terkontrol serta penurunan apoptosis merupakan salah satu fungsi seluler yang berubah pada kanker serviks yang diakibatkan degradasi (Borges, *et al.*, 2004).

Pengobatan kanker serviks sering dilakukan dengan berbagai cara, antara lain, operasi atau pembedahan, penyinaran atau radiasi, kemoterapi serta yang sekarang berkembang adalah imunoterapi. Namun, terapi pembedahan tidak dapat dilakukan khususnya pada sel kanker yang telah menyebar, sedangkan kemoterapi dan radiasi juga memiliki beberapa keterbatasan. Kemampuan sinar yang biasa digunakan untuk radiasi mengalami penurunan efektivitas seiring peningkatan ukuran tumor, karena penambahan dosis yang diberikan melebihi batas toksisitasnya pada jaringan dan organ normal manusia. Penggunaan obat kimia seperti kemoterapi mengalami kegagalan untuk menginduksi kematian sel kanker secara terprogram (Pitkin *et al.*, 2003).

Berdasarkan fakta-fakta tersebut pengembangan obat antineoplastik baru menjadi isu kunci dan pilihan strategis untuk menggantikan pengobatan kanker lama atau sebagai usaha meningkatkan sensitivitas modalitas terapi yang telah ada sebelumnya. Salah satu alternatif pengobatan antikanker yang sudah dikembangkan adalah obat herbal (Sudarsono, 2002).

Menurut banyak penelitian golongan senyawa kimia dalam herbal *medicine* adalah

alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, dan senyawa-senyawa terpen mempunyai potensi antikanker. Senyawa alkaloid mampu mengikat tubulin (protein penyusun mikrotubulus) sehingga dapat menghambat polimerase protein sehingga mengganggu proliferasi sel (Harborne, 2004).

Flavonoid menghambat ekspresi enzim topoisomerase I dan topoisomerase II yang berperan dalam katalisis pemutaran dan relaksasi DNA. Inhibitor enzim topoisomerase akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan menyebabkan DNA terpotong sehingga mengalami kerusakan. Kerusakan DNA dapat menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis seperti Bax dan menurunkan ekspresi protein antiapoptosis yaitu Bcl-2 (Roth, *et al.*, 1986).

Penelitian antikanker telah dilakukan terhadap familia *rubiaceae* antara lain tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans* Merr & Perry), tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia*), Gambir (*Uncaria gambir*), Biji kopi (*Coffea* sp.) (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007).

Berdasarkan penelitian kandungan senyawa antikanker pada familia *rubiaceae* adalah tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans* Merr & Perry) mengandung senyawa flavonoid, tanin dan tokofenol (Budiani, dkk., 2007). Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia*) mengandung flavonoid, skopoletin, antrakuinon, dan alkaloid (Hermansyah, dkk., 2010). Gambir (*Uncaria gambir*) mengandung senyawa flavonoid, dan sejumlah alkaloid (tanin, turunan dihidro-dan oksonya), katekin serta zat penyamak (Fitri, 2008). Biji kopi (*Coffea* sp.) mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid (Haqea, *et al.*, 2013).

Penapisan aktivitas senyawa aktif antikanker dapat dilakukan dengan cara *kemotaksonomi*, yaitu didasarkan pada kemiripan kandungan kimia pada familia atau genus tumbuhan yang sama. Tumbuhan Salung telah dimanfaatkan secara turun temurun untuk mengobati berbagai macam penyakit (Salni, 2009). Tumbuhan salung juga termasuk familia *rubiaceae* diduga mengandung unsur senyawa yang sama sehingga penelitian ini diajukan untuk mengetahui fraksi-fraksi senyawa antikanker serta efek ekstrak dan fraksi daun salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) pada sel kanker serviks HeLa.

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 µl, botol duran 100 ml, *conical tube*, pipet pasteur steril atau mikropipet 1000 µl, 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 CO₂, penangas air (37°C) dan FACS-Calibur, simplisia dari daun salung, pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol air, cisplatin, sel HeLa yang merupakan koleksi dari laboratorium parasitologi UGM, FBS (*Fetal Bouvin Serum*) 10%, penisilin-streptomisin 1%, fungizone 0,5%, tripsin-EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic acid*) 0,25%, PBS dan MK (DMEM/RPMI), 3-(4,5-dimetilthiazol-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 Palembang.

Penentuan Golongan Senyawa

Golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi akan ditentukan dengan uji KLT. Prosedur uji KLT yang dilakukan dengan cara, ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol air dengan konsentrasi 1% ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄ ukuran 1 cm x 6 cm, kemudian dikembangkan dengan eluen (pelarut n-heksan sebanyak 8 ml dicampur dengan pelarut etil asetat sebanyak 2 ml), biarkan hingga eluen sampai diujung plat silika gel F₂₅₄ lalu dikeluarkan dan biarkan mengering. Plat silikagel F₂₅₄ disemprotkan dengan larutan H₂SO₄ 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 disemprotkan dengan etanol 70%, sel dalam cryotube dimasukkan ke dalam LAF dan dipindahkan dengan menggunakan mikropipet ke dalam tabung conikel yang berisi suspensi sel disentrifuge 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 CO₂ 5% dengan suhu 37°C. Kondisi sel selanjutnya diamati dibawah mikroskop kemudian diinkubasi pada inkubator CO₂ 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 CO₂, Tripsin-EDTA diinaktivasi dengan menambahkan media kultur kemudian suspensi sel diresuspendi lalu suspensi dipindahkan pada *conical tube*. Jumlah sel dihitung dengan menggunakan *hemocytometer* dan *cell counter*. Rumus Perhitungan sel HeLa yaitu:

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

Pembuatan Larutan Stok Uji Ekstrak dan Fraksi

Sebelum dilakukan uji sitotoksik, 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 (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) kemudian ditambah DMSO atau tween sebanyak 30µl dan ditambahkan dengan media DMEM hingga 1000µl, sehingga diperoleh konsentrasi tertentu. Dari konsentrasi larutan tersebut kemudian dibuat seri kadar dan larutan dalam berbagai kadar tersebut dapat diujikan di dalam *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 IC₅₀ 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 320; 160; 80; 40 µl/ml untuk ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, etanol air, serta n-heksan. Cisplatin diencerkan dengan DMEM sehingga diperoleh konsentrasi 200, 100, 50, 25 µl/ml.

Selanjutnya sel diberi perlakuan ekstrak dan fraksi, setelah itu diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam, kemudian tiap sumuran diberi larutan MTT sejumlah 10µl, empat jam kemudian dilanjutkan dengan pemberian reagen stopper (SDS 10% dalam HCL 0,01 N). Kemudian plate dibungkus dengan kertas atau alumunium 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 (CCRC, 2009).

Data dari uji sitotoksitas digunakan untuk menghitung kadar yang menyebabkan hambatan proliferasi sel 50% (IC₅₀) dengan analisa probit. Persentase sel hidup setelah perlakuan pada masing-masing kadar dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ kematian sel} = \frac{(\sum \text{sel hidup pada kontrol} - \sum \text{sel hidup pada sampel})}{\sum \text{sel hidup pada kontrol}} \times 100\%$$

Setelah didapatkan % kematian sel pada masing-masing konsentrasi bahan uji, maka langkah selanjutnya adalah menentukan nilai IC₅₀ dengan menggunakan metode regresi linear untuk mendapatkan linearitas antara kadar konsentrasi dengan persen kematian sel. IC₅₀ adalah konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi sel, sehingga dapat diketahui potensi sitotoksitasnya. Uji sitotoksik ini digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan nilai kadar konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC₅₀ menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai bahan toksik, semakin besar harga IC₅₀ maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Anggraini, 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 IC₅₀ merupakan konsentrasi yang dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel banyak 50% dari populasi sel. Dalam menentukan nilai IC₅₀ menggunakan dengan *Microsoft Excell 2007* (Regresi linear dari % kematian sel dan kadar konsentrasi perlakuan). Data persen kematian sel ditampilkan dalam bentuk grafik garis. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan mengganti nilai y = 50 (Ghosal and Mandal, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. 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 18,28% dari jumlah simplisia. Kandungan ekstrak dalam simplisia berbeda-beda tergantung pada jumlah senyawa organik didalamnya. Sisa hasil ekstrak kental daun salung 31,8 gram dilanjutkan untuk pengujian fraksinasi dengan metode FCC (Fraksi Cair-Cair) dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan methanol air secara kesinambungan dengan sifat kepolaran pelarut yang berbeda-beda. Berat fraksi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini:

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

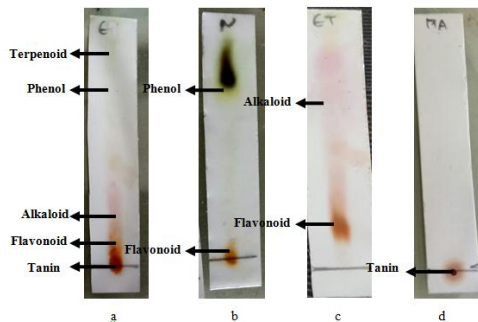
Pelarut	Berat (gram)	Persentase (%)
Fraksi n-heksan	4,7	14,8
Fraksi etil asetat	8,4	26,4
Fraksi metanol air	18,7	58,8
Total	31,8	100

Dari Tabel 1 dapat dilihat hasil fraksinasi ekstrak daun salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) yang memiliki berat lebih besar pada fraksi methanol air dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan etil asetat. Hal tersebut dikarenakan pelarut methanol air mempunyai kemampuan dalam menarik dan memisahkan senyawa kimia yang bersifat polar (Holetz, 2002). Berat fraksi yang didapatkan berbeda-beda tergantung dari pelarut yang digunakan, namun besar kecilnya kemampuan sitotoksik suatu fraksi tidak dipengaruhi oleh berat fraksi, kemudian ekstrak dan ketiga macam fraksi yang diperoleh di uji

aktivitas antikankernya terhadap sel HeLa dengan metode MTT assay.

2. 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 (a) ekstrak (b) fraksi n-heksan (c) fraksi etil asetat (d) fraksi methanol air.

Berdasarkan Gambar 1 maka hasil uji KLT golongan senyawa ekstrak dan fraksi daun salung dapat dilihat pada 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	ungu, coklat, merah muda, orange, kuning	Terpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin, Phenol
Fraksi n-heksan	Orange, kuning	Flavonoid, Phenol
Fraksi etil asetat	Merah muda, coklat	Alkaloid, flavonoid
Fraksi methanol air	Coklat	Tanin

Dalam uji KLT diatas menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol mengandung tanin, flavonoid dan tanin. Setelah dilakukan proses fraksinasi, didapatkan fraksi n-heksan yang mengandung tanin dan terpenoid, fraksi etil asetat mengandung flavonoid dan fraksi metanol air mengandung tanin.

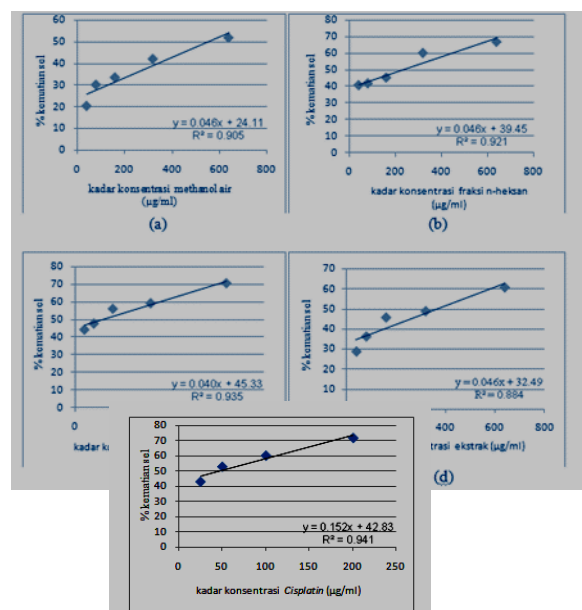
3. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik digunakan untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dari

bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker. Prosedur uji sitotoksik dengan uji MTT menurut CCRC (2009). Hasil inkubasi sel dengan MTT selanjutnya akan dibaca intensitas warna ungunya sebagai penanda sel hidup dengan menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 595 nm. Hasil pembacaan ELISA reader akan menghasilkan nilai absorbansi dari enam ulangan pada masing-masing konsentrasi dan nilai rata-rata persentase kematian sel HeLa setelah diberi perlakuan. Hasil uji sitotoksik dari ekstrak dan fraksi daun salung dapat dilihat pada tabel 3 dibawah ini:

Tabel 3 Hasil Rata-Rata Absorbansi dan Hasil Persen Kematian Sel HeLa

Konsentrasi Bahan Uji (µg/ml)	Rata-Rata Absorbansi	(%) Kematian Sel HeLa	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak etanol	640 0,316	60,721	380,7
320 0,411	48,912		
160 0,436	45,805		
80 0,512	36,358		
40 0,572	28,899		
Fraksi n-heksan	640 0,267	66,812	229,3
320 0,321	60,099		
160 0,440	45,308		
80 0,468	41,827		
40 0,477	40,709		
Fraksi etil asetat	640 0,238	70,416	116,8
320 0,329	59,105		
160 0,354	55,997		
80 0,421	47,669		
40 0,449	44,189		
Fraksi methanol air	640 0,386	52,019	562,8
320 0,465	42,200		
160 0,534	33,623		
80 0,561	30,267		
40 0,640	20,447		
Cisplatin	200 0,226	71,908	47,2
100 0,319	60,316		
50 0,378	53,014		
25 0,457	43,132		



Gambar 2 Grafik persamaan regresi linear antara % kematian sel dan kadar konsentrasi.

Keterangan: (a) Fraksi methanol air (b) Fraksi n-heksan (c) Fraksi etil asetat (d) Ekstrak (e) Cisplatin

linear diperoleh nilai $Y = 0,046X + 32,49$ untuk ekstrak etanol, nilai $Y = 0,046X + 39,45$ untuk

fraksi n-heksan, nilai $Y = 0,040X + 45,33$ untuk fraksi etil asetat, nilai $Y = 0,046X + 24,11$ untuk fraksi methanol air dan $Y = 0,152X + 42,83$ untuk *cisplatin*.

Menurut Tabel 2 diketahui bahwa ekstrak dan fraksi daun salung mempunyai aktivitas antikanker cukup aktif terhadap sel HeLa. Klasifikasi 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 $\mu\text{g/ml}$ (Weerapreeyakul, *et al.*, 2012). Dari keempatnya nilai IC_{50} tertinggi diberikan oleh fraksi methanol air daun salung yaitu 562,8 $\mu\text{g/ml}$, hal ini menunjukkan bahwa fraksi methanol air mempunyai aktifitas sitotoksik sangat rendah, dimana sel baru dapat di hambat 50% pada konsentrasi 562,8 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan nilai IC_{50} terendah terdapat pada fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} 116,8 $\mu\text{g/ml}$ sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat cukup aktif dibandingkan dengan fraksi n-heksan, ekstrak dan fraksi methanol air sebagai senyawa antikanker pada sel HeLa. Hal ini mengidentifikasi bahwa keberadaan senyawa aktif yang mempunyai efek sitotoksik pada fraksi etil asetat.

Pada kelompok kontrol positif (*cisplatin*) nilai IC_{50} yang dihasilkan sangat rendah yaitu 47,2 $\mu\text{g/ml}$ sehingga jauh lebih toksik dari ekstrak dan fraksi daun salung walaupun *cisplatin* merupakan obat sitotoksik dengan efektifitas tinggi dan digunakan secara luas namun efek samping penggunaannya juga tinggi. Berdasarkan penelitian Nissa, dkk (2015) menyatakan efek samping *cisplatin* adalah nefrotoksisitas dimana persentase kejadian sebesar 20-30% dan menurut Kurniandari (2015) menyatakan berbagai efek samping yang mungkin terjadi pada penggunaan *cisplatin* adalah ototoksisitas, gastrotoksisitas, supresi sumsum tulang reaksi alergi dan nefrotoksisitas.

Belum ada publikasi yang melaporkan mengenai aktivitas antikanker dari ekstrak dan fraksi daun salung (*Psychotria viridiflora*) namun berdasarkan penelitian sebelumnya pada tumbuhan sefamili *rubiaceae* yaitu menurut Yulia (2009) tentang fraksinasi daun mengkudu menunjukkan adanya kenaikan persen kematian sel alami (apoptosis) seiring dengan kenaikan kadar protein terhadap sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC_{50} yang rendah yaitu 6,9 $\mu\text{g/ml}$ dan menurut Febriansah (2010) tentang ekstrak etanol buah mengkudu memiliki potensi sebagai agen kemopreventif melalui mekanisme sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC_{50} yaitu 4.094 $\mu\text{g/ml}$, serta penelitian Meyer, *et.al* (1982) menyatakan fraksi etil asetat dari tanaman

sarang semut memiliki nilai LC_{50} sebesar 938,003 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan bahwa fraksi ini mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker.

Berdasarkan nilai IC_{50} yang di dapat pada penelitian ini bahwa pada fraksi etil asetat nilai IC_{50} sebesar 116,8 $\mu\text{g/ml}$ lebih kecil dari fraksi yang lain dan ekstrak sehingga fraksi etil asetat merupakan fraksi aktif .

KESIMPULAN

1. Nilai IC_{50} ekstrak daun salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) terhadap sel HeLa adalah 380,7 $\mu\text{g/ml}$, fraksi n-heksan sebesar 229,3 $\mu\text{g/ml}$, fraksi etil asetat sebesar 116,8 $\mu\text{g/ml}$, dan fraksi methanol air sebesar 562,8 $\mu\text{g/ml}$, sehingga fraksi etil asetat mempunyai aktivitas sitotoksik kategori cukup aktif dilihat dari nilai IC_{50} .
2. Golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi aktif etil asetat adalah alkaloid dan flavonoid.

SARAN

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan sel vero (sel normal) dengan berbagai konsentrasi agar didapatkan nilai IC_{50} bahan uji terhadap sel normal.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sampai didapatkan senyawa murni dan identifikasi struktur senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antikanker dari fraksi daun salung.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriyani. 2012. *Struktur Senyawa Alkaloid*. <http://pharmaxchange.info/press/2012/07/classification-of-alkaloids/>. Diakses Januari 2017.
- Agarwal, P., Fatima A., Alok S., Singh P., and Verma A., 2013. *An Update on Disease Profile of Cancer with Herbal Treatment*. IJPSR.
- Aguilan, J. T. 2003. *Structural Analysis of Carrageenan from Farmed Varieties of Philippine Seaweed*, De Gruyter Journal. Berlin.
- Anggraini, P. 2008. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kumukus (Piper Cubeba L) terhadap Sel HeLa*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- CCRC. 2009. *Standart Operating Procedure Cancer Chemoprevention Research Center*. Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi V*. Jakarta: Fakultas Kedokteran.
- Devita, Heilman and Rosenberg's. 2008. *Cancer: Principles and of Ancology*. 8th Edition.
- Febriansah R. 2010. *Kajian Secara In Vitro Ekstrak Etanolik Buah Mrinda Citrifolia L. sebagai Agen Khemopreventif Kanker Payudara yang Potensial*. Magister Tesis. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta.
- Fitri, Dini Mai. 2008. *Uji Aktivitas Antiproliferasi Senyawa (+)-2-2'-Episitokirin A dari Jamur Endofit Diaporthe Sp. yang Diisolasi dari Tumbuhan Gambir (Uncaria Gambier Roxb) terhadap Beberapa Sel Kanker*. Magister Tesis. Fakultas MIPA.
- Freshney, R.I., 2005, *Animal Cell Culture a Practical Approach*, ed. 5, IRL Press, Washington DC.
- Guillemin, Roger. 2006. *Struktur Senyawa Flavonoid*. <http://www.pnas.org/content/103/44/16568.figures-only>. Diakses Januari 2017.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002 *Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships*. Biochemistry.
- Hermansyah, Herlina, Sugiyama M, Harashima S. 2010. *Yeast Saccharomyces Cerevisiae as Model to Identify Mengkudu (Morinda Citrifolia) as an Anticancer Medicinal Plants Candidates with Antiproliferative Properties*. Palembang: Chemistry Department, Faculty Of Mathematics and Naturalsciences, Sriwijaya University.
- Hernani. 1999. *Teknik Identifikasi Bahan Aktif pada Tumbuhan Obat. Makalah pada Seminar Pendalaman Materi di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. Bogor.
- King RJ, Robins MW. 2006. *Cancer Biology*, 3rd ed. England: Pearson Education Limited.
- Kurniandari, N., Susantiningsih, T., dan Berawi, K. N., 2015. *Efek Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia) Sebagai Senyawa Nefroprotektor terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal yang di Induksi Cisplatin*. Majority.
- Lalitha, S., Parthipan, B., Mohan, V. 2015. *Penentuan Bioaktif Komponen Nilgiriensis Deb dan Gang (Rubiaceae) dengan GC-MS Analisis*. Journal of Farmakognosi dan Fitokimia. India.
- Lisdawati V. 2002. *Mahkota Dewa, Toksisitas, Efek Antioksidan, dan Efek Antikanker Berdasarkan Uji Penapisan Farmakologi*. Jakarta: PT Phaleria Macrocarpa.
- Malole, MBM. 1990. *Kultur Sel dan Jaringan Hewan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Manuaba, IBG, dkk. 2009. *Gawat Darurat Obstetri-Ginekologi dan Obstetri-Ginekologi Sosial untuk Profesi Bidan*. Jakarta: EGC.
- Natanel, Andry. 2014. *Struktur Senyawa Tanin*. [Http://mahasiswafarmasibicara.blogspot.co.id/2014/06/sifat-dan-manfaat-tanin.html](http://mahasiswafarmasibicara.blogspot.co.id/2014/06/sifat-dan-manfaat-tanin.html). Diakses Januari 2017.
- Robinson, T. 1998. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi 6. ITB: Bandung.
- Salni. 2003. *Karakterisasi dan Uji Aktivitas Topical Senyawa Antibakteri dari Daun Karamunting {Rhodormyrtus Tomentosa (Ait.) Hassk} dan Uji Efektivitas Sediaan Salepnya*. Disertasi. ITB. Bandung.
- Salni. 2009. *Eksplorasi Bahan Bioaktif Antibakteri untuk Mengobati Infeksi Penyakit Kulit di Sumatera Selatan*. Lembaga Penelitian Unsri. Indralaya.
- Saphiro, Geoffrey I, dan Harper, J, Wade. 1999. *Anticancer Drug Targets: Cell Cycle and Checkpoint Control*, J. Clin Invest.
- Setyawati, yunita. 2014. *Sitotoksisitas dan Apoptosis Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix D.C.) terhadap Sel Hela (Human Cervical Cancer Cell Line)*. Skripsi. Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Sinta, Novel S. dkk. 2010. *Kanker Serviks dan Infeksi Human Pappiloma Virus*

- (HPV). (<http://dr-suparyanto.blogspot.com/2011/04/kanker-leher-rahim-carsinoma-cervix.html>). Di akses pada November 2016.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. ITB. Bandung.
- Siswandono dan Soekarjo, B. 2000. *Kimia Medicinal Edisi II*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Sudarsono. 2002. *Tumbuhan Obat II*. Yogyakarta: Pusat Studio Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada.
- Utami, Dewi., 2011. *Aktivitas Sitotoksik Isolat 5 Fraksi Etil Asetat Ekstrak Petroleum Eter Daun Phaleria Macrocarpa (Scheff) Boerl pada Turunan Sel Kanker Serviks Manusia (HeLa)*. Jurnal Ilmiah Kefarmasian, 1.
- Walsh, R.F. 1998. *A Practical Guide to ISO: Cytotoxicity*, An MD And DI.
- Widyastuti, Yani. 2009. *Kesehatan Reproduksi*. Yogyakarta: Fitramaya.
- Wiknjosastro, Hanifah. 2006. *Ilmu Kebidanan*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo
- Williams, FG. 2008. *Human Papilloma Virus and Human Immune Deficiency Virus-Infected Women*.
- Wulansari HN, Sejati AA, Supriatno, Indrayanti. 2010. *Efektivitas Ekstrak Etanol Tanaman Sarang Semut terhadap Proliferasi Sel Kanker Lidah Manusia (SP-C1) In Vitro Experimental Study*. Prosiding Seminar Ilmiah Kesehatan. Yogyakarta.

