

DOSEN MUDA



LAPORAN KEGIATAN

JUDUL PENELITIAN :
UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL *Momordica charantia* L, *Phyllanthus niruri* L., DAN *Andrographis paniculata* Nees TERHADAP SEL HELA, MIELOMA DAN SEL B 958 SECARA *In Vitro*

Oleh :
Ir. Martini, MKes
drh. Dwi Sutiningsih, MKes
Dra. Retno Hestiningsih, MKes

Dibiayai Oleh Direktorat Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,
sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian Nomor :
031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005 tanggal 11 April 2005

**FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS DIPONEGORO
NOPEMBER 2005**

| |
|------------------------|
| UPT-PUSTAK-UNDP |
| No. Daft: 098/01/FRM/C |
| Tgl. 18-5-06 |

RINGKASAN

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL *Momordica charantia* L, *Phyllanthus niruri* L., DAN *Andrographis paniculata* Nees TERHADAP SEL HeLa, MIELOMA DAN SEL B 958 SECARA *In Vitro*

Martini, Dwi Sutningsih, Retno Hestningsih
Tahun 2005

Penyakit kanker masih menjadi masalah kesehatan dunia baik di negara berkembang maupun negara maju. Dalam laporan Badan Kesehatan Dunia (WHO) disebutkan bahwa 12% kematian yang terjadi dari 50 juta kematian dalam tahun 1997 disebabkan oleh kanker. Sebesar duapertiga dari jumlah tersebut terjadi di negara berkembang (WHO, 1998). Lebih jauh dilaporkan oleh *America Cancer Society* sekitar 1500 orang setiap hari meninggal karena kanker (Anonim, 1995). Menurut WHO (1998), kanker merupakan penyebab kematian nomor dua setelah kardiovaskuler diantara penyakit tidak menular (*non communicable disease* = NCD).

Berbagai cara penyembuhan telah dilakukan untuk melawan kanker seperti pembedahan, penyinaran, kemoterapi dan imunoterapi namun demikian masing-masing cara mempunyai kelemahan sendiri sehingga pengobatan kanker belum memuaskan hingga saat ini (Hoffman, 1999). Penggunaan kemoterapi antikanker belum memberikan hasil optimal karena obat tersebut bekerja tidak spesifik. Masalah lain dalam kemoterapi adalah timbulnya sel kanker yang resisten terhadap antikanker tersebut yang membuat antikanker tersebut tidak sensitif lagi. Dengan demikian usaha menemukan antikanker yang lebih spesifik dan sensitif sangat diperlukan.

Penelitian untuk mengkaji aktivitas antikanker dari tanaman yang diduga mempunyai khasiat antikanker penting dilakukan dalam usaha mencari dasar ilmiah penggunaan tanaman tersebut untuk pengobatan kanker oleh masyarakat. Uji sitotoksik perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas biologis ekstrak etanol buah pare (*Momordia charantia*), akar meniran (*Phyllathus niruri*) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap sel kanker, sehingga diketahui kemampuannya sebagai antikanker serta untuk memperkirakan dosis yang akan digunakan.

Ke dalam *microplate* 96 sumuran, yang mengandung 100 μ l sel uji dengan kerapatan 2×10^4 , ditambahkan 100 μ l ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pada berbagai peringkat konsentrasi (1000; 500; 250; 100; 50; dan 10 μ g/ml) secara triplikate. Sebagai kontrol digunakan media kultur yang dianggap memiliki pertumbuhan 100% (Sel + media RPMI 1640 kultur). Kultur yang mengandung bahan uji selanjutnya diinkubasikan dalam inkubator dengan aliran 5% CO₂ pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pada akhir inkubasi, masing-masing sumuran dihitung jumlah sel yang hidup dengan menggunakan *tripan blue*. Dari setiap sumuran diresuspensi lebih dahulu kemudian diambil 10 μ l sel uji, masukkan dalam tabung *ependoff*, tambahkan 50 μ l *tripan blue* 0,5%, dan campur secukupnya. Dari campuran sel tersebut ambil 10 μ l, masukkan dalam hemositometer dan hitung jumlah sel yang hidup di bawah mikroskop cahaya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tertinggi ekstrak etanol buah pare, meniran dan sambiloto yaitu 1000 μ g/ml dapat menghambat pertumbuhan sel Hela sebesar 92,22 % ; 83,33 % dan 77,78% dengan nilai IC₅₀ ekstrak etanol buah pare, meniran dan sambiloto adalah 51,56 μ g/ml; 87,73 μ g/ml dan 79,99 μ g/ml. Pada pemberian ekstrak etanol buah pare, meniran dan sambiloto pada konsentrasi tertinggi yaitu 1000 μ g/ml dapat menghambat pertumbuhan sel mieloma berturut-turut sebesar 94,44 % ; 92,22% dan 86,67% dengan nilai IC₅₀ ekstrak etanol ketiga tanaman uji tersebut adalah 33,94 μ g/ml ; 61,27 μ g/ml dan 65,64 μ g/ml. Sedangkan ekstrak etanol buah pare, meniran dan daun sambiloto pada konsentrasi tertinggi 1000 μ g/ml dapat menghambat pertumbuhan sel B958 berturut-turut sebesar 92,22% ; 93,33% dan 81,11% dengan nilai IC₅₀ sebesar 8,37 μ g/ml ; 22,85 μ g/ml dan 22,44 μ g/ml. Dari ketiga ekstrak etanol tanaman uji tersebut, nilai IC₅₀ ekstrak etanol buah pare pada ketiga sel uji lebih kecil daripada nilai IC₅₀ ekstrak etanol ke 2 tanaman uji yang lain, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare lebih toksik terhadap dibandingkan dengan ekstrak etanol tanaman uji yang lain. Hal ini kemungkinan karena ekstrak etanol buah pare banyak mengandung *momordin* dan *momordisin* yang merupakan senyawa aktif tanaman buah pare yang dikenal mempunyai aktivitas antikanker dan bersifat sitotoksik pada *cell line*.. Dari penghitungan statistik terlihat bahwa efek sitotoksik ketiga ekstrak etanol tanaman uji tersebut pada sel Hela, mieloma dan sel B958 menunjukkan adanya perbedaan yang

signifikan $p < 0,05$). Pada pengamatan morfologi sel Hela, mieloma dan sel B958 akibat pemberian ekstrak etanol ketiga tanaman uji tersebut pada konsentrasi 100 ug/ml terlihat tanda-tanda penghambatan pertumbuhan/kematian yang ditunjukkan dengan warna hitam, hal ini menunjukkan sel telah kehilangan cairan sitoplasma dan integritas membrannya.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah pare (*M. charantia*), akar meniran (*P. niruri*) dan daun sambiloto (*A. paninculata*) memiliki sifat sitotoksik terhadap sel Hela, mieloma dan sel B958. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol buah pare (*M. charantia*) terhadap ketiga sel uji tersebut lebih kuat dibanding ekstrak etanol akar meniran (*P. niruri*) dan daun sambiloto (*A. paninculata*). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman pare, sambiloto dan meniran yang berfungsi sebagai antikanker.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah s.w.t., karena atas karuniaNya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini.

Dalam penelitian dan penulisan ini, penulis banyak memperoleh bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional , yang telah memberikan bantuan dana dalam pelaksanaan penelitian ini.
2. Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro, yang telah memfasilitasi dan memberikan dukungan dalam penyusunan proposal hingga pelaksanaan penelitian ini.
3. dr. Ludfi Santoso, MSC, DTM & H, selaku Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat UNDIP, yang telah memberikan ijin untuk melaksanakan penelitian.
4. Segenap staf laboratorium Ilmu Hayati yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
5. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu pelaksanaan penelitian sampai selesainya penulis tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan naskah ini masih banyak kekurangan. Oleh sebab itu penulis akan sangat berterimakasih atas segala saran dan kritik yang membangun dari pembaca untuk perbaikan dan penyempurnaan tesis ini. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat.

Yogyakarta, Nopember 2005

Ttd

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN..... | ii |
| RINGKASAN DAN SUMMARY..... | iii |
| PRAKATA..... | iv |
| DAFTAR TABEL..... | v |
| DAFTAR GAMBAR..... | vi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | vii |
| I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 3 |
| III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN..... | 13 |
| IV. METODE PENELITIAN..... | 14 |
| V. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 20 |
| VI. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 31 |
| DAFTAR PUSTAKA | 32 |
| LAMPIRAN..... | 34 |

DAFTAR TABEL

- Tabel 1. Pembuatan larutan senyawa uji ekstrak buah pare dengan menggunakan pelarut media RPM1640
- Tabel 2. Persentase penghambatan pertumbuhan sel Hela setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pa inkubasi 24 jam
- Tabel 3. *Harga Inhibitor Concentration 50 (IC₅₀)* ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan sambiloto pada sel Hela
- Tabel 4. Persentase penghambatan pertumbuhan sel mieloma setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pa inkubasi 24 jam
- Tabel 5. *Harga Inhibitor Concentration 50 (IC₅₀)* ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan sambiloto pada sel mieloma
- Tabel 6. Persentase penghambatan pertumbuhan sel B958 setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pada inkubasi 24 jam
- Tabel 7. *Harga Inhibitor Concentration 50 (IC₅₀)* ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan sambiloto pada sel B958 pada inkubasi 24 jam

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Skema kerangka konsep efek sitotoksik ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pada sel Hela, mieloma dan sel B958
- Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase penghambatan pertumbuhan sel Hela setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pada berbagai konsentrasi
- Gambar 3. Foto mikroskopis morfologi sel Hela
- Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase penghambatan pertumbuhan sel mieloma setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pada berbagai konsentrasi
- Gambar 5. Foto mikroskopis morfologi sel mieloma
- Gambar 6. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase penghambatan pertumbuhan sel B958 setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pada berbagai konsentrasi
- Gambar 7. Foto mikroskopis morfologi sel B958

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Rata-rata jumlah sel Hela, mieloma dan sel B958 yang hidup setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto selama inkubasi 24 jam
- Lampiran 2. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol buah pare pada sel Hela dengan analisis probit
- Lampiran 3. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol akar meniran pada sel Hela dengan analisis probit
- Lampiran 4. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun sambiloto pada sel Hela dengan analisis probit
- Lampiran 5. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol buah pare pada sel mieloma dengan analisis probit
- Lampiran 6. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol akar meniran pada sel mieloma dengan analisis probit
- Lampiran 7. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun sambiloto pada sel mielomadengan analisis probit
- Lampiran 8. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol buah pare pada sel B958 dengan analisis probit
- Lampiran 9. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol akar meniran pada sel B958 dengan analisis probit
- Lampiran 10. Penghitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun sambiloto pada sel B958 dengan analisis probit
- Lampiran 11. Hasil analisis statistik dengan Anava pada sel Hela, mieloma dan sel B958 setelah pemberian ekstrak etanol buah pare, akar meniran dan daun sambiloto pada berbagai konsentrasi
- Lampiran 12. Personalia penelitian

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit kanker masih menjadi masalah kesehatan dunia baik di negara berkembang maupun negara maju. Kanker saat ini menjadi penyakit yang menimbulkan banyak permasalahan dalam bidang kesehatan. Pada tahun 2000 dari 55,7 juta kematian di dunia, 12,4 % disebabkan oleh kanker. Kanker menjadi penyebab kematian ketiga setelah penyakit infeksi dan penyakit jantung koroner (WHO, 2001). Dalam laporan Badan Kesehatan Dunia (WHO) disebutkan bahwa 12% kematian yang terjadi dari 50 juta kematian dalam tahun 1997 disebabkan oleh kanker. Sebesar duapertiga dari jumlah tersebut terjadi di negara berkembang (WHO, 1998).

Berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1995, di Indonesia kanker merupakan penyebab kematian nomor delapan dengan kecenderungan adanya peningkatan angka insiden dari tahun ke tahun, yang diperkirakan mencapai kurang lebih 100 per 100.000 penduduk (Soemantri *et al.*, 1995; Sibuea *et al.*, 2000). Di Indonesia jumlah penderita kanker terus bertambah dari 3,8 % pada tahun 1990 menjadi 4,1% pada tahun 1995 (Depkes, 1997). Salah satu jenis kanker yang banyak ditemukan adalah keganasan pada sel darah, limfoma dan mieloma. Dalam tahun 2000 hampir 4 juta orang menderita limfoma dan mieloma dan sekitar 300 ribu orang berakhir dengan kematian, sedangkan di Indonesia pada tahun 2000 terdapat 1600 orang menderita mieloma multipel dan 1315 orang akhirnya meninggal (Globocan, 2001). Kasus kanker yang paling banyak terjadi di Indonesia adalah kanker serviks dengan frekuensi relatif 29,63% (Prajatmo *et al.*, 1999). Kanker serviks telah menjadi penyebab kematian kedua setelah kanker payudara (Longo, 1998).

Bagi kebanyakan orang menerima diagnosis kanker hampir serupa dengan menerima vonis kematian, karena masalah pembiayaan pengobatan kanker yang sangat mahal dan harus membiayai sendiri pengobatannya (Sutojo, 2001). Berbagai cara penyembuhan telah dilakukan untuk melawan kanker seperti pembedahan, penyinaran, kemoterapi dan imunoterapi namun demikian masing-masing cara mempunyai kelemahan sendiri sehingga pengobatan kanker belum memuaskan hingga saat ini (Hoffman, 1999). Penggunaan kemoterapi antikanker belum memberikan hasil optimal

karena obat tersebut bekerja tidak spesifik. Masalah lain dalam kemoterapi adalah timbulnya sel kanker yang resisten terhadap antikanker tersebut yang membuat antikanker tersebut tidak sensitif lagi, sehingga penderita berusaha mencari pengobatan alternatif yang terjangkau, salah satunya ke pengobatan tradisional.

Usaha menemukan antikanker yang lebih spesifik dan sensitif sangat diperlukan. Dari aspek farmakologi salah satu upaya yang sudah dirintis sejak jaman dulu adalah pemanfaatan fitofarmaka, menggali kandungan zat/unsur kimiawi dalam tumbuh-tumbuhan yang potensial dapat dipakai sebagai obat antikanker. Cukup banyak obat antikanker yang bersumber dari tumbuh-tumbuhan yang telah diteliti secara cermat dan dipatenkan yang berdampak positif dalam penanggulangan berbagai jenis kanker. Berbagai anti kanker yang ada saat ini merupakan hasil pengembangan dari tanaman obat seperti vinka alkaloida, taksan, kamptotesin yang berasal dari tanaman antara lain : *Catharantus roseus*, *Taxus brevivolia*, dan *Camptotheca acuminata* dari Cina (Hoffman, 1999).

Indonesia sebagai salah satu pusat keanekaragaman hayati dunia sangat kaya akan tumbuhan berkhasiat pengobatan. Lebih dari 9000 spesies tanaman diduga memiliki khasiat pengobatan. Banyak tanaman obat tersebut diyakini memiliki khasiat untuk penyakit tertentu dan sebagai alternatif pengobatan berbagai penyakit, walaupun secara ilmiah belum banyak dibuktikan kebenarannya (Agoes *et al.*, 2000). Beberapa tanaman obat diantaranya telah digunakan juga secara empiris oleh masyarakat secara tradisional untuk mengobati kanker , misalnya: buah pare (*Momordica charantia* L), akar meniran (*Phyllanthus niruri* L) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Namun demikian bukti ilmiah mengenai efek antikanker tanaman tersebut belum banyak diungkapkan.

Penelitian untuk mengkaji aktivitas antikanker dari tanaman yang diduga mempunyai khasiat antikanker penting dilakukan dalam usaha mencari dasar ilmiah penggunaan tanaman tersebut untuk pengobatan kanker oleh masyarakat. Uji sitotoksik perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas biologis ekstrak tanaman tersebut terhadap sel kanker, sehingga diketahui kemampuannya sebagai antikanker serta untuk memperkirakan dosis yang akan digunakan.

B. Perumusan Masalah

Upaya pengobatan penyakit kanker masih terus dilakukan, namun belum ditemukan obat yang dapat mengatasi kanker secara memuaskan, karena toksisitas obat-obat antikanker dan timbulnya resistensi sel kanker terhadap obat antikanker. Oleh karena itu usaha menemukan antikanker baru yang lebih aman dan efektif sangat diperlukan. Salah satu alternatif dalam usaha menemukan antikanker adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat.

Beberapa tanaman obat seperti sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), pare (*Momordica charantia* L) dan meniran (*Phyllanthus niruri* L) telah digunakan secara empiris oleh masyarakat sebagai antikanker, namun belum banyak dibuktikan efektifitasnya secara ilmiah .

Melihat kenyataan tersebut diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol tanaman sambiloto, pare dan meniran bersifat sitotoksik terhadap sel hela, mieloma dan sel B 958 secara *in vitro* ?
2. Jika ada efek sitotoksiknya, seberapa besarkah nilai konsentrasi penghambatannya (IC_{50}) pada sel Hela, mieloma dan sel B958 ?

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker dan Siklus Sel

Kanker pada hakekatnya adalah suatu tumor ganas yang tumbuh dan berkembang secara abnormal, berasal dari sel tubuh oleh suatu sebab yang tidak diketahui berubah menjadi kanker (Anonim, 1995). Pada sel terjadi suatu pergeseran mekanisme kontrol yang mengatur proliferasi dan diferensiasi. Sel yang sudah mengalami transformasi neoplastik biasanya mengekspresikan antigen permukaan sel yang tampaknya merupakan tipe normal fetal dan mempunyai tanda lainnya dari ketidakmatangan yang jelas, dan dapat menunjukkan kelainan kromosom, termasuk juga translokasi gen. Sel-sel tadi berkembang dengan cepat dan membentuk tumor lokal yang dapat menekan atau