

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PELARUT YANG BERBEDA DAN VARIASI DOSIS TERHADAP
AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAUN LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) PADA
VIABILITAS SEL HELA**

**ARTIKEL SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :
Istiqomah
NIM. 125080300111145



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2016**



**PENGARUH PELARUT YANG BERBEDA DAN VARIASI DOSIS TERHADAP
AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAUN LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) PADA
VIABILITAS SEL HELA**

**ARTIKEL SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
Istiqomah
NIM. 125080300111145**

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

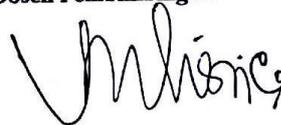


Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS

NIP. 19570119 198601 1 001

Tanggal: 12 OCT 2016

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP

NIP. 19581231 198601 2 002

Tanggal: 12 OCT 2016

Mengetahui,



Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Anindya Wilujeng Ekawati, MS

NIP. 19620805 1986603 2 001

Tanggal: 12 OCT 2016

**PENGARUH PELARUT YANG BERBEDA DAN VARIASI DOSIS TERHADAP
AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAUN LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) PADA
VIABILITAS SEL HELA**

Istiqomah⁽¹⁾, Bambang Budi Sasmito⁽²⁾ dan Titik Dwi Silistiyati⁽³⁾

PS Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Kanker merupakan pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas. Kanker yang banyak diderita oleh wanita di dunia yaitu kanker sel leher rahim (kanker serviks). Kanker serviks terjadi akibat infeksi Human Papillomavirus (HPV 18) sehingga menyebabkan perbedaan sifat dengan sel leher rahim normal. Banyak pengobatan alternatif salah satunya dengan tanaman herbal. Daun mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* diketahui memiliki senyawa bioaktif yang dapat dijadikan sebagai agen antikanker seperti triterpenoid, steroid dan polifenol. Penelitian ini menggunakan pelarut yang berbeda pada saat ekstraksi dengan tujuan untuk memisahkan ekstrak sesuai dengan kepolarannya. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pelarut yang berbeda dan variasi dosis terhadap aktivitas antikanker ekstrak daun lindur (*Bryguiera gymnorrhiza*) pada viabilitas sel HeLa. Daun lindur didapatkan dari pantai cengkong, Trenggalek. Sampel dikeringkan, diekstraksi, dipekatkan dan dikeringkan dengan N₂. Uji pendahuluan dilakukan uji kadar air, uji fitokimia, uji total fenol dan uji toksisitas *artemia*. Uji sitotoksitas dengan menggunakan sel kanker HeLa + ekstrak daun lindur dosis 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik dengan persen viabilitas terkecil sebesar 14,845% pada ekstrak daun lindur pelarut n-heksan dengan dosis 500 ppm. Kesimpulan bahwa pelarut yang berbeda dan variasi dosis memberikan pengaruh pada aktivitas antikanker dengan pelarut dan dosis terbaik pada ekstrak daun lindur pelarut n-heksan dengan dosis 500 ppm.

Kata Kunci : kanker serviks, daun *Bruguiera gymnorrhiza*, Perbedaan pelarut, viabilitas

- (1) Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
(2) Dan (3) Dosen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

***THE EFFECT SOLVENT AND DOSE VARIATION ANTICANCER ACTIVITIES OF
LEAF EXTRACT LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) ON VIABILITY HeLa cells***

ABSTRACT

*Cancer is the abnormal formation of new tissue and malignant. Cancer infecting women in the world is the cervix cell cancers (cervical cancer). Cervical cancer is caused by infection Human Papillomavirus (HPV 18), therefore, it effects the differences characteristic with normal cervical cells. Many alternatives medicine, one of them is herb. Bruguiera gymnorrhiza mangrove leaf is known has bioactive compounds that can be used as anticancer agents such as triterpenoids, steroids and polyphenols. This study uses a different solvent during extraction with the aim to separate the extract according to the polarity. The purpose of this study to determine the different solvents effect and various doses of the leaf extract lindur (*Bryguiera gymnorrhiza*) anticancer activity in HeLa cell viability. Lindur leaf obtained from beach Cengkong, Trenggalek. The samples were dried, extracted, concentrated and dried with N₂. The preliminary is done with water content of phytochemical test, test total phenol and Artemia toxicity test. Cytotoxicity test uses HeLa cancer cells + extract dose lindur 31.25 ppm, 62.5 ppm, 125 ppm, 250 ppm and 500 ppm. The results show that the best treatment uses the smallest viability percentage of 14.845% in the solvent n-hexane extract with 500 ppm doses. The conclusion is the different solvent and dose variations affect on the anticancer activity with the solvent and the best dose in the solvent n-hexane extract with dose of 500 ppm.*

Keywords : cervical cancer, leaf *Bruguiera gymnorrhiza*, differences solvents, viability

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kanker atau karsinoma adalah pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas (*maligne*). Suatu kelompok sel yang tiba-tiba menjadi liar dan memperbanyak diri secara pesat dan terus menerus (*proliferasi*). Kanker terbentuk karena adanya mutasi pada biosintesis sel, yaitu kekeliruan urutan DNA karena terpotong, tersubstitusi atau ada pengaturan kembali. Kemampuan sel-sel tersebut dapat menyerang jaringan biologis lainnya, baik ditempat yang jauh (metastasis). Kanker yang banyak diderita oleh wanita didunia adalah kanker serviks (Huspa, 2009).

Menurut Puji *et al.* (2011), sel kanker leher rahim (kanker serviks) terjadi akibat infeksi Human Papillomavirus (HPV 18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel leher rahim normal. Sel kanker leher rahim yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Kedua onkogen tersebut merupakan protein yang dapat menghambat ekspresi gen p53 sebagai gen penekan kanker. Pada peristiwa ini onkogen lebih tinggi dibandingkan p53 sehingga proliferasi sel kanker menjadi tidak terkendali. Salah satu sel kanker turunan dari sel epitel rahim (*cervix*) manusia yaitu adalah Sel Hela (Djajanegara dan wahyudi, 2009)

Indonesia memiliki kurang lebih 30.000 spesies tumbuhan dan 940 spesies merupakan tumbuhan berkasiat obat yang dapat dijadikan sumber isolat jamur endofit. Dimana salah satu tumbuhan tersebut adalah mangrove (Phoanda *et al.*, 2014). Spesies mangrove sejati tumbuh subur di Indonesia antara lain *Aveenia alba*, *Rhizophora apiculata*, *Xylocarpus ganatum*, *Bruguiera parviflora* dan

Bruguiera gymnorrhiza (Subekti, 2012). *Bruguiera gymnorrhiza* merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif. Daun tanaman ini mengandung flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin dan senyawa fenol yang hingga kini masih masih diteliti ragam kegunaannya sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri dan anti inflamasi (Dia *et al.*, 2015).

Warsinah *et al.* (2007), menyatakan *Bruguiera gymnorrhiza* merupakan salah satu tanaman yang mempunyai potensi antitumor. Pada hasil penelitiannya ekstrak etanol kulit batang tanaman mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* secara *in vitro* mampu menghambat pertumbuhan sel kanker Hela dengan nilai LC₅₀ sebesar 301,78 µg/mL dan sel Myeloma dengan LC₅₀ sebesar 582,00 µg/mL dan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* adalah terpenoid.

Berdasarkan dari penjelasan sebelumnya, tidak menutup kemungkinan daun *Bruguiera gymnorrhiza* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antikanker. Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi bertingkat dengan pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-Heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan metanol (polar). Perbedaan pelarut dimaksudkan untuk melebarkan jangkauan kepolaran agar senyawa-senyawa non polar sampai polar terekstrasi semua (Harborne, 1987).

Sakul *et al.* (2012), menyatakan pelarut n-heksan mempunyai sifat non polar, sehingga pada ekstraksi hanya dapat menarik senyawa non polar yang mengandung minyak dan lemak seperti triterpenoid dan steroid. Menurut Putri *et al.* (2014), etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk

ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah. Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon. Pane (2013), menyatakan pelarut metanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa-senyawa organik, karena metanol dapat mengikat senyawa yang bersifat polar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan pelarut dan variasi dosis terhadap aktivitas antikanker ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* pada viabilitas sel hela. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan dalam rangka pengembangan pengobatan tradisional dari tanaman.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *Bruguiera gymnorhiza* didapatkan dari pantai cengkong, Trenggalek. Daun yang digunakan berwarna hijau segar. Pelarut yang digunakan adalah pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Pada pengujian fitokimia bahan yang digunakan asam sulfat 2N, asam sulfat pekat, reagen meyer, serbuk Mg, kloroform, asam asetat anhidrat, Fe₃ klorida dan etanol. Pada pengujian toksisitas menggunakan bahan artemia, air laut, n-heksan, etil asetat, metanol dan hasil dari ekstrak masing-masing pelarut. Pada pengujian viabilitas sel Hela bahan yang digunakan adalah sel Hela yang dikultur didapatkan dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, media *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) sebagai media kultur sel Hela, DMSO dan pada tahap pewarnaan sel Hela menggunakan MTT.

Alat yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah *oven*, *Rotary evaporator*, labu evaporator, timbangan digital, gelas ukur, corong, loyang, botol kaca dan spatula. Pada pengujian fitokimia menggunakan alat tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass* 500 ml, spatula, timbangan digital, pipet tetes dan pipet volume. Pada pengujian toksisitas menggunakan alat *beaker glass* 1000 ml, toples kaca, aerator, selang aerator, micropipet, pipet tetes, cover glass dan botol vial. Proses uji sitoksisitas sel Hela menggunakan alat tabung cryo, *Laminar air-flow*, waterbath dan tabung gas CO₂, mikroskop Inverted, filter 0,2 µm, spet, sumuran, spiritus, sentrifius, micropipet dan *Elisa reader*.

Metode penelitian

Menurut Darmono *et al* (2012), menyatakan kajian eksperimen adalah kajian empiris dan menggunakan analisis dengan bantuan statistik untuk menguji hipotesis. Penelitian yang menggunakan pendekatan empiris sebenarnya cukup ringkas dan jelas. Pada penelitian tersebut bisa menggunakan lebih dari 1 hipotesis kemudian mengumpulkan data, menggunakan tes statistik untuk menguji hipotesis, menulis hasil, menyimpulkan dan menyarankan pada penelitian lain untuk memperluas hasil penelitian.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi daun *Bruguiera gymnorhiza*. Pelarut yang digunakan adalah n-heksan, etil asetat dan metanol. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah parameter uji yang diamati, yaitu pengaruh terhadap viabilitas sel Hela dengan pemberian ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan pelarut yang berbeda.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan penelitian pendahuluan untuk menentukan bagian daun, kulit batang atau buah *Bruguiera gymnorhiza* yang akan digunakan pada penelitian utama. Setelah diperoleh hasil yaitu bagian daun *Bruguiera gymnorhiza*, kemudian dilanjutkan pada penelitian utama. Prosedur penelitian pada penelitian utama yaitu dilakukan ekstraksi daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan metode ekstraksi maserasi bertingkat menggunakan 3 pelarut yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Setelah didapatkan ekstrak kental dari setiap pelarut, kemudian dilakukan serangkaian uji sebagai data pendukung pada penelitian utama. Uji-uji tersebut meliputi uji kadar air, uji fitokimia, uji total fenol dan uji toksisitas. Setelah dilakukan serangkaian uji pendukung, kemudian dilanjutkan dengan uji viabilitas sel Hela sebagai uji utama pada penelitian ini. Setelah didapatkan ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan pelarut yang memiliki viabilitas sel Hela paling rendah, kemudian ekstrak tersebut dilakukan uji LC-MS untuk mengetahui senyawa dugaan yang bersifat sebagai antikanker pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza*.

Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Dihitung menggunakan ANOVA. Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata (F hitung $>$ F tabel) maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini meliputi rendemen ekstraksi, kadar air ekstrak,

fitokimia, total fenol, toksisitas *artemia*, sitotoksitas pada sel Hela dan LCMS

1. Rendemen ekstrak

Hasil ekstraksi sampel diperoleh rendemen ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan urutan nilai rendemen terbesar yaitu ekstrak dengan pelarut metanol sebesar 11,037%, dilanjutkan dengan ekstrak pelarut n-heksan 6,897% dan ekstrak pelarut etil asetat 3,09%. Diduga senyawa yang terkandung dalam daun *Bruguiera gymnorhiza* dominan senyawa bersifat polar. Dia *et al.* (2015), besarnya rendemen ekstrak tergantung pada sifat kepolaran pelarut dan tingkat kepolaran dari jumlah bahan yang diekstrak yang memiliki polaritas yang sama dengan pelarut.

2. Kadar air

Pengujian kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air pada ekstrak sebagai kualitas ketahanan suatu sampel dalam penyimpanan yang cukup lama. Hasil kadar air pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* pelarut n-heksan, etil asetat, metanol berturut-turut yaitu 7%, 13%, 11%. Sastrawan *et al.* (2013), menyatakan bahwa kadar air dalam bahan akan mempengaruhi ketahanan dalam penyimpanan dan aktivitas dari mikroba. Sehingga kadar air yang rendah akan membuat penyimpanan bahan lebih lama.

3. Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak. Ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* pelarut n-heksan terdeteksi senyawa flavonoid, steroid dan terpenoid. Ekstrak dengan pelarut etil asetat terdeteksi senyawa flavonoid, steroid dan terpenoid. Ekstrak dengan pelarut metanol terdeteksi senyawa flavonoid dan steroid. Diduga ekstrak

daun *Bruguiera gymnorrhiza* mengandung senyawa antikanker. Diastuti *et al.* (2009), hasil fraksi kloroform dari ekstrak etanol daun *Rhizophora mucronata* berpotensi sebagai antikanker dan mengandung senyawa bioaktif flavonoid dan terpenoid.

4. Total fenol

Kandungan total fenol yang tinggi, maka aktivitas antioksidannya meningkat (Lushiani *et al.*, 2015). Kandungan total fenol pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* dimulai dari yang tertinggi pada ekstrak pelarut metanol 86,72 g GAE/100 g, ekstrak dengan pelarut n-heksan 62,69 GAE/100 g dan terakhir ekstrak dengan pelarut etil asetat 16,71 GAE/100 g. Diduga kandungan senyawa fenol pada daun *Bruguiera gymnorrhiza* dominan bersifat polar. Menurut Dai (2010), polifenol mempunyai sifat antioksidan yang kuat dan dapat mencegah stress oksidatif yang berhubungan dengan penyakit kanker.

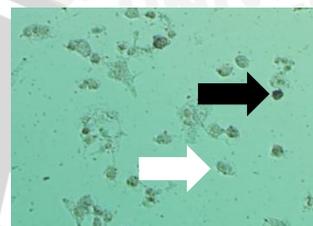
5. Toksisitas *artemia*

Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antikanker harus diujikan terlebih dahulu pada hewan percobaan. Penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethal Test* (BSLT) dengan hewan uji larva udang *artemia* (Nurhayati *et al.*, 2006). Hasil uji toksisitas diperoleh ppm terendah pada ekstrak pelarut n-heksan sebesar 347,78 ppm, dilanjutkan dengan ekstrak pelarut metanol 561,97 ppm dan ekstrak pelarut etil asetat 844,95 ppm. Ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* tergolong bersifat toksik dikarenakan nilai LC_{50} yang dihasilkan masih <1000 ppm hal ini sesuai dengan pernyataan Meyer *et al.* (1982), bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif dan bersifat toksik jika dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm dan bersifat

tidak toksik jika ditemukan pada konsentrasi lebih dari 1000 ppm.

6. Sitotoksitas sel Hela

Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT sebagai pewarnaan. Hasil sel Hela setelah pemaparan ekstrak dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Sel Hela paparan ekstrak n-heksan dosis 250 ppm.

Keterangan:  : sel Hela mati
 : sel Hela hidup

Gambar 1 memperlihatkan bahwa warna ungu tua adalah jumlah sel Hela yang masih hidup. Burt *et al.* (1992) mengatakan, prinsip dasar MTT assay adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan aktivitas enzim suksinat dehidrogenase mitokondria sel untuk mereduksi garam *methythiazol tetrazolium* (MTT). Pada proses metabolisme, sel-sel yang hidup akan menghasilkan suksinat dehidrogenase mitokondria. Enzim ini akan bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan ungu yang jumlahnya sebanding dengan sel hidup.

Pengaruh Perbedaan Pelarut Dan Variasi Dosis Terhadap Viabilitas Sel Hela

Viabilitas sel merupakan pengukuran jumlah sel yang hidup. Sitotoksitas yang terjadi pada sel biasanya diindikasikan dengan penurunan proliferasi sel, viabilitas sel, dan sintesis asam nukleat atau protein. Viabilitas sel bersifat segera, seperti perubahan permeabilitas membran atau gangguan pada jalur metabolisme tertentu. Oleh karena itu viabilitas sel dapat menjadi indikator sitotoksitas suatu bahan (Torneck dan

Torabinejad, 1997). Grafik persen viabilitas dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan hasil pengukuran dengan menggunakan *elisa reader* bahwa pada setiap ekstrak memiliki tingkat viabilitas yang berbeda-beda. Hasil tersebut menunjukkan seiring bertambahnya dosis, tingkat viabilitas semakin menurun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Indiyah (2012), bahwa semakin besar konsentrasi senyawa yang ditambahkan, maka semakin menurun viabilitas sel HeLa. Viabilitas terendah terdapat pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* pelarut n-heksan pada dosis 500 ppm yaitu sebesar 14,845%. Sedangkan viabilitas tertinggi terdapat pada ekstrak metanol *Bruguiera gymnorhiza* pada dosis 31,25 ppm yaitu sebesar 70,850%. Hal ini menunjukkan jumlah kematian sel yang dipengaruhi paparan ekstrak metanol *Bruguiera gymnorhiza* rendah dibanding dengan pelarut lain. Menurut Fajarningsih *et al.* (2006), semakin banyak sel yang hidup, semakin banyak kristal formazan yang terbentuk, semakin tinggi nilai absorbansi yang diperoleh dan mengindikasikan mortalitas yang rendah.

Viabilitas sel HeLa pada pelarut n-heksan lebih rendah disebabkan beberapa hal, antara lain senyawa yang terkandung pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza*. Pada pengujian fitokimia diketahui ekstrak n-heksan mengandung senyawa bioaktif flavonoid, steroid dan terpenoid. Menurut Li *et al.* (2013), *Bruguiera gymnorhiza* adalah tanaman yang dapat dijadikan sebagai pengobatan tradisional karena mengandung bioaktif seperti flavonoid dan terpen.

Pengaruh Perbedaan Pelarut Dan Variasi Dosis Terhadap Mortalitas Sel HeLa

Grafik persen mortalitas sel HeLa dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa persentase kematian sel HeLa mengalami peningkatan seiring penggunaan pelarut ekstraksi yang berbeda dan seiring dengan perbedaan dosis yang digunakan. Berbanding terbalik dengan persentase viabilitas, hasil tertinggi persentase kematian sel HeLa pada perlakuan n-heksan dosis 500 ppm dan terendah pada perlakuan metanol dosis 31,25 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan n-heksan dosis 500 ppm merupakan dosis efisien pada kematian sel HeLa.

Warsinah *et al.* (2007), menyampaikan dari hasil penelitiannya bahwa ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* pada dosis 1000 ppm mendapatkan % kematian sebesar 72,06% pada sel Meiloma. Hasil ini lebih rendah apabila dibandingkan dengan ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* yang dipaparkan pada sel HeLa. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* mampu bekerja sebagai antikanker pada sel HeLa.

Menurut Puji *et al.* (2011), untuk melakukan uji sitoksisitas terhadap ekstrak, NCI (*National Cancer Institute*) menetapkan standar LC_{50} adalah ≤ 20 ppm. Hasil LC_{50} dari ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol berturut-turut sebesar 35,53 ppm, 128,85 ppm, 98,41 ppm. Berdasarkan hasil LC_{50} tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* tidak mempunyai aktivitas yang optimal terhadap sel kanker HeLa berdasarkan kriteria yang ditetapkan oleh NCI (*National Cancer Institute*). Namun ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* masih bersifat toksik terhadap sel HeLa.

7. Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS)

Uji LCMS dilakukan dengan sistem *electrospray ionization* (ESI) yang menggunakan ion positif. Hasil uji LCMS ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4 (a) menunjukkan hasil kromatografi LC ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan pelarut n-heksan memiliki 2 puncak. Senyawa-senyawa yang berhasil dapat dilihat pada waktu retensi 2.42 pada puncak pertama dan 3.24 pada puncak kedua.

Gambar 4 (b) menunjukkan spectrum massa puncak pertama pada retensi waktu 2.24. Pada puncak spectrum ini diperoleh berat molekul 147 m/z [M+H]⁺. Fragmentasi senyawa dengan berat molekul 146 m/z [M+H]⁺. Hasil pencarian berat molekul di *massbank* menunjukkan senyawa yang diduga bertindak sebagai antikanker yaitu kumarin dengan rumus kimia C₉H₈O₂. Kumarin merupakan golongan senyawa fenilpropanoid yang memiliki cincin lakron lingkaran enam dan memiliki inti 2H-1-benzopiran-2-on dengan rumus molekul C₉H₅O₂ (Isnawati *et al.*, 2008). Pada dunia farmakologi kumarin dapat dijadikan sebagai antikanker, anti HIV, antibakteri dan anti inflamasi. Pada antitumor, kumarin dapat bertindak dengan menghalangi siklus pertumbuhan sel, merangsang apoptosis sel, mengganggu sintesa DNA/RNA terkait (Zhang *et al.*, 2016). Berbagai macam mekanisme kumarin dalam menghambat aktivitas antikanker, salah satunya yaitu dengan menginduksi apoptosis melalui penghambatan DNA topoisomerase serta peningkatan ekspresi gen p53 (Ihsan *et al.*, 2013). Pada beberapa penelitian, pelarut n-

heksan dapat menyaring senyawa kumarin (Susilowati *et al.*, 2013).

Gambar 4 (b) menunjukkan spectrum massa puncak kedua pada retensi waktu 3.24. Pada puncak spectrum ini diperoleh berat molekul 217 m/z [M+H]⁺. Fragmentasi senyawa dengan berat molekul 216 m/z [M+H]⁺. Hasil pencarian berat molekul di *massbank* menunjukkan senyawa yang diduga bertindak sebagai antikanker yaitu bergapten dengan rumus kimia C₁₂H₈O₄. Bergapten merupakan turunan dari kumarin. bergapten banyak digunakan dalam industri obat modern sebagai obat analgetika, anti fungi, antibakteri dan antikanker (Trisilawati dan Pitono, 2012). Bergapten menjadi antiproliferasi dan menginduksi respon apoptosis pada kanker payudara (Panno *et al.*, 2010).

PENUTUP

Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan jenis pelarut berbeda memberikan pengaruh terhadap viabilitas sel Hela. Ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan pelarut n-heksan memiliki persen viabilitas terendah yaitu 14,845%.
2. Ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan variasi dosis memberikan pengaruh terhadap viabilitas sel Hela. Ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* dengan dosis 500 ppm diketahui efektif dalam mematikan sel Hela.
3. Kombinasi antara jenis pelarut dan variasi dosis ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* memberikan pengaruh terhadap viabilitas sel Hela.

4. Senyawa yang diduga bertindak sebagai antikanker pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* pelarut n-heksan yaitu kumarin dan bergapten.

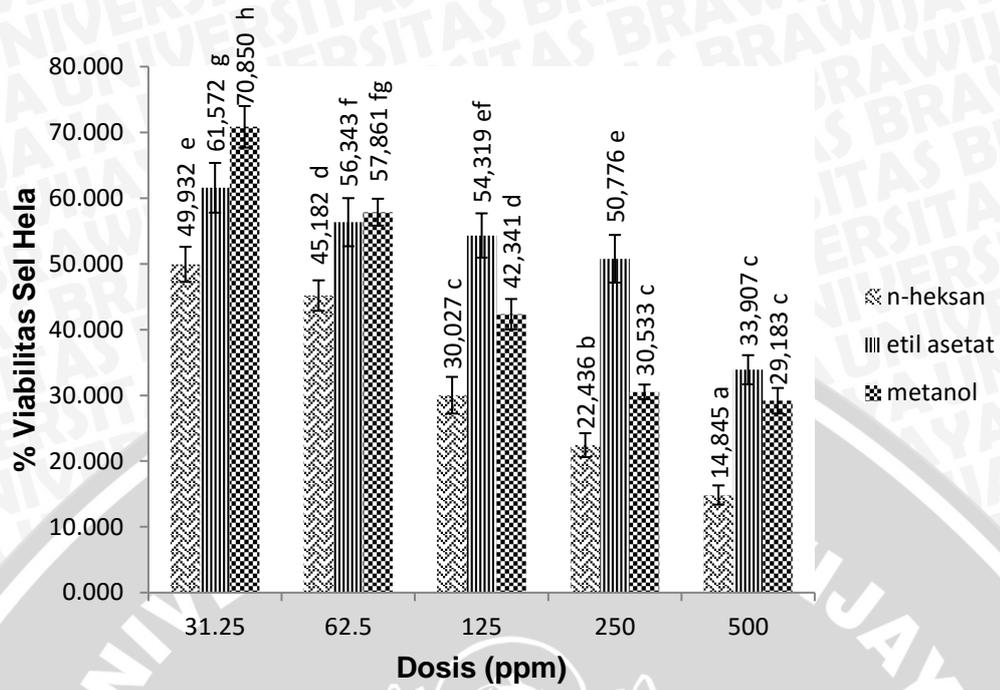
Saran

Saran dari penelitian ini yaitu diharapkan adanya penelitian lanjutan dengan menggunakan sampel ekstrak yang dimurnikan misalnya dengan cara dipartisi atau fraksinasi dan dilakukan peningkatan dosis, serta dilakukan uji induksi apoptosis untuk mengetahui morfologi sel Hela setelah diberikan perlakuan pemberian ekstrak.

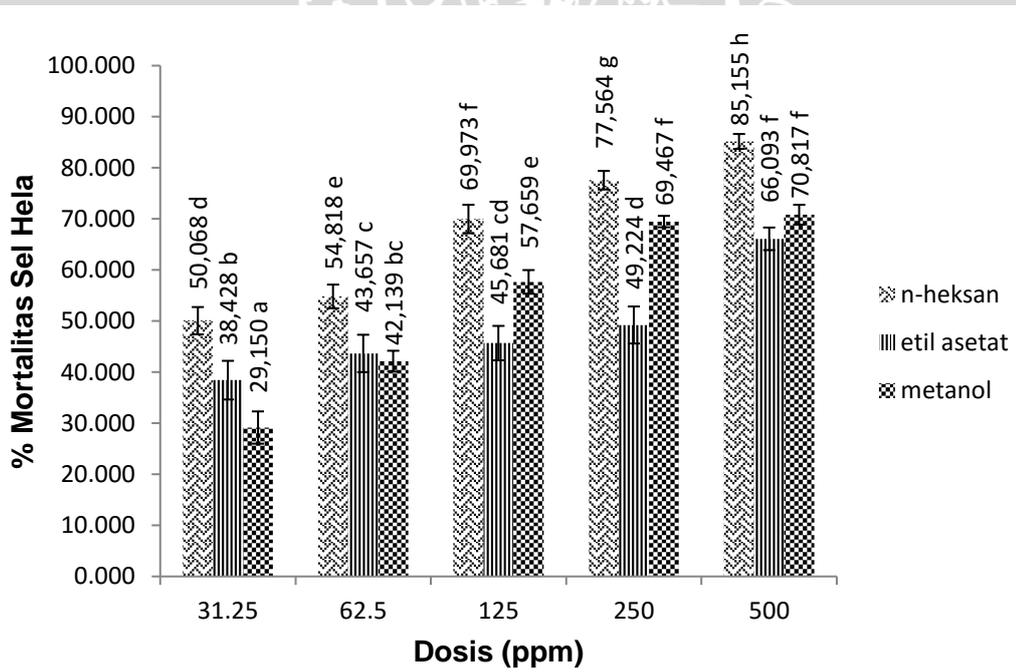
DAFTAR PUSTAKA

- Burt, B.A., Eklund, S.A., Lewis, D.W. 1992. Dentistry, Dental Practice, and The Community 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 205-6
- Dai, J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *J mol* 15,7313. Doi : 10.3390/molecules 15107313.
- Darmono, Ani, M. Hasan. 2002. Menyelesaikan Skripsi dalam Satu Semester. Jakarta: Grasindo. Hal 45.
- Dia, S.P.S., Nurjanah, A.M. Jacoeb. 2015. Komposisi Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang Dan daun Lindur. *JPHPI* 2015, Vol. 18 No. 2: 205-219
- Diastuti, H. dan Suwandri. 2009. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antikanker Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* serta Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach). *Molekul*, Vol. 4. No. 2. : 54 – 61
- Djajanegara, I. dan P. Wahyudi. 2009. Pemakaian Sel Hela Dalam Uji Sitoksisitas sFraksi Kloroform Dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol. 7 No. 1: 7-11.
- Fajarningsih, N.D., H.I. Januar, M. Nursid, T. Wikanta. 2006. Poyensi Antitumor Ekstrak Spons *Crella papilata* Asal Taman Nasional Laut Kepulauan Seribu. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* Vol.1 No.1 : 35-42.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi Kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Huspa, D.H.P. 2009. Senyawa Antikanker Dan Inteksida Dari Genus *Aglaiia*. UNPAD Press. Hal 5.
- Ihsan, F., I. Setyawan, S. Satrio, A.D. Jayanti, S. Tito, E.H. Herningtyas. 2013. Ekstrak Purwaceng (*Pimpinella alpinna*) Sebagai Agen Kemopreventif Dan Kemoterapi Kanker Paru (*Kajian Antiproliferasif Serta Uji Apoptosis Melalui*
- Indiyah, S.A. 2012. Aktivitas Antikanker dan Antioksidan Madu di Pasaran Lokal Indonesia. Skripsi. IPB. Bogor.
- Isnawati, A., H. Mudahar, Kamilatunisah. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kumarin Dari Tanaman *Artemia annua* (L). *Media Litbang Kesehatan* Vol. XVIII No. 3: 107-118.
- Li, Q., N. Yu, Y. Wang, Y. Sun, K. Lu dan W. Guan. 2013. Extraction Optimization of *Bruguiera gymnorhiza* Polysaccharides With Radical Scavenging Activities. *Carbohydrate Polimers* Vol.96 Issue 1, Pages 148-155.

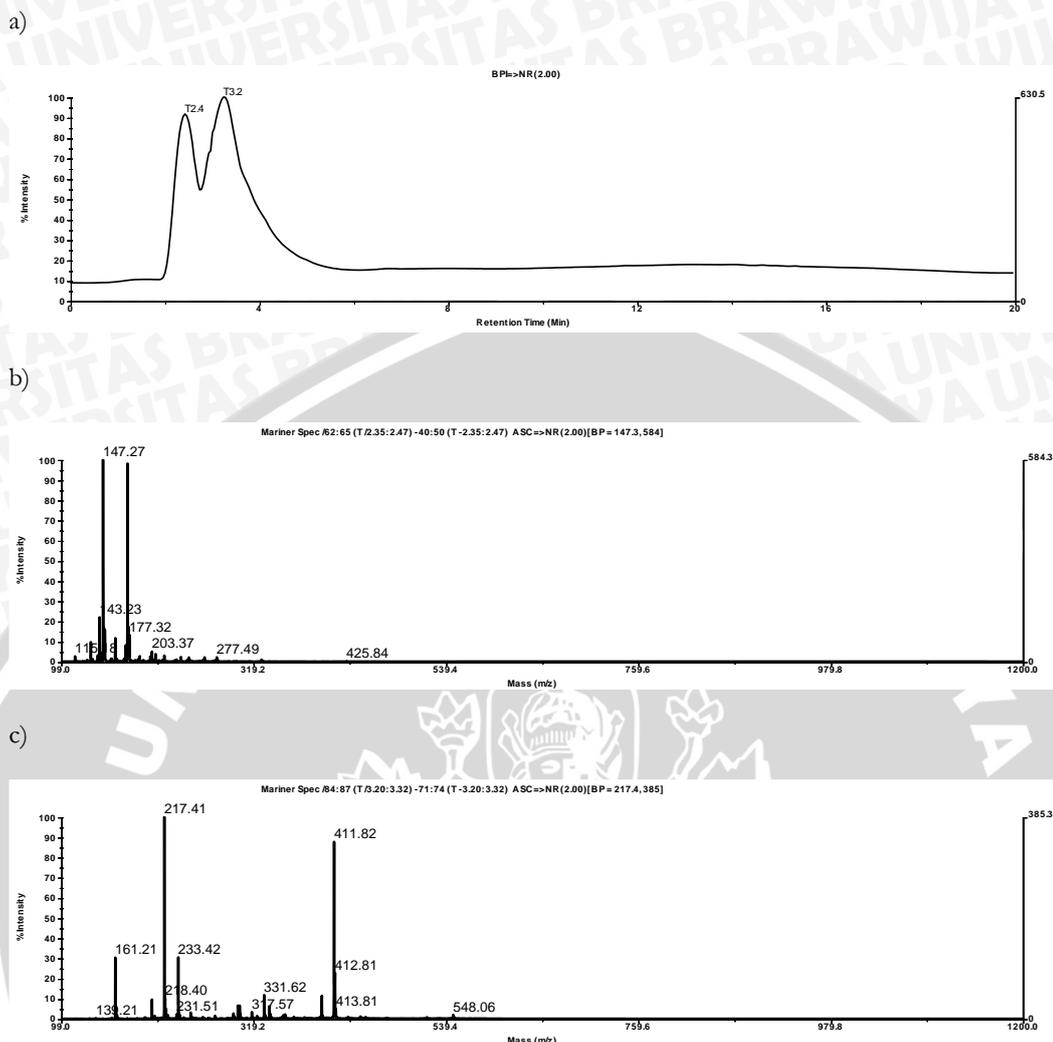
- Lushaini, S., M.A. Wibowo, P. Ardiningsih. Kandungan Total Fenol, Antivitas Antioksidan Dan Sitotoksik Daun Kedadai (*Ficus variegata* Blume). JKK, Vol. 4(2).
- Meyer, B.N. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. Drug Information Journal, Vol. 32: 513-524.
- Nurhayati, A.P.D., N. Abdulgani, R. Febrianto. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucaeuca alvarezii* Terhadap *Artemia salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. Akta Kimimdo Vol. 2 No. 1: 41-46.
- Pane, E.R. 2013. Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* Sapientum). Valensi, Vol. 3 No.2: 76-81.
- Panno, M.I., F. Giordano, F. Mastroianni, M.G. Palma, V. Bartella, A. Carpino, S. Aquila, S. Andò. 2010. Breast Cancer Cell Survival Signal Is Affected Bybergapten Combined With An Ultraviolet Irradiation, FEBS Lett. 584 (2010): 2321-2326.
- Phoanda, T.C., R. Bara, P.M. Wonor, J. Posangi. 2014. Uji Efek Antibakteri Jamur Endofit Akar Tumbuhan Bakau (*Bruguiera gymnorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Puji, A.D.N., Sukardiman, H.T. Fadji. 2011. Uji Sitoksisitas Dan Efek Ekstrak Spons Laut *Aaptos suberitoides* Terhadap Sel Kanker Serviks (Hela) Secara In Vitro. Fakultas MIPA: ITS. Surabaya
- Putri, W.S., Warditiani, N.K., Larasati, L.P.F. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurusan Farmasi. FMIPA: Universitas Udayana. Bali.
- Sakul, E. H., J.S.S. Manoppo, D. Taroreh, R.I.F. Gerungan, S. Gugule. 2012. Pengendalian Hama Kumbang Logong Dengan Menggunakan Ekstrak Biji Pangi (*Pangium edule* Reinw.). Eugenia Vol. 18 No. 3: 186-196
- Sastrawan, I.N., M. Sangi, V. Kamu. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum Vulgare*) Menggunakan Metode Dpph. Jurnal Ilmiah Sains Vol. 13 No. 2: 110-115.
- Torneck, C.D dan M. Torabinejad. 1997. Biologi Jaringan Pulpa dan Jaringan Sekitar Akar. Jakarta. EGC : 11-23.
- Trisilawati, O Dan J. Pitono. 2012. Pengaruh Cekaman Defisit Air Terhadap Pembentukan Bahan Aktif Pada Purwoceng. Bul. Littro. Vol.23 No.1: 34-47.
- Warsinah, P. Lestari dan Trisnowati. 2007. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Kulit Batang *Bruguiera gymnorrhiza* Terhadap Sel Meyloma. Molekul, Vol. 2 No. 1. Mei, 2007 : 23-29
- Zhang, Li, Yu-Chao Yao, Meng-Ying Gao, Rui-Xue Rong, Ke-Rang Wang, Xiao-Liu Li, Hua Chen. 2016. Anticancer Activity And DNA Binding Property Of The Trimers Of Triphenylethylene-coumarin Hybrids. Chinese Chemical Letters 3716. Hal 1-9.



Gambar 2. Gambar Persen Viabilitas Sel Hela



Gambar 3. Grafik Persen Mortalitas Sel Hela



Gambar 4. a) Hasil kromatografi LC. b) Spektrum massa waktu retensi ke-1 (Rt. 2.42). c) Spektrum massa waktu retensi ke-2 (Rt. 3.24)