

UJI SITOTOKSIK DAN ANTIPROLIFERASI EKSTRAK ETER DAUN BINAHONG (*Andredera cordifolia* (Tenore) Steen.) TERHADAP SEL HeLa

Muhammad Ryan Radix Rahardhian^{1*}, Dwi Utami²

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”
Jl. Letnan Jendral Sarwo Edie Wibowo Km. 1, Plamongansari, Pucanggading, Semarang

²Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta
Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H., Janturan, Yogyakarta

*email : ryanradix@stifar.ac.id

ABSTRAK

Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) merupakan tumbuhan dari keluarga Basellaceae yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat Indonesia sebagai pengobatan. Penelitian ini menggunakan ekstrak eter daun Binahong, yang diketahui mengandung flavonoid yang memiliki potensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dan antiproliferasi ekstrak eter daun Binahong terhadap sel HeLa. Daun Binahong yang telah dikeringkan diekstraksi dengan pelarut petroleum eter menggunakan alat Soxhlet, kemudian dilanjutkan maserasi menggunakan pelarut eter. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Uji sitotoksik dan antiproliferasi terhadap sel HeLa menggunakan metode MTT. Uji sitotoksik dilakukan dengan menginkubasi sel HeLa dengan kepadatan 1×10^4 sel/100 μ L dengan seri konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 dan 7,81 μ g/mL dengan waktu inkubasi selama 24 jam. Uji antiproliferasi menggunakan seri konsentrasi 125; 62,5; 31,25 μ g/mL dengan waktu inkubasi 24, 48 dan 72 jam. Potensi sitotoksik ekstrak eter daun Binahong diidentifikasi dengan menentukan harga IC_{50} dengan analisis probit sedangkan analisis antiproliferasi dengan membandingkan harga slope dari perlakuan terhadap kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak eter daun Binahong memiliki IC_{50} 85,52 μ g/mL terhadap sel HeLa dan memiliki efek antiproliferasi dilihat dari harga slope perlakuan yang lebih rendah dari kontrol, yang menunjukkan bahwa ekstrak eter daun binahong berpotensi sebagai agen kemoterapi dari bahan alam.

Kata kunci: sitotoksik, antiproliferasi, ekstrak eter daun binahong, sel HeLa.

Latar Belakang

Indonesia merupakan negara maritim dan negara hutan tropis, dan diakui dunia sebagai komunitas yang paling kaya akan keanekaragaman hayatinya, terdapat sekitar 25.000 spesies tumbuhan berbunga, jumlah yang melebihi di daerah-daerah tropikal lainnya di dunia seperti Amerika Selatan dan Afrika Barat, antara lain keanekaragaman spesies tumbuhan obat. Berdasarkan catatan WHO, IUCN dan WWF lebih dari 20.000 spesies tumbuhan obat yang digunakan oleh 80 % penduduk seluruh dunia (Zuhud, 2009). Selain tumbuhan, mikroorganisme juga dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan seperti antibakteri (Utami, 2017) dan pemutih untuk bahan baku kosmetik (Rahardhian, 2017).

Tanaman obat untuk pengobatan maupun pencegahan terhadap suatu penyakit sudah digunakan secara luas oleh masyarakat. Hanya saja informasi yang mendasari penggunaannya sebatas bukti-bukti empiris. Hal ini menjadi tanggung jawab bagi akademisi maupun praktisi kesehatan terutama yang berkecimpung di bidang kanker dan pengobatannya. Untuk mengadakan penelitian lebih lanjut guna mendukung bukti empiris tersebut, dari penelitian tersebut diharapkan dapat menghasilkan temuan-temuan yang bermanfaat di dunia pengobatan, terutama penyakit kanker (Dalimartha, 1999).

Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) merupakan tanaman yang secara tradisional banyak digunakan oleh

masyarakat Indonesia. Kandungan fitokimia Terpenoid, steroid, glikosida, flavonoid, saponin dan alkaloid (Leliqia, 2017). Senyawa-senyawa golongan flavonoid dari tanaman dilaporkan memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan sel kanker (Elsyana, 2016). Flavonoid flavon, apigenin dan genistein memiliki sifat sitotoksik terhadap sel HeLa, namun flavonoid kaempferol dan quercetin tidak memberikan efek (Szliszka, 2008). Daun binahong diketahui memiliki efek farmakologi diantaranya memperbaiki fungsi ginjal, antibakteri, anti jamur, inhibitor xantin oksidase, antidiabetes, antihipertensi, vasodilator, diuretik, antiobestas, hipolipidemia, antioksidan, gastroprotektif, hepatoprotektif, antiinflamasi, analgesik, penyembuhan luka dan sitotoksik (Leliqia, 2017)

Kanker Serviks merupakan kanker terbesar kedua pada wanita. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa virus HPV (Human Papiloma Virus), sangat erat hubungannya dengan kejadian kanker serviks, terlepas dari faktor lainnya. Lebih dari 36 tipe HPV yang diketahui dapat menginfeksi saluran genital, dan 20 lebih jenis HPV yang berhubungan dengan kanker. HPV 16 merupakan HPV yang paling umum ditemukan pada wanita dengan kanker serviks (Bosch, 1995)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak eter daun binahong sebagai sitotoksi dan antiproliferasi pada sel HeLa. Adanya flavonoid pada Binahong berpotensi dapat menghambat pembentukan kanker serviks. Pelarut eter merupakan pelarut non-polar yang dapat menyari aglikon flavonoid yang terdapat pada daun binahong. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji sitotoksik dan uji antiproliferasi ekstrak eter daun Binahong terhadap kanker serviks (sel HeLa).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat : peralatan gelas, neraca, kompor listrik, blender, elektrik stirer, corong pisah, corong Buchner. Alat untuk uji sitotoksitas dan antiproliferasi diantaranya adalah inkubator CO₂, lampu UV, *laminar air flow cabinet*, *tissue culture flask*, tabung conical, *microplate* 96 sumuran, *haemocytometer*, *magnetic stirrer*, pipetman, *yellow tip*, *blue tip*, *vortex*,

mikroskop, *eppendorf tube*, dan ELISA reader.

Bahan : Media penumbuh sel RPMI (*Rosewell Park Memorial Institute*) 1640 (Sigma), Penisillin-Streptomisin 1% (Gibco), Fungison 0,5% (Gibco), FBS (*Fetal bovine serum*), Trypsin-EDTA 0,25% dalam PBS, NaHCO₃ (Sigma) dan HEPES (*N-2-hydroxyethyl piperazin-N-2ethanesulfonic acid*) (Sigma), *Tripan blue*, larutan DMSO sebagai pelarut ekstrak, MTT, Reagen stopper (natrium dodesil sulfat 10%)

Jalannya Penelitian

Preparasi Sampel

Daun binahong diperoleh di Yogyakarta, Indonesia. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Daun binahong segar di sortasi basah dan dilanjutkan dengan pengeringan serbuk menggunakan oven, simplisia kering yang diperoleh dihaluskan dan diayak hingga diperoleh ukuran serbuk yang seragam. Pengujian sitotoksik dan antiproliferasi terhadap sel HeLa dilakukan di LPPT unit III Universitas Gadjah Mada.

Pembuatan Ekstrak

Untuk tujuan pengawal-lemakan sebanyak 400 gram serbuk daun Binahong diekstraksi dengan alat Soxhlet menggunakan pelarut petroleum eter, setelah dilakukan Soxhletasi hingga jernih kemudian ampas dikumpulkan, selanjutnya dimaserasi menggunakan pelarut eter. Seberat 200 gram serbuk daun Binahong direndam dengan 400 ml pelarut eter, distirer selama 3 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Sari eter disaring menggunakan corong *Buchner* hingga pelarut berwarna jernih, kemudian sari eter yang diperoleh diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Ekstrak kentah hasil rotary evedaporator selanjutnya diuapkan di atas *waterbath* dengan cawan porselin, Penguapan dilakukan hingga diperoleh ekstrakental.

Penyiapan kultur sel HeLa

Preparasi dan pengujian sitotoksik dan antiproliferasi mengikuti protokol uji dari CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center) farmasi UGM.

a. Pembuatan Media RPMI

Media dibuat dengan melarutkan 10,4 gram (untuk 1 Liter) RPMI ditambah 2,0 g NaHCO₃ dan 2,0 g HEPES. Larutan selanjutnya distirer hingga homogen, kemudian di buffer dengan HCl 1 N sehingga pHnya 7,2-7,4 menggunakan pH meter. Kemudian larutan tersebut disaring dengan filter polietilen sulfon steril 0,2 µm secara aseptis.

b. Pembuatan PBS (*Phosphat Buffered Saline*)

Serbuk PBS (*Phosphat Buffered Saline*) 10 gram dilarutkan ke dalam aqua bidestilata sebanyak 800 ml, diaduk dengan stirer hingga larut sempurna. Larutan dibuat dalam pH 7,2 kemudian ditambah aqua bidestilata hingga 1 liter. Larutan disimpan dalam lemari es dengan botol tertutup.

c. Pembuatan FBS (*Fetal Bovine Serum*) media penumbuh sel

Larutan FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10 % sebanyak 10 ml, fungison 0,5 ml dan penstrep(penisilin-streptomisin) 2 ml dicampur dalam wadah steril kemudian ditambah media RPMI hingga 100 ml, kemudian larutan tersebut digojog hingga homogen selajutnya larutan disaring dengan filter polietilen sulfon steril 0,2 µm secara aseptis.

d. Preparasi Sel HeLa

Sel HeLa diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan pada suhu 37°C, kemudian ampul disemprot dengan etanol 70%, ampul dibuka dan sel dipindahkan dalam tabung sentrifuge dalam ruangan *laminar air flow* dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Endapan yang terbentuk ditambah dengan media RPMI 1640-serum. Suspensi sel dimasukkan dalam *tissue culture flask* kecil dan dilihat dibawah mikroskop. Sel yang hidup nampak bulat, jernih dan bersinar. *Flask* yang berisi sel kemudian diinkubasi dalam inkubator suhu 37°C dan dialiri dengan gas CO₂.

e. Pemanenan dan perhitungan sel

Setelah jumlah sel cukup, sel dicuci dengan PBS kemudian sel HeLa yang melekat pada dinding *tissue flask* dilepas dengan larutan tripsin 2,5% sebanyak 1 ml, agar merata

ditambah larutan PBS 3 ml, didiamkan selama sekitar 3-5 menit agar tripsin bekerja dengan baik. Sel dipindahkan ke dalam tabung *conical* steril dan ditambah medium PBS sampai volume 10ml dan disentrifugasi 1500 rpm selama 15 menit. Kemudian sel dicuci dua kali menggunakan medium yang sama.

Sel dihitung jumlah selnya menggunakan *hemocytometer*. Suspensi sel ditambah sejumlah medium sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 2×10^4 sel/100 µl. Jumlah sel dapat dihitung dengan persamaan berikut.

$$\text{Jumlah sel/ml} = \frac{n}{4} \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

n = jumlah sel dalam 4 bilik

f. Pembuatan larutan uji

Sebelum dilakukan uji sitotoksisitas, terlebih dahulu dibuat larutan stok sampel dengan cara mencampur ekstrak eter daun Binahong dengan media RPMI 1640 dan penstrep. Larutan stok dibuat dengan cara menambahkan 25 mg ekstrak eter daun Binahong ke dalam 1000µl RPMI 1640 dan Pen-Strep, sehingga konsentrasi larutan uji menjadi 25.000 µg/mL. Dari konsentrasi tersebut kemudian dibuat seri kadar 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125 µg/ml, larutan dalam berbagai kadar tersebut dapat diujikan pada subjek uji. Pembuatan larutan uji ini dilakukan dalam *Laminar Air flow Cabinet* secara aseptis.

Uji Sitotoksik dengan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazoliumbromida)

Sel didistribusikan ke dalam 96 sumuran dan diinkubasi selama 24 jam dengan tujuan sel menempel pada dinding dasar sumuran, pada masing-masing sumuran ditambahkan seri konsentrasi ekstrak eter daun Binahong, kontrol sel, dan kontrol media, kemudian diinkubasi lagi selama 24 jam. Larutan uji kemudian dibuang, kemudian sumuran dibilas dengan larutan PBS sebanyak 100 µl tiap sumuran sebanyak 3 kali. Setelah sumuran bersih kemudian ditambahkan 10 µl MTT 5mg/ml. Hasil tersebut kemudian diinkubasi lagi selama 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan memetabolisme MTT membentuk formazan yang berwarna ungu. Reaksi MTT

dihentikan dengan *reagen stopper* SDS 10% dalam 0,01% HCl sebanyak 100 µl, lalu diinkubasi semalam pada suhu kamar dengan ditutup dengan aluminium foil pada tempat gelap selama 24 jam. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Dihitung terhadap jumlah sel hidup dengan metode MTT.

Uji Antiproliferasi

Sel ditumbuhkan di dalam *plate* (*multiple disk*) dengan medium yang ditambah senyawa dengan seri konsentrasi 125; 62,5 dan 31,25 µg/ml. Sampling dilakukan setiap 24 jam sampai jam ke 72. Masing-masing sampel sel diukur dengan ELISA *reader* kemudian diperoleh absorbansi sel. Data yang diperoleh berupa absorbansi dari masing-masing jam pengamatan, kemudian nilai *slope* dibandingkan antara persamaan regresi kontrol sel dengan persamaan regresi perlakuan pada kadar 125; 62,5; dan 31,25 µg/ml. Hambatan pertumbuhan ditunjukkan oleh harga *slope* perlakuan yang lebih kecil dari kontrol sel.

Analisis Data

Uji sitotoksik terhadap sel HeLa dilakukan menggunakan analisis probit dan ditentukan nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak. Analisis probit diperoleh dari konversi prosentase viabilitas sel, yang dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ sel hidup} = \left(\frac{\text{Abs. Perlakuan} - \text{Abs. Kontrol media}}{\text{Abs. Kontrol sel} - \text{Abs. Kontrol media}} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

Abs. Perlakuan : Absorbansi perlakuan (media sel + sel + senyawa uji)

Abs. Kontrol Media : Absorbansi media (media sel)

Abs. Kontrol Sel : Absorbansi kontrol sel (media sel + sel)

Selanjutnya dibuat kurva jumlah sel hidup vs waktu inkubasi untuk menentukan persamaan garis dan menentukan harga IC_{50} . Nilai IC_{50} yang kecil menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki efek sitotoksik yang tinggi, begitu pula sebaliknya, nilai IC_{50} yang besar menunjukkan bahwa efek

sitotoksiknya rendah.

IC_{50} merupakan kadar yang menyebabkan kematian 50% populasi sel HeLa. IC_{50} dihitung dengan persamaan $Y = B.X + A$, dengan Y adalah probit persen kematian sel dan X adalah log kadar. Semakin kecil nilai IC_{50} makin poten senyawa uji tersebut. Suatu ekstrak dikatakan berpotensi bila nilai IC_{50} -nya kurang dari atau sama dengan 100 µl/ml (Meiyanto, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji sitotoksitas

Uji sitotoksitas dilakukan sebagai uji pendahuluan sebelum dilakukan uji penghambatan proliferasi. Uji sitotoksitas ekstrak eter daun Binahong dilakukan untuk mengetahui potensi ketoksikannya terhadap sel HeLa. Parameter yang digunakan dalam uji sitotoksik ini adalah IC_{50} (*inhibitory concentration 50 %*). Seri kadar yang digunakan dalam uji sitotoksitas yaitu 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125 µg/ml. Pelarut yang digunakan adalah DMSO (Dimetil Sulfoksida) yang bersifat semipolar karena ekstrak eter daun binahong tidak larut dalam air.

Uji sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazoliumbromida). Dengan mekanisme pembentukan kristal formazan yang berkorelasi dengan jumlah sel yang hidup. MTT akan pecah menjadi formazan oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium yang dimiliki oleh rantai pernafasan mitokondria yang hanya aktif terhadap sel hidup. Kompleks warna formazan tidak larut dalam air dan berwarna ungu. Untuk menghentikan reaksi diberikan reagen stopper SDS (*sodium duodecyl sulphate*) 10% dalam HCl 0,01N. Intensitas warna ungu ditetapkan secara spektrofotometri dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm (Sladowski, 1993). Intensitas warna ungu yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu makin tinggi maka jumlah sel hidup semakin banyak.

Potensi ketoksikan ekstrak eter daun Binahong terhadap sel hela disajikan pada tabel I berikut.

Tabel I. Persentase kehidupan dan harga probit ekstrak eter daun Binahong

Kadar (µg/mL)	% Kehidupan			X ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
*250	-1,8711	-4,3659	-6,8607	-4,3659 ± 2,4948
125	46,7775	52,3908	43,0353	44,9065±2,6461
62,5	50,5198	56,1330	33,0561	53,3264±3,9693
**31,3	71,7256	128,4823	95,4262	98,5447±28,5066
15,6	71,7256	128,4823	84,8233	78,2744±9,2615
7,81	87,31801	291,8919	74,2204	80,7692±9,2615
7,81	87,31801	291,8919	74,2204	80,7692±9,2615

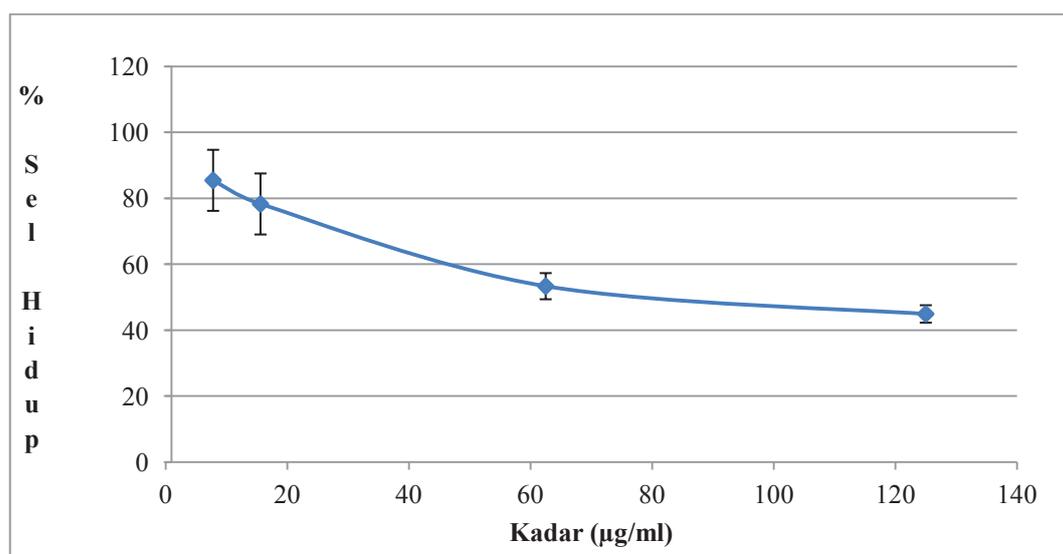
Keterangan

* Kadar ditolak karena % kehidupan negatif

** Kadar ditolak karena % kehidupan lebih besar dari kadar 15,6 µg/mL dan 7,81 µg/mL.

Berdarkan grafik hubungan konsentrasi dengan persen kehidupan (Gambar 1) dapat dilihat bahwa semakin besar kadar senyawa uji

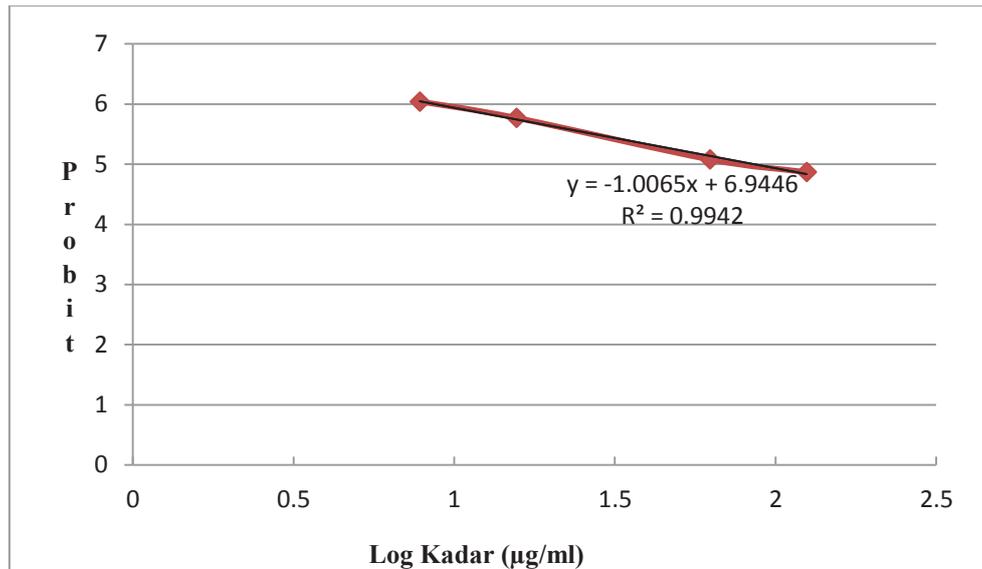
yang diberikan pada suspensi sel, semakin kecil pula persentase kehidupan yang dihasilkan.



Gambar 1. Grafik hubungan kadar ekstrak eter daun Binahong dengan presentase kehidupan sel HeLa.

Untuk mengetahui tingkat ketoksikan yang lebih spesifik dilakukan perhitungan dengan harga IC_{50} menggunakan metode analisa probit. Perhitungan IC_{50} menggunakan analisis

probit berdasarkan grafik fungsi linear log konsentrasi terhadap nilai probit dari persentase kehidupan dapat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Hubungan antara log konsentrasi ekstrak eter daun Binahong dengan probit.

Nilai IC_{50} ekstrak eter daun Binahong terhadap sel HeLa diperoleh dengan memasukkan nilai probit 5 ke dalam persamaan $y = -1,006x + 6,944$ sehingga diperoleh harga IC_{50} sebesar 85,506 µg/ml. Semakin kecil nilai IC_{50} makin poten senyawa uji tersebut. Suatu ekstrak dikatakan poten bila nilai IC_{50} -nya kurang dari

atau sama dengan 100µl/ml (Meiyanto, 2008 #81).

Dari hasil pengamatan morfologi sel HeLa yang diberi perlakuan ekstrak eter daun Binahong menunjukkan adanya fenomena kematian sel, ditunjukkan dari sel yang mati akan berbentuk bulat keruh sedangkan sel yang hidup akan berbentuk bulat cerah.

Gambar uji sitotoksik sel HeLa setelah pemberian ekstrak ditunjukkan oleh gambar 3.



Gambar 3. hasil uji sitotoksik menunjukkan sel yang hidup berbentuk bulat, berwarna terang atau bersinar dan membran sel tetap utuh (panah hitam). Yang mati berbentuk bulat tidak utuh dan warnanya tidak terang (panah merah) ekstrak eter daun Binahong kadar 125 µg/mL.

Uji Antiproliferasi

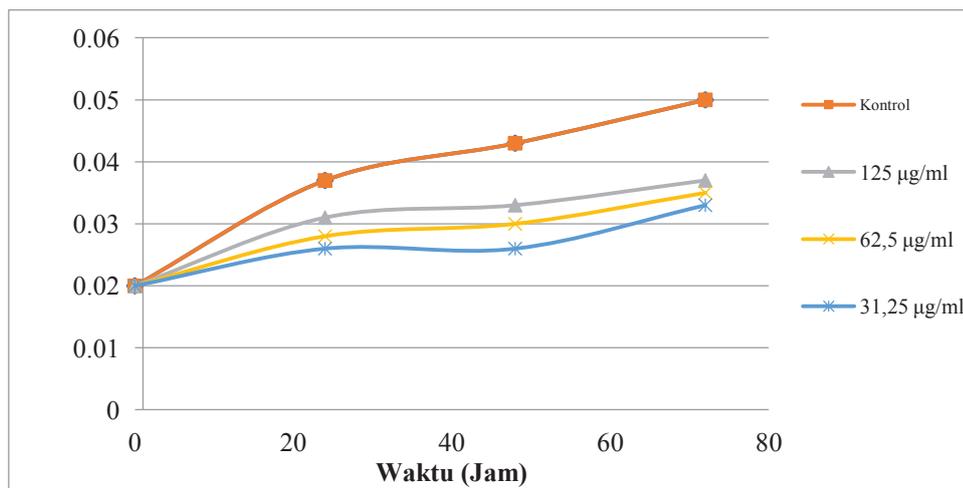
Setelah IC_{50} diketahui penelitian dilanjutkan dengan uji penghambatan pertumbuhan proliferasi. Tujuan uji antiproliferasi adalah untuk mengetahui ekstrak eter daun Binahong dapat menghambat pertumbuhan sel. Pengamatan dilakukan pada jam ke- 24, 28 dan 72. Sedangkan senyawa uji yang digunakan adalah tiga konsentrasi

dibawah IC_{50} agar sel tidak banyak mati setelah pengamatan jam ke-72. Pada uji antiproliferasi sel dipuasakan (starvasi) selama 24 jam dalam media kultur yang mengandung FBS dimana FBS kaya akan nutrisi yang penting untuk pertumbuhan sel, sehingga dengan mengurangi kadar FBS dalam media berarti terjadi pengurangan pertumbuhan. Tujuan starvasi adalah mengurangi kecepatan

pertumbuhan sel yang menyebabkan sel berada dalam standar awal yang sama, yaitu pada fase G₀ (fase istirahat). Sel yang berada pada fase M akan cepat berhenti dan mencapai fase G₀, sedangkan pada fase G₁ akan meneruskan daur sel sehingga pada G₀ akan berhenti. Sel kanker merupakan sel yang tidak terkontrol pertumbuhannya karena dapat memenuhi sendiri kebutuhan akan signal pertumbuhan (Hanahan, 2000). Karena itu starvasi tidak menjamin semua sel berada pada fase yang sama pada fase G₀, untuk memastikan sel

berada pada fase yang sama sesuai yang diinginkan dapat digunakan alat *flowcytometer* (Gibbs, 2000).

Kadar ekstrak eter daun Binahong yang digunakan untuk uji antiproliferasi adalah 125; 62,5 dan 31,3 µg/ml. Data yang diperoleh berupa absorbansi jumlah sel hidup hasil absorbansi perlakuan dikurangi absorbansi kontrol sampel. Grafik Hubungan antara waktu inkubasi ekstrak eter daun Binahong dengan Absorbansi disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Grafik Hubungan antara waktu inkubasi ekstrak eter daun Binahong dengan Absorbansi

Hasil uji antiproliferasi sebagaimana gambar 4 menunjukkan bahwa perlakuan dan konsentrasi 125 µg/ml ;62,5 µg/ml dan 31,25 µg/ml ekstrak eter daun Binahong diperoleh kurva yang meningkat. Adanya hubungan yang linear antara pertumbuhan sel dengan waktu inkubasi pada kontrol sel. Semakin lama waktu inkubasi maka semakin meningkat pula jumlah sel yang hidup.

Untuk menilai bahwa ekstrak eter daun Binahong memiliki kemampuan antiproliferasi dianalisis dengan menilai harga absorbansi perlakuan pada konsentrasi 125 µg/ml ;62,5

µg/ml dan 31,25 µg/ml dibandingkan dengan absorbansi kontrol sel, terlihat pada kurva bahwa kontrol sel memiliki absorbansi yang lebih besar dari perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh aktivitas antiproliferasi antara kontrol dengan perlakuan. Data antiproliferasi konsentrasi 125 µg/ml ;62,5 µg/ml dan 31,25 µg/ml dibuat persamaan regresi linear antara absorbansi sel hidup terhadap fungsi waktu sehingga dapat diperoleh slope yang merupakan parameter kinetika proliferasi sel seperti yang disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil absorbansi sel hidup vs waktu pada kinetika proliferasi sel HeLa dengan berbagai perlakuan

Perlakuan	Persamaan garis	Slope (B)	Intersep (A)
Kontrol Sel	$Y = 2,708 \times 10^{-4} X + 0,0303$	$2,708 \times 10^{-4}$	0,0303
Kadar 125 µg/ml	$Y = 1,25 \times 10^{-4} X + 0,0276$	$1,25 \times 10^{-4}$	0,0276
Kadar 62,5 µg/ml	$Y = 1,458 \times 10^{-4} X + 0,024$	$1,458 \times 10^{-4}$	0,024
Kadar 31,25 µg/ml	$Y = 1,458 \times 10^{-4} X + 0,0213$	$1,458 \times 10^{-4}$	0,0213

Dari data pada tabel II, dapat disimpulkan bahwa ekstrak eter daun Binahong kemampuan antiproliferasi dianalisis dengan menilai harga absorbansi perlakuan pada konsentrasi 125 µg/ml ;62,5 µg/ml dan 31,25 µg/ml dibandingkan dengan absorbansi kontrol sel, terlihat pada kurva bahwa kontrol sel memiliki absorbansi yang lebih besar dari perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa ada antiproliferasi antara kontrol dengan perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak eter daun Binahong memiliki potensi sebagai agen antikanker serviks ditunjukkan dari hasil uji sitotoksik dan antiproliferasi.

Berdasarkan hasil penelitian Ibah (2011), ekstrak eter daun Binahong mengandung aglikon flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna kuning intensif menggunakan pereaksi uap amoniak. (Ren, 2003) dalam review artikel berjudul *Flavonoids: Promising Anticancer Agents* mengungkapkan bahwa flavonoid berpotensi sebagai antikanker dengan pengujian in vivo, in vitro dan uji klinis hingga fase II dengan berbagai macam mekanisme aksi seperti, inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, menghentikan siklus sel, menginduksi apoptosis, promosi diferensiasi, menghambat angiogenesis, antioksidan dan memodulasi *multidrug resistance*.

Quercetin juga dilaporkan dapat berperan sebagai agen ko-kemoterapi. Berdasarkan penelitian (Wang, 2008) menunjukkan bahwa Quercetin dapat meningkatkan indeks terapi agen kemoterapi doxorubicin serta memiliki efek sebagai kardioprotektif dan *hepatoprotective* sehingga dapat menurunkan kemungkinan terjadinya efek samping yaitu *cardiotoxic*. Sehingga diketahui bahwa quercetin dapat dijadikan sebagai terapi pendamping pada kemopreventif.

Saran untuk penelitian lanjutan adalah, perlunya dilakukan penelitian sejenis terhadap sel kanker lain seperti sel kanker payudara (MCF-7), Liver (Hep G2), Prostat (PC-3), rectal (HT-29) dan sel normal (MCF-12) (Mannarreddy, 2017)

KESIMPULAN

Ekstrak eter daun Binahong memiliki IC_{50} 85,52 µg/mL terhadap sel HeLa dan memiliki aktivitas antiproliferasi dilihat dari

harga slope perlakuan yang lebih rendah dibandingkan shape kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Bosch, F.X., Manos, M.M., Muñoz, N., Sherman, M., Jansen, A.M., Peto, J., Schiffman, M.H., Moreno, V., Kurman, R. and Shan, K.V., 1995. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 87(11), pp.796-802.
- Dalimartha, S., 1999. *Ramuan Tradisional untuk pengobatan kanker*. Penebar Swadaya.
- Dewoto, H.R., 2007. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 57(7), pp.205-211.
- Gibbs, J.B., 2000. Mechanism-based target identification and drug discovery in cancer research. *Science*, 287(5460), pp.1969-1973.
- Hanahan, D. and Weinberg, R.A., 2000. The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), pp.57-70.
- Ibah., 2011, Uji sitotoksik dan apoptosis ekstrak eter daun Binahong terhadap sel HeLa, *Skripsi*, Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Leliqia, N.P.E., Sukandar, E.Y. and Fidrianny, I., 2017. Overview Of Efficacy, Safety And Phytochemical Study Of *Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis.
- Mannarreddy, P., Denis, M., Munireddy, D., Pandurangan, R., Thangavelu, K.P. and Venkatesan, K., 2017. Cytotoxic effect of *Cyperus rotundus* rhizome extract on human cancer cell lines. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, pp.1375-1387.
- Meiyanto, E., Hermawan, A. and Anindyajati, A., 2012. Natural products for cancer-targeted therapy: citrus flavonoids as potent chemopreventive agents. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(2), pp.427-436.
- Rahardhian, M.R.R. and Wulandari, W., 2017. Pemanfaatan Ekstrak Khamir *Phaffia rhodozyma* Sebagai Sumber Karotenoid Pada Penghambatan Tirosinase. *STIFAR-Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi*, 12(1).
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. and Zhang, L., 2003. Flavonoids: promising

- anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23(4), pp.519-534.
- Sladowski, D., Steer, S.J., Clothier, R.H. and Balls, M., 1993. An improved MIT assay. *Journal of immunological methods*, 157(1-2), pp.203-207.
- Szliszka, E., Czuba, Z. P., Jernas, K., & Król, W. (2008). Dietary flavonoids sensitize HeLa cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *International Journal of Molecular Sciences*, 9(1), 56-64.
- Utami, C.R., Rahardhian, M.R.R. and Sulistyarini, I., 2017. Aktivitas Antibakteri Pigmen Karotenoid Khamir *Phaffia Rhodozyma* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* Atcc 6231 Secara In Vitro. *Cendekia Eksata*, 2(1).
- Wang, J., Wu, F.A., Zhao, H., Liu, L. and Wu, Q.S., 2008. Isolation of flavonoids from mulberry (*Morus alba* L.) leaves with macroporous resins. *African Journal of Biotechnology*, 7(13).
- Zuhud, E.A., 2009. Potensi hutan tropika Indonesia sebagai penyangga bahan obat alam untuk kesehatan bangsa. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6(6), pp.227-232.