

## SITOTOKSISITAS KOMBINASI EKSTRAK DAUN PETAI CINA DAN KULIT JENGKOL TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA DAN SERVIKS

*(Cytotoxicity of Petai Cina Leaves and Jengkol Pods Combinations Against Breast Cancer Cells and Cervix)*

**Harry Noviardi, Sitaesmi Yuningtyas, Dwi Suwarni**

Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor  
Jl. Kumbang No. 23, 16151, Bogor, Indonesia  
e-mail: harry.noviardi@gmail.com

Naskah diterima 8 Agustus 2019, revisi akhir 23 September 2019, disetujui terbit 27 September 2019

**ABSTRAK.** *Petai cina (Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit) dan jengkol (Archidendron jiringa (Jack) I.C.Nielsen) merupakan tumbuhan suku polong-polongan yang mengandung senyawa bahan alam seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Senyawa bahan alam tersebut berpotensi sebagai antikanker. Kombinasi ekstrak bahan alam memiliki kelebihan terkait sinergisitas dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Uji sitotoksisitas digunakan untuk mendeteksi potensi senyawa antikanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan efek sinergis dari kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol berdasarkan pada nilai sitotoksisitasnya. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Perbandingan kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol yang digunakan secara berturut-turut yaitu 1:0, 0:1, 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 dan 1:9. Metode sitotoksisitas yang digunakan adalah MTT assay dengan kultur sel kanker payudara MCF-7 dan serviks HeLa. Parameter yang diukur adalah nilai inhibition concentration (IC<sub>50</sub>). Kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol dengan perbandingan 1:0, 0:1, 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 dan 1:9 menunjukkan aktivitas sitotoksisitas terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> secara berturut-turut sebesar 102,56; 51,76; 37,35; 28,57; 11,69; 7,5 dan 1,92 µg/mL sedangkan pada sel HeLa 137,65; 39,62; 20,91; 14,46; 9,34; 7,28 dan 1,86 µg/mL. Berdasarkan kriteria sitotoksisitas National Cancer Institute (NCI) semua perbandingan termasuk dalam kategori sitotoksisitas potensial, kecuali perbandingan 1:1 pada sel kanker MCF-7 termasuk dalam kategori sitotoksisitas sedang karena nilai IC<sub>50</sub> lebih dari 30 µg/mL. Oleh sebab itu, kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol dapat digunakan sebagai agen antikanker yang memberikan efek sinergis lebih baik dari pada ekstrak tunggal.*

**Kata kunci:** *daun petai cina, HeLa, kulit jengkol, MCF-7, sitotoksisitas*

**ABSTRACT.** *Petai cina (Leucaena leucocephala (Lam.) De Wit) and jengkol (Archidendron jiringa (Jack) I.C.Nielsen) are leguminous plants that contain alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and triterpenoids which potential to be anticancer. This study aimed to determine the synergic effect of petai cina leaves extract and jengkol pods combination based on its cytotoxicity value. The extraction used maceration method with 70% ethanol solvent. Comparison of the combination of petai cina leaves extract and jengkol pods were 1:0, 0:1, 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 and 1:9. The cytotoxicity method used MTT assay with MCF-7 breast cancer cell culture and cervical HeLa. Inhibition valueconcentration (IC<sub>50</sub>) used as parameter. The combination with ratio 1:0, 0:1, 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 and 1:9 showed cytotoxicity activity against MCF-7 cells with IC<sub>50</sub> values respectively 102.56; 51.76; 37.35; 28.57; 11.69; 7.5 and 1.92 µg/mL while on HeLa cells 137.65; 39.62; 20.91; 14.46; 9.34; 7.28 and 1.86 µg/mL. Based on the National Cancer Institute (NCI), all comparisons classified as potential cytotoxicity except ratio 1:1 on MCF-7 cancer cells which considered as moderate since IC<sub>50</sub> values were more than 30 µg/mL.*

**Keywords:** *cytotoxicity, HeLa, jengkol pods, petai cina leaves, MCF-7*

## 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang dapat menyebabkan kematian karena pertumbuhan sel yang tidak normal pada jaringan tubuh manusia (Zafrial *et al.*, 2018). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2015, diperkirakan 8,2 juta orang meninggal akibat kanker dan lebih dari 70% kematian terjadi di negara berkembang dan miskin. Jenis kanker tertinggi pada perempuan di dunia adalah kanker payudara (38 per 100.000 perempuan) (WHO, 2015). Prevalensi kanker di Indonesia sebesar 1,4 per 1.000 penduduk (Kemenkes RI, 2013) serta merupakan penyebab kematian nomor 7 (5,7%) (WHO, 2015).

Penanganan penyakit kanker selama ini menggunakan obat-obat sintetik antikanker seperti senyawa antitubulin, antimetabolit, senyawa penarget molekular, senyawa interaktif DNA, maupun hormon (Nussbaumer *et al.*, 2011). Antikanker diharapkan memiliki toksisitas yang selektif, yaitu dapat menghambat atau membunuh sel kanker tanpa mengganggu atau merusak sel normal. Obat antikanker yang digunakan selama ini memiliki rentang keamanan yang sangat sempit dan efek samping yang merugikan. Efek samping yang ditimbulkan akibat penggunaan obat antikanker antara lain supresi sumsum tulang, lesi gastrointestinal, toksisitas jantung dan disfungsi neurologi (Hosseini *et al.*, 2015). Oleh sebab itu perlu dilakukan pencarian obat antikanker yang berasal dari bahan alam dengan harapan dapat menemukan antikanker yang efektif menghambat proliferasi sel kanker tanpa mengganggu sel normal dengan dosis kecil dan efek samping yang minimal (Zafrial *et al.*, 2018).

Tumbuhan petai cina (*Leucaena leucocephala*) dan jengkol (*Archidendron jiringa*) termasuk dalam suku Leguminosae yang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid yang berpotensi menghambat sel kanker (Simanjuntak, 2012). Ekstrak etanol 70% daun petai cina memiliki nilai toksisitas terhadap larva udang sebesar 291

ppm dan termasuk dalam kategori toksik (Clarks, 1982). Ekstrak metanol dari kulit jengkol memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 39,27 ppm, dimana menurut Clarkson *et al.* (2004) dikategorikan bersifat sangat toksik. Ekstrak etanol kulit jengkol memiliki nilai sitotoksitas terhadap sel MCF-7 dan sel HeLa sebesar 51,76 ppm dan 39,62 ppm (Noviardi *et al.*, 2019a). Kombinasi ekstrak petai cina dan kulit jengkol dengan perbandingan bobot ekstrak 1:1 ; 1:3 ; 1:5 ; 1:7; 1:9 memiliki nilai toksisitas dengan metode BSLT berturut-turut sebesar 85,3 ppm; 30,4 ppm; 21,8 ppm; 14,1 ppm; 1,4 ppm (Noviardi *et al.*, 2019b).

Berdasarkan pada potensi toksisitas dari uraian kedua tumbuhan diatas, maka pada penelitian ini dilakukan kombinasi dari dua ekstrak tumbuhan dan dilakukan pengujian sitotoksitas secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan serviks HeLa menggunakan metode kolorimetri dengan pewarnaan MTT (3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida). Penelitian ini bertujuan menentukan sitotoksitas dari kombinasi ekstrak daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) dan ekstrak kulit jengkol (*Archidendron jiringa*) menggunakan metode kolorimetri dengan pewarnaan MTT (3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) yang berkhasiat sebagai antikanker pada sel kanker payudara MCF-7 dan serviks HeLa.

## 2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) dan kulit jengkol (*Archidendron jiringa*). Daun petai cina diperoleh dari daerah Asrama Yon Armed 10 Jl. Mandala raya Ciluar Kota Bogor sedangkan kulit jengkol dari *Home Industry* emping jengkol ibu Nyai yang beralamat di Jalan Kebon Jukut RT 01 RW 05, Kelurahan Babakan Pasar, Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor dan telah dideterminasi oleh *Herbarium Bogoriense*, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Kultur sel kanker payudara MCF-7 dan HeLa

merupakan koleksi dari laboratorium kultur sel dan sitogenetika rumah sakit pendidikan Universitas Padjajaran Bandung. Bahan lain adalah etanol 70%, reagen fitokimia, RPMI (*Rosewell Park Memorial Institute*) 1640, FBS (*Fetal Bovine Serum*), PBS (*Phosphate Buffered Salina*), DMSO (*Dimetil Sulfoksida*), penisilin-streptomisin, Amfoterisin B, Tripsin EDTA 5%, *Trypan Blue Stain* 0,4%, MTT (3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) dan *doxorubicin* HCl injeksi.

Alat gelas yang digunakan pada penelitian ini antara lain botol cokelat, pisau, blender, ayakan 40 *mesh*, kertas saring, *rotary evaporator*, cawan penguap, cawan krus porselen, oven, pH meter, timbangan analitik (ACID AD-300i), *Microplate 96 well*, inkubator CO<sub>2</sub>, autoklaf, *biological safety cabinet* II, mikroskop *inverted*, mikro pipet, pipet tips, *aluminium foil*, dan *ELISA Reader*.

### Ekstraksi Daun Petai Cina dan Kulit Jengkol

Daun petai cina dan kulit jengkol dipanen kemudian dibersihkan dan dikeringkan. Bahan yang sudah kering digiling terlebih dahulu untuk memudahkan dan mengoptimalkan proses maserasi. Serbuk simplisia kering, yaitu sebanyak 800 gram daun petai cina dan 700 gram kulit jengkol, masing-masing dimasukkan ke dalam botol cokelat kemudian ditambahkan etanol 70% sampai terendam. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan setiap 1x24 jam dilakukan penggantian pelarut untuk menghindari jenuhnya pelarut. Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* dan pemekatan dengan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian pada ekstrak kental dilakukan penapisan fitokimia untuk identifikasi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid/ steroid.

### Preparasi Sel

Ampul yang berisi sel inaktif di dalam *freezer* (suhu -80°C) dikeluarkan kemudian diaktifkan segera dengan cara di cairkan pada suhu 37°C secara aseptis

dengan disemprot etanol 70%. Suspensi sel di dalam ampul diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan tetes demi tetes ke dalam *falcon tube* yang berisi media kultur sebanyak 3 mL. Suspensi sel disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 5 menit, lalu bagian atas yang disebut supernatan dibuang. Bagian bawah yang disebut *pellet* ditambahkan 20 mL media kultur dan disuspensi kembali hingga homogen. Selanjutnya sel ditumbuhkan pada *culture flask*, diinkubasi pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam (masing-masing sel 1 *culture flask*). Media diganti setiap 2 hari sekali dan sel ditumbuhkan hingga sel 80% *konfluen*. Media kultur kemudian dibuang dan sel dicuci sebanyak satu kali dengan PBS pada *culture flask* lalu ditambahkan tripsin sebanyak 3 mL untuk melepaskan sel dari matriks. Setelah sel sudah lepas semua, ditambahkan media kultur untuk menginaktifkan tripsin, karena dalam media kultur terdapat FBS (*fetal bovine serum*) yang dapat menetralkan tripsin. Kepadatan sel dihitung dengan pengambilan sel sebanyak 10 µL lalu ditambahkan *trypan blue* sebanyak 10 µL kemudian dimasukkan pada *Haemocytometer Nauber* dan dilakukan perhitungan di bawah mikroskop *inverted* sehingga diperoleh kepadatan sel untuk MCF-7 sebesar 40x10<sup>4</sup> sel/mL. Jumlah sel yang digunakan pada tiap sumuran adalah 5x10<sup>4</sup> sel/mL sehingga volume sel yang dipipet sebanyak 12,5 mL ditambahkan media lengkap 7,5 mL. Jumlah sel pada sel HeLa sebesar 35x10<sup>4</sup> sel/mL yang digunakan pada tiap sumuran sama dengan diatas, sehingga volume sel yang dipipet sebanyak 14,3 mL ditambahkan media lengkap 5,7 mL. Setiap sel ditransfer ke masing-masing sumuran sebanyak 200 µL dan sel siap diberikan perlakuan.

### Penentuan Sitotoksisitas dengan Metode MTT

Sebanyak 96 sumuran yang telah berisi sel diinkubasi pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam. Setelah sel diinkubasi dan telah dalam kondisi normal, diberikan perlakuan dengan larutan uji. Perbandingan

kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol yang digunakan, yaitu 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 dan 1:9. Ekstrak etanol daun petai cina dan kulit jengkol ditimbang sesuai kebutuhan dengan total hasil dari penimbangan keduanya yaitu 1000 µg kemudian ditambahkan pelarut DMSO 1% dalam media kultur sebanyak 1000 µL sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 µg/mL (satu larutan induk untuk satu perbandingan kombinasi). Larutan induk tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400 dan 800 µg/mL, masing-masing konsentrasi dimasukkan pada tiap-tiap sumuran yang sudah ditentukan. Setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Selanjutnya sumuran diinkubasi kembali pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> selama 48 jam.

Pengujian ini menggunakan beberapa kontrol, yaitu kontrol media, kontrol pelarut DMSO 1% dalam media dan kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan yaitu *doxorubicin* HCl dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400 dan 800 µg/mL. Setelah 48 jam, media kultur dibuang kemudian sel dicuci dengan 100 µL PBS pada tiap-tiap sumuran lalu ditambahkan reagen MTT 10% dalam media kultur 100 µL. Selanjutnya sel diinkubasi selama 4 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO<sub>2</sub>. Sel yang hidup akan bereaksi dengan reagen MTT yang berwarna kuning membentuk kristal *formazan* berwarna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan 100 µL DMSO pada tiap-tiap sumuran. Plat yang telah ditambahkan DMSO diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada tiap sumuran dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Data absorbansi yang diperoleh lalu dikonversi ke dalam persen sel hidup.

#### Analisis Data

Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persentase kematian sel terhadap jumlah sel hidup dalam kontrol sel. Penentuan nilai sitotoksik dilakukan melalui perhitungan nilai IC<sub>50</sub> yang dihitung menggunakan

regresi linier dari perlakuan terhadap persen sel hidup. IC<sub>50</sub> merupakan nilai yang menunjukkan kadar yang dapat mematikan 50% jumlah sel. Penelitian ini tidak melakukan penentuan nilai CC<sub>50</sub> dan nilai *selectivity index*.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Karakteristik Ekstrak Daun Petai Cina dan Kulit Jengkol

Ekstraksi maserasi dipilih pada proses ekstraksi daun petai cina dan kulit jengkol karena proses pengerjaannya yang cukup sederhana dan tidak memerlukan pemanasan. Pelarut yang digunakan pelarut etanol 70% karena sifatnya yang semipolar dan merupakan pelarut universal sehingga diharapkan semua metabolit sekunder yang terkandung dalam daun petai cina dan kulit jengkol dapat berdifusi ke dalam pelarut. Proses maserasi dilakukan 3x24 jam dan penggantian pelarut tiap 1x24 jam dengan harapan senyawa yang terkandung dapat terlarut semua ke dalam pelarut. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary vacuum evaporator* dan pemekatan dengan *water bath* sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun petai cina diperoleh sebanyak 21 gram dari serbuk simplisia 800 gram yang digunakan, sedangkan ekstrak kental kulit jengkol yang diperoleh sebanyak 45 gram dari 700 gram serbuk simplisia kulit jengkol.

**Tabel 1.** Karakteristik ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol

Sampel	Rendemen (%)	Kadar Air (%)
Daun Petai Cina	2,62	2,60
Kulit Jengkol	6,42	3,60

Berdasarkan pada penetapan kadar air (Tabel 1), dapat dikatakan bahwa simplisia daun petai cina dan kulit jengkol memenuhi syarat dimana menurut Harborne (1987) kadar air simplisia tidak lebih dari 10%. Penetapan kadar air pada simplisia yang akan digunakan perlu dilakukan karena jika kadar air lebih dari

syarat yang ditentukan maka akan menyebabkan mikroorganisme tumbuh dan mengakibatkan kerusakan pada simplisia tersebut. Persen rendemen menggambarkan banyaknya senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak (Laffyanto, 2016).

### **Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Petai Cina dan Kulit Jengkol**

Golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol berdasarkan pada hasil penapisan fitokimia antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Petai cina mengandung senyawa flavonoid antara lain asam kafeat, isorhamnetin, krisoeriol, isorhamnetin 3-O-galaktosida, kaempferol-3-O-rubinosida, kueresetin-3-O-rhamnosida dan luteolin-7-glukosida (Hassan *et al.*, 2014). Metil galat banyak terkandung pada kulit jengkol (Lubiset *et al.*, 2018). Nurussakinah (2010) menyatakan bahwa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker serta mekanisme penghambatannya. Alkaloid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker dengan mekanisme kerja sebagai antitubulin. Senyawa alkaloid vinca dan taxan atau disebut juga dengan *spindle poison* mampu menghambat pertumbuhan kanker dengan berikatan secara spesifik pada tubulin, komponen protein mirotubulus, *spindle* mitotik dan memblok polimerisasinya yang mengakibatkan terjadinya disolusi mikrotubulus sehingga sel terhenti dalam metafase. Mikrotubulus merupakan polimer dari tubulin yang tidak dapat dipisahkan dari fase mitosis atau pembelahan sel (Tanu, 2012).

Senyawa flavonoid asam kafeat, isorhamnetin, krisoeriol, isorhamnetin 3-O-galaktosida, kaempferol-3-O-rubinosida, kueresetin-3-O-rhamnosida dan luteolin-7-glukosida, mempunyai aktivitas sebagai anti kanker (Hassan *et al.*, 2014). Senyawa flavonoid memodulasi penahanan siklus sel pada fase G1 menuju fase S. Flavonoid dapat memacu apoptosis melalui beberapa mekanisme antara lain modulasi *signaling pathways*, penghambatan aktivitas DNA

topoisomerase I atau II, penurunan ekspresi gen Bcl-XL dan Bcl-2, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak serta aktivasi endonuklease. Topoisomerase merupakan suatu enzim yang berfungsi memotong DNA yang berilitan ketat akibat pembukaan *double strand* DNA oleh enzim helikase, memutar balik dan kemudian menyambung lagi. Enzim topoisomerase bekerja pada saat perpanjangan replikasi DNA. Jika terjadi penghambatan terhadap aktivasi topoisomerase, maka stabilisasi kompleks topoisomerase-DNA terpotong sehingga menghasilkan kerusakan *double strand* DNA yang permanen. Kerusakan DNA akan mengaktifasi p53 dan memicu apoptosis (Pebriana *et al.*, 2008). Senyawa saponin merupakan senyawa yang dapat menghambat sel kanker dengan cara menghambat pembentukan Bcl-2 yang diekspresikan terlalu tinggi, menginduksi protein caspase-3 yang diekspresikan terlalu rendah, meningkatkan ekspresi p53 dan menghambat fase G1 (Raju *et al.*, 2004).

Senyawa tanin seperti (-) epigalokatekin-3-galate berpotensi sebagai antikanker (Cai *et al.*, 2016), dengan bekerja pada tingkat sel dengan memblokir fase S atau Sintesis dari siklus sel. Sel akan melakukan sintesis DNA pada fase sintesis dan terjadi proses replikasi kromosom (Albert *et al.*, 2008). Senyawa tanin yang merupakan senyawa polifenol juga dapat meningkatkan protein p27 yang menghambat siklus sel. Protein p27 adalah protein yang mengikat siklin dan CDK sehingga terjadi hambatan menuju fase S sedangkan CDK merupakan protein yang mengatur transisi fase G1 ke S. Penghentian sel pada fase G1 akan memberikan kesempatan sel yang mengalami kerusakan untuk dikenali dan melanjutkan proses apoptosis. Penekanan CDK mampu menyebabkan penghentian siklus sel pada fase G1 sehingga proses perbaikan maupun apoptosis dapat berlangsung (Budiyastomo, 2010).

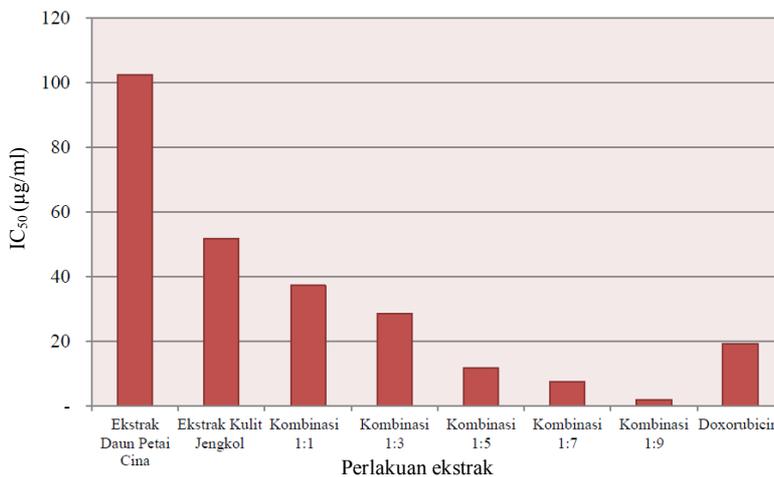
Potensi senyawa triterpenoid sebagai antikanker, yaitu dapat memblok siklus sel pada fase G2/M dengan menstabilkan benang-benang *spindle* pada fase mitosis

sehingga menyebabkan proses mitosis terhambat. Pada tahap selanjutnya, akan terjadi penghambatan proliferasi sel dan pemacuan apoptosis. Senyawa triterpenoid mampu menghambat enzim topoisomerase I dan II sehingga akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan DNA terpotong yang mengakibatkan kerusakan DNA. Adanya kerusakan DNA dapat menyebabkan terekpresinya protein proapoptosis sehingga dapat memacu terjadinya apoptosis.

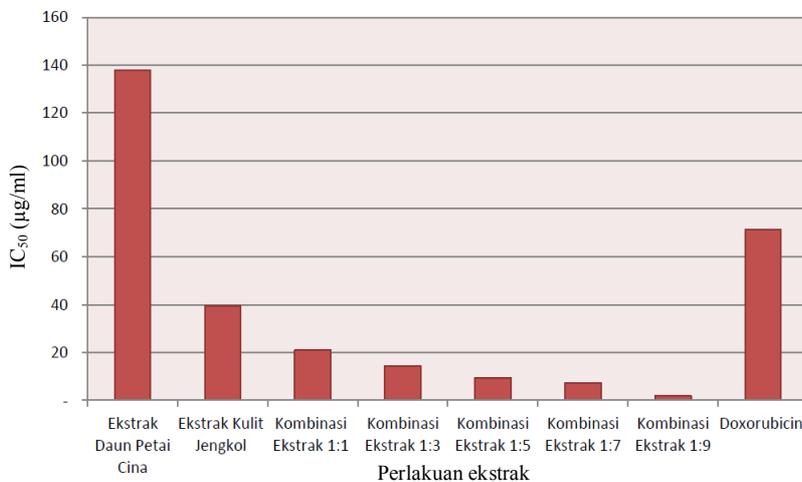
**Sitotoksisitas Ekstrak Daun Petai Cina dan Kulit Jengkol**

Bedasarkan pengujian MTT, kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol dapat menghambat proliferasi sel MCF-7 dan HeLa. Kombinasi ekstrak

memberikan penghambatan lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tunggal karena nilai IC<sub>50</sub> kombinasi ekstrak lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memberikan efek yang sinergis. Kombinasi ekstrak 1:5, 1:7 dan 1:9 pada penghambatan sel MCF-7 memiliki nilai IC<sub>50</sub> lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif *doxorubicin* HCl. Perbandingan nilai IC<sub>50</sub> dapat dilihat pada Gambar 1. Semua nilai IC<sub>50</sub> pada penghambatan sel HeLa, kombinasi ekstrak lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC<sub>50</sub> kontrol positif *doxorubicin* HCl. Perbandingan nilai IC<sub>50</sub> dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 1.** Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak terhadap sel kanker MCF-7.

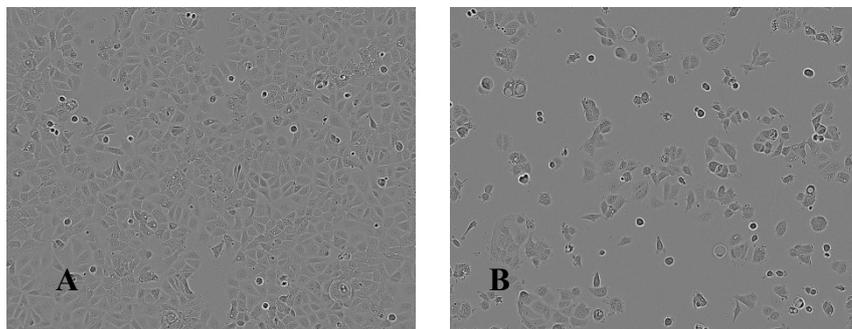


**Gambar 2.** Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak terhadap sel kanker HeLa.

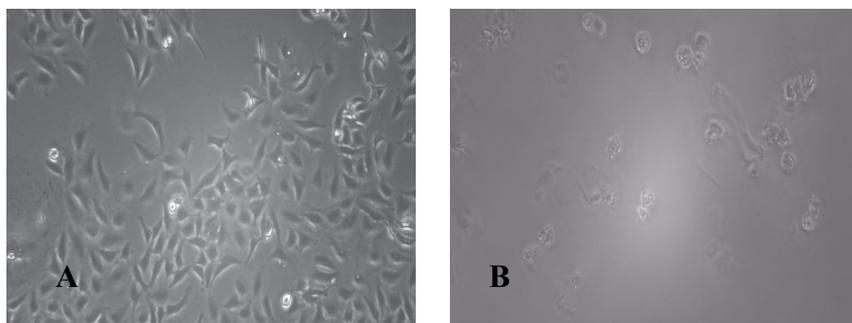
Berdasarkan pada gambar di atas, kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memberikan efek sitotoksik lebih baik dibandingkan ekstrak tanpa dikombinasi. Kombinasi ekstrak bahan alam memiliki kelebihan dalam efek sinergisitas. Pengobatan dari beberapa penyakit memberikan pengaruh lebih baik jika diberikan ekstrak kombinasi (Yuan *et al.*, 2016 & Kiyohara *et al.*, 2004). Ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memiliki efek yang sinergis terhadap penghambatan sel MCF-7 dan sel HeLa. Hal ini dapat dilihat dari lebih rendahnya nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan pada kombinasi ekstrak dibandingkan dengan ekstrak tunggal.

Efek sinergis merupakan efek dua atau lebih senyawa yang memiliki efek terapi yang sama sehingga saling menguatkan efek terapi baik dengan mekanisme yang sama maupun berbeda (Rahmiati & Woro, 2012). Secara umum, terlihat adanya peningkatan persentase penghambatan sel seiring dengan bertambahnya konsentrasi sampel yang

diberikan atau *dose dependent* (Mahardika *et al.*, 2016). Kombinasi 1:5, 1:7 dan 1:9 memberikan nilai  $IC_{50}$  lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif terhadap sel MCF-7. Semua perlakuan nilai  $IC_{50}$  untuk sel HeLa lebih rendah daripada kontrol positif kecuali ekstrak daun petai cina tunggal. Nilai  $IC_{50}$  kombinasi ekstrak lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif, dikarenakan kontrol positif yang digunakan kurang selektif terhadap sel kanker yang di uji. Oleh karena itu, kombinasi dari ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol dapat digunakan sebagai agen antikanker. Aktifitas sitotoksik sel kanker MCF-7 dan sel HeLa juga dapat diamati secara mikroskopis dengan mikroskop *inverted* untuk melihat morfologi sel MCF-7 dan sel HeLa tanpa pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak terbaik yaitu kombinasi daun petai cina dan kulit jengkol 1:9. Hasil uji dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



**Gambar 3.** Perlakuan sel MCF-7 tanpa penambahan ekstrak (A), setelah penambahan kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol (1:9) (B) (pembesaran 100 kali).



**Gambar 4.** Perlakuan sel HeLa tanpa penambahan ekstrak (A), setelah penambahan kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol (1:9) (B) (pembesaran 100 Kali).

Aktivitas sitotoksik kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol (1:9) dapat diamati dari perubahan morfologi sel. Gambar 3 dan 4 (A) menunjukkan kontrol sel MCF-7 dan HeLa, dimana tidak terlihat adanya sel yang lisis. Sel yang hidup berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berdempet dengan sel lainnya yang ada di sekitarnya dan menempel pada dasar *plate*. Sedangkan pada Gambar 3 dan 4 (B) setelah sel MCF-7 dan HeLa ditambahkan kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol (1:9), maka terlihat sel MCF-7 dan HeLa yang lisis. Sel tersebut mengalami perubahan bentuk, dimana sel yang mati pecah, berbentuk bulat, mengapung dan tersebar.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan pada hasil nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memberikan efek yang sinergis. Hal ini dapat dilihat pada nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh, yaitu nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak tanpa kombinasi lebih besar dibandingkan pada kombinasi ekstrak, artinya pada ekstrak tanpa kombinasi memberikan penghambatan lebih kecil dibandingkan ekstrak dengan kombinasi. Selain itu, semakin besar konsentrasi ekstrak kulit jengkol yang digunakan, maka semakin banyak sel yang dihambat.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM STTIF Bogor yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini. Penelitian ini merupakan penelitian yang dibiayai oleh Kemenristekdikti dengan skema Hibah Penelitian Dosen Pemula tahun 2018.

#### DAFTAR PUSTAKA

Albert, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter P. (2008). *Molecular Biology of The Cell*. New York: Garland Science.

Budiyastomo, H. (2010). *Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik Bawang Dayak*

*terhadap Tingkat Ekspresi Cyclin-e Galur Sel Kanker Serviks Uteri HeLa*. Tesis. Universitas Sebelas Maret Surakarta, Surakarta.

- Cai, Y., Zhang, J., Chen, N. G., Shi, Z., Qiu, J., He, C., Chen, M. (2016). Recent Advances in Anticancer Activities and Drug Delivery Systems of Tannis. *Med. Res. Rev.*, 0(0), 1-37.
- Clarkson, C., Maharaj, V J., Crouch, N R., Grace, O.M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., Bhagwandin, N., Smith, P.J., Folb, P.I. (2004). *In Vitro* Antiplasmodial activity of medicinal plants native or naturalized in SouthAfrica. *J Ethnopharm*, 92, 177-191.
- Hassan, R. A., Tawfik, W. A., Setta, M. A. (2014). The flavonoid constituents of leucaena leucocephala growing in egypt, and their biological activity. *Afr J. Tradit Complement Altern Med*, 11(1), 67-72.
- Harborne, J. B. (1987). *Phytochemical methods* [Metode Fitokimia] Edisi II. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hosseini, A., Ghorbani, A. (2015). Cancer therapy with phytochemicals: evidence from clinical studies. *Avicenna J Phytomed*, 5(2), 84-97.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2013). *Riset Kesehatan Dasar. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kiyohara, H., Matsumoto, T., Yamada, H. (2004). Combination effects of herbs in a multi-herbal formula: Expression of juzen-taiho-to's immuno-modulatory activity on the intestinal immune system. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.*, 1, 83-91.
- Laffyanto, D. (2016). *Uji aktivitas antioksidan dan penetapan karakter ekstrak tumbuhan sisik naga (Pyrrosia piloselloides (L.) M.G Price) pohon inang teh (Camellia sinensis (L.) O.K) dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil (DPPH)*. Skripsi. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Lubis, M. Y., Siburian, R., Marpaung, L., Simanjuntak, P., Nasution, M. P. (2018). Methyl gallate from jiringga

- (*Archidendron jiringa*) and antioxidant activity. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 11(1), 346-350.
- Mahardika, A. B., Subagus, W., Mae, S. H. W. (2016). Sitotoksisitas senyawa hasil isolasi daun *Tithonia diversifolia* (hemsley) A. Gray terhadap sel T47D, MCF-7 dan EVSA-T. *Majalah Farmaseutik*, 12(2), 401-410.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., McLaughlin, J. L. (1982). Brineshrimp: a convenient general bioassay for active plant constituent. *Planta Medica*, 45, 31-34.
- Noviardi, H., Ratu, A. P, Tri, D. A. R. (2019). Sitotoksisitas ekstrak etanol 70% kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (jack). I.C. Nielsen) terhadap penghambatan sel kanker payudara MCF-7 dan kanker serviks hela. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 5(1), 18-25.
- Noviardi, H., Yuningtyas, S., Tri, D. A., Ben, A., Citroreksoko, P. (2019). Toksisitas kombinasi ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) dan kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C. Nielsen) dengan metode *brine shrimp lethality test*. *Riset Informasi Kesehatan*, 8(1), 9-15.
- Nurussakinah. (2010). *Skrinning fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah tanaman jengkol (Archidendron jiringa (jack). I.C. Nielsen (jack) Prain) terhadap bakteri Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, dan Eschericia coli*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J.L., Sandrine, F. (2011). Analysis of anticancer drugs: a review. *Talanta*, 85, 2265-2289.
- Pebriana, R.B., Bantari, W.K.W., Esti, W., Nur, L. S. W., Titi, R. W., Sugeng, R., Edy, M. (2008). Pengaruh ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap pemacuan apoptosis sel kanker payudara. *Pharmacon*, 9, 21-26.
- Rahmiati, S., Woro, S. (2012). Kajian interaksi obat antihipertensi pada pasien hemodialisis di bangsal rawat inap RSU PKU Muhammadiyah Yogyakarta Periode Tahun 2010. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 97-110.
- Raju, J., Patlolla, J.M., Swamy, M.V., Rao, C.V. (2004). Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum Graceum (fenugreek)*. inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 13, 1392-8.
- Simanjuntak, K. (2012). Peran antioksidan flavonoid dalam meningkatkan kesehatan. *Bina Widya*, 23, 135-140.
- Tanu, I. (2012). Antikanker. Di dalam: Sulistia, G. G., Rianto, S., Nafrialdi, Elysabeth(editor). *Farmakologi dan Terapi. Edisi IV*. (pp. 686-701). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- World Health Organization. (2015). Prevention. Cancer control: knowledge into action: WHO guide for effective programmes (module 2). Geneva: World Health Organization. *Indonesian Journal of Cancer*, 11(1), 1-7.
- Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., Piao, G. (2016). The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*, 21, 559.
- Zafrial, R. M., Amalia, R. (2018). Artikel tinjauan : anti kanker dari tanaman herbal. *Farmaka*, 16(1), 15-23.