

# EKSTRAK ETANOL AKAR DAN DAUN DARI TANAMAN *Calotropis gigantea* AKTIF MENGHAMBAT PERTUMBUHAN SEL KANKER KOLON WiDr SECARA *IN VITRO*

<sup>1</sup>Roihatul Mutiah, <sup>2</sup> Aty Widyawaruyanti, <sup>3</sup> Sukardiman

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim  
Malang

<sup>2,3</sup> Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga  
[roiha@farmasi.uin-malang.ac.id](mailto:roiha@farmasi.uin-malang.ac.id)

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antikanker ekstrak etanol bagian akar, daun dan bunga dari tanaman *Calotropis gigantea* terhadap sel kanker kolon WiDr. Pengujian efek penghambatan pertumbuhan antikanker dilakukan dengan metode MTT. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol bagian akar dan daun *Calotropis gigantea* mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon WiDr yang lebih tinggi berturut turut dengan IC<sub>50</sub> 44.20 µg/ml; 48.50 µg/ml dibanding bagian bunga (IC<sub>50</sub> 3576 µg/ml) sehingga bagian akar dan daun dapat direkomendasikan untuk uji lebih lanjut dalam pengembangan fitofarmaka.

Kata kunci: *Calotropis gigantea*, WiDr cell line, anti kanker

## PENDAHULUAN

Kanker atau dikenal sebagai neoplasma ganas adalah penyakit yang ditandai dengan kelainan siklus sel yang menyebabkan kemampuan sel untuk tumbuh tidak terkendali, menyerang jaringan biologis di dekatnya dan bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain (metastase). Kanker sampai saat ini masih merupakan salah satu penyakit yang menjadi problem dunia. Kanker menyebabkan kematian yang cukup besar, pada tahun 2008 tercatat 12,7 juta kasus kanker yang menyebabkan 7,6

juta kematian atau sekitar 13% dari semua kematian penduduk dunia disebabkan karena penyakit kanker [1]. Di Amerika, kanker menjadi penyebab kematian ke-2 setelah penyakit kardiovaskuler. Tercatat 1.638.910 kasus kanker menyebabkan 577.190 jiwa kematian. Di Indonesia kanker merupakan penyebab kematian ke-6 setelah penyakit infeksi, kardiovaskuler, kecelakaan lalu lintas, kekurangan gizi dan penyakit bawaan [2]

Kanker kolorektal termasuk dalam kelompok lima kanker penyebab kematian

terbanyak di dunia selain kanker paru-paru, lambung, payudara dan hati. Kanker ini menyebabkan 08.000 kematian per tahun [1].

Beberapa usaha pengobatan kanker kolon telah dilakukan secara intensif yaitu dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi. Namun pengobatan tersebut masih belum mampu secara efektif menanggulangi kanker. Kegagalan yang sering terjadi dalam pengobatan kanker, utamanya melalui kemoterapi adalah disebabkan karena rendahnya selektifitas obat-obat antikanker terhadap sel normal sehingga menimbulkan efek samping yang serius pada pasien. Selain itu kegagalan kemoterapi tersebut juga disebabkan karena resistensi sel kanker terhadap agen-agen kemoterapi. Fenomena resistensi tersebut membawa konsekwensi pada semakin meningkatnya dosis terapi. Strategi terapi yang tepat sangat diperlukan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Penemuan obat baru yang memiliki target molekuler yang spesifik dan mempunyai selektifitas tinggi sangat diperlukan untuk menjawab permasalahan di atas.

*Calotropis gigantea* (L.) W.T Aiton (*C.gigantea*) merupakan tanaman obat tradisional yang tumbuh tesebar di Indonesia. Tanaman ini secara turun temurun telah dimanfaatkan oleh

masyarakat Indonesia sebagai obat gatal-gatal, kudis,bisul, batuk, trakhoma, konstipasi (daunnya), asma, mual, nyeri lambung (bunganya), rajasinga, digigit ular berbisa (akarnya), sakit gigi, bengkak-bengkak, radang telinga, cacingan dan disentri [3]. Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa senyawa calotropon dari bagian akar mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap Leukemia K562 dan gastric cancer 7901[4]; ekstrak etanol daun *C.gigantea* mampu menghambat pertumbuhan fibrosarcoma secara *in vivo* pada dosis 100 dan 150 mg/kgbb dengan mekanisme peningkatan ekspresi caspase-3 [5]. Ekstrak akar *C.gigantea* mempunyai aktivitas antikanker pada sel kanker T47D yang lebih tinggi dibanding bagian daun dan bagian bunga [6]. Pada penelitian ini telah dilakukan pengujian efektifitas ekstrak etanolik bagian daun, bunga dan akar dari tanaman *Calotropis gigantea* terhadap sel kanker kolon WiDr.

## **METODE**

### **Bahan penelitian**

Bahan tanaman yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *Calotropis gigantea* yang diambil dari kota malang Jawa Timur. Bagian tanaman yang akan diambil adalah bagian daun, bunga, batang dan akar. Pengeringan dilakukan dengan

cara ditutupi kain hitam supaya tidak terkena sinar matahari langsung. Simplisia yang telah kering diserbuk dan dimasukkan dalam botol coklat yang kering.

### **Bahan untuk ekstraksi**

Pelarut yang akan digunakan untuk tahap ekstraksi maserasi adalah etanol 70%

### **Bahan untuk kultur sel**

Sel kanker yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sel *line* kanker payudara. Sel kanker payudara yang digunakan adalah T47D, sel tersebut akan diperoleh dari *Cancer Chemoprevention Research Centre* (CCRC), Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

Sel T47D dalam medium Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) ditambah dengan 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) (PAA Laboratories), 1% v/v penicillin-streptomycin (Nacal Tesque), dan 1,0mM L-glutamin (Nacal Tesque). Semua sel dikultur dalam incubator pada 5% CO<sub>2</sub>, 37°C.

### **Bahan uji sitotoksik**

Dimetil sulfoksida (DMSO), akan digunakan untuk melarutkan ekstrak *Calotropis gigantea*. konsentrasi yang akan digunakan pada penelitian ini maksimal 1% dalam medium kultur. 0,025% tripsin dalam medium kultur digunakan untuk memanen sel. Phosphate buffer saline (PBS)

digunakan sebagai larutan penyangga pencuci. 3-(4,5-dimetiltiazole-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide (MTT) digunakan sebagai reagen yang bereaksi dengan enzim suksinat dehidrogenase pada sel.

### **Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman akan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Jawa Timur

### **Ekstraksi Tanaman**

Secara singkat masing-masing serbuk daun, bunga, batang dan akar tanaman *Calotropis gigantea* di ekstraksi dengan pelarut etanol 70% rasio 1:5 selama 72 jam. Kemudian filtrate di saring, dan sedimen di ekstraksi kembali menggunakan pelarut etanol 70% dengan rasio 1;2 selama 72 jam. Reekstraksi dilakukan 2x. filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dievaporasi dengan pengurangan tekanan agar diperoleh ekstrak etanol pekat.

### **Uji sitotoksik dengan metode MTT**

Suspensi sel kanker payudara (T47D) atau sel kanker payudara T47D, masing-masing sebanyak 100 µL dengan kepadatan  $3 \times 10^4$  sel/100 µL media didistribusikan ke dalam sumuran- sumuran pada 96-*well plate* dan diinkubasikan selama 24 jam. Setelah diinkubasi, ke dalam sumuran dimasukkan 100 µL larutan uji pada berbagai seri konsentrasi. Sebagai

kontrol positif ditambahkan 100 µL medium kultur, kemudian 100 µL cisplatin pada berbagai seri konsentrasi ke dalam sumuran yang telah berisi 100 µL suspensi sel. Sebagai kontrol sel ditambahkan 100 µL medium kultur ke dalam sumuran yang berisi 100 µL suspensi sel dan sebagai kontrol pelarut ditambahkan 100 µL DMSO ke dalam sumuran yang berisi 100 µL medium kultur dan 100 µL suspensi sel dengan delusi yang sesuai dengan delusi konsentrasi larutan uji, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> dan 95% O<sub>2</sub>. Pada akhir inkubasi, media kultur dibuang lalu ditambahkan 10 µL larutan MTT (5 mg/mL

PBS), dan medium diganti dengan 190 µL medium RPMI 1640 komplet. Kemudian sel diinkubasi selama 3-4 jam. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan reagen *stopper* SDS (100 µL). *Microplate* kemudian dibungkus dengan *tissue* dan diinkubasi selama 1 malam pada suhu kamar dan ruangan gelap. Sel yang hidup bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Hasil pengujian dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm [7].

#### **Analisis data sitotoksik**

Data yang diperoleh berupa absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persen sel hidup.

$$\text{Prosentase (\%) sel hidup} = \frac{(\text{Abs. perlakuan} - \text{Abs.kontrol media})}{(\text{Abs. kontrol sel} - \text{Abs.kontrol media})} \times 100\%$$

Keterangan: Abs : absorbansi

Prosentase sel hidup dihitung untuk memperoleh nilai IC50 yaitu konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sebanyak 50% dari populasi sel sehingga dapat diketahui potensi sitotoksiknya. Nilai IC50 ditentukan dengan analisis probit (*Statistic Product and Service Solution* (SPSS) 16.0 for windows).

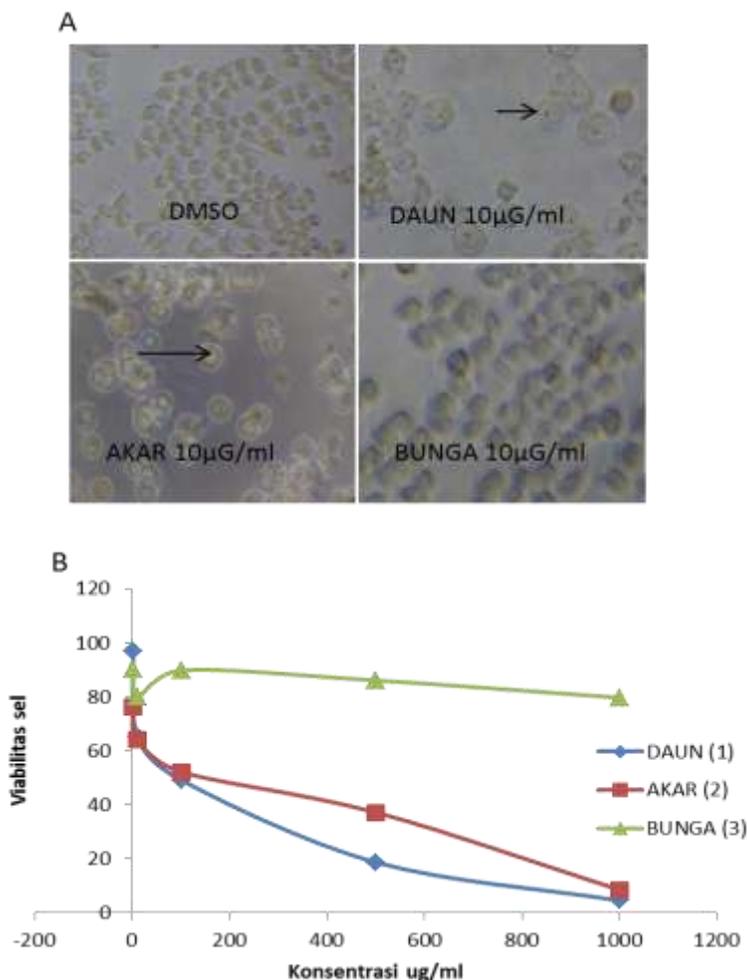
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil Uji aktivitas antikanker bagian akar, daun dan bunga *Calotropis gigantea* terhadap sel kanker kolon Widr**

Tujuan uji aktivitas antikanker pada tahap ini adalah untuk mengetahui perbandingan potensi antikanker dari bagian daun, bunga dan akar tanaman *Calotropis gigantea* terhadap sel kanker

kolon WiDr. Selanjutnya dipilih ekstrak yang mempunyai potensi paling tinggi untuk penelitian lebih lanjut. Perbandingan morfologi sel kanker dan viabilitas sel akibat

perlakuan ekstrak, akar, daun dan Bungan terhadap sel kanker kolon WiDr disajikan pada gambar di bawah ini:



**Gambar 1** Perbandingan efek penghambatan pertumbuhan sel karena perlakuan ekstrak etanol *Calotropis gigantea* dari bagian daun, bunga dan akar pada sel kanker kolon WiDr dengan metode reduksi MTT. Sel sebanyak 10<sup>4</sup> sel/sumuran ditanam dalam 96 well plate, diinkubasi selama 24 jam dalam media RPMI komplet. **A.** Morfologi sel diamati di bawah mikroskop fase kontras. Perubahan yang terjadi adalah *blebbing* (→), membesar (→) dan berserabut (→) dengan perbesaran 200x. **B.** Efek perlakuan ekstrak etanol tanaman *Calotropis gigantea* terhadap viabilitas sel kanker kolon WiDr. terlihat pada perlakuan ekstrak etanol daun (1) dan akar (2) viabilitas sel semakin menurun dengan peningkatan dosis, sedangkan pada perlakuan bunga (3) peningkatan dosis tidak berpengaruh terhadap viabilitas sel. Data merupakan representasi dari 3 (tiga) eksperimen yang berbeda dengan hasil yang konsisten dan masing-masing eksperimen dilakukan dengan 3(tiga)x replikasi.

Pada gambar 1 (A) di atas dapat diketahui bahwa pemberian perlakuan ekstrak daun dan akar *Calotropis gigantea* menyebabkan perubahan morfologi sel kanker kolon WiDr berupa *blebbing*, membesar dan berserabut. Perubahan morfologi ini sejalan dengan peningkatan konsentrasi uji. Sedangkan pada perlakuan ekstrak bunga perubahan morfologi tampak terlihat pada dosis 10 µg/ml, namun ketika dosis ditingkatkan pertumbuhan sel semakin baik dan tampak tidak ada perubahan pada morfologi sel. Fenomena tersebut juga di dukung oleh data viabilitas sel kanker pada perlakuan ekstrak etanol baik pada bagian daun, akar maupun bunga (B). Viabilitas sel kanker pada perlakuan

ekstrak etanol daun dan akar semakin menurun dengan peningkatan dosis sedangkan pada perlakuan ekstrak etanol bunga tidak berpengaruh terhadap penurunan viabilitas sel.

Berdasarkan perhitungan IC<sub>50</sub> dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun, akar dan bunga terhadap sel kanker kolon WiDr berturut-turut mempunyai nilai IC<sub>50</sub> 48,5 µg/mL, 44,20 µg/mL 3576 µg/mL.

Berdasarkan data tersebut di atas maka ekstrak etanol daun dan akar mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon WiDr yang lebih kuat dibanding ekstrak etanol bunga. Perbandingan data IC<sub>50</sub> disajikan pada tabel 1

Tabel 1 Rata-rata persen viabilitas sel dan nilai IC<sub>50</sub> crude ekstrak daun, akar, dan bunga *Calotropis gigantea* terhadap pertumbuhan sel kanker kolon WiDr

No	Ekstrak	Rata-rata % viabilitas sel WiDr pada konsentrasi uji (µg/mL)					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
		1	10	100	500	1000	
1	Ekstrak Etanol daun	96.75	65.21	49.08	18.56	4.40	48,5±2.34
2	Ekstrak Etanol Akar	76.33	64.07	52.10	37.05	8.38	44.20 ±1.23
3	Ekstrak Etanol bunga	90.07	79.78	83.76	86.03	79.02	3576±35.6

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol bagian akar dan daun *Calotropis gigantea* mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon WiDr yang lebih tinggi berturut turut dengan IC<sub>50</sub> 44.20 µg/ml; 48.50 µg/ml dibanding bagian bunga (IC<sub>50</sub> 3576 µg/ml) sehingga bagian akar dan daun dapat direkomendasikan untuk uji lebih lanjut dalam pengembangan fitofarmaka

## DAFTAR PUSTAKA

1. American Cancer Society. Global Cancer Facts & Figures 3rd Edition. Am Cancer Soc. 2015;(800):1–64.
2. Tjindrabumi D & Mangunkusumo R, 2002, Cancer In Indonesia, Present and Future.,*Jpn.J.Clin.Oncol*.32
3. Mardisiswojo & Radjakmanugunsudarso . 1968. Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang.. p. 4–4.
4. Wang Z-N, Wang M-Y, Mei W-L, Han Z, Dai H-F. 2008. A new cytotoxic pregnanone from *Calotropis gigantea*. *Molecules*. 13(12):3033–9.
5. Mutiah, R., Griana, T.P., Ula QU, Andhiarto Y.2016a. The Effect of *Calotropis gigantea* Leaves Extract on Fibrosarcoma Growth and Caspase 3 Expression. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* , 8(3), pp.167–171.
6. Mutiah, R., Sukardiman., Widyawaruyanti, A., Zulaikah, S., 2016b. Comparison of Ethanol Extract from Roots Leaves and Flowers of *Calotropis gigantea* as Anticancer on T47D Breast Cancer Cell Lines. *Alchemy*;; 5(1):1–4.
7. Mutiah R. (2014). Pengembangan Fitofarmaka Antikanker “ Panduan Teknik Pengembangan Obat Herbal Indonesia Menjadi Fitofarmaka.Uin Maliki Press.ISBN: 978-602-1190-26-5.pp 50-70