

**AKTIVITAS SITOTOKSIK  
EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona mucirata L.*)  
TERHADAP SEL KANKER SERVIK**

**CYTOTOXIC ACTIVITIES  
OF SIRSAK LEAF EXTRACTS (*Annona mucirata L.*)  
AGAINST SERVICE CANCER CELLS**

Vevi Maritha<sup>1\*</sup>, Dudy Eko Handoko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sekolah Tinggi Ilmu  
Kesehatan Bhakti Husada  
Mulia Madiun

<sup>2</sup> Sekolah Tinggi Ilmu  
Kesehatan Kendal

**Submitted:** 12-03-2019

**Revised:** 19-03-2019

**Accepted:** 11-04-2019

\*Corresponding author  
Vevi Maritha

Email:  
vv.maritha@gmail.com

**ABSTRAK**

Potensi daun sirsak sebagai zat sitotoksik cukup tinggi. Daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan dan senyawa acetogenin yang mampu menghambat percepatan pertumbuhan sel kanker. Uji aktivitas sitotoksik daun sirsak dilakukan dengan metode MTT. Daun sirsak diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kultur sel kanker servik (sel HeLa) di ditransfer sebanyak  $1 \times 10^4$  sel/sumuran dalam media kultur lengkap yang terdiri dari FBS sebagai nutrisi utama sel, penisilin-sterptomisin sebagai pencegah kontaminan. bakteri, amfoterizin-B sebagai pencegah kontaminan jamur dan RPMI 1640 sebagai media pembawa (volume masing- masing sumuran 100  $\mu$ l) kedalam 96-well plate dan diinkubasi dalam inkubator CO25% semalam. Selanjutnya dilakukan pemberian sampel uji dengan seri kadar dan dibuat replikasi tiga kali (triplo), Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan elisa reader pada panjang gelombang 595nm. Selanjutnya bersama dengan data kadar sampel yang digunakan dilanjutkan penentuan nilai IC50. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki potensi terhadap sel kanker servik dengan nilai IC 50 sebesar 337  $\mu$ g/ $\mu$ L. Ekstrak daun sirsak dapat dikembangkan sebagai alternative terapi bagi pasien kanker serviks.

**Kata Kunci:** kanker serviks, aktivitas sitotoksik, daun sirsak, asetogenin

	<p><b>ABSTRACT</b></p> <p><i>The potential of soursop leaves as a cytotoxic substance is quite high. Soursop leaves have antioxidant activity and acetogenin compounds that can inhibit the acceleration of cancer cell growth. The cytotoxic activity of soursop leaves was carried out using the MTT method. Soursop leaves were extracted by maceration method using 96% ethanol. Cervical cancer cell cultures (HeLa cells) are transferred as much as <math>1 \times 10^4</math> cells/ wells in a complete culture medium consisting of FBS as the main cell nutrient, penicillin-streptomycin as contaminant prevention. Bacteria, amphotericin-B as a deterrent to fungal contaminants and RPMI 1640 as a carrier (volume of each well 100 <math>\mu</math>l) into 96-well plates and incubated in CO2 5% incubator overnight. Then the test sample was performed with series of levels and replicated three times (triple). Then the absorbance reading was performed using ELISA reader at a wavelength of 595nm. Furthermore, together with the sample level data used, the IC50 value determination continued. The results showed that soursop leaf extract had the potential for cervical cancer cells with IC 50 values of 337 <math>\mu</math>g / <math>\mu</math>L. Soursop leaf extract can be developed as an alternative therapy for cervical cancer patients.</i></p> <p><b>Keywords:</b> <i>cervical cancer, cytotoxic activity, soursop leaves, acetogenin</i></p>
--	--

## 1. PENDAHULUAN

Kanker servik adalah jenis penyakit kanker yang disebabkan oleh infeksi HPV (Human Papiloma Virus). Seseorang yang terkena virus ini akan hilang dalam waktu 6 sampai 8 bulan apabila memiliki antibodi yang baik. Apabila seseorang yang terkena infeksi HPV dan antibodinya tidak mampu menanggulangi maka akan berkembang menjadi Neoplasia Intraepitel Servik (NIS) yang nantinya akan menjadi kanker servik. Faktor resiko penyebab kanker ini diantaranya hubungan seksual, riwayat ginekologis, merokok dan kontrasepsi oral. Seseorang yang berhubungan seksual sebelum 18 tahun beresiko lima kali lipat terkena kanker servik. Hamil di usia muda dan manajemen persalinan yang tidak tepat dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker servik. Rokok dan kontrasepsi oral juga merupakan pemicu terjadinya kanker dengan aktivitas mutasi mukus servik [1].

Kanker servik merupakan jenis kanker yang angka kejadian dan angka kematiannya cukup tinggi di Indonesia. Data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2013 menyebutkan kasus kanker di Indonesia kurang lebih 330.000 dengan kasus tertinggi adalah kanker servik. Data dari WHO Information Centre on HPV and Cervical Cancer menyatakan 2 dari 10.000 wanita di Indonesia menderita kanker servik dan diperkirakan 26 wanita meninggal setiap harinya karena penyakit ini [1 dan 2].

Saat ini terapi kanker servik secara umum masih menggunakan kemoterapi. Penggunaan obat-obat seperti doxorubisin, vincristin dan 5 fluorourasil. Obat-obat ini secara umum bekerja dengan menghambat sel yang pertumbuhannya cepat. Obat ini memiliki kekurangan dimana tidak bersifat selektif, sehingga tidak hanya sel kanker saja yang dihambat tetapi sel normal yang pertumbuhannya cepat juga ikut terhambat seperti pertumbuhan rambut dan kuku. Oleh karena itu perlu adanya suatu pengembangan obat kanker servik yang selektif yang hanya menghambat pertumbuhan sel kanker sehingga tidak mengganggu sel normal [3].

Beberapa penelitian yang terkait dengan kanker telah banyak dipublikasikan. Hamizah, et al pada tahun 2012 mempublikasikan potensi daun sirsak mampu menghambat pertumbuhan sel kanker pada tikus.. Kurnianingsih, et al pada tahun 2015 mempublikasikan potensi daun sirsak sebagai antioksidan yang tinggi mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Rosdi, et al pada tahun 2015 mempublikasikan potensi daun sirsak sebagai sitotoksik pada kanker pankreas. Pada penelitian yang dipublikasikan potensi daun sirsak sebagai anti kanker cukup tinggi, namun belum ada yang meneliti potensi daun sirsak sebagai zat sitotoksik terhadap sel kanker servik [4, 5 dan 6].

Penelitian lain terkait kanker servik ada yang sudah terpublikasi. Pada tahun 2013 Astirin, et al mempublikasikan bahwa daun sirsak dapat dijadikan kemopreventif pada kanker yang disebabkan oleh virus. Pada penelitian ini belum menyebutkan bahwa daun sirsak dapat digunakan sebagai anti kanker pada kanker servik. Pada tahun 2014 Arifianti, et al mempublikasikan potensi biji sirsak yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker servik. Pada penelitian ini menyebutkan bahwa senyawa acetoginin memiliki peranan tinggi dalam menghambat dan membunuh sel kanker servik [7 dan 3].

Potensi daun sirsak sebagai zat sitotoksik cukup tinggi. Daun sirsak memiliki kandungan aktivitas antioksidan yang mampu menghambat percepatan pertumbuhan pada sel kanker. Pada daun sirsak yang mengandung acetoginin yang lebih tinggi dari pada bagian lain pada tanaman sirsak, mampu menghambat dan membunuh sel kanker secara

selektif, yaitu hanya menghambat pertumbuhan sel kanker tanpa menghambat sel normal. Kandungan antioksidan dan acetoginin yang tinggi pada daun sirsak berpotensi untuk dikembangkan menjadi ekstrak sebagai zat sitotoksik terhadap sel kanker servik yang bekerja secara selektif.

## 2. METODE

### Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun sirsak (*Annona mucirata L*) yang diperoleh dari Kecamatan Plaosan, Kabupaten Magetan. Daun sirsak tersebut diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 250 gram serbuk simplisia daun sirsak dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 liter.

### Uji Sitotoksik Ekstrak Daun Sirsak

Uji sitotoksik ekstrak daun sirsak dengan menggunakan metode MTT. Kultur sel kanker servik (sel HeLa) diperoleh dari CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center) Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Tahapan pengujian ini adalah di transfer sejumlah sel uji sebanyak  $1 \times 10^4$  sel/sumuran dalam media kultur lengkap yang terdiri dari FBS sebagai nutrisi utama sel, penisilin-streptomisin sebagai pencegah kontaminasi bakteri, amfoterizin-B sebagai pencegah kontaminasi jamur dan RPMI 1640 sebagai media pembawa (volume masing-masing sumuran 100  $\mu$ l) kedalam 96-well plate dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% semalam. Selanjutnya dilakukan pemberian sampel uji dengan seri kadar dan dibuat replikasi tiga kali (triplo), kemudian diinkubasikan kembali semalam. Pengujian hari ke tiga, penambahan reagen MTT, dan setelah 4 jam akan terbentuk kristal formazan pada sel yang masih hidup. Selanjutnya ditambahkan SDS stopper untuk menghentikan reaksi MTT. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan elisa reader pada panjang gelombang 595nm.

### Analisis data

Data yang digunakan adalah penentuan nilai IC<sub>50</sub>, yang sebelumnya dilakukan penentuan perseniabilitas sel. Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dilakukan penentuan persen viabilitas sel dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ viabilitas} = \frac{(\text{abs. perlakuan} - \text{abs. kontrol media})}{(\text{abs. kontrol sel} - \text{abs. kontrol media})} \times 100\%$$

Selanjutnya bersama dengan data kadar sampel yang digunakan dilanjutkan penentuan nilai IC<sub>50</sub>

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi Daun Sirsak

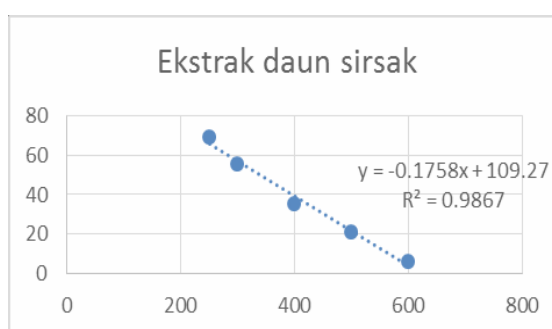
Simplisia serbuk daun sirsak sebanyak 250 gram diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan rotavapor dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 10.5 gram. Metode maserasi dipilih karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan metode ekstraksi yang lain. Kelebihan metode ekstraksi adalah metode ini cukup simple, mudah dan tidak menggunakan instrument yang sulit. Ekstraksi dengan metode dingin juga memiliki kelebihan dimana zat yang tidak tahan terhadap pemanasan masih bisa tersari.

### Uji Sitotoksik Terhadap Sel Kanker Servik

Uji sitotoksik terhadap sel kanker servik merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas terhadap sel kanker. Sel kanker servik yang digunakan adalah sel HeLa, yang merupakan kultur dari kanker serviks manusia, sehingga dapat dikatakan jika suatu ekstrak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa maka ekstrak tersebut juga memiliki aktivitas terhadap sel kanker servik. Parameter yang digunakan untuk melihat potensi toksik ekstrak dalam pengujian ini adalah nilai IC 50 dengan menggunakan metode MTT. Prinsip pengujian ini adalah reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh enzim reduktase, suksinat tetrazolium yang masuk ke dalam rantai respirasi pada mitokondria sel-sel yang hidup dan membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik) dapat melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan elisa reader pada panjang gelombang 595 nm. Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dilakukan penentuan persen viabilitas. Selanjutnya bersama dengan data kadar sampel yang digunakan dilakukan penentuan nilai IC50. Kadar ekstrak terhadap potensi sel hidup sel kanker servik dapat dilihat pada **Tabel 1** dan **Gambar 1**.

**Tabel 1. Kadar Ekstrak Terhadap Potensi Sel Kanker Servik Hidup**

Konsentrasi ( )	%Sel Hidup
650	4.210526316
600	6.13430127
500	20.72595281
400	34.99092559
300	55.46279492
250	68.71143376
200	93.68421053



**Gambar 1. Kurva Linieritas Kadar Ekstrak Terhadap Potensi Sel Kanker Servik Hidup**

Berdasarkan kurva linieritas kadar ekstrak terhadap potensi sel kanker servik hidup terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirsak maka semakin rendah jumlah sel kanker servik yang hidup, begitu pula sebaliknya semakin rendah konsentrasi ekstrak daun sirsak semakin banyak sel kanker servik yang hidup. Berdasarkan tabel kadar ekstrak terhadap potensi sel kanker servik hidup diperoleh nilai IC 50 337  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ . suatu literature mengatakan jika suatu ekstrak memiliki nilai IC 50 kurang dari 1000  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  setelah kontak dengan sel kanker maka dikatakan ekstrak memiliki potensi sitotoksik. *Annonaceous acetogenin* bekerja menghambat dan membunuh sel kanker secara selektif, karena mampu mendeteksi dan membedakan sel normal dan sel kanker. Asetogenin menyerang sel secara selektif, artinya hanya sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker

saja yang diserang, sementara sel normal tidak diserang. Mekanisme ini sangat berbeda dengan cara kerja obat-obatan kemoterapi yang menyerang sel kanker dan juga sel normal. Akibatnya sel normal ikut rusak dan mati yang berakibat pada timbulnya berbagai macam efek samping. Cara acetogenin dalam membedakan sel kanker dan sel normal adalah berdasarkan dari kebutuhan sel akan ATP (Adenosine Trifosfate). Karena sel kanker bergerak, tumbuh dan berduplikasi lebih cepat dan aktif dibandingkan sel normal, maka sel kanker membutuhkan energi ATP dalam jumlah yang lebih banyak. Acetogenin mendeteksi kebutuhan ATP yang lebih tinggi sebagai sel kanker. Selanjutnya acetogenin masuk ke dalam sel kanker dan menempel pada dinding sebelah dalam mitokondria, yaitu organ di dalam sel yang berfungsi sebagai tempat memproduksi energi ATP bagi sel. Selanjutnya acetogenin memblok produksi energi ATP di dalam mitokondria sel kanker. Akibatnya suplai energi untuk sel kanker akan terputus, sel kanker menjadi lemah dan akhirnya mati [8, 9, 10 dan 11]. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak daun sirsak yang memiliki nilai IC 50 337  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi obat anti kanker servik. Pengembangan potensi ekstrak daun sirsak perlu dilakukan isolasi senyawa acetogenin, dimana senyawa ini yang dicurigai mampu memberikan aktivitas sitotoksik. Isolasi dan pengujian senyawa ini akan semakin menguatkan bahwa ekstrak daun sirsak dapat dikembangkan menjadi obat alternative bagi pasien servik.

#### **4. KESIMPULAN**

Ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker servik dimana nilai IC 50 ekstrak daun sirsak adalah 337  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , pada konsentrasi ini 50% sel kanker servik mati

#### **5. CONFLICT OF INTEREST**

The author declares that there no competing conflicts of interest.

#### **6. UCAPAN TERIMAKASIH**

Terima kasih kepada tim di laboratorium Teknologi Farmasi STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun dan Laboratorium PARasitologi Fakultas Kedokteran UGM.

#### **7. DAFTAR PUSTAKA**

- [1] Rasjidi, I. 2009. Epidemiologi Kanker Servik. Indonesian Journal of Cancer. Vol III No 3. 103-108.
- [2] KemKes. 2017. Kendalikan Kanker Servik Sejak Dini Dengan Imunisasi. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- [3] Arifianti, L., Sukardiman, Studiawan, H., Rakhmawati dan Megawati, L. 2014. Uji Aktifitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annona mucirata* L) Terhadap Sel Kanker Mamalia Secara In Vitro. Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia. Vol I No 2. 63-66
- [4] Hamizah, S., Roslida, A., Fezah, O., Tan, K., Tor, Y dan Tan C. 2012. Chemopreventive Potential of *Annona Mucirata* L Leaves on Chemically Induced Skin Papilomagenesis in Mice. Asian Pasific Journal of Cancer Prevention. Vol 13. 2533-2539
- [5] Kurniasih, N., Kusmiyati, M., Nurhasanah, Sari, R dan Wafdan R. 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona Mucirata* L), Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis), dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. UIN Sunan Gunung Djati. Vol IX No 1. 163-184
- [6] Rosdi, M., Daud, N., Zulkifli, R dan Ya'akob, H. 2015. Cytotoxic effect of *Annona Mucirata* Linn Leaves Extract on Capan I Cell. Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol 5 (05). 45-48
- [7] Astirin, O., Artanti, A., Fitria, M., Perwitasari, E dan Prayitno, A. 2013. *Annona mucirata* Linn Leaf Induce Apoptosisin Cancer Cause Virus. Journal of Cancer Therapy. Vol 4. 1244-1250

- [8] Alali FQ, Liu XX, McLaughlin JL, 1999. Annonaceous acetogenins: recent progress. *Journal of Natural Product*. Vol 62(3), pp. 504-40
- [9] DeFillippis, R.A., Goodwin, E.C., Wu, L dan DiMaio, D. 2003. Endogenous Human Papiloma Virus E6 and E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in Hela Cervical Carcinoma Cells. *Journal od Virology*. Vol 77 No 2. 1551-1561
- [10] Patel, S dan Patel J. 2016. A Review on a Miracle Fruits of *Annona Mucirata*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Vol 5 No 1. 137-148
- [11] Rivai, H., Widiya, E dan Rusdi. 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air Terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona mucirata* L). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. Vol 18 No 1. 35-42