**Efek Sitotoksik Fraksi Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia,* Jack*)***

**pada Sel HeLa**

**Eka Febri Zulissetiana1, Rahma Agustina2**

1Departemen Rehabilitasi Medik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

2Program Studi Magister Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

**Abstrak**

Kanker serviks merupakan penyebab kematian terbesar yang sejak lama telah menjadi bagian permasalahan kesehatan masyarakat dunia. Prevalensi kanker serviks adalah 15 per 100.000 orang penduduk. Sayangnya, terapi kanker serviks konvensional dapat menimbulkan efek samping yang banyak dan kemungkinan *reccurence* cukup tinggi. Fenomena tersebut mendorong munculnya pengobatan alternatif seperti penggunaan obat-obat tradisional. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat kanker adalah akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, *Jack*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sitotoksik fraksi akar pasak bumi pada sel HeLa. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental secara in vitro menggunakan sel HeLa sebagai objek dengan berbagai konsentrasi fraksi akar pasak bumi (1.000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, dan 31,25 µg/ml). Sebagai kontrol positif digunakan obat kemoterapi standar, yaitu Cisplatin dengan berbagai konsentrasi (200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, dan 6,25 µg/ml). Pengujian aktivitas sitotoksik menggunakan metode Mikro Tetrasolium (MTT). Sel HeLa ditumbuhkan dalam 96 sumuran. Sel HeLa yang hidup akan berwarna ungu dan intensitasnya akan dibaca dengan ELISA *reader.* Sebagai parameter sitotoksisitas, dilakukan penghitungan *Median Inhibition Concentration* (IC50)Analisis data menggunakan SPSS versi 20. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat akar pasak bumi memiliki efek sitotoksik paling besar terhadap sel HeLa dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan etanol air dengan nilai IC50 sebesar 290,16 μg/ml, sedangkan Cisplatin dengan nilai IC50 sebesar 14,263 µg/ml.

**Kata kunci:** akar pasak bumi, *Eurycoma longifolia*, kanker serviks*,* sel HeLa, sitotoksik

**Cytotoxic Effect of Pasak Bumi Root (*Eurycoma longifolia,* Jack) Fraction on HeLa Cells**

**Abstract**

Cervical cancer is the leading cause of death that have long been part of public health problems in the world. The prevalence of cervical cancer is 15 per 100,000 population. Unfortunately, convensional treatment of cervical cancer can cause varios side effects and possibility of high reccurency. This condition trigger the emerge of alternative medicine such as traditional drugs. One of the plants that are used as a cancer drug is pasak bumi root (Eurycoma longifolia, Jack). ). The purpose of this study was to evaluate cytotoxic effect of pasak bumi root (Eurycoma Longifolia,Jack) fraction on HeLa cells. This research is an in vitro experimental research, conducted HeLa cell was the object with varied concentrations of pasak bumi root fraction (1.000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, and 31,25 µg/ml) as the intervention. Cisplatin, standart chemotherapy was used as positive control with varied concentration (200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, dan 6,25 µg/ml). Cytotoxic effect was assesed using MicroTetrasolium (MTT) method. HeLa Cells was grown in 96 wells. Wells with viable cells would turn purple and the intensity was defined by ELISA reader. Calculation of Median Inhibition Concentration (IC50) is used as the cytotoxic parameter. Data analysis using SPSS version 20. Experiment result showed that the ethyl acetate fraction of pasak bumi roots has the highest cytotoxic effects against HeLa cervical cancer cells with IC50 value of 290.16 ug / ml.

**Keywords:** cervical cancer*,* cytotoxic, *Eurycoma longifolia*, HeLa cell, pasak bumi root

Korespondensi: dr. Eka Febri Zulissetiana, Departemen Rehabilitasi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 081367656106, dr.eka\_1902@yahoo.com

**Pendahuluan**

Kanker serviks adalah tumor ganas primer yang berasal dari sel epitel skuamosa. Kanker serviks merupakan kanker yang terjadi pada serviks atau leher rahim, suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim, letaknya antara rahim (uterus) dan liang senggama atau vagina.1

Kanker serviks merupakan kanker yang banyak menyerang perempuan. Saat ini kanker serviks menduduki urutan ke dua dari penyakit kanker yang menyerang perempuan di dunia. Sementara itu di negara berkembang menempati urutan pertama sebagai penyebab kematian akibat kanker di usia reproduktif.2

Menurut *World Health Organization* (WHO), setiap tahun terdapat 490.000 perempuan didunia didiagnosis terkena kanker serviks dan 80% berada di negara berkembang, termasuk Indonesia. Di Indonesia diperkirakan setiap hari muncul 40-45 kasus baru, 20-25 orang meninggal, berarti setiap 1 jam diperkirakan 1 orang perempuan meninggal dunia karena kanker serviks.2

Pilihan terapi yang tersedia saat ini terbatas pada radioterapi dan kemoterapi saja. Kedua pilihan terapi tersebut pun memiliki kemungkinan efek samping karena sel-sel yang normal banyak yang terbunuh dan kemungkinan *recurrence* yang tinggi.3

Banyaknya kemungkinan efek samping yang dapat terjadi pada pengobatan kanker merupakan salah satu faktor pendorong munculnya pengobatan alternatif seperti penggunaan obat-obatan tradisional di seluruh dunia.3

Di Indonesia, penggunaan obat-obatan tradisional telah dilakukan sejak berabad-abad yang lalu. Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman obat yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker. 4 Salah satu tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional adalah pasak bumi *(Eurycoma longifolia).*

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, akar pasak bumi berpotensi sebagai obat fitofarmaka untuk terapi antikanker. Penelitian Mustofa tahun 2004 mengatakan bahwa ekstrak methanol akar pasak bumi *(Eurycoma longifolia,* Jack) sitotoksik terhadap kultur sel HeLa dengan nilaii IC50 = 46,9-58,6 µg/ml.5 Penelitian Laela Hayu Nurani mengenai Kajian In Vitro pada sel T47D dan In Vivo pada Kanker Payudara pada Tikus yang diinduksi DMBA mengatakan bahwa mekanisme molekuler akar pasak bumi melalui mekanisme antiinflamasi (penghambatan COX-2), pemacuan apoptosis (penurunan *Bcl2* dan peningkatan *Caspase-3*), serta antiproliferasi dengan peningkatan ekspresi p53, p21, GADD45, dan penurunan Ras .6

Penelitian ini dilakukan untuk melanjutkan penelitian sebelumnya. Peneliti melakukan pemisahan bahan bioaktif antikanker dari fraksi akar pasak bumi, meneliti lebih lanjut bagaimana efek sitotoksik fraksi akar pasak bumi dengan berbagai konsentrasi terhadap sel HeLa serta membandingkan kesetaraannya dengan obat kanker Cisplatin.Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah mengenai efek sitotoksik fraksi akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia)* terhadap sel HeLa dan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya serta memberikan informasi kepada masyarakat mengenai khasiat akar pasak bumi.

**Metode**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental secara in vitro dengan nomor etik No. 106/kepkrsmhfkunsri/2015. Subjek pada penelitian ini adalah sel uji, yaitu sel HeLa dan sediaan uji berupa ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi etanol air akar pasak bumi. Terdapat 6 konsentrasi (1.000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, dan 31,25 µg/ml) fraksi akar pasak bumi yang akan diujikan terhadap sel HeLa. Kontrol positif menggunakan Cisplatin menggunakan konsentrasi 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, dan 6,25 µg/ml.

Uji sitotoksik dilakukan dengan menggunakan mikrokultur 96 sumuran. Jumlah sumuran dibagi menjadi 8 baris dan tiap baris terdapat 12 sumuran. Masing-masing sumuran pada mikroplate diisi dengan suspensi Sel HeLa yang kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, sumuran diisi dengan fraksi etil asetat, fraksi n-heksan, dan fraksi etanol air dari akar pasak bumi *(Eurycoma longifolia,* Jack) dan Cisplatin. Kontrol sel hanya berisi sel dan kontrol media hanya berisi media. Kemudian diberikan reagen MTT sebanyak 10 µl/ 100 µl tiap sumuran.

Secara kasat mata, sumur yang berisi sel HeLa hidup/aktif berwarna ungu, yang merupakan hasil reduksi dari reagen MTT yang berikatan dengan sel HeLa yang hidup/aktif. Pembacaan serapan dilakukan dengan mengunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm.

Serapan yang terbaca sebanding dengan jumlah sel yang hidup. Berdasarkan persentase kehidupan sel (*viability cell*) dapat menentukan parameter uji sitotoksisitas dari senyawa uji terhadap sel HeLa, yaitu *Median Inhibition Concentration* (IC50). Persentase kehidupan sel dihitung dengan cara absorbansi perlakuan yang sebelumnya sudah dikurangi dengan absorbansi kontrol sampel, lalu dibagi absorbansi kontrol sel yang sebelumnya dikurangi absorbansi serapan media, kemudian dikalikan 100%.

**Hasil**

Untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak dan fraksi dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

**Tabel 1. Hasil Uji KLT**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Bahan Uji | Warna Bercak | Golongan Senyawa |
| Ekstrak | Ungu, Kuning, Oranye | Terpenoid, flavonoid, fenol |
| Fraksi n-heksan | Ungu | Terpenoid |
| Fraksi etil asetat | Kuning | Flavonoid |
| Fraksi etanol air | Oranye | Fenol, tanin, saponin |

Hasil pengujian aktivitas sitotoksik dengan menggunakan metode MTT pada ekstrak akar pasak bumi *(Eurycoma Longifolia,* Jack*)* dapat dilihat dalam tabel 1 berikut.

**Tabel 2. Rerata Viabilitas Sel HeLa**

**Dan Nilai IC50**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kadar (µg/ml) | Rata % Viabilitas | IC50 (µg/ml) |
| 1.000 | 23,037 | 236,484 |
| 500 | 37,022 |
| 250 | 65,467 |
| 125 | 65,671 |
| 62,5 | 64,924 |
| 31,25 | 83,458 |

Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa ekstrak dari akar pasak bumi (*Eurycoma Longifolia*, Jack) dari konsentrasi tertinggi, yaitu 1.000 µg/ml memiliki rata-rata viabilitas sebesar 23,037%. Persentase rata-rata viabilitas akan semakin meningkat sebanding dengan penurunan konsentrasi senyawa uji.

Ekstrak akar pasak bumi *(Eurycoma Longifolia,* Jack*)* yang diperoleh diuji aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dan didapatkan hasil bahwa ekstrak akar pasak bumi dapat menghambat pertumbuhan sel HeLa secara *in vitro.* Dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini, sel HeLa tanpa perlakuan dan setelah mendapat perlakuan diberi ekstrak akar pasak bumi*.*

**

 **A B**

**Gambar 1. Morfologi sel HeLa A. Tanpa perlakuan, B. Diberi ekstrak akar pasak bumi (*Euricoma longifolia,* Jack)**

 Hasil uji sitotoksik fraksi-fraksi akar pasak bumi dengan metode MTT tergambar melalui nilai rata-rata persen viabilitas sel dan nilai IC50 yang disajikan pada Tabel 3 berikut.

**Tabel 3. Rerata Viabilitas Sel HeLa**

**dan Nilai IC50**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Fraksi | Kadar (µg) | Rata % Viabilitas | IC50 (µg/ml) |
|
| n-heksan | 1000 | 3,666 | 422,916 |
| 500 | 47,997 |
| 250 | 110,183 |
| 125 | 95,384 |
| 62,5 | 116,836 |
| 31,25 | 106,11 |
| Etil asetat | 1000 | 17,651 | 290,16 |
| 500 | 45,893 |
| 250 | 66,667 |
| 125 | 64,834 |
| 62,5 | 67,481 |
| 31,25 | 84,589 |
| Etanol air | 1000 | 60,421 | 1308,23 |
| 500 | 64,087 |
| 250 | 64,358 |
| 125 | 70,808 |
| 62,5 | 90,631 |
| 31,25 | 93,958 |
| Cisplatin | 200 | 9,48 | 14,263 |
| 100 | 20,28 |
| 50 | 17,02 |
| 25 | 35,49 |
| 12,5 | 87,35 |
| 6,125 | 96,45 |

Tabel 3 menunjukkan bahwa kemampuan sitotoksik fraksi etil asetat akar pasak bumi lebih besar dibandingkan dengan kemampuan sitosoksik fraksi n-heksan dan fraksi etanol air*.* Hal ini tampak dari nilai masing-masing IC50, yaitu fraksi Akar Pasak bumi sebesar 290,160µg/ml. Namun Cisplatin memiliki kemampuan sitotoksik lebih besar terhadap sel HeLa hal ini ditegaskan dengan nilai IC50 dari Cisplatin 14,263 µg/ml.

**Pembahasan**

Pengujian aktivitas sitotoksik dengan menggunakan metode MTT, yaitu merupakan metode yang digunakan untuk mengukur proliferasi sel secara kolometri. Metode ini relatif cepat, sensitif, dan akurat yang digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. 7

Uji sitotoksik menggunakan parameter nilai IC50. Nilai IC50 menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai agen sitotoksik.Semakin besar nilai IC50 maka senyawa tersebut semakin tidak toksik.8 Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel hidup.

Ekstrak etanol akar pasak bumi memiliki nilai IC50 yaitu 236,484 µg/ml. Nilai ini lebih kecil jika dibandingkan dengan ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia pendens)*memiliki nilai IC50 yaitu 320.52 μg/ml.9 Hal ini menunjukkan ekstrak etanol pasak bumi lebih bersifat sitotoksik lebih pada sel HeLa dibandingkan ekstrak etanol sarang semut.

Fraksi etil asetat akar pasak bumi memiliki efek sitotoksik paling besar, diikuti oleh fraksi n-heksan dan fraksi etanol air terhadap sel kanker serviks HeLa. Tetapi fraksi etil asetat akar pasak bumi memiliki efek sitotoksik lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak akar pasak bumi.

Menurut hasil uji KLT yang telah dilakukan, golongan senyawa yang terdapat pada fraksi akar pasak bumi yaitu etil asetat adalah flavonoid.

Penelitian sebelumnya menunjukkan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi terbukti memacu apoptosis ditandai dengan morfologi sel yang mengkerut, tampak bulat, dan menyerap warna lebih pekat karena terjadinya kondensasi kromatin.10 Penelitian Nurkhasanah tahun 2008 mengatakan bahwa akar pasak bumi bersifat sitotoksik pada sel kanker CaOv-3, HeLa, HepG2, HM3KO, dan MCF-7, dan memiliki sedikit toksik pada sel normal.11

Dari hasil penghitungan viabilitas sel dan nilai IC50, Cisplatin memiliki rerata persentase viabilitas sel HeLa yang lebih tinggi dan nilai IC50 yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan rerata prosentase viabilitas sel dan nilai IC50 kelompok fraksi akar pasak bumi.

Perbedaan hasil viabilitas sel dan nilai IC50 yang cukup besar pada penelitian ini mungkin disebabkan Cisplatin merupakan zat aktif tunggal yang bersifat anti kanker, sementara ekstrak maupun fraksi akar pasak bumi masih terdiri dari berbagai zat aktif yang komponen maupun fungsinya masih belum diketahui.

**Simpulan**

Ekstrak akar pasak bumi dan fraksi akar pasak bumi memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa yang potensinya lebih rendah dibandingkan dengan Cisplatin sebagai obat kemoterapi standar. Fraksi etil asetat akar pasak bumi *(Eurycoma longifolia*, Jack) memiliki efek sitotoksik paling besar, diikuti oleh fraksi n-heksan dan fraksi etanol air terhadap sel kanker serviks HeLa.

**Daftar Pustaka**

1. Notodiharjo R. Reproduksi, Kontrasepsi, dan Keluarga Berencana. Yogyakarta : Kanisius; 2002
2. Rasjidi I. Epidemiologi Kanker Serviks. Indonesian Journal of Cancer. 2007; 3 (3) : 103-108.
3. World Health Organization. Traditional Medicine. WHO traditional medicine strategy 2002-2005 (Internet).2003 (disitasi 2015 nov 11). Tersedia dari : <http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA56/ea5618.pdf>
4. Ahmad M, Cahya A & Gustiar H. Pengaruh Antioksidan Ekstrak Jahe Merah *(Zingiber officinale* Roscoe var. *sunti)* trhadap poliferasi Sel Leukimia (THP-1). Penulisan Ilmiah IPB (Bogor Agricultural University).2008.
5. Mustofa & Qomariah N. Aktivitas Antiplasmodial in vitro dan Sitotoksik Akar Pasak Bumi terhadap malaria di Kalimantan Selatan. Medika.2004; 3:147-152
6. Laela Hayu Nurani. Mekanisme Molekuler Kemopreventif dan Antikanker Senyawa Aktif Akar Pasak bumi (Eurycoma longifolia Jack) Kajian In Vitro pada sel T47D dan In Vivo pada Kanker Payudara pada Tikus SD yang diinduksi DMBA (disertasi).Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. 2011.
7. CCRC Farmasi UGM. Mekanisme dan regulasi apoptosis. 2008. internet . disitasi 2014 nov 27. Tersedia dari : <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/mekanisme-dan-regulasi-apoptosis1.pdf>
8. Ritiasa K & Muhibat R. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI ; 2000
9. Dina F, Prista K P & Iwang, Y. Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Sarang Semut (Myrmecodia pendens) Pada Sel Line Kanker Serviks HeLa Uji Eksperimental Secara In Vitro Cytotoxic Effect of Ethanolic Extract of Sarang Semut (Myrmecodia pendens) on HeLa Cervix Cancer Cell Line. SainsMedika (internet). 2011. (disitasi 2015 okt 20) ; 3:2 . Tersedia dari : <http://sainsmedika.fkunissula.ac.id/index.php/sainsmedika/article/view/106>
10. Arifah A.N & Nurkhasanah. Efek fraksi akar pasak bumi terhadap aktivitas fagositosis makrofag secara in vitro. Pharmaciana.2014; 4: 9-14
11. Nurkhasanah M & Azimalitol. HLP: Eurycoma induces apoptosis through the up regulation 0f p53 in human cervical carcinoma cells. Journal of cancer inowles.2008. 4:109-115