

J U R N A L  
P E N E L I T I A N

# MEDIKA EKSAKTA

J. Penelit. Med. Eksakta	Vol. 7	No. 1	Hal. 1-91	Surabaya April 2008	ISSN 1411-6626
-----------------------------	--------	-------	-----------	------------------------	-------------------



JURNAL PENELITIAN  
**MEDIKA  
EKSAKTA**

Terbit setiap 4 bulan sekali, pada bulan April, Agustus dan Desember

Jurnal Penelitian **MEDIKA EKSAKTA** memuat tulisan ilmiah berupa hasil penelitian dalam bidang kedokteran, kedokteran gigi, farmasi, kedokteran hewan, perikanan, kesehatan masyarakat, sains dan teknologi

Susunan Dewan Redaksi Jurnal Penelitian **MEDIKA EKSAKTA**, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga, berdasarkan SK Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya Nomor : 568/J03.2/KP/2008, tanggal 18 Juni 2008

Pelindung	: Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga
Ketua Penyunting	: Dr. Mustofa Helmi Effendi, DTAPH., drh.
Wakil Ketua Penyunting	: Dr. Jenny Sunariani, MS., drg.
Penyunting Pelaksana	: Dr. Imam Susilo, dr., Sp. PA. Dr. Bambang Sektiari L., DEA., drh. Dr. Jusak Nugraha, dr, MS., Sp. PK(K). Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes. Dr. Theresia Indah Budhy S., drg., M.Kes. Dr. Sukardiman, MS., Apt. Hadi Poerwono, M Sc., Ph.D. Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes. Dr. Suwarno, drh., M Kes. Dr. Alfiah Hayati, Dra., M Kes. Dr. Alfinda Novi Kristianti Dr. Arif Wibowo, dr., MS. Dr. Tri Martiana, dr., MS.
Pelaksana Tata Usaha	: Drs. Sudiro – Ridwan - Ahmad Mansur
Alamat	: Jurnal Penelitian <b>MEDIKA EKSAKTA</b> , Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga Kampus C Unair, Mulyorejo, Surabaya 60115 Telp: (031)5995246, 5995247, 5995248 Fax: (031) 5962066  e-mail : <a href="mailto:medika_eksakta@yahoo.com">medika_eksakta@yahoo.com</a>

# MEDIKA EKSAKTA

---

## Daftar Isi

1. Efek Pemberian Epinefrin Terhadap Hemoglobin, Jumlah Eritrosit dan Retikulosit  
Gadis Meinar Sari, Sunarko Setyawan, Agustina Rahayu M ..... 1-8
2. Perubahan Oral Flora dan Sensitifitas Karies Gigi Anak Setelah Pengulasan Fluoride Secara Topikal  
Udijanto Tedjosasongko, Seno Pradopo, Prawati Nuraini ..... 9-15
3. Potensi Analgesik dan Antiinflamasi dari Ekstrak Tapak Liman (Elephantopus Scaber)  
Wisnu Setyari, Sri Agus Sudjarwo ..... 16-22
4. Efek Antinociceptif Gaba Agonis Gabapentin Terhadap Nyeri Neuropati Pada Hewan Coba Mencit  
Bambang Subakti Zulkarnain, Suharjono, Budi Suprapti ..... 23-30
5. Modifikasi Pati Singkong Pregelatin Sebagai Bahan Pembawa Cetak Langsung  
Helmy Yusuf, Achmad Radjaram, Dwi Setyawan ..... 31-47
6. Efek Sitotoksik In Vitro dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma  
Rochmah Kurnijasanti, Kadek Rahmawati, Iwan Sahrial Hamid. 48-54
7. Pemberian Whole Serum Kuda Lokal Bunting yang Disentrifugasi dengan Charcoal Terhadap Birahi dan Kebuntingan Pada Sapi Potong  
Herry Agoes Hermadi, Rimayanti ..... 55-60
8. Inferensi Kurva Regresi Nonparametrik Berdasarkan Estimator Polinomial Lokal Dengan Error Lognormal  
Nur Chamidah ..... 61-69
9. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Perempuan dalam Menghadapi Menopause  
Oedojo Soedirham, Muji Sulistyowati, Shrimarti R. Devy ..... 70-82
10. Manipulasi Reproduksi pada Itik Petelur Afkir dengan Pregnant Mare Serum Gonadotropin  
Roimil Latifa dan Sarmanu ..... 83-91

## EFEK SITOTOKSIK *IN VITRO* DARI EKSTRAK BUAH MAHKOTA DEWA (*PHALERIA MACROCARPA*) TERHADAP KULTUR SEL KANKER MIELOMA

Rochmah Kurnijasanti<sup>1)</sup>, Iwan Sahrial Hamid<sup>2)</sup>, Kadek Rahmawati<sup>3)</sup>

### ABSTRACT

#### IN VITRO CITOTOXIC EFFECT OF THE MAHKOTA DEWA (*PHALERIA MACROCARPA*) FRUIT'S EXTRACT ON MYELOMA CELL CULTURE

Cancer is still a fearful disease in the world and an ideal medicine has not been found yet. The fruits of mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) have been reported to be used as an anticancer agent, however no scientific reports have been published so far. This study is aimed to test the cytotoxic effect of the mahkota dewa fruit's on cell culture of myeloma *in vitro*.

The mahkota dewa fruit's were extracted with metanol. The extract were tested for its anticancer activity using viability test method on cell culture of myeloma. The myeloma cell were incubated in RPMI media contained 10% OF Fetal Bovine Serum (FBS). The concentration of extract mahkota dewa fruit't were 5; 2,5; 1,25; 0,625 and 0,312 mg/ml. The metanol was used as solution control in five different concentration (10; 5; 2,5; 1,25 and 0,625, respectively) while RPMI was used as negative control. Their solution were added into myeloma cell culture in microwell plate and then incubated for 24 hours, at 37°C in CO<sub>2</sub> incubator. Determination of anticancer activity used trypan blue exclusion method, with parameter value was viability of myeloma cell.

Analysis of varian of the data showed that extract mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) fruit's have anticancer activity against cell culture of mice myeloma. The highest of extract concentration (5 mg/ml) have destructed 24,75% myeloma cells.

Keywords : *Citotoxicity effect, Mahkota Dewa Fruit's, Myeloma cell*

### PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit kardiovaskuler di negara maju, sedangkan di negara berkembang merupakan penyebab utama kematian (Rang *et al.*, 1995). Kanker merupakan penyakit yang

---

<sup>1,2,3)</sup> Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner FKH Universitas Airlangga Surabaya

ditandai dengan adanya pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, cepat dan tidak terkendali. Kanker dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain zat kimia, radiasi, infeksi ataupun genetik.

Pengobatan terhadap kanker dapat dilakukan melalui operasi, radiasi atau dengan memberikan kemoterapi. Penggunaan antikanker yang ideal adalah antikanker yang memiliki toksisitas selektif artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal. Antikanker yang ada sekarang pada umumnya menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas karena menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat antara lain sumsum tulang, mukosa saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit. Minat terhadap penggunaan obat tradisional khususnya untuk penyakit kanker akhir-akhir ini cenderung meningkat. Kecenderungan tersebut kemungkinan disebabkan adanya kekhawatiran akan efek samping yang ditimbulkan oleh obat-obat modern dan juga dengan alasan obat tradisional mudah didapat dan murah harganya (Hargono, 1993).

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai keluhan antara lain untuk diabetes, liver, antimikroba, hipertensi dan kanker (Anonim, 1989, Hartwell, 1987; Perry, 1980). Pada penelitian ini dikembangkan efek sitotoksik dari bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak buah mahkota dewa terhadap kultur sel myeloma.

Metode pengujian untuk mengetahui aktivitas biologis suatu senyawa dari bahan alam telah diperkenalkan. Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker. Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antikanker ekstrak buah mahkota dewa pada kultur sel myeloma dengan metode viabilitas sel. Metode viabilitas sel didasarkan pada kemampuan sel untuk bertahan hidup terhadap bahan-bahan yang bersifat toksik.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan memakai rancangan eksperimental murni *post test only design*. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak buah mahkota dewa dengan berbagai konsentrasi dan variabel tergantungnya adalah persentase viabilitas sel mieloma setelah pemberian ekstrak buah mahkota dewa.

Pembuatan Ekstrak Buah Mahkota Dewa. Sebanyak 500 gram buah mahkota dewa yang telah diserbuk dimasukkan ke dalam bejana maserasi, dimaserasi dengan metanol, didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar sambil sesekali diaduk, selanjutnya disaring (maserasi dilakukan sebanyak 8 kali dan tiap kali perendaman diperlukan 700 ml metanol). Maserat yang diperoleh diuapkan dengan rotavapour sampai terbentuk masa kental berwarna coklat kehitaman sebanyak 50 gram.

Pembuatan Sediaan Uji. Ditimbang 50 mg ekstrak kental, dilarutkan dengan 1 ml metanol dalam vial steril kemudian ditambah dengan media RPMI sebanyak 9 ml dan dihomogenkan. Larutan ekstrak induk yang diperoleh (konsentrasi 5 mg/ml) selanjutnya disterilkan dengan filter membran. Dari sediaan steril ekstrak induk tersebut dibuat sediaan uji dengan berbagai konsentrasi dengan cara pengenceran secara serial sehingga diperoleh konsentrasi: 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml dan 0,312 mg/ml.

Pembuatan Sediaan Kontrol Pelarut. Sebanyak 0,5 ml metanol ditambah dengan 4,5 ml media RPMI kemudian dihomogenkan sehingga menjadi larutan metanol 10%. Dari larutan induk tersebut dibuat sediaan kontrol pelarut pada berbagai konsentrasi yaitu: 5%, 2,5%, 1,25% dan 0,625% sesuai dengan konsentrasi metanol pada masing-masing sediaan uji, dengan cara pengenceran berseri.

Pembuatan Suspensi Sel. (1) Proses Thawing Sel Mieloma. Sel mieloma disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm suhu 4°C selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang sedangkan endapan sel dicampur dengan media RPMI dan dipindahkan ke dalam botol kultur sambil ditambah dengan media RPMI yang mengandung Fetal Bovine Serum 10% hingga volume ± 10 ml. Kultur diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 24-48 jam pada suhu 37°C; (2) Proses Inisiasi Kultur Sel Mieloma. Sel Mieloma hasil thawing disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm suhu 4° C selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang dan endapan sel ditambah dengan media RPMI yang mengandung FBS 10% sampai ± 5 ml dan dihomogenkan. Jumlah sel dalam campuran tersebut dihitung, bila perlu diencerkan menggunakan media RPMI yang mengandung FBS 10% hingga diperoleh jumlah sel minimal 2 x 10<sup>5</sup> sel/ml. Kemudian dituang dalam sumur *microwell plate* sebanyak 0,9 ml dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> suhu 37°C selama 24 jam.

Uji Aktivitas Sitotoksik. Sediaan uji dan sediaan kontrol pelarut masing-masing sebanyak 0,1 ml dimasukkan dalam sumur *microwell plate* yang telah berisi 0,9 ml suspensi sel hasil inisiasi. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dari masing-masing sumur diambil sebanyak 0,1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan larutan tripan blue 0,5% sebanyak 0,1 ml (perbandingan 1:1) dan dihomogenkan. Dari campuran tersebut dipipet dan diletakkan diatas ruang hitung hemositometer. Perhitungan dilakukan dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Viabilitas sel dihitung dengan rumus:  $\% \text{viabilitas sel} = \frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{Jumlah sel total}} \times 100\%$

Data hasil pengamatan viabilitas sel mieloma mencit dianalisis dengan menggunakan One Way ANAVA, jika ada perbedaan diantara perlakuan dilanjutkan dengan uji LSD menggunakan program SPSS Windows 10.0.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

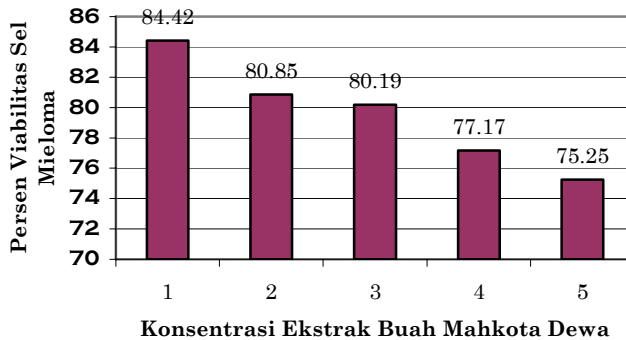
Hasil uji sitotoksik dari ekstrak buah mahkota dewa pada kultur sel mieloma dengan menggunakan parameter viabilitas sel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Sitotoksitas Ekstrak Buah Mahkota Dewa pada Kultur Sel Mieloma

	Konsentrasi	Repli- kasi	Jumlah Sel (x 10 <sup>4</sup> )			% Viabilitas	Rata-rata % Viabilitas
			Hidup	Mati	Total		
Kontrol Negatif	1 ml suspensi sel	1	41	2	43	95,35	94,97
		2	70	4	74	94,59	
Kontrol Pelarut	10%	1	85	6	91	93,40	93,95
		2	86	5	91	94,50	
	5%	1	62	3	65	95,38	94,83
		2	66	4	70	94,29	
	2,5%	1	70	4	74	94,59	94,27
		2	77	3	80	96,25	
	1,25%	1	99	5	104	95,14	94,94
		2	90	5	95	94,74	
	0,625%	1	44	2	46	95,65	95,14
		2	53	3	56	94,64	
Ekstrak Buah Mahkota Dewa	5 mg/ml	1	39	13	52	75,00	75,25
		2	37	12	49	75,51	
	2,5 mg/ml	1	59	17	76	77,63	77,71
		2	49	14	63	77,78	
	1,25 mg/ml	1	55	15	70	78,57	80,19
		2	45	10	55	81,82	
	0,625 mg/ml	1	70	18	88	79,55	80,85
		2	69	15	84	82,14	
	0,312 mg/ml	1	65	12	77	84,42	84,42
		2	65	12	77	84,42	

Hasil uji sitotoksik ekstrak buah mahkota dewa pada kultur sel mieloma terlihat bahwa dengan kenaikan konsentrasi ekstrak terjadi penurunan persentase viabilitas sel mieloma. Persentase viabilitas sel mieloma adalah jumlah sel hidup pada perlakuan dibagi jumlah sel total yaitu jumlah sel hidup ditambah jumlah sel mati. Pada penelitian ini dengan pemberian ekstrak dengan dosis terendah yaitu 0,312 mg/ml terjadi penurunan viabilitas sel mieloma menjadi 84,42% dan secara berturut-turut peningkatan konsentrasi ekstrak menjadi 0,625 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 80,85%,

konsentrasi 1,25 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 80,19%, konsentrasi 2,5 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 77,71% dan konsentrasi 5 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 75,25%. Untuk lebih memperjelas pengaruh penambahan ekstrak buah mahkota dewa pada kultur sel mieloma dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar1. Histogram efek sitotoksik dari ekstrak buah mahkota dewa terhadap kultur sel mieloma

Dari hasil analisis statistik dengan menggunakan ANAVA dengan menggunakan program SPSS terlihat bahwa ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan terhadap efek sitotoksik kultur sel mieloma yang ditunjukkan oleh harga signifikansi yang lebih kecil dari 0,05. Hasil analisis LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol pelarut dengan seluruh konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa 0,312; 0,625; 1,25; 2,5 dan 5 mg/ml, sedangkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol pelarut tidak ada perbedaan yang bermakna, hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut metanol sebagai penarik bahan aktif ekstrak buah mahkota dewa tidak berpengaruh terhadap kematian sel mieloma, sehingga kematian sel mieloma pada pemberian ekstrak buah mahkota dewa memang disebabkan oleh bahan aktif yang terkandung pada buah mahkota dewa. Hasil uji LSD antara konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa terlihat ada perbedaan yang bermakna antara konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa, kecuali konsentrasi 0,625 dan 1,25 mg/ml tidak ada perbedaan viabilitas sel mieloma secara bermakna. Penambahan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa berakibat bertambah besar jumlah bahan berkhasiat yang terkandung didalamnya. Terbukti dengan semakin rendahnya viabilitas sel mieloma dengan penambahan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa.

Dalam penelitian ini aktivitas sitotoksitas ekstrak buah mahkota dewa ditentukan dengan metode viabilitas sel yaitu merupakan salah satu metode uji aktivitas antikanker yang berdasarkan pada kemampuan sel untuk bertahan



hidup terhadap pemaparan senyawa toksik. Untuk membedakan sel hidup dan sel mati digunakan pewarnaan dengan tripan biru, sel mati akan menyerap zat warna biru karena kematian sel akan diikuti oleh perubahan integritas membran sel sehingga membran sel menjadi permeabel dan dapat menyerap zat warna, sedangkan sel hidup membran selnya impermeabel sehingga tidak dapat menyerap warna. Sifat sitotoksik merupakan langkah utama dalam usaha penemuan obat antikanker baru berasal dari alam (Nooter *et al.*, 1999). Penelitian antikanker bertitik berat pada bagaimana mekanisme sel kanker terbunuh oleh obat-obat sitotoksik untuk melihat kematian sel secara terprogram yang disebabkan oleh interaksi antara molekul obat dengan target molekul intraseluler. Target molekul intraseluler yang diharapkan adalah target spesifik pada sel kanker dan bukan pada sel normal.

Pada penelitian ini pemberian ekstrak buah mahkota dewa pada semua konsentrasi sudah dapat menyebabkan kematian sel mieloma. Pada dosis tertinggi yaitu 5 mg/ml mampu mematikan sel mieloma sebesar 24,75 %. Perlu dipertimbangkan juga bahwa sampel ini masih berupa ekstrak yang berisi macam-macam senyawa, sehingga kemungkinan besar hasil isolasi dari ekstrak ini akan mempunyai kemampuan penghambatan terhadap sel kanker yang lebih besar.

Efek sitotoksik dari ekstrak buah mahkota dewa pada penelitian ini dimungkinkan karena bahan aktif yang terkandung dalam buah mahkota dewa. Hal ini diperkuat oleh Lisdawati (2002) yang membuktikan bahwa tanaman mahkota dewa mengandung terpenoid, alkaloid, saponin dan polifenol. Menurut Wiryowidagdo (2000) tanaman yang mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid, polifenol pada umumnya mempunyai efek sebagai sitotoksik dan antioksidan.

Efek suatu bahan sangat erat kaitannya dengan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan tersebut. Kulit buah mahkota dewa mengandung senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid, sedang dalam daunnya terkandung alkaloid, saponin, serta polifenol (Gotama dkk, 1999). Di antara senyawa-senyawa tersebut, flavonoid mempunyai bermacam-macam efek, yaitu efek antitumor, anti HIV, immunostimulan, antioksidan, analgesik, antiradang (anti inflamasi), antivirus, antibakteri, antifungal, antidiare, antihepatotoksik, antihiperlipidemik, dan sebagai vasodilator (Padua *et al.*, 1999). Dikatakan pula oleh Padua *et al.* (1999) bahwa senyawa saponin mempunyai efek anti inflamasi, analgesik, dan sitotoksik. Sedangkan fenol atau polifenol merupakan metabolit sekunder tanaman seperti komponen fenolik sederhana, tanin, quinones, antocyanine, dan lain-lain.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dapat menurunkan viabilitas sel mieloma menjadi 75,25% pada konsentrasi 5 mg/ml sehingga dapat

dikatakan buah mahkota dewa mempunyai efek sitotoksitas terhadap kultur sel mieloma.

#### Saran

Perlu penelitian lebih lanjut dari efek sitotoksik ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap kultur sel mieloma dengan menggunakan metode yang lain dan terhadap kultur sel lain.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Gotama, I. B. I., Sugiarto, S., Nurhadi, M., Widiyastuti, Y. Wahyono, S. dan Prapti, I. J. 1999. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid V. Jakarta, Departemen Kes. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 147-148.
- Hargono, P. 1993. Perspektif pengembangan Obat Tradisional di Indonesia.
- Hartwel, J.L. 1987. Plants used Against Cancer. Quarterman Publications, Inc., Lawrence, Massachusetts.
- Lisdawati. 2002. Buah Mahkota Dewa, Toksisitas, Efek antioksidan berdasarkan uji penapisan Farmakologi. Universitas Gajah Mada.
- Nootter, K. , Burger, H, Schenk, P and Stoter G. 1999. Moleculer mechanisms of drug resistance and sensitivity, in Oncological Research at the Erasmus University Rotterdam- University Hospital Rotterdam.
- Perry, L.M. 1980. Medicinal Plant of East and Southeast Asia Atributed Properties and Uses. MIT Press. London.
- Rang, H.P., Dale, M.M and Ritter, J.M. 1995. Pharmakology, 3<sup>nd</sup> edition, Churchil Livingstone, New York and Tokyo.