

EFEK SITOTOKSIK IN VITRO DARI EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP KULTUR SEL KANKER MYELOMA

by Rochmah Kurnijasanti

Submission date: 26-Sep-2020 10:45AM (UTC-0400)

Submission ID: 1397637245

File name: Efek_Sitotoksik_In_ri.....docx (24.29K)

Word count: 1684

Character count: 10707

EFEK SITOTOKSIK IN VITRO DARI EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP KULTUR SEL KANKER MYELOMA

IN VITRO CYTOTOXIC EFFECTS OF ROSELLA EXTRACT (*Hibiscus sabdariffa*) AGAINST MYELOMA CELL CULTURE

Rochmah Kurnijasanti¹,, Isa Mahendra²,, Nancy Dahnia², Rangga Mung²,
Margaretha², Arnold Hutapea²
Departemen Kedokteran Dasar Veteriner¹,, Mahasiswa²,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

ABSTRACT

This research aims was examined the anticancer activity of rosella extracts (*Hibiscus sabdariffa*) on myeloma cell culture by myeloma cell viability method. Myeloma cancer cells incubated in medium Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) containing 10% fetal bovine serum (FBS). Rosella extract concentration consists of 10%, 20%, 30%, 60%, and 100%. Rosella extract was added to the myeloma cell cultures that had been placed in a microwell plate and incubated for 24 h at 37 ° C with carbon dioxide gas (CO₂) 5%. Anticancer activity seen by the MTT Cell Proliferation assay were read by ELISA reader, with optical desity (OD) of the number of dead cells. Data were analyzed by ANOVA and Duncan's multiple range test showed that the rosella extract has the ability to kill myeloma cells.

Key word: *Hibiscus sabdariffa*, Stomatitis.

Pendahuluan

Penyebab utama ke-matian di dunia salah satunya adalah kanker. Penyakit ini menyebabkan 7,4 juta kematian di seluruh dunia (sekitar 13%) pada tahun 2004. Lebih dari 70% dari semua kematian akibat kanker terjadi di negara berpenghasilan rendah dan negara berpenghasilan menengah. Kematian karena kanker di seluruh dunia yang diprediksi terjadi kenikan, pada estimasi sekitar 12 juta kematian di tahun 2030 (WHO,2009).

Pengobatan pada kanker bisa dijalankan dengan radiasi, operasi, atau melalui pemberian kemoterapi. Obat kemoterapi atau anti kanker sebaiknya memiliki toksisitas yang selektif, namun obat anti kanker yang ada saat ini biasanya merusak sel dan mengakibatkan toksisitas karena ikut menghambat pertumbuhan sel normal

yang proli-ferasinya cepat seperti sumsum tulang, jaringan limfosit, epitel germinatitum dan mukosa saluran pencernaan. Obat anti kanker membunuh sel kanker dengan mekanisme nekrosis yang bisa menimbulkan inflamasi dan melibatkan sekelompok sel yang lain. Obat anti kanker yang ideal adalah yang mampu membunuh sel kanker dengan tidak membahayakan sel normal dan sampai sekarang belum ada obat anti kanker yang memenuhi persyaratan tersebut (Coundry, 1995).

Bahan dari alam sangat prospek sebagai penghambat kanker. Pendekatan yang seringkali diterapkan pada pencarian zat kandungan yang berkhasiat untuk anti kanker dari tanaman. Salah satu alternatif dari obat tradisional yang berfungsi dalam pengobatan kanker adalah bunga rosella. Di antara banyak khasiatnya, Rosella

diutamakan merupakan herba hipertensi dan antikanker berdasarkan uji pra klinis oleh Chang (2012). Chang menemukan pigmen alami dari kelopak kering Rosella efektif terbukti menghambat dan sekaligus mematikan sel kanker HL-60 (leukimia atau kanker darah). Pigmen tersebut juga memiliki peran pada proses bunuh diri (apoptosis) sel kanker.

Beberapa metode pengujian dalam melihat aktivitas biologis senyawa tertentu dari bahan alam sudah diperkenalkan. Uji sitotoksik sebagai salah satu pengembangan metode dalam pemrediksi keberadaan senyawa yang sifatnya toksik pada sel sebagai persyaratan mutlak untuk obat antikanker. Penelitian ini dilakukan melalui uji aktivitas antikanker ekstrak bunga rosella pada kultur sel myeloma dengan metode viabilitas sel. Metode viabilitas sel berdasarkan kemampuan sel bertahan hidup pada bahan-bahan yang sifatnya toksik (Didah, 2005).

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan memakai rancangan eksperimental *post test only design*.

Variable independent yang dipakai di penelitian ini yaitu dosis ekstrak bunga rosella. Variabel tergantung adalah persentase viabilitas sel myeloma.

Bahan Penelitian yang digunakan adalah Ekstrak bunga rosella, Kultur sel myeloma jenis *cell lines NSO/1* (Laboratorium Zoonosis PUSVETMA Surabaya), Fetal Bovine (GIBCOBRL), Media RPMI (GIBCOBRL) yang mengandung antibiotik Kanamisin 0,1 g/L ; Streptomisin 0,15 g/L dan Penisillin 0,1 g/L, Metanol, pewarnaan MTT, DMSO.

Alat Penelitian yang digunakan adalah Bejana maserasi, rotavapour BUCHI R-114, botol kultur sel, *microwell plate disposable* (Nunc Multidisk), tabung sentrifuge, mikropipet, inkubator CO₂,

hemositometer beserta *cover glass* dan mikroskop.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Sediaan Uji

Ekstrak kental, dilarutkan dengan FBS dalam vial steril kemudian ditambah dengan media dan dihomogenkan. Larutan ekstrak induk yang diperoleh selanjutnya disterilkan dengan filter membran. Sediaan steril ekstrak induk dibuat sediaan uji dengan berbagai konsentrasi dengan cara pengenceran secara serial sehingga diperoleh konsentrasi 10%, 20%, 30%, 60%, 100%.

Pembuatan Suspensi Sel

Proses Thawing Sel Myeloma

Sel myeloma disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 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 CO₂ selama 24 - 48 jam pada suhu 37°C.

Proses Inisiasi Kultur Sel Myeloma

Sel myeloma 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 ± 50 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 × 10⁵ sel/ml. Kemudian dituang dalam sumur *microwell plate* sebanyak 150ul dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ bersuhu 37°C selama 6 jam.

Uji Aktivitas Sitotoksik (Metode MTT Proliferation cell assay)

Sediaan uji dan sediaan kontrol pelarut masing-masing sebanyak 75ul dimasukkan dalam sumur microwell

plate yang telah berisi 75ul suspensi sel hasil inisiasi. Replikasi dilakukan sebanyak 5 kali. Berikutnya dilakukan inkubasi pada inkubator CO₂ bersuhu 37^o C kurang lebih 24 jam. Kemudian cairan dibuang dan ditambahkan pewarnaan MTT. Selanjutnya diinkubasi 3-4 jam lalu ditambah DMSO, kocok selama 5 menit. Lalu baca menggunakan ELISA reader.

Analisis Data

Data hasil pengamatan viabilitas sel myeloma mencit dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan berlanjut pengujian jarak berganda Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji sitotoksik ekstrak bunga rosella terhadap sel myeloma dengan menggunakan MTT cell proliferation assay ditampilkan di Tabel 1.

Tabel 1. Rerata & Standart Deviasi Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Bunga Rosella Pada Sel Myeloma

Perlakuan	Rerata ± SD
ER. 10%	0.07250 _a ± 0.018382
ER. 20%	0.10450 _{ab} ± 0.022643
ER. 30%	0.15250 _{ab} ± 0.052497
ER. 60%	0.16533 _b ± 0.050226
ER. 100%	0.40300 _c ± 0.163221
Kontrol	0.11833 _{ab} ± 0.019552

a,b,c : Perbedaan Superskrip pada kolom yang sama memperlihatkan perbedaan nyata (p<0,05)

Pengukuran viabilitas sel myeloma dengan menggunakan MTT cell proliferation assay bertujuan untuk mengukur tingkat proliferasi sel myeloma dari nilai absorban yang terbaca menggunakan ELISA READER. Nilai absorban yang lebih rendah dibanding kontrol menunjukkan penurunan tingkat proliferasi sel. Sebaliknya tingkat serapan yang lebih tinggi menunjukkan peningkatan proliferasi sel.

Pada penelitian ini pemberian ekstrak rosella 100% menunjukan hasil

yang berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol, demikian juga pada pemberian ekstrak 60%. Hasil berbeda ditunjukkan kelompok perlakuan 10%, 20%, dan 30% yang tidak memberi hasil yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Hal tersebut menunjukkan penambahan konsentrasi ekstrak bunga rosella berdampak bertambah besar jumlah bahan berkhasiat yang terkandung didalam. Sebagai bukti dengan menurunnya viabilitas sel myeloma dengan penambahan konsentrasi ekstrak bunga rosella.

Pemberian ekstrak bunga rosella pada seluruh konsentrasi telah mampu mematikan sel myeloma. Di konsentrasi maksimal yakni 100% bisa membunuh sel myeloma yang sebanding dengan optical density sebesar 0,400. Diperlukan pertimbangan sampel tersebut masih berupa ekstrak yang belum murni mengandung bahan aktif, maka besar kemungkinan hasil isolasi dari ekstrak tersebut memiliki kemampuan lebih besar dalam menghambat sel kanker.

Efek sitotoksik dari ekstrak bunga rosella di penelitian ini dimungkinkan sebab bahan aktif yang terdapat pada bunga rosella. Zat aktif paling berperan pada kelopak bunga Rosella antara lain gossypetin, antosianin, dan glucoside hibiscin (Fatmawati, 2010). Antosianin merupakan pigmen alami yang memberi warna merah pada seduhan kelopak bunga Rosella, dan bersifat antioksidan. Hal ini berdasarkan pengujian pra klinis oleh Chang (2012) dan Shan (2012). Chang (2012) menemukan pigmen alami dari kelopak kering Rosella tersebut efektif terbukti menahan dan menghilangkan sel kanker HL-60. Pigmen ini memiliki peran pada proses (bunuh diri) apoptosis sel kanker. Dominasi Antioksidan pada bunga rosella yakni antosianin. Antosianin memiliki peran menjaga kerusakan sel dari peyerapan berlebih sinar ultraviolet (Essa et al., 2005). Ia melindungi s el-sel

tubuh dari perubahan akibat radikal bebas. Penelitian oleh Lin (2000) menyatakan *delphinidin tiga-sambubioside, antosianin rosela* yang ampuh mengatasi leukemia.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) mempunyai efek sitotoksik secara in vitro terhadap kultur sel myeloma.
2. Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat menurunkan viabilitas sel myeloma menjadi sebanding dengan *optical density* sebesar 0,400 pada konsentrasi 100%.

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut dari efek sitotoksik ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kultur sel myeloma dengan menggunakan metode yang lain dan terhadap kultur sel lain.

Daftar Pustaka

Aggarwal, Bharat B., Ichikawa, Haruyo, and Garodia, Prachi. 2006. *From Traditional Ayurvedic Medicine to Modern Medicine : Identification of Therapeutic Targets of Suppression of Inflammation and Cancer*. Ashley Publication:10:87.

Chang, Y.C., S.F. Chen., S. Nien., C.H. Wu., C.L. Liu, Y.S.Lin. 2012. *Reappraisal of the Anticancer Efficacy of Quercetin in Oral Cancer Cells*. Journal of the Chinese Medical Association 76 (2013) 146e152

Coundry, E.V. 1995. *Cancer Cell*. W.B. Sounder Company Philadelphia and London. P.136-144.

Didah, N. 2005. Pengaruh Pemberian Seduhan Kelopak Rosella Ungu Terhadap Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus. Program Studi Ilmu Gizi. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.

Essa et al. (2005). *Influence Of Hibiscus Sabdariffa (Gongura) On The Levels Of Circulatory Lipid Peroxidation Products And Liver Marker Enzymes In Experimental Hyperammonemia*. Tamil, Nadu India : Journal of Applied Biomedicine.

Fatmawati. 2010. Manfaat Teh Rosella Bagi Kesehatan. <http://fatmasnow.blogspot.com/2010/01/manfaat-teh-rosella-bagi-kesehatan.html>. diakses pada tanggal 5 Maret 2010. Kedokteran :153.39

Indrawati, R., Lazuardi, M., and Ratna, S.M. 1999. *Pengkajian Hambat Pertumbuhan Sel Kanker Mieloma secara In Vitro antara Maserasi Benalu Duku dan Maserasi Benalu dibandingkan dengan Metotreksat*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.

Lin, J.K., Liang, Y.C., Li, S.S. 2000. *Cancer Chemoprevention by Tea Polyphenol Through Mitotic Signal Transduction Blokade*. Biochem Pharmacol. 58: 911-915

Qi, Yadong., Chin, Kit L, dan Malekian, Fatemah. (2005). *Biological Characteristics, Nutritional and Medicinal Value of Roselle, Hibiscus Sabdariffa*. Baton Rouge LA USA : Agriculture Research And Extension Center Aouthern University.

Shan, B.E., Yoshida, Y., Sigiura, T., Yamashita. 1999. *Stimulating Activity of Chinese Medicine Herbs on Human Lymphocytes in Vitro*. Int J Immunopharmacol. 21,3: 149-159.

Wilson, A.P. 1998. *Cytotoxicity and Viability Assay Animal Cell Culture*. A Practical Approach. Washington. IRL Press.

World Health Organization. 2009. *Cancer*.

EFEK SITOTOKSIK IN VITRO DARI EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP KULTUR SEL KANKER MYELOMA

ORIGINALITY REPORT

11%

SIMILARITY INDEX

9%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

3%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	pengobatangalihgumelar.blogspot.com Internet Source	2%
2	tehrosella999.blogspot.com Internet Source	1%
3	id.scribd.com Internet Source	1%
4	hdl.handle.net Internet Source	1%
5	www.coursehero.com Internet Source	1%
6	Marilenna Kampa. "Wine Antioxidant Polyphenols Inhibit the Proliferation of Human Prostate Cancer Cell Lines", Nutrition and Cancer, 07/01/2000 Publication	1%
7	Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta	1%

-
- 8** Azmi Azhari. "AKTIVITAS SITOTOKSIK SENYAWA METABOLIT SEKUNDER KAPANG ENDOFIT *Evodia suaveolens* DENGAN METODE BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)", *Scientiae Educatia*, 2014
Publication 1%
-
- 9** bmccomplementaltermmed.biomedcentral.com
Internet Source 1%
-
- 10** Maharini, Rismarika, Yusnelti. "Pengaruh konsentrasi PEG 400 sebagai kosurfaktan pada formulasi nanoemulsi minyak kepayang", *CHEMPUBLISH JOURNAL*, 2020
Publication 1%
-
- 11** jct.araku.ac.ir
Internet Source <1%
-
- 12** jurnal.unai.edu
Internet Source <1%
-
- 13** pdfs.semanticscholar.org
Internet Source <1%
-

Exclude quotes Off

Exclude matches < 7 words

Exclude bibliography On

EFEK SITOTOKSIK IN VITRO DARI EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP KULTUR SEL KANKER MYELOMA

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/100

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4
