

RINGKASAN

POTENSI AKTIVITAS ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT HERBA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) DENGAN CISPLATIN TERHADAP SEL T47D, WIDR DAN HELA SECARA IN VITRO

Zarah Esmeralda Naully Siagian

Komponen bioaktif primer dari herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) adalah andrografolida (Jarukamjorn dan Nemoto, 2008). Andrografolida dilaporkan sebagai senyawa penuntun antikanker yang memiliki aktivitas inhibitor enzim DNA topoisomerase II. Peran antikanker andrografolida antara lain pada induksi apoptosis dan *cell cycle arrest* (Sukardiman *et al.*, 2011). Andrografolida merupakan golongan diterpenoid yang larut dalam fase etil asetat (Singh *et al.*, 2012), sehingga dalam penelitian ini uji aktivitas antikanker menggunakan fraksi etil asetat herba sambiloto (FEAS) dengan harapan dapat menurunkan toksisitas andrografolida terhadap sel normal.

Cisplatin merupakan senyawa kompleks platinum pertama yang diketahui mempunyai kemampuan sebagai inhibitor kanker (Maulana, 2009). Cisplatin merusak tumor dengan menginduksi apoptosis, yang dimediasi oleh aktivasi berbagai jalur transduksi sinyal, termasuk sinyal kalsium, sinyal *death receptor* dan aktivasi jalur mitokondrial. Resiko penggunaan cisplatin untuk kemoterapi adalah sel-sel kanker dapat menjadi resisten dengan cisplatin. Untuk meminimalkan resistensi cisplatin, terapi kombinasi dikembangkan dan telah terbukti lebih efektif untuk melawan kanker (Florea dan Busselberg, 2011). Keuntungan lain dari terapi kombinasi adalah meningkatkan kepatuhan pasien karena berkurangnya jumlah obat yang diberikan, munculnya efek aditif atau sinergis antara kombinasi obat, serta menurunkan dosis obat sehingga toksisitas pada jaringan sehat dapat berkurang (Chou, 2010).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui sinergisme efek antikanker dari kombinasi FEAS dengan cisplatin terhadap sel kanker payudara (T47D), kolon (WiDr) dan serviks (HeLa) secara in vitro.

Cisplatin diperoleh dari Laboratorium Dasar Bersama Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, yang diproduksi oleh SIGMA-ALDRICH. Sedangkan fraksi etil asetat herba sambiloto (FEAS) diperoleh dengan mengekstraksi serbuk kering herba yang didapatkan dari daerah Mojokerto,

Jawa Timur, Indonesia, dengan etanol 96%. Ekstrak yang telah dipekatan kemudian difraksinasi dengan perbandingan air:etil asetat = 1:3. FEAS kemudian dikeringkan dengan rotavapour. FEAS kemudian dilarutkan dengan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) (Sigma). Sel kanker T47D, WiDr dan HeLa diperoleh dari *Cancer Chemoprevention Research Centre* (CCRC), Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada. Kultur sel ditumbuhkan dalam media penumbuh *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI) yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) dan Penisilin – sterptomisin 1% (v/v).

Sel (T47D, WiDr atau HeLa) dengan konsentrasi 10^4 /sumuran didistribusikan ke dalam *plate* 96 sumuran dan diinkubasikan selama 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran. Keesokannya media diambil, dicuci PBS, kemudian ditambahkan 100 μ l media kultur (kontrol) atau senyawa uji yaitu FEAS atau cisplatin, diinkubasi selama 24 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung sampel dibuang, dicuci dengan 100 μ l PBS. Kemudian ke dalam masing-masing sumuran ditambahkan 100 μ l media kultur yang mengandung MTT 0,5 mg/ml, inkubasi lagi selama 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu. Setelah 4 jam, ditambahkan larutan *Sodium Duodecyl Sulfate* (SDS) untuk melarutkan kristal formazan. Keesokan harinya absorbansi dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Data absorbansi kemudian dikonversi ke dalam persen sel hidup dan ditentukan IC_{50} menggunakan analisa probit. Konsentrasi kombinasi ditentukan dari $\frac{1}{2} IC_{50}$, $\frac{3}{8} IC_{50}$, $\frac{1}{4} IC_{50}$, dan $\frac{1}{8} IC_{50}$. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antikanker kombinasi dan dihitung *Combination Index* (CI) menggunakan rumus $CI = (D)_1/(Dx)_1 + (D)_2/(Dx)_2$ untuk menentukan sinergisme antikanker kombinasi.

Hasil penelitian menunjukkan IC_{50} FEAS terbaik adalah berturut-turut terhadap sel WiDr (14.520 μ g/ml), sel HeLa (18.109 μ g/ml) dan sel T47D (21.379 μ g/ml). Sedangkan untuk cisplatin, IC_{50} terbaik adalah berturut-turut terhadap sel WiDr (0.941 μ g/ml), sel T47D (4.501 μ g/ml) dan sel HeLa (5.084 μ g/ml).

Setelah dilakukan uji kombinasi dengan 4 rasio kadar IC_{50} masing-masing, didapatkan bahwa kombinasi FEAS dengan cisplatin memiliki nilai CI terbaik untuk sel HeLa yaitu 0,113 dengan interpretasi sinergis kuat, terdapat pada perbandingan konsentrasi $\frac{1}{4} IC_{50}$ FEA Sambilo : $\frac{1}{8} IC_{50}$ Cisplatin. Nilai CI terbaik untuk sel WiDr adalah 0,507 dengan interpretasi sinergis, terdapat pada perbandingan konsentrasi $\frac{1}{8} IC_{50}$ FEA Sambilo : $\frac{1}{8} IC_{50}$ Cisplatin. Nilai CI terbaik untuk sel T47D adalah 1,024 dengan

interpretasi mendekati efek aditif, terdapat pada perbandingan konsentrasi $1/8 IC_{50}$ FEAS Sambiloto : $1/8 IC_{50}$ Cisplatin.

Ketidaksesuaian hasil kombinasi dengan pengujian tunggal mungkin disebabkan karena adanya interaksi kimiawi antara cisplatin dengan senyawa-senyawa di dalam FEAS, yang dalam konsentrasi tertentu dapat menimbulkan efek sinergis, aditif maupun antagonis. Resistensi sel T47D dan sel WiDr terhadap cisplatin juga dapat menjadi alasan turunnya aktivitas kombinasi.

Dari penelitian ini disarankan untuk dilakukan penelitian dengan perbandingan seri konsentrasi kombinasi berbeda yang diharapkan menimbulkan sinergisme efek antikanker yang lebih baik terhadap ketiga jenis sel kanker baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, serta dilakukan pengembangan formulasi, bentuk sediaan dan rute pemberian terbaik untuk kombinasi FEAS dan cisplatin sehingga memudahkan pemberian kombinasi secara *in vivo*.

