

Aktifitas Sitotoksik Ekstrak Buah Jeruk Pamelo (*Citrus Maxima*) Terhadap Sel Kanker Servik

Vevi Maritha¹, Dudy Eko Handoko²

¹Program Studi S1 Farmasi, STIKES Bhakti Husada Mulia, Indonesia

²Program Studi Keperawatan, STIKES Bhakti Husada Mulia, Indonesia

e-mail : ^{*1} vv.maritha@gmail.com

^{*2} dudyeko@gmail.com

Article Info

Article history:

Submission November 2020

Accepted Juni 2021

Publish Juli 2021

Abstrak

Kanker servik adalah jenis kanker yang banyak terjadi di Indonesia. Prevalensi terjadinya terus meningkat, sehingga diperlukan alternative terapi bagi penderita kanker serviks. Potensi jeruk pamelo sebagai agen anti kanker serviks karena pada buah ini mengandung senyawa likopen. Likopen bekerja dengan cara menekan proliferasi atau multiplikasi sel. Pada pasien kanker servik terjadi multiplikasi sel yang sangat cepat. Likopen juga mampu memperlambat atau bahkan mencegah proses oksidasi dari molekul lain dan mengeliminasi radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas dapat berikatan terhadap DNA, protein dan lemak dan akan merusak fungsi fisiologisnya, yang pada gilirannya dapat menyebabkan berkembangnya penyakit kanker servik. Likopen merupakan eliminasi radikal bebas yang sangat efektif. Melalui dua mekanisme ini yaitu menekan multiplikasi sel dan eliminasi radikal bebas maka likopen dapat digunakan sebagai terapi kanker servik.

Uji aktivitas sitotoksik ekstrak buah jeruk pamelo dilakukan dengan metode MTT pada sel HeLa. Buah jeruk pamelo diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kultur sel kanker servik (sel HeLa) di transfer sebanyak 1×10^4 sel/sumuran dalam media kultur yang terdiri dari FBS, penisilin-streptomisin, amfoterisin-B sebagai dan RPMI 1640 kedalam 96-well plate dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 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 dan dilanjutkan penentuan nilai IC₅₀.

Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak jeruk pamelo 10.67 µg/µL. hal ini menunjukkan bahwa ekstrak jeruk pamelo memiliki potensi sebagai agen anti kanker servik yang besar. Penelitian ini dapat memberikan kontribusi pada pengembangan obat kanker servik. Ekstrak buah jeruk pamelo yang selektif terhadap sel kanker dapat menjadi terapi pilihan dalam penanganan pasien kanker servik yang prevalensinya tinggi di Indonesia.

Kata kunci : kanker servik, aktivitas sitotoksik, jeruk pamelo, likopen

Ucapan terima kasih:

Abstract

Cervical cancer is a type of cancer that is common in Indonesia. The prevalence of occurrence continues to increase, so that alternative therapies are needed for cervical cancer sufferers. The potential of pummelo orange as an anti-cervical cancer agent because it contains lycopene compounds. Lycopene works by suppressing cell proliferation or multiplication. In cervical cancer patients, cell multiplication occurs very rapidly. Lycopene is also able to slow down or even prevent the oxidation process of other molecules and eliminate free radicals in the body that can cause cell damage. Free radicals can bind to DNA, protein and fat and will damage their physiological functions, which in turn can lead to the development of cervical cancer. Lycopene is a very effective free radical eliminator. Through these two mechanisms, namely suppressing cell multiplication and eliminating free radicals, lycopene can be used as a cervical cancer therapy.

The cytotoxic activity test of pummelo citrus fruit extract was carried out using the MTT method on HeLa cells. The pummelo citrus fruit was extracted by maceration method using 96% ethanol as a solvent. Cervical cancer cell cultures (HeLa cells) were transferred as many as 1×10^4 cells / well in culture media consisting of FBS, penicillin-sterptomycin, amphotericin-B as and RPMI 1640 into 96-well plates and incubated in a 5% CO₂ incubator overnight. Furthermore, the test sample was given with a series of levels and made replications three times (triplo), then incubated again overnight. On the third day of testing, the addition of MTT reagent, and after 4 hours of formazan crystals would form in living cells. Then added the SDS stopper to stop the MTT reaction. Then the absorbance reading was carried out using an elisa reader at a wavelength of 595nm and continued with the determination of the IC₅₀ value.

The results showed that the IC₅₀ value of pummelo orange extract was 10.67 µg / µL. This shows that the extract of pummelo orange has the potential as a great anti-cervical cancer agent. This research can contribute to the development of cervical cancer drugs. Pummelo fruit extract which is selective against cancer cells can be the therapy of choice in the treatment of cervical cancer patients, which has a high prevalence in Indonesia.

Keyword : cervical cancer, cytotoxic activity, pummelo, lycopene

DOI <http://dx.doi.org/10.30591/pjif.v10i2.2245>

©2020 Politeknik Harapan Bersama Tegal

Alamat korespondensi:
Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal
Gedung A Lt.3. Kampus 1
Jl. Mataram No.09 Kota Tegal, Kodepos 52122
Telp. (0283) 352000
E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com

p-ISSN: 2089-5313
e-ISSN: 2549-5062

A. Pendahuluan

Kanker servik adalah jenis penyakit yang paling ditakuti oleh perempuan. Prevalensi yang cukup tinggi serta angka kesembuhan yang masih rendah menjadi salah satu alasan mengapa penyakit ini menjadi sering menjadi hal yang menakutkan bagi perempuan. Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan kejadian kanker servik terus meningkat. Pada tahun 2018 1,79 per 1000 penduduk terkena kanker, dimana pada tahun 2013 masih 1,4 per 1000 penduduk.. Hal ini menjadi perhatian khusus terutama upaya untuk mengobati penyakit tersebut. Saat ini kemoterapi masih menjadi pilihan untuk pengobatan kanker servik [1 & 2]

Kemoterapi adalah rangkaian terapi yang umum dilakukan pada pasien kanker servik. Beberapa obat yang digunakan pada kemoterapi kanker servik adalah fluorourasil, doxorubisin dan cylofosfamide. Terapi kombinasi biasanya dipilih untuk mempercepat pembunuhan sel kanker. Mekanisme obat ini terjadi pada fase metastase seluruh sel sehingga cepat memusnahkan seluruh sel termasuk sel normal.[3]

Saat ini diperlukan alternative terapi bagi pasien kanker servik. Terapi yang bisa selektif membunuh sel kanker servik saja, tanpa merusak sel lain yang memiliki perkembangan tinggi, diantaranya rambut dan kuku. Salah satu terapi alternative adalah penggunaan tanaman dalam terapi penyakit kanker servik. Tanaman yang dapat digunakan sebagai terapi kanker servik adalah jeruk pamelon (*Citrus maxima*) yang merupakan tanaman khas kabupaten Magetan. Jeruk pamelon yang melimpah di kabupaten Magetan perlu dikembangkan sebagai agen anti kanker servik yang potensial. Potensi jeruk pamelon sebagai agen anti kanker servik karena pada buah ini mengandung senyawa fitokimia, salah satunya adalah senyawa likopen [4]

Likopen adalah salah satu

senyawa antiradikal bebas yang banyak terdapat pada buah jeruk pamelon (*Citrus maxima*). Kandungan likopen pada buah jeruk pamelon lebih banyak dibandingkan pada bagian lain seperti daun dan kulit buah. Likopen bekerja dengan cara menekan proliferasi atau multiplikasi sel melalui mutasi pada fase inisiasi dan progresi dari kanker. Pada pasien kanker servik terjadi multiplikasi sel yang cukup cepat, sehingga dengan adanya likopen pertumbuhan sel kanker servik dapat dihambat. Senyawa likopen dapat meminimalkan proses oksidasi serta mengurangi adanya radikal bebas pada tubuh. Senyawa radikal bebas berinteraksi dengan DNA dan menurunkan fungsi fisiologis yang dapat meningkatnya pertumbuhan sel kanker servik. Likopen adalah senyawa yang dapat menangkal radikal bebas tersebut. juga mampu memperlambat atau bahkan mencegah proses oksidasi dari molekul lain dan mengeliminasi radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Melalui dua mekanisme ini yaitu menekan multiplikasi sel dan eliminasi radikal bebas maka likopen dapat digunakan sebagai terapi kanker servik. [4].

Publikasi yang disampaikan oleh Rao and Agarwal menyatakan senyawa likopen dapat menurunkan resiko kanker dengan mekanisme sebagai antioksidan yang kuat. Likopen memiliki aktivitas dengan menekan kerusakan sel-sel yang abnormal seperti sel kanker servik. Likopen juga dapat meningkatkan interaksi sel dalam meningkatkan hormon metabolit sel kanker sehingga dapat mengurangi resiko kanker servik. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa likopen dapat digunakan sebagai anti kanker [5].

Aktivitas sitotoksik ekstrak buah jeruk pamelon dapat dilihat dengan diujikan dengan sel HeLa melalui parameter IC50. Sel HeLa adalah jenis kanker servik yang sudah banyak dikultur. Ekstrak buah jeruk pamelon yang

memberikan potensi antikanker pada sel HeLa, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak tersebut memiliki potensi anti kanker. IC50 adalah konsentrasi 50% ekstrak membunuh sel kanker servik. Ekstrak buah pameloma yang mengandung likopen dapat dikatakan memiliki potensi antikanker pada sel kanker servik jika memiliki nilai IC50 kurang dari 300 µg/mL [6]

B. Metode

1. Pembuatan Ekstrak Buah Jeruk Pameloma

Bahan tanaman yang digunakan adalah buah jeruk pameloma (*Citrus maxima*) yang berasal dari Kecamatan Sukomoro, Kabupaten Magetan Jawa Timur. Buah jeruk pameloma yang sudah diperoleh diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak kering 300 gram serbuk simplisia buah jeruk pameloma dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3 liter.

2. Uji Sitotoksik Buah Jeruk Pameloma

Potensi antikanker ekstrak buah jeruk pameloma dilakukan dengan metode MTT. Proses pelaksanaan uji potensi antikanker dengan dimasukkan sejumlah sel uji sebanyak 1×10^4 sel/sumuran pada media kultur lengkap yang terdiri dari FBS sebagai nutrisi utama sel, penisilinstreptomisin sebagai pencegah kontaminasi bakteri, amfoterisin-B sebagai pencegah kontaminasi jamur dan RPMI 1640 sebagai media pembawa (volume masing-masing sumuran 100 µl) kedalam 96-well plate dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 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 595 nm.

3. Analisis data

Data yang akan digunakan untuk menghitung nilai IC50, dimana sudah dilakukan perhitungan persen viabilitas. Berdasarkan nilai absorbansi digunakan untuk menentukan persen viabilitas sel dengan rumus sebagai berikut ini:

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

Setelah itu dilakukan perhitungan nilai IC50 menggunakan nilai regresi linier

C. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Buah Jeruk Pameloma (*Citrus Maxima*)

Buah jeruk pameloma ditimbang sebanyak 300 gram kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 98%. Hasil ekstrak kental diperoleh sebanyak 11,5 gram. Pada proses ekstraksi ini diperoleh hasil rendemen 3,8 %. Hasil rendemen yang cukup kecil disebabkan oleh kadar air pada jeruk pameloma cukup tinggi sehingga penyusutan bobot sesudah dikeringkan menggunakan oven cukup banyak. Perolehan hasil rendemen dapat dijadikan referensi jumlah simplisia yang harus disiapkan untuk kebutuhan ekstrak yang akan digunakan pada penelitian. Ekstraksi buah jeruk pameloma menggunakan metode maserasi. Hal ini dikarenakan metode ini memiliki kelebihan simple, mudah digunakan serta dapat menyari seluruh zat aktif baik yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena sifatnya semi polar sehingga mampu menyari likopen secara maksimal. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut ekstraksi karena konsentrasi yang tinggi dapat menyari zat aktif dengan maksimal.

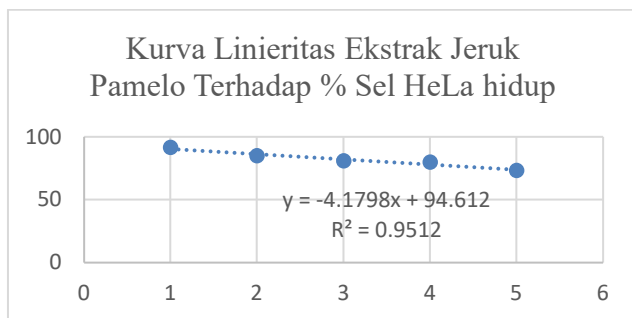
4. Potensi Buah Jeruk Pameloma Sebagai Agen Anti Kanker Servik

Potensi anti kanker servik pada ekstrak buah terhadap sel kanker servik adalah dengan menguji pada sel HeLa. Sel HeLa adalah sel yang diambil dari sel kanker servik seseorang, sehingga apabila ekstrak buah jeruk pameloma memiliki aktifitas sitotoksik terhadap sel HeLa berarti

berpotensi sebagai anti kanker servik. Penentuan aktivitas sitotoksik diawali dengan nilai kurva absorbansi ekstrak dengan prosentase sel hidup. Hasil regresi pada kurva ini akan digunakan untuk menentukan nilai IC 50. Nilai IC 50 adalah nilai suatu ekstrak mampu membunuh 50% sel kanker servik. . Aktivitas anti kanker dilihat menggunakan parameter IC 50. Semakin kecil nilai IC 50 maka aktivitas sitotoksiknya semakin besar. Hasil dari kurva regresi antara nilai absorbansi ekstrak dengan prosentase sel HeLa yang hidup tersaji pada tabel 1 dan gambar 1 berikut ini .

Tabel 1. Kadar Ekstrak Buah Jeruk Pamelo Terhadap Potensi Sel Kanker Servik Hidup

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% sel Hidup
500	91.59369527
250	84.93870403
125	80.73555166
62,5	79.85989492
31,25	73.2341



Gambar 1: Kurva Linieritas Kadar Ekstrak Jeruk Pamelo Terhadap Potensi Sel Kanker Servik Hidup

Pada kurva linieritas kadar ekstrak jeruk pamelo terhadap potensi sel kanker servik hidup diperoleh nilai regresi $y = -4,1798x + 94,612$; dengan nilai $r = 0,975$. Nilai $r = 0,975$ menunjukkan bahwa adanya hubungan yang linier antara ekstrak jeruk pamelo dengan potensi sel kanker servik hidup. Hal ini menunjukkan bahwa nilai regresi dapat digunakan untuk menentukan nilai IC 50.

Nilai IC 50 dari ekstrak jeruk pamelo terhadap potensi sel kanker hidup adalah 10.67 ($\mu\text{g/mL}$). Suatu ekstrak dapat dikatakan memiliki aktivitas anti kanker apabila memiliki nilai IC 50 dibawah 300. Nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak buah jeruk pamelo memiliki potensi

sebagai anti kanker servik. Nilai IC50 234 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi sebagai agen kanker servik meskipun potensinya tidak kuat. Potensi suatu ekstrak dikatakan kuat sebagai agen anti kanker apabila nilai IC 50 dibawah 30 $\mu\text{g/mL}$. Pada ekstrak jeruk pamelo yang berpotensi sebagai agen anti kanker servik dimungkinkan karena adanya senyawa likopen. Likopen berpotensi sebagai anti kanker dengan mekanisme menekan proliferasi atau multiplikasi sel. Pada pasien kanker servik terjadi multiplikasi sel yang sangat cepat. Likopen juga mampu memperlambat atau bahkan mencegah proses oksidasi dari molekul lain dan mengeliminasi radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas dapat berikatan terhadap DNA, protein dan lemak dan akan merusak fungsi fisiologisnya, yang pada gilirannya dapat menyebabkan berkembangnya penyakit kanker servik. Likopen merupakan eliminator radikal bebas yang sangat efektif. Melalui dua mekanisme ini yaitu menekan multiplikasi sel dan eliminator radikal bebas maka likopen dapat digunakan sebagai terapi kanker servik.

Likopen adalah senyawa yang selektif, dimana hanya mengeliminasi sel kanker servik tanpa merusak sel normal. Hal ini menjadi salah satu alasan pemanfaatan likopen yang terdapat dalam ekstrak jeruk pamelo sebagai agen anti kanker servik. Pemanfaatan jeruk pamelo yang merupakan tanaman khas kabupaten Magetan dapat memberikan nilai tambah tersendiri. Nilai tambah jeruk pamelo sebagai komoditi unggulan kabupaten Magetan tidak hanya memiliki rasa yang manis, kandungan vitamin yang banyak tetapi juga sekaligus sebagai terapi ataupun pencegahan terhadap sel kanker servik.

E. Simpulan

Simpulan pada penelitian ini adalah :

1. Ekstrak buah jeruk pamelo memiliki potensi sebagai anti kanker servik
2. Nilai IC 50 dari ekstrak buah jeruk pamelo 10.67 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, dimana pada kadar ini 50% sel kanker servik mati

Pustaka

- [1] Departemen Kesehatan, 2019. Hari anti kanker Sedunia 2019. *Kementrian Kesehatan*. Jakarta
- [2] Ramli, M. 2015. *Update Breast Cancer Management Diagnostic And Treatment*. Majalah Kedokteran Andalas. Vol 38. No 1. Pp

- [3] Agustini, D., Emma, S., and Abdullah, R., 2015. Kualitas Hidup Pasien Kanker Servik Dengan Terapi Kombinasi Flouourasil, Doxorubicin, Dan Cyclofosfamide. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. Vol 4. No 3. Pp 175-185
- [4] Navitri, A dan Monica, M. 2012. Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Buah Jeruk Bali (Citrus Maxima Burm Fz) Dengan Metode DPPH (1,1 Diphenyl-2-Pikrylhidrazyl). *Journal Of Chemistry*. Vol 1 No 2. Pp 1-6
- [5] Rao A and Agarwai S. 2013. Role of Antioxidant Lycopene in Cancer and Heart Disease. *Journal of the American Collage of Nutrition*. Vol 19.
- [6] Amir, H dan Murcitra, B. 2017. Uji Mikrotetrazolium (MTT) Ekstrak Metanol Daun Phaleria Macrocarpa (Scheef) Boerl Terhadap Sel Kanker Servik MCF-7. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. Vol 1. No 1. Pp 27-32
- [7] Bohm F, Tinkler JH, Truscott TG. 1995. Carotenoids protect against cell membrane damage by the nitrogen dioxide radical. *Nature Med* 1:98–99,
- [8] Boileau, T.W.M., A. C. Moore, & J. W. Erdman. 1999. Carotenoids and Vitamin A. In: Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health (Papad, A. M., ed.), pp. 133–158. *CRC Press LLC*, Boca Raton, FL.
- [9] Birt, D. F., S. Hendrich, & W. Wang. 2001. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol. Ther.* 90: 157–177.
- [10] Breinholt, V., S. T. Lauridsen, B. Daneshvar, & J. Jakobsen. 2000. Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett.* 154: 201–210.

Profil Penulis

Nama : Vevi Maritha, M. Farm., Apt
 Tempat Tanggal Lahir: Magetan, 3 Desember 1986
 Pekerjaan : Dosen Farmasi STIKes Bhakti Husada Mulia Madiun