

**AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI NONPOLAR, SEMI POLAR, DAN POLAR
EKSTRAK ETANOL DAUN TUMBUHAN SALA (*Cynometra ramiflora* Linn.)
TERHADAP SEL Vero**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**IRFANAH
K100100016**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI
Berjudul:

**AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI NONPOLAR,
SEMI-POLAR, DAN POLAR EKSTRAK ETANOL DAUN
TUMBUHAN SALA (*Cynometra ramiflora* Linn.) TERHADAP
SEL Vero**


Oleh:
IRFANAH
K100 100 016

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada tanggal: 18 Februari 2014**


**Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,**


Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

Penguji :

1. Anita Sukmawati, PhD, Apt. 

2. Rima Munawaroh, M.Sc., Apt. 

3. Dr.Haryoto, M.Sc. 

4. Andi Suhendi, S.Farm., Apt. 

**AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI NONPOLAR, SEMI POLAR, DAN POLAR
EKSTRAK ETANOL DAUN TUMBUHAN SALA (*Cynometra ramiflora* Linn.)
TERHADAP SEL Vero**

**CYTOTOXIC ACTIVITY OF NONPOLAR, SEMIPOLAR, AND POLAR
OF EXTRACT ETHANOL SALA (*Cynometra ramiflora* Linn.)
PLANT LEAVES AGAINST Vero CELLS**

Irfanah^{##}, Haryoto^{}, Andi Suhendi^{**}**

*Mahasiswa Universitas Muhammadiyah Surakarta

**Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A Yani Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura Surakarta 57102

[#]Email : irfanah2010@yahoo.co.id

ABSTRAK

*Daun tumbuhan sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) diketahui memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D, WiDR dan HeLa. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antikanker dari fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala terhadap sel Vero dan mengetahui senyawa kimia yang terkandung pada tiap fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala menggunakan KLT. Metode yang digunakan untuk ekstraksi adalah maserasi dengan penyari etanol 96%:aseton (7:3). Fraksinasi menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum dengan fase diam silika G60 dan fase gerak n-heksan:etil asetat (8:2),(7,5:2,5),(7:3),(6:4),(3:7) dan etanol 96%. Metode dalam dalam uji sitotoksik yang digunakan adalah metode MTT assay kemudian dibaca pada ELISA reader dengan serapan 595 nm. Konsentrasi fraksi nonpolar, semipolar dan polar yang digunakan adalah 100,850,700,550,400,250 dan 100 µg/mL. Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala tidak memiliki potensi sitotoksik serta memiliki selektivitas tinggi terhadap sel Vero dan golongan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi polar dan nonpolar ekstrak daun Sala adalah flavonoid, polifenol, dan alkaloid, pada fraksi semipolar terkandung senyawa polifenol dan alkaloid.*

Kata kunci: sel Vero, Sitotoksik, *Cynometra ramiflora* Linn.

ABSTRACT

*Leaves of plants sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) is known to have anticancer activity against T47D cells, and HeLa WiDR. This study was conducted to know the anticancer effect of the fraction of nonpolar, semipolar and polar ethanol extract of leaves of plants sala against Vero cells and know the chemical compounds contained in each fraction nonpolar, semipolar and polar ethanol extract of leaves of sala plants by TLC .The method is used for extraction was macerated with ethanol 96% : acetone (7:3). Fractionation Vacuum Liquid Chromatography method with silica stationary phase and mobile phase G60 n-hexane: ethyl acetate (8:2), (7,5:2,5),(7:3),(6:4),(3:7) dan ethanol 96%. In the cytotoxic test method used is the method of MTT assay was read on an ELISA reader absorbance with 595 nm. Nonpolar fraction concentration, semipolar and polar that is used 100,850,700,550,400,250 and 100 mg / mL .Based on this research can be concluded fraction of nonpolar, semipolar and polar extract*

ethanol of leaves of plants sala has no cytotoxic potential against Vero cells and have high selectivity against Vero cells and a group of chemical compounds contained in the polar and nonpolar fractions Sala leaf extracts are flavonoids, polyphenols, and alkaloids, the semipolar fraction contained polyphenolic compounds and alkaloids.

Keywords: *Vero cells, Cytotoxic, Cynometra ramiflora Linn.*

PENDAHULUAN

Kanker adalah istilah umum untuk pertumbuhan sel tidak normal, (yaitu tumbuh sangat cepat, tidak terkontrol, dan tidak berirama) yang dapat menyusup ke jaringan tubuh normal dan menekan jaringan tubuh normal sehingga mempengaruhi fungsi tubuh (Rama, 2007). Kanker terjadi karena ada kerusakan atau transformasi proton gen dan supresor gen sehingga terjadi perubahan dalam cetakan protein dari yang telah diprogramkan semula yang mengakibatkan timbulnya sel kanker (Sukardja,2004).

Kanker dapat menyebabkan banyak gejala yang berbeda, bergantung pada lokasinya dan karakter dari keganasan dan ada tidaknya metastasis. Penyakit kanker ditandai dengan pertumbuhan abnormal sel pada jaringan tubuh secara terus-menerus dan tidak terkendali. Ada tiga ciri utama yang menandai keberadaan kanker, yakni kontrol pertumbuhan yang menurun atau tidak terbatas, invasi pada jaringan setempat, dan metastasis (penyebaran) ke bagian tubuh lain (Murray *et al.*, 2003).

Pada pengobatan kanker biasanya menggunakan obat-obat golongan sitostatik yang dapat mengakibatkan kematian sel. Sitotoksitas merupakan kematian sel oleh komponen-komponen kimia atau mediator sel (sel T sitotoksik). Sitotoksitas biasa digunakan sebagai pedoman di dalam laboratorium untuk mendeteksi kematian sel, tanpa melihat mekanismenya. Aktivitas sitotoksik merupakan proses penting dalam membunuh sel-sel kanker (Wyllie, 2008).

Ada dua kemungkinan mekanisme sitotoksik yang terjadi pada *cell-mediated cytotoxicity*. Pertama adalah mekanisme apoptosis yang mengakibatkan sel memicu autolitik *cascade* di dalam sel target dan fragmen DNA sebelum sel lisis. Mekanisme yang kedua adalah mekanisme lisis yang mengakibatkan terjadinya lisis molekul, khususnya perforin. Molekul ini disekresikan oleh efektor sel ke bagian intraseluler sel dan berpolimerasi membentuk pori di dalam membran sel target yang memicu terjadinya lisis. Kedua mekanisme ini saling melengkapi dan sangat mungkin terjadi (Wyllie, 2010). Pada mekaanisme pencegahan sitotoksik dapat digunakan obat alami dari tumbuhan yang memiliki kandungan kimia tertentu.

Produk alami dengan antitumor dapat dikelompokkan menjadi 13 kelompok kimia yang berbeda seperti alkaloid, penilpropanoid, terpenoid, aldehida, glikosida, lignin, lipid, lipid, asam nukleat, polisakarida, protein, dan senyawa tak dikenal (Katzung & Bertam, 2004). Golongan mangrove dan tumbuhan bakau dapat digunakan sebagai anti virus, anti bakteri, dan anti jamur dengan kandungan saponin, tannin, flavonoid, dan polifenol (Bandaranayake, 1998). Hal tersebut dapat dibuktikan dengan berbagai penelitian pada tumbuhan.

Penelitian sebelumnya menggunakan bagian daun tumbuhan menunjukkan adanya aktivitas antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar 0,41 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel T47D, 6,37 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel WiDr, dan 1,92 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel HeLa (Haryoto *et al.*, 2013) sejauh ini belum ada penelitian potensi ketoksikan terhadap sel normal. Sel Vero biasa digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia, sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro* (Goncalves *et al.*, 2006). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah senyawa yang terkandung didalam daun tumbuhan sala memiliki potensi toksik terhadap sel Vero dan mengetahui lebih spesifik kandungan kimia yang berperan dalam aktivitas sitotoksik dengan pengujian ke fraksi-fraksinya.

METODOLOGI

Penelitian uji sitotoksik fraksi nonpolar, semipolar dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala terhadap sel vero termasuk metodologi eksperimental. Dengan menggunakan variabel bebas konsentrasi fraksi nonpolar, semi polar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala, variabel tergantung: potensi antikanker daun tumbuhan sala terhadap sel vero, dan variabel terkendal : daerah pengambilan daun tumbuhan sala, bagian tumbuhan yang digunakan (daun), dan waktu inkubasi.

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain pisau, gunting, oven, blender, timbangan, peralatan gelas, penangas air, *rotary evaporator*, corong buchner, *compressor*, tangki nitrogen cair, mikroskop fase kontras (Olympus, Jepang), sentrifuge, inkubator CO_2 *Jacketed Incubator*, *ELISA reader*, *Laminar Air flow*, pH meter, mikropipet, vortex, timbangan elektrik, dan pipet pasteur.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan sala, aseton, silika G60 (*Merck*), silika gel GF₂₅₄, pelat aluminium berlapis silika gel GF₂₅₄, etanol, *microplate 96*

sumuran, n-heksan, etil asetat, aquades, sel Vero, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, heksan, etil asetat, media kultur M199, FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10%, antibiotik penisilin-streptomisin 2%, fungizone 0,5%, aquadest, natrium bikarbonat, larutan MTT (3-(4,5 dimetiltiazol-2-il),2,5-difenil tetrazolium bromide) dalam PBS 20%, SDS 10% (Sigma), HCl 0,1N, DMSO 100%, EDTA, Aluminium foil, Phosphat Buffer Saline 1x, pelat silika gel GF₂₅₄ (fase diam), butanol p.a, asam asetat p.a, air p.a, pereaksi semprot yang digunakan FeCl₃ (deteksi tanin dan polifenol), sitroborat (deteksi flavonoid), Dragendorff (deteksi alkaloid), dan H₂SO₄ (deteksi minyak atsiri).

Sebelum dilakukannya fraksinasi, dilakukan terlebih dahulu optimasi fase gerak yang sesuai, dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan adalah perbandingan dari n-heksan : etil asetat 1:9 ; 8:2 ; 7:3 ; 6:4 ; 5:5 ; 4:6 ; 3:7 ; 2:8 ; dan 9:1.

Ekstrak kering yang telah didapatkan, kemudian dilarutkan dengan aseton. Ekstrak yang digunakan untuk satu kali proses Kromatografi Cair Vakum (KCV) adalah sebanyak 25 g dan diimpregnasi dengan silika impreg G₆₀ (30-70 mesh) sebanyak 2 kali berat sampel (50 g). Kemudian sampel yang terimpregnasi dimasukkan ke dalam kolom kromatografi cair vakum dan dielusi dengan pelarut dengan tingkat kepolaran semakin naik yaitu n-heksana:etil asetat (8:2), n-heksana:etil asetat (7,5:2,5), n-heksana:etil asetat (7:3), n-heksana:etil asetat (6:4), n-heksana:etil asetat (3:7), dan etanol 96%.

Masing-masing fraksi yang didapatkan kemudian dilakukan pengelompokan dengan menggunakan metode KLT. Fraksi-fraksi dapat menampakkan noda dengan pola pemisahan yang berbeda, semakin tinggi nilai *Retention factor* (Rf) maka dapat dikatakan fraksi tersebut lebih nonpolar dan semakin rendah nilai Rfnya maka dapat dikatakan fraksi tersebut lebih polar.

Uji kandungan senyawa menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Fase diam yang akan digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄ yang diaktifkan dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam. Larutan uji ditotolkan beberapa kali totolan pada plat silika gel GF₂₅₄ dan dibiarkan sampai kering, kemudian dielusi dengan fase gerak n-heksan:etil asetat yakni 7:3 dengan jarak pengembangan tertentu sehingga didapatkan pemisahan yang sempurna. Kemudian kromatogram diamati bercaknya pada sinar UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm lalu dideteksi dengan pereaksi semprot FeCl₃, Sitroborat, anisaldehyd, dan Dragendorff.

Metode uji sitotoksik yang digunakan adalah metode MTT. Yaitu dengan menempatkan fraksi-fraksi daun tumbuhan sala dengan konsentrasi tertentu dan dilarutkan dalam DMSO 0,5% dan sel Vero yang telah konfluen pada suatu plate 96 kemudian setelah diinkubasi selama

sehari, diberikannya larutan MTT dan diinkubasi sampai terbentuk kristal formazen yang berwarna ungu. Setelah terbentuk Kristal formazen ungu kemudian diberi reagen stopper berupa larutan SDS, lalu diinkubasi selama semalam pada suhu kamar. Pada akhir masa inkubasi serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Persentase sel hidup dihitung dari data absorbansi sel kemudian dibuat kurva hubungan log konsentrasi *versus* nilai % sel hidup dan dihitung harga IC_{50} nya

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Tujuan dilakukannya ekstraksi adalah untuk menarik senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Sebagai penyari digunakan aseton:etanol 96% (3:7). Digunakan perbandingan aseton dan etanol 96% karena diharapkan dapat menarik senyawa baik yang relatif polar maupun non polar.

Tabel 1. Hasil Maserasi

Berat ekstrak kental (gram)	Berat simplisia (gram)	Rendemen (%)
161,10	1400	11,51

B. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan 2 kali kemudian didapatkan 15 titik (gambar 1) kemudian dapat dikelompokkan sebagai berikut :

Fraksinasi (I) : pada titik 1 – 3 (tidak tampak bercak)

Fraksinasi (II) : pada titik 4 – 6

Fraksinasi (III) : pada titik 7 – 11

Fraksinasi (IV) : pada titik 12 – 15

Pengelompokkan tersebut menghasilkan 15 fraksi dan kemudian fraksi tersebut dielusi dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3). Berdasarkan tingkat kepolarannya, lima belas fraksi tersebut diklasifikasikan menjadi tiga, yakni fraksi polar, semipolar dan nonpolar. Pada sistem KLT ini fase diam lebih bersifat polar dibanding fase gerak, sehingga analit yang tertahan pada fase diam dikategorikan fraksi polar. Sedangkan analit yang ikut terelusi fase gerak dikategorikan fraksi nonpolar. Fraksi II diklasifikasikan sebagai fraksi nonpolar, fraksi III dikategorikan fraksi semi polar, dan fraksi IV dikategorikan fraksi polar.

Tabel 2. Perolehan berat fraksinasi

Fraksi	Berat ekstrak (gram)	Berat fraksi (gram)	Rendemen (%)
Nonpolar	50	1,28	2,56
Semipolar	50	1,47	2,94
Polar	50	1,10	2,2

C. Analisis Kualitatif Kandungan Kimia Fraksi Nonpolar, Semipolar, dan Polar Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.)

Analisis KLT ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) (Tabel 3, 4, dan 5). Fase gerak yang digunakan merupakan perbandingan n-heksan:etil asetat yakni 7:3 v/v .

Tabel 3. Deteksi Senyawa pada Fraksi Nonpolar Ekstrak Etanol daun tumbuhan Sala

Bercak	Rf	Sebelum Disemprot Reagen			Dragendorff	FeCl ₃	Sitroborat	Anisaldehyd	Senyawa
		Sinar Tampak	UV 366	UV 254					
1	0,16	C	M	P	C	-	M	-	Alkaloid
2	0,38	C	M	P	C	-	M	HM	Alkaloid
3	0,5	AB	M	P	-	AB	M	HM	Fenolik
4	0,6	-	M	P	-	-	M	-	
5	0,68	-	M	P	-	-	K	-	Flavonoid

Tabel 4. Deteksi Senyawa pada Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol daun tumbuhan Sala

Bercak	Rf	Sebelum Disemprot Reagen			Dragendorff	FeCl ₃	Sitroborat	Anisaldehyd	Senyawa
		Sinar Tampak	UV 366	UV 254					
1	0,16	C	B	P	C	-	M	HM	Alkaloid
2	0,22	-	M	P	-	-	M	HT	
3	0,3	AB	M	P	-	AB	M	-	Fenolik
4	0,4	-	M	P	-	-	M	-	
5	0,5	-	M	P	-	-	M	-	

Tabel 5. Deteksi Senyawa pada Fraksi Polar Ekstrak Etanol daun tumbuhan Sala

Bercak	Rf	Sebelum Disemprot Reagen			Dragendorff	FeCl ₃	Sitroborat	Anisaldehyd	Senyawa
		Sinar Tampak	UV 366	UV 254					
1	0,1	C	B	P	C	AB	K	C	Alkaloid, Fenolik dan flavonoid
2	0,2	-	M	P	-	-	M	AB	
3	0,34	-	M	P	-	-	M	-	

Keterangan:

AB : Abu-abu
C : Coklat

M : Merah
K : Kuning

HM : Hijau Muda
HT : Hijau Tua

P : Pemasaman
- : tidak ada bercak

Deteksi pertama menggunakan FeCl_3 yang spesifik untuk mendeteksi adanya senyawa polifenol. Keberadaan senyawa polifenol ditunjukkan oleh adanya bercak berwarna hijau, merah ungu, biru, atau hitam yang kuat pada pengamatan sinar tampak (harborne, 1984). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala mengandung polifenol yang ditunjukkan dengan bercak berwarna abu-abu berturut-turut dengan Rf 0,5; 0,3 dan 0,1.

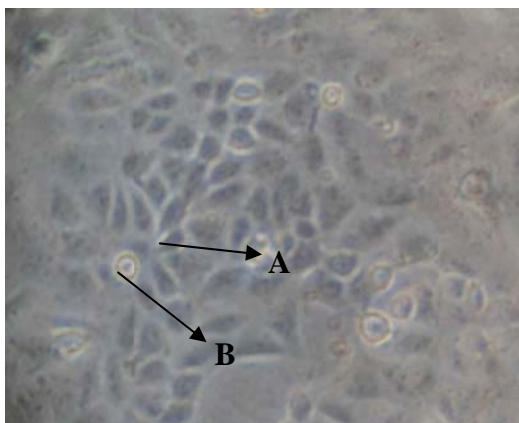
Deteksi berikutnya menggunakan sitroborat untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid. Pada UV 366 nm bercak akan terlihat sebagai fluoresensi berwarna hijau kekuningan (Markham, 1988). Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa fraksi nonpolar dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala mengandung flavonoid dengan Rf berturut-turut 0,68 dan 0,1. Dragendorff merupakan pereaksi semprot yang digunakan spesifik untuk deteksi alkaloid. Warna coklat atau orange kecoklatan merupakan identitas keberadaan senyawa alkaloid pada sinar tampak (Wagner & bladt, 1995). Hasil KLT memperlihatkan bahwa fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala mengandung alkaloid dengan Rf polar 0,1 dan semipolar 0,16 sedangkan untuk nonpolar 0,16 dan 0,36.

Anisaldehyd – sulfur acid (AS) di gunakan untuk deteksi terpenoid. Anisaldehyd mudah teroksidasi oleh udara, jadi jika larutan sudah berwarna ungu berarti larutan sudah tidak dapat lagi di gunakan untuk deteksi. Warna biru / biru-ungu pada sinar tampak menunjukkan adanya senyawa terpenoid. Hasil KLT memperlihatkan bahwa fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun Sala tidak mengandung terpenoid.

Keseluruhan hasil KLT menggambarkan bahwa dalam fraksi nonpolar dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid. Pada fraksi semipolar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala mengandung senyawa fenolik dan alkaloid.

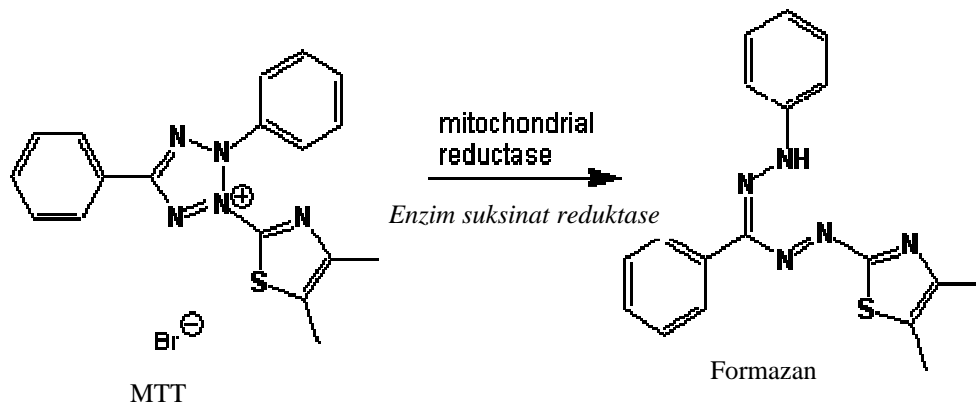
D. Uji Sitotoksik Fraksi Nonpolar, Semipolar, dan Polar Ekstrak Etanol Daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) terhadap Sel Vero

Dilakukan persiapan sel terlebih dahulu, karena sel yang digunakan haruslah sel sehat yang ditandai dengan bentuk oval, menempel pada tempatnya, jernih dan terlihat bersinar pada pengamatan dengan mikroskop. Sel yang mati akan terlihat memiliki inti yang rusak dan terlepas dari tempatnya (gambar 1). Sel yang digunakan dalam uji adalah 10.000 sel/sumuran.



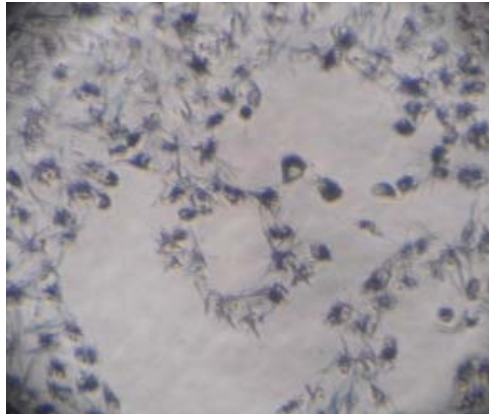
Gambar 1. Morfologi Sel Vero, A: sel yang hidup, B: sel yang mati dilihat pada mikroskop *inverter* perbesaran 40x

Preparasi sampel dilakukan dengan melarutkan fraksi pada dimetil sulfoksida (DMSO) yakni pada kadar 100.000 $\mu\text{g/mL}$ dengan DMSO 0,5%. Sampel selanjutnya di-*treatment* larutan uji dengan berbagai seri konsentrasi. Untuk pengujian sitotoksik digunakan reagen MTT (3-(4,5-dimethyliazol-2-yl)-2,5—diphenil tetrazolium bromide). Reagen MTT berwarna kuning yang larut air kemudian dapat berubah menjadi bentuk formazan berwarna ungu yang tidak larut air,



Gambar 2. Mekanisme pembentukan kristal formazan oleh enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria sel hidup

Intensitas warna ungu tersebut menyatakan banyaknya sel aktif yang hidup. Setelah itu diinkubasi selama 4 jam kemudian diberi reagen stopper larutan SDS 10%. Terbentuknya kompleks berwarna ungu (gambar 3) dilanjutkan dengan pembacaan pada ELISA *reader* pada serapan 595 nm.

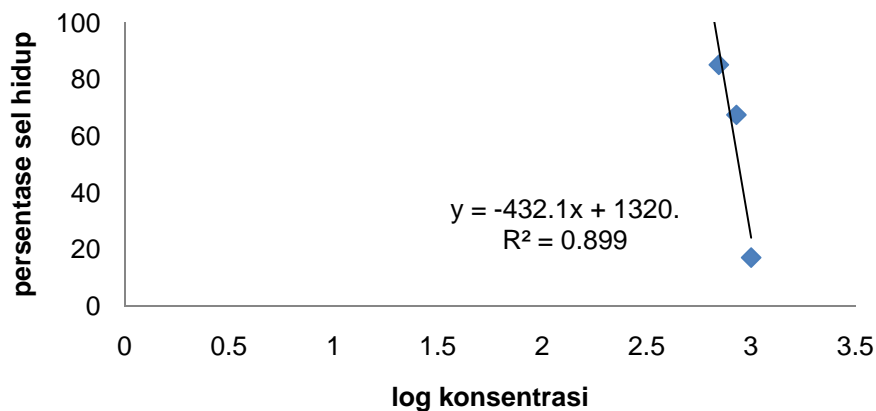


Gambar 3. Pembentukan Kristal Formazan setelah Penambahan MTT dengan perbesaran 40x

Tabel 6 menggambarkan persentase jumlah sel yang hidup setelah perlakuan dengan fraksi polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.). Peningkatan konsentrasi berbanding terbalik dengan jumlah sel yang semakin menurun.

Tabel 6. Persentase Sel Vero yang Hidup setelah Perlakuan dengan Fraksi Polar Ekstrak Etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.)

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata rata % sel hidup	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Y	R
1000	17,1	871,28	$Y = -432,12x + 1320,5$	0,8998
850	67,5			
700	85,2			
550	45,8			
400	85,5			
250	106,6			
100	113,6			



Gambar 4. Grafik Hubungan antara Log Konsentrasi versus Persentase Sel Hidup

Hasil uji diambil data pada konsentrasi 1000 – 700 $\mu\text{g/mL}$ karena pada konsentrasi tersebut hasil % rata-rata sel hidupnya konstan. Kemudian didapatkan kurva baku yang selanjutnya dimasukan 50 sebagai nilai Y untuk mencari nilai IC_{50} . Berdasarkan perhitungan nilai

IC₅₀ fraksi polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) adalah 871,28 µg/mL. Suatu ekstrak dapat dikatakan memiliki efek sitotoksik terhadap sel apabila memiliki IC₅₀ < 100 µg/mL (Rajabalian, 2007). Maka dapat dikatakan bahwa fraksi polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) tidak memiliki potensi ketoksikan terhadap sel Vero.

Tabel 7. Persentase Sel Vero yang Hidup setelah Perlakuan dengan Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.)

Konsentrasi (µg/mL)	Rata rata % sel hidup	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Y	R
1000	136,7			
850	144,9			
700	135,1			
550	140,4	-	Y=28,675x + 57,615	0,7942
400	136,2			
250	131,0			
100	109,9			

Perlakuan dengan fraksi semipolar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) menunjukkan bahwa dengan pemberian ekstrak dengan konsentrasi 1000 µg/mL belum dapat membunuh sel Vero dan terjadi peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan jumlah sel yang semakin naik, keadaan ini dapat disimpulkan bahwa dengan kenaikan konsentrasi fraksi maka akan berakibat pada kenaikan jumlah selnya. Sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi semipolar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) tidak memiliki potensi ketoksikan terhadap sel Vero.

Tabel 8. Persentase Sel Vero yang Hidup setelah Perlakuan dengan Fraksi Nonpolar Ekstrak Etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.)

Konsentrasi (µg/mL)	Rata rata % sel hidup		Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Y	r
	Uji I	Uji II			
1000	55,1	53,0			
850	72,9	63,6			
700	125,8	123			
550	128,8	1288	-	-	-
400	138,8	124			
250	123,1	124,8			
100	132,2	109,3			

Pada fraksi nonpolar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) hanya didapatkan nilai % sel hidup pada konsentrasi 1000 µg/mL, karena pada konsentrasi tersebut di dapatkan nilai yang konstan yaitu sebesar 52,98% dan 55,09%. Dapat di simpulkan bahwa fraksi nonpolar ekstrak etanol daun Sala pada konsentrasi 1000 µg/mL memiliki sel yang masih hidup sebesar 50%nya, sehingga fraksi nonpolar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) tidak memiliki potensi ketoksikan terhadap sel Vero.

Hasil penelitian dari fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel vero, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa fraksi-fraksi tersebut memiliki aktivitas sitotoksik yang selektif terhadap sel kanker.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan : fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak daun tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) tidak mempunyai potensi ketoksikan terhadap sel Vero serta memiliki selektivitas tinggi terhadap sel Vero dan golongan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi nonpolar dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan Sala adalah flavonoid, fenolik, dan alkaloid, pada fraksi semipolar terkandung senyawa fenolik dan alkaloid.

SARAN

Saran yang dapat diberikan adalah : perlu dilakukan uji fraksi nonpolar, semipolar dan polar dari ekstrak etanol daun tumbuhan sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) terhadap sel kanker yang lain dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam mendeteksi senyawa spesifik yang terkandung dalam fraksi nonpolar, semipolar dan polar dengan menggunakan instrument yang lebih akurat, seperti : HPLC dan spektroskopi.

DAFTAR ACUAN

- Bandaranayake, W.M., 1998, Traditional and medicinal uses of mangroves, *Mangroves and salt marshes*, 2, 133-148.
- CCRC UGM, 2013, *SOP Pembuatan Media*, <http://www.ccrc.farmasi.ugm.ac.id/> (diakses tanggal 13 Mei 2013).
- Departemen Kesehatan RI, 1995, *Materia Medika Indonesia* Jilid VI, Jakarta, Depkes RI.
- Diananda, R., 2007, *Mengenal Seluk-Beluk Kanker*, Yogyakarta, KATAHATI.
- Doyle, A. & Griffiths, J.B., 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, New York, John Willey and Sons LTD, 409-410.
- Goncalves, E.M., Ventura, C.A., Yano, T., Macedo, M.L.D., Ganeri, S.C., 2006, Morphological and growth alterations in vero cells transformed by cysplatin, *Cell biologi International*, 30, 485-494.

- Hahn, D. B. & Payne, W. A., 2003, *Focus on Health*, New York, Mc-Graw Hill.
- Harborne, J.B., 1984, *Metode Fitokimia*, Bandung, ITB press.
- Haryadi, D., 2012, *Senyawa Fitokimia Dan Sitotoksitas Ekstrak Daun Surian (Toona sinensis) Terhadap Sel Vero Dan MCF-7*, Bogor, Departemen Biokimia.
- Haryoto, Suhendi, A., Azizah, T., Muhtadi, dan Indrayudha, P., 2013, Cytotoxic Effects of Ethanol Extract from *Cynometra ramiflora* Linn stem bark on Cancer Cell Lines, *Laporan Penelitian*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hutapea, R. J., 1993, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Edisi II, 172, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Katzung & Bertram, 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Jakarta, Salemba Medika.
- Kelana, T.B., 2007, Uji Sitotoksik Ekstrak Metanol Kulit Kayu Tumbuhan Cep-Cepen (*Castanopsis Costata* BL) dengan metode Brine Shrimp Lethality Assays, *Jurnal Sains Kimia*, 11 (1), 25-30.
- Khan, M.A.A., 2006, Phytochemical and pharmacological screening of Shingra (*Cynometra ramiflora* Linn., Family: Leguminosae) bark based on its traditional uses, *Southern University, Departemen of pharmacy*.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., 25, Bandung, ITB press.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 2003, *Biokimia Harper*, Edisi 25, diterjemahkan oleh Hartono, A., Jakarta, EGC.
- Park, K.D., Lee, S.G., Kim, S.U., Kim, S.H., Sun, W.S., Cho, S.J., *et al.*, 2004, Anticancer activity of 3-O-acyl and alkyl(-)-epicatechin derivatives, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 14, 5189–5192.
- Pasaribu, E.T., 2006, *Epidemiologi dan Etiologi Kanker*, Divisi Onkologi Departemen Ilmu Bedah, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Pitopang, R., Khaerudin, I., Tjoa, A., Burhanudin, I.F., 2008, *Jenis Jenis Pohon yang Umum di Sulawesi*, Palu, UNTAD Press.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., dan Zhang, L., 2003, *Flavonoid: Promising Anticancer Agents*, *Medical Research Review*, 23,519-534.
- Subarnas, A., Diantini, A., Abdullah, R., Zuhrotun, A., Yamazaki, C., Nakazawa, M., *et al.*, 2012, Antiproliferative activity of primates-consumed plants against MCF-7 human breast cancer cell lines, *E3 journal of Medical Research* 1 (4), 038-043.

- Sukardja, I.D.G., 2004, *Onkologi Klinik*, Edisi 2, Surabaya, Airlangga university Press, 122-123.
- Sugiyanto, B., Sudarto, E.M., Meiyanto, E., Nugroho, A.E., Jenie, U.A., 2003, Aktivitas Antikarsinogenik Senyawa Yang Berasal Dari Tumbuhan, *Yogyakarta, Majalah Farmasi Indonesia*, 132 – 141.
- Tiwari, P., Rahuja, N., Kumar, R., Lashmi, V., Srivastava, M.N., Agarwal, S.C., *et al.*, 2008, Search for antihyperglycemic activity in few marine flora and fauna, *Indian Journal of Science and Technology*, 1 (5).
- Tjay, T.H., Raharja, K., 2007, *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Samping*, Edisi VI, Jakarta, PT. Elex Media Komputindo.
- Uddin, S.J., Grice, D.I., Tiralongo, E., 2009, Cytotoxic Effects of Bangladeshi Medicinal Plant Extracts, Original Article, *eCAM Advance Access Published August*, 25, 1-6
- Wagner, H. dan Blatt, S., 1995, *Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatography Atlas*, Edisi 2, Berlin, Springer-Verlag.
- WHO, 2008, *Global Cancer Control, Worldwide Cancer Burden*, Geneva, Switzerland, WHO Press, 42-55.
- Wyllie, A.H., 2008, *Apoptosis, Cell Death, and Cell Proliferation*, Edisi 3, Germany, Roche Applied Science.