

EFEK EKSTRAK METANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L.*) TERHADAP INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER WiDr

Destika Purnamasari*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

Abstrak

Latar Belakang: Kanker kolorektal adalah penyakit keganasan yang menyerang usus besar dan rektum yang menempati urutan ke-3 kanker terbanyak di dunia. Pengobatan yang ada menimbulkan efek samping yang merugikan dan biaya yang mahal sehingga dibutuhkan pengobatan alternatif seperti herbal. Ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) mengandung flavonoid dan fenolik yang telah diketahui memiliki potensi sebagai antikanker.

Tujuan: Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol daun kersen terhadap induksi apoptosis sel kanker kolon WiDr

Metode: Sel WiDr diinkubasi dengan ekstrak bahan uji dalam 5 konsentrasi yang berbeda selama 24 jam. Obat 5-FU digunakan sebagai kontrol positif. Uji sitotoksik terhadap sel WiDr dinilai dengan menggunakan metode MTT *assay*. Nilai absorbansi yang diperoleh akan digunakan untuk menghitung persentase kematian sel kanker WiDr yang kemudian dianalisa probit untuk mendapatkan nilai IC_{50} . Pengamatan apoptosis dilakukan dengan metode *double-staining* menggunakan *etidium bromide-acrydine orange* (EB-AO).

Hasil: Nilai IC_{50} ekstrak metanol daun kersen yang diperoleh sebesar 54,509 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan 5-FU sebesar 29,309 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji *double-staining* pada kelompok yang diberi ekstrak metanol daun kersen menunjukkan adanya sel yang mengalami apoptosis.

Kesimpulan: Ekstrak metanol daun kersen mampu menginduksi apoptosis sel kanker WiDr.

Kata Kunci: *Muntingia calabura L.*, Kanker Kolorektal, sel WiDr, Uji Sitotoksik, Apoptosis, EB-AO

Pendahuluan

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah kesehatan, baik di dunia maupun di Indonesia. Di dunia, kanker menjadi pembunuh nomor 2 setelah penyakit kardiovaskular yang dapat diperkirakan sebanyak 12 juta orang menderita kanker dan 7,6 juta orang diantaranya meninggal dunia. Angka kejadian kanker dikhawatirkan dapat terus meningkat jika tidak dikendalikan. Pada tahun 2030 dapat diperkirakan sebanyak 26 juta orang akan menderita kanker dan 17 juta diantaranya meninggal dunia¹. Kejadian kanker yang terbanyak adalah kanker paru sebanyak 1,52 juta kasus, kanker payudara sebanyak 1,29 kasus dan kanker kolorektal sebanyak 1,15 juta kasus². Kanker kolorektal menempati urutan ke 3 kanker terbanyak di dunia, dimana jumlah pasien laki-laki sedikit lebih banyak daripada perempuan dengan perbandingan 19,4 dan 15,3 per 100.000 penduduk³

Terapi kanker secara umum terbagi menjadi dua macam, yaitu terapi lokal dan terapi sistemik³. Pengobatan yang ada masih menimbulkan efek samping yang merugikan dan mahalnya biaya yang dikeluarkan, banyak pasien yang memilih pengobatan alternatif yang lebih sedikit efek sampingnya dan biayanya lebih murah. Pengobatan alternatif yang dapat digunakan antara lain terapi dengan obat-obatan herbal, suplemen vitamin, hipnoterapi, meditasi, relaksasi dan penyembuhan rohani⁴

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman flora yang berpotensi untuk pengobatan alternatif. Tanaman herbal yang memiliki efek sitotoksik terhadap pertumbuhan kanker salah satunya daun kersen dengan nama latin *Muntingia calabura L.* Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan Kersen memiliki banyak manfaat yaitu sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antinosisseptik, antibakteri dan kardioprotektif⁵

Muntingia calabura L mengandung senyawa karbohidrat, protein, polifenol, flavonoid, asam askorbat, α -tokoferol

dan klorofil yang paling tinggi terletak pada daun⁶. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *Muntingia calabura L* mengandung flavonoid, tanin, dan saponin⁷

Flavonoid dapat memacu apoptosis melalui beberapa mekanisme antara lain penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II, modulasi *signaling pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-xl, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak serta aktivasi endonuklease^{8,9}. Saponin memiliki potensi antikanker melalui induksi apoptosis dapat dibedakan menjadi jalur intrinsik maupun ekstrinsik. Jalur intrinsik terjadi dengan cara pelepasan sitokrom-c, depolimerisasi membran mitokondria, *downregulasi* bcl-2, stimulasi p53 atau gangguan homeostasis Ca^{2+} . Jalur ekstrinsik dipicu melalui aktivitas reseptor pro-apoptosis khusus dipermukaan sel yang distimulasi oleh molekul khusus yaitu ligan pro-apoptosis (*Apo 2L/TRAIL* dan *CD95L/FasL*)^{10,11}

Aktivitas antikanker senyawa tanin terjadi dengan meningkatkan protein p27 yang dapat menghambat siklus sel. Protein p27 adalah protein yang mengikat siklin dan cdk sehingga terjadi hambatan menuju fase S¹²

Penelitian tersebut dilakukan terhadap sel kanker jenis MCF-7, HeLa, HT-29, HL-60 dan K-562⁷. Adapun penelitian dengan menggunakan sel kanker WiDr selama ini belum banyak dieksplorasi secara mendalam, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *Muntingia calabura L* yang mampu menginduksi apoptosis sel kanker kolon WiDr.

Metode Penelitian

Pengamatan apoptosis dilakukan dengan metode *double-staining* menggunakan *etidium bromide-acrydine orange* (EB-AO) dan segera diamati di bawah mikroskop flouresens (Axiolab).

Penelitian ini dilakukan mulai dari bulan Mei 2016 sampai dengan bulan November 2016 Pembuatan ekstrak metanol daun kersen dilakukan

di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA UII. Standarisasi ekstrak dan pengamatan apoptosis dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada. Uji sitotoksik dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

Populasi yang digunakan adalah sel kanker WiDr. Subyek dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan, kontrol sel, dan kontrol media. Kelompok perlakuan yakni kelompok sel dengan pemberian ekstrak metanol daun kersen dan kelompok dengan pemberian 5-FU. Masing-masing dibuat kedalam 5 konsentrasi yang berbeda yaitu 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62.5 µg/ml, 31.25 µg/ml baik ekstrak metanol daun kersen maupun 5-FU dalam RPMI.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan penelitian. Berikut adalah tahapan penelitian yang dilakukan:

Persiapan ekstrak metanol *Muntingia calabura L*

Daun kersen yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tanaman kersen yang tumbuh di Merapi Farma Herbal, Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Pertama-tama dilakukan determinasi untuk memastikan tanaman yang diambil benar-benar tumbuhan kersen (*Muntingia calabura L*) kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA UII

Standarisasi Ekstrak

Standarisasi ekstrak dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Uji flavonoid. Sampel ditimbang sebanyak 50 mg. Sampel dimasukkan kedalam labu dan ditambahkan 10 ml asam klorida 4 N. Kemudian dihidrolisis dengan pendingin balik selama 30 menit. Setelah itu didinginkan dan diekstraksi dengan 5 ml dietileter. Fase dietileter diuapkan dengan gas nitrogen. Sampel sebanyak 20 µl ditotolkan pada

plate selulosa bersama dengan pembanding rutin. *Plate* dimasukkan ke dalam *chamber* jenuh fase gerak butanol-asam asetat-air (3:1:1). Selanjutnya amati eluasi hingga batas. *Plate* dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV. Semprot *plate* dengan pereaksi aluminium klorida.

Uji alkaloid. Sampel ditimbang sebanyak 100 mg. Sampel ditambah dengan 2 ml amoniak 10% kemudian divorteks selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 5 ml chloroform dan divorteks selama 2 menit. Selanjutnya disentrifus selama 3 menit dan ambil fase chloroformnya. Fase *chloroform* diuapkan dengan gas nitrogen. Setelah itu dilarutkan dalam 200 µl *chloroform*. Sampel ditotolkan sebanyak 20 µl pada *plate* silica gel F254. *Plate* dimasukkan ke dalam *chamber* jenuh fase gerak metanol:amoniak (100 :1,5). Selanjutnya amati eluasi hingga batas, angkat dan keringkan. Semprot dengan pereaksi dragendorff.

Uji Fenolik. Sampel ditimbang sebanyak 100 mg. Sampel ditambahkan larutan metanol sebanyak 1 ml. Selanjutnya divortex selama 2 menit kemudian disentrifus. Sampel ditotolkan sebanyak 20 µl pada *plate* silica gel. *Plate* dimasukkan ke dalam *chamber* jenuh fase gerak Metanol:Asam Formiat 10% (97:3). Kemudian amati eluasi hingga batas. *Plate* dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV. Semprot dengan pereaksi *ferric chloride*.

Uji Sitotoksik

Ekstrak metanol daun kersen diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel WiDr menggunakan metode MTT *Assay*. Sel WiDr yang sebelumnya disimpan dalam tangki nitrogen disubkultur pada media kultur hingga siap digunakan untuk uji. Sejumlah sel didistribusikan ke dalam sumuran pada 96 *well plate* (Nunc) dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% bersuhu 37°C selama 24 jam. Ekstrak uji yang sudah dilarutkan dalam DMSO ditambahkan ke dalam sumuran dengan lima seri kadar yaitu 500, 250, 125, 62.5 dan 31.25 µg/ml kemudian diinkubasi selama 24 jam. Pada hari ketiga, masing-masing sumuran ditambahkan 100 µL MTT. Sel diinkubasi kembali

selama 4-6 jam dalam inkubator CO₂ 5% bersuhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan reagen *stopper* yaitu SDS 10% dalam HCl 0,01N, lalu diinkubasi semalam pada suhu kamar. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Pengecatan DNA

Sel WiDr ditanam pada *cover slip* yang dimasukkan dalam *microplate* 24 sumuran yang telah dibagi menjadi 2 kelompok (ekstrak metanol daun kersen dan kontrol sel) sehingga diperoleh kepadatan 3×10^4 sel/sumuran dan diinkubasi sampai 50-60% konfluen. Setelah itu diinkubasi dengan senyawa uji selama 48 jam. Medium diambil, dicuci dengan PBS. *Cover slip* yang memuat sel diangkat, diletakkan di atas *object glass* dan ditambahkan 10µL 1X *working solution* etidium bromida-

akridin oranye kemudian didiamkan selama 5 menit. Sel segera diamati dibawah mikroskop fluoresens (Zeiss MC 80).

Analisis Data

Pada uji sitotoksik, hasil pembacaan absorbansi dengan ELISA *reader* dikonversikan ke dalam bentuk % penghambatan sel dari tiap-tiap konsentrasi sampel yang diperoleh dihitung dan dianalisis menggunakan rumus:

$$\% \text{ kematian sel} = \frac{(A-B)-(C-B)}{(A-B)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = rata-rata absorbansi sel

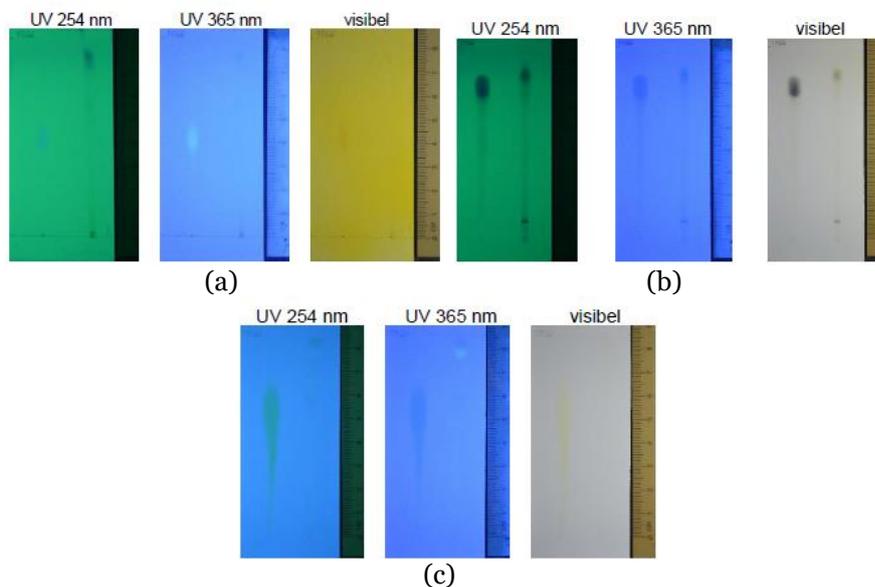
B = rata-rata absorbansi media

C = rata-rata absorbansi sampel uji

Dari data % kematian sel, dapat dihitung harga IC₅₀ dengan menggunakan analisa probit untuk mengetahui potensi sitotoksiknya.

Hasil

Standarisasi ekstrak



Gambar 1. Hasil uji KLT (a) senyawa alkaloid, (b) flavonoid dan (c) fenolik pada ekstrak metanol daun kersen

Pada *plate* silika gel F_{254} timbul noda berwarna orange pada pengamatan dengan sinar tampak (*visible*) dan nilai Rf tidak terdeteksi yang menegaskan bahwa tidak adanya kandungan alkaloid pada ekstrak daun kersen. Pada pengamatan *visible* dan sinar UV 254 nm timbul noda berwarna hitam kelabu

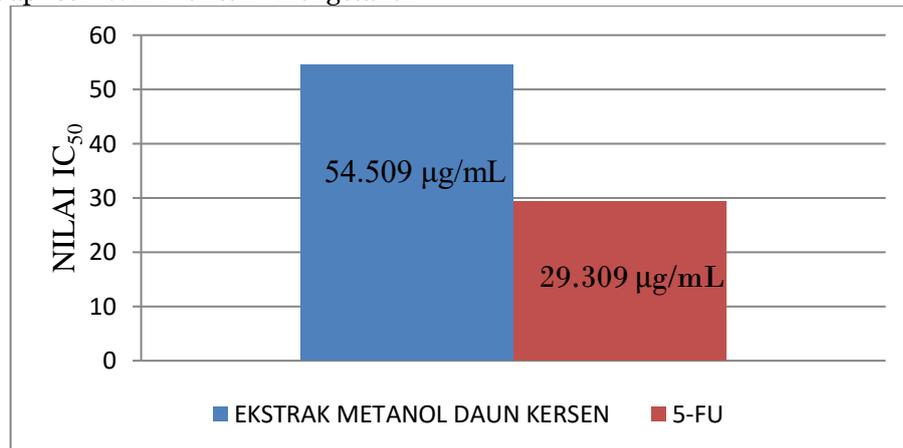
dengan Rf 0.86, sedangkan pada sinar UV 366 nm tampak warna biru yang menegaskan adanya kandungan fenolik pada ekstrak daun kersen. Pada pengamatan menggunakan sinar UV 366 nm tampak berwarna biru dan sinar UV 254 nm berwarna kuning yang menegaskan adanya kandungan

flavonoid pada ekstrak daun kersen. Berdasarkan hasil uji KLT ini dapat disimpulkan bahwa dalam sampel ekstrak daun kersen mengandung senyawa fenolik dan flavonoid.

Uji sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan terhadap sel WiDr untuk mengetahui

potensi penghambatan pertumbuhan sel akibat perlakuan ekstrak metanol daun kersen dan obat 5-FU. Uji ini dilakukan untuk menentukan kadar sampel uji yang dapat menghambat pertumbuhan sel WiDr sampai 50% (IC_{50}).

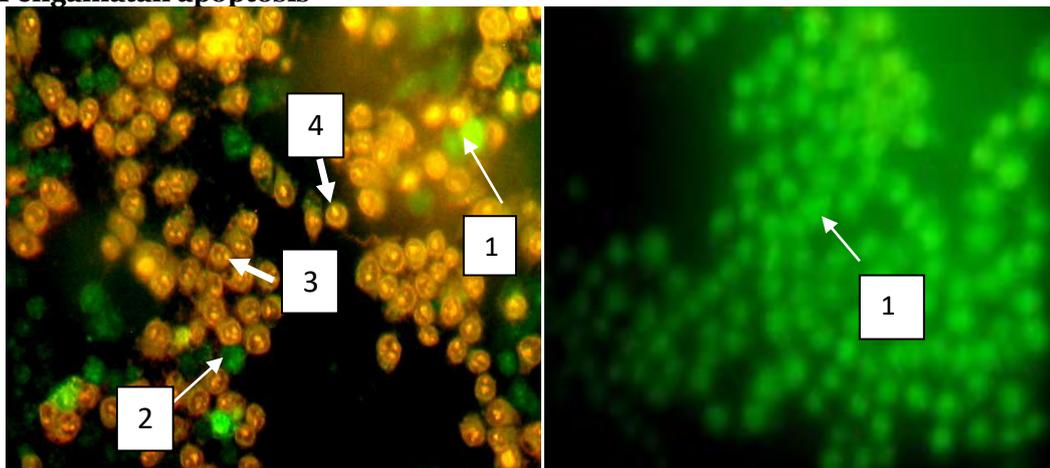


Grafik 1. Perbandingan nilai IC_{50} dengan menggunakan analisis probit pada ekstrak metanol daun kersen dan obat 5-FU

Pada penelitian ini, nilai IC_{50} ekstrak metanol daun kersen lebih tinggi dibandingkan dengan nilai IC_{50} obat 5-FU. Ekstrak metanol daun kersen memiliki aktifitas penghambatan

pertumbuhan sel WiDr dengan IC_{50} sebesar 54.509 µg/mL. Obat 5-FU memiliki aktifitas sitotoksik terhadap sel WiDr dengan nilai IC_{50} sebesar 29.309 µg/mL.

Pengamatan apoptosis



Gambar 2. Morfologi sel WiDr akibat perlakuan (a) Ekstrak metanol daun kersen (b) Kontrol sel. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop fluoresens. Keterangan: 1. Sel hidup, 2. Early apoptosis, 3. Late apoptosis, 4. Nekrosis.

Berdasarkan pengamatan morfologi sel dengan metode *double-staining* menggunakan *etidium*

bromide-acrydine orange (EB-AO) setelah perlakuan ekstrak metanol daun kersen menunjukkan adanya dominasi

sel yang mengalami apoptosis. Hal tersebut diperkuat dengan hasil pengecatan DNA yang mengindikasikan adanya gambaran sel yang berwarna oranye dengan intinya yang terfragmentasi.

Diskusi

Muntingia calabura L mengandung senyawa karbohidrat, protein, polifenol, flavonoid, asam askorbat, α -tokoferol dan klorofil yang paling tinggi terletak pada daun⁶. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *Muntingia calabura L* mengandung flavonoid, tanin, dan saponin⁷.

Berdasarkan hasil standarisasi ekstrak dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) secara kualitatif, ekstrak metanol daun kersen mengandung senyawa alkaloid dan fenolik. Potensi ekstrak metanol daun kersen dalam memacu apoptosis sel kemungkinan disebabkan oleh senyawa flavonoid dan fenolik yang dikandungnya.

Flavonoid dapat memacu apoptosis melalui beberapa mekanisme antara lain penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II, modulasi *signaling pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-xl, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak serta aktivasi endonuklease^{8,9}. Enzim topoisomerase adalah suatu enzim yang berfungsi memotong DNA yang berilitan akibat pembukaan *double strand* DNA oleh enzim helikase, memutar balik dan kemudian menyambungkan lagi. Enzim tersebut bekerja pada saat perpanjangan replikasi DNA. Jika aktivitas enzim topoisomerase dihambat, maka stabilisasi kompleks topoisomerase-DNA akan terpotong sehingga menghasilkan kerusakan *double strand* DNA yang permanen. DNA yang rusak akan mengaktifasi p53 dan memicu timbulnya apoptosis^{8,9,14}.

Senyawa flavonoid berperan dalam jalur intrinsik. Jalur intrinsik (mitokondria) terjadi akibat adanya peningkatan permeabilitas membran mitokondria karena adanya faktor stress seluler yang berlebihan sehingga

mitokondria melepaskan molekul-molekul pro-apoptosis seperti sitokrom c dan *Apoptosis Inducing Factor* (AIF) kedalam sitoplasma tanpa adanya peran reseptor. Pelepasan protein sitokrom c dan AIF diatur oleh *family* protein Bcl-2 anti apoptosis dan pro apoptosis. Dua protein anti apoptosis utama yang mengatur apoptosis adalah protein Bcl-2 dan Bcl-xl. Family protein Bcl-2 yang diantaranya terdiri dari Bax, Bak, Bcl2 dan Bcl-xl. Bax dan Bak adalah suatu protein proapoptosis, sedangkan Bcl-2 dan Bcl-xl adalah protein antiapoptosis¹⁵. Protein Bcl2 akan menempel pada membran luar mitokondria sehingga pelepasan sitokrom c akan terhalang, sedangkan protein Bcl-xl berikatan dengan Apaf-1¹⁶. Sitokrom c dan Apaf-1 diperlukan dalam proses apoptosis melalui jalur intrinsik dengan cara mengaktifasi caspase 9¹⁷. Protein Bax dapat berikatan dengan membran luar mitokondria sehingga menginduksi pengeluaran sitokrom c dari mitokondria sedangkan Bak dapat berikatan dengan Bcl-xl sehingga membebaskan Apaf-1¹⁶. Sel yang hidup akan diimbangi oleh kematian sel yang diperantarai oleh Bax dan Bak. Jika ekspresi Bax atau Bak dinaikkan dan Bcl-2 atau Bcl-xl diturunkan, maka akan terjadi regulasi sel ke arah kematian melalui proses apoptosis.

Enzim endonuklease merupakan enzim yang memiliki peran genom DNA menjadi fragmen-fragmen dan melakukan pemecahan komponen seluler¹⁸. Aktivasi terhadap enzim ini akan memperbesar kemungkinan suatu sel untuk melakukan apoptosis.

Senyawa fenolik yang banyak terdapat di alam diantaranya polifenol dan asam fenolat terutama turunan dari asam 4-hidroksi benzoat dan asam 4-hidroksisinamat. Asam fenolat berperan dalam mencegah kanker dan antigenotoksik. Asam fenolat secara langsung berefek sebagai antiproliferatif karena langsung berinteraksi dengan reseptor aril hidrokarbon dan menghambat enzim *nitric oxide synthase* (NOS) yang akhirnya akan menginduksi terjadinya apoptosis lewat jalur p53¹⁹. Oleh karena itu, diduga

senyawa flavonoid dan fenolik turut berperan dalam memicu apoptosis sel WiDr.

Nilai IC_{50} ekstrak metanol daun kersen dalam menghambat pertumbuhan sel kanker WiDr menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibanding obat 5-FU. Hasil dari penelitian ini diperoleh nilai IC_{50} ekstrak metanol daun kersen sebesar 54,509 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan IC_{50} 5-FU bernilai 29,309 $\mu\text{g/ml}$. Keduanya tergolong ke dalam kategori sitotoksik potensial. Sitotoksitas dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu: (1) sitotoksik potensial jika $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$, (2) sitotoksik moderat jika $100 \mu\text{g/ml} < IC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$, dan (3) tidak toksik jika $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$ ¹³. Kelompok senyawa dengan sitotoksik potensial dapat digunakan sebagai agen antikanker, sedangkan sitotoksik moderat dapat dimanfaatkan untuk kemoprevensi yang dapat mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Nilai IC_{50} ekstrak metanol daun kersen yang kurang dari 100 $\mu\text{g/ml}$ mempunyai potensial untuk dikembangkan. Nilai IC_{50} 5-FU sebagai senyawa pembanding memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi dari ekstrak metanol daun kersen dan keduanya memiliki nilai yang kurang dari 100 $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan hasil fluoresensi warna secara kualitatif dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan warna antara perlakuan ekstrak metanol daun kersen (gambar 7a) dan kontrol sel (gambar 7b). Pada kelompok yang diberi perlakuan ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura L*) menunjukkan adanya fase *late apoptosis* yang ditandai dengan fluoresensi oranye dengan inti yang terfragmentasi ditunjukkan oleh angka 3 pada gambar 7a. Sel yang mengalami *late apoptosis* menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel. Akibatnya *etidium bromide* dapat masuk ke dalam sel dan berinterkalasi dengan DNA sehingga menimbulkan fluoresensi oranye sebagai indikator kematian sel²⁰.

Sel dengan fluoresensi berwarna hijau terang pada intinya dengan struktur yang masih normal yang mengindikasikan sel tersebut masih hidup yang ditunjukkan oleh angka 1 pada gambar 7a. Warna ini dapat terbentuk karena hanya menyerap *acrydine orange*. *Etidium bromide* tidak dapat masuk pada kontrol sel karena integritas sel masih baik²⁰. Sel berfluoresensi hijau dengan struktur inti ireguler dan terdapat badan apoptosis yang berwarna hijau terang yang menunjukkan adanya fase awal dari apoptosis yang ditunjukkan oleh angka 2 pada gambar 7a. Sel tersebut mengalami *early apoptosis* dimana terjadi kondensasi kromatin yang menyebabkan kromatin menyerap lebih banyak warna dibandingkan kontrol. Dengan demikian sel tersebut masih hidup, sehingga hanya AO yang dapat mewarnai sel hidup²¹. Sel nekrosis ditunjukkan oleh angka 4 pada gambar 7a yang memperlihatkan adanya fluoresensi oranye dengan inti normal/tidak terfragmentasi. Nekrosis disebabkan oleh adanya pelepasan enzim lisis lisosomal seperti protease dan nuklease sehingga sel mengalami lisis kemudian diikuti oleh respon inflamasi dan tidak terbentuk badan apoptosis²².

Pada kelompok kontrol yang berisi sel terdapat sel yang berfluoresensi hijau terang dengan struktur inti masih normal yang berarti bahwa sel tersebut masih hidup yang ditunjukkan oleh angka 1 pada gambar 7b. Konsentrasi yang digunakan dalam uji ini adalah sesuai dengan nilai IC_{50} yang didapat pada uji sitotoksik dengan menggunakan metode MTT assay yaitu sebesar 54,509 $\mu\text{g/ml}$ untuk ekstrak metanol daun kersen.

Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak metanol daun kersen memiliki aktivitas dalam memacu kematian sel WiDr melalui mekanisme penghambatan proliferasi sel dan apoptosis sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai antikanker. Meskipun aktivitas sitotoksik ekstrak metanol daun kersen relatif rendah jika dibandingkan dengan agen kemoterapi

seperti 5-FU, tetapi nilai IC₅₀ tersebut cukup menjanjikan untuk dikembangkan sebagai agen sitotoksik dengan melihat hasil dari percobaan ini. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui senyawa aktif dalam ekstrak yang bertanggung jawab terhadap mekanisme pemacuan apoptosis sel WiDr serta perlu dilakukan penelusuran terhadap mekanisme aksi senyawa untuk mengetahui targetnya dalam pemacuan apoptosis sel kanker kolorektal.

Persembahan

Ucapan terimakasih penulis haturkan kepada Allah SWT, dr. dr. Sufi Desrini, M.Sc selaku dosen pembimbing, dr. Ukhti Jamil Rustiasari, Sp.PA selaku dosen penguji, keluarga besar program studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, orangtua serta saudara-saudara yang terlibat langsung maupun tidak langsung dalam pembuatan artikel ilmiah ini.

Referensi

1. WHO. 2008. Traditional medicine. Media centre WHO, desember 2008, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. Diakses pada 5 Juli 2015, pukul 20.00 WIB
2. International Agency for Research on Cancer (IARC)., 2008. World Cancer Report 2008. Available from: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs.online/wcr/2008/index.php>
3. Setiati,S.et al.,2014. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* ed 6. Jakarta: Interna Publishing
4. WHO. 2008. Traditional medicine. Media centre WHO, desember 2008, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. Diakses pada 5 Juli 2015, pukul 20.00 WIB
5. Lim,T.K., 2012. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plant. London New York.

- Springer Dordrecht Heidelberg. Hal: 489-491
6. Khan, M.A., Ramadas, D., Mundasada, S.C., 2015. Antioxidant activity: root, leaves, and fruits aqueous extracts of *Muntingia calabura*. *JIPBS*, 2(4), 363-68.
 7. Zakaria,Z.A., et.al.,2011.In vitro antiproliferative and antioxidant activities of the extracts of *Muntingia calabura L. Am. J. Chin. Med*, 39(1),pp.183-200
 8. Baily, C. Topoisomerase I poisons and suppressors as anticancer drugs. *Curr Med Chem* 2000;7:39-58
 9. Sukardiman, Darwanto A, Tanjung M, Darmadi MO. Cytotoxic mechanism of flavonoid from Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*) in cell culture of human mammary carcinoma. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000;23:185-90
 10. Bachran, C., Weng, A., Bachran, D., et al., 2010. The Distribution of Saponins In Vivo Affects Their Synergy With Chimeric Toxins Against Tumours Expressing Human Epidermal Growth Factor Receptors In Mice. *Br J Pharmacol*, 159:345-52
 11. Hsu, Y.L., Kuo, P.L., Weng, T.C., et al.,2004.The Antiproliferative Activity Of Saponin-Enriched Fraction From *Bupleurum Kaoi* Is Through Fas-Dependent Apoptotic Pathway In Human Non-Small Cell Lung Cancer A549 Cells. *Biol Pharm Bull*. 27:1112-15.
 12. Sahid, A., Pandiangan, D., Siahaan, P., 2013. Uji Sitoksisitas Ekstrak Metanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) terhadap Sel Leukimia P388. *Jurnal MIPA Unsrat Online* 2 (2): 94-99.
 13. Prayong, P., Barusrux, S., Weerapreeyakul, N., 2008.Cytotoxic activity screening of some indigenous

- Thai plants. *Fitoterapia*, 79(7): 598-601.
14. Wenzel U, Kuntz S, Brendel MD, Daniel H., 2000. Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human coloncarcinoma cells. *Cancer Res*, 60:3823–3831
 15. King, R.J.B., 2000, *Cancer Biology 2nd Ed.* London: Pearson Education Limited
 16. Nunez, G., Benedict, M.A., Hu, Y., Inohara, N., 1998. Caspases: the proteases of the apoptotic pathway, *Onc.*, 17, 3237–45
 17. Saleh, A., Srinivasula, S.M., Acharya, S., Fishel, R., dan Alnemri, E.S., 1999, Cytochrome c and dATP-mediated Oligomerization of Apaf-1 Is a Prerequisite for Procaspase-9 Activation, *J. Bio. Chem.*, 274(25), 1794–6
 18. Frank, L.M., Teich, N.M., 1997. *Introduction to the Cellular and Molecular Cancer 3rd Ed.* New York: Oxford University Press.
 19. Kampa, M., Alexaki, V.I., Notas, G., Nifli, A.P., Nistikaki, A., Hatzoglou, A., *et.al.*, 2003. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action, *Breast Cancer Res*, 6, R63-7
 20. Meiyanto, E., Susidarti, R.A., Handayani, S., Rahmi, F., 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu L.*) mampu menghambat proliferasidan memacu apoptosis sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19(1):12-9
 21. Maryati., Sutrisna, E.M., 2011. Fraksi Petroluem Eter Tanaman Ceplukan (*Pysalis angulata L.*) Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Pada Sel HeLa. *Biota*, 16(1):82-84
 22. Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., 2005. Robbins and Cotrans Pathologic Basif of Disease. 7th Ed, diterjemahkan oleh Pendit, B.U. Jakarta: EGC.