

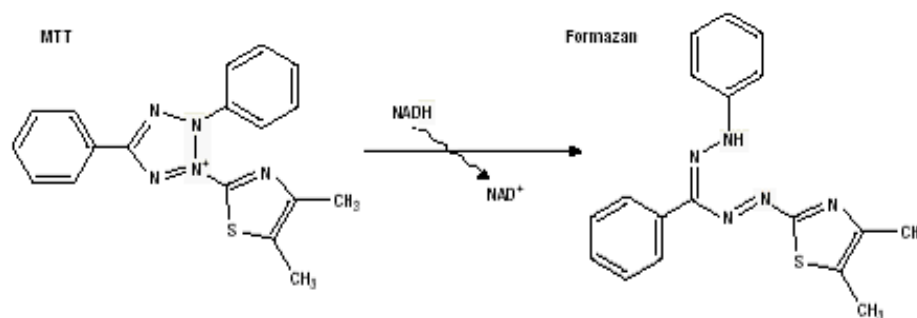
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi

Serbuk daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) sebanyak 80 gram diekstraksi dengan cara soxhletasi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak etil asetat yang diperoleh sebanyak 26,98 gram (rendemen 33,73%).

B. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksitas dalam penelitian ini dilakukan dengan metode MTT. MTT [3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] diabsorpsi oleh sel hidup dan direduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium yang ada dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan berupa zat warna ungu yang tidak larut dalam air tetapi dapat larut dalam SDS 10% (Doyle and Griffiths, 2000). Sel hidup dapat mereduksi MTT, sedangkan sel mati tidak dapat mereduksi MTT. Formazan terlarut kemudian diukur serapannya dengan *Elisa Reader*. Serapan yang dihasilkan akan sebanding dengan jumlah sel hidup. Gambar 2 memperlihatkan reaksi reduksi MTT menjadi formazan.



Gambar 2. Reaksi Reduksi MTT Menjadi Formazan

Sampel uji pada uji sitotoksik ini dilarutkan dalam DMSO. DMSO dipilih sebagai pelarut karena telah dilaporkan bahwa penggunaan DMSO tidak berpengaruh pada proliferasi sel. Penggunaan DMSO sampai 1,25% v/v pada sel Hela dan sel Raji tidak berpengaruh terhadap proliferasi sel (Da'i, 2003). Uji

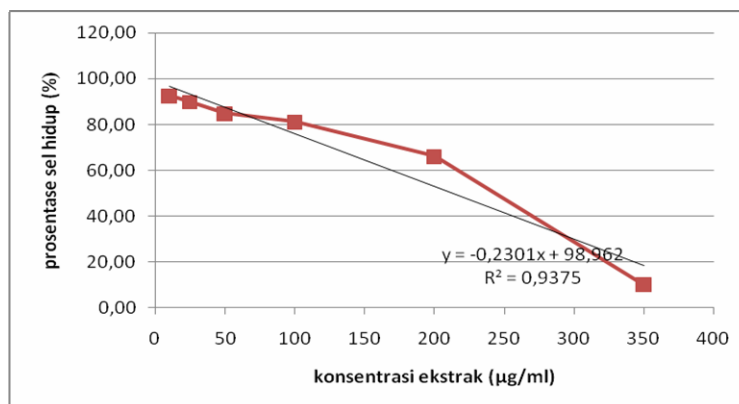
sitotoksitas pada beberapa *cell line* termasuk sel kanker payudara MCF-7 dilaporkan tidak dipengaruhi oleh DMSO sampai konsentrasi 2% v/v (Ishida *et al.*, 2002). Penggunaan DMSO sampai 0,1% v/v dilaporkan tidak berkorelasi terhadap kematian sel T47D (Susanto, 2004).

Uji sitotoksik dilakukan terhadap ekstrak etil asetat *Eugenia uniflora* L. dan agen kemoterapi Doxorubicin (Dox). Uji sitotoksitas digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Penentuan nilai IC_{50} dilakukan dengan menggunakan analisis regresi linier yang didasarkan fungsi linier konsentrasi *versus* nilai prosentase sel hidup akibat perlakuan dengan sampel (Gambar 3 dan 4, dan Tabel 1 dan 2).

Profil kematian sel T47D akibat perlakuan ekstrak etil asetat dewandaru dan doxorubicin secara tunggal memperlihatkan kematian sel yang tergantung dosis (dose dependent), kenaikan dosis berakibat pada penurunan jumlah sel hidup.

Tabel 1. Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Etil asetat *E. uniflora* Terhadap Sel T47D Dengan Metode MTT

Konsentrasi ekstrak Etil asetat ($\mu\text{g/ml}$)	% Sel hidup
10	92,60
25	89,90
50	84,72
100	81,19
200	66,05
350	10,16

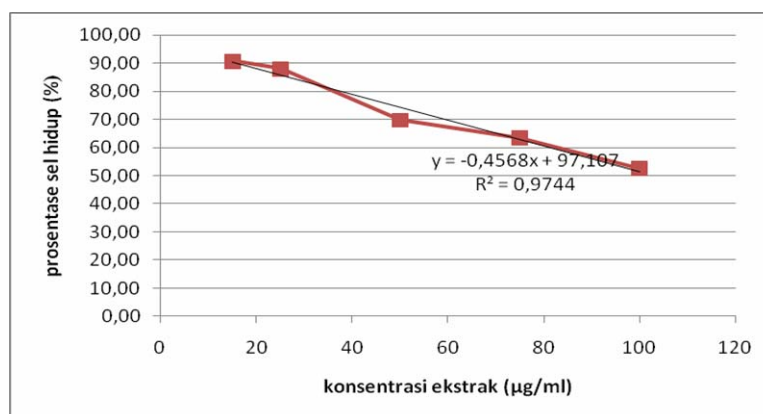


Gambar 3. Grafik prosentase sel T47D hidup pada perlakuan dengan Ekstrak Etil asetat *E. uniflora* (10-350 µg/ml). IC₅₀ ekstrak etil asetat dewandaru adalah 212,79 µg/ml.

Nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat *E. uniflora* adalah 212,79 µg/ml (Tabel 3) yang berarti ekstrak tersebut memiliki efek sitotoksik yang kurang poten terhadap sel T47D, karena nilai IC₅₀ lebih besar dari 100 µg/ml. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Utami, 2007 yang menunjukkan aktivitas sitotoksik ekstrak kloroform dan etil asetat daun Dewandaru terhadap sel Hela memberikan IC₅₀ berturut-turut adalah 244,92 dan 241,55 µg/ml. Aktivitas yang rendah ini kemungkinan mengakibatkan ekstrak menjadi kurang poten jika digunakan sebagai antikanker secara tunggal. Alternatif penggunaan ekstrak tersebut sebagai antikanker adalah melalui kombinasi dengan agen kemoterapi seperti Doxorubicin.

Tabel 2. Hasil Uji Sitotoksik Doxorubicin Terhadap Sel T47D Dengan Metode MTT

Konsentrasi Doxorubicin (nM)	% Sel hidup
15	90,73
25	87,93
50	69,78
75	63,46
100	52,57



Gambar 4. Grafik prosentase sel T47D hidup pada perlakuan dengan Doxorubicin (15-100 µg/ml). IC₅₀ ekstrak etil asetat dewandaru adalah 103,12 nM.

Sel T47D merupakan sel yang sensitif terhadap Doxorubicin tetapi penggunaan Doxorubicin dalam klinik sangat dibatasi karena efek sampingnya (Tyagi *et al.*, 2004). Nilai IC₅₀ doxorubicin secara tunggal pada sel T47D yang diperoleh pada penelitian ini adalah 103,12 nM (Tabel 3). Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan nilai IC₅₀ doxorubicin sebesar 50 nM, di bawah 100 nM (Jenie dan Meiyanto, 2007).

Tabel 3. Nilai IC₅₀ Ekstrak Etil asetat *E. uniflora*

Sampel	IC₅₀
Ekstrak etil asetat <i>E. uniflora</i>	212,79 µg/ml
Doxorubicin	103,12 nM

Efek kombinasi dox dan ekstrak etil asetat daun dewandaru pada sel T47D ditetapkan pada uji kombinasi terhadap sel T47D untuk mengetahui apakah ada efek sinergis atau antagonis antara keduanya. Adanya efek sinergis antara masing-masing komponen dapat menaikkan efikasi sekaligus menurunkan efek samping yang tergantung dosis (Adams, *et al.*, 2006). Apabila ekstrak etil asetat *E. uniflora* L memiliki efek sinergis dengan Doxorubicin maka dosis Doxorubicin dapat diturunkan sehingga efek sampingnya dapat dikurangi. Efek kombinasi ekstrak etil asetat *E. uniflora* L dengan Doxorubicin belum dapat ditetapkan karena kegagalan uji akibat kontaminasi sel dan kegagalan penentuan prosentase sel hidup dengan metode MTT.