

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK DAN ANTIPROLIFERASI
ISOLAT HERBA TESPONG (*Oenanthe javanica* Blume DC)
TERHADAP SEL MCF 7**

***CYTOXIC ACTIVITY TEST AND ANTIPROLIFERATION OF
TESPONG HERBAL ISOLATE (*Oenanthe javanica* Blume DC)
AGAINST MCF 7 CELLS***

Putri Agustina^{1*}, Peni Indrayudha¹, Haryoto¹

¹*Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A. Yani Pabelan 1 KTS Sukoharjo Surakarta*

**Email Corresponding: V100190023@student.ums.ac.id*

Submitted: 13 September 2022 Revised: 10 October 2022 Accepted: 15 October 2022

ABSTRAK

Herba Tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC), merupakan salah satu tanaman tradisional yang telah lama digunakan sebagai obat untuk meringankan berbagai penyakit. Berbagai aktivitas biologis telah diujikan salah satunya adalah antikanker. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa *Oenanthe javanica* mengandung alkaloid, flavonoid dan saponin, dan fenol. Pada penelitian lain, ekstrak etanol herba tespong dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 91,20 ppm. Dalam penelusuran literatur, belum ditemukan penelitian mengenai uji sitotoksik dan antiproliferasi isolat herba tespong serta identifikasi dari isolate aktifnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dan antiproliferasi dari isolat herba tespong terhadap sel kanker payudara MCF7 dan mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam isolat herba tespong. Metode isolasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kromatografi radial atau kromatotron. Metode MTT digunakan untuk uji aktivitas sitotoksik dengan menggunakan konsentrasi 50; 40; 30; 20 dan 10 µg /mL dan kontrol positif doksorubicin dengan konsentrasi 25; 12,5; 6,25; 3,125 dan 1,625 µg /mL. Metode *doubling time* dilakukan untuk mengetahui aktivitas antiproliferasi dari isolat herba tespong dengan konsentarsi yaitu nilai IC₅₀ dari uji sitotoksik. FTIR digunakan untuk identifikasi isolat aktif herba tespong. Dari hasil penelitian didapat nilai IC₅₀ isolat aktif herba tespong sebesar 38,079 µg/mL dan dikategorikan sebagai moderat aktif. Hasil *doubling time* menunjukkan isolat aktif herba tespong mampu memperlambat waktu proliferasi sel MCF7 selama 135,885 jam.

Kata kunci : antiproliferasi, sitotoksik, *Oenanthe javanica*, MCF 7

ABSTRACT

*Herba Tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC), is one of the traditional plants that has long been used as medicine to relieve various diseases. Various biological activities have been tested, one of which is anticancer. In previous studies it was known that *Oenanthe javanica* contained alkaloids, flavonoids and saponins, and phenols. In another study, the ethanol extract of tespong herb was reported to have cytotoxic activity with an LC₅₀ value of 91,20 ppm. In the literature search, no research has been found on the cytotoxic and antiproliferative tests of tespong herb isolates and the identification of the active isolates. Therefore, this study aimed to determine the cytotoxic and antiproliferative activity of tespong herbal isolates against MCF7 breast cancer cells and identify the active compounds*

contained in *tespong herb isolates*. The isolation method used in this study was radial or chromatography chromatography. The MTT method was used to test the cytotoxic activity using a concentration of 50; 40; 30; 20 and 10 $\mu\text{g/mL}$ and positive control doxorubicin with a concentration of 25; 12.5; 6.25; 3.125 and 1.625 $\mu\text{g/mL}$. The time doubling method was used to determine the antiproliferative activity of *tespong herb isolates* with a concentration of IC_{50} value of cytotoxicity. From the results of the study, the IC_{50} value of the active isolate of *tespong herb* was 38,079 $\mu\text{g/mL}$ and was categorized as moderately active. The results of doubling the time showed that the active isolate of *tespong herb* was able to slow down the proliferation time of MCF7 cells for 135,885 hours.

Keywords: antiproliferative, cytotoxic, *tespong herb*, MCF 7

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit tidak menular, ditandai dengan pertumbuhan sel tidak normal atau terus-menerus dan tidak terkendali yang dapat merusak jaringan sekitarnya serta dapat menjalar ke tempat yang jauh dari tempat asalnya yang disebut metastasis (Mustika Wati *et al.*, 2016). Kanker juga merupakan penyebab kematian paling besar di dunia pada negara-negara berkembang (Torre *et al.*, 2016). Pada tahun 2022, diperkirakan 290.560 ribu kasus baru dilaporkan dan sebanyak 43.250 jiwa meninggal akibat kanker payudara (Siegel *et al.*, 2022).

Pengobatan menggunakan bahan kimia yang berfungsi sebagai kemoterapi untuk kanker payudara saat ini banyak diterapkan. Permasalahan utama dari pengobatan kanker payudara yaitu timbulnya resistensi dan rendahnya efektivitas obat. Beberapa agen kemoterapi seperti doksorubisin telah mengalami resistensi pada sejumlah kasus kanker payudara (Desbats *et al.*, 2020). Selain itu, kemoterapi juga menimbulkan beberapa efek samping seperti mual, muntah, rambut rontok dan bahkan dapat menyebabkan kematian pada beberapa kasus (Aslam *et al.*, 2014). Dengan banyaknya efek samping yang ditimbulkan, mendorong banyak peneliti mencari alternatif pengobatan kanker payudara salah satu caranya menggunakan terapi agen antikanker alami dari tumbuhan.

Herba *Tespong* (*Oenanthe javanica* (Blume) DC), merupakan tanaman herba yang telah dibudidayakan di daerah tropis dan daerah beriklim di Asia selama ribuan tahun dan telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk meringankan berbagai penyakit. Dari hasil skrining fitokimia diketahui bahwa *Oenanthe javanica* mengandung kumarin, flavonoid dan glikosida flavonoid, dan polifenol (Seo *et al.*, 2016)). Lebih dari sepuluh flavonol telah diisolasi dan diidentifikasi dari *O. javanica* sejauh ini (Seo *et al.*, 2016).

Pada penelitian sebelumnya, kandungan asam fenolat pada herba *tespong* yang diujikan pada sel kanker hati, menunjukkan bahwa asam fenolat memiliki efek penghambatan terhadap proliferasi sel kanker hati HepG2.2.15, yang dapat mengurangi pertumbuhan sel kanker pada fase S (Lu and Li, 2019). Selain itu, isorhamnetin (isolat dari flavonoid) yang diisolasi dari ekstrak herba *tespong* memiliki efek antimetastatik pada kanker kolorektal HCT116 and HT29 dengan mekanisme penghambatan HIF-1 α dan berkontribusi terhadap penghambatan migrasi dan invasi sel kanker in vitro. Dalam penelitian yang lain, telah diujikan terhadap Larva Udang (*Artemia franciscana* Kellogg.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) memiliki aktivitas sitotoksik karena dapat menyebabkan kematian terhadap larva udang dengan nilai LC_{50} sebesar 91,20 ppm (Gustini, Fitriyaningsih and Hazar, 2013).

Uji sitotoksik didasarkan pada parameter nilai IC_{50} yang dihasilkan. Prinsip pengujian MTT adalah *enzim reductase* akan mereduksi garam kuning tetrazolium sehingga menjadi senyawa suksinat tetrazolium yang masuk ke dalam mitokondria sel membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut. Selanjutnya, ditambahkan *reagen stopper* yang bersifat detergenik untuk melarutkan kristal berwarna ungu dan selanjutnya akan dibaca hasilnya dengan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) pada Panjang gelombang 595 nm.

Sifat antiproliferasi dapat ditunjukkan melalui nilai doubling time, yaitu nilai doubling time yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol sel. *Cell cycle progression* adalah parameter utama dalam mengukur sifat proliferasi suatu sel kanker. Hambatan proliferasi sel dilihat dari nilai *slope* pada kurva waktu inkubasi banding viabilitas sel atau dihitung dengan cara ekstrapolasi. Slope yang lebih kecil menunjukkan perpanjangan doubling time (Utami, 2011).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Rotary evaporator* RE100 S DLAB, *water bath* memmert WNB14RACK, Kromatografi Cair Vakum, kromatotron, *conical tube*, *96 well plate* Biologix, *24 well plate* Biologix, *ELISA reader* Epoch, inkubator CO₂ Binder, mikroskop fluoresen, FTIR. Sedangkan bahan yang digunakan adalah sebagai berikut simplisia herba tespong (*Oenanthe javanica* Blume DC), etanol 96%, etil asetat MERCK, n-heksana MERCK, methanol MERCK, 3-(4,5-dimetilhiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide (MTT) SIGMA, *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) 10% dalam 0,01 N HCl, DMSO MERCK.

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi

Serbuk simplisia herba tespong dilakukan proses ekstraksi menggunakan etanol 96% dengan rasio 1:10 selama tiga hari dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (Rostinawati, 2010).

2. Fraksinasi

Sebanyak 20 gram ekstrak kental ditimbang dan digerus bersama dengan silika gel 60 (0,063 – 0,2 mm) sebanyak 40 gram yang telah diaktivasi sebelumnya. Digerus hingga homogen. Kemudian silika gel GF254 sebanyak 175 gram yang juga telah diaktivasi sebelumnya dimasukkan ke dalam kolom kromatografi dan dipadatkan dengan alat vakum. Setelah silika padat, diberi kertas saring dibagian atas silika lalu dimasukkan campuran ekstrak dan silika gel G60 254. Diberi kertas saring dibagian atas campuran ekstrak dan silika. Lalu dielusi dimulai dari eluen non polar terlebih dahulu. Filtrat yang didapat ditampung dan diberi nomor sesuai tingkat kepolarannya.

3. Isolasi

Silika gel ditimbang sebanyak 55 g, kemudian dicampurkan dengan aquadest dingin sebanyak 120 mL digojok hingga membentuk bubuk. Bubur dimasukkan dengan cepat ke atas plat. Plat dikeringkan selama 3-7 hari di suhu ruang, lalu di oven selama 1 jam pada suhu 50°C sebelum digunakan. Plat yang sudah kering dikikis menggunakan besi pengikis khusus hingga didapatkan ketebalan 2 mm. Plat dieulusi menggunakan eluen n-heksana terlebih dahulu, kemudian dilanjutkan dengan eluen etil asetat : n-heksana dengan perbandingan 9 : 1 sebanyak 100 mL. Hasil kromatotron ditampung menggunakan vial yang telah diberi nomor dan dilakukan pemantauan dengan KLT (Andini & Teruna, 2014).

4. Uji Sitotoksik

Ekstrak Etanol Herba Tespong, fraksi serta isolat masing-masing dibuat dengan seri konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 µg/mL dilarutkan dalam DMSO. Untuk kontrol positif digunakan doksorubisin, konsentrasi yang digunakan yaitu 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,125 dan 1,625 µg/ml. Tiga jenis kontrol digunakan yaitu : kontrol sel, kontrol media dan kontrol pelarut. Disiapkan reagen MTT untuk perlakuan (0,5 mg/ml) dengan cara ambil 1 mL stok MTT dalam PBS (5mg/mL), encerkan dengan MK ad 10 mL (untuk 1 buah 96 well plate). Dibuang media sel, cuci PBS 1x, dan tambahkan reagen MTT 100 µL ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel). Inkubasi sel selama 2-4 jam di dalam inkubator CO₂. Inkubasi dilakukan sampai terbentuk formazan. Diperiksa kondisi sel

dengan mikroskop inverted. Jika formazan telah jelas terbentuk, ditambahkan *stopper* 100 μ L SDS 10% dalam 0,1 N HCl.

Plate dibungkus dengan kertas atau aluminium foil dan diinkubasikan di tempat gelap pada temperatur kamar selama semalam. Dihidupkan ELISA *reader*, ditunggu proses progressing hingga selesai. Dibuka pembungkus plate dan tutup plate. Dimasukkan ke dalam ELISA *reader* dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan ELISA *reader* dengan λ 595 nm.

5. Uji Antiproliferasi

Konsentrasi Fraksi dan isolat yang diujikan adalah nilai IC_{50} dan doksorubisin dengan konsentrasi 25; 12,5; 6,25; 3,125 dan 1,625 μ g/mL. Setelah diberikan perlakuan maka sel di inkubasi dalam inkubator CO_2 5% dengan suhu $37^\circ C$ dengan pengamatan pada 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan alat ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Dari hasil yang didapat maka dibuat grafik antara log jumlah sel hidup dan lama waktu inkubasi kemudian ditentukan perbedaan waktu untuk mencapai jumlah 2 kali sel awal (mengetahui *doubling time*). Dari persamaan yang diperoleh maka dapat ditentukan nilai *doubling time* (Ismaryani *et al.*, 2018).

Analisis Data

Uji sitotoksik dihitung dari hasil pembacaan absorbansi dengan ELISA *reader* dikonversikan ke dalam bentuk % sel hidup dengan cara sebagai berikut:

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{\text{Absorbansi Sel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang merupakan hubungan antara % sel hidup vs kadar ekstrak/fraksi herba tespong. Setelah diperoleh % sel hidup kemudian dilakukan perhitungan IC_{50} dengan menggunakan probit pada SPSS 18.0 (CCRC, 2009). Kemudian dilakukan uji t tidak berpasangan dengan menggunakan program SPSS untuk mengetahui perbedaan signifikan diantara sampel uji. Data dinyatakan signifikan apabila nilai $\alpha < 0,05$ (Ping *et al.*, 2013).

Untuk uji antiproliferasi, absorbansi yang didapat dari alat ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm, dibuat grafik antara log jumlah sel hidup dan lama waktu inkubasi kemudian ditentukan perbedaan waktu untuk mencapai jumlah 2 kali sel awal (mengetahui *doubling time*). Dari persamaan yang diperoleh maka dapat ditentukan nilai *doubling time* (Ismaryani *et al.*, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena prosesnya mudah, sederhana dan tidak melalui proses pemanasan guna mencegah kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Pelarut yang dipakai adalah etanol 95%, dipilih karena sifatnya yang polar sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia herba tespong. Total ekstrak kental yang didapat adalah 83,5 gram dengan nilai rendemen ekstrak yang didapat adalah 11,92%. Besar atau kecilnya nilai rendemen ini dipengaruhi oleh jumlah kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak yang diteliti (Haryoto and Frista, 2019). Setelah diperoleh ekstrak kental, kemudian dilakukan proses fraksinasi dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV).

2. Fraksinasi

Prinsip dari KCV yaitu partisi dan adsorpsi yang pemisahannya menggunakan bantuan tekanan dari pompa vakum. Fase diam pada fraksinasi KCV menggunakan Silika G60 GF254 dan fase gerak menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran meningkat. Penggunaan pelarut dengan kepolaran meningkat bertujuan agar setiap pelarut dapat

melarutkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Maro and Hairil Alimuddin, 2015). Bercak yang memiliki nilai Rf yang mirip pada pemantauan KLT digabungkan sehingga didapat 3 fraksi utama, yaitu fraksi non polar (No. 3 dan 4), fraksi semi polar (No. 5, 6 dan 7) serta fraksi polar (No. 8, 9 dan 10). Pada fraksi nomor 1 dan 2 tidak menunjukkan adanya bercak. Hal ini dapat disebabkan karena penggunaan pelarut dengan tingkat kepolaran yang rendah sehingga belum adanya senyawa yang tertarik pada fraksi nomor 1 dan 2 (Haryoto and Frista, 2019).

3. Isolasi Senyawa Aktif

Isolasi senyawa aktif dilakukan dengan metode Kromatografi Radial atau Kromatotron. Adapun, prinsip dari pemisahan kromatotron ini adalah pemisahan senyawa berdasarkan polaritasnya, dibantu dengan gaya sentrifugal yang akan mempercepat proses penyerapan pelarut yang membawa komponen yang dipisahkan (Atun, 2014). Eluen yang dipilih berdasarkan hasil dari KLT sebelumnya, dimana Etil Asetat : N-Heksana (9:1) dipilih. Setelah dialirkan dengan eluen, selama proses isolasi pita kromatotron yang terbentuk diamati dengan bantuan sinar UV (Atun, 2014). Setelah itu ditampung berdasarkan masing-masing pita yang terbentuk. Dari hasil kromatotron, didapat 9 tampungan yang selanjutnya dipantau dengan KLT. Isolat dengan nilai Rf yang mirip digabungkan dan didapat hasil akhir yaitu Isolat I. Selanjutnya, isolat yang diperoleh di uji aktivitas sitotoksik untuk mendapat nilai IC₅₀.

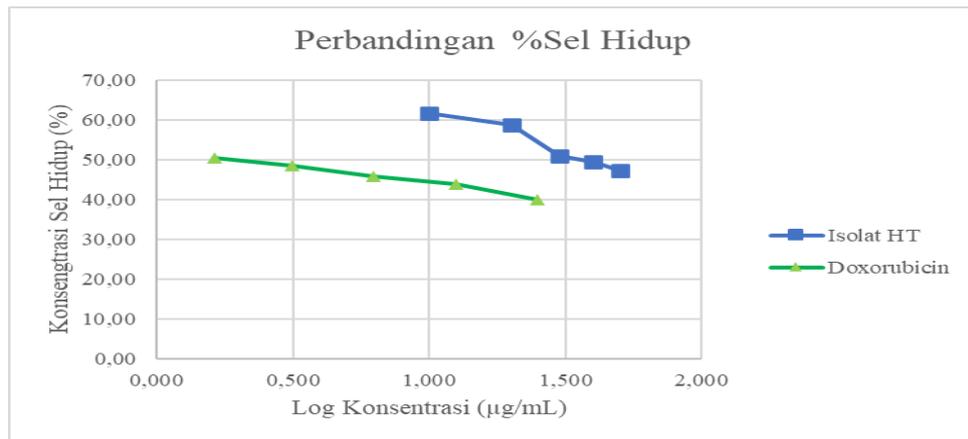
4. Uji Sitotoksik

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode MTT. Prinsip dari metode MTT adalah mengukur aktivitas dehydrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang mempunyai kemampuan untuk mengubah MTT menjadi garam formazan (Kristianto, Haryoto and Indrayudha, 2021). Sampel uji yang digunakan adalah isolat dengan seri konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 µg/mL dan doxorubicin sebagai kontrol positif dengan konsentrasi uji 25; 12,5; 6,25; 3,125 dan 1,625 µg/mL. Uji aktivitas sitotoksik dilakukan secara in vitro menggunakan sel kanker payudara MCF7. Dari hasil ELISA reader, didapat nilai absorbansi masing-masing sumuran yang selanjutnya dikonversikan menjadi nilai persen sel hidup. Adapun persen sel hidup dapat dilihat pada Tabel I untuk isolat herba tespong dan doxorubicin.

Tabel I. Persen Sel Hidup Isolat Herba Tespong Dan Doxorubicin Pada Masing-Masing Konsentrasi

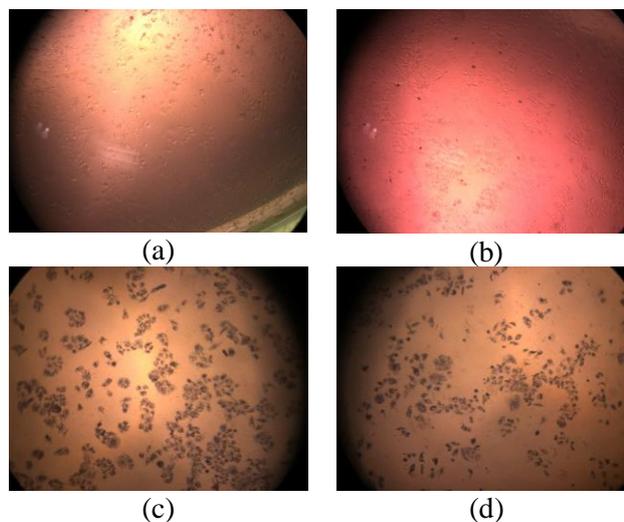
Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi			%Sel Hidup ± SD
		R1	R2	R3	
Isolat Herba Tespong	10	0,341	0,345	0,336	61,822 ± 1,311
	20	0,333	0,332	0,327	58,915 ± 0,934
	30	0,309	0,301	0,301	51,066 ± 1,343
	40	0,296	0,297	0,301	49,419 ± 0,769
	50	0,289	0,291	0,292	47,287 ± 0,444
Kontrol Positif	25	0,301	0,305	0,299	50,484 ± 0,888
	12,5	0,299	0,296	0,291	48,643 ± 1,175
	6,25	0,287	0,287	0,284	45,930 ± 0,504
	3,125	0,281	0,279	0,277	43,895 ± 0,581
	1,625	0,263	0,264	0,269	39,922 ± 0,934

Grafik perbandingan konsentrasi sel hidup isolat herba tespong dan doxorubicin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Perbandingan Sel Hidup Vs Konsentrasi Pada Isolat Herba Tespong Dan Doxorubicin

Hasil viabilitas sel dapat dilihat pada Gambar 2 Kemudian dari nilai viabilitas sel, dapat dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi linear. Didapat hasil IC_{50} untuk isolat aktif adalah 38,273 µg/mL dan nilai IC_{50} 2,060 µg/mL untuk Doxorubisin. Menurut *National Cancer Institute* (NCI), aktivitas antikanker dibagi menjadi 3 kategori yaitu kategori aktif dengan nilai $IC_{50} < 20$ µg/mL, kategori moderat aktif dengan nilai IC_{50} 20-100 µg/mL, dan kategori tidak aktif dengan nilai $IC_{50} > 100$ µg/mL. Berdasarkan kategori diatas, maka isolat herba tespong yang diujikan termasuk ke dalam kategori moderat aktif.



Gambar 2. Morfologi Sel MCF7 Setelah Perlakuan, (a) Isolat Herba Tespong 50µg/mL dan (b) Isolat 2 Doxorubicin 25µg/mL, dan Setelah Penambahan MTT (c) Isolat Herba Tespong 50µg/mL dan (d) Isolat 2 Doxorubicin 25µg/mL

Setelah didapat nilai IC_{50} kemudian dilakukan analisis data dengan menggunakan uji t tidak berpasangan, sebelumnya dilakukan uji normalitas terlebih dahulu. Dari hasil uji normalitas menggunakan Shapiro wilk, didapat $p = 0,119$ untuk isolat herba tespong. Berdasarkan hasil nilai signifikasi yang diperoleh, maka data dikatakan normal ($p > 0,05$).

Kelompok isolat dan doxorubicin kemudian diujikan Kembali dengan Uji T tidak berpasangan untuk melihat signifikasi diantara kedua sampel uji. Hasil didapat yaitu nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara nilai IC_{50} dari isolat dengan doxorubicin ($p < 0,05$).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, yang telah dilakukan oleh Gustini et al., 2013 uji sitotoksik ekstrak etanol herba tespong dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap Larva Udang (*Artenia franciscana* Kellog.) didapat nilai IC_{50} sebesar 91,20 ppm dan dikategorikan sebagai moderat aktif. *Oenanthe javanica* termasuk ke dalam famili apiaceae. Dalam penelitian sebelumnya, *Seseli petraeum* M. Bieb, yang diujikan kepada sel MCF7 menunjukkan hasil IC_{50} sebesar 390, 38 $\mu\text{g/mL}$ (Onder et al., 2021). *Anethum graveolens* diujikan pada sel kanker MCF7 dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 104 $\mu\text{g/mL}$. Metode yang digunakan adalah uji MTT. Pada sel kanker HeLa sebesar 122 $\mu\text{g/mL}$ dan pada sel A-549 sebesar 156 $\mu\text{g/mL}$ (Al-Oqail and Farshori, 2021). *Anethum graveolens*, yang masih termasuk dalam famili apiaceae juga diujikan sitotoksik dan antiproliferasi pada sel kanker MCF7 dan didapat nilai IC_{50} sebesar 67 $\mu\text{g/mL}$ (Al-Oqail and Farshori, 2021). Diketahui senyawa yang terkandung dalam *A. graveolens* adalah minyak esensial dengan penyusun utamanya adalah carvone (51%) (Sharopov et al., 2013)

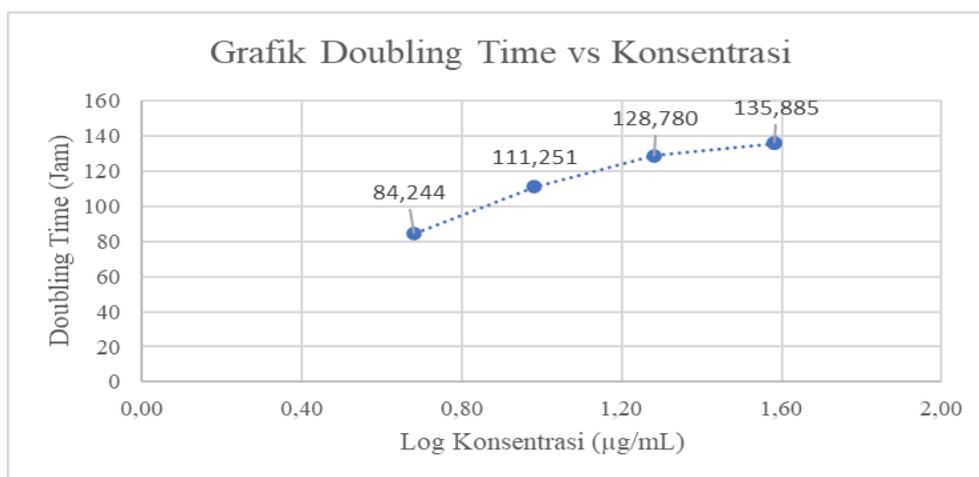
5. Uji Antiproliferasi

Dari nilai IC_{50} yang didapat, dilanjutkan ke uji antiproliferasi dengan metode *doubling time*. Doubling time adalah waktu yang diperlukan untuk sel berkembang menjadi dua kali jumlah awalnya (Rahmawati and Maryati, 2021).

Tabel II. Nilai Doubling Time Isolat Herba Tespong

Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Doubling Time (Jam)
Isolat Herba Tespong	IC_{50}	135,885
	$\frac{1}{2} IC_{50}$	128,780
	$\frac{1}{4} IC_{50}$	111,251
	$\frac{1}{8} IC_{50}$	84,244

Isolat herba tespong dikatakan memiliki aktivitas antiproliferasi karena memiliki nilai doubling time yang lebih lama sehingga memperlambat dapat proliferasi sel. Isolat herba tespong juga menunjukkan peningkatan nilai doubling time seiring dengan besarnya konsentrasi (Utami, 2011). Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka semakin besar juga efek penghambatan aktivitas sel MCF7 (Hasibuan and Sumaiyah, 2019). Grafik hubungan antara konsentrasi dengan doubling time dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Konsentrasi dan Doubling Time

Waktu yang diperlukan untuk Sel MCF7 menggandakan dirinya sendiri adalah 24 jam (Ismaryani *et al.*, 2018). Dengan adanya penambahan isolat terbukti dapat menghambat waktu proliferasi sel lebih lama dibandingkan dengan penambahan fraksi.

Dari data doubling time yang telah diperoleh dilakukan uji analisis statistik menggunakan ANOVA satu arah, didapat hasil $p = 0,001$ dimana menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan sel. Untuk mencari kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan, dilakukan uji Post Hoc dengan Uji Tukey. Hasil didapat untuk viabilitas sel pada konsentrasi IC_{50} , $\frac{1}{2} IC_{50}$, $\frac{1}{4} IC_{50}$ tidak ditemukan perbedaan bermakna dan untuk nilai $\frac{1}{4} IC_{50}$ dan $\frac{1}{8} IC_{50}$ juga tidak ditemukan perbedaan bermakna. Perbedaan signifikan diperoleh dari waktu inkubasi sel.

KESIMPULAN

Potensi sitotoksik terhadap sel MCF7 dilihat melalui aktivitas sitotoksik dan antiproliferasi memperlihatkan hasil yang cukup menjanjikan dimana hasil IC_{50} isolat aktif herba tespong yang diperoleh adalah 38, 079 $\mu\text{g/mL}$. Menurut National Cancer Institute (NCI), isolat herba tespong yang diujikan termasuk ke dalam kategori moderat aktif. Sedangkan dari nilai doubling time menunjukkan peningkatan seiring bertambahnya konsentrasi. Isolat herba tespong memiliki waktu penghambatan sel MCF7 sebesar 135,885 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Oqail, M. M. and Farshori, N. N. (2021) 'Antioxidant and Anticancer Efficacies of Anethum graveolens against Human Breast Carcinoma Cells through Oxidative Stress and Caspase Dependency', *BioMed Research International*, 2021, p. 12. doi: 10.1155/2021/5535570.
- Andini, N. R. and Teruna, H. Y. (2014) 'Isolasi dan Karakterisasi Metabolit Sekunder dari Ekstrak Diklorometana Tanaman Miana Merah (Coleus hybridus)', *Universitas Riau*, pp. 1–9.
- Aslam, M. S. *et al.* (2014) 'Side Effects of Chemotherapy in Cancer Patients and Evaluation of Patients Opinion about Starvation Based Differential Chemotherapy', *Journal of Cancer Therapy*, 05(08), pp. 817–822. doi: 10.4236/jct.2014.58089.
- Atun, S. (2014) 'Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam putri kartika', *Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta*, 8 No. 2, pp. 53–61.
- Desbats, M. A. *et al.* (2020) 'Metabolic Plasticity in Chemotherapy Resistance', *Frontiers in Oncology*, 10(March). doi: 10.3389/fonc.2020.00281.
- Gustini, D., Fitrianiingsih, S. P. and Hazar, S. (2013) 'Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Herba Tespong (Oenanthe javanica (Blume) DC .) terhadap Larva Udang (Artemia franciscana Kellogg .) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)', *Prosiding Farmasi*. doi: <http://dx.doi.org/10.29313/v6i2.24007>.
- Haryoto, H. and Frista, A. (2019) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar dan Non Polar dari Daun Mangrove Kacangan (Rhizophora apiculata) dengan Metode DPPH dan FRAP', *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(2), pp. 131–138.
- Hasibuan, P. A. Z. and Sumaiyah, S. (2019) 'The anti-proliferative and pro-apoptotic properties of Ethanol Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng. Leaves ethanolic extract nanoparticles on T47D cell lines', *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 20(3), pp. 897–901. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.3.897.
- Ismaryani, A. *et al.* (2018) 'Aktivitas Sitotoksik, Antiproliferasi dan Penginduksi Apoptosis Daun Salung (Psychotria viridiflora Reinw. ex. Blume) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa', *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), pp. 206–213.
- Kristianto, J., Haryoto, H. and Indrayudha, P. (2021) 'Identifikasi Isolat Ekstrak Etanol Kulit Batang Rhizophora apiculata Blume dan Rhizophora mucronata Lam Serta Sitotoksitasnya Terhadap Sel MCF-7 dan T47D Identification of Ethanol Extract Isolate of Rhizophora apiculata Blume and Rhizophora mucronata La', 18(1), pp. 9–22.

- Lu, C. L. and Li, X. F. (2019) 'A Review of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. as Traditional Medicinal Plant and Its Therapeutic Potential', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, pp. 17–26. doi: 10.1155/2019/6495819.
- Maro, J. and Hairil Alimuddin, A. (2015) 'AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HASIL KROMATOGRAFI VAKUM CAIR FRAKSI METANOL KULIT BATANG CERIA (*Baccaurea hookeri*)', *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 4(4), pp. 35–40.
- Mustika Wati, E. *et al.* (2016) 'nitrobenzoioksimetil)-5-Fluorourasil..... Uji Sitotoksitas dan Proliferasi Senyawa 1-(4-nitrobenzoioksi-metil)-5-fluorourasil terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 (Cytotoxicity and Proliferation Studies of 1-(4-nitrobenzoyloxy-methyl)-5-fluorouracil) ', 4(3), pp. 1–5.
- Onder, A. *et al.* (2021) 'Chemical composition and cytotoxic potency of essential oil from *Seseli petraeum* M. Bieb. (Apiaceae)', *Journal of Research in Pharmacy*, 25(3), pp. 249–257. doi: 10.29228/jrp.15.
- Ping KY, Darah I, Chen Y, Sasidharan S. (2013) 'Cytotoxicity and genotoxicity assessment of *Euphorbia hirta* in MCF-7 cell line model using comet assay' *Asian Pacific Journal Cancer Prev* ;3(9):692–6. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60140-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60140-9)
- Rahmawati, J. and Maryati, M. (2021) 'Aktivitas Sitotoksik dan Antiproliferasi Fraksi n-Heksan Biji Al-pukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap sel T47D', *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), pp. 38–46. doi: 10.23917/pharmacon.v18i01.14271.
- Rostinawati T. (2010) 'Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe javavica* DC) Terhadap *Eschericia Coli*, *Staphylococcus Aureus* dan *Candida albicans*. Universitas Padjajaran.
- Seo, S. *et al.* (2016) 'Isorhamnetin inhibits reactive oxygen species-dependent hypoxia inducible factor (HIF)-1 α accumulation', *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 39(11), pp. 1830–1838. doi: 10.1248/bpb.b16-00414.
- Sharopov, F. S. *et al.* (2013) 'Composition and bioactivity of the essential oil of *Anethum graveolens* L. from Tajikistan', *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3(2), pp. 125–130.
- Siegel, R. L. *et al.* (2022), 'Cancer statistics, 2022', *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(1), pp. 7–33. doi: 10.3322/caac.21708.
- Torre, L. A. *et al.* (2016), 'Global cancer incidence and mortality rates and trends - An update', *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 25(1), pp. 16–27. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0578.
- Utami, D. (2011) 'Aktivitas Antiproliferasi Isolat 4 Ekstrak Petroleum Eter Daun *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. pada Sel Kanker serviks Manusia (Hela)', *Molecules*, 6(2), pp. 57–65.

