

Uji Sitotoksisitas Ekstrak Ethanol 70 % Herba Ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) Terhadap Sel WiDr Secara *In Vitro*

Ira Djajanegara

P3T Bioindustri

Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong

Abstrak

Herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn) merupakan salah satu bahan alam yang digunakan masyarakat untuk pengobatan tradisional sebagai antikanker. Pada penelitian sebelumnya hasil pengujian ekstrak ethanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap *Artemia salina* Leach (larva udang) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) diketahui memiliki sifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 39,63 $\mu\text{g/ml}$. Untuk itu dilakukan penelitian yang bertujuan mengetahui efek sitotoksisitas ekstrak ethanol 70% herba ceplukan dengan menentukan kadar yang menyebabkan 50% sel mati (LC_{50}) terhadap sel kanker usus WiDr secara *in vitro*. Herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn) diekstraksi dengan cara maserasi dengan penyari ethanol 70%. Sel kanker usus WiDr dipelajari dengan ekstrak ethanol 70% herba ceplukan dengan seri kadar yaitu 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.125 dan 7.81 $\mu\text{g/ml}$ selama 24 jam. Sebagai kontrol positif digunakan doxorubisin dengan seri kadar sebagai berikut: 2; 1; 0.5; 0.25; 0.12; 0.06; 0.03 dan 0.01 $\mu\text{g/ml}$. Uji sitotoksisitas dilakukan dengan menginkubasi sel kanker usus WiDr dengan kepadatan akhir sel $2 \cdot 10^4$ sel / ml persumuran plat kultur. Uji sitotoksisitas ini menggunakan metode perhitungan langsung dengan bantuan alat haemocytometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak ethanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) mempunyai sitotoksisitas sebesar 86,84 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel kanker usus WiDr yang di atas nilai indikator positif sebagai bahan bersifat sitotoksik yaitu sebesar $\geq 30 \mu\text{g/ml}$. Nilai tersebut juga sangat lebih tinggi bila dibandingkan dengan nilai LC_{50} doxorubisin sebagai pembanding sebesar 0,113 $\mu\text{g/ml}$.

Kata kunci: buah, herba ceplukan (*Physalis angulata*), sitotoksisitas, sel WiDr (kanker usus)

Abstract

Cutleaf groundcherry (*Physalis angulata*) is a broadleaf weed commonly found in several plantations in Indonesia. This plant is a popular folk medicine used to treat cancer, leukemia, hepatitis and other diseases. Previous toxicity experiment using brine shrimp lethality test (BSLT) method indicated that the 70% ethanol fraction of cutleaf groundcherry fruits was toxic to the shrimp larvae with LC_{50} value at 39,63 $\mu\text{g/ml}$. This experiment was done to investigate further the possible role of s as an anti cancer agent using WiDr colon cancer cell lines. Experiment was initiated by extracting the fruits using n-hexane by maceration. The macerate was then macerated further using 70% ethanol as solvent. The ethanol fraction was used in cytotoxicity assay using WiDr (colon cancer) cell lines. Cytotoxicity assay was done using direct counting method. Colon cancer WiDr cell lines was treated with 70% ethanol fraction of cutleaf groundcherry (*Physalis angulata*) using serial dilution of 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.125 and 7.81 $\mu\text{g/ml}$ for 24 hours of incubation. As a control positive doxorubicin was also tested on the colon cancer WiDr cell lines using serial dilution of 2; 1; 0.5; 0.25; 0.12; 0.06; 0.03 and 0.01 $\mu\text{g/ml}$ for 24 hours of incubation. The amount of living cells were observed and counted, death percentage was then determined and probit analysis was done to determine the LC_{50} value. LC_{50} value for ethanol fraction from the fruits of cutleaf groundcherry (*Physalis angulata*) was 86,84 $\mu\text{g/ml}$ while doxorubicin as control positive was 0,113 $\mu\text{g/ml}$ based on cytotoxicity analysis using WiDr (colon cancer) cell lines. This experiment concluded that the fruits of cutleaf groundcherry (*Physalis angulata*) didn't have a cytotoxic activity toward WiDr (colon cancer) cell lines under conditions used in this experiment which did not confirm the previous toxicity experiment using brine shrimp lethality test (BSLT) method. Overall, this experiment indicated that the fruit of cutleaf groundcherry (*Physalis angulata*) can not be used for colon cancer treatment.

Keywords : fruit, cutleaf groundcherry (*Physalis angulata*), cytotoxicity, WiDr (colon cancer) cell lines.

1. PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang terjadi karena pembelahan sel yang tidak terkontrol dan tidak terbatas. Jumlah penderita kanker semakin makin meningkat dari tahun ke tahun. Jenis penyakit kanker yang banyak terdapat pada masyarakat saat ini ialah kanker payudara, hati, limfoma, darah dan kanker mulut rahim. Pada tahun 1992 diketahui bahwa di Amerika wanita penderita kanker payudara telah mencapai 182.000 orang, lebih dari 20% penderitanya pada stadium 4 meninggal setiap tahunnya, sedangkan di Indonesia kematian akibat kanker mencapai 4,3 % pada tahun 1986^(1,2).

Pengobatan kanker secara medis memerlukan biaya yang sangat tinggi. Selain melalui bedah dan radiasi, pengobatan kanker mengandalkan kemoterapi. Kemoterapi menggunakan obat-obat anti kanker masih banyak menghadapi masalah diantaranya masih belum efektifnya obat dalam membunuh sel kanker dan efek samping yang harus diderita oleh pasien. Selain pengobatan konvensional tersebut, masyarakat banyak mencoba kemungkinan penyembuhan dengan pengobatan alternatif menggunakan ramuan bahan alami (*natural medicine*).

Di dalam ilmu pengetahuan khususnya fitofarmaka dikatakan bahwa obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik (ekstrak) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengobatan atau obat tradisional. Obat tradisional adalah sediaan yang diolah dari simplisia, sediaan galenik atau campuran kedua bahan tersebut dipergunakan dalam bidang kesehatan secara rasional empirik⁽⁶⁾. Oleh karena itu bagi Indonesia yang dikenal paling kaya dalam keanekaragaman hayati, tanaman obat merupakan salah satu kekayaan alam yang dapat dikembangkan potensinya menjadi obat alami untuk penanganan-penanganan penyakit kanker⁽³⁾.

Akhir-akhir ini banyak tanaman obat yang diteliti khasiatnya sebagai zat anti kanker dimana salah satunya adalah herba ceplukan (*Physalis angulata*) (Gambar 1). Tanaman ini mengandung beberapa senyawa aktif antara lain saponin, flavonoida, polifenol, asam klorogenat, alkaloid, vitamin C, gula, tanin, asam sitrun dan fisalin^(3,4). Menurut data

empiris, tanaman ini dapat digunakan sebagai obat kencing manis, sakit paru-paru, ayas, borok, dan obat kanker^(3,4).

Data empiris ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya tentang uji toksisitas beberapa tumbuhan obat di Indonesia, termasuk buah herba ceplukan (*Physalis angulata*), dengan menggunakan uji kematian anak udang (larva *Artemia salina* Leach) yang dikenal luas dengan nama metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)¹². Dari hasil uji tersebut terlihat bahwa ekstrak ethanol 70% dari buah herba ceplukan (*Physalis angulata*) menunjukkan efek ketoksikannya terhadap larva *Artemia salina* dengan nilai *Lethal Concentration* 50 (LC₅₀) 39,63 µg/ml⁽¹⁵⁾. Dalam hal ini maka ekstrak 70% ethanol dari buah herba ceplukan (*Physalis angulata*) dikatakan toksik karena mempunyai nilai LC₅₀ < 1000 µg/ml⁽⁴⁾. Hasil uji pendahuluan ini mengindikasikan bahwa ekstrak alkohol buah herba ceplukan (*Physalis angulata*) juga akan bersifat sitotoksik jika diujikan pada sel kanker sehingga berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai zat anti kanker. Berdasarkan pertimbangan tersebut maka dipakai salah satu jenis sel kanker usus yaitu WiDr untuk diujikan pada penelitian ini. Jenis sel kanker ini dipilih karena dilaporkan aman digunakan dalam berbagai uji sitotoksitas, mudah dikulturkan dan mudah dalam perlakuan⁽²⁰⁾.



Gambar 1. Herba ceplukan (*Physalis angulata*)

Pada pembuatan ekstrak daun ceplukan cairan penyari yang digunakan adalah ethanol 70 %. Ethanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena ethanol lebih selektif, tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur, tidak beracun, netral dan absorbsinya baik. Ethanol dapat bercampur dengan segala

perbandingan dan panas yang diperlukan untuk perekatan yang lebih sedikit⁽⁷⁾.

Uji sitotoksitas yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji sitotoksitas secara langsung yang dilakukan secara manual dengan menghitung jumlah sel hidup dibandingkan dengan sel normal. Perhitungan sel hidup secara manual dilakukan dengan pengamatan menggunakan biru tripan. Sel yang mati akan menyerap warna biru tripan sedang yang hidup tidak, hal ini disebabkan karena sel yang mati mengalami kerusakan pada membran selnya, protein dalam sel keluar dan berikatan dengan biru tripan. Penghitungan jumlah sel yang hidup dilakukan langsung pada *haemocytometer*⁽⁹⁾.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji lebih lanjut sitotoksitas ekstrak alkohol buah herba ceplukan (*Physalis angulata*) terhadap sel kanker usus yaitu sel WiDr. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan bagi dunia farmasi agar dapat memanfaatkan tanaman herba ceplukan (*Physalis angulata*) sebagai salah satu sumberdaya alam yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan kanker dalam rangka pengembangan obat tradisional.

2. BAHAN DAN METODE

Simplisia yang digunakan adalah herba ceplukan (*Physalis angulata*). Tanaman ini diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Bogor dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense. Beberapa bahan kimia juga dipakai untuk mengidentifikasi golongan kimianya (uji kandungan alkaloid, saponin, tanin, flavonoid & terpenoid) antara lain HCl, larutan Bouchardat, Dragendoroff dan Mayer, NaCl, FeCl₃, gelatin-HCl, petroleum benzene P, serbuk Mg, pereaksi Lieberman Bouchard, ethanol 96%, Pb(CH₃COO)₂, Chloroform P, isopropanol P, H₂SO₄ dan CH₃COOH anhidrat. Bahan-bahan lain adalah media media *Rosewell Park Memorial Institute* 1640 (RPMI 1640 Hybri-Max[®], Sigma), tripsin, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), Fungison (Gibco), Penisilin streptomisin (Gibco), FBS (*Fetal Bovine Serum*) (Gibco), MTT (*3-(4,5 dimetiliazol-2-il) difenil tetra zolium bromida*), HCl 1 N teknis, aqua destilata, natrium bikarbonat teknis, HEPES (N-2-hidroxyethyl piperazine-N-2-ethane sulfonic acid) teknis, SDS (*Sodium Duodecyl Sulphate*),

ether teknis, DMSO (*Dimetil Sulfoksida*), dinatrium hidrogen fosfat (Na₂HPO₄), kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄), natrium klorida (NaCl) dan 0,25 % doxorubicin sebagai kontrol positif karena merupakan salah satu obat anti kanker golongan kompleks platinum. Sedangkan sel uji yang digunakan pada penelitian ini adalah sel WiDr yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian Dan Pengujian Terpadu, UGM

Penelitian dimulai dengan mengidentifikasi golongan kimia dari buah herba ceplukan (*Physalis angulata*)^(18,19). Hal ini dilakukan untuk memastikan adanya kandungan alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan terpenoid dalam yang akan dipakai pada penelitian ini. Langkah selanjutnya adalah mengekstrak bahan aktif dari buah herba ceplukan (*Physalis angulata*) dengan ethanol 70%. Ekstraksi dengan ethanol 70% dilakukan secara maserasi yaitu serbuk simplisia sebanyak 1 kg direndam dalam toples kaca yang bermulut lebar dengan penambahan 1 liter ethanol 70% sampai merendam serbuk simplisia dan dibiarkan selama 3 hari. Selama perendaman dilakukan pengadukan beberapa kali, kemudian simplisia disaring dengan menggunakan kertas saring. Perendaman simplisia dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat dari perendaman dengan ethanol 70% dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada tekanan rendah dan suhu 50 °C sehingga diperoleh ekstrak etanol pekat, dan disimpan pada suhu ruang⁽⁷⁾.

Untuk mengetahui kadar zat yang menguap dalam ekstrak maka perlu dilakukan penetapan susut pengeringan terhadap ekstrak dengan tahapan sebagai berikut, pengajuan dilakukan dengan cara menimbang botol timbang yang bertutup kaca terlebih dahulu, kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105 °C selama 30 menit hingga diperoleh botol tetap. Botol ditimbang, ditara dan dimasukkan ekstrak sebanyak ± 1 gram kedalam botol. Botol timbang yang telah terisi dengan ekstrak dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105 °C selama 1 jam hingga diperoleh bobot tetap.

Pembuatan larutan uji ekstrak ethanol 70% buah herba ceplukan (*Physalis angulata*) dilakukan dengan mengambil masing-masing ekstrak sebanyak 200 mg disuspensikan ke dalam 1 ml RPMI 1640. Kemudian suspensi ekstrak etanol 70 % herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) dibuat seri kadar, suspensi

dalam berbagai kadar tersebut dapat diujikan pada subjek uji atau disimpan dalam lemari es untuk penelitian selanjutnya. Dari larutan induk tersebut (konsentrasi 2000 µg/ml) dibuat pengenceran dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5 ; 31,25; 15,62 dan 7,81µg/ml. Doxorubicin, yang dipakai sebagai kontrol positif, dibuat konsentrasi 2; 1; 0,5; 0,25; 0,12; 0,06; 0,03 dan 0,01µg/ml dari larutan induk yang berkonsentrasi 20 µg/ml.

Pembuatan media RPMI 1640, larutan phosphate saline buffer (PBS), larutan trypsin dan larutan biru tripan dilakukan sesuai metoda yang dilakukan oleh Freshney ⁽¹⁶⁾. Pengaktifan, pembiakan dan pengembangan sel T47D dilakukan sesuai metode yang dipakai oleh Freshney ⁽¹⁶⁾. Adapun kepadatan sel T47D dihitung dengan menggunakan haemocytometer dengan mencampurkan 20 µl suspensi sel dengan 180 µl biru tripan pada perbesaran 100 X. Penghitungan sel dilakukan pada 4 bilik hitung yang masing-masing terdiri dari 16 kotak dan diambil rata-ratanya, kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran dan faktor koreksi untuk setiap bidang besar (volumenya 10⁻⁴ ml). Jumlah sel dihitung dengan rumus :

$$\frac{n}{4} \times P \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

dimana :

n = jumlah sel dalam 4 bilik

4 = jumlah bilik *haemocytometer* yang

dihitung

10⁴ = 1 ml per kapasitas *haemocytometer*

P = faktor pengenceran

Uji sitotoksisitas dengan metode penghitungan langsung (*viable cell count*) dilakukan dengan membagi 5 kelompok pengujian yaitu media ditambah sel sebagai kontrol negatif, sel ditambah pelarut (yaitu DMSO) sebagai kontrol pelarut dan sel ditambah doxorubicin sebagai kontrol positif. Masing-masing konsentrasi yang telah disebutkan di atas dimasukkan ke dalam plate 96 sumuran sebanyak 100 µl dan ditambahkan suspensi sel sebanyak 100 µl. Seri kadar diulang tiga kali (triplo) agar lebih valid. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada 37°C. Untuk menghitung jumlah sel yang hidup (berwarna kuning) maupun mati (berwarna biru) maka diambil 20 µl dan direaksikan dengan tripan biru sebanyak 180 µl

selama 3 menit. Hasil reaksi tersebut disuspensi dan diambil 10 µl untuk dihitung jumlah selnya. Presentase kematian sel dengan metode penghitungan langsung (*viable cell count*) dihitung menggunakan rumus yang dipakai oleh Doyle & Griffith ⁽¹⁷⁾ yaitu :

$$\% \text{ viabilitas} = \frac{\text{jumlah sel yang hidup}}{\text{Jumlah sel hidup + mati}} \times 100\%$$

$$\% \text{ kematian} = 100\% - \% \text{ viabilitas}$$

Angka persen kematian yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi diubah ke dalam angka probit dengan menggunakan tabel probit. Selanjutnya, dibuat persamaan regresi linier untuk melihat hubungan natar perlakuan dengan kematian sel WiDr. Perhitungan dengan cara probit ini diulangi dengan memasukkan angka 5 sebagai probit ke dalam persamaan regresi linier, hasilnya kemudian disubsitusi dan dianti-logaritma untuk mendapatkan nilai LC₅₀.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil bahan

Hasil dari determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Bogorensie, menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) yang termasuk dalam keluarga Solanaceae. (Data hasil determinasi tidak ditunjukkan).

Determinasi merupakan langkah awal dalam penelitian untuk mendapatkan identitas yang benar dari tanaman yang akan diteliti, sehingga dapat memberikan kepastian tentang kebenaran tanaman tersebut. Hal ini dimaksudkan agar tidak terjadi kesalahan terhadap tanaman yang akan digunakan. Berdasarkan hasil determinasi tanaman dapat diperoleh kepastian bahwa tanaman yang akan digunakan sebagai bahan utama dalam penelitian ini adalah benar-benar tanaman herba ceplukan (*Physalis angulata*).

Hasil data serbuk dan ekstrak

Data serbuk dan ekstrak ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Data susut pengeringan herba ceplukan (*Physalis angulata*)

No.	Nama data	Hasil
1.	Herba ceplukan (segar)	5 kg
2.	Herba ceplukan (kering)	3,75 kg
3.	Serbuk herba ceplukan (setelah digiling)	1,3 kg
4.	Ekstrak herba ceplukan (basah)	189,5 g
5.	Ekstrak herba ceplukan (kering)	85,5 g

Herba ceplukan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bentuk serbuk kering. Hasil yang diperoleh dari susut pengeringan dari ekstrak etanol 70 % herba ceplukan adalah 2,3 %.

Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan untuk menghindari kerusakan senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akibat pemanasan yang tinggi di bawah sinar matahari langsung. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi karena cara ini lebih sederhana, mudah dikerjakan dan biaya yang diperlukan relatif lebih murah.

Pemilihan ethanol 70% sebagai pelarut diharapkan dapat menarik zat-zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia. Dari hasil uji identifikasi golongan kimia terbukti bahwa ekstrak ethanol 70% herba ceplukan mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat seperti alkaloid, flavonoid, terpen, sterol dan saponin. Hasil penapisan fitokimia sampel ceplukan diperlihatkan pada tabel 2.

Tabel 2. Data penapisan fitokimia herba ceplukan (*Physalis angulata*)

No.	Uji Metabolit sekunder	Hasil
1.	Alkaloid	+
2.	Flavonoid	+
3.	Saponin	+
4.	Terpenoid/sterol	+

Keterangan : + = positif

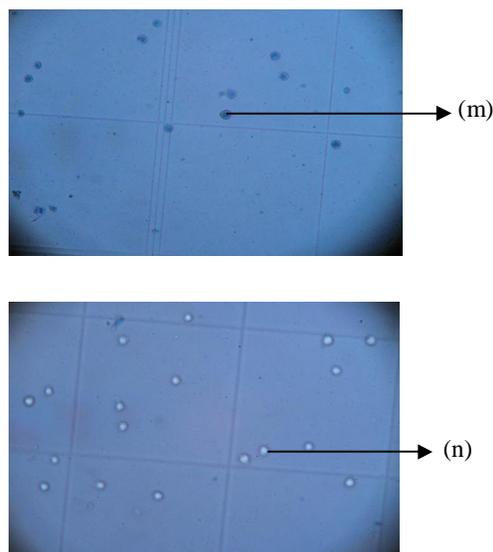
Hasil jumlah kepadatan sel

Kepadatan sel dihitung dengan *hemocytometer* dimana dari 20 μL suspensi sel diperoleh sel sebanyak 130 sel dengan rata-rata 32,5 sel pada tiap bidang. Sehingga diperoleh kepadatan sel dengan jumlah $3,25 \times 10^6$ sel/ml.

Untuk pengujian sitotoksitas, kepadatan sel yang dibutuhkan adalah 4×10^4 sel/ml saja.

Sel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel WiDr, karena merupakan salah satu jenis sel kanker kolon manusia yang banyak ditemukan pada penderita kanker kolon sebagai penyebab kematian. Sel ini sering digunakan dalam penelitian karena aman digunakan pada uji sitotoksitas, mudah dalam pengkulturan dan perlakuan. Adapun medium yang digunakan untuk mengkultur sel adalah medium RPMI 1640. Karena medium ini mengandung nutrisi yang lengkap dan sesuai untuk pertumbuhan sel WiDr.

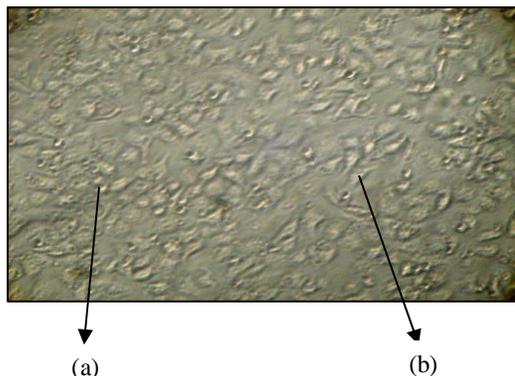
Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode perhitungan langsung. Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan larutan biru tripan pada tiap-tiap sumuran agar dapat membedakan sel yang hidup dan mati. Sel yang mati akan terlihat berwarna biru, karena sel yang mati akan rusak membran selnya sehingga warna biru tripan akan meresap ke dalam sel. Hal ini tidak terjadi pada sel yang hidup, karena tidak mengalami kerusakan pada membran selnya (gambar 3).



Gambar 2. Pemaparan biru tripan, sel yang mati (m) dan (n) sel yang hidup.

Pengamatan di atas dibantu dengan melihat bentuk morfologi sel WiDr. Dimana sel yang mati akan terlihat lebih berwarna gelap dan bentuknya tidak bulat lagi, sedangkan sel yang hidup masih terlihat berbentuk bulat dan lebih terang (gambar 3). Seluruh sel yang hidup dan mati dihitung, diperoleh persen kematian kemudian

ditransformasikan ke tabel probit untuk menentukan nilai LC_{50} .



Gambar 3. Morfologi sel kanker usus WiDr dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x dalam sumuran dengan perlakuan ekstrak etanol 70 % herba ceplukan (*Physalis angulata*) dengan kadar 125 $\mu\text{g/ml}$. (a) Sel yang mati tampak

berbentuk bulat. (b) sel yang hidup tampak berbentuk panjang.

Hasil pengujian sitotoksisitas dengan metode perhitungan langsung

Hasil uji sitotoksisitas Doxorubisin terhadap sel kanker usus WiDr dengan metode perhitungan langsung diperlihatkan pada tabel 3, sedangkan hasil uji sitotoksisitas ekstrak etanol 70 % herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap sel kanker usus WiDr dengan metode perhitungan langsung (*direct counting*) diperlihatkan pada tabel 4.

Doxorubicin dibuat dalam 8 seri konsentrasi yang berbeda dengan masa inkubasi 24 jam. Diperoleh persentase kematian tertinggi 100% pada konsentrasi 0,5; 1; dan 2 $\mu\text{g/ml}$ dan persentase kematian terendah 32,5% pada konsentrasi 0,01 $\mu\text{g/ml}$. Nilai LC_{50} Doxorubicin yaitu 0,06 $\mu\text{g/ml}$.

Tabel 3. Data uji sitotoksisitas dengan Doxorubicin

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Log Konsentrasi	Probit	% Viabilitas	% Kematian
0,01	-2	4,5462	67,5	32,5
0,03	-1,523	4,7673	59,2	40,8
0,06	-1,222	5	50	50
0,12	-0,920	5,4316	33,3	66,7
0,25	-0,602	5,8705	19,2	80,8
0,50	-0,301	-	0	100
1	0	-	0	100
2	0,301	-	0	100
$Y = 6,1384 + 0,9536.X$ $r = 0,9697$				

Untuk Larutan uji ekstrak etanol 70% herba ceplukan inkubasi 24 jam dibuat dalam 8 seri konsentrasi yang berbeda. Pada inkubasi 24 jam diperoleh persentase kematian tertinggi sebesar 100% pada konsentrasi 1000

$\mu\text{g/ml}$ dan persentase kematian terendah sebesar 10% pada konsentrasi 7,81 $\mu\text{g/ml}$. Nilai LC_{50} inkubasi 24 jam sebesar 86,84 $\mu\text{g/ml}$.

Tabel 4. Data uji sitotoksisitas dengan ekstrak 70% ethanol dari buah herba ceplukan (*Physalis angulata*)

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Log Konsentrasi	Probit	% Viabilitas	% Kematian
7,81	0,893	3,7184	90	10
15,62	1,194	4,2176	78,3	21,7
31,25	1,495	4,4260	71,7	28,3
62,50	1,796	4,7259	60,8	39,2
125	2,097	5,2533	40	60
250	2,398	5,5978	27,5	72,5
500	2,699	5,8705	19,2	80,8
1000	3	-	0	100
$Y = 2,6896 + 1,1917X$, $r = 0,9954$				

Dari hasil pengujian doxorubicin sebagai kontrol positif diperoleh nilai LC₅₀ pada inkubasi 24 jam sebesar 0,04 µg/ml. Sedangkan nilai LC₅₀ ekstrak etanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) pada inkubasi 24 jam sebesar 86,84 µg/ml

Dari hasil perhitungan LC₅₀ dapat dilihat bahwa nilai LC₅₀ doxorubicin jauh lebih kecil dibandingkan nilai LC₅₀ pada sampel uji yaitu ekstrak etanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* L.), yang artinya bahwa doxorubicin memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker kolon WiDr yang lebih besar dibandingkan aktivitas sitotoksik ekstrak ethanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* L.). Hal ini terjadi karena doxorubicin merupakan senyawa tunggal yang berfungsi sebagai anti kanker sedangkan ekstrak ethanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* L.) masih terdiri dari berbagai senyawa yang khasiatnya belum diketahui. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak ethanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* L.) mempunyai aktivitas sitotoksik yang lebih rendah daripada doxorubicin. Dalam hal ini maka pemakaian ekstrak ethanol herba ceplukan (*Physalis angulata* L.) tidak dianjurkan dalam pengobatan kanker terutama kanker kolon/usus.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak ethanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) pada inkubasi 24 jam sebesar 86,84 µg/ml. Sedangkan nilai LC₅₀ doxorubicin pada inkubasi 24 jam sebesar 0,06 µg/ml. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak ethanol 70% herba ceplukan (*Physalis angulata* L.) mempunyai aktivitas sitotoksik yang lebih rendah daripada doxorubicin sehingga kurang berpotensi sebagai obat anti kanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ma'at S. 2003. *Tanaman obat untuk pengobatan kanker*. Jurnal Bahan alam Indonesia. Volume 2 (1). Jakarta. hal 188.
2. Kirpal D. 1994. *Invitro and invivo growth suppression of MCF-7 human breast cancer by novel photoproducts and*

- tamoxifen*. International journal of the American Cancer Society. Volume 74(6).
3. Djumidi. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Badan Penelitian dan Pengembangan kesehatan. Depker RI. Jakarta. Hal 179-180.
4. Reksoprodjo S. 1995. *Kumpulan kuliah ilmu bedah*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Bagian ilmu bedah Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia / Rumah Sakit Dr. Cipto Mangun Kusumo. hal 342-63,225-32.
5. Mursyidi, A. 1984. *Statistik Farmasi dan Biologi*, Ghalia Indonesia, Jakarta, 78,157,161, 162.
6. Anonim. 1991. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Edisi II. Ditjen POM Depkes RI. Jakarta. Hal vii-x
7. Hargono, D. 1986. *Sediaan Galenik*. Depkes RI. Jakarta. Hal 1 -7.
8. Anonim. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. DirJen POM DepKes RI, Jakarta. Hal. 195-199.
9. Meiyanto, E. 1999. *Kurkumin sebagai Antikanker, Menelusuri Mekanisme Aksinya* (Review), *Majalah Farmasi Indonesia*, 10 : 224-236.
10. Hudgson, E.P., 2000, *Textbook of Modern Toxicology* 2nd ed. The McGraw-hill Companies, Inc, Singapore, 172-177.
11. Mutschlear, E., 1991, *Dinamika Obat Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi edisi ke-5*, diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto dan Anna Setiadi Ranti, 701, ITB, Bandung.
12. Meyer BN. 1982. *Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituent*. *Planta Medica*, Volume 45, hal. 31-34.
13. Schafer, J.M., Lee, E.S., O'Regan, R.M., Yao, K., and Jordan, V.C., 2000, *Rapid Development of Tamoxifen-Stimulated Mutant p53 Breast Tumors (T47D) in Athymic Mice*, *Clin. Cancer Res.*, Vol: 6, 4373-4380.
14. Subroto, A dan H. Saputro. *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. :<http://www.deherba.com/p6.htm>. 4 November 2007.
15. Karwati, I. 2006. *Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70%, Fraksi Etil Asetat, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etanol Dan Fraksi Air Terhadap Herba Ceplukan (Physalis*

- agulata Linn.*) Skripsi. Fakultas MIPA UHAMKA, Jakarta. Hal. 35.
16. Freshney, R. I. 1987. *Animal Cell Culture, A practical Approach*. 1st Edition. IRL Press. Washington DC. Hal 3, 38, 183 – 188, 309 – 312, 329 – 330, 336 – 337.
 17. Doyle, A. dan Griffiths, J. B. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. John Wiley & Sons, LTD. New York. Hal 12 – 16, 48 – 49, 409.
 18. Departemen Kesehatan RI. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta. Hal. 523 – 555.
 19. Harborne. 1996. *Metode Fitokimia*. Terbitan kedua. Terjemahan dari: *Phytochemical methods*. Oleh: Padamawinata, Kosasih, Iwan S. ITB. Bandung. Hal. 6, 147.
 20. Anonim. JCRB0224[WiDr]. <http://cellbank.nibio.go.jp/celldata/jcrb0224.htm>. Diakses tanggal 3 Agustus 2007.