

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DALAM  
MENGHAMBAT MIGRASI SEL KANKER KOLON WiDr SECARA IN VITRO  
THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF SOURSOP LEAF (*Annona muricata*  
L.) IN INHIBITION COLON CANCER CELL (WiDr) MIGRATION IN VITRO**

**Dara Ayu Septiyana<sup>1</sup>, Yoni Astuti<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Medical School, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah  
Yogyakarta

<sup>2</sup>Biochemistry Departement, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas  
Muhammadiyah Yogyakarta

**ABSTRACT**

**Background:** Cancer is one of the highest causes of death in the world. Colon cancer ranks number 3 with the highest incidence in Indonesia. Seeing this incident, efforts need to be made to prevent the spread of cancer as early as possible given the risks that can be caused. Cancer treatment using medical therapy requires high costs and has side effects. Soursop leaves have various contents of alkaloid, flafonoid, and acetogeni compounds for which research will be conducted on the effect of ethanol extract of soursop leaves (*Annona mmuricata* L.) in inhibiting WiDr colon cancer cells in vitro.

**Methods:** This research method uses a quantitative experimental laboratory. The series of studies included extra ethanol cytotoxic tests of soursop leaves (*Annona mmuricata* L.) on colon WiDr cancer cells using MTT to assess cell viability and antimigration testing using the scratch wound healing assay method to assess the presentation of closure of WiDr colon cancer cell migration.

**Result:** Cytotoxic test of ethanol extract of soursop leaves (*Annona mmuricata* L.) on colon WiDr cancer cells obtained IC<sub>50</sub> values of 905.77 µg / mL and the cell antimigration test at 24 hours obtained the greatest migration inhibition, namely etanaol extract of soursop leaves (*Annona mmuricata* L.) at a dose of ½ IC<sub>50</sub> or equal to 452.85 µg / mL.

**Conclusion:** Ethanol extract of soursop leaves (*Annona mmuricata* L.) has an effect on inhibiting migration of WiDr colon cancer cells so that it can be used instead of chemotherapy which can prevent and inhibit the growth of cancer cells.

**Keyword:** *Annona muricata*, WiDr, Migration

## INTISARI

**Latar Belakang:** Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia. Kanker kolon menempati urutan nomer 3 dengan insidensi terbanyak di Indonesia. Melihat insidensi tersebut perlu dilakukan upaya untuk mencegah penyebaran kanker sedini mungkin mengingat resiko yang dapat ditimbulkan. Pengobatan kanker menggunakan terapi medis membutuhkan biaya yang tinggi dan memiliki efek samping. Daun sirsak memiliki berbagai kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, dan *acetogenin* untuk itu akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat sel kanker kolon WiDr secara *in vitro*.

**Metode:** Metode penelitian ini menggunakan kuantitatif eksperimental laboratorik. Rangkaian penelitian meliputi uji sitotoksik ekstra etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada sel kanker kolon WiDr menggunakan MTT untuk menilai viabilitas sel dan uji antimigrasi menggunakan metode *scratch wound healing assay* untuk menilai presentasi penutupan migrasi sel kanker kolon WiDr.

**Hasil:** Uji sitotoksik ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada sel kanker kolon WiDr didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 905,77  $\mu\text{g/mL}$  dan Uji antimigrasi sel pada jam ke- 24 diperoleh daya hambat migrasi terbesar yaitu ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada dosis  $\frac{1}{2} IC_{50}$  atau sebesar 452,85  $\mu\text{g/mL}$ .

**Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh dalam menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr sehingga dapat digunakan sebagai pengganti kemoterapi yang dapat mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker.

**Kata Kunci:** *Annona muricata*, WiDr, Migrasi

## LATAR BELAKANG

Kanker merupakan penyakit penyebab kematian tertinggi, baik di negara maju maupun berkembang (Li & Lai, 2009). *International Agency for Research on Cancer* (IARC) melaporkan bahwa kematian akibat kanker di dunia sebesar 8,2 juta jiwa. Kanker kolon menyebabkan kematian sebesar 8,4% dari total penduduk dunia sehingga menempati urutan kelima setelah kanker paru, payudara, hati, dan perut (Kemenkes RI, 2015). Di Indonesia, kanker kolorektum menempati urutan nomer 3 dengan insidensi kanker kolrektum di Indonesia adalah 12,8 per 100.000 penduduk dewasa, dan mortalitas 9,5% dari seluruh kasus kanker (IARC, 2012). Kanker kolon banyak di jumpai pada usia diatas 40 tahun dengan insidensi pucak pada usia 60-70 tahun dan semakin tinggi pada individu dengan riwayat keluarga mengalami kanker kolon (Tahtuhey, *et al.*, 2012). Kanker adalah penyakit yang memiliki

pembelahan sel yang tidak terkendali, hal ini disebabkan karena adanya kerusakan DNA dari sel normal. Adanya kerusakan DNA mengakibatkan mutasi dari genom sel somatik (Depkes RI, 2007). Hal tersebut merupakan awal mula terbentuknya penyakit kanker. Perjalanan penyakit kanker terdiri dari beberapa tahapan yaitu proliferasi, migrasi, invasi, dan metastasis (Riksani, 2015). Kanker kolon merupakan penyakit yang berasal dari jaringan kolon dan merupakan kanker yang menyerang usus besar. Kanker kolon memiliki pertumbuhan sel yang abnormal dan tidak bisa dibatasi penyebarannya. Penyebaran sel – sel kanker kolon diawali dengan proses perpindahan sel ke jaringan lain melalui kemampuan bermigrasi dan invasi sel kanker. Penyebaran ini menjadi sebab buruknya kejadian kanker yaitu dapat merusak jaringan sekitar serta dapat bermetastase ke organ lain (Dalimartha, 2004). Melihat insidensi tersebut perlu dilakukan upaya untuk mencegah

penyebaran kanker sedini mungkin mengingat resiko yang dapat ditimbulkan (Margaretha, 2006). Beberapa cara pengobatan kanker menggunakan terapi medis yaitu kemoterapi, radioterapi, dan pembedahan (Siregar, 2007). Akan tetapi, mengingat begitu besar biaya pengobatan serta tingginya tingkat resiko yang akan dialami setelah pengobatan. Masyarakat lebih memanfaatkan bahan alam sebagai terapi tradisional (Bintang, 2010).

Indonesia memiliki sumber daya alam yang bisa kita manfaatkan sebagai obat-obatan, salah satu bahan alam yang dapat kita gunakan adalah sirsak (*Annona muricata* L.). Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk menjaga kesehatan manusia (Bintang, 2010) dan semua bagian dari tanaman sirsak dapat digunakan untuk pengobatan. Sirsak memiliki banyak manfaat antara lain antikanker, antijamur, dan antibakteri. Daun sirsak yang telah diteliti memiliki berbagai kandungan fitokimia yaitu

alkaloid (ALKs), minyak esensial dan *acetogenins*. Pada penelitian dahulu telah ditemukan senyawa *Annonaceous acetogenins* pada daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang mengandung zat anti kanker (Pieme, *et al.*, 2014). Daun sirsak (*Annona muricata* L.) telah teruji bersifat toksik terhadap sel kanker prostat PC-3, kanker paru-paru A549, kanker payudara MCF-7, kanker kolon sel line HT-29, dan sel kanker hepar (Patel & Jayvadan, 2015). Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilaporkan mampu menghambat kanker pada fase proliferasi seperti aktivitas dan peningkatan caspase antiproliferatif terhadap sel kanker kolon.

Sampai saat ini belum diketahui besar kemampuan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat kemampuan migrasi sel kanker kolon WiDr sebagai turunan dari sel HT-29. Pada penelitian ini akan diteliti mengenai pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr secara *in*

*vitro* menggunakan metode *scratch wound healing assay*

## **METODE PENELITIAN**

Pada penelitian ini menggunakan jenis penelitian kuantitatif eksperimental laboratorik yang akan dilakukan secara *in vitro* menggunakan kultur sel kanker kolon WiDr. Populasi diambil dari kultur sel kanker kolon WiDr yang didapatkan dari *Cancer Chemoprevention Research Center* Farmasi UGM. Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) diperoleh dari proses pengestrakan daun sirsak di Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Sampel yang akan digunakan pada uji sitotoksik terdiri dari 3 macam perlakuan kontrol dan satu perlakuan senyawa uji. Kontrol pertama yaitu berisi sel dan media kultur. Kontrol kedua yaitu berisi media kultur saja. Kontrol ketiga yaitu berisi media kultur sel dan ditambah

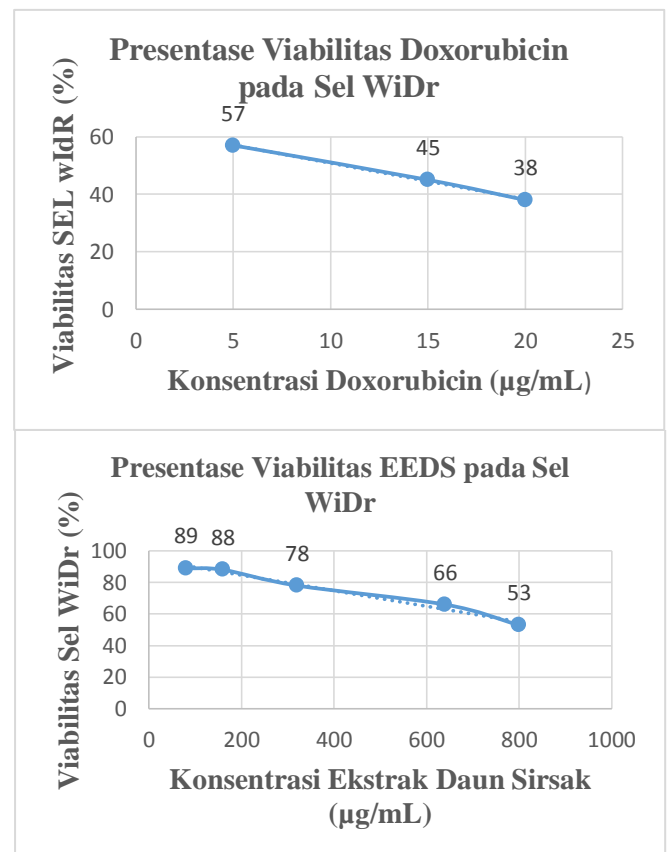
doxorubicin dengan 3 macam dosis yang berbeda yaitu 5 µg/mL, 10 µg/mL, dan 15 µg/mL. Sedangkan pada satu perlakuan senyawa uji diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan konsentrasi 80 µg/ml, 160 µg/ml, 320 µg/mL, 640 µg/mL, dan 800 µg/mL. Masing – masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Pada Uji Antimigrasi sampel yang digunakan yaitu kelompok 1 adalah sel kanker sebagai kontrol yang tidak diberi perlakuan apapun hanya dibiarkan tumbuh di media tumbuhnya. Kelompok 2 adalah sel kanker sebagai kontrol positif yang diberi obat doxorubicin dengan konsentrasi  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub>. Kelompok 3 adalah sel kanker yang diberi ekstrak etanol daun sirsak dengan konsentrasi  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub>. Masing – masing kelompok dilakukan ulangan sebanyak 3 kali.

Penelitian ini dilakukan secara 2 tahap yaitu, uji sitotoksik menggunakan metode MTT dan Uji antimigrasi menggunakan *scratch wound healing*

*assay*. Uji sitotoksik dilakukan untuk menentukan nilai *Inhibitor Concentration* ( $IC_{50}$ ) dengan pembacaan menggunakan *ELISA reader* yang akan digunakan untuk acuan pembuatan konsentrasi pada perlakuan uji migrasi. Pada uji migrasi dilakukan dengan membuat goresan pada sel monolayer yang sudah konfluen menggunakan *yellow tip steril* yang dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop *inverted* dan dilakukan pengamatan secara berkala setiap jam ke-12. Hasil pengamatan yang telah diperoleh kemudian di olah menggunakan *software imageJ* untuk menilai presentasi area penutupan migrasi. Presentase penutupan yang telah diperoleh kemudian di analisis menggunakan perangkat lunak SPSS dengan uji ANOVA satu jalan (*One Way ANOVA*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian uji sitotoksik ekstrak etanol daun sirsak terhadap viabilitas sel WiDr menggunakan metode MTT. Hasil dari uji sitotoksik disajikan dalam bentuk grafik (%) viabilitas sel (CCRC, 2013).



Berdasarkan grafik diatas didapatkan hasil presentase viabilitas sel kanker kolon WiDr pada perlakuan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan konsentrasi 80 µg/mL, 160 µg/mL, 320 µg/mL, 640 µg/mL, dan 800 µg/mL di dapatkan hasil berturut – turut sebesar 89%, 88%, 78%, 66% dan 53%. Hasil menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap sel kanker kolon WiDr dengan konsentrasi larutan uji 80 µg/mL mempunyai presentase viabilitas paling besar yaitu mencapai 89% dan pada konsentrasi 800 µg/mL hanya mempunyai presentase viabilitas sebesar 53% sehingga didapatkan korelasi antara konsentrasi larutan uji dengan efek sitotoksik yang menunjukkan pola *dose dependent*, yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil presentase jumlah sel yang hidup. Sebaliknya semakin rendah konsentrasi maka semakin tinggi presentase jumlah sel yang hidup. Hal ini membuktikan bahwa efek sitotoksik dipengaruhi oleh

konsentrasi larutan uji dengan adanya senyawa aktif yang terkandung dalam larutan uji sehingga memiliki efek toksik semakin besar. Pada uji sitotoksisitas dibutuhkan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*). Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon WiDr sebesar 50% dari total populasi. Penentuan nilai  $IC_{50}$  dihitung dengan *regresi liner* menggunakan software SPSS sehingga di dapatkan persamaan linear ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.)  $y = -0,049 x + 94,383$  dan diperoleh nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebesar 905,77 µg/mL sedangkan persamaan linear doxorubicin  $y = -0,126 x + 63,429$  dan diperoleh nilai  $IC_{50}$  Doxorubicin sebesar 10,73 µg/mL. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi nilai aktivitas sitotoksiknya (Winarno, *et al.*, 2010). Hasil uji sitotoksisitas ini dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona*

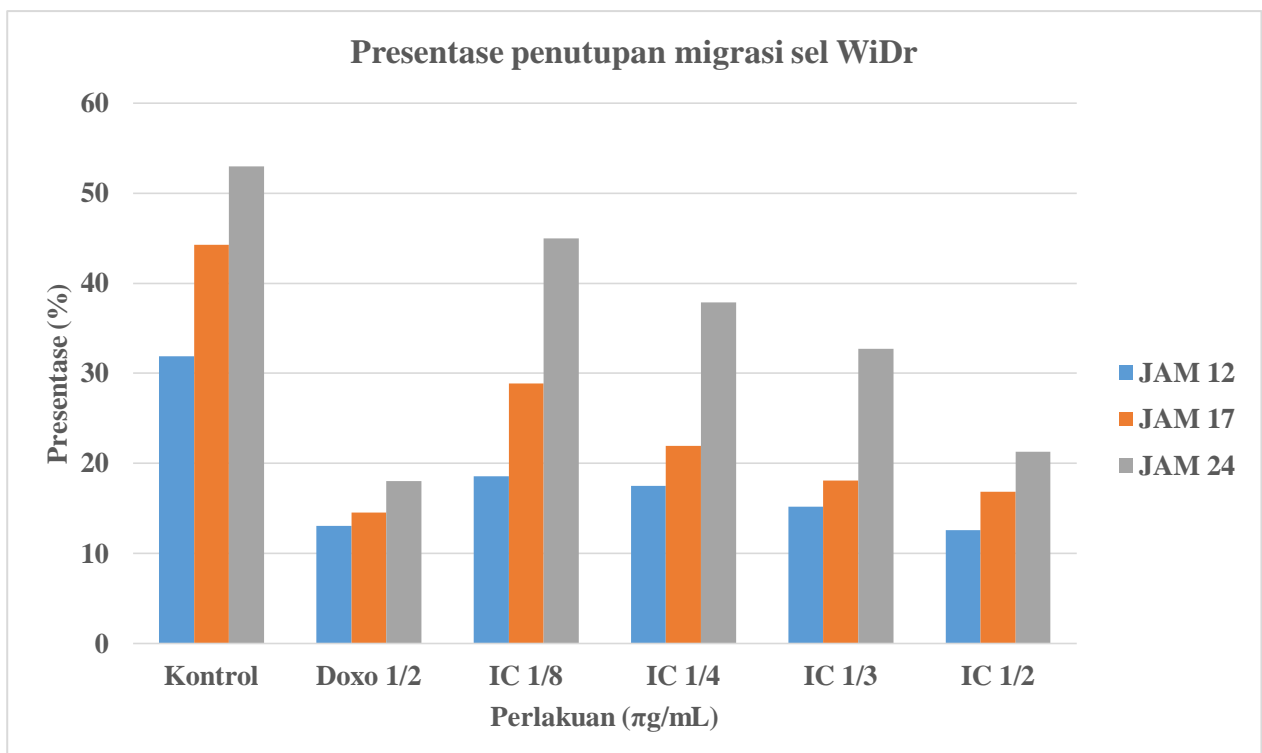
*muricata* L.) memiliki potensi sebagai agen sitotoksik *moderate* karena didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 905,77  $\mu\text{g/mL}$ .

Uji migrasi dilakukan menggunakan metode *scratch wound*

*healing* dan diamati dengan mikroskop *inverted* kemudian presentasi penutupan area migrasi diukur dengan *software imageJ* yang selanjutnya dianalisis menggunakan uji ANOVA.

Tabel 1. Presentase Penutupan Sel WiDr (%)

Waktu	Kontrol	Doxo 1/2	IC 1/8	IC 1/4	IC 1/3	IC 1/2
JAM 12	31,9	13,03	18,55	17,48	15,17	12,57
JAM 17	44,2	14,56	28,88	21,95	18,08	16,84
JAM 24	53	18,04	44,98	37,87	32,7	21,28





**Grafik 3.** Diagram batang rerata presentase migrasi (%) jam 12, 17, dan 24 pada sel WiDr

Pengujian migrasi sel dilakukan dengan menggunakan metode *in vitro scratch wound healing* yang diamati pada jam ke- 0, ke- 12, ke- 17 dan ke- 24 setelah pemberian perlakuan. Pada uji antimigrasi diberikan 2 perlakuan yaitu doxorubicin sebagai kontrol positif dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.). Seri konsentrasi doxorubicin yang digunakan untuk uji antimigrasi adalah  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub> sedangkan seri konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang digunakan untuk uji antimigrasi adalah  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{3}$ , dan  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub>. Analisis presentase migrasi dilakukan dengan menggunakan *software ImageJ* berdasarkan besar penutupan area migrasi sel kanker WiDr. Presentase penutupan tiap perlakuan pada jam ke- 0, ke- 12, ke- 17 dan ke- 24 kemudian dibandingkan dengan kontrol sel. Pada grafik diatas didapatkan hasil presentase penutupan migrasi sel kanker pada kontrol lebih besar dibandingkan dengan perlakuan. Hal tersebut dikarenakan pada kontrol sel tidak

diberikan perlakuan apapun. Presentase penutupan migrasi terkecil ditunjukkan pada perlakuan  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub> yang berarti memiliki efek menghambat penutupan migrasi sel kanker WiDr paling tinggi diantara konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang lain. Semakin kecil hasil presentase maka aktivitas menghambat dalam migrasi sel kanker semakin besar.

Pemberian konsentrasi  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan presentase penutupan area migrasi paling kecil dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) lainnya. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan konsentrasi  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub> memiliki efek penghambatan yang paling tinggi pada migrasi sel kanker kolon WiDr.

Pada uji antimigrasi ini dapat diketahui bahwa pada konsentrasi  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun sirsak (*Annona*

*muricata* L.) memiliki presentase aktivitas 21,28% pada sel kanker kolon WiDr. Hal tersebut dapat membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki efek dalam menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki berbagai kandungan senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, minyak esensial dan acetogenin. Senyawa acetogenin yang terdapat dalam daun sirsak (*Annona muricata* L.) sendiri memiliki aktivitas antikanker sehingga mempunyai kemampuan dalam menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr. Senyawa acetogenin dapat menghambat sumber energi untuk pertumbuhan sel kanker kolon WiDr. Penghambatan pada kekuatan energi menyebabkan sel kanker tidak bisa membelah dengan baik. Acetogenin yang ikut masuk kedalam tubuh akan menempel pada reseptor dinding sel dan berfungsi merusak ATP di dinding mitokondria sehingga mengakibatkan produksi energi dalam sel kanker terhenti sehingga

menghambat migrasi paling besar yaitu menghambat proses migrasi sel (Utari, *et al.*,2013).

## **KESIMPULAN**

Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan konsentrasi  $1/2$  IC<sub>50</sub> atau sebesar 452.85 µg/mL dapat menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr pada jam ke 12, 17, dan 24 dengan presentasi pentupan yaitu  $37,87 \pm 1,99\%$ ,  $32,70 \pm 1,32\%$ , dan  $21,28 \pm 3,99 \%$ .

## **SARAN**

Pada penelitian lebih lanjut dilakukan mengenai pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap ekspresi MMP pada sel kanker kolon WiDr.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Bintang, D. (2010). *Uji Aktivitas Kemopreventif Ekstrak Ethanolik Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) terhadap Sel Kanker Kolon WiDr secara In Vitro dan In Silico*. Karya Tulis Ilmiah,

- Universitas Muhammadiyah  
Yogyakarta, Yogyakarta
- Dalimartha, S. (2004). Deteksi dini kanker dan simplisia antikanker. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Li, F. and Lai, M. (2009) 'Colorectal cancer, one entity or three', *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 10(3), pp. 219–229.
- Margaretha, M. (2006). Kumpulan kuliah ilmu bedah : Binarupa Aksara
- Patel, S., Patel, J. K. and Sejal Patel, C. (2016) 'A review on a miracle fruits of *Annona muricata*', *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 5(51), pp. 137–148
- Tatuhey, W.S., Helfi Nikijuluw, J. M. (2014) 'Karakteristik Kanker Kolorektal di RSUD Dr. M Haulussy Ambon Periode Januari 2012-Juni 2013', *Mollucca Medica Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(2), pp. 150–57.
- Winarno, K.E., Mazda, R., Hindra., and Winarno, H. (2010). Pengaruh Iradiasi Gamma Pada Aktivitas Sitotoksik daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) (Scheff) Boerl. *Jurnal Sains Dan Teknologi Nuklir Indonesia*. 2(2) :72.
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer, (2013). 'Latest World Cancer Statistic Global Cancer Burden Rises to 14,1 Milion New Cases in 2012 : Marked Increace in Breast Cancers Must be Addressed', WHO Press, Geneva
- CCRC, (2014). Kanker Kolon WiDr. *Cancer Chemprevention Research Center Universitas Gajah Mada*

