

UJI ANTIMITOSIS EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam) DENGAN METODE PENGHAMBATAN PEMBELAHAN SEL TELUR *Tripneustes gratilla* Linn TERFERTILISASI

Sitti Amirah, Heriyanto Beddu

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia
Email : amirahsitti85@gmail.com

ABSTRACT

The research concerning antimetabolic assay of "Buah Merah" (Pandanus conoideus Lam) ethanol extract using sea urchin Tripneustes gratilla Linn eggs cleavage inhibition method had been conducted. The aim of this study was to determine the antimetabolic effect of buahMerah ethanol extract in to inhibit cell cleavage of fertilized sea urchin eggs. Buah Merah ethanol extract was made in to 5 concentration there was 0,001 µg/ml, 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, 1 µg/ml and 10 µg/ml with vincristine as the compared. Quantification of cell cleavage was performed visually under the light microscopy by counting the number of cleaveaged and non cleaveaged embryos after an incubation time of ± 2 hours. If 80-100% inhibition of cleavage (IC₈₀₋₁₀₀) occurs at ≤ 16 mg/ml, the compound is considered to be active as antimetabolic. The result of this research showed that IC₈₀ value of "BuahMerah" ethanol extract was 0,026 mg/ml. According to the value ethanol extract was categorized active as antimetabolic, although their potency lower than vincristin which can inhibit 80 % of fertilized sea urchin eggs at 2,789x10⁻⁴ mg/ml.

Key words: *Pandanus conoideus Lam, Antimetabolic, Tripneustes gratilla Linn.*

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal secara luas memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia. Di wilayah Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan dan 7.000 diantaranya berpotensi sebagai obat. Saat ini banyak sekali bahan alam yang digunakan sebagai obat alternatif untuk mengobati penyakit kanker.

Kanker adalah penyakit yang tidak mengenal status sosial dan dapat

menyerang siapa saja. Kanker merupakan penyakit atau kelainan pada tubuh sebagai akibat dari sel-sel tubuh yang tumbuh dan berkembang secara abnormal, diluar kewajaran dengan pertumbuhan yang sangat cepat, sehingga tidak dapat dikendalikan oleh tubuh.

Salah satu jenis tanaman yang dimanfaatkan oleh masyarakat papua sebagai bahan obat adalah buah

merah (*Pandanus conoideus* Lam (Budi dan Paimin, 2005).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan, Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan sesuai dengan kebutuhan penelitian.

A. Prosedur Penelitian

1. Penyiapan Sampel

Bahan penelitian berupa tumbuhan buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) Pengambilan tumbuhan buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) dilakukan pada pagi hari sekitar pukul 10.00 WITA, dengan cara mengambil buahnya kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir. Buah yang telah bersih dikering dengan cara di angin-anginkan pada tempat yang tidak terpapar sinar matahari langsung dan siap untuk diekstraksi.

Simplisia buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) sebanyak 300 gram dimasukkan dalam wadah meserasi, tambahkan etanol hingga simplisia tersebut terendam, dibiarkan selama 5 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil

berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari simplisia di saring dan ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru. Hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penyarian yang didapat kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan hair dryer dan kipas angin hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental.

B. Uji Antimitosis

1. Pemilihan dan Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis *Tripneustes gratilla* Linn. Dimana *Tripneustes gratilla* Linn ini dipelihara dalam aquarium yang berisi air laut bersih yang dilengkapi dengan aerator dan diadaptasi selama 24 jam.

2. Penyiapan dan Pembuatan Bahan

a. Pembuatan larutan KCl 10 % b/v

Larutan yang dibuat sebanyak 10 gram KCl, kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 100 ml kemudian ditambahkan air suling sedikit demi

sedikit, sambil dikocok dan dicukupkan volumenya sampai 100 ml.

b. Penyiapan air laut bersih untuk media

Air laut bersih yang akan digunakan sebagai air media dan untuk membersihkan media uji dibuat dengan cara menyaring dengan menggunakan kertas saring Whatman nomor 1, setelah itu disterilkan di autoklaf sehingga bebas dari protozoa.

c. Pembuatan pembanding

Pembanding (Kontrol positif) yang digunakan yaitu obat vinkristin dengan konsentrasi 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, dan 1 µg/ml. Vinkristin 1 mg/ml dipipet 100 µl dilarutkan dalam air laut dan dicukupkan volumenya 1 ml hingga diperoleh konsentrasi 100 µg/ml sebagai larutan stok.

Untuk membuat konsentrasi 1 µg/ml maka dibuat terlebih dahulu konsentrasi 10 µg/ml, dengan cara dipipet sebanyak 1 µl dari larutan

stok ke dalam vial, lalu ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa.

Untuk membuat konsentrasi 1 µg/ml maka dipipet 1 µl dari larutan konsentrasi 10 µg/ml ke dalam vial, lalu ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa dibuat sebanyak 2 kali, salah satunya akan dijadikan larutan stok untuk membuat konsentrasi 0,1 µg/ml, untuk konsentrasi 0,1 µg/ml dipipet 1 µl dari larutan stok 1 µg/ml dan ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa, dibuat sebanyak 2 kali, salah satunya akan dijadikan larutan stok untuk membuat konsentrasi 0,01 µg/ml, untuk membuat konsentrasi 0,01 µg/ml maka dipipet 1 µl dari larutan stok konsentrasi 0,1 µg/ml lalu ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa.

d. Pembuatan sediaan uji

Sampel ekstrak etanol buah merah (*Pandanu sconoideus* Lam) ditimbang sebanyak 10 mg

dalam vial dan dilarutkan dengan 1 ml etanol hingga diperoleh konsentrasi 10 mg/ml (10000 µg/ml) sebagai larutan stok. Sampel uji ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) dibuat dalam 5 konsentrasi yaitu 0,001 µg/ml, 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, 1 µg/ml, dan 10 µg/ml.

Untuk membuat konsentrasi 10 µg/ml dibuat sebanyak dua kali, dipipet 1 µl dari larutan stok ke dalam vial, lalu ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa, untuk konsentrasi 1 µg/ml dibuat sebanyak dua kali, dipipet 1 µl dari larutan sampel 10 µg/ml dan ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa, salah satunya akan dijadikan larutan stok sampel untuk membuat konsentrasi 0,1 µg/ml, untuk membuat konsentrasi 0,1 µg/ml maka dipipet 1 µl larutan stok sampel 1 µg/ml lalu ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa, dibuat sebanyak 2 kali yang salah

satunya akan dijadikan larutan stok sampel untuk membuat konsentrasi 0,01 µg/ml, untuk membuat konsentrasi 0,01 µg/ml maka dipipet 1 µl larutan stok sampel dari konsentrasi 0,1 µg/ml lalu ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa, dibuat sebanyak 2 kali yang salah satunya akan dijadikan larutan stok sampel untuk membuat konsentrasi 0,001 µg/ml, untuk membuat konsentrasi 0,001 µg/ml maka dipipet 1 µl larutan stok sampel dari konsentrasi 0,01 µg/ml lalu ditambahkan 899 µl air laut bebas protozoa.

3. Penyiapan Sperma dan Ovum *Tripneustes gratilla* Linn

Ovum yang fertil umumnya berbentuk bola, berwarna orange keemasan (agak terang), membran vitelinnya tidak mengalami kerusakan, 5–10 menit setelah bertemu dengan sperma akan terbuahi. Selain itu terjadinya fertilisasi juga dipengaruhi oleh keaktifan pergerakan sperma *Tripneustes gratilla* Linn.

Tripneustes gratilla Linn jantan dan betina diinduksi dengan menyuntikkan 1 ml KCl 10 % ke dalam bagian gonad. Sperma yang berwarna putih susu dan sel telur yang berwarna kuning keemasan ditampung pada gelas kimia yang berbeda dan berisi air laut bebas protozoa. Setelah itu dimasukkan pada lemari pendingin. Fertilisasi dilakukan dengan cara 1 ml sperma dan 4 ml sel telur difertilisasikan dalam gelas kimia yang berisi 50 ml air laut bebas protozoa.

4. Pengujian Sampel

Setelah sampel uji ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) ditambahkan dengan air laut bebas protozoa. Sampel dipanaskan dengan menggunakan tangas air padasuhu 60-80°C selama 15-20 menit untuk menguapkan pelarut etanol yang terdapat dalam sampel uji, setelah dingin semua sampel uji dipindahkan kedalam tabung eppendorf dan ditambahkan masing-masing 100 µl cairan berisi zigot yang diperoleh setelah 5–10 menit terjadinya fertilisasi.

Kontrol positif yang digunakan yaitu obat vinkristin dengan konsentrasi 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, dan 1 µg/ml. Setelah di tambahkan dengan air laut bebas protozoa, kemudian dipindahkan ke dalam tabung eppendorf dan ditambahkan masing-masing 100 µl cairan berisi zigot.

Kontrol negatif yang digunakan yaitu air laut bebas protozoa sebanyak 900 µl ditambahkan 100 µl zigot dan kontrol pelarut yaitu etanol sebanyak 10 µl ditambahkan 890 µl air laut bebas protozoa, lalu diuapkan pelarutnya (etanol) lalu ditambahkan ditambahkan 100 µl cairan berisi zigot.

Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap sampel uji, kontrol dan pembanding. Selanjutnya disimpan pada suhu 15-20 °C dengan diselingi pengocokan.

Pengamatan sel yang membelah dilakukan setelah 2 jam inkubasi di bawah mikroskop dengan mengambil gambar setiap sampel. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sel yang

terhambat dan total sel untuk

dihitung sebagai IC₅₀ dan IC₈₀.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Pengamatan Penghambatan Pembelahan Sel Telur *Tripneustes gratilla* Linn ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam)

Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	Replikasi	Sel yang membelah	Sel yang dihambat	Total sel	% Penghambatan sel
Ekstrak etanol buah merah	0,001	1	228	143	371	38,54
		2	33	24	57	42,11
		3	208	246	454	54,19
	0,01	1	70	86	156	55,13
		2	108	142	250	56,8
		3	96	130	226	57,52
	0,1	1	103	245	348	70,40
		2	151	369	520	70,96
		3	113	286	399	71,68
	1	1	55	217	272	79,78
		2	67	263	330	79,69
		3	56	181	237	76,38
10	1	67	298	365	81,64	
	2	54	257	311	82,64	
	3	45	269	314	85,67	

Tabel 2. Hasil pengamatan penghambatan pembelahan sel telur *Tripneustes gratilla* Linn oleh Vinkristin (kontrol positif).

Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	Replikasi	Sel yang membelah	Sel yang dihambat	Total sel	%
Vinkristin (kontrol positif)	0,01	1	23	47	70	67,143
		2	28	67	95	70,526
		3	28	70	98	71,429
	0,1	1	25	79	104	75,962
		2	7	35	42	83,333
		3	6	35	41	85,366
	1	1	5	32	37	86,480
		2	5	40	45	88,889
		3	5	63	68	92,647

Tabel 3. Hasil Pengamatan Penghambatan Pembelahan Sel Telur *Tripneustes gratilla* Linn oleh air laut (kontrol negatif) dan pelarut etanol (kontrol pelarut).

Sampel	Replikasi	Sel yang membelah	Sel yang dihambat	Total sel	%
Air laut (kontrol negatif)	1	127	5	132	3,79
	2	130	7	137	5,12
	3	118	8	126	6,35
Air laut Etanol (Kontrol pelarut)	1	58	5	63	7,93
	2	62	6	68	8,82
	3	48	5	48	9,43

PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) pada konsentrasi 0,001 µg/ml, 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, 1 µg/ml, dan 10 µg/ml dapat menghambat pembelahan sel telur *Tripneustes gratilla* Linn dengan penghambatan rata-rata sebesar 36,22%, 47,75%, 62,28%, 69,99%, dan 74,59%. Data tersebut memperlihatkan bahwa efek antimitosis akan menurun pada konsentrasi yang lebih rendah hal ini disebabkan karena semakin kecil konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin kecil pula kandungan senyawa kimia yang menghambat pembelahan zigot *Tripneustes gratilla* Linn, hal tersebut seperti halnya pada Vinkristin sebagai pembanding dengan konsentrasi 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, 1 µg/ml dengan penghambatan rata-rata sebesar, 64,613%, 76,467% dan 84,249%.

Dari data diatas menunjukkan bahwa persentase penghambatan sel telur *Tripneustes gratilla* Linn yang terbesar yaitu pada konsentrasi 10 µg/ml, hal ini dapat diketahui melalui banyaknya jumlah sel yang dihambat pada konsentrasi tersebut yang terlihat pada gambar hasil pengamatan. Hasil analisis probit menunjukkan bahwa

pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) memiliki IC_{50} rata-rata sebesar 0,0149 µg/ml, sedangkan nilai IC_{80} adalah 0,026 mg/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) aktif sebagai antimitosis sesuai dengan persyaratan Rahman et al (2001) yaitu suatu bahan dinyatakan aktif jika penghambatan sel terjadi (IC_{80-100}) dicapai pada konsentrasi lebih rendah dari pada 16 mg/ml. Jika dibandingkan dengan vinkristin, efek antimitosis ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) jauh lebih rendah, dengan nilai IC_{80} adalah $2,789 \times 10^{-4}$ mg/ml.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat di simpulkan bahwa ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) aktif sebagai antimitosis sel telur *Tripneustes gratilla* Linn terfertilisasi dengan nilai IC_{80} adalah 0,026 mg/ml meskipun potensinya lebih rendah daripada vinkristin dengan nilai IC_{80} adalah $2,789 \times 10^{-4}$ mg/ml

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, G.(2002). *BST sebagai Bioassay dalam Isolasi Senyawa Bioaktif dari Bahan Alam*. Majalah Farmasi dan Farmakologi. Vol. 6.No. 2.
- Budi, I.M., dan Paimin, F.R. (2005). *BuahMerah*. PenebarSwadaya. Jakarta.
- Campbell, N.A, Reece. J.B, dan Michel, L.G., (1999).*Biologi*. Edisi V Jilid I, Terjemahan oleh Rahayu Ilestari. (2002). Erlangga. Jakarta.
- Ditjen POM.(1986). *Sediaan Galenik*. DepKes RI. Jakarta.
- Ganiswarna. (2007). *Farmakologi dan Terapi*. Jilid V. Bagian farmakologi Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
- Jasin, M. (1992). *Zoologi Invertebrata*.Sinar Wijaya. Surabaya.
- Junaidi, I.(2007). *Kanker Pengenalan, pencegahan dan pengobatan*. PT. Buana Ilmu Populer. Jakarta.
- Jong, W, D. (2005). *Kanker Apakah itu*. Arcan. Jakarta.
- Katzung Bertram, G. (2004). *Farmakologi Dasar dan Klinik Penerjemah*, dan Editor Edisi Indonesia Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Kimball, J.W. (1983).*Biologi*. Edisi V, Jilid 2, Terjemahan oleh Siti Soetarmi Tjitrosomo dan Nawangsari Sugiri, 1992. Erlangga. Jakarta.
- Mangan, Y.(2005).*Cara Bijak Menaklukkan Kanker*. AgroMedia Pustaka. Tangerang.
- Rahman, et al. (2001). *Bioassay Techniques For Drug Development*. Harwood Academic Publishers.
- Sloane, E.(2004). *Anatomy and Physiology An Easy Learner*. Departemen of Biological Sciences. University of Wisconsin-Milwaukee.
- Sumich, J.L and Dudle, G.H. (1982).*Laboratory and Field Investigation in Marine Biology*.Ed.4. W.M.C Brown Publisher.
- Tobo, F. (2001).*Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I, Laboratorium Fitokimia., Jurusan Farmasi., Fakultas MIPA. Universitas Hasanuddin. Makassar.*
- Wahidin, (2011), " *Uji antimitosis ekstrak etanoldaun sirsak (Annona muricataLinn) dengan*

metode penghambatan pembelahan sel telur bulu babi (Tripneustes gratilla Linn)”. Skripsi, Tidak dipublikasikan. Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia.

Yahya, M. H. (2005). *Khasiat dan Manfaat Buah merah*. Agromedia Pustaka. Jakarta