



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506

## Evaluasi Potensi Fraksi Rumput Gong (*Eriocaulon cinereum* R. Br) sebagai Antikanker Serviks terhadap sel HeLa

Pinus Jumaryatno\*, Arde Toga Nugraha, Widyanur Maya Diahandari, Auva Azkiya

Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta 55584

\*Email korespondensi : pinus.jumaryatno@uii.ac.id

(Submit 15/03/2019, Revisi 05/09/2019, Diterima 20/12/2019)

### Abstrak

Rumput gong (*Eriocaulon cinereum* R. Br.) merupakan tumbuhan yang secara tradisional telah dipergunakan masyarakat Bangka Belitung untuk mencegah pertumbuhan kanker. Penelitian pendahuluan memperlihatkan bahwa ekstrak etil asetat dan metanol rumput gong memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 580,07  $\mu\text{g/ml}$  dan 626,41  $\mu\text{g/ml}$ . Hal ini menunjukkan bahwa rumput gong berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat antikanker serviks. Dalam upaya pengembangan tersebut perlu diketahui senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa. Sebagai langkah awal untuk memperoleh senyawa aktif antikanker serviks dari rumput gong maka dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak serta evaluasi aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji aktivitas sitotoksik fraksi dari ekstrak etil asetat dan metanol rumput gong terhadap sel HeLa. Ekstrak etil asetat dan metanol rumput gong diperoleh melalui maserasi bertingkat dengan bantuan sonikasi. Selanjutnya ekstrak etil asetat rumput gong difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum dengan fase gerak diklorometana dan etil asetat, sedangkan ekstrak metanol rumput gong difraksinasi menggunakan fraksinasi cair-cair secara bertingkat dengan diklorometana, kloroform dan air. Aktivitas sitotoksik dari masing-masing fraksi dievaluasi menggunakan metode MTT assay dan diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Hasil uji aktivitas sitotoksik dianalisa secara statistik menggunakan analisis PROBIT dengan SPSS 16 for Windows®. Fraksi diklorometana dan etil asetat dari ekstrak etil asetat rumput gong menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 466,61  $\mu\text{g/ml}$  dan 267,34  $\mu\text{g/ml}$ . Nilai  $IC_{50}$  fraksi-fraksi yang diperoleh dari ekstrak metanol rumput gong adalah 235,65  $\mu\text{g/ml}$  (fraksi diklorometana) dan 2325,30  $\mu\text{g/ml}$  (fraksi air), sedangkan fraksi kloroform tidak memperlihatkan adanya aktivitas sitotoksik. Fraksi etil asetat dari ekstrak etil asetat rumput gong dan fraksi diklorometana dari ekstrak metanol memiliki aktivitas sitotoksik yang paling poten terhadap sel HeLa. Dengan demikian fraksi-fraksi tersebut berpotensi untuk dilakukan pengkajian lebih lanjut sebagai antikanker serviks.

Kata kunci: Rumput gong, fraksi, sitotoksik, sel HeLa,  $IC_{50}$

## Outline

- Pendahuluan
- Metode
- Hasil dan Pembahasan
- Kesimpulan
- Ucapan Terima Kasih
- Daftar Pustaka

## Pendahuluan

Berdasarkan data *World Cancer Report 2014* secara global kanker serviks merupakan penyebab kematian paling umum keempat pada wanita yang terkena kanker<sup>1</sup>. Sementara itu penderita kanker serviks di Indonesia menempati prevalensi tertinggi yaitu sebesar 0,8% atau 98.962 penderita<sup>2</sup>. Oleh karena itu, penyakit kanker serviks menjadi salah satu perhatian khusus oleh Kementerian Kesehatan RI. Penatalaksanaan terapi kanker serviks sebagai upaya untuk mencegah atau mengobati dilakukan dengan menggunakan radioterapi, kemoterapi atau kombinasi keduanya sesuai dengan stadium kanker yang dialami. Beberapa jenis obat telah digunakan untuk kemoterapi pada terapi kanker serviks<sup>3-7</sup> namun seringkali menimbulkan efek samping yang tidak dikehendaki dan merugikan pasien<sup>8</sup>. Hal ini mendorong upaya pencarian obat baru sebagai alternatif pilihan untuk terapi kanker serviks dengan potensi yang lebih baik dan efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat-obat yang telah digunakan. Salah satu sumber potensial yang dapat dipergunakan sebagai bahan obat baru berasal dari alam yaitu tumbuhan<sup>9</sup>.

Rumput gong (*Eriocaulon cinereum* R. Br.) adalah tumbuhan yang secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat Bangka Belitung untuk mencegah dan membantu mengobati pertumbuhan sel yang tidak terkontrol. Penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak etanol rumput gong mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa yang merupakan sel kanker serviks dengan  $IC_{50}$  sebesar 427,79  $\mu\text{g/ml}^{10}$ . Lebih lanjut, penelitian terhadap ekstrak etil asetat dan metanol rumput gong memperlihatkan adanya aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 580,07  $\mu\text{g/ml}^{11}$  dan 626,41  $\mu\text{g/ml}^{12}$ . Dengan demikian rumput gong mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat alternatif untuk terapi kanker serviks. Namun senyawa kimia yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut belum diketahui sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa aktif dari rumput gong. Oleh karena itu, fraksinasi terhadap ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol yang dilanjutkan dengan evaluasi aktivitas sitotoksik dari fraksi-fraksi terhadap sel HeLa perlu dilakukan. Hal ini merupakan langkah awal dalam investigasi senyawa bioaktif dalam rumput gong yang bertanggung jawab dalam aktivitas sitotoksik tersebut. Penelitian ini mengkaji aktivitas sitotoksik fraksi dari ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol rumput gong terhadap sel HeLa. Selain itu, untuk mengetahui sitotoksitas terhadap sel normal, maka fraksi-fraksi tersebut juga dievaluasi aktivitas sitotoksiknya terhadap sel Vero.

## Metode

### A. Bahan

Bahan tumbuhan yang dipergunakan adalah rumput gong (*Eriocaulon cinereum* R. Br.) diambil dari Parittiga, Jebus, Propinsi Bangka Belitung Island, Indonesia, pada bulan Juli 2016. Spesimen tumbuhan diidentifikasi di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia dengan nomor dokumen 0796/S.Tb./IV/2016. Rumput gong dikeringkan di lemari pengering pada suhu 50°C selama 36 jam dan diserbukkan. Bahan lain adalah n-heksana, etil asetat, diklorometana, kloroform, metanol, aquades, silika gel 60 GF254, dimetilsulfoksida, RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640, 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS), 1% penicillin-streptomycin, 0.5% fungizone (*Gibco Amphotericin B*), sel HeLa dan sel Vero.

### B. Metode

#### 1. Pembuatan Ekstrak

Serbuk rumput gong dengan berat total 87,5 gram dimaserasi dengan 1 L n-heksana dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* pada suhu 40 °C selama 30 menit. Selanjutnya ampas serbuk hasil ekstraksi dengan n-heksana yang telah bebas pelarut dimaserasi dengan 1 L etil asetat menggunakan metode yang sama seperti pada ekstraksi dengan n-heksana. Hasil ekstraksi dengan etil asetat kemudian dipisahkan antara pelarut dan sampelnya, dan kemudian ampasnya dikeringkan dan dilakukan proses remaserasi sebanyak 2 kali. Ampas hasil maserasi menggunakan etil asetat kemudian dimaserasi menggunakan 1 L metanol dengan metode yang sama seperti proses ekstraksi rumput gong dengan pelarut n-heksana. Maserasi dengan menggunakan metanol diulang sebanyak 2 kali. Selanjutnya, ekstrak cair hasil dari masing-masing proses maserasi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat dan dilanjutkan dengan pengeringan di dalam lemari asam pada suhu kamar. Dari hasil ekstraksi, diperoleh ekstrak n-heksana (0,050 gram), ekstrak etil asetat (2,522 gram) dan ekstrak metanol (2,171 gram). Selanjutnya ekstrak pekat disimpan di dalam *vacuum desiccator* sebelum digunakan.

#### 2. Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat dan Ekstrak Metanol Rumput Gong

Ekstrak etil asetat rumput gong (0,35 gram) difraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum menggunakan fase diam silika gel 60 GF<sub>254</sub> dan fase gerak diklorometana 100% dan etil asetat 100%. Mula-mula ekstrak difraksinasi dengan 750 mL diklorometana dan dilanjutkan dengan 600 mL etil asetat sehingga didapatkan fraksi diklorometana dan fraksi etil asetat. Kemudian masing-masing fraksi diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan di dalam lemari asam pada suhu kamar. Dari hasil fraksinasi ekstrak etil asetat rumput gong diperoleh fraksi diklorometana dan fraksi etil asetat seberat masing-masing 0,136 g dan 0,075 g. Ekstrak metanol rumput gong (2 gram) difraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah dan pelarut diklorometana (150 mL), kloroform (100 mL) dan air (50 mL). Proses fraksinasi diawali dengan melarutkan ekstrak metanol dengan air dan kemudian ditambahkan diklorometana di dalam corong pisah sehingga didapatkan dua lapisan cairan yaitu lapisan diklorometana dan lapisan air. Kedua lapisan tersebut kemudian dipisahkan dan lapisan air selanjutnya dipergunakan untuk proses fraksinasi cair-cair dengan menggunakan kloroform dan air. Hasil dari fraksinasi cair-cair tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh fraksi diklorometana (739,7 mg), fraksi kloroform (3,8 mg) dan fraksi air (1247,1 mg).

### 3. Kultur Sel HeLa

Sel HeLa dikultur pada medium komplet yang terdiri atas RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640 ditambah dengan 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS), 1% penicillin-streptomycin dan 0.5% fungizone (Gibco Amphotericin B). Sel diinkubasi pada suhu 37 °C di dalam inkubator 5% CO<sub>2</sub>.

### 4. Uji Aktivitas Sitotoksik

Uji aktivitas fraksi dari ekstrak etil asetat dan fraksi dari ekstrak metanol rumput gong terhadap sel HeLa dan sel Vero dilakukan menggunakan metode MTT assay. Sel dalam medium komplet dengan kepadatan 10.000-50.000 sel/ml diambil sebanyak 100 µL, kemudian dimasukkan pada mikroplate (96 sumuran). Mikroplate diinkubasi selama 24 jam pada inkubator CO<sub>2</sub> dengan suhu 37°C. Mikroplate yang telah diinkubasi dan dibuang medium kompletnya ditambah 100 µL fraksi-fraksi yang diujikan (konsentrasi 15,625 – 1000 µg/ml) yang telah dilarutkan terlebih dahulu dalam dimetilsulfoksida. Selanjutnya mikroplate tersebut diinkubasi kembali selama 24 jam pada inkubator CO<sub>2</sub> dengan suhu 37°C. Setelah itu ditambahkan 100 µL MTT assay 0,5% pada masing-masing sumuran yang telah diberi perlakuan dan diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator CO<sub>2</sub>. Setelah 4 jam, 100 µL SDS stopper (SDS 10% dalam 0,01 N HCl) ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu kamar dan ruangan gelap. Pembacaan hasil dilakukan menggunakan *Elisa reader* pada panjang gelombang 595 nm. Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dan sel Vero dilakukan secara *triplicate* (n=3).

### 5. Analisis Data

Semua data hasil uji aktivitas sitotoksik rumput gong terhadap sel HeLa dan sel Vero dianalisis secara statistika menggunakan analisis PROBIT dengan SPSS 16 for Windows®.

## Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil evaluasi aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi rumput gong terhadap sel HeLa (Tabel 1 dan Tabel 2) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etil asetat dan fraksi diklorometana dari ekstrak metanol rumput gong merupakan fraksi yang paling aktif dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 267,34 µg/mL dan 235,65 µg/mL. Sedangkan fraksi diklorometana dari ekstrak etil asetat rumput gong memiliki aktivitas sitotoksik lebih rendah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 466,61 µg/mL dan fraksi air dari ekstrak metanol tidak memiliki aktivitas sitotoksik karena memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 2325,30 µg/mL. Fraksi-fraksi rumput gong memiliki aktivitas sitotoksik yang rendah terhadap sel Vero (Tabel 1 dan Tabel 2).

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Fraksi dari Ekstrak Etil Asetat Rumput Gong

Fraksi	IC <sub>50</sub> Sel HeLa µg/mL	IC <sub>50</sub> Sel Vero µg/mL
Etil Asetat	267,34	795,59
Diklorometana	466,61	525,95

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Fraksi dari Ekstrak Metanol Rumput Gong

Fraksi	IC <sub>50</sub> Sel HeLa µg/mL	IC <sub>50</sub> Sel Vero µg/mL
Diklorometana	235,65	493,50
Air	2325,30	4960,31

*Eriocaulon cinereum* R. Br. merupakan tumbuhan yang hidup di daerah rawa yang berair<sup>13</sup> dan banyak tumbuh di negara-negara dengan iklim tropis termasuk di Propinsi Bangka Belitung, Indonesia. Oleh masyarakat setempat, *E. cinereum* atau dikenal sebagai rumput gong telah dipergunakan secara tradisional untuk mengobati kanker. *E. cinereum* atau rumput gong merupakan salah satu spesies dari genus *Eriocaulon* yang belum banyak diteliti mengenai aktivitas biologinya sebagai antikanker dibandingkan dengan spesies *Eriocaulon* lainnya seperti *E. australe*<sup>14</sup> dan *E. sieboldianum*<sup>15</sup>. Hasil studi antiproliferatif<sup>10</sup> dan aktivitas sitotoksik<sup>11,12</sup> ekstrak rumput gong terhadap sel HeLa menunjukkan bahwa tumbuhan tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antikanker serviks. Berdasarkan laporan hasil studi pendahuluan tersebut<sup>10-12</sup>, maka evaluasi lebih lanjut aktivitas sitotoksik rumput gong terhadap sel HeLa dilakukan. Pada penelitian ini, fraksi-fraksi yang diperoleh dari ekstrak aktif rumput gong (ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol) dievaluasi aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etil asetat rumput gong dan fraksi diklorometana dari ekstrak metanol rumput gong memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan IC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 267,34 µg/mL dan 235,65 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi tersebut terhadap sel HeLa lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraknya (IC<sub>50</sub> ekstrak etil asetat 580,07 µg/ml dan ekstrak metanol 626,41 µg/ml). Aktivitas sitotoksik fraksi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak memberikan informasi adanya kandungan senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas tersebut dan berpotensi sebagai antikanker serviks. Skrining fitokimia yang telah dilakukan sebelumnya terhadap ekstrak etil asetat rumput gong<sup>11</sup> menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, fenolik, terpenoid dan steroid, sedangkan pada ekstrak metanol<sup>12</sup> terkandung golongan senyawa fenolik dan steroid. Senyawa golongan flavonoid dari *E. australe* dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan IC<sub>50</sub> berkisar 7,17 sampai 29,57 µg/mL<sup>14</sup>. Oleh karena itu, aktivitas sitotoksik dari fraksi etil asetat dari ekstrak etil asetat rumput gong diduga dikarenakan adanya golongan senyawa flavonoid. Namun tidak menutup kemungkinan juga adanya senyawa golongan lain yang berperan dalam aktivitas sitotoksik karena fraksi diklorometana dari ekstrak metanol memiliki IC<sub>50</sub> yang lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat dari ekstrak etil asetat. Lebih lanjut, hasil evaluasi sitotoksitas fraksi-fraksi dari ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol rumput gong terhadap sel Vero (Tabel 1 dan Tabel 2) memperlihatkan aktivitas sitotoksik yang lebih rendah dibandingkan terhadap sel HeLa. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi aktif rumput gong mengandung senyawa-senyawa dengan aktivitas sitotoksik yang potensial dan selektivitas yang baik serta berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen terapi kanker serviks. Oleh karenanya, penelitian lebih lanjut akan dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dan mengkaji mekanisme aksi dari senyawa aktifnya.

## Kesimpulan

Fraksi etil asetat dari ekstrak etil asetat dan fraksi diklorometana dari ekstrak metanol rumput gong memiliki aktivitas sitotoksik yang tinggi terhadap sel HeLa sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai kandidat obat antikanker serviks.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas pendanaan penelitian melalui skema hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (Kontrak nomor.: 109/SP2H/DRPM/2018). Terima kasih juga disampaikan pada Laboratorium Biologi Farmasi, Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta dan Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta atas dukungan fasilitas untuk penelitian ini.

## Daftar Pustaka

1. Stewart BW, Wild CP, editors. World Cancer Report 2014. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Info Datin: Situasi Penyakit Kanker. Pusat data dan informasi Kementerian Kesehatan RI; 2015. diambil dari: <http://www.depkes.go.id/folder/view/01/structure-publikasi-pusdatin-info-datin.html> [Diakses pada 1 Juni 2017 June ].
3. Monk BJ, Sill MW, McMeekin DS, Cohn DE, Ramondetta LM, Boardman CH, et al. Phase III trial of four cisplatin-containing doublet combinations in stage IVB, recurrent, or persistent cervical carcinoma: a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol*. 2009;27(28):4649-55.
4. Katanyoo K, Chongthanakorn M, Tantivatana T, Manusirivithaya S, Rongsriyam K, Chulpaisal A. Treatment outcomes of concurrent weekly carboplatin with radiation therapy in locally advanced cervical cancer patients. *Gynecol Oncol*. 2011;123(3):571-6.
5. Li J, Wang LJ, Zhang BZ, Peng YP, Lin ZQ. Neoadjuvant chemotherapy with paclitaxel plus platinum for invasive cervical cancer in pregnancy: two case report and literature review. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;284(3):779-83.
6. Ackermann S, Beckmann MW, Thiel F, Bogenrieder T. Topotecan in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2007;17(6):1215-23.
7. Mutch DG, Bloss JD. Gemcitabine in cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2003;90(2 Suppl):S8-15.
8. American Cancer Society. Chemotherapy for Cervical Cancer. American Cancer Society, Inc.; diambil dari: <https://www.cancer.org/cancer/cervical-cancer/treating/chemotherapy.html> [Diakses pada 1 Juni 2017 June].
9. Newman DJ and Cragg GM. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod*. 2016;79(3):629-61.
10. Nugraha AT, Ramadhan V, Pandapotan H, Romadhonsyah F. A study of proliferative activity of herbs *Eriocaulon cinereum* R.Br. on cervical cancer cells (HeLa) with MTT assay method. *Int J Pharm Med Biol Sci*. 2017;6(2):73-76.
11. Hidayati AT. 2017. *Uji aktivitas antiproliferasi ekstrak etil asetat rumput gong (Eriocaulon Cinereum R.Br.) pada sel kanker serviks (HeLa) dan sel normal*

- (Vero). *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
12. Lisnasari BWR. 2017. *Aktivitas sitotoksik ekstrak metanol rumput gong (Eriocaulon cinereum R. Br.) pada sel kanker serviks (HeLa) dan sel normal (sel Vero)*. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
  13. Oliveira ALR, Bove CP. *Eriocaulon* L. from Brazil: An Annotated checklist and taxonomic novelties. *Acta Bot Bras*. 2015;29(2):175-89.
  14. Xu Q, Xie H, Wu P, Wei X. Flavonoids from the capitula of *Eriocaulon australe*. *Food Chem.*, 2013;139: 149-54.
  15. Kim S-J, Lee G-T, Lee, B-R, Jeon K-S, Rim H-K, Bang J-H, et al. Anti-Cancer effect of *Eriocaulon sieboldianum* through the activation of Caspase-3 in human leukemia cell line, HL-60 cells. *Orient Pharm Exp Med*. 2009;9(2):186-91.