



Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-Christi L.*) terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) Menggunakan Metode MTT Assay

Anisa Oktavia Putri Auriyanto^{1*}, Rina Nurmaulawati², Kuncara Natawaskita³

¹⁻³ Prodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia Madiun

Email : oktan2044@gmail.com^{1*}, rina.orin2011@gmail.com²

Alamat : Jl. Taman praja No.25,Mojorejo,kec.Taman,Kota Madiun,Jawa Timur kode pos 63139

*Penulis Korespondensi

Article History:

Naskah Masuk: 03 Agustus, 2025;

Revisi: 17 Agustus, 2025;

Diterima: 01 September, 2025;

Tersedia: 04 September, 2025;

Keywords: 96% ethanol extrac; Arabian Bidara Leaves (*Ziziphus spina-christi L.*); Cytotoxic; MTT assay method; T47D Cells.

Abstract: Breast cancer (T47D) is a type of cancer with the highest percentage of new cases and cause of death. Cancer treatment is usually done by surgery, chemotherapy, and radiotherapy. Cancer treatment has so far given undesirable effects such as nausea, vomiting, mouth ulcers, nail damage, and hair loss. Cancer treatment has adverse effects, thus triggering the development of alternative treatments derived from nature or plants as anticancer therapy. The Arabian Bidara plant (*Ziziphus spina-christi L.*) is a round-leafed plant with many thorns that can grow in tropical areas. In the leaves of the Arabian bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) there are alkaloid compounds, saponins, flavonoids, tannins, phenolics, steroids, triterpenoids that have properties as anticancer. This study aims to determine the anticancer activity of the ethanol extract of Arabian bidara leaves against breast cancer cells (T47D) using the MTT assay method. This study is an experimental laboratory study. Ethanol extraction of Arabian bidara leaves using the maceration method. Cytotoxic test using the MTT assay method in five concentration test groups 125; 62.5; 31.25; 15.625 and 7.8 $\mu\text{g} / \text{mL}$, then the absorbance was read using an elisa reader. Cytotoxic activity is expressed by the IC₅₀ value. Based on the results of the study, it showed that the ethanol extract of Arabian bidara leaves was cytotoxic to T47D cells. The IC₅₀ value obtained from the ethanol extract of Arabian bidara leaves was 2,574 $\mu\text{g} / \text{mL}$, including the very active category. From the research results, it can be concluded that the ethanol extract of Arabian bidara leaves has anticancer activity against T47D cancer cells.

Abstrak. Kanker payudara (T47D) merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru dan penyebab kematian tertinggi. Pengobatan pada kanker biasanya dilakukan dengan jalan operasi, kemoterapi, dan radioterapi. Pengobatan kanker tersebut menimbulkan efek samping yang merugikan, karena obat tidak bekerja selektif yang mengakibatkan rasa mual, muntah, sariawan, kerusakan kuku, kulit dan kerontokan rambut sehingga memicu berkembangnya alternatif pengobatan yang berasal dari alam atau tumbuhan sebagai terapi antikanker. Tanaman Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi L.*) merupakan tanaman berdaun bulat dan banyak duri yang dapat tumbuh di daerah tropis. Daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) memiliki senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, fenolik, steroid, triterpenoid memiliki khasiat sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak etanol daun bidara arab terhadap sel kanker payudara (T47D) dengan metode MTT assay. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Ekstraksi etanol daun bidara arab dengan metode maserasi. Uji sitotoksik menggunakan metode MTT assay pada lima kelompok uji konsentrasi 125; 62,5; 31,25; 15,625 dan 7,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, kemudian dibaca absorbansinya menggunakan elisa reader. Aktivitas sitotoksik dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun bidara arab bersifat sitotoksik terhadap sel T47D. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak etanol daun bidara arab adalah 2,574 $\mu\text{g}/\text{mL}$, termasuk kategori sangat aktif. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan ekstrak etanol daun bidara arab mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker T47D.

Kata Kunci : Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-Christi L.*); Ekstrak Etanol 96%; Metode Mtt Assay; Sel T47D, Sitotoksik.

1. LATAR BELAKANG

Kanker merupakan masalah kesehatan nomor 1 yang menyebabkan gangguan kesehatan yang serius pada penderitanya. Alasan mengapa jumlah pasien meningkat setiap tahun yaitu karena belum ditemukan pengobatan yang efektif (Cahyawati, 2018). Pada tahun 2012 penyakit kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang di dunia yang meninggal akibat penyakit kanker (Sabrina dan Yuliasuti, 2023). Penyakit ini ditandai dengan pertumbuhan dan perkembangan sel-sel abnormal yang tidak terkontrol dan dapat mengakibatkan kematian (Damai, 2021). Kanker payudara merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru dan penyebab kematian paling tertinggi, yaitu 43,3% dan 12,9% (Kemenkes R1, 2019).

Kanker merupakan masalah kesehatan nomor 1 yang menyebabkan gangguan kesehatan yang serius pada penderitanya. Alasan mengapa jumlah pasien meningkat setiap tahun yaitu karena belum ditemukan pengobatan yang efektif (Cahyawati, 2018). Pada tahun 2012 penyakit kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang di dunia yang meninggal akibat penyakit kanker (Sabrina dan Yuliasuti, 2023). Penyakit ini ditandai dengan pertumbuhan dan perkembangan sel-sel abnormal yang tidak terkontrol dan dapat mengakibatkan kematian (Damai, 2021). Kanker payudara merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru dan penyebab kematian paling tertinggi, yaitu 43,3% dan 12,9% (Kemenkes R1, 2019).

Prevalensi kanker payudara di Indonesia, kanker payudara juga menjadi penyebab kematian utama dengan jumlah 65.858 dan rata-rata 22.430 kematian (Sabrina dan Yuliasuti, 2023). Berdasarkan informasi tersebut, kanker payudara menjadi perhatian serius di bidang kesehatan karena tingginya angka kejadian dan angka kematian. Di Indonesia menduduki peringkat kedua setelah kanker payudara (Kemenkes R1, 2019). Menurut Badan Internasional untuk Penelitian Kanker, kasus kanker telah meningkat dari 12.7 juta pada tahun 2008 menjadi 14.1 juta pada tahun 2012. Jenis kanker yang paling banyak menyerang wanita adalah kanker payudara. Kejadian kanker payudara di Indonesia pada tahun 2012 adalah 43.3% dan kejadian kanker payudara adalah 12,9% (Sari, 2021).

Tanaman secara luas dianggap sebagai obat alternatif untuk kanker karena zat obat yang berasal dari alam dianggap lebih aman daripada zat obat sintetis/kimia. Tanaman Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi L.*) merupakan tanaman berdaun bulat dan banyak duri yang dapat tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia, tinggi tanaman ini dapat mencapai dua meter dan mempunyai banyak manfaat untuk pengobatan. Daun Bidara Arab dapat memperoleh manfaat dari seluruh bagian tanaman daun bidara arab yang banyak dimanfaatkan untuk pengobatan

tradisional seperti akar, kulit kayu, daun, buah dan bijinya (Siregar, 2020).

Berdasarkan penelitian Kusriani, H. Nawawi, A. dan Machter, E. (2015) telah diketahui bahwa ekstrak daun bidara arab dengan pelarut etanol mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, fenolik dan steroid / triterpenoid. Dari penelitian ini juga ditemukan bahwa daun Bidara Arab memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan dengan ekstrak buah dan biji. Menurut penelitian Jannah (2018) pada uji sitotoksik ekstrak etanol pada daun bidara pada sel T47D secara *in vitro* dengan metode MTT *assay* dengan konsentrasi 100, 200, 400, 800, 1600 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan IC_{50} 90,958 ppm. Sedangkan pada penelitian Hendrawati, (2017) pada uji aktivitas daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) sebagai antikanker pada sel kanker kolon (WiDr) melalui metode mtt pada konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,90625; 1,953125 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan nilai IC_{50} 83,459 ppm.

Dari uraian di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian aktivitas sitotoksik ekstrak etanol bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) terhadap sel kanker payudara T47D. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% karena tidak mudah toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Uji sitotoksik dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode MTT *assay*, aktivitas sitotoksik ekstrak dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibition Contration* 50%). Konsentrasi yang akan digunakan dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi sebagai berikut 7,8 $\mu\text{g/mL}$, 15,625 $\mu\text{g/mL}$, 31,25 $\mu\text{g/mL}$, 62,5 $\mu\text{g/mL}$, dan 125 $\mu\text{g/mL}$.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu cawan porselen, gelas ukur, beker gelas, batang pengaduk, waterbath, tabung reaksi, penangas air, rak tabung reaksi, gunting, corong, alumunium foil, mikropipet. ELISA reader (ALLSHENG), sentrifugator (SCIOLOGEX), tabung sentrifus, votex, inkubator CO₂, mikroskop inverted (OPTO-EDU), 96-well plate, yellow tipe dan blue tipe, laminar air flow (LAF), cell counter, hemasitometer, tissue culture dish, blender, pinset, cawan petri, timbangan analitik (OHAUS).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.), etanol 96%, daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.), media T47D, ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.), DMSO, H₂SO₄, besi (III) klorida, asam asetat glasial, serbuk magnesium, larutan ammonia 10%, kloroform, HCl pekat, pereaksi wagner, pereaksi dragendorf, pereaksi mayer, NaCl 0,9%, PBS (Phosphat Buffer Salinne).

FBS (Fetal Bovine Serum), SDS (Sodium Dodecyl Sulphate), tripsin EDTA 0,25%, amphotericin, penicillin streptomisin, MTT 5mg/ml, 5% CO₂, HCl 4M.

Prosedur Kerja

Determinasi Tanaman

Determinasi ini digunakan untuk memastikan atau memvalidasi apakah sampel yang digunakan benar-benar daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*). Sampel tersebut dilakukan determinasi untuk identifikasi awal yang dilakukan di Tanaman dideterminasi di salah satu unit di salah satu unit UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu. Determinasi dilakukan untuk pengamatan secara fisiologis tumbuhan.

Pengumpulan dan Penyiapan Sampel Daun Bidara Arab

Penyiapan sampel daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) ini dilakukan untuk mendapatkan serbuk halus (simplisia). Sampel berupa daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) dikumpulkan lalu dibersihkan dan dicuci supaya bebas dari kotoran. Kemudian daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) dikeringkan dengan menggunakan oven 80°C. Daun yang sudah kering diblender untuk mendapatkan serbuk halus (simplisia).

Ekstraksi daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*)

Ekstraksi ini dilakukan untuk mendapatkan ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) dengan cara serbuk daun bidara sebanyak 500gram disiapkan. Kemudian dilarutkan pada etanol 96% dengan perbandingan 1 : 10 (Ajemain, 2022). Maserasi dilakukan selama 3 hari untuk mendapatkan maserasi yang optimal. Dalam proses maserasi dengan sesekali pengadukan agar penyarian senyawa optimal. Kemudian setelah 3 hari dilakukan penyaringan dengan kain flanel lalu disaring lagi dengan kertas saring agar tidak terdapat endapan yang ikut pada residu. Residu yang diperoleh kemudian dipekatkan di waterbath pada suhu 60°C dengan dilakukan pengadukan berkala setiap 30 menit hingga diperoleh ekstrak kental daun bidara arab (Ajemain, 2022).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) dilakukan dengan cara sebagai berikut (Yasser, 2022): (1) Senyawa flavonoid, sebanyak 0,5gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 5 tetes HCl pekat. Setelah itu ditambah 0,1gram serbuk Magnesium (Mg). Terbentuknya warna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid. (2) Senyawa terpenoid, larutkan ekstrak dengan kloroform. Tambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrat dan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya warna coklat kemerahan, menandakan positif terpenoid. (3) Senyawa saponin, masukkan 0,5–2 mL ekstrak sampel ke dalam tabung reaksi . Tambahkan 10 mL air panas. Kocok selama 10–30 detik.

Amati apakah terbentuk busa yang stabil selama minimal 10 menit (4) Senyawa Tanin, sebanyak 0,5gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu tambahkan 5 mL air panas, kemudian ditetesi dengan 2 tetes FeCl₃ Terbentuknya warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. (5) Senyawa Fenolik, timbang ekstrak sebanyak 0,5 gram. Tambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 5%. Warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru kehitaman, atau hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan fenolik. (6) Senyawa Alkaloid. letakkan sampel sebanyak 3 mL dalam cawan porselin. Tambahkan 5 mL HCl 2 M, aduk, dan dinginkan. Kemudian tambahkan 0,5 g NaCl, aduk, dan saring. Lalu tambahkan 3 tetes HCl 2 M pada filtrat. Jika terbentuk endapan, berarti sampel mengandung alkaloid. (7) Senyawa Steroid, larutkan ekstrak dalam kloroform, tambahkan 5 tetes reagen Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat-H₂SO₄). Jika terbentuk lapisan cincin warna biru atau hijau terdapat steroid.

Uji Bebas Etanol

Ekstrak dinyatakan bebas etanol jika tidak tercium ester ketika ditambahkan asam asetat glasial dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan.

Pembuatan Media

Pembuatan Media Pertumbuhan : Sebanyak 1gram DMEM, 2gram Hepes, dan 2 ram NaHCO₃ dimasukkan ke dalam erlenmeyer, tambahkan 100 mL aquadest steril, homogenkan menggunakan stirrer. Ukur pH 7,2-7,4 dengan pH meter, untuk menyesuaikan pH dapat menggunakan HCl 1 N (bila larutan basa) atau NaOH 1 N (bila larutan asam), tambahkan aquabidest steril sampai 1 liter, lakukan sterilisasi dengan filtervaccum di dalam LAF (Laminar Air Flow), dipasang filteraparatus steril pada botol duran 1 liter steril, lakukan proses penyaringan dengan filter, aliquot media ditampung dalam botol duran 500 ml, dan disimpan pada suhu 2-8°C (Cahyaningrum, 2019).

Pembuatan Media Kultur lengkap (MK): Mencampurkan Fetal Bovine Serum (FBS) 10%, penisilin-streptomisin 2%, fungizone (Amphotericin B) 0,5%, kemudian DMEM ad 100 mL. Dilakukan di dalam LAF (Laminar Air Flow) dan simpan pada suhu 2- 8°C (Cahyaningrum, 2019).

Uji Sitotoksik

Penyiapan Kultur Sel

Pengaktifan Sel, Sel kanker payudara yang sebelumnya disiapkan oleh laboratorium

UGM kemudian dikeluarkan dari freezer (-80°C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam conical tube yang telah berisi 10 mL media RPMI, dinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C , kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 600 rpm selama 5 menit untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media DMEM. Pelet yang terbentuk diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar culture dish dan diinkubasi pada inkubator CO_2 5% selama 24 jam. bila jumlah sel didalam culture dish mencapai 70-85% (konfluen) dilakukan panen sel (Rahardhian, 2016).

Pengembangan Sel, Pemanenan sel T47D dilakukan apabila sel sudah konfluen yaitu meratanya sel sebagai sel T47D sampai menutupi culture dish. Pada tahapan panen sel dilakukan dengan cara membuang media kultur lalu dicuci dengan 5 mL PBS 3 kali untuk melepas sel dari dasar culture dish, ditambahkan tripsin-EDTA 0,25% secara merata untuk melepaskan sifat aderen pada sel dan diinkubasi selama 3-5 menit pada inkubator CO_2 dengan suhu 37°C . Tripsin-EDTA diinaktifkan dengan menambahkan media. Kultur DMEM 5 mL. Kemudian suspensi sel diresuspensi, diamati dibawah mikroskop inverted dan diinkubasi pada inkubator CO_2 dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu buang tripsin- EDTA dan mediana menggunakan pipet.

Setelah itu letakkan sel pada plate 96-well sebanyak $100\ \mu\text{L}/\text{well}$ dan tambahkan medium lengkap yaitu 6 mL. DMEM ditambah FBS 10% 600 ml. Kemudian tambahkan antibiotik penicillin-streptomycin sebanyak $60\ \mu\text{L}$, homogenisasi sumuran yang berisi sel tersebut. Inkubasi kembali pada inkubator CO_2 selama 24 jam hingga diperoleh kepadatan 1×10^4 sel/sumuran. Kemudian sisakan 12 sumuran di bagian bawah untuk kontrol sel dan kontrol media (Rahardhian, 2016).

Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada plate 96-well

Ditimbang sebanyak 50 mg ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*), kemudian dilarutkan dengan $100\ \mu\text{L}$ DMSO, lalu divortex sampai homogen untuk mempercepat pelarutan sampel. Maka diperoleh larutan baku dengan konsentrasi $500\ \mu\text{g}/\text{mL}$. Dari konsentrasi larutan stok tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi larutan $7,8\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $15,625\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $31,25\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $62,5\ \mu\text{g}/\text{mL}$, dan $125\ \mu\text{g}/\text{mL}$. Semua proses pengenceran sampel harus dilakukan dengan menggunakan media kultur DMEM.

Sel diambil dari inkubator, kemudian media dibuang dengan cara membalikkan plate 96-well 180° diatas tempat buangan dan ditekan dan ditekan secara perlahan diatas tisu untuk meniriskan sisa cairan. Tambahkan $100\ \mu\text{L}$. PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali. Lalu sampel dimasukkan sebanyak $7,8\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $15,625\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $31,25\ \mu\text{g}/\text{mL}$,

62,5 µg/mL, dan 125 µg/mL dan inkubasi kembali selama 24 jam.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Tanaman dideterminasi di salah satu unit di salah satu unit UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu. Determinasi ini dilakukan untuk mengetahui kebenaran sampel tanaman, serta bertujuan untuk menghindari kesalahan pada saat pengambilan sampel. Hasil determinasi yang telah dilakukan adalah bidara arab tersebut benar adanya termasuk dalam famili *Euphorbiaceae* dengan spesies *Ziziphus spina-christi* L. Tujuan dilakukan determinasi untuk memvalidasi atau memastikan kebenaran dari identitas tanaman, sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan untuk penelitian.

Ekstraksi Daun Bidara Arab

Ekstraksi daun bidara arab dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan ekstrak kental yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Randemen Ekstrak Daun Bidara Arab

Berat Basah (Gram)	Berat Kering (Gram)	Berat Serbuk (Gram)	Berat Ekstrak (Gram)	Randemen (%)
2 Kg	800 gram	500 gram	64 gram	12,8%

Ekstrak daun bidara arab diperoleh dari proses ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Selama 7 x 24 jam dengan perbandingan 1 : 10 dan diaduk sesekali. Keuntungan metode maserasi utamanya adalah kesederhanaan prosedur dan peralatannya serta tidak memerlukan pemanasan, sehingga cocok untuk senyawa yang tidak tahan panas. Selain itu, maserasi juga dikenal murah dan mudah dilakukan dapat menarik zat aktif yang terkandung dalam sampel (Melinda, *et al.*, 2021). Sedangkan etanol 96% dipilih sebagai pelarut dikarenakan etanol bersifat polar sehingga mampu mengekstraksi senyawa fenolik yang terkandung pada daun bidara arab. Proses ekstraksi maserasi menghasilkan ekstrak sebanyak 64 gram dengan randemen 12,8 %. Hasil randemen yang diperoleh diatas 10%, jumlah rendemen diatas batas minimal menunjukkan kandungan metabolit tersari di dalam ekstrak lebih banyak, hal ini dapat terjadi karena pemilihan pelarut yang tepat untuk zat aktif yang terdapat pada daun bidara arab dengan proses maserasi, metode dan pelarut dalam ekstraksi sangat menentukan bearnnya rendemen yang diperoleh (Ambaro *et al.*, 2020).

Skrining Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk menentukan kandungan

senyawa aktif yang terkandung dalam sampel. Uji fitokimia dilakukan untuk memperkuat adanya kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antikanker. Penelitian ini menggunakan uji kualitatif ekstrak dilakukan sebagai salah satu cara mengidentifikasi metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun bidara arab. Hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak daun bidara arab menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid dan steroid. Hasil positif berikut parameter warna yang terbentuk disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Bidara Arab

NO	Golongan Senyawa	Metode	Hasil	Ket
1	Flavonoid	HCL, Serbuk MG	Merah	+
2	Terpenoid	As.asetatanhidrat, As. Sulfat pekat	Coklat kemerahan	+
3	Saponin	Air panas, kocok	Busa	+
4	Tanin	FeCl ₂	Hijau	+
5	Fenolik	FeCl ₃	Kehitaman Biru/Hijau kehitaman	+
6	Alkaloid	HCL, NaCl	Endapan	+
7	Steroid	Lieberman-Burchard	Lapisan cincin warna biru atau hijau	+

Keterangan : (+) terdapat senyawa metabolit sekunder

Uji Bebas Etanol

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bidara arab tidak mengandung etanol 96% yang terbukti dengan tidak tercium bau ester saat tabung reaksi yang berisi sampel ekstrak etanol daun bidara arab ditambahkan asam asetat glacial dan asam sulfat pekat lalu dipanaskan.

Ekstrak dilakukan di uji bebas etanol dengan tujuan untuk mengetahui masih ada atau tidaknya kandungan etanol yang tertinggal dalam ekstrak sehingga dapat dipastikan bahwa penghambatan poliferasi yang didapatkan murni dari ekstrak daun bidara arab. Berdasarkan uji bebas etanol yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara arab yang diperoleh tidak tercium bau ester, hasil tersebut dapat dikatakan ekstrak sudah bebas dari pelarut etanol. Setelah dilakukan uji bebas etanol kemudian dilakukan identifikasi kandungan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak daun bidara arab.

Metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun bidara arab kemungkinan memiliki mekanisme antiproliferasi, induksi apoptosis, dan meningkatkan sistem imun (Nurmaulawati,

2021). Mekanisme aktivitas anti kanker dari senyawa flavonoid menjadi alternatif dari agen anti kanker melalui berbagai mekanisme seperti inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel, menginduksi apoptosis (Ren *et al*, 2003); (Nurmaulawati, 2021).

Alkaloid, flavonoid, steroid, fenol, dapat menginduksi apotoksis yaitu kematian kanker dengan cara menahan siklus sel meningkatkan fragmentasi DNA (Kerusakan DNA sel kanker). Folifenol dapat mestimulasi enzim antioksidan yang menghambat stresoksidatif salah satu penyebab sel kanker, sehingga poliferasi sel kanker tidak terjadi. Tubuh mengembangkan sistem pertahanan tubuh (sistem imun) dalam melindungi diri dari serangan mikroorganisme patogen. Sistem imun bekerja melibatkan berbagai komponen seluler maupun zat terlarut seperti sitokin, kemokin dan komplemen.

Bila sistem imun tidak bekerja dengan baik maka akan menimbulkan beberapa penyakit seperti misalnya tumor atau kanker. Makrofag memiliki enzim dengan fungsi sitotoksik dan melepas mediator oksidatif seperti superoksida dan oksida nitrit. Makrofag juga melepas TNF- α yang mengawali apoptosis. Makrofag diduga mengenal sel tumor melalui IgG-R yang mengikat antigen tumor. Makrofag dapat memakan dan mencerna sel tumor dan mempresentasikannya ke sel TCD4+. Makrofag merupakan inisiator dan efektor imun terhadap tumor (Tizard, 2004; Baratawidjaya, 2010); (Nurmaulawati, 2021).

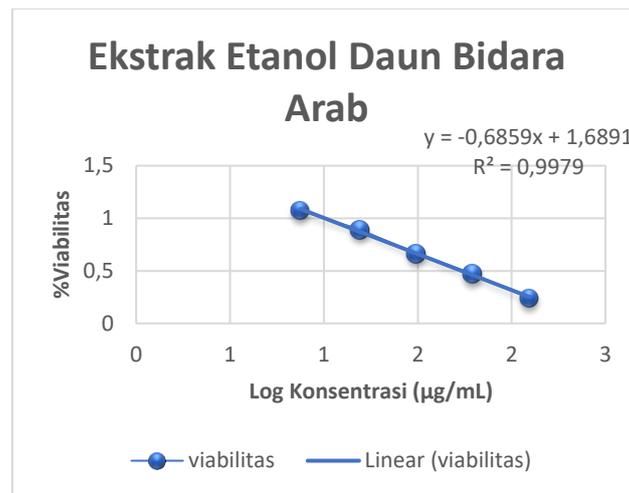
Perhitungan absorbansi dan Viabilitas sel

Hasil pengukuran absorbansi dan viabilitas sel disajikan sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Presentase Viabilitas Sel T47D

Konsentrasi	Absorbansi			Rata Rata	Viabilitas (%)
	1	2	3		
125	0.146	0.175	0,196	0,172	0,238
62,5	0.265	0.281	0.291	0.279	0,469
31,25	0.337	0.375	0.392	0.368	0,662
15,625	0.456	0.468	0.495	0.473	0,889
7,8	0.509	0.568	0.597	0.558	1,073
Kontrol Media	0.062				
Kontrol sel	0.524				

Tahap selanjutnya pembuatan persamaan garis dengan sumbu Y adalah persen viabilitas dan sumbu X adalah konsentrasi, dengan hasil sebagai berikut:



Gambar 1. Kurva Linieritas Konsentrasi Ekstrak Daun Bidara Arab Terhadap Potensi Sel Kanker Payudara T47D.

Penelitian ini menggunakan kultur dari sel kanker payudara manusia T47D. Sel T47D dipilih karena sel tersebut cukup aman digunakan untuk kepentingan kultur, sel tersebut dapat membelah secara tidak terbatas selama memenuhi kondisi lingkungan yang sesuai. Uji sitotoksik dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun bidara arab dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh sel kanker payudara T47D dengan konsentrasi uji 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 15,625 µg/ml, 31,25 µg/mL, dan 7,8 µg/mL. Kontrol media, dan kontrol sel. Hasil sitotoksik dinyatakan dengan parameter *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Uji sitotoksik ini dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode MTT assay.

Metode MTT merupakan pengujian aktivitas sel berdasarkan perubahan warna dari reaksi kolorimetri berdasarkan reaksi reduksi tetrazolium kuning oleh enzim dehidrogenase mitokondria pada sel hidup menghasilkan garam formazan berwarna ungu yang tidak larut, semakin tinggi aktivitas metabolit sel semakin banyak formazan yang terbentuk. Penambahan reagen stopper kemudian diukur absorbansinya menggunakan *elisa reader* pada panjang gelombang 595 nm. Berdasarkan nilai absorbansi dilakukan perhitungan persen viabilitas, kemudian pembuatan persamaan garis regresi linier untuk selanjutnya dilakukan penentuan nilai IC₅₀. Intensitas warna ungu pada 96 plat well MTT assay yang terbentuk jika semakin besar maka menandakan jumlah sel yang hidup semakin banyak, semakin kecil nilai IC₅₀ maka senyawa tersebut semakin toksik dan sebaliknya jika semakin besar harga IC₅₀ maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Maulidia, 2020). Hasil absorbansi Presentase Viabilitas Sel T47D pada tabel 3.

Perhitungan IC₅₀

Perhitungan IC₅₀ didapatkan dari persamaan garis yang telah dibuat sebelumnya, yaitu $y = -0,6859x + 1,6891$, dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol daun bidara arab terhadap sel T47D.

Konsentrasi (µg/mL)	Viabilitas (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
125	0,238	2,574 µg/mL kategori sangat aktif
62,5	0,469	
31,25	0,662	
15,625	0,889	
7,8	1,073	

Berdasarkan pada data tabel 5.4 dapat dihitung kadar yang menyebabkan kematian 50% sel dengan menggunakan Microsoft excel, kemudian dibuat persamaan regresi linier dimana sumbu y adalah persentase viabilitas dan nilai x sebagai nilai log konsentrasi sampel. Persamaan regresi linier yang diperoleh pada penelitian ini yaitu $y = -0,6859x + 1,6891$ dengan nilai $R^2 = 0,9979$. R^2 nilai mendekati 1 artinya ada keterkaitan antara sumbu X dan Y (Marcus, Wattimanela, & Lesnussa, 2012). Berdasarkan data tersebut, dilakukan perhitungan IC₅₀ yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol daun bidara arab terhadap sel kanker payudara T47D. Pada uji sitotoksik yang telah dilakukan diperoleh nilai IC₅₀ 2,574 µg/mL sehingga termasuk kategori sangat aktif.

Ekstrak etanol daun bidara arab menunjukkan pola *dose dependen*, yaitu jumlah sel hidup berkurang seiring tingginya konsentrasi ekstrak yang diberikan sehingga memiliki aktivitas sitotoksik yang mempengaruhi persentase (%) populasi sel T47D yang hidup. Sel dengan penambahan ekstrak etanol daun bidara arab pada konsentrasi tertinggi yaitu 125 µg/mL memiliki persentase viabilitas sel sebesar 0.238% yang artinya pada konsentrasi tersebut menghambat 95,78% sel. Sedangkan pada konsentrasi terendah yaitu 7,8 µg/mL memiliki persentase viabilitas sel sebesar 1,073 yang artinya pada konsentrasi ekstrak etanol daun bidara arab tersebut dapat menghambat 92,754% sel. Pada konsentrasi terkecil sudah menghasilkan persentase sitotoksik yang baik masuk dalam rentang sangat aktif, sehingga jika digunakan untuk formulasi sediaan tidak memerlukan zat aktif yang banyak. Hal ini dapat menjadi pertimbangan kuat untuk menjadikannya alternatif bahan obat kanker dengan formulasi yang sesuai.

Menurut *United State America Nasional Cannser Institute* klasifikasi aktivitas sitotoksik ekstrak terhadap sel kanker dapat digolongkan kategori sangat aktif (≤ 10 µg/mL), aktif (10-100 µg/mL), cukup aktif (100-500 µg/mL) dan tidak aktif (> 500 µg/mL) (Hesti Renggana, 2022) . Dengan ini dapat diartikan bahwa pada konsentrasi tersebut dapat menyebabkan

kematian sel sebesar 50% dari jumlah sel yang diuji, dimana semakin kecil konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan 50% maka senyawa tersebut semakin toksik. Kemampuan ekstrak daun bidara arab yang berpotensi menghambat antikanker diduga karena adanya kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid dan steroid. dalam daun bidara arab. Pada senyawa tersebut dapat menstimulasi aktivitas enzim sehingga menginduksi apoptosis, menghambat proliferasi sel kanker T47D dan meningkatkan sistem imun (Nurmaulawati,2021).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah : (1) Ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder senyawa flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid dan steroid. (2) Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) yaitu 2,574 $\mu\text{g/mL}$, dimana pada kadar tersebut 50% sel kanker payudara T47D mati dan termasuk kategori sangat aktif.

Berdasarkan hasil, pembahasan dan kesimpulan dari penelitian yang dilakukan, maka disarankan pada peneliti selanjutnya untuk : (1) Melakukan uji sitotoksik dari ekstrak etanol daun bidara arab menggunakan sel kanker lain. (2) Melakukan uji pewarnaan ekstrak etanol daun bidara arab menggunakan sel kanker Payudara T47D. (3) Melakukan uji dexo ekstrak etanol daun bidara arab menggunakan sel kanker Payudara T47D.

DAFTAR REFERENSI

- Ajemain, M., et al. (2022). Uji aktivitas ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Paps Journals*, 1(2), 2022. <https://doi.org/10.51577/papsjournals.v1i2.374>
- Ambaro, F. Y., et al. (2020). Prosedur ekstraksi maserasi daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) menggunakan pelarut etanol dan air. *Prosiding Farmasi*, 6(2), 890–893.
- Apriantoro, N. H., & Kartika, Y. (2023). Teknik radioterapi kanker payudara post mastektomi dengan teknik intensity modulated radiation therapy. *Indonesian Journal for Health Sciences*, 7(1). <https://doi.org/10.24269/ijhs.v7i1.5178>
- Ardinimia, S. D., et al. (2023). Review: Bioaktivitas daun bidara (*Ziziphus mauritiana Lamk.*). *Jurnal*, 6(2), 9–18.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>

- Azalia, D., et al. (2023). Uji kualitatif senyawa aktif flavonoid dan terpenoid pada beberapa jenis tumbuhan Fabaceae dan Apocynaceae di kawasan TNGPP Bodogol. *Jurnal Biologi Makassar*.
- Cahyaningrum, Y. A. (2019). Uji sitotoksik ekstrak etanol dan metanol alga *Spirulina platensis* terhadap sel kanker payudara T47D [Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta]. <http://eprints.ums.ac.id/id/eprint/70883>
- Cahyawati, P. N. (2018). Imunoterapi pada kanker payudara. Dalam N. Nareswari, N. Haryoko, & H. Mihardja (Eds.), *Peran terapi akupunktur pada kondisi leukopenia kanker payudara pasien kemoterapi*. *Indonesian Journal of Cancer*, 11(4), 179–188. <https://doi.org/10.33371/ijoc.v11i4.536>
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(4). <https://doi.org/10.24843/JRMA.2019.v07.i04.p07>
- Damai, S. (2021). Hubungan pengetahuan WUS tentang kanker serviks dengan pemeriksaan papsmear. *Jurnal Kesehatan*, 1(1), 26–35. <https://doi.org/10.36741/jks.v1i1.138>
- Desai, S. J., Prickril, B., & Rasooly, A. (2018). Mechanisms of phytonutrient modulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) and inflammation related to cancer. *Nutrition and Cancer*, 70(3). <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1446091>
- Dharmayanti, L. (2022). Kajian konsentrasi ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-cristi* L.) terhadap formulasi sediaan gel hand sanitizer. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, 9(1), 163–175. <https://doi.org/10.52161/jiphar.v9i1.390>
- Diansari Marbun, E., Sapitri, A., & Yuliana Sianipar, A. (2022). Uji antibakteri ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus jujuba* Mill.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis*. *Forte Journal*, 2(1), 32–41. <https://doi.org/10.51771/fj.v2i1.200>
- Hartati. (2016). Ekstraksi gelombang mikro terpenoid daun surian (*Toona sureni* Merr). *Inovasi Teknik Kimia*, 1(2), 98–103. <https://doi.org/10.31942/inteka.v2i2.1945>
- Hendrawati. (2017). Uji aktivitas daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) sebagai antikanker pada sel kanker kolon (WiDr) melalui media MTT dan identifikasi senyawa aktif dengan metode LC-MS. *Jurnal Akuntansi*, 11.
- Hermawati, I. N., et al. (2022). Podcast (Potency of bidara (*Ziziphus mauritiana*) special plant as a destroyer of COVID-19). *Jurnal STIKes Muhammadiyah Ciamis*, 9(1), 8.
- Hesti Renggana, et al. (2022). Sitotoksitas ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap sel kanker prostat DU 145 dengan metode MTT assay. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2), 119–128. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i2.346>
- Ishak, N. I., Kasman, & Chandra. (2019). Effectiveness of lime skin extract (*Citrus amblycarpa*) as natural larvacide *Aedes aegypti* instar III. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*. <https://doi.org/10.30597/mkmi.v15i3.6533>

- Jannah, M. (2018). Uji aktivitas antikanker ekstrak dan fraksi daun bidara laut [Skripsi].
- Kementerian Kesehatan RI. (2019). *Profil Kesehatan Indonesia 2019*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. <https://pusdatin.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Profil-Kesehatan-indonesia-2019.pdf>
- Khairunnisa, P., Ronoatmodjo, S., & Prasetyo, S. (2023a). Faktor-faktor yang mempengaruhi perempuan melakukan pemeriksaan dini kanker serviks: A scoping review. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia*, 6(2). <https://doi.org/10.7454/epidkes.v6i2.6256>
- Khairunnisa, P., Ronoatmodjo, S., & Prasetyo, S. (2023b). Faktor-faktor yang mempengaruhi perempuan melakukan pemeriksaan dini kanker serviks: A scoping review. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia*, 6(2). <https://doi.org/10.7454/epidkes.v6i2.6256>