

**LAPORAN AKHIR  
PENELITIAN DOSEN UTAMA**



**EKSPLORASI SEDIAAN BAHAN ALAM DAN POTENSI PEMANFAATANNYA  
DALAM TERAPI KANKER YANG SPESIFIK DAN EFEKTIF**

**TIM PENGUSUL**

<b>Ketua</b>	<b>: Dr. Maya Tejasari, dr., M.Kes.</b>	<b>(0417077001)</b>
<b>Anggota</b>	<b>: 1.Wida Purbaningsih, dr.,M.Kes</b>	<b>(0411057004)</b>
	<b>2.Zulmansyah, dr.,Sp.A.,M.Kes</b>	<b>(0408077005)</b>
	<b>3.Heni Muflihah, dr.,M.Kes.PHD</b>	<b>(008057801)</b>
	<b>4. Ilham Akbar</b>	<b>(10100116017)</b>
	<b>5. Annida Al Islami M</b>	<b>(10100116101)</b>
	<b>6. Muhammad Badri Zaeru</b>	<b>(10100116015)</b>
	<b>7. Ramdhan Nur Alim</b>	<b>(10100116143)</b>

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN PADA MASYARAKAT  
UNIVERSITAS ISLAM BANDUNG  
SEPTEMBER 2019**

## Halaman Pengesahan

**Judul Penelitian** : Eksplorasi sediaan bahan alam dan potensi pemanfaatannya dalam terapi kanker yang spesifik dan efektif

**Ketua peneliti**

a. Nama Lengkap : DR. MAYA TEJASARI, dr.,M.KES  
b. NIP/NIK : D030377  
c. NIDN : 04170770  
d. Jabatan Fungsional : Lektor  
e. Fakultas/Program Studi : Kedokteran  
f. Nomor HP : 087823299766  
g. Alamat Email : mayatejasari4981@gmail.com / m.tejasari@gmail.com

**Anggota Peneliti**

No	Nama Lengkap	NIDN/NPM	Fakultas/Program Studi
1	WIDA PURBANINGSIH, DR.,M.KES	0411057004	Kedokteran
2	HENI MUFLIAH, DR.,M.KES.,PHD	0008057801	Kedokteran
3	ZULMANSYAH, DR.,SPA.,M.KES	0408077005	Kedokteran
4	MUHAMMAD BADRI ZAERU	10100006015	Kedokteran
5	ANNIDA AL ISLAMI M	10100006101	Kedokteran
6	ILHAM AKBAR	10100006017	Kedokteran
7	RAMDHAN NUR AKIM	10100006143	Kedokteran

Biaya yang diusulkan : Rp. 30.000.000

Bandung, 16 September 2019

Mengetahui,  
Wakil Dekan III Fak. Kedokteran  
Universitas Islam Bandung

Ketua Peneliti



Zulmansyah, dr.,Sp.A.,M.Kes  
NIP/NIK D.11.2.068

DR. MAYA TEJASARI, dr.,M.KES  
NIP/NIK D.03.0.377

Menyetujui,  
Ketua LPPM Universitas Islam Bandung



Prof. Dr. Atie Rachmatie, M.Si  
NIP. 195903301986012002

## RINGKASAN

Penyakit yang saat ini masih menjadi perhatian dan prioritas baik di negara Indonesia maupun di dunia salah satunya adalah kanker. Hal ini disebabkan kanker memiliki kecenderungan resistensi terhadap terapi sehingga morbiditas dan mortalitasnya tetap tinggi. Salah satu usaha untuk menemukan obat baru untuk mengatasi masalah ini adalah melalui eksplorasi senyawa bioaktif dari bahan alam, utamanya tanaman obat yang secara tradisional digunakan masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit.

Bahan organik alami telah sejak lama diketahui sebagai sumber yang potensial, baik yang digunakan secara tradisional maupun moderen untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Penelitian organik bahan alam belakangan ini telah berkembang dengan pesat. Berbagai kajian memahami kaitan struktur molekul dengan aktivitas biologinya terus dilakukan dalam upaya mendapatkan obat baru yang lebih poten.

Keberhasilan terapi standar untuk kanker payudara saat ini masih belum maksimal, serta efek samping dari pengobatan kanker payudara juga belum dapat diatasi. Radioterapi dapat merusak organ disekitarnya, terapi bedah dapat menyebabkan penurunan rasa percaya diri dan membuka jalan metastasis, sedangkan kemoterapi dapat menyebabkan kerusakan ginjal, mual, muntah, dan resistensi. Obat kemoterapi utama untuk kanker memiliki efek samping nefrotosik atau merusak ginjal, supresi *bone marrow*, neurotoksisitas dan menyebabkan muntah dan mual. Belum maksimalnya terapi kanker payudara dan masih banyaknya efek samping serta harga obat yang mahal mendorong para peneliti untuk mencari obat kanker yang efektif dan selektif dari bahan alam.

Penanganan terhadap kanker diberikan berdasarkan pada stadium penyakit kanker dari tiap individu. Dengan adanya *issue back to nature*, penggunaan bahan-bahan alam sebagai obat herbal tradisional cenderung meningkat. Sejumlah penelitian telah membuktikan pengaruh yang positif dari obat herbal sebagai terapi alternatif dan komplementer. Sampai sekarang ini bahkan masih ada kelompok masyarakat yang beranggapan bahwa penggunaan tanaman obat atau obat herbal tradisional lebih aman dibandingkan obat-obat sintetis karena obat-obatan herbal dipercaya tidak memiliki efek samping. Pada kenyataannya setiap obat termasuk

obat herbal dapat memberikan efek yang buruk apabila penggunaannya kurang tepat, termasuk dari segi dosis, cara, dan waktu pemberian sehingga penelitian dasar tentang aktivitas biologi setiap kandidat obat baru penting untuk dilakukan. Obat herbal masih banyak yang belum teregulasi dengan baik yakni belum memiliki pedoman dosis dan cara penggunaan. Padahal banyak efek samping yang dapat terjadi oleh karena pemakaian yang tidak sesuai standar. Daun dewa telah banyak digunakan oleh masyarakat, namun belum ada standar mengenai dosis penggunaan serta belum terdapat penelitian yang meninjau mekanisme kerjanya sebagai dasar target terapi selektif serta efek samping penggunaannya terhadap fungsi organ tubuh.

Pada penelitian ini akan dilakukan eksplorasi efek dan mekanisme antikanker sediaan daun dewa terhadap pertumbuhan sel kanker serta perbandingannya dengan obat standar. Selain itu juga dilakuka uji efek kombinasi daun dewa dengan obat standar.

Penelitian ini dapat menghasilkan kandidat agen antikanker baru untuk terapi kanker khususnya kanker payudara sehingga diharapkan didapatkan kandidat obat yang memiliki efektifitas dan selektifitas tinggi dan efek samping yang rendah. Untuk diseminasi hasil penelitian ini akan dipublikasikan pada jurnal ilmiah dan seminar ilmiah nasional maupun internasional.

## **BAB 1. LATAR BELAKANG**

Kanker merupakan penyakit yang masih tinggi morbiditas dan mortalitasnya di Indonesia maupun di dunia. Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering terjadi pada wanita. Kejadian kanker payudara meningkat tajam di seluruh dunia. Sampai saat ini efikasi kemoterapi untuk kanker belum optimal karena memiliki efek samping dan toksisitas yang tinggi serta terjadi resistensi, oleh karena itu penemuan obat antikanker terus dikembangkan agar memperoleh agen terapi yang lebih sensitif dan spesifik.(1-3)

Salah satu usaha untuk menemukan obat baru adalah melalui eksplorasi senyawa bioaktif dari bahan alam. Obat-obatan herbal sudah digunakan secara luas oleh masyarakat di Indonesia, salah satunya daun *Gynura divaricata* atau daun dewa yang sudah lama dipercaya masyarakat dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit termasuk kanker. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa daun dewa mengandung senyawa-senyawa penting seperti flavonoid, asam fenolat, serebrosida, polisakarida, alkaloid, terpenoid, dan sterol. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun dewa yaitu asam fenolik dan flavonoid tergolong tinggi sehingga daun dewa ini dapat mencegah pembentukan radikal bebas dan berujung pada penghambatan pertumbuhan kanker. Daun dewa telah banyak digunakan oleh masyarakat, namun belum ada standar mengenai dosis penggunaan serta belum terdapat penelitian yang meninjau efek samping penggunaannya terhadap fungsi organ tubuh.(4-8)

Perubahan ekspresi MiRNA-21 telah dilaporkan pada berbagai kanker. pada beberapa kanker ekspresi MiRNA-21 meningkat, seperti pada kanker payudara, paru-paru, pankreas, prostat, lambung, dan otak.(9, 10)

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk melakukan eksplorasi potensi sediaan daun dewa dalam terapi kanker khususnya kanker payudara, perbandingannya dengan obat standar serta uji efek kombinasi daun dewa dengan obat standar.

### **Rumusan masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh pemberian sediaan daun dewa terhadap pertumbuhan sel kanker pada kultur sel kanker payudara?
2. Bagaimana efek kombinasi daun dewa dengan obat standar terhadap pertumbuhan sel kanker pada kultur sel kanker payudara?

### **Tujuan Umum**

Untuk mengeksplorasi potensi, efektivitas dan selektifitas sediaan daun dewa sebagai kandidat obat baru dari bahan alam pada terapi kanker.

Tujuan khusus dilakukannya penelitian ini adalah :

1. Menganalisis pengaruh pemberian sediaan daun dewa terhadap pertumbuhan sel kanker pada kultur sel kanker payudara
2. Menganalisis efek kombinasi daun dewa dengan obat standar terhadap pertumbuhan sel kanker pada kultur sel kanker payudara

### **Urgensi Penelitian**

Kegagalan terapi dan tingginya tingkat kematian yang disebabkan oleh kanker payudara mendorong peneliti untuk mencari obat dari bahan alam yang lebih efektif untuk penderita kanker payudara yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dan memiliki efek samping yang minimal serta menganalisis mekanisme kerjanya untuk menentukan target terapi agar terapi kanker payudara lebih selektif dan efektif.

## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Bahan Alam dan Peranannya dalam Pengobatan**

Bahan organik alami telah sejak lama diketahui sebagai sumber yang potensial, baik yang digunakan secara tradisional maupun modern untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Penelitian organik bahan alam belakangan ini telah berkembang dengan pesat. Penelitian ini dominan diarahkan bagi mendapatkan



senyawa-senyawa organik yang berkhasiat sebagai obat. Ada tiga kegunaan penelitian senyawa organik bahan alam dalam bidang perobatan, yaitu:(11, 12)

1. Senyawa yang telah berhasil diisolasi dari bahan alam (organisme hidup) tersebut dapat langsung digunakan untuk obat tertentu yang berguna
2. Senyawa yang diperoleh tersebut dapat dijadikan bahan asal untuk sintesis obat yang berguna.
3. Senyawa bahan alam dapat dijadikan model senyawa aktif farmakologi dalam sintesis obat tertentu.

Obat-obatan herbal sudah digunakan secara luas oleh masyarakat di Indonesia, salah satunya daun *Gynura divaricata*, atau yang lebih dikenal dengan daun dewa, yaitu tanaman yang sudah lama dipercaya masyarakat dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit, seperti kanker, stroke, rematik, diabetes, hipertensi, hingga wasir. Tanaman ini paling banyak digunakan masyarakat untuk mengobati kanker. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa daun dewa mengandung senyawa-senyawa penting seperti flavonoid, asam fenolat, serebrosida, polisakarida, alkaloid, terpenoid, dan sterol. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun dewa, yaitu asam fenolik dan flavonoid, tergolong tinggi sehingga daun dewa ini dapat mencegah pembentukan radikal bebas oleh sel kanker dan berujung pada penghambatan karsinogenesis.<sup>7,8 (13)</sup>

Polifenol alami termasuk, flavanol, isoflavon, flavon, anthocyanin, katekin, flavanon dan yang lainnya, telah terbukti berpotensi dapat menghambat karsinogenesis.<sup>(11, 14, 15)</sup> Kapasitas senyawa dari bahan alam untuk mengatur sinyal sel diantaranya disebabkan oleh kapasitas mereka untuk (a) bertindak sebagai antioksidan dan regulator redoks atau sifat antioksidan (b) berinteraksi dengan sinyal protein dan (c) berinteraksi dengan membran sel. Mekanisme ini memiliki relevansi yang kritis untuk memahami potensi manfaatnya untuk kesehatan.<sup>(16)</sup>

## **2.1. Kanker Payudara**

Kanker merupakan penyebab kematian utama di dunia dan kanker payudara menduduki urutan pertama. Pada tahun 2004, kematian akibat kanker mencapai 7,4 juta dan pada tahun 2015 diperkirakan menjadi 83,2 juta. Kejadian

kanker payudara terus meningkat secara universal dan dianggap sebagai penyebab kematian kedua pada wanita. (17, 18) Kejadian kanker payudara ini meningkat 20% sejak tahun 2008. (19).

Meskipun mekanisme molekuler yang mempengaruhi risiko terjadinya kanker payudara dan progresi dari penyakit ini belum dapat diketahui secara persis namun aktivasi onkogen yang disebabkan oleh modifikasi genetik (mutasi, amplifikasi atau penyusunan ulang kromosomal) atau oleh modifikasi epigenetik (ekspresi berlebihan) dilaporkan mampu mengarahkan pada terjadinya multiplikasi dan migrasi sel. (20)

Beberapa onkogen telah diketahui mempengaruhi karsinogenesis kanker payudara, diantaranya Ras, c-myc, epidermal growth factor receptor (EGFR, erb-B1), dan erb-B2 (HER-2/neu). Perubahan ekspresi maupun fungsi dari gen supresor tumor seperti BRCA1, BRCA2 dan p53 tidak sepenuhnya bertanggung jawab dalam tingginya prevalensi kanker payudara spontan. Mutasi atau ketiadaan BRCA1 terdapat pada <10% kanker payudara, sementara itu mutasi p53 terjadi pada lebih dari 30% kanker payudara. (20)

Terdapat tiga modalitas terapi kanker, pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Dua per tiga kasus kanker memerlukan kemoterapi untuk penanganannya. Penggunaan agen kemoterapi yang berkepanjangan dapat menimbulkan efek samping dan resistensi dikarenakan kurang selektifnya agen kemoterapi terhadap sel kanker. Fakta-fakta tersebut merupakan penyebab utama kegagalan dalam terapi kanker.

## **2.2. State of The Art**

Daun dewa merupakan tanaman obat yang diketahui memiliki potensi antikanker berdasarkan bukti empiris dan penelitian-penelitian ilmiah. Daun dewa telah banyak digunakan oleh masyarakat, namun belum ada standar mengenai dosis penggunaan serta belum terdapat penelitian yang meninjau mekanisme kerjanya sebagai dasar target terapi selektif serta efek samping penggunaannya terhadap fungsi organ tubuh. dilakukan eksplorasi efek dan mekanisme antikanker sediaan daun dewa terhadap



pertumbuhan sel kanker. Penelitian ini juga akan meneliti efek kombinasi daun dewa dengan obat standar terhadap pertumbuhan sel kanker payudara.

### 2.3. Road Map Penelitian



Rencana Induk Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Islam Bandung (Unisba) adalah Pemanfaatan Hasil Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat bagi Percepatan Pembangunan berkelanjutan di Indonesia dengan enam bidang unggulan yaitu:

1. Optimasi pemanfaatan sumber daya untuk mewujudkan pembangunan berkelanjutan berwawasan lingkungan
2. Pengembangan kepribadian (*character bulding*) dan perubahan perilaku pada level individu, sosial, dan organisasi dlam perspektif Islam
3. Pengembangan bahan alami untuk kebutuhan alat diagnosis, obat, vaksin untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia

4. Rekayasa dan penguatan lembaga untuk meningkatkan daya saing global berbasis wirausaha dan etika Islam
5. Pengembangan model untuk peningkatan pembangunan regional yang berkelanjutan
6. Perlindungan hukum bagi masyarakat dalam memasuki era globalisasi

Penelitian ini memberikan kontribusi pencapaian yang sesuai dengan **point 1 dan point 3 bidang unggulan Renstra LPPM Unisba** yakni **Optimasi pemanfaatan sumber daya untuk mewujudkan pembangunan berkelanjutan berwawasan lingkungan dan Pengembangan bahan alami untuk kebutuhan alat diagnosis, obat, vaksin untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia**. Pada penelitian ini dilakukan eksplorasi terhadap bahan alam yang memiliki potensi dalam pengobatan sehingga selain **sesuai dengan bidang unggulan Renstra LPPM Unisba** juga berperan dalam peningkatan pembangunan di Indonesia khususnya bidang kesehatan dan berkontribusi dalam khasanah *drugs discovery*.

### **BAB 3. METODE**

#### **3.1. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen murni *in vitro* dengan rancangan penelitian acak lengkap. Pengambilan sampel secara acak untuk dimasukan sebagai kelompok eksperimen dan kontrol. Rancangan penelitian menggunakan *simple randomized design* yaitu alokasi perlakuan secara acak untuk dimasukan sebagai kelompok eksperimen dan kontrol (*randomly allocated to groups*).

#### **3.2. Penyiapan Bahan Uji**

Daun dewa (*Gynura divaricata*) diambil dari kebun percobaan Bogor. Simplisia diekstraksi dengan menggunakan pelarut air dan diulang sebanyak 3 kali. Ekstrak yang didapat dipekatkan dengan vakum putar. Rendemen ekstrak kering

dihitung terhadap bobot simplisia kering. Sediaan yang digunakan adalah sediaan daun dewa dalam berbagai konsentrasi. Sedangkan untuk sediaan pembanding digunakan obat standar terapi kanker yang dilarutkan dalam aquabides.

### 3.3. Subjek penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah kultur sel kanker payudara (T47D). Sampel pada uji aktifitas antikanker adalah kultur sel kanker payudara (T47D) berupa 100  $\mu\text{L}$  sel T47D dalam 16 sumuran dengan kepadatan  $1,5 \times 10^6$  sel/mL. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah kultur sel yang tidak terkontaminasi, telah *subconfluent* dan tidak terjadi perubahan morfologi.

Tahap pertama yang dilakukan adalah melakukan pembiakan kultur sel kanker payudara (T47D), tahap kedua adalah melakukan uji antikanker dari dan menentukan konsentrasi  $\text{IC}_{50}$  (dengan Metode MTT) untuk melihat berapakah konsentrasi yang dapat membunuh 50% sel kanker. Tahap ketiga adalah melakukan perlakuan dengan 3 kelompok perlakuan.

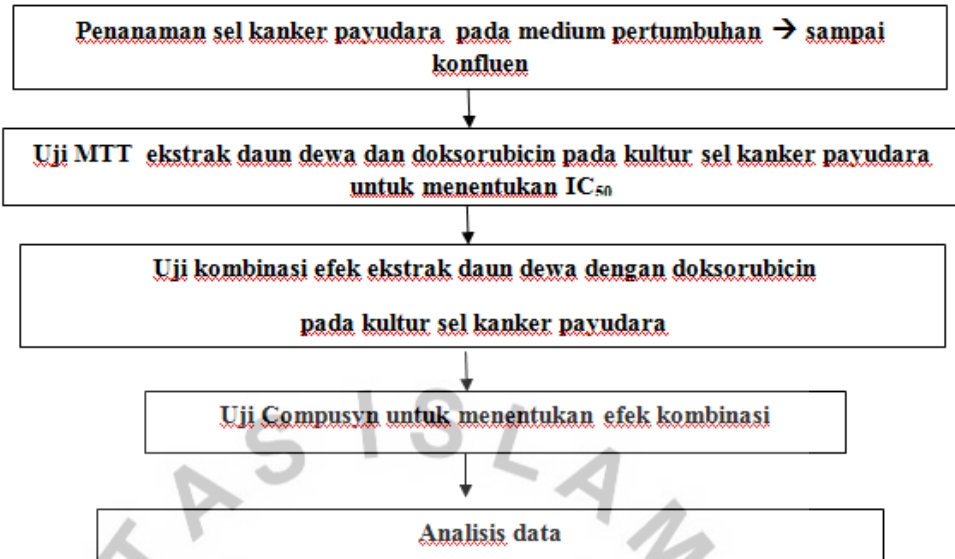
1. Kultur sel T47D dalam RPMI sebagai kontrol
2. Kultur sel T47D dalam RPMI + doxorubicin konsentrasi  $\text{IC}_{50}$
3. Kultur sel T47D dalam RPMI + kombinasi senyawa flavonoid & doxorubicin

### 3.4. Variabel Penelitian

Variabel penelitian pada penelitian ini adalah variabel bebas, variabel terikat dan variabel terkontrol.

- A. Variabel bebas adalah: konsentrasi ekstrak air daun dewa dan konsentrasi doxorubicin
- B. Variabel terikat adalah : viabilitas sel
- C. Variabel terkontrol adalah: temperatur inkubasi, kadar  $\text{CO}_2$ , komposisi medium, waktu inkubasi, tempat inkubasi.

### Tahapan Penelitian



## SUSUNAN ORGANISASI DAN PEMBAGIAN TUGAS PENELITI

No	Nama/NIDN	Institusi Asal	Bidang Ilmu	Alokasi Waktu Jam/minggu	Uraian tugas
1	Maya Tejasari/ 0417077001	Unisba	Biomedik - Histologi	20 jam/minggu	<ul style="list-style-type: none"> <li>o Memimpin pembuatan proposal</li> <li>o Memimpin pembuatan study plann penelitian</li> <li>o Memimpin dan membagi tugas masing-masing peneliti</li> <li>o Memimpin pelaksanaan teknis penelitian</li> <li>o Memimpin evaluasi rutin</li> <li>o Koord pembuatan sediaan</li> <li>o Pengolahan data</li> <li>o Pembuatan laporan</li> </ul>
2	Wida Purbaningsih/ 0411057004	Unisba	Biomedik - Histologi	20 jam/minggu	<ul style="list-style-type: none"> <li>o Pembuatan proposal</li> <li>o Persiapan teknis</li> <li>o Menghubungi instansi terkait</li> <li>o Koordinator persiapan sampel</li> <li>o Koordinator Pendanaan</li> <li>o Pengolahan data</li> <li>o Pembuatan laporan</li> </ul>
3	Zulmausyah/ 0430127005	Unisba	Ilmu Kesehatan Anak	20 jam/minggu	<ul style="list-style-type: none"> <li>o Pembuatan proposal</li> <li>o Koordinator kultur sel</li> <li>o Koordinator perlakuan sel kultur</li> <li>o Koordinator pengamatan thawing dan harvesting</li> <li>o Pengolahan data</li> <li>o Pembuatan laporan</li> </ul>
4	Heni Muflihah 008057801	Unisba	Farmakologi	20 jam/minggu	<ul style="list-style-type: none"> <li>o Pembuatan proposal</li> <li>o Koordinator uji aktivitas zat</li> <li>o Koordinator pengamatan hasil uji</li> <li>o Pengolahan data</li> <li>o Pembuatan laporan</li> </ul>

## Penyiapan daun dewa sebagai bahan uji

Daun dewa (*Gynura divaricata*) diperoleh dari kebun percobaan di kota Bogor dengan berat awal dalam keadaan basah untuk tahap pertama ini adalah 13 kg. Proses ekstraksi daun dewa dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Prodi Farmasi Universitas Islam Bandung. Tahap awal yang dilakukan adalah pembuatan simplisia. Setelah ditimbang, dicuci dan digunting menjadi berukuran kecil, kemudian daun dewa dikeringkan di bawah sinar matahari dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan oven. Selanjutnya dimaserasi dengan menggunakan pelarut air dan diulang sebanyak 3 kali. Hasil akhir diperoleh simplisia daun dewa seberat 0,7kg. Kemudian simplisia dihaluskan menggunakan blender serta dilanjutkan proses ekstraksi dengan sokletasi menggunakan pelarut air. Sampai saat ini proses ekstraksi masih berjalan. (Dokumentasi proses secara rinci terdapat di lampiran)

## Definisi Operasional

Aktivitas sitotoksik ekstrak air daun dewa pada kultur sel kanker payudara (T47D dan MCF-7) sebagai zat uji dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$ .

Analisis sinergisme obat ditentukan dengan menentukan *Combination Index* (CI) / Index Kombinasi.(IK) untuk melihat interaksi obat. Interpretasi sinergisme sesuai Tabel 3.1.

**Tabel 3.1.** *Penentuan Indeks kombinasi*

CI value	Interpretasi
<0.1	Sinergi sangat kuat
0.1-0.3	Sinergi kuat
0.3-0.7	Sinergi
0.7-0.9	Sinergi lemah
0.9-1.1	Aditif
1.1-1.45	Antagonis lemah sedang
1.45-3.3	Antagonis
>3.3	Antagonis sangat kuat

## Alat dan Bahan Penelitian



## 1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk uji *in vitro* yaitu *laminar air flow* (Hood), inkubator 95%, 0.5% CO<sub>2</sub>, pipet sonde, vortex, autoklaf, magnetik stirer, tabung erlemeyer, tabung endorf, spuit *disposable*, pipet pasteur, pipet volumetrik, botol medium, sentrifuge, cawan kultur 98 sumuran, conus, mikroskop cahaya, mikropipet, mikroskop *inverted*, ELISA reader.

## 2. Bahan Penelitian

### a. Senyawa uji

Bahan uji berupa ekstrak air daun dewa dan sebagai kontrol positif digunakan doksorubisin (sigma Chem Co St Louis, USA).

### b. Bahan uji aktivitas sitotoksik pada sel

Sel kanker payudara T47D, Medium RPMI (Sigma Chem Co St Louis, USA), *fetal bovine serum* (Sigma Chem Co St Louis, USA), penisilin, streptomisin (Gibco), fungizon (Gipco), natrium bikarbonat (E Merck) dan kertas saring 0,2 µm (Whatman), *phosphate buffer saline*, (PBS), reagen MTT dan stopper SDS 10%.

## Prosedur Penelitian

Uji pendahuluan untuk aktivitas sitotoksik ekstrak air daun dewa

### 1. Kultur Sel

Sel kanker payudara T47D disuspensi dalam media kultur yang mengandung  $1,5 \times 10^4$  sel /100µL, suspensi dimasukkan kedalam masing masing sumuran (*microwell plate*) 96 dan diinkubasi pada inkubator suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam. Media pertumbuh yang digunakan adalah RPMI, yaitu medium yang digunakan secara luas untuk menumbuhkan sel mamalia, dengan penambahan 10% FBS (*fetal bovine serum*), fungizon 0,5%, dan 1% penisilin-streptomisin.

Larutan senyawa uji selalu dibuat baru sebelum uji aktivitas dilakukan. Larutan stok ekstrak air daun dewa dan doksorubisin yang diujikan pada sel T47D, selanjutnya dibuat berbagai konsentrasi larutan uji mulai 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,906 µg/mL. Sebanyak 100 µL larutan ekstrak dan doksorubisin dari masing masing konsentrasi dimasukkan ke dalam suspensi sel dalam sumuran

96 yang telah diinkubasi terlebih dulu. Sebagai kontrol negatif ditambahkan media kultur sebanyak 100  $\mu$ L ke dalam sumuran. Uji dilakukan secara tripikal untuk tiap perlakuan dan diulangi 3 kali. Kultur yang telah diberi bahan uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator 5% CO<sub>2</sub>.

## 2. Uji Sitotoksik dengan MTT

Setelah diinkubasi media kultur dibuang dan dicuci dengan PBS dan ditambahkan 100 $\mu$ L larutan MTT (1 mL MTT dalam 10 mL, media kultur) ke dalam setiap sumuran dan kemudian diinkubasikan kembali pada suhu 37°C 5% CO<sub>2</sub> selama 4 jam. Setelah 4 jam ditambahkan 100 $\mu$ L *stopper* SDS 10% dalam HCl 0.1 N ke dalam setiap sumuran (untuk melarutkan purple formazan). Kemudian diseker selama 5 menit dan dibungkus rapat dibiarkan dalam suhu kamar semalam. Setelah semalam dalam suhu kamar dilakukan pembacaan absorpsi dengan *microplate* ELISA *reader* pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 595 nm.

## 3. Penetapan Aktivitas Sitotoksik

Dari hasil analisis absorbansi maka dapat dihitung viabilitas sel dengan rumus % hidup (viabilitas) =  $(c-b)/(a-b) \times 100$ . Huruf a adalah absorbansi kontrol sel; b adalah absorbansi kontrol media dan c adalah absorbansi sample. Aktivitas sitotoksik ekstrak ai daun dewa dan doksorubicin dinyatakan dengan nilai *Inhibition Concentration (IC<sub>50</sub>)* yakni konsentrasi yang mampu menghambat pertumbuhan sel hingga 50% yang dihitung menggunakan analisis probit berdasarkan hubungan antara kadar penghambat pertumbuhan sel.

## 4. Uji Kombinasi

Metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi kombinasi obat adalah Isobologram dan Combination Index (CI). Analisis CI menghasilkan suatu nilai parameter kuantitatif yang menggambarkan efikasi kombinasi menggunakan persamaan :  $CI = (D)/(Dx)1 + (D)/(Dx)2$ .

Dx adalah konsentrasi satu senyawa tunggal yang dibutuhkan untuk memberikan efek sebesar efek kombinasi, yaitu IC<sub>50</sub> terhadap pertumbuhan sel

T47D, dan (D)1, (D)2 adalah besarnya konsentrasi kedua senyawa untuk memberikan efek yang sama. Nilai CI digunakan untuk menentukan efek aditif yang diberikan dua kombinasi senyawa, apakah berupa efek sinergis, aditif atau antagonis.

Tahapan pengerjaan:

Seluruh proses dilakukan sesuai protokol “Persiapan Kerja *In Vitro*” di Laboratorium. *Dish* berisi sel diambil dari inkubator CO<sub>2</sub>, kondisi sel diamati di bawah mikroskop. Kultur sel digunakan dalam kondisi 70-80% konfluen untuk dipanen.

Setelah sel dipanen lalu dihitung jumlah sel, untuk uji kombinasi dibutuhkan sebanyak  $5 \times 10^4$  sel/sumuran ( $5 \times 10^4$  sel/100  $\mu$ l media kultur). Pengenceran suspensi sel dibuat sehingga konsentrasi sel akhir  $5 \times 10^3$  sel/100  $\mu$ l media kultur. Setelah itu sel ditransfer ke dalam sumuran, masing-masing 100  $\mu$ l (sesuai desain *plate*) dan setiap kali mengisi 12 sumuran, sel diresuspensi agar tetap homogen. Sebanyak 3 sumuran dibiarkan kosong (jangan diisi sel) untuk kontrol media, keadaan sel diamati dengan mikroskop untuk melihat distribusi sel, didokumentasikan dengan menggunakan kamera dan dipastikan sel dalam setiap sumuran homogen. Sel diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam. Inkubasi ini dilakukan agar sel pulih dan kembali ke keadaan normal (*subconfluent*).

Zat uji dibuat seri konsentrasi sampel dan agen kemoterapi untuk perlakuan dengan seri konsentrasi terdiri dari 4 konsentrasi:  $\frac{1}{2}IC_{50}$ ,  $\frac{3}{8}IC_{50}$ ,  $\frac{1}{4}IC_{50}$ , dan  $\frac{1}{8}IC_{50}$ . *Plate* yang telah berisi sel diambil dari inkubator, lalu media sel dibuang dengan cara *plate* dibalikkan 180° di atas tempat buangan, kemudian *plate* ditekan secara perlahan di atas tisu makan untuk meniriskan sisa cairan. Untuk kelompok perlakuan kombinasi: seri konsentrasi dimasukkan sampel ke dalam sumuran @ 50  $\mu$ l dengan replikasi 3 kali (triplo), kemudian tambahkan seri konsentrasi (doxorubisin/cisplatin) untuk kombinasi @ 50  $\mu$ l. Untuk kelompok perlakuan tunggal: seri konsentrasi dimasukkan sampel atau agen kemoterapi (EPI) ke dalam sumuran @ 50  $\mu$ l dengan replikasi 3 kali (triplo), kemudian ditambahkan @ 50  $\mu$ l media kultur ke dalam sumuran. Untuk kontrol sel: media kultur ditambahkan ke dalam sumuran yang berisi sel @ 100  $\mu$ l dengan replikasi 3 kali (triplo). Untuk

kontrol media: media kultur ditambahkan ke dalam sumuran yang kosong (tanpa sel) @ 100µl dengan replikasi 3 kali (triplo).

Sel di inkubasi di dalam incubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam, menjelang akhir waktu inkubasi, sel didokumentasikan dengan kamera untuk melihat kondisi sel pada setiap perlakuan. Stok MTT 5 mg/mL dibuat dengan cara 50 mg serbuk MTT ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL PBS (dengan bantuan vortex). Reagen MTT dibuat untuk perlakuan (0,5 mg/mL) dengan cara diambil 1 mL stok MTT 5 mg/mL lalu diencerkan dengan media kultur ad 10 mL.

Media sel dibuang lalu sebanyak 100 µl reagen MTT 0,5 mg/mL ditambahkan ke setiap sumuran, termasuk kontrol media. Sel diinkubasi selama 2-4 jam di dalam inkubator sampai terbentuk kristal formazan yang ungu. Setelah 2-4 jam, kondisi sel diperiksa dengan mikroskop *inverted*. Jika formazan telah jelas terbentuk, ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam HCl 0,1 N. *Plate* dibungkus dengan kertas atau aluminium foil lalu diinkubasikan di tempat gelap dan suhu kamar selama semalam dalam suhu ruangan. Keesokan harinya, *plate* diseker selama 10 menit untuk melarutkan formazan. Absorbansi sel diperiksa dengan ELISA *reader*. ELISA *reader* dihidupkan dan tunggu proses *progressing* hingga selesai. Pembungkus *plate* dan tutup *plate* dibuka, lalu *plate* dimasukkan ke dalam ELISA *reader*.

Absorbansi masing-masing sumuran dibaca dengan ELISA reader dengan  $\lambda=550-600$  nm ( $\lambda$  595 nm) dengan cara tekan tombol START. Setiap kali pembacaan di ELISA *reader*, catat di buku catatan pemakaian ELISA reader. Prosentase sel hidup dihitung lalu data dianalisis dan diinterpretasi. Analisis dan Interpretasi Data. Nilai CI (*Combination Index*). Lihat Analisis dan Interpretasi Data.

---

$$\text{Cell viability (\%)} = A \text{ trea.}$$

$$A \text{ kontrol media} \times 100\%$$

$$A \text{ kontrol sel} - A \text{ kontrol media}$$

## **BAB 4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN**

Luaran jangka panjang dari penelitian ini adalah ditemukannya strategi terapi baru untuk pengobatan kanker payudara serta agen terapi baru dengan target terapi yang lebih terarah. Luaran lain dari penelitian ini adalah publikasi ilmiah di jurnal terakreditasi nasional dan internasional, presentasi di forum ilmiah internasional maupun nasional.

Luaran yang sudah dicapai dari penelitian ini adalah berupa Artikel ilmiah yang akan dipresentasikan di Seminar Internasional yaitu Medical and Global Health Research Symposium (MoRes) yang akan diselenggarakan pada 22-23 Oktober 2019 dengan judul " Cytotoxic Activities Comparison Between Gynura divaricata Extract and Doxorubicin on Carcinoma Mammae Cell Culture (T47D)" yang akan diterbitkan dalam Prosiding Internasional terindex Scopus .(Abstrak terlampir)

Target dari penemuan ini adalah mendapatkan obat antikanker untuk kanker payudara yang dapat berfungsi membunuh sel kanker, menghambat penyebaran (invasif dan metastasis), serta tidak bersifat toksik untuk sel normal sehingga memiliki efek samping yang minimal. Selain itu, diharapkan penemuan ini juga dapat berdampak baik pada tingkat perekonomian Indonesia baik dalam bidang kesehatan maupun sektor industri obat.

## **BAB 5. HASIL YANG DICAPAI**

### **5.1. Hasil Penelitian dan Pembahasan**

Penelitian ini ditujukan untuk menguji bahan aktif dari tanaman sebagai model ideal agen terapi kanker yang potensial yaitu senyawa bioaktif dari bahan alam yang memiliki potensi untuk membunuh sel kanker. Pada tahap ini hal tersebut dilakukan melalui uji sitotoksik ekstrak air daun dewa terhadap kultur sel kanker payudara serta perbandingannya dengan aktivitas sitotoksik obat standar untuk kanker.

Adapun bahan yang diuji meliputi ekstrak air daun dewa, sedangkan obat standar untuk kanker yang digunakan adalah doxorubicin untuk perbandingan. Tujuan dari Uji sitotoksik adalah untuk mengeksplorasi aktivitas anti kanker dari

bahan yang diuji yang dalam penelitian ini yang dinilai adalah aktivitasnya terhadap sel kanker payudara. Pemeriksaan dilakukan menggunakan metoda MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromide*)

### **Penumbuhan sel kanker payudara T47D cell line**

Prosedur kultur sel T47D dilakukan sesuai dengan protokol standar dari ATCC. Pasase (P1) hingga P5 Kultursel T47D pada penelitian ini memerlukan waktu 10 hari untuk sampai pada tahap konfluens namun pasase selanjutnya berlangsung lebih cepat untuk sampai konfluens yaitu 4–5 hari. Gambaran pertumbuhan sel T47D diobservasi menggunakan inverted microscopy dapat dilihat pada gambar 5.1 berikut :



A : 2 hari (pembesaran 1000x)

B : 5 hari konfluens (pembesaran 1000x)

**Gambar 5.1. Kultur Sel T47D**

Rasio kultivasi untuk penelitian ini disesuaikan dengan rekomendasi ATCC yaitu 1:4 sampai 1:6. Proses subkultur dilakukan sampai jumlah persediaan sel diperhitungkan mencukupi untuk seluruh tahapan penelitian.



## Uji Aktivitas Sitotoksik Terhadap *T47D Cell Line* Metode *MTT (3-4-5-dimethylthiazol-2-yl-2,5-difenil tetrazolium bromide)*

Pemeriksaan aktivitas sitotoksik ekstrak air daun dewa dilakukan terhadap kultur *T47D cell line* dengan metoda MTT. Absorbansi tiap sumuran diukur dengan *spectrophotometer microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Hasil absorbansi masing-masing kemudian dihitung menggunakan rumus di bawah ini untuk membuat kurvsitotoksik.

$$\text{Survival sel} = \frac{\text{Abs sampel} - \text{Abs blank}}{\text{Abs kontrol} - \text{Abs blank}} \times 100\%$$

Perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan analisis Probit dengan perangkat lunak SPSS. (Hasil perhitungan terlampir)

Berdasarkan kurva sitotoksik pada kultur sel *T47D* diperoleh nilai IC<sub>50</sub> senyawa ekstrak air daun dewa sebesar 102,32 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun dewa ini memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara. Untuk menilai kekuatannya kemudian dilakukan perbandingan dengan IC<sub>50</sub> obat standar yaitu doxorubicin. Berdasarkan kurva sitotoksik pada kultur sel *T47D* diperoleh nilai IC<sub>50</sub> doxorubicin sebesar 10,30 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antikanker ekstrak air daun dewa tidak sekuat doxorubicin.

Dalam pengembangan obat antikanker baru sebagai kandidat agen terapi kanker, evaluasi preklinik merupakan salah satu hal yang penting untuk mengetahui potensi aktivitas sitotoksiknya. Evaluasi ini tidak hanya digunakan untuk obat-obat antikanker, tetapi juga untuk obat-obat lainnya, kosmetik, zat tambahan makanan, pestisida dan lainnya. Evaluasi yang telah terstandarisasi untuk menentukan apakah suatu material mengandung bahan yang toksik secara biologis disebut uji sitotoksik.

Uji sitotoksik digunakan sebagai skrining tahap awal untuk mengetahui pengaruh suatu bahan alam dalam menghambat pertumbuhan sel tumor. Suatu senyawa dianggap aktif bila mampu menghambat pertumbuhan 50% populasi sel tumor pada konsentrasi tertentu. Syarat yang harus dipenuhi untuk sistem uji sitotoksitas di antaranya adalah sistem pengujian harus dapat menghasilkan kurva dosis-respon yang reproduibel dengan variabilitas yang rendah, kriteria respon harus menunjukkan hubungan linier dengan jumlah sel serta informasi yang didapat dari kurva dosis-respon harus sejalan dengan efek yang muncul. Salah satu metode yang

umum digunakan untuk menilai aktivitas sitotoksik ini adalah metode MTT. Suatu ekstrak dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik kuat bila mampu menghambat pertumbuhan 50% populasi sel pada konsentrasi di bawah 200  $\mu\text{g/mL}$  ( $\text{IC}_{50}$  : 200  $\mu\text{g/mL}$ ). (Fajarningsih dkk, 2008; Adina, dkk 2009)

Pada penelitian ini hasil uji sitotoksik senyawa ekstrak air daun dewa terhadap sel kanker payudara *T47D cell line* dengan metode MTT menghasilkan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 102,32  $\mu\text{g/mL}$ . Dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  ini dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid dari minyak daun cengkih ini termasuk katagori senyawa aktif dengan potensi antikanker yang kuat, sehingga senyawa ini dapat digunakan pada uji-uji selanjutnya dalam evaluasi preklinik untuk meneliti potensi antikanker dan menganalisis mekanisme kerjanya dengan menggunakan acuan nilai  $\text{IC}_{50}$  tersebut. Nilai  $\text{IC}_{50}$  ini lebih lemah dibandingkan dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  senyawa yang diisolasi dari teh hijau sebesar 57,53 serta penelitian lain dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  65,7 pada sel kanker payudara manusia Hs579T. (Muharni, dkk 2009).

Hasil perbandingan ini tidak mempengaruhi kemampuan ekstrak air daun dewa sebagai kandidat anti kanker yang poten terutama dari sisi selektifitasnya karena doxorubicin memiliki  $\text{IC}_{50}$  yang rendah terhadap sel normal sehingga pemberian obat tersebut menimbulkan efek samping berupa kerusakan sel normal. Selain itu bentuk sediaan daun dewa berupa ekstrak air yang belum dimurnikan sehingga standar  $\text{IC}_{50}$  nya lebih besar untuk menilai kekuatannya karena ekstrak masih mengandung sangat banyak zat aktif.

#### **Uji aktivitas sitotoksik kombinasi ekstrak daun sirsak dengan doxorubicin**

Uji kombinasi bertujuan untuk memperoleh kombinasi obat dengan dosis yang lebih rendah namun memiliki hasil yang efektif sehingga dapat mengurangi kemungkinan efek samping yang berat.

Berdasarkan nilai  $\text{IC}_{50}$  masing-masing bahan uji, maka konsentrasi ekstrak air daun dewa yang digunakan pada uji kombinasi adalah: 51,16  $\mu\text{g/mL}$ , 38,37  $\mu\text{g/mL}$ , 25,58  $\mu\text{g/mL}$  dan 12,79  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan konsentrasi doxorubicin adalah : 5,15  $\mu\text{g/mL}$ , 3,86  $\mu\text{g/mL}$ , 2,57  $\mu\text{g/mL}$  dan 1,29  $\mu\text{g/mL}$ . Efek sinergi obat diukur menggunakan isobologram dengan mengukur indeks kombinasi/IK (*combination*

*index/CI*) dengan *software* CompuSyn. Hasil uji sitotoksik kombinasi ekstrak air daun dewa dan doxorubicin dapat dilihat dalam Tabel 5.1, Tabel 5.2, dan Tabel 5.3.

**Tabel 5.1 Efek Ekstrak air daun dewa terhadap Kultur Sel T47D**

Dosis $\mu$ g/mL	Viabilitas(%)
51,16	89
38,38	92
25,38	89
12,79	89

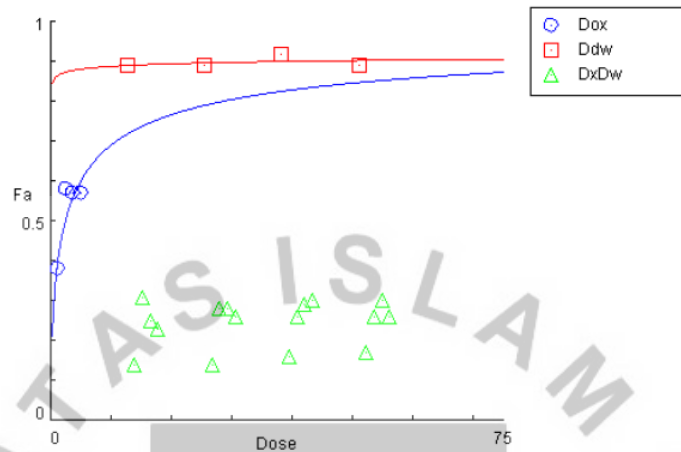
**Tabel 5.2 Efek Doxorubicin terhadap Kultur Sel T47D**

Dosis $\mu$ g/mL	Viabilitas (%)
5,15	57
3,86	57
2,57	58
1,29	38

**Tabel 5.3 Nilai Indeks Kombinasi (IK) Ekstrak Air Daun Dewa dan Doxorubicin terhadap Sel T47D**

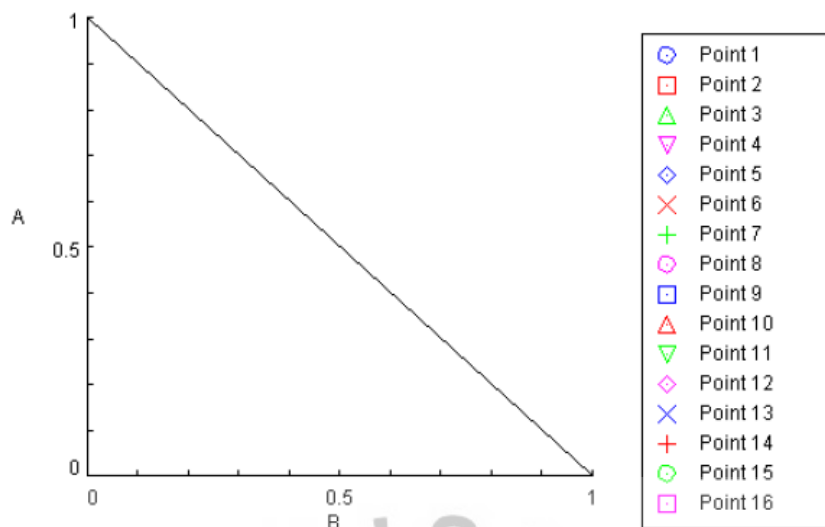
Konsentrasi Daun Dewa $\mu$ g/mL	Konsentrasi Doxorubicin $\mu$ g/mL	Viabilitas %	IK (indeks kombinasi)
5,15	51,16	26	2,8
5,15	38,37	30	2,8
5,15	25,58	26	1,4
5,15	12,79	23	3,7
3,86	51,16	30	3,8
3,86	38,37	29	4,6
3,86	25,58	28	5,1
3,86	12,79	25	1,2
2,57	51,16	26	2,8
2,57	38,37	26	2,1
2,57	25,58	28	5,1
2,57	12,79	31	5,9
1,29	51,16	16	6,8
1,29	38,37	17	1,0
1,29	25,58	14	3,4
1,29	12,79	14	1,7

Kurva dosis-efek ekstrak air daun dewa dan doxorubicin serta kombinasinya pada kultur sel T47D dapat dilihat pada Gambar 5.3, sedangkan nilai IK dari kombinasi ekstrak air daun dewa dan doxorubicin dapat dilihat dari normalisasi isobologram dapat dilihat pada Gambar 5.4.



**Gambar 5.3. Kurva sitotoksik kombinasi ekstrak air daun dewa dan doxorubicin**

- Kelompok T47D yang diberi ekstrak air daun dewa
- Kelompok T47D yang diberi Doksorubisin
- △ Kelompok T47D yang diberi ekstrak air daun dewa Doksorubisin



**Gambar 5.4.** Kurva Normalisasi Isobologram Kombinasi Ekstrak Air Daun Dewa dan Doxorubicin

Berdasarkan Tabel 5.3 dan Gambar disimpulkan bahwa konsentrasi kombinasi yang menghasilkan viabilitas sel paling rendah (14%) adalah kombinasi konsentrasi ekstrak air daun dewa 1,29 $\mu$ g/mL dan doxorubicin 12,79 $\mu$ g/mL. Sedangkan Gambar 5.4 menunjukkan bahwa sebagian besar kombinasi ekstrak air daun dewa dan doxorubicin bersifat aditif hingga antagonis kuat. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak air daun dewa dan doxorubicin bekerja saling menurunkan efeknya sehingga tidak sesuai jika diberikan dalam bentuk kombinasi dan lebih kuat aktivitas anti kanker nya jika diberikan pemberian secara tunggal.

## **BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN**

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian sampai tahap ini adalah :

1. Ekstrak air daun dewa (*Gynura divaricata*) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara yang bersifat lebih lemah dibandingkan doxorubicin pada pemberian tunggal

2. Kombinasi ekstrak air daun dewa (*Gynura divaricata*) bersifat aditif hingga antagonis kuat dengan doxorubicin pada sel kanker payudara sehingga lebih baik diberikan secara tunggal

## DAFTAR PUSTAKA

1. Solomon VR, H L. 2012. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Anti-breast cancer activity of heteroaryl chalcone derivatives;66(3):213-20.
2. Kim T-H, Seo WD, Ryu HW, Seo HR, Jin YB, Lee M, et al. Anti-tumor effects by a synthetic chalcone compound is mediated by c-Myc-mediated reactive oxygen species production. *Chemico-biological interactions*. 2010;188(1):111-8.
3. Osborne CK, R. S. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Annual review of medicine*. 2011;62:233-47.
4. Xu. BQ, Zhang.YQ. Bioactive Components of *Gynura Divaricata* and its Potential Use In Health, Food and Medicine:A Mini Review. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2017;14 (3):113-27.
5. Jinnan Li , Jinlei Feng, Hong Wei, Qunying Liu, Ting Yang, Shengpan Hou, et al. The Aqueous Extract of *Gynura divaricata* (L.) DC. Improves Glucose and Lipid Metabolism and Ameliorates Type 2 Diabetes Mellitus *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018.
6. Chunpeng W. Isolation and identification of phenolic compounds from *Gynura divaricata* leaves. *Pharmacognocny Magazine*. 2011;7(26):101-8.
7. Li WL, BR R. The Anti-Hyperglycemic Effect of Plants in Genus *Gynura* Cass. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2017;37(5).
8. Jiangseubchatveera N, Liawruangrath B, S L. The chemical constituents and biological activities of the essential oil and the extracts from leaves of *Gynura divaricata* (L.) DC. growing in Thailand2015.
9. Chan JA, Krichevsky AM, KS K. . MicroRNA-21 Is an Antiapoptotic Factor in Human Glioblastoma Cells. *Cancer Resaacrjournal*. 2005;14:6029-34.
10. Gaur A, Jewell Da, Liang Y, Ridzon D, Moore JH, Chen C, et al. Characterization of microRNA expression levels and their biological correlates in human cancer cell lines. *Cancer Resaacrjournal*. 2007;67(6):2456-68.
11. Song Y, Zhang A, Yan G, Han Y, Wang X. Pant-derived natural products as leads to anti-cancer drugs. *JMedPlant HerbTherRes*. 2014;6(15).
12. Accomando S, Pellitteri V, Corsello G. Natural polyphenols as anti inflammatory agents. *Fornt Biosci*. 2010;2:318-31.
13. Meiyanto E, Susilowati S, Tasminatun S, R. M. Chemopreventive effect of ethanolic extract of *Gynura procumbens* (Lour), Merr on the carcinogenesis of rat breast cancer development. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 2007:154-61.
14. Rodriguez ML, Estrela JM, Ortega AL. Natural Polyphenols and Apoptosis Induction in Cancer Therapy. *J Carcinogene Mutagene*. 2013;S6(004).
15. Batra P, Sharma AK. Anti-cancer potensial of flavonoids: recent trends and future perspective. *Biotech*. 2013;3:439-59.



16. Fraga CG, Oteiza PI. Dietary flavonoids : Role of (-)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology & Medicine*. 2011;51:813-23.
17. Hery C, Ferlay J, Boniol M, P. A. Changes in breast cancer incidence and mortality in middle-aged and elderly women in 28 countries with Caucasian majority populations. *Annals of oncology*. 2008;19(5):1009-18.
18. Jemal A, Brey F, Mellisa M, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global Cancer Statistics. *Ca Cancer J Clin*. 2011(61):69-90.
19. Bianco S, N. G. Endocrine resistance in breast cancer: from cellular signaling pathways to epigenetic mechanisms. . *Transcription*. 2012;3(4):165-70.
20. Bouker KB, Skaar TC, Riggins RB, Harburger DS, Fernandez DR, Zwart A, et al. Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) exhibits tumor suppressor activities in breast cancer associated with caspase activation and induction of apoptosis. *Carcinogenesis*. 2005;26(9):1527-35.



# Cytotoxic Activities Comparison Between *Gynura divaricata* Extract and Doxorubicin on Carcinoma Mammae Cell Culture (T47D)

Wida Purbaningsih (a), Heni Muflihah (b), Zulmasyah(d), L Yuniarti (c), M Tejasari (a)

a) Histology Department, Faculty of Medicine, Universitas Islam Bandung

b) Farmacology Department, Faculty of Medicine, Universitas Islam Bandung

c) Biochemistry Department, Faculty of Medicine, Universitas Islam Bandung

d) Pediatric Department, Faculty of Medicine, Universitas Islam Bandung

Corresponding author: m.tejasari@gmail.com

**Abstract.** In the development of new drugs as candidates for cancer therapy agents, cytotoxic testing is needed as an initial screening to determine the effect of a natural substance in inhibiting tumor cell growth. One of the active compounds of flavonoid derivatives that are being studied as anticancer is a compound derived from *Gynura divaricata* extract. The purpose of this study was to determine the cytotoxic activity of flavonoid compounds from *Gynura divaricata* water extract on carcinoma mammae cell culture (T47D) and make comparisons with standard drugs for cancer therapy. Examination of cytotoxic activity was carried out on T47D cell line culture used MTT method. The absorbance of each well was measured with spectrophotometer at a wave length of 595 nm. The absorbance results was calculated to create a cytotoxic curve used Probit analysis. Based on the cytotoxic curve, IC<sub>50</sub> values of *Gynura divaricata* extract and doxorubicin were 102,32 µg/mL and 10,30 µg/mL respectively. Those showed that *Gynura divaricata* water extract have anti-cancer activity (IC<sub>50</sub> < 200 µg/mL) against carcinoma mammae cells culture (T47D) compare to doxorubicin. It was concluded that *Gynura divaricata* water extract were shown to have anticancer activity on carcinoma mammae cells culture (T47D), but not as strong as doxorubicin.

**Keywords:** *Gynura divaricata*, cytotoxic activity, carcinoma mammae

# CompuSyn Report

**Experiment Name:** DOXDEWA T47D  
**Date:** 17/09/2019  
**File Name:** D:\compusyn\LPPM\DOXDEWAT47D.cse  
**Description:** Uji kombinasi doxorubicin dan ekstrak air daun dewa pada sel kanker payudara T47D  
**Drug:** Doxorubicin (Dox ) [K4]  
**Drug:** Ekstrak Daun Dewa (Ddw) [K4]  
**Drug Combo:** Kombinasi Doxorubicin dan ekstrak air daun dewa (DxDw) (Dox +Ddw)

---

Data for Drug: Dox [K4]

Dose	Effect
------	--------

5.15	0.57
------	------

3.86	0.57
------	------

2.57	0.58
------	------

1.29	0.38
------	------

4 data points entered.

**X-int:** 0.37798

**Y-int:** -0.2122 +/- 0.12083

**m:** 0.56149 +/- 0.23800

**Dm:** 2.38768

**r:** 0.85770

---

Data for Drug: Ddw [K4]

Dose	Effect
------	--------

51.158	0.89
--------	------

38.37	0.92
-------	------

25.58	0.89
-------	------

12.79	0.89
-------	------

4 data points entered.

**X-int:** -8.1416

**Y-int:** 0.80298 +/- 0.28606

**m:** 0.09863 +/- 0.19467

**Dm:** 7.22E-9

**r:** 0.33725

---

Data for Non-Constant Combo: DxDw (Dox +Ddw)

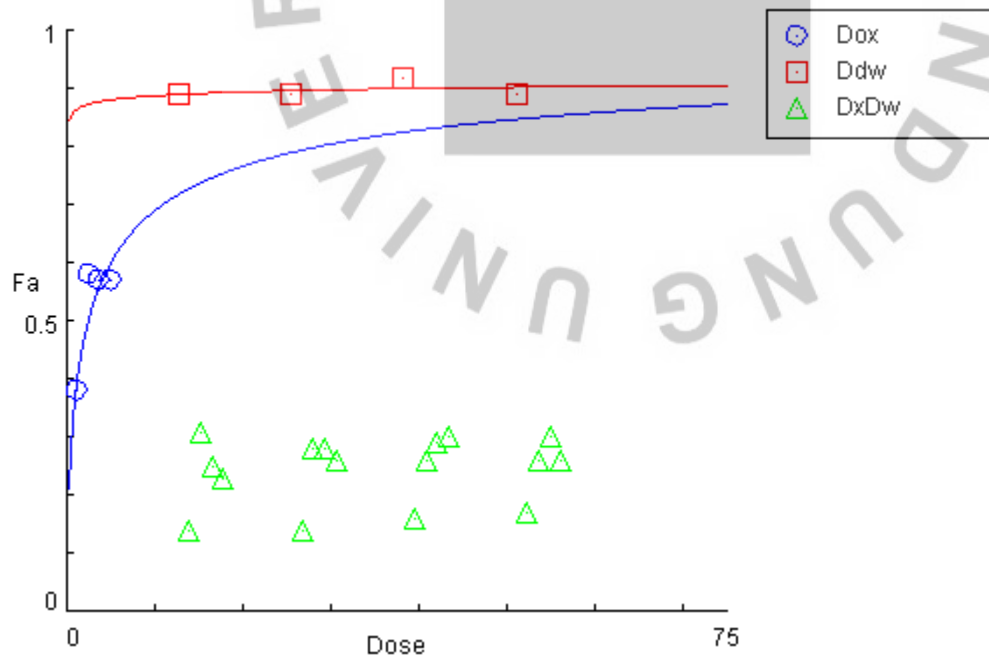
Dose Dox	Dose Ddw	Effect
----------	----------	--------

**Dose Dox Ddw Effect**

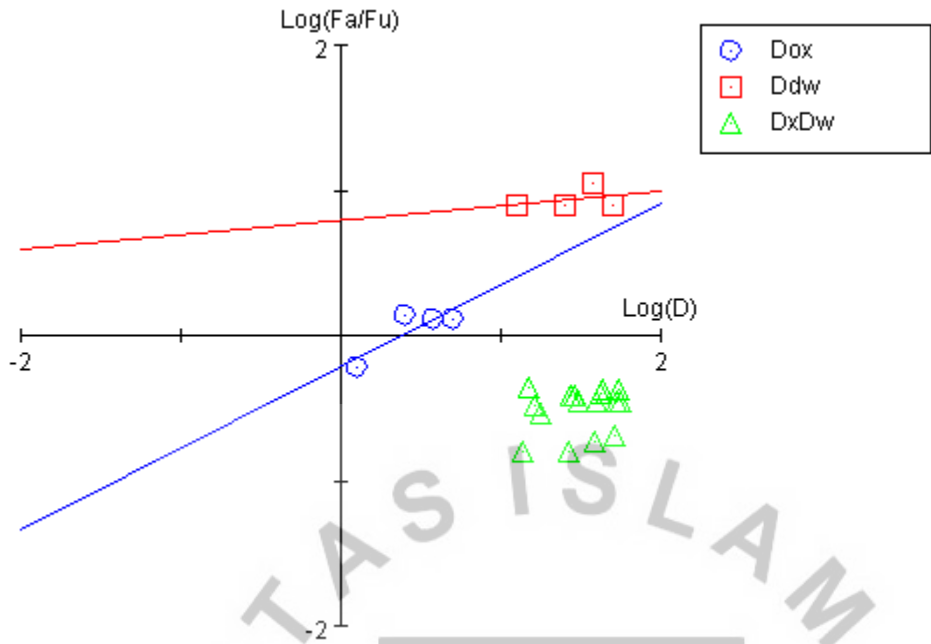
Dose	Dox	Ddw	Effect
5.15	51.16	0.26	
5.15	38.37	0.3	
5.15	25.58	0.26	
5.15	12.79	0.23	
3.86	51.16	0.3	
3.86	38.37	0.29	
3.86	25.58	0.28	
3.86	12.79	0.25	
2.57	51.16	0.26	
2.57	38.37	0.26	
2.57	25.58	0.28	
2.57	12.79	0.31	
1.29	51.16	0.17	
1.29	38.37	0.16	
1.29	25.58	0.14	
1.29	12.79	0.14	

16 data points entered.

**Dose-Effect Curve**



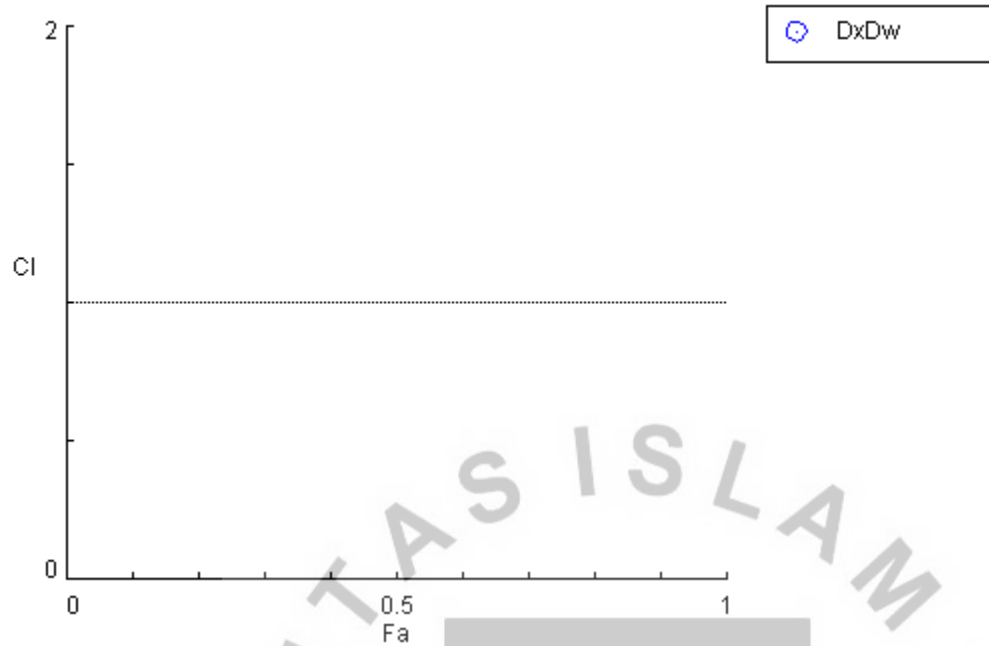
Median-Effect Plot



CI Data for Non-Constant Combo: DxDw (Dox +Ddw)

Dose Dox	Dose Ddw	Effect	CI
5.15	51.16	0.26	2.86E14
5.15	38.37	0.3	2.86E13
5.15	25.58	0.26	1.43E14
5.15	12.79	0.23	3.71E14
3.86	51.16	0.3	3.82E13
3.86	38.37	0.29	4.66E13
3.86	25.58	0.28	5.11E13
3.86	12.79	0.25	1.22E14
2.57	51.16	0.26	2.86E14
2.57	38.37	0.26	2.15E14
2.57	25.58	0.28	5.11E13
2.57	12.79	0.31	5.91E12
1.29	51.16	0.17	6.80E16
1.29	38.37	0.16	1.07E17
1.29	25.58	0.14	3.49E17
1.29	12.79	0.14	1.75E17

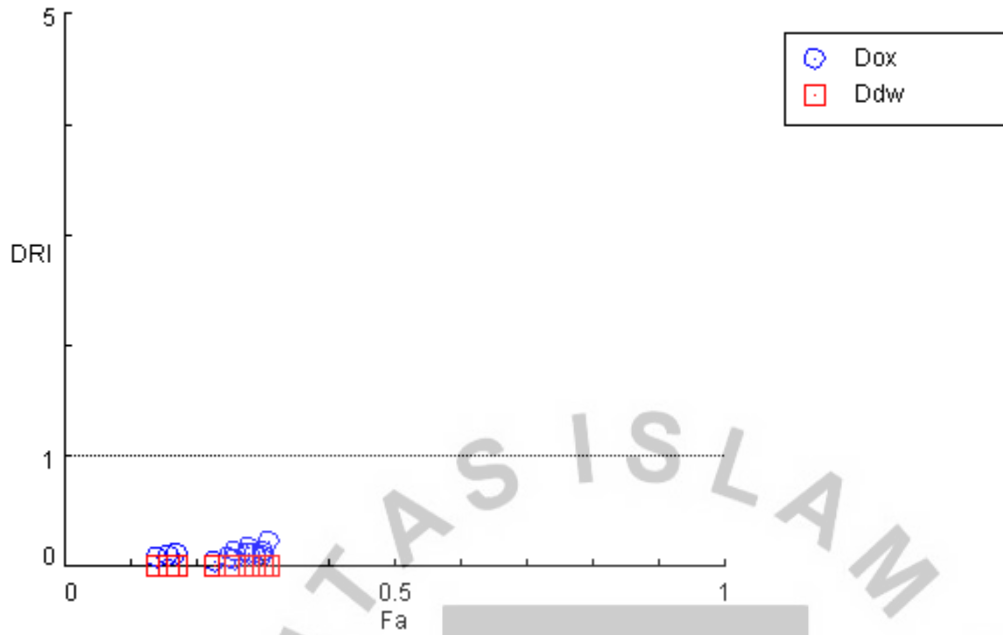
### Combination Index Plot



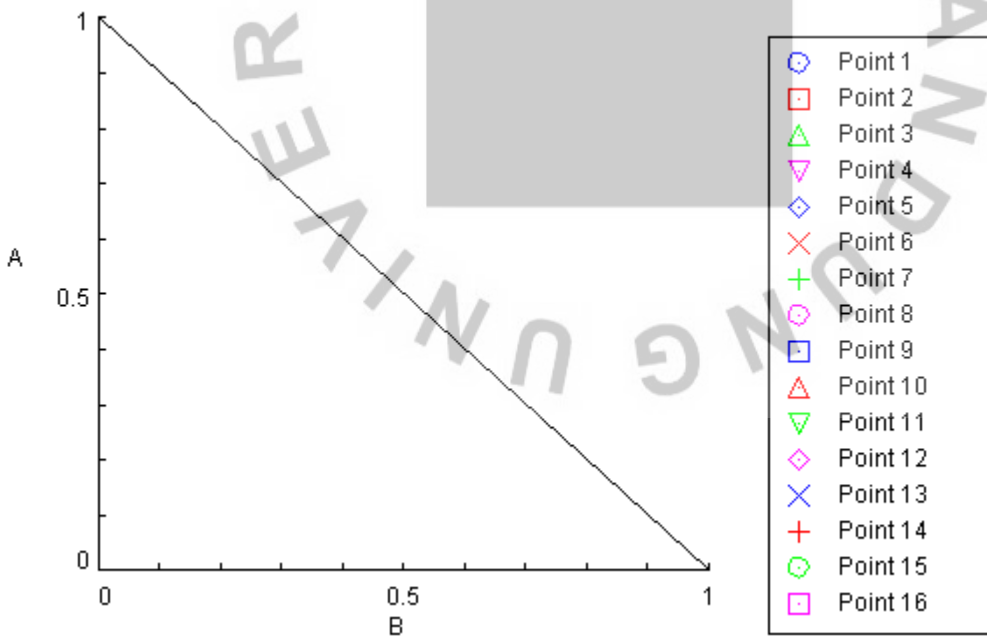
DRI Data for Non-Constant Combo: DxDw (Dox +Ddw)

<b>Fa</b>	<b>Dose Dox</b>	<b>Dose Ddw</b>	<b>DRI Dox</b>	<b>DRI Ddw</b>
0.26	0.37064	1.8E-13	0.07197	3.5E-15
0.3	0.52798	1.3E-12	0.10252	3.5E-14
0.26	0.37064	1.8E-13	0.07197	7.0E-15
0.23	0.27758	3.4E-14	0.05390	2.7E-15
0.3	0.52798	1.3E-12	0.13678	2.6E-14
0.29	0.48465	8.2E-13	0.12556	2.1E-14
0.28	0.44408	5.0E-13	0.11505	2.0E-14
0.25	0.33747	1.0E-13	0.08743	8.2E-15
0.26	0.37064	1.8E-13	0.14422	3.5E-15
0.26	0.37064	1.8E-13	0.14422	4.7E-15
0.28	0.44408	5.0E-13	0.17279	2.0E-14
0.31	0.57426	2.2E-12	0.22345	1.7E-13
0.17	0.14176	7.5E-16	0.10989	1.5E-17
0.16	0.12456	3.6E-16	0.09656	9.4E-18
0.14	0.09417	7.3E-17	0.07300	2.9E-18
0.14	0.09417	7.3E-17	0.07300	5.7E-18

DRI Plot for Non-Constant Combo: DxDw (Dox +Ddw)



Normalized Isobologram for Combo: DxDw (Dox +Ddw)



Summary Table

**Experiment Name:** DOXDEWA T47D



**Date:** 17/09/2019  
**File Name:** D:\compusyn\LPPM\DOXDEWAT47D.cse  
**Description** Uji kombinasi doxorubicin dan ekstrak air daun dewa pada sel kanker payudara T47D  
**Drug:** Doxorubicin (Dox ) [K4]  
**Drug:** Ekstrak Daun Dewa (Ddw) [K4]  
**Drug Combo:** Kombinasi Doxorubicin dan ekstrak air daun dewa (DxDw) (Dox +Ddw)

Drug/Combo	Dm	m	r
Dox	2.38768	0.56149	0.85770
Ddw	7.22E-9	0.09863	0.33725

CI values at:

**Combo ED50 ED75 ED90 ED95**

Data for Fa = 0.5

**Drug/Combo CI value Dose Dox Dose Ddw**

Dox 2.38768

Ddw 7.22E-9

Data for Fa = 0.75

**Drug/Combo CI value Dose Dox Dose Ddw**

Dox 16.8935

Ddw 4.97E-4

Data for Fa = 0.9

**Drug/Combo CI value Dose Dox Dose Ddw**

Dox 119.526

Ddw 34.1778

Data for Fa = 0.95

**Drug/Combo CI value Dose Dox Dose Ddw**

Dox 452.283

Ddw 66690.9

Data for Fa = 0.97

**Drug/Combo CI value Dose Dox Dose Ddw**

Dox 1165.82

Ddw 1.463E7