

INDUKSI APOPTOSIS SEL MCF-7 KANKER PAYUDARA DARI KOMBINASI EKSTRAK KULIT JENGKOL (*Archidendron jiringa*) DAN DAUN PETAI CINA (*Leucaena leucocephala*)

INDUCED BREAST CANCER MCF-7 CELLS APOPTOSIS FROM EXTRACT COMBINATION OF JENGKOL PODS (*Archidendron jiringa*) AND PETAI CINA LEAVES (*Leucaena leucocephala*)

Harry Noviardi^{1*}, Sitaresmi Yuningtyas¹, Lydia Agustin¹

¹ Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor, Jalan Kumbang No. 23, Bogor, Indonesia, 16151

Submitted: 08-04-2020

Revised: 18-04-2020

Accepted: 24-08-2020

Corresponding author:
harry.noviardi@gmail.com

ABSTRAK

Kulit jengkol dan daun petai cina berpotensi sebagai antikanker payudara karena toksisitas yang sangat toksik. Aktivitas sitotoksitas terhadap sel MCF-7 dari kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina termasuk dalam kategori potensial. Penelitian bertujuan menentukan pengaruh dari kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina terhadap induksi apoptosis sel MCF-7 kanker payudara. Induksi apoptosis sel MCF-7 dari kombinasi ekstrak dengan menggunakan metode *double staining*. Nilai sitotoksitas dari kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina ditentukan dengan metode MTT. Ekstrak simplisia dibuat dengan perbandingan massa kulit jengkol dan daun petai cina dengan perbandingan 5:1, 7:1, dan 9:1. Nilai IC50 dari kombinasi kulit jengkol dan daun petai cina perbandingan 5:1, 7:1, dan 9:1 berturut-turut adalah 11,7; 7,5; dan 1,9 ppm. Aktivitas apoptosis dari kombinasi ekstrak dari hasil *double staining* menunjukkan sel MCF-7 mengalami fluoresensi jingga hingga hijau terang. Bentuk sel menjadi mengerut dari kondisi awal sel. Berdasarkan pada hasil penelitian menunjukkan kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina dapat menginduksi apoptosis sel MCF-7 kanker payudara.

Kata kunci: Apoptosis; Daun petai cina; *double staining*; Kulit jengkol; MCF-7

ABSTRACT

The jengkol pod exocarp and petai cina leaves potentially as breast anticancer due to its highly toxic. The activity of cytotoxicity to the MCF-7 cells by the combination of jengkol pod exocarp and petai cina leaves is included in the potential category. The research aimed to determine the influence of the combination of jengkol pod exocarp and petai cina leaves on induction of the MCF-7 breast cancer apoptosis. Induction cell apoptosis of MCF-7 from a combination of extracts by using a double staining method. The cytotoxicity test from the extract combination of jengkol pod exocarp and petai cina leaves was determined by the MTT method. The extracts were made by comparing the mass of jengkol pod exocarp and petai cina leaves with comparisons of 5:1, 7:1, and 9:1. The IC50 values of the combination of jengkol pod exocarp and petai cina leave the ratio of 5:1, 7:1, and 9:1 were 11.7; 7.5; and 1.9 ppm, respectively. Apoptosis activity of the extract combination of the double staining test results showed MCF-7 cells experiencing orange and bright green fluorescence. The cellular form becomes wrinkled from the initial condition of the cell. Based on the results of the study showed a combination of jengkol pod exocarp and petai cina leaves could induce the MCF-7 breast cancer apoptosis cell.

Keywords: Apoptosis; Petai cina leaves; Double staining; Jengkol pod; MCF-7

1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan sel secara tidak terkendali dari kondisi normal dapat menyebabkan terjadinya sel kanker. Kanker dapat menyebabkan kematian bagi penderita. Berdasarkan pada data WHO tahun 2020, sebanyak 9,6 juta orang meninggal karena menderita kanker dan 57% terjadi di benua Asia (WHO, 2020). Jumlah kasus kanker payudara pada wanita di seluruh dunia pada tahun 2018 sebesar 2,1 juta kasus dengan angka kematian sebesar 627.000 orang (WHO, 2020). Di Indonesia, angka kejadian kasus kanker payudara pada tahun 2019 sebesar 42,1 per 100.000 penduduk (Kemenkes, 2019).

Penderita kanker dapat diobati dengan berbagai metode pengobatan antara lain, terapi hormon, pembedahan, terapi imun, radioterapi, transplantasi serta kemoterapi. Pengobatan dengan kemoterapi memiliki efek samping bagi tubuh penderita. Sel tubuh penderita akan mengalami resistensi terhadap senyawa bahan kemoterapi. Resistensi sel terhadap obat (MDR) dapat menyebabkan rendahnya peluang keberhasilan pengobatan bagi penderita kanker (Wang *et al.*, 2017). Resistensi obat antibiotik pada penderita kanker dapat disebabkan oleh terbentuknya biofilm dari aktivitas mikroba. Infeksi terkait biofilm ini dapat menyebabkan terjadinya penurunan sistem imun pada tubuh penderita. Penggunaan bahan alam seperti senyawa timol dan eugenol dapat menghambat pembentukan biofilm (Hamzah *et al.*, 2018). Peningkatan dosis terapi akan menyebabkan peningkatan toksisitas pada tubuh penderita (Moitra, 2015). Penggunaan pengobatan dengan mengombinasikan adjuvan bahan alam dan agen kemoterapi menjadi solusi alternatif untuk menurunkan toksisitas kemoterapi serta meningkatkan efikasi terhadap jaringan normal yang disebabkan oleh resistensi sel terhadap obat (Hamed *et al.*, 2019).

Bahan alam yang dapat digunakan sebagai antikanker adalah kulit jengkol dan daun petai cina. Kulit jengkol memiliki aktivitas antioksidan tinggi sebesar 3,76 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa golongan fenol, yaitu metil galat. (Lubis *et al.*, 2018). Senyawa metil galat dapat berpotensi sebagai, antitumor pada pengobatan terapi kanker (Lee *et al.*, 2013). Selain itu daun tanaman petai cina memiliki aktivitas antikanker. Aktivitas antikanker disebabkan oleh kandungan golongan senyawa fenol, flavonoid, sterol, kumarin serta turunan triterpenoid. Aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid dapat mencegah perkembangan sel kanker (Simanjuntak, 2012). Kandungan senyawa aktif dari tanaman daun petai cina yang berpotensi sebagai antikanker adalah senyawa metil ester feoforbida, pirofeoforbida, feoforbida-a dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 2,6, 3,69 dan 1,89 μM (She *et al.*, 2017). Toksisitas dari kombinasi daun petai cina dan kulit jengkol termasuk ke dalam kategori sangat toksik. Kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol dengan perbandingan bobot 1:3, 1:5, 1:7 dan 1:9 memiliki nilai toksisitas berturut-turut sebesar 30,41, 21,76, 14,06 & 1.358 ppm (Noviardi *et al.*, 2019a). Sedangkan nilai sitotoksitas terhadap sel kanker payudara MCF-7 dari ekstrak tunggal kulit jengkol dan daun petai cina adalah 51,76 dan 102,56 $\mu\text{g/mL}$ (Noviardi *et al.*, 2019b). Aktivitas sitotoksitas kombinasi daun petai cina dan kulit jengkol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Nilai IC_{50} secara berturut-turut ialah 28,57 ; 11,69 ; 7,50 dan 1,92 $\mu\text{g/mL}$ untuk perbandingan daun petai cina-kulit jengkol 1:3, 1:5, 1:7 dan 1:9 (Noviardi *et al.*, 2019b). Nilai IC_{50} yang diperoleh menjelaskan bahwa kombinasi masing-masing ekstrak tersebut dapat menghambat perkembangan sel kanker payudara MCF-7.

Berdasarkan pada data nilai IC_{50} yang diperoleh pada penelitian sebelumnya, perlu dilakukan penelitian untuk menentukan mekanisme penghambatan dari kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina terhadap sel kanker MCF-7. Mekanisme penghambatan ekstrak dapat terjadi melalui induksi apoptosis sel kanker. Induksi apoptosis sel kanker merupakan proses bunuh diri sel kanker tanpa mengganggu sel normal dan tidak menimbulkan terjadinya inflamasi (Wong, 2011). Identifikasi induksi apoptosis sel kanker akibat pemberian ekstrak maupun obat dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Double Staining* (Liu *et al.*, 2015). Metode *Double Staining* menggunakan kombinasi pewarna *fluorescence*, yaitu etidium bromida dan akridin *orange*. Metode ini memberikan hasil yang akurat dalam mengidentifikasi terjadinya fase apoptosis yang terjadi pada sel (Gherghi *et al.*, 2003). Penelitian bertujuan menentukan pengaruh kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina terhadap induksi apoptosis sel kanker payudara MCF-7 dengan metode *Double Staining*.

2. METODE

2.1. Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat-alat antara lain *rotary evaporator* (RE-1000 HN), timbangan analitik (ACID AD-300i), mikropipet (Dragon lab), tabung reaksi (Pyrex), Microplate 24 well (Biologix), mikroskop *fluorescence* (INV100-FL).

Bahan-bahan penelitian yang digunakan adalah daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) berasal dari daerah Cikatomas, Tasikmalaya, kulit jengkol (*Archidendron jiringa*) dari *Home Industry* emping jengkol ibu Nyai, Jalan Kebon Jukut, Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor, etanol 70%, amonia (NH₄OH), CHCl₃, H₂SO₄, pereaksi Meyer (Kalium iodida, raksa (II) klorida dan akuades), pereaksi Dragendrof (bismuth (III) nitrat, asam nitrat, kalium iodida dan akuades), pereaksi Wagner (iodium, kalium iodida dan akuades), serbuk Mg, HCl, amil alkohol, FeCl₃, dietil eter, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH anhidrida, kloroform, penisilin-streptomisin, *Treipan Blue Stain* 0.4%, Kultur sel kanker payudara MCF-7 (koleksi Laboratorium Kultur Sel dan Sitogenetika, Universitas Padjajaran Bandung), RPMI (*Rosewell Park Memorial Institute*) 1640, serum *fetal bovine* (FBS), bufer fosfat salin (PBS), pelarut DMSO, tripsin EDTA 5%, etidium bromida (Merck), akridin *orange* (Merck), reagen fitokimia, dan doxorubicin HCl (Sanbe Farma).

2.2. Ekstraksi Kulit Jengkol dan Daun Petai Cina

Kulit jengkol dan daun petai cina dilakukan preparasi sebelum diekstraksi. Simplisia dilakukan pembersihan dan perajangan. Setelah itu simplisia dikeringkan dan dihaluskan. Sebanyak 500 g dari masing-masing simplisia ditimbang dan dimasukkan pada botol. Simplisia dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 5 liter. Maserasi dilakukan dengan pengulangan 3 kali. Ekstrak kental diperoleh dengan cara memekatkan filtrat dengan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*. Ekstrak kental dilakukan pengujian fitokimia (Gul et al., 2017).

2.3. Preparasi Sel

Sebanyak 1 mL suspensi sel yang telah aktif pada suhu 37°C dimasukkan ke dalam *falcon tube*. Kemudian *falcon tube* ditambahkan dengan 3 mL media kultur. Suspensi sel dan media kultur dilakukan sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Supernatan yang terbentuk ditambahkan dengan media kultur sebanyak 20 mL dan dihomogenkan. Kemudian sel diinkubasi dan ditumbuhkan pada *culture flask* pada suhu 37°C. Suspensi sel tersebut selama 24 jam dialirkan CO₂ dengan konsentrasi 5%. Penggantian media kultur pada suspensi dilakukan setiap hari hingga diperoleh sebanyak 80% sel konfluen. Setelah itu media kultur dicuci dengan PBS dan ditambahkan dengan tripsin sebanyak 3 mL. Sebanyak masing-masing 10 µL sel dan tripan *blue* dimasukkan ke dalam *Haemocytometer Neubauer* untuk dihitung kepadatan sel. Kepadatan sel dihitung di bawah mikroskop inverted. Sebanyak 12,5 mL sel dipipet dan ditambahkan dengan media sebanyak 7,5 mL sehingga diperoleh jumlah sel dalam tiap sumuran sebanyak 5x10⁴ sel/mL. Sebanyak 200 µL sel dimasukkan ke dalam masing-masing sumur. Sitotoksitas kombinasi ekstrak terhadap sel ditentukan dengan menggunakan metode MTT (Haryanti et al., 2017).

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (1)$$

2.4. Penentuan Pola Kematian Sel dengan Metode *Double Staining*

Sebanyak 5x10⁴ sel/mL sel didistribusikan ke dalam 24 sumuran. Setiap sumuran dilapisi cover slip dan diinkubasi untuk proses adaptasi sel. Sampel kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina dengan perbandingan masing-masing berturut-turut, yaitu 5:1; 7:1; dan 9:1 ditambahkan ke dalam sel. Selain itu sel juga diberikan perlakuan kontrol doxorubicin. Sumuran yang telah diberikan perlakuan diinkubasi selama 15 jam. Cover slip dicuci dengan PBS dan dipindahkan ke dalam kaca obyek. Kaca obyek ditambahkan dengan pereaksi pewarna sebanyak 10 µL dan diamati dengan mikroskop *fluorescen*. Pewarna yang digunakan untuk

pengamatan adalah akridin orange dan etidium bromida (CCRC, 2010). Jumlah sel per mL dihitung menggunakan rumus:

$$= \frac{\sum \text{ sel kamar A} + \sum \text{ sel kamar B} + \sum \text{ sel kamar C} + \sum \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4 \quad (2)$$

Keterangan:

\sum = jumlah sel pada masing-masing kamar

4 = jumlah bilik haemocytometer bidang besar

Setelah dilakukan perhitungan jumlah sel, perhitungan volume panen sel adalah sebagai berikut:

$$\text{Volume panen sel yang di transfer} = \frac{\text{jumlah total sel yang dibutuhkan}}{\text{jumlah sel per mL}} \quad (3)$$

2.5. Analisa Data

Pengolahan data hasil pengamatan dengan menggunakan regresi linier dari persen sel hidup kumulatif untuk mendapatkan nilai *inhibition concentration*(IC₅₀) pada 50% kultur sel. IC₅₀ dihitung menggunakan regresi linier dan diperoleh persamaan garis:

$$y = bx + a \quad (4)$$

Keterangan:

x = log konsentrasi

y = % sel hidup

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakteristik Simplisia

Berdasarkan pada hasil uji penapisan fitokimia kulit jengkol dan daun petai cina mengandung golongan senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan saponin. Golongan senyawa tersebut dapat ter-ekstraksi secara optimal dengan pelarut polar. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut pada penelitian ini. Maserasi digunakan sebagai metode ekstraksi pada penelitian ini karena sangat mudah proses pengerjaannya dan rendemen ekstrak yang dihasilkan cukup baik (Simanjuntak, 2012). Senyawa aktif tidak mudah rusak karena tidak menggunakan pemanasan. Filtrat ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak kental daun petai cina dan ekstrak kental kulit jengkol berturut-turut 43% dan 60% (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Kulit Jengkol dan Daun Petai Cina

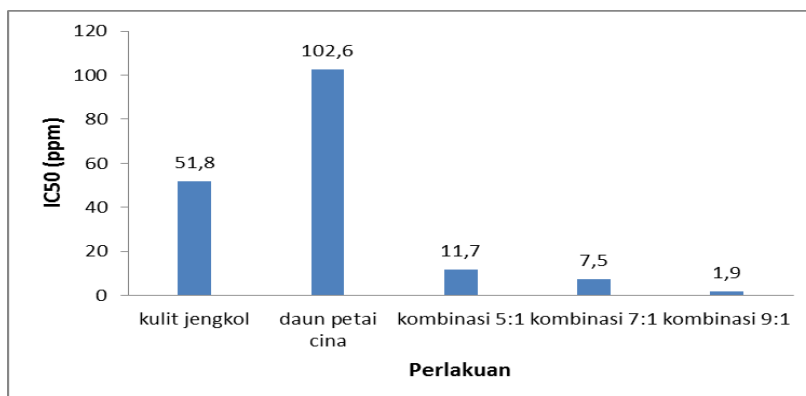
Ekstrak	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun Petai Cina	500	215	43
Kulit Jengkol	500	300	60

3.2. Penentuan Pola Kematian Sel

Tahapan pertama pada penentuan pola kematian sel adalah penanaman sel. Sel MCF-7 ditanam pada *microplate* 96 well dengan kepadatan 5x10⁴ sel/sumuran. Sel kemudian diinkubasi dengan kurun waktu 24 jam. Resuspensi dilakukan kembali pada tiap sel dalam sumuran agar sel tetap dalam kondisi homogen. Inkubasi sel dilakukan sampai sel mencapai fase logaritmik. Pada fase logaritmik ditandai dengan jumlah sel yang konfluen sebesar 80%. Sel yang akan dipanen harus dalam kondisi normal sehingga diperlukan inkubasi sel agar sel pulih kembali setelah diberikan perlakuan (CCRC, 2013).

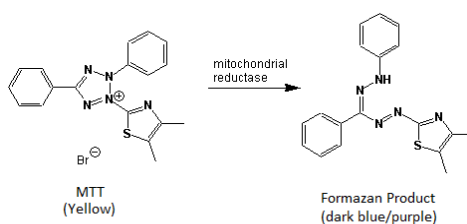
Gambar 1 merupakan nilai sitotoksisitas dari masing-masing ekstrak tunggal dan kombinasi daun kulit jengkol:daun petai cina (5:1; 7:1; 9:1). Ekstrak kombinasi memberikan nilai IC₅₀ lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak tunggal kulit jengkol dan daun petai cina serta kontrol positif doxorubicin. Doxorubicin memiliki nilai IC₅₀ sebesar 19,4 µg/mL (Noviardi

et al., 2019). *National Cancer Institute* (NCI) telah mengklasifikasi kategori toksik berdasarkan nilai konsentrasi IC₅₀. Menurut NCI, senyawa aktif yang berpotensi sitotoksik jika mempunyai nilai IC₅₀ lebih kecil dari 30 ppm (Suffness & Pezzuto, 1990). Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin berpotensi senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan sel. Berdasarkan pada kriteria tersebut, kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol pada perbandingan 5:1, 7:1 dan 9:1 memiliki efek sitotoksik kurang dari 30 µg/mL terhadap sel kanker payudara MCF-7, artinya senyawa pada kombinasi tersebut sangat potensial dikembangkan sebagai agen antikanker khususnya untuk kanker payudara. Nilai IC₅₀ rendah dari kombinasi ekstrak dibandingkan dengan ekstrak tunggal disebabkan oleh efek sinergis diantara kedua ekstrak. Menurut Yuan et al., (2016), pengobatan dengan menggunakan ekstrak kombinasi memberikan hasil yang lebih baik terhadap beberapa penyakit tertentu.



Gambar 1. Nilai sitotoksitas ekstrak terhadap sel MCF-7

Pada penelitian sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT. Metode MTT menggunakan garam tetrazolium 3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromide. yang berwarna kuning. Garam tersebut akan dibiosintesis oleh enzim suksinat dehidrogenase menjadi kristal formazan berwarna ungu (Gambar 2) (Freshney, 2010). MTT dilarutkan dalam bufer fosfat salin (PBS) 5 mg/mL dan disaring untuk menghilangkan residu yang tidak larut.

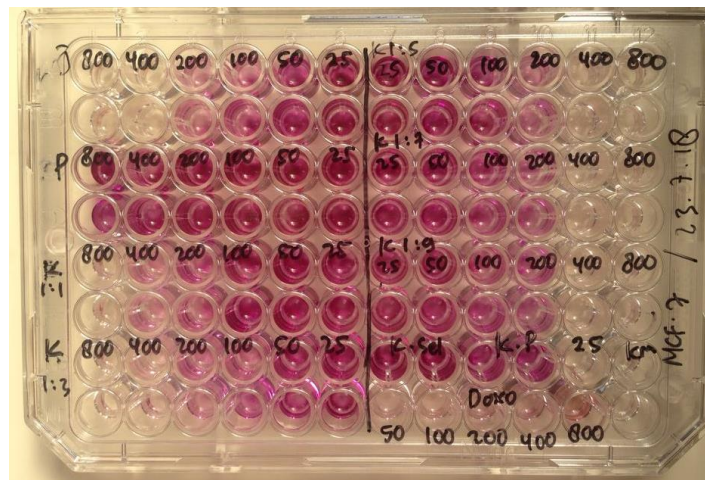


Gambar 2. Reaksi kimia pembentukan kristal formazan pada uji MTT (Karumuri, 2013).

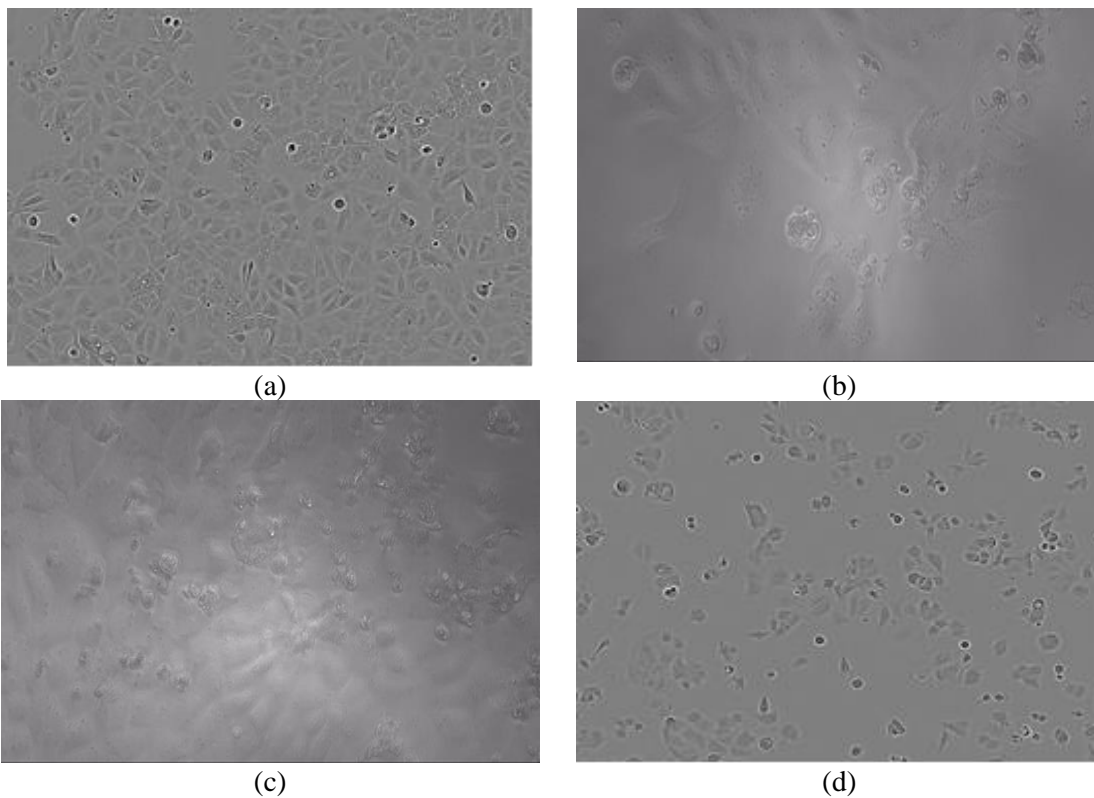
Kristal formazan yang terbentuk menjadi larut setelah ditambahkan dengan isopropanol asam (100 µL 0,04 N HCl dalam isopropanol) atau SDS 10% dalam HCl 0,01 N. Jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme berbanding langsung dengan intensitas warna terbentuk dari reaksi (Zakaria, 2011). Gambar 3 merupakan penampakan kristal formazan yang terbentuk dari pemberian perlakuan ekstrak dengan deret konsentrasi.

Aktivitas sitotoksitas dari suatu perlakuan suatu senyawa terhadap sel dapat ditandai salah satunya dengan perubahan morfologi sel. Perubahan morfologi sel tersebut dibandingkan dengan morfologi sel normal. Pengamatan morfologi sel kanker MCF-7 tanpa pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak pada beberapa konsentrasi dapat dilakukan dengan mikroskop inverted. Hasil pengamatan morfologi sel dapat dilihat pada Gambar 4. Gambar 4a menunjukkan sel MCF-7 masih terlihat padat sedangkan pada Gambar 4b, 4c, 4d menunjukkan sel MCF-7 sudah menunjukkan pengurangan kepadatan setelah penambahan ekstrak.

Penambahan DMSO pada sel kanker yang telah diberikan kombinasi ekstrak pada sel MCF-7 menyebabkan terjadinya lisis pada sel. DMSO berfungsi sebagai *stopper reaction* untuk menghentikan aktivitas reaksi MTT. Penambahan reagen *stopper* akan melisis membran sel sehingga garam formazan dapat keluar dari sel serta melarutkan kristal *formazan* kemudian diukur absorbansinya (Fresney, 2010). Sel hidup ditandai dengan berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berhimpit dengan sel lain. Sel mati setelah mengalami lisis ditandai dengan bentuk bulat, mengapung dan tersebar. Perlakuan ekstrak terhadap sel MCF-7 dapat mempengaruhi morfologi dari sel. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan pada percobaan akan memberikan perubahan morfologi sel yang semakin jelas. Hal ini bisa disebabkan oleh penghambatan siklus sel pada fase G2/M sehingga sel yang telah mengalami mitosis dan replikasi DNA gagal mengalami pembelahan, akhirnya terbentuk sel yang poliploid dan berlanjut menuju apoptosis (Widyastuti et al., 2019).

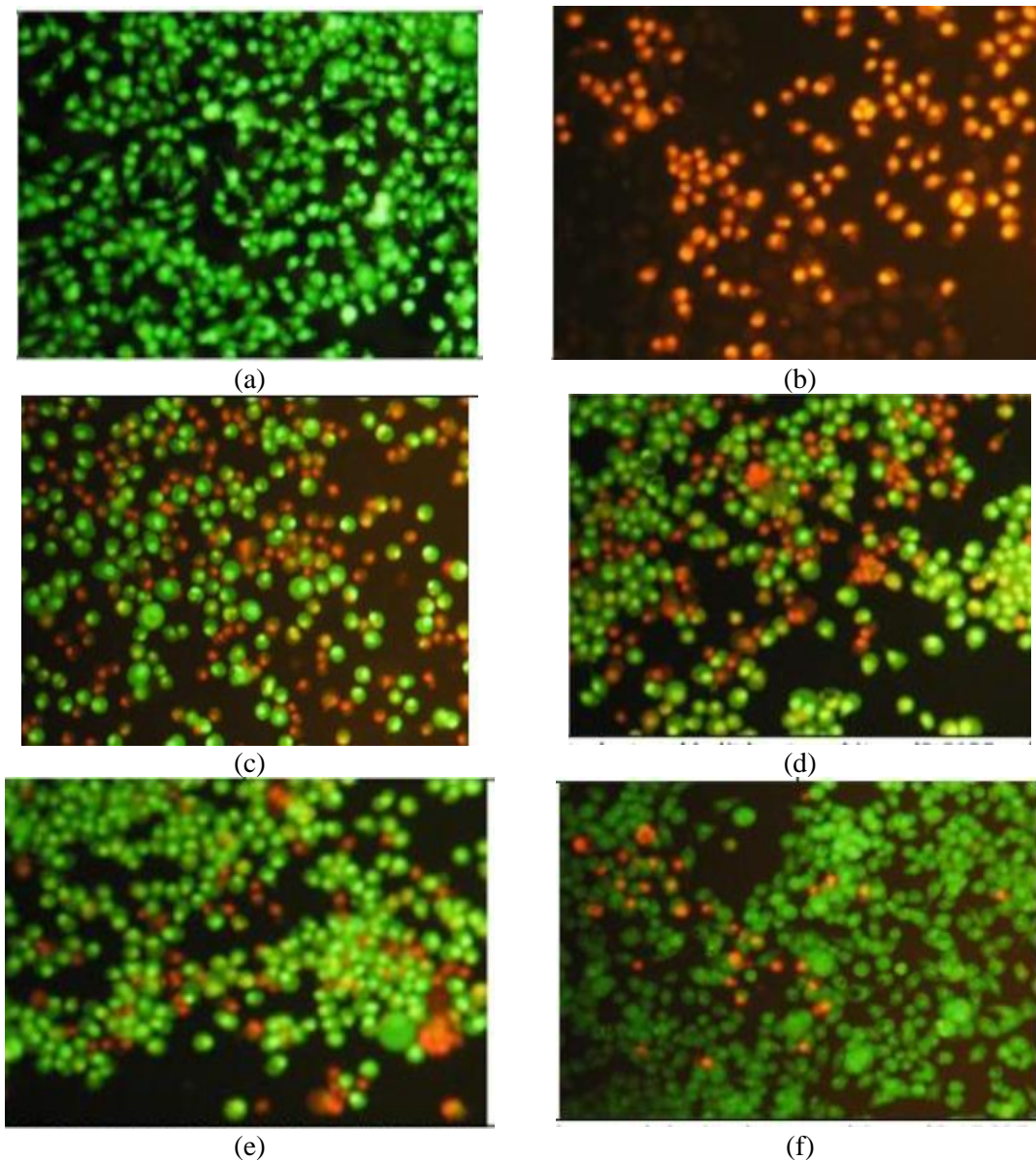


Gambar 3. Penampakan *microplate* kristal formazan ungu terbentuk pada uji sitotoksisitas



Gambar 4. Morfologi sel MCF-7 tanpa penambahan ekstrak (a) dan setelah penambahan ekstrak kombinasi 5:1(b), 7:1 (c), 9:1 (d) dengan perbesaran 100x.

Pengamatan visual dari apoptosis sel dapat dilakukan dengan menggunakan akridin-orange-etidium bromida (Kwan *et al.*, 2015). Sel yang mengalami apoptosis akan terlihat berwarna *orange* fluoresens hal ini disebabkan adanya ikatan antara etidium-bromida dengan DNA terfragmentasi dari sel kanker yang mengalami apoptosis, sedangkan untuk sel yang hidup akan menunjukkan warna hijau (Liu *et al.*, 2015). Hasil yang diperoleh sesuai dengan McGahon *et al.* (1995), sel hidup akan membentuk warna hijau terang berfluorosensi, sedangkan sel yang mengalami apoptosis pada tahap awal akan mengalami kondensasi kromatin dan berwarna hijau. Warna orange menunjukkan sel mengalami apoptosis pada fase akhir siklus kematian sel. Nekrosis sel dari ukuran sel normal juga ditandai dengan warna *orange*. Induksi apoptosis merupakan salah satu bentuk pengobatan yang menjanjikan dalam pengobatan kanker. Induksi apoptosis akan menyebabkan sel kanker akan mengalami peningkatan kemampuan apoptosis sel dan menghambat proliferasi dari sel kanker tersebut. Strategi pengobatan dengan induksi apoptosis ini akan menyebabkan jalur apoptosis sel menjadi normal sehingga dapat menghambat terbentuknya kanker pada tubuh (Wong, 2011).



Gambar 5. Apoptosis sel kanker MCF-7 dengan perlakuan (a) tanpa ekstrak, (b) kontrol positif (doxorubicine), (c) kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina 3:1, (d) kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina 5:1 (e) kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina 7:1 (f) kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol 9:1 dengan perbesaran 10x.

Berdasarkan pada hasil pengamatan pada Gambar 5, kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina menginduksi apoptosis pada sel kanker MCF-7. Efek sinergis menyebabkan induksi apoptosis dari ekstrak kombinasi lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tunggal dari masing masing simplisia. Menurut Rahmiati *et al* (2012), efek sinergis dapat menguatkan efek terapi karena disebabkan efek dari kedua obat atau lebih yang bercampur saling menguatkan. Penambahan perlakuan konsentrasi sampel terhadap sel menyebabkan peningkatan induksi apoptosis dari sel MCF-7. Kontrol positif doxorubicin memberikan induksi apoptosis yang lebih baik dibandingkan dengan kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan pada penapisan fitokimia menunjukkan ekstrak etanol kulit jengkol dan daun petai cina mengandung senyawa golongan tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan triterpenoid. Hasil rendemen ekstrak daun petai cina sebesar 43 % dan kulit jengkol sebesar 60%. Kombinasi ekstrak kulit jengkol dan daun petai cina dengan perbandingan 5:1, 7:1 dan 9:1 memiliki aktivitas menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM STTIF Bogor yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini. Penelitian ini merupakan penelitian yang dibiayai oleh Kemenristek-BRIN dan DIKTI dengan skema Hibah Penelitian Dosen Pemula tahun pelaksanaan 2020.

6. KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian ini.

7. DAFTAR PUSTAKA

- CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center). (2010). *Protokol uji apoptosis (double staining)*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM. Hlm 1-5.
- CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center). (2013). *Protokol uji sitotoksik metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM, pp. 1-8.
- Freshney R.I. (2010). *Culture of animal a manual of basic tevhnique and specialized application 6th edition*. New Jersey: John Wiley and Sons. Hlm 144, 373, 600.
- Gherghi I.Ch., Girousi S.T., Voulgaropoulos A.N., Tzimou-Tsitouridou R. (2003). Study of interactions between DNA-ethidium bromide (EB) and DNA-acridine orange (AO), in solution, using hanging mercury drop electrode (HMDE). *Talanta*, 61(2),103-112. doi:10.1016/S0039-9140(03)00238-8.
- Gul R., Jan S.U., Faridullah S., Sherani S., Jahan N. (2017). Preliminary phytochemical screening, quantitative analysis of alkaloids, and antioxidant activity of crude plant extracts from *Ephedra intermedia* Indigenous to Balochistan. *Scientific World Journal*, 2017,1-7, Article ID 5873648. <https://doi.org/10.1155/2017/5873648>.
- Hamed A.R., Abdel-Azim N.S., Shams K.A., Hammouda F.M. (2019). Targeting multidrug resistance in cancer by natural chemosensitizers. *Bull Natl Res Cent*, 43,8 <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0043-8>.
- Hamzah H., Pratiwi S.U.T, Hertiani T. (2018). Efficacy of thymol and eugenol against polymicrobial biofilm. *Indonesian J. Pharm*, 29(4), 214-221 <http://dx.doi.org/10.14499/indonesianjpharm29iss4pp214>.
- Haryanti S., Widyastuti Y. 2017. Aktivitas sitotoksik pada sel MCF-7 dari tumbuhan Indonesia untuk pengobatan tradisional kanker payudara. *Media Litbangkes*, 27(4), 247-254.
- Karumuri B.K.R. (2013). Metabolic assay-based validation of cell viability to inflammatory stimuli and anti-cancer drugs in normal and tumor brain glia. Tesis, College Engineering And Science Louisiana Tech University.
- Kemenkes. (2019). *Hari kanker sedunia 2019*. Biro Komunikasi dan Pelayanan Masyarakat, Kementerian Kesehatan RI. <https://www.kemkes.go.id/article/view/19020100003/hari-kanker-sedunia-2019.html>
- Kwan Y.P, Saito, T., Ibrahim D., Al-Hassan F., Oon C., Chen Y., Subramanion J.L., Kanwar J., Sasidharan S. (2015). Evaluation of the cytotoxicity, cell-cycle arrest, and apoptotic induction by *Euphorbia hirta* in MCF-7 breast cancer cells. *Pharmaceutical biology*, 54, 1-14. 10.3109/13880209.2015.1064451.
- Lee SH, Kim JK, Kim DW, Hwang HS, Eum WS, Park J, et al. (2013). Antitumor activity of methyl

- gallate by inhibition of focal adhesion formation and akt phosphorylation in glioma cells. *Biochim Biophys Acta*, 1830, 4017-29.
- Liu K., Liu P.C., Liu R., Wu X. (2015). Dual AO/EB staining to detect apoptosis in osteosarcoma cells compared with flow cytometry. *Medical science monitor basic research*, 21,15-20. <https://doi.org/10.12659/MSMBR.893327>.
- Lubis M.Y., Siburian R., Marpaung L., Simanjuntak P., Nasution M.P. (2018). Methyl gallate from Jiringa (*Archidendron jiringa*) and antioxidant activity. *Asian J Pharm Clin Res*, 11(1), 346-350.
- McGahon, A. J., Martin, S. J., Bissonnette, R. P., Mahboubi, M., Shi, Y., Mogil, R. J., Nishioka, W. K., Green, D. R. (1995). Chapter 9 The End of the (Cell) Line: Methods for the Study of Apoptosis in Vitro. *Methods in Cell Biology*, 46,153-174. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(08\)61929-9](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(08)61929-9).
- Moitra K. (2015). Overcoming multidrug resistance in cancer stem cells. *BioMed Res. Int*,2015,1-8, Article ID 635745. <https://doi.org/10.1155/2015/635745>.
- Noviardi H., Yuningtyas, S. R., Diah, Ben, A., Citreksoko, P. (2019a). Toksisitas kombinasi ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) dan kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C.Nielsen) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test. *Riset Informasi Kesehatan*, 8, 9-15.
- Noviardi H., Yuningtyas, S., Suwarni, D. (2019b). Sitotoksisitas kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol terhadap sel kanker payudara dan serviks. *Biopropal Industri*, 10(2), 10-117.
- Rahmiati S., Woro, S. (2012). Kajian Interaksi Obat antihipertensi pada pasien hemodialisis di bangsal rawat inap RSUD Muhammadiyah Yogyakarta Periode Tahun 2010. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2,97-110.
- She L.C., Liu C.M., Chen C.T., Li H.T., Li W.J., Chen C.Y. (2017). The anti-cancer and anti-metastasis effects of phytochemical constituents from *Leucaena leucocephala*. *Biomedical Research*, 28(7), 2893-2897.
- Simanjuntak, K. (2012). Peran antioksidan flavonoid dalam meningkatkan kesehatan. *Bina Widya*, 23,135-140.
- Suffness, M., Pezzuto, J.M. (1990). *Assay related to cancer drug discovery*. In: K. Hostettmann (Ed.): *methods in plant biochemistry*. Academic Press. London. 6,71-133.
- Wang J., Seebacher N., Shi H., Kan Q., Duan Z. (2017). Novel strategies to prevent the development of multidrug resistance (MDR) in cancer. *Oncotarget*, 8(48), 84559-84571. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19187>.
- WHO (World Health Organization). (2020). *World Cancer Report Cancer research for cancer prevention*. Lyon. International Agency for Research on Cancer. ISBN 978-92-832-0448-0.
- Widyastuti Y., Sholikhah I.Y.M., Haryanti S. (2019). Efek sitotoksik formula jamu daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara MCF-7. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 9(2),140-149.
- Wong R.S.Y. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res.*, 30(1), 87. doi: 10.1186/1756-9966-30-87
- Yuan H., Ma Q., Ye L., Piao G. (2016). The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*, 21, 559.
- Zakaria, Z. A., A. M. Mohamed, N. S. Mohd. Jamil, M. S. Rofiee, M. N. Somchit, A. Zuraini, A. K. Arifah, M. R. Sulaiman. (2011). In Vitro cytotoxic and antioxidant properties of the aqueous, chloroform and methanol extracts of *Dicranopteris linearis* leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(2), 273-282.