

## EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK DAN FRAKSI HERBA KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) PADA SEL KANKER SERVIKS HELA

Ghani Nurfiana Fadma Sari<sup>1\*</sup>, Mamik Ponco Rahayu<sup>2</sup>, Hilda Khairunnisa<sup>3</sup>, Desi Ratna<sup>4</sup>  
<sup>1\*,2,3,4</sup>S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta  
Email: ghaninurfiana@gmail.com

### ABSTRAK

Di Indonesia kanker serviks merupakan salah satu kanker penyebab kematian wanita setelah kanker payudara. Herba kemangi (*Ocimum basilicum* L.) banyak digunakan sebagai alternatif pengobatan kanker. Tujuan: mengetahui efek sitotoksik dari herba kemangi terhadap sel HeLa dan sel Vero. Metode: ekstraksi herba kemangi dilakukan dengan maserasi kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air. Ekstrak dan fraksi diuji efek sitotoksiknya menggunakan metode MTT dengan seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 µg/mL. Cisplastin digunakan sebagai kontrol positif dan kontrol sel sebagai kontrol negatif. Hasil: aktivitas sitotoksik ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat dan air herba kemangi terhadap sel HeLa menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut yaitu (156,27; 120,55; 170,17; 186,62) µg/ml dengan indeks selektivitas lebih dari 3 untuk ekstrak dan ketiga fraksi. Kesimpulan: ekstrak dan fraksi herba kemangi memiliki efek sebagai agen kemopreventif terhadap sel kanker serviks.

**Kata Kunci:** kemangi (*Ocimum basilicum* L.), sitotoksik, sel HeLa, sel vero

### ABSTRACT

Cervical cancer is one of the major causes of death for women in Indonesia, after breast cancer. Basil herbs (*Ocimum basilicum* L.) are commonly used as a cancer treatment alternative. Purpose: To determine the cytotoxic effect of basil herbs on HeLa and Vero cells. Methods: Basil was extracted by maceration and then fractionated with the solvents n-hexane, ethyl acetate, and water. Extracts and fractions were tested for cytotoxic effects using the MTT method with a concentration series of 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15,625 µg/mL. Cisplastin was used as positive control and cell control as a negative control. Results: The cytotoxic activity of the extract, n-hexane fraction, ethyl acetate and basil herb water against HeLa cells showed IC<sub>50</sub> values respectively, namely (156.27; 120.55; 170.17; 186.62) µg/ml with a selectivity index of more than 3 for the extract and the three fractions. Conclusion: Extracts and fractions of Basil herbs have a chemopreventive effect on cervical cancer cells.

**Keywords:** *Ocimum basilicum* L., cytotoxic, HeLa cell, vero cell

## LATAR BELAKANG

Di Indonesia kanker serviks menempati urutan kedua setelah kanker payudara yang dialami oleh wanita. Berdasarkan umur diketahui bahwa kanker serviks memiliki persentase tertinggi setelah kanker payudara dan kanker prostat yaitu sebesar 14 % dan persentase kematian akibat kanker serviks adalah 6,8%. Berdasarkan kondisi ini, pengatasan kanker dengan menghambat dan mematikan pertumbuhan sel kanker secara selektif perlu diupayakan (IARC, 2012).

Terapi pengobatan dan penghambatan kanker serviks telah dilakukan diantaranya dengan menggunakan terapi bedah, radioterapi, dan kemoterapi maupun kombinasi ketiganya (Nakano, 2010). Minat masyarakat terhadap penggunaan obat tradisional akhir-akhir ini cenderung meningkat. Hal ini disebabkan adanya kekhawatiran efek samping yang ditimbulkan oleh obat-obat konvensional dan juga dengan alasan obat tradisional mudah didapat dan murah harganya (Kurnijasanti, 2008). Tanaman kemangi merupakan spesies dari genus *Lamiaceae* yang telah dilaporkan memiliki banyak kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai antikanker.

Beberapa kandungan senyawa kimia dalam tanaman kemangi adalah tanin (4,6%), flavonoid, steroid atau triterpenoid, minyak atsiri (2%), dan asam ursolat (Selvi, 2015). Senyawa terbesar yang aktif terkandung dalam kemangi adalah eugenol (70-80%) (Wijayakusuma, 2000). Eugenol yang terdapat pada minyak atsiri kemangi telah dilakukan penelitian tentang antiproliferatif secara in vitro pada sel HeLa dengan nilai  $IC_{50}$  16,26  $\mu$ g/mL (Zarlaha, 2014).

Berdasarkan latar belakang di atas, dilakukan penelitian untuk mengetahui efek sitotoksik dan selektivitas ekstrak dan fraksi herba kemangi terhadap sel kanker serviks. Penelitian uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode [3-(4,5-dimetiltiazol-2-*il*)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT) pada kultur sel HeLa dan sel Vero yang ditunjukkan dengan parameter  $IC_{50}$ . Selektivitas ekstrak dan fraksi herba kemangi dibuktikan dengan pembandingan sel epitel normal Vero melalui parameter nilai SI (*Selectivity Index*). Data-data ilmiah tersebut dapat menjadi dasar penggunaan herba kemangi sebagai agen kemopreventif yang aman dan selektif.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (Shimadzu), plate 96 wells (Biologix), kertas saring (Sartorius), microtube (Axygen), waterbath, Erlenmeyer (Pyrex), oven (Mettler), gelas beker (Pyrex), lemari pendingin (Samsung), blender (Miyako), rotary evaporator (Heidolph), mikropipet (Socorex), inkubator CO<sub>2</sub> (Biobase), inverted microscope (Olympus), serta ELISA reader (Drawel).

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah herba kemangi (*Ocimum basilicum* L.) serta etanol 96% (Merck) dan n-heksan (Merck), etil asetat (Merck), aquades sebagai pelarut. Sedangkan bahan yang digunakan untuk menguji sitotoksitas adalah kultur sel HeLa, Sel Vero, DMEM (Merck), fungison (Merck), Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (Merck), Phospat Buffer Saline (PBS) (Merck), Fetal Bovine Serum (FBS) (Merck), Methyl-Thiazolyl-Tetrazolium (MTT) (Merck), Tripsin (Merck), Sodium Dodesil Sulfat (SDS) (Merck), 1% HCl 0,1N (Merck), serta Cisplastin (Kalbe).

## Prosedur Kerja

### a) Pembuatan ekstrak dan fraksinsi

Serbuk kering herba kemangi dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan cara menimbang serbuk herba kemangi sebanyak 1000 gram dalam 10 liter etanol 96%. Dilakukan perendaman selama 6 jam pertama, sesekali diaduk kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat disaring menggunakan penyaring vakum, dipisahkan dari ampasnya. Proses penyarian diulangi dengan volume penambahan pelarut setengah dari pelarut awal. Semua maserat kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2013).

Fraksinasi dari ekstrak etanol kemangi dilakukan secara partisi dengan menggunakan corong pisah. Ekstrak etanolik sebanyak 10 g kemudian disuspensi dengan air sebanyak 75 ml lalu dipartisi dengan *n*-heksana 75 ml dan di replikasi sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Lapisan *n*-heksana selanjutnya dikumpulkan dan dipekatkan dengan *vacuum rotaevaporator*, filtrat *n*-heksana yang kering ini selanjutnya disebut fraksi *n*-heksana. Lapisan air sisa partisi dengan *n*-heksan kemudian dipartisi lagi dengan 75 ml etil asetat dan direplikasi sebanyak tiga kali. Lapisan etil asetat dipisahkan dan dipekatkan dengan *vacuum rotaevaporator* dan diperoleh fraksi etil asetat. Lapisan air diuapkan di atas *waterbath* sampai kental, yang kemudian disebut fraksi air. Fraksi yang didapat masing-masing ditimbang untuk mendapat persen rendemen terhadap bobot awal (Sari, 2017).

### b) Uji sitotoksik terhadap sel HeLa dan sel Vero

Sel HeLa dan sel Vero diaktifkan dengan medium lengkap pada kultur flask, dengan penggantian medium dilakukan setiap dua hari sekali. Pemeliharaan sel HeLa dilakukan dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% dengan suhu 37°C. Pemanenan sel HeLa dilakukan apabila sel sudah konfluen yaitu meratanya sel sebagai sel HeLa dan sel Vero sampai menutupi *tissue disk*. Kultur sel HeLa dan sel vero yang telah konfluen dipanen dengan tripsin. Sel dipindah ke dalam tabung *conical steril* dan ditambah media DMEM 1640 hingga volume 10 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, ditambahkan 3 mL media dan diresuspensikan. Diambil 10 µL dan dipipetkan ke *haemocytometer* lalu sel dihitung di bawah mikroskop *inverted*. Jumlah suspensi sel yang harus diambil dan jumlah media yang harus ditambahkan dihitung untuk memperoleh konsentrasi sel sebesar  $2 \times 10^4$  sel/100 µL. Sel didistribusikan ke dalam *microplate* sumuran 96 dengan konsentrasi  $2 \times 10^4$  sel/sumuran dalam 100 µL kemudian diinkubasi dalam inkubator 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran.

Sebanyak 100 µL larutan uji disuspensikan dengan 100 µL sel dalam medium DMEM untuk sel HeLa dan sel Vero (kepadatan  $2 \times 10^4$  sel/sumuran). Sampel dimasukkan kedalam *microplate* 96. Sel diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 %. Sampel masuk dalam *plate* dengan seri konsentrasi 500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,6 µg/mL; 7,8 µg/mL, untuk kontrol positif menggunakan Cisplatin dengan seri konsentrasi 100 µg/mL; 50 µg/mL; 25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 7,125 µg/mL; 3,5625 µg/mL dan kontrol negatif menggunakan kontrol sel. Selanjutnya *plate* diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 % suhu 37°C selama 24 jam. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu (formazan). Lalu dibuang media sel, ditambahkan 100 µL reagen MTT ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel). Setelah diinkubasi selama 4 jam, ditambahkan

100 µL SDS 10 % untuk menghentikan reaksi antara sel hidup. Pada akhir inkubasi serapan dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm.

**c) Analisa hasil**

Hasil uji sitotoksik pada sel HeLa dan sel Vero didapatkan data absorpsi dicari hubungan regresi linier antara log konsentrasi dengan persen sel hidup menghasilkan persamaan  $y = bx+a$ ,  $IC_{50}$  dihitung dengan cara mensubstitusi nilai 50 pada Y sehingga diperoleh nilai x dan nilai  $IC_{50}$  merupakan antilog x. Persentase sel hidup dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Abs sel perlakuan} - \text{Abs. Kontrol media}}{\text{Abs.Kontrol Sel} - \text{Abs.Kontrol media}}$$

Selektivitas ekstrak dan fraksi herba kemangi dievaluasi dengan menggunakan parameter *Selectivity Index* (SI). Suatu sampel dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai  $SI \geq 3$ , dan dikatakan kurang selektif apabila nilai  $SI \leq 3$  (Rahmawati, 2016). Indeks selektivitas dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{IC_{50} \text{ Sel Vero}}{IC_{50} \text{ Sel HeLa}}$$

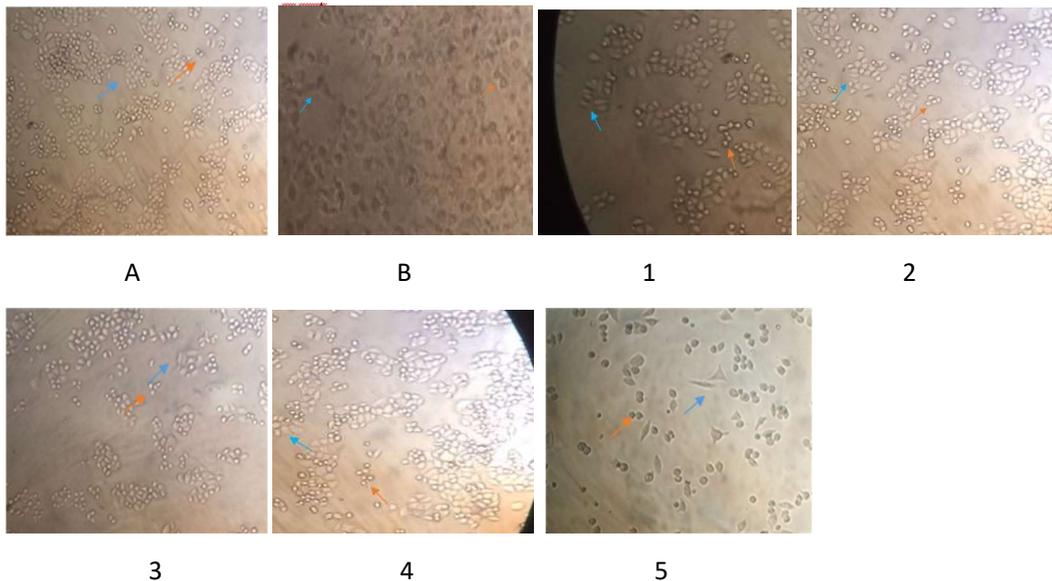
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil maserasi dengan penyari etanol 96% menghasilkan rendemen sebesar 6,35%. Penarikan senyawa menggunakan etanol 96% masih memiliki kandungan senyawa yang kompleks sehingga perlu dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dari ekstrak etanol kemangi dilakukan secara partisi menggunakan ekstrak herba kemangi sebanyak 10 gram. Rata-rata hasil fraksinasi bisa dilihat pada tabel 1 setelah dilakukan 3 kali replikasi.

**Tabel 1 Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi**

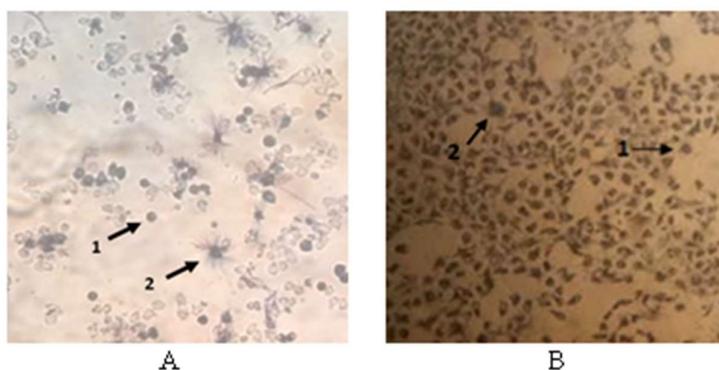
Total Berat Ekstrak (g)	Fraksi	Rata-rata Berat Fraksi (g)	Rendemen (%)
30	n-heksan	21,26 ± 0,02	74,23
	etil asetat	3,41 ± 0,01	11,36
	air	2,56 ± 0,02	8,53

Pada uji sitotoksisitas ekstrak dan fraksi herba kemangi terhadap sel HeLa dan Vero, hasil yang diperoleh menunjukkan ekstrak dan fraksi bersifat toksik yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan fenomena *dose dependent* yang ditunjukkan dengan efek toksik meningkat seiring peningkatan konsentrasi. Hasil uji sitotoksik dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1** Morfologi Sel HeLa (A) dan Sel Vero (B) setelah penambahan sampel uji. Ekstrak etanol (1), fraksi n-heksan (2), fraksi etil asetat (3), fraksi air (4), Cisplatin (5). Keterangan : ( → ) sel mati, ( → ) sel hidup

Hasil uji setelah penambahan MTT, sel HeLa dan sel Vero yang masih hidup akan menghasilkan enzim mitokondria reduktase yang selanjutnya akan bereaksi dengan cara mereduksi MTT sehingga membentuk kristal jarum formazan berwarna ungu (gambar 2). Kristal jarum farmazan tidak larut dalam air tetapi larut dalam SDS. Kristal-kristal formazan tersebut dapat menembus membran sel dan terakumulasi di dalam sel sehat. Sel yang mati tidak dapat terwarnai oleh garam MTT sehingga tidak membentuk warna ungu seperti pada sel hidup.



**Gambar 2** Morfologi sel hidup yang membentuk kristal formazan pada Sel HeLa (A), Sel Vero (B) pada mikroskop pembesaran 10 x. Keterangan : (1) sel mati, (2) sel hidup

Hasil analisis dengan regresi linier diperoleh nilai  $IC_{50}$  untuk masing-masing sampel ekstrak, fraksi heksan, etil asetat dan air, serta hasil analisa selektivitas ditunjukkan pada tabel 2.

**Tabel 2 Nilai IC<sub>50</sub> dan Hasil Uji Indeks Selektivitas Ekstrak dan Fraksi Herba Kemangi**

Sampel	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)		Indeks Selektivitas
	Sel HeLa	Sel Vero	
Ekstrak	741,31	3053,25	4,11
Fraksi n-heksan	120,55	1515,37	12,57
Fraksi etil asetat	170,17	1824,37	10,72
Fraksi.Air	186,62	2075,51	11,12
Cisplatin	16,04	11,3765	0,71

## PEMBAHASAN

Herba kemangi yang digunakan pada penelitian ini dalam bentuk fraksi terbukti bekerja lebih efektif sebagai anti kanker terhadap sel HeLa daripada ekstraknya karena kombinasi sejumlah bahan aktif yang terdapat pada ekstrak yang bekerja pada target reseptor dimungkinkan memiliki mekanisme kerja antagonis sehingga dapat menurunkan efek terapi secara keseluruhan.

Menurut hasil penelitian, nilai IC<sub>50</sub> di bawah 100 µg/mL merupakan agen antikanker poten sedangkan nilai IC<sub>50</sub> di atas 100 µg/mL merupakan agen kemopreventif yang poten. Berdasarkan nilai tersebut kriteria IC<sub>50</sub> ekstrak dan fraksi herba kemangi belum menunjukkan aktivitas sitotoksik yang poten terhadap sel kanker serviks (sel HeLa), tetapi ekstrak dan fraksi herba kemangi kemungkinan memiliki aktivitas kemopreventif yang poten (Uede, 2002).

Ekstrak dan fraksi herba kemangi bersifat sitotoksik terhadap sel HeLa. Penelitian lain menyebutkan bahwa bahwa ekstrak etanol kemangi memiliki efek kemopreventif pada sel HeLa dengan nilai IC<sub>50</sub> adalah 209 µg/mL (Ismiyati, 2016). Ekstrak etanol kemangi juga menunjukkan efek sitotoksik pada sel kanker kolon (*WiDr cell line*) dengan nilai IC<sub>50</sub> adalah 85 µg/mL dan fraksi aktif kloroform IC<sub>50</sub> 25 µg/mL (Haryanti, 2011). Isolat minyak atsiri daun kemangi memiliki nilai IC<sub>50</sub> 60 µg/mL terhadap sel MCF-7 (Selvi, 2015).

Selektivitas agen kemopreventif artinya hanya sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker saja yang diserang, sementara sel normal tidak diserang. Mekanisme ini sangat berbeda dengan cara kerja obat kemoterapi yang menyerang sel kanker dan juga sel normal. Akibatnya sel normal ikut rusak dan mati yang berakibat pada timbulnya berbagai macam efek samping (Rahmawati, 2016). Ekstrak dan fraksi herba kemangi terbukti selektif terhadap sel HeLa dengan nilai IS ≥ 3.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Ekstrak dan fraksi herba kemangi dapat menghambat pertumbuhan sel HeLa dan sel normal (Vero). Efek sitotoksitas ekstrak dan fraksi herba kemangi paling poten dan bekerja selektif pada sel kanker payudara yaitu fraksi n-heksan, sehingga fraksi ini mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai agen kemoterapi pada kanker serviks.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dapat mengetahui senyawa apakah yang berperan dalam aktivitas sitotoksik, pengujian sel kanker lain dan uji apoptosisnya.

## DAFTAR PUSTAKA

Depkes RI. (2013). *Farmakope Herba Indonesia*. Edisi I. Suplemen III. Jakarta : Kemmenkes RI.  
Haryanti S dan Katno. (2011). Aktivitas Sitotoksik *Ocimum sanctum* L pada Sel Kanker Kolon *WiDr*. *Simposium Nasional XV PERHIPBA*. Hlm 1-7.

- IARC International Agency for Research on Cancer. (2012). *All Cancers (Excluding non-melanoma skin cancer) Estimated Incidence*. Mortality and Prevalence world wide in 2012.
- Ismiyati N dan Nurhaeni F. (2016). Efek Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) Sebagai Agen Kemopreventif pada Sel Kanker Leher Rahim Hela Melalui Aktivitas Sitotoksik dan Induksi Apoptosis. *Media Farmasi*, 13, 35-48.
- Kurnijasanti R, Hamid SI, Rahmawati K. (2008). Efek Sitotoksik In Vitro dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. *J. Penelit Media Eksakta*, 7, 48-54.
- Nakano T, Ohno T, Ishikawa H, Suzuki Y, Takashi T. (2010). Current Advancement in Radiation Therapy for Uterine Cervical Cancer. *J Radial Res*, 51, 1-8.
- Rahmawati Ika, Putri H. (2016). Selektivitas Ekstrak Etanolik Buah Makassar (*Brucea javanica*) pada Kanker Payudara Metastasis secara In Vitro. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 2, 1.
- Sari GNF, Mindi Lukito. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal farmasi Indonesia*, 14, 9-15.
- Selvi MT, Thirugnanasampandan R, Sundarammal S. (2015). Antioxidant and Cytotoxic Activities of Essential Oil of *Ocimum canum* Sims. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19, 97–100.
- Uede JY, Tesuka Y, Banskota AH, Tran QL, Hariyama Y, Saiki dan Kadota S. (2002). Antiproliferative activity of Vietnamese medicinal plants. *Biology phrm*, bull, 25, 6, 753-760.
- Wijayakusuma, M Hembing. (2000). *Ensiklopedia Milineum, Tumbuhan Berkhasiat Obat*. Jilid ke- 1. Jakarta : Prestasi.
- Zarlaha A, Kourkoumelis N, Stanojkovic, TP, Kovala-demertzi D. (2014). Cytotoxic activity of essential oil and extracts of *ocimum Basilicum* against human carcinoma cells. Molecular Docking study of isoeugenolas a potent cox and lox Inhibitor. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 9,907-917.