

ARTIKEL PENELITIAN

Efek Pemberian Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Proliferasi dan Migrasi Sel Kanker Serviks HeLa

Meilisa Rahmawati¹, Dessy Arisanty², Rizki Rahmadian³, Eti Yerizel⁴, Dina Arfiani Rusjdi⁵, Rahmatini⁶

1. Jurusan Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Pauh, Padang, Sumatera Barat 2516, Indonesia; 2. Bagian Biomedis, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Pauh, Padang, Sumatera Barat 2516, Indonesia; 3. Bagian Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Pauh, Padang, Sumatera Barat 2516, Indonesia; 4. Bagian Biomedis, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Pauh, Padang, Sumatera Barat 2516, Indonesia; 5. Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Pauh, Padang, Sumatera Barat 2516, Indonesia; 6. Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Pauh, Padang, Sumatera Barat 2516, Indonesia.

Korespondensi: Dessy Arisanty, email: dessyarisanty@med.unand.ac.id, HP: 081363787861

Abstrak

Tujuan: mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai dalam menghambat proliferasi dan migrasi sel HeLa. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan 24 disk kultur sel HeLa yang konfluens. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok (K, P1, P2 dan P3). Kelompok perlakuan diberikan ekstrak daun sungkai dengan konsentrasi IC25, IC50, dan IC75 yang diinkubasi selama 72 jam. Analisis data menggunakan uji *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Bonferroni*. **Hasil:** Rerata jumlah sel proliferasi yang didapatkan pada kelompok K, P1, P2, dan P3 berturut-turut adalah $12,1 \times 10^5$, $8,94 \times 10^5$, $6,14 \times 10^5$ dan $5,04 \times 10^5$. Rerata migrasi jumlah sel yang berkumpul pada zona *scratch* pada kelompok K, P1, P2, dan P3 berturut-turut adalah 49,0, 237,8, 210,5, dan 100,7. Didapatkan perbedaan yang bermakna tiap kelompok pada uji proliferasi dan migrasi dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai terhadap proliferasi dan migrasi sel HeLa. Perbedaan bermakna ditemukan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak IC25, IC50, dan IC75.

Kata kunci: Proliferasi Sel, Migrasi Sel, Ekstrak Daun Sungkai, Sel HeLa

Abstract

Objective: to find out the effect of sungkai leaf extract in inhibiting HeLa cells proliferation and migration. **Method:** This research was an experimental study using 24 confluent HeLa cell culture disks. The sample was divided into 4 groups (K, P1, P2 and P3). The treatment group was given sungkai leaf extract with concentrations of IC25, IC50, and IC75 which was incubated for 72 hours. Data analysis was performed using *One Way ANOVA* and *Post Hoc Bonferroni* tests. **Results:** The average number of proliferative cells in groups K, P1, P2, and P3 respectively $12,1 \times 10^5$, $8,94 \times 10^5$, $6,14 \times 10^5$, and $5,04 \times 10^5$. The average number of migrated cells in the scratch zone in groups K, P1, P2, and P3 are 49,0,



237,8, 210,5 and 100,7 respectively. There was a significant difference in each group in the proliferation and migration test with a value of $p = 0.000$ ($p < 0.05$). **Conclusion:** Sungkai leaf extract effect the proliferation and migration of HeLa cells. Significant difference found in control group and the treatment group with extract concentration of IC25, IC50, and IC75.

Keywords: Cell proliferation, Cell Migration, Sungkai Leaf Extract, HeLa Cells

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Data badan kesehatan dunia (WHO) pada tahun 2018 menunjukkan bahwa kanker menempati posisi kedua penyakit dengan angka kematian tertinggi, yaitu 9,6 juta kasus atau terdapat 1 dari 6 kasus kematian secara global yang disebabkan oleh penyakit kanker. Data statistik WHO melaporkan bahwa tipe kanker dengan insidensi terbanyak pada pria adalah kanker paru, prostat, kolorektal, dan hati, sementara tipe terbanyak pada wanita adalah kanker payudara, kolorektal, paru, serviks, dan tiroid.¹

Angka kejadian kanker di Indonesia menempati urutan ke-8 di Asia Tenggara dan urutan ke-23 di Asia. Menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) di Indonesia pada tahun 2019, prevalensi penyakit kanker di Indonesia meningkat hampir 50% dari tahun 2013 hingga tahun 2018. Prevalensi tertinggi terjadi di provinsi DI Yogyakarta (2,48 per 1000 penduduk), diikuti provinsi Sumatera Barat di urutan kedua (2,44 per 1000 penduduk). Data tersebut juga mengungkapkan angka kejadian tertinggi pada pria yaitu kanker paru yang menyebabkan kematian 10,9 per 100.000 penduduk, diikuti dengan kanker hati dengan rerata kematian 7,6 per 100.000 penduduk dan pada wanita adalah kanker payudara dengan rerata kematian 17 per 100.000 penduduk, diikuti dengan kanker serviks dengan rerata kematian 13,9 per

100.000 penduduk.²

Kanker serviks atau kanker leher rahim merupakan keganasan yang terjadi pada mulut rahim. Penyebab utama kanker serviks adalah *Human Papilloma Virus* (HPV). Setiap tahun, terdapat 500.000 kasus baru kanker serviks di dunia yang menyebabkan lebih dari 250.000 kasus kematian, sementara di Indonesia dengan jumlah penduduk sekitar 220 juta jiwa, terdapat sekitar 52 juta perempuan yang terancam menderita kanker serviks.³ Kanker serviks merupakan jenis kanker terbanyak kedua di Indonesia setelah kanker payudara, dengan angka kejadian 0,8% atau atau sekitar 98.692.^{3,4} Menurut Yayasan Kanker Indonesia (YKI), prevalensi kanker serviks di Sumatera Barat menempati urutan kedua dengan angka kejadian 0,9%, dimana Padang dan Solok menjadi daerah dengan penyumbang terbanyak.⁵ Kejadian kanker serviks dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah multiparitas, usia saat pertama kali berhubungan seksual, penggunaan kontrasepsi hormonal, usia di atas 40 tahun, tingkat pendidikan rendah, merokok, dan faktor genetik.⁶

Terapi yang umum dilakukan sebagai pengobatan kanker serviks adalah terapi bedah, radioterapi, atau kemoterapi. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa stadium kanker serviks yang paling banyak ditemukan secara klinis adalah stadium II dan III. Menurut Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran (PNPK), terapi yang

direkomendasikan untuk pengobatan kanker serviks stadium IIB-III B adalah kemoradiasi atau radioterapi.⁷ Sementara itu, kanker serviks stadium lain dapat ditatalaksana dengan pilihan pembedahan maupun radioterapi atau kemoterapi sesuai tingkat keparahan dan pilihan pasien untuk mempertahankan fertilitas atau tidak.⁸ Terapi bedah dilakukan dengan mengangkat jaringan kanker, namun masih meninggalkan risiko bagi sel kanker untuk kembali berkembang apabila pengangkatan jaringan tidak sempurna. Pada stadium lanjut, terkadang terapi pembedahan kanker serviks dilakukan sekaligus dengan pengangkatan organ yang dirasa tidak bisa dipertahankan, contohnya rahim. Hal ini seringkali menjadi pertimbangan berat bagi pasien untuk menjalani terapi pembedahan. Selain itu, terapi lain seperti radioterapi dan kemoterapi dapat menyebabkan kematian sel kanker, namun juga dapat merusak sel normal di saat bersamaan. Efek samping lain yang dapat timbul dari terapi bedah, radioterapi, dan kemoterapi adalah immunosupresi, anemia, gangguan metabolisme, kerontokan rambut, dan infertilitas.⁹

Pengobatan tradisional dengan obat-obatan herbal banyak dikembangkan sebagai pilihan terapi penunjang yang relatif aman dengan efek samping minimal. Dalam pengobatan kanker, obat-obatan herbal dapat berperan sebagai terapi adjuvan dengan menghambat pertumbuhan dan menghancurkan sel kanker yang mungkin masih tersisa setelah pengobatan primer.

Obat herbal juga dapat digunakan sebagai terapi kombinasi bersamaan dengan terapi bedah, kemoterapi, maupun radioterapi untuk meminimalisasi munculnya efek samping yang tidak diinginkan. Obat herbal tertentu berpotensi untuk menurunkan risiko terjadinya kanker dan menghambat progresivitasnya, salah satunya adalah ekstrak daun sungkai.¹⁰

Tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai keluhan kesehatan.¹¹ Sungkai termasuk ke dalam famili *Verbenaceae*. Tinggi tanaman sungkai mencapai 20-30 m dengan diameter hingga 60 m atau lebih. Tanaman sungkai memiliki batang lurus dan sedikit berlekuk dangkal, tidak berbanir, serta ranting yang penuh dengan bulu halus. Permukaan daun pohon sungkai memiliki bulu halus, berwarna hijau keabuan, dan tumbuh banyak dalam satu cabang. Sungkai memiliki bunga berbentuk malai di ujung atau ketiak daun atas yang berukuran besar dan bercabang dengan panjang sekitar 20-60 cm. Buah sungkai berbentuk bulat, beruang empat, kecil, kering dan biasanya muncul 2 bulan setelah mulai berbunga. Tanaman sungkai dapat hidup di hutan tropis dengan curah hujan beragam. Sungkai hidup baik di tanah kering atau sedikit lembab dengan ketinggian sampai 600 m di atas permukaan laut.¹² Tanaman sungkai banyak ditemukan di berbagai wilayah di Indonesia, seperti di Kalimantan, Jawa Barat, Jambi, Bengkulu,

dan Sumatera Barat.¹³ Sungkai dapat tumbuh di dalam hutan, kebun, maupun halaman.

Bagian utama tanaman sungkai yang banyak dijadikan sebagai obat herbal adalah daunnya. Ekstrak daun sungkai diperoleh dengan cara maserasi bertingkat menggunakan pelarut etanol. Penggunaan etanol sebagai pelarut didasarkan pada kemampuannya untuk melarutkan senyawa non-polar, semi-polar, dan polar yang dibutuhkan dalam penelitian ini. Pelarut spesifik yang digunakan adalah etanol 70% yang mengandung 70% etil alkohol dan 30% air. Etanol memiliki sifat mudah menguap sehingga pada saat ekstrak dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C, kandungan etil alkohol dalam hasil akhir ekstrak sudah hilang dan hanya menyisakan senyawa metabolit dan air. Penelitian terkait khasiat ekstrak daun sungkai sebagai pengobatan masih sangat terbatas. Senyawa yang sudah teruji kandungannya di dalam ekstrak daun sungkai berupa flavonoid, alkaloid, fenolik, steroid, saponin, polisakarida, dan terpenoid.¹⁴ Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak daun sungkai bermanfaat sebagai imunostimulan, antiinflamasi, antipiretik, antihiperurisemia, dan antibakteri.

Sebuah penelitian fitokimia daun sungkai menyimpulkan bahwa ekstrak daun sungkai memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dan tergolong bersifat toksik sehingga berpotensi sebagai antikanker. Penelitian lain yang membandingkan potensi

antikanker beberapa ekstrak tanaman obat menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sungkai tergolong sangat tinggi.¹⁵ Aktivitas antioksidan yang tinggi memiliki korelasi positif dengan tingginya kandungan fenol total di dalamnya. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa ekstrak daun sungkai merupakan ekstrak paling prospektif sebagai agen kuratif antikanker karena aktivitas antiproliferasinya tergolong tinggi terhadap sel kanker serviks, namun tidak bersifat sitotoksik terhadap sel normal.¹⁶ Meskipun begitu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dan memperkuat hasil penelitian yang sudah ada sebelumnya.

Berdasarkan penelusuran dari beberapa sumber literatur, hasil penelitian yang telah diperoleh sebelumnya masih terbatas pada kesimpulan bahwa ekstrak daun sungkai memiliki potensi sebagai zat antikanker, namun belum ada data yang menyebutkan bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai terhadap proliferasi dan migrasi sel kanker serviks HeLa menggunakan metode perhitungan kuantitatif dengan TC10 *cell counter* dan pengamatan migrasi sel secara langsung menggunakan metode *scratch assay* pada *HeLa cell line*.

Melihat masih terbatasnya penelitian mengenai potensi daun sungkai terhadap pengobatan kanker serviks, penelitian ini akan membahas mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai terhadap

aktivitas proliferasi dan migrasi sel HeLa secara *in vitro*.

METODE

Desain dan Lokasi Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan studi *in vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas pada bulan November 2021 – Oktober 2022.

Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel dalam penelitian ini adalah kultur sel HeLa dalam 6 cm *culture disk* yang ditumbuhkan tanpa kontaminasi bakteri dan jamur di Laboratorium Kultur Sel Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Terdapat 4 kelompok sampel yaitu:

1. Kelompok 1 = kontrol sel
2. Kelompok 2 = ekstrak daun sungkai konsentrasi IC25
3. Kelompok 3 = ekstrak daun sungkai konsentrasi IC50
4. Kelompok 4 = ekstrak daun sungkai konsentrasi IC75

Pengulangan dilakukan dengan rumus

Federer:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (4-1) \geq 15$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

n: jumlah pengulangan

t: jumlah kelompok

Berdasarkan rumus Federer

didapat jumlah sampel tiap kelompok adalah 6 sampel. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok sampel yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Pengambilan sampel dilakukan secara *total sampling*.

Pengumpulan Data

Data proliferasi sel diperoleh melalui hasil perhitungan sel proliferasi menggunakan TC10 *cell counter* dengan metode *trypan blue assay* dan data migrasi sel diperoleh melalui perhitungan jumlah sel yang berkumpul di zona *scratch* yang dilihat di bawah mikroskop *inverted* dan dibaca menggunakan bantuan aplikasi *imageJ*.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Bonferroni*.

Jika data tersebut tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji alternatif *Kruskal Wallis*.

1. Proliferasi sel

$$\text{Sel proliferasi (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel viable} \times 100}{\text{Jumlah sel total}}$$

2. Migrasi sel

Jumlah sel yang dihitung adalah jumlah sel yang berkumpul di zona yang sebelumnya telah *discratch*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proliferasi Sel

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun sungkai terhadap proliferasi sel

HeLa. Kelompok kedua, ketiga, dan keempat diberikan ekstrak daun sungkai pada hari ke-2 setelah kultur sel diinkubasi selama 24 jam dengan konsentrasi IC25, IC50, dan IC75, kemudian diinkubasi lagi selama 72 jam.

Pada hari ke-5, setelah kultur sel diinkubasi dan diwarnai dengan zat warna *trypan blue*, penelitian dilanjutkan

menggunakan TC10 *cell counter* untuk menghitung jumlah sel yang mengalami proliferasi.

Hasil yang didapatkan pada setiap kelompok penelitian disajikan dalam tabel berikut.

Tabel 1. Hasil penghitungan rerata sel proliferaatif

Kelompok	Jumlah Sel Proliferaatif (x10 ⁵)			
	K (n=6)	P1 (n=6)	P2 (n=6)	P3 (n=6)
Disk 1	11,1	8,76	4,28	6,44
Disk 2	13,1	6,65	2,27	5,74
Disk 3	14,8	11,3	9,57	5,29
Disk 4	11,3	6,54	6,80	5,59
Disk 5	11,5	8,06	6,29	1,13
Disk 6	10,8	12,3	7,60	6,09
Maksimum	14,8	12,3	9,57	6,44
Minimum	10,8	6,54	2,27	1,13
Rata-rata	12,1	8,94	6,14	5,04

Keterangan tabel

n : jumlah sampel

K : kelompok kontrol

P1 : kelompok perlakuan 1

P2 : kelompok perlakuan 2

P3 : kelompok perlakuan 3

Data perbedaan (*p*) dinyatakan bermakna bila $p < 0,05$

Data yang didapat kemudian diuji dengan interval kepercayaan 95% dan

taraf signifikansi 0,05 ($p = 0,05$). Hasil analisis ini diuraikan dalam uji normalitas data dan uji komparabilitas. Hasil

perhitungan jumlah sel proliferasi pada masing-masing kelompok selanjutnya dianalisis secara statistik. Pengujian yang dilakukan adalah uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk Test* dan didapatkan hasilnya pada kelompok kontrol dan perlakuan berturut-turut adalah 0,105, 0,355, 0,955, 0,158. Nilai $p > 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa data terdistribusi normal sehingga uji *One Way ANOVA* dapat dilakukan.

Sebelum melakukan uji *One Way ANOVA*, terlebih dahulu dilakukan uji *Homogeneity of Variances* untuk mengetahui kesamaan varian data. Hasil uji didapatkan nilai $p = 0,480$ ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data antar kelompok sama.

Selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA*. Hasil pengujian menunjukkan adanya perbedaan rerata jumlah sel proliferasi pada setiap kelompok penelitian yang bermakna dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan yang bermakna terjadi pada semua kelompok.

Prinsip dalam pengujian ini cukup sederhana. Suspensi sel hanya dicampur dengan zat pewarna *trypan blue*, kemudian diperiksa secara visual untuk menentukan apakah sel menyerap atau mengeksklusi zat warna. Sel normal akan memiliki sitoplasma yang jelas sedangkan sel yang rusak akan memiliki sitoplasma biru. *Trypan blue* bersifat *impermeable* terhadap membran sel sehingga hanya dapat memasuki sel dengan membran yang rusak. Setelah masuk ke dalam sel,

trypan blue akan mengikat protein intraseluler sehingga membuat sel menjadi berwarna biru. *Trypan blue* akan mewarnai sel dengan membran yang rusak, tetapi tidak dapat membedakan antara membran permeabilisasi yang disebabkan oleh apoptosis atau nekrosis.¹⁷

TC10 *cell counter* dapat secara otomatis mendeteksi keberadaan pewarna *trypan blue* dalam sampel. TC10 *cell counter* dapat menilai viabilitas sel melalui eksklusi pewarna *trypan blue* dalam waktu 30 detik. Setelah melihat hasil perhitungan jumlah sel, gambar sel yang dihitung dapat dilihat pada layar TC10 *cell counter*. Gambar ini dapat dizona sesuai kebutuhan penelitian. File JPEG beranotasi dari gambar sel dapat diekspor melalui USB *port* untuk analisis lebih lanjut.¹⁸

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun sungkai yang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, dan terpenoid yang dapat menghambat proliferasi sel dan membunuh sel kanker tanpa merusak sel sehat. Flavonoid termasuk kelas metabolit sekunder tanaman yang memiliki struktur polifenol. Regulator proapoptotik dan protein regulator apoptosis flavonoid bekerja dengan melepaskan sitokrom c di mitokondria dan memicu pembelahan procaspase-9 sehingga menyebabkan aktivasi caspase sehingga siklus sel terhenti dan apoptosis sel terjadi. Alkaloid sebagai agen antikanker akan menghambat enzim topoisomerase yang terlibat dalam replikasi DNA dan menginduksi apoptosis sel kanker.

Alkaloid juga menghambat ekspresi gen dengan memicu kerusakan DNA sel kanker yang dimanifestasikan oleh up-regulasi H2AX sebagai penanda kerusakan DNA. Fenol dapat menyebabkan blokade terhadap inisiasi karsinogenesis melalui aktivasi molekul genotoksik eksogen atau endogen sekaligus inhibisi aktivitas sistesis enzim metabolisme karsinogen. Polifenol mengaktifkan enzim fase I (sitokrom p450) untuk mendetoksifikasi molekul prekanker. Terpenoid terbukti menunjukkan sifat antikanker melalui tindakan pada berbagai tahap perkembangan tumor, seperti penghambatan inisiasi awal dan perkembangan tumorigenesis dengan menginduksi penghentian siklus sel, diferensiasi sel tumor, dan apoptosis.¹⁹⁻²⁸

Pada penelitian ini diketahui terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai terhadap proliferasi sel HeLa dengan ditemukannya penurunan jumlah sel proliferasi pada kelompok sel yang diberi ekstrak dibanding dengan kelompok kontrol. Setelah melalui masa inkubasi selama 72 jam dengan konsentrasi 34,28 µg/ml (IC25) didapatkan rata-rata $8,94 \times 10^5$ sel proliferasi, pada konsentrasi 55,08 µg/ml (IC50) didapatkan rata-rata $6,14 \times 10^5$ sel proliferasi, dan pada konsentrasi 88,51 µg/ml (IC75) didapatkan rata-rata $5,04 \times 10^5$ sel proliferasi.

Pada penelitian yang dilakukan, persentase sel proliferasi semakin kecil seiring dengan pemberian konsentrasi

ekstrak daun sungkai yang semakin besar. Semakin lama masa inkubasi juga menyebabkan persentase sel proliferasi semakin rendah.

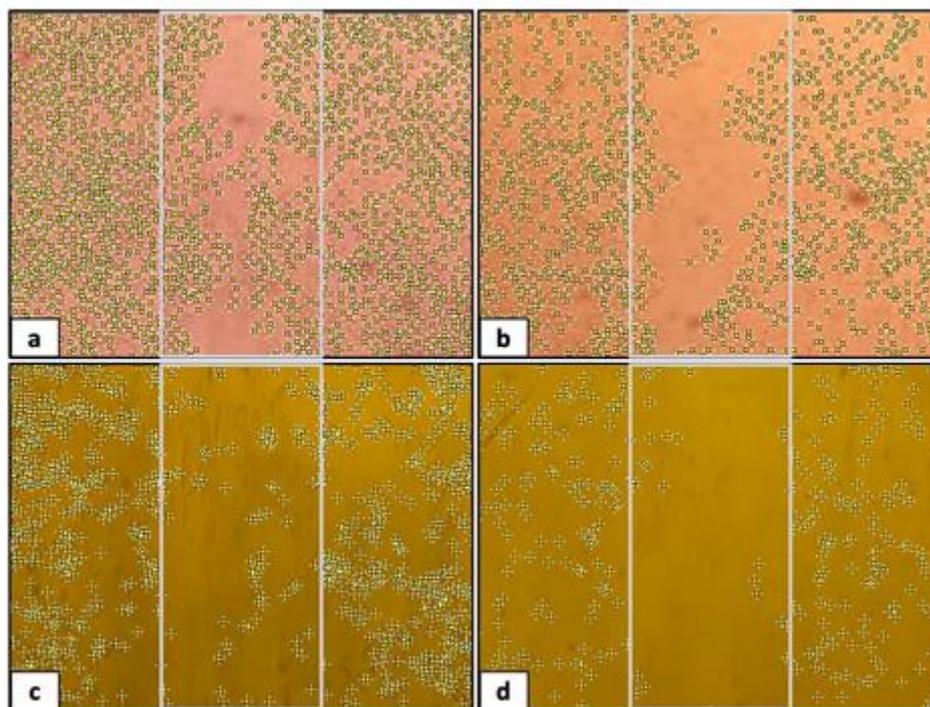
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan peneliti, maka dapat dinyatakan bahwa hipotesis penelitian diterima karena terbukti ditemukan pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai dalam menghambat proliferasi sel HeLa secara *in vitro*.

Migrasi Sel

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun sungkai terhadap migrasi sel HeLa. Kelompok kedua, ketiga, dan keempat diberikan ekstrak daun sungkai pada hari ke-2 setelah kultur sel diinkubasi selama 24 jam dengan konsentrasi IC25, IC50, dan IC75. Kultur sel kemudian *discratch* menggunakan *yellow tip* steril pada bagian tengahnya dan diamati secara berkala. Pengamatan dilakukan sebelum kultur sel diinkubasi dan setelah kultur sel diinkubasi selama 72 jam.

Sebelum diinkubasi, bagian tengah kultur sel yang sebelumnya *discratch* menggunakan *yellow tip* steril akan terlihat kosong tanpa sel saat dilihat di bawah mikroskop *inverted*. Pada hari ke-5, setelah kultur sel diinkubasi selama 72 jam, semua kelompok sampel dilihat menggunakan mikroskop *inverted* untuk menghitung jumlah sel yang mengalami migrasi.

Gambaran migrasi kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1. Foto *scratch assay* migrasi kultur sel HeLa menunjukkan gambar a) kelompok kontrol, b) kelompok perlakuan IC25, c) Kelompok perlakuan IC50, d) kelompok perlakuan IC75. Sel yang mengalami migrasi tampak berkumpul ke zona yang sebelumnya *discratch*.

Pengamatan preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop *inverted* yang selanjutnya dibaca menggunakan bantuan aplikasi *ImageJ*. Gambaran migrasi sel pada kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada gambar 5.2. Gambar a adalah kelompok kontrol. Gambar b,c, dan d adalah kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun sungkai berturut-turut IC25, IC50, dan IC75.

Kelompok kontrol adalah kelompok yang tidak diberi ekstrak daun sungkai. Pada gambar terlihat sel kembali memenuhi zona yang sebelumnya telah *discratch* setelah diinkubasi selama 72 jam.

Gambar b adalah kelompok

perlakuan yang diberi ekstrak daun sungkai dengan konsentrasi IC25. Pada kelompok ini ditemukan adanya sel yang mengalami migrasi ke zona *scratch* setelah diinkubasi selama 72 jam, namun jumlahnya tidak sebanyak pada kelompok kontrol.

Gambar c adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun sungkai dengan konsentrasi IC50. Pada kelompok ini ditemukan adanya sel yang mengalami migrasi ke zona *scratch* setelah diinkubasi selama 72 jam, namun jumlahnya lebih sedikit dibanding jumlah sel yang mengalami migrasi pada kelompok perlakuan ekstrak daun sungkai IC25.

Gambar d adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun

sungkai dengan konsentrasi IC75. Pada kelompok ini ditemukan adanya sel yang mengalami migrasi ke zona *scratch* setelah diinkubasi selama 72 jam, namun jumlahnya sangat sedikit. Jumlah sel

yang mengalami migrasi pada kelompok perlakuan ekstrak daun sungkai IC75 ini paling sedikit dibanding pada kelompok kontrol, IC25, dan IC50.

Tabel 2. Hasil penghitungan rerata sel yang mengalami migrasi

Kelompok	Jumlah Sel yang Mengalami Migrasi			
	K (n=6)	P1 (n=6)	P2 (n=6)	P3 (n=6)
Disk 1	470	329	235	81
Disk 2	608	239	286	83
Disk 3	617	270	107	110
Disk 4	510	169	185	99
Disk 5	460	247	230	112
Disk 6	281	173	220	119
Maksimum	617	329	286	119
Minimum	281	169	107	81
Rata-rata	491,0	237,8	210,5	100,7

Keterangan tabel

n : jumlah sampel

K : kelompok kontrol

P1 : kelompok perlakuan 1

P2 : kelompok perlakuan 2

P3 : kelompok perlakuan 3

Data perbedaan (p) dinyatakan bermakna bila $p < 0,05$

Data yang didapat kemudian diuji dengan interval kepercayaan 95% dan taraf signifikansi 0,05 ($p = 0,05$). Hasil analisis ini diuraikan dalam uji normalitas data dan uji komparabilitas. Hasil pengukuran jumlah sel yang mengalami migrasi pada masing-masing kelompok selanjutnya dianalisis secara statistik. Pengujian yang dilakukan adalah uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk Test* dan didapatkan hasilnya pada kelompok kontrol dan perlakuan berturut-turut adalah 0,398, 0,591, 0,597, dan 0,361. Nilai $p > 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa data terdistribusi normal sehingga uji *One Way ANOVA* dapat dilakukan.

Selanjutnya analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *One Way ANOVA*.

Sebelum melakukan uji *One Way ANOVA*, terlebih dahulu dilakukan uji *Homogeneity of Variances* untuk mengetahui kesamaan varian data. Hasil uji didapatkan nilai $p = 0,099$ ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data antar kelompok sama.

Selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA*. Hasil pengujian menunjukkan ada perbedaan rerata jumlah sel yang mengalami migrasi pada semua kelompok penelitian secara bermakna dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan yang bermakna terjadi pada semua kelompok.

Prinsip dasar metode ini adalah membuat goresan pada sel *monolayer* menggunakan *yellow tip* steril hingga

terbentuk celah dengan ukuran tertentu. Penentuan kemampuan migrasi sel dilakukan dengan mengamati sel secara berkala dan melakukan penghitungan terhadap jumlah sel yang berkumpul pada zona yang telah *discratch* pada interval waktu yang ditentukan.²⁹

Parameter yang dapat diukur menggunakan metode *scratch assay* adalah kecepatan, persistensi, dan polaritas dari migrasi sel. Kultur sel *monolayer* akan ditumbuhkan secara konfluens dan selanjutnya digores menggunakan ujung *yellow-tip* secara memanjang membentuk suatu celah sehingga sel akan berkumpul di bagian tepi dan kosong di bagian tengah yang sebelumnya *discratch*. Pada sel yang tidak diberi perlakuan, sel-sel yang awalnya berkumpul di tepi akan terpolarisasi dan bermigrasi sehingga kembali menyebar ke arah tengah dan menutup kembali goresan yang dibuat sebelumnya. Keuntungan dari metode ini adalah tidak memerlukan penggunaan *chemoattractants* atau ruang gradien tertentu dan menghasilkan respons migrasi terarah yang kuat. Pengamatan migrasi sel menggunakan metode *scratch assay* dilakukan menggunakan pencitraan selang waktu atau diamati secara berkala sesuai interval waktu tertentu.³⁰

Jenis migrasi sel kolektif yang diperiksa dengan uji *scratch assay* dikenal sebagai *sheet migration*. Migrasi ini ditunjukkan oleh epitel *monolayer* dan endotel yang bergerak dalam dua dimensi sambil mempertahankan sambungan antar selnya. *Sheet migration*

terjadi dalam berbagai proses, seperti metastasis kanker, morfogenesis embrionik, dan cedera jaringan. *Sheet migration* melibatkan interaksi kompleks antara kekuatan mekanik, interaksi molekuler, dan *cascade* biokimia yang dipicu oleh paparan *monolayer* seluler ke ruang bebas, seperti ketika sel terpapar kembali pada celah dalam uji *scratch assay*.³¹⁻³³

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun sungkai yang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, dan terpenoid yang dapat menghambat siklus dan migrasi sel tanpa merusak sel sehat. Flavonoid merupakan inhibitor kuat untuk beberapa enzim, seperti *xanthine oxidase* (XO), *cyclo-oxygenase* (COX), *lipoxigenase* dan fosfoinositide 3-kinase. Alkaloid sebagai agen antikanker berperan memodulasi jalur sinyal yang terlibat dalam proliferasi, siklus sel, dan metastasis sel kanker. Fenol dapat mencegah inisiasi berbagai jenis sel kanker melalui regulasi transduksi sinyal dan ekspresi gen yang mengendalikan perkembangan tumor. Mekanisme lain yang menjadi jalur aktivitas senyawa fenol merupakan inhibisi aktivitas sistesis enzim metabolisme karsinogen sehingga menghambat migrasi dan invasi sel kanker. Terpenoid berperan dalam penekanan angiogenesis, invasi, dan metastasis melalui regulasi berbagai jalur sinyal intraseluler. Salah satu mekanisme antikanker terpenoid adalah menghambat aktivasi jalur *c-Jun N-terminal kinase* (JNK) dan *mitogen-activated* protein kinase (MAPK).¹⁹⁻²⁸

Pada penelitian ini diketahui terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai terhadap migrasi sel HeLa dengan ditemukannya penurunan jumlah sel yang berkumpul pada zona *scratch* pada kelompok sel yang diberi ekstrak dibanding dengan kelompok kontrol. Setelah melalui masa inkubasi selama 72 jam didapatkan rata-rata jumlah sel yang berkumpul ke zona *scratch* sebanyak 237,8 sel pada pemberian ekstrak dengan konsentrasi 34,28 µg/ml (IC25), 210,5 sel yang mengalami migrasi pada pemberian ekstrak dengan konsentrasi 55,08 µg/ml (IC50), dan 100,7 sel pada pemberian ekstrak dengan konsentrasi 88,51 µg/ml (IC75).

Pada penelitian yang dilakukan, semakin besar konsentrasi ekstrak daun sungkai yang diberikan maka semakin kecil jumlah sel yang dapat mengalami migrasi atau bergerak ke zona yang sebelumnya *discratch*. Semakin lama masa inkubasi juga menyebabkan jumlah sel yang bergerak ke zona *scratch* semakin sedikit.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan peneliti, maka dapat dinyatakan bahwa hipotesis penelitian diterima karena terbukti ditemukan pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai dalam menghambat migrasi sel HeLa secara *in vitro*.

Keterbatasan Penelitian

1. Dosis maksimal ekstrak daun sungkai yang tergolong aman untuk dikonsumsi belum diketahui.
2. Kandungan spesifik utama yang berperan aktif sebagai agen antikanker dalam ekstrak daun sungkai belum diketahui.

Sebaran sel dalam media kultur berbeda pada setiap *disk* sehingga banyaknya jumlah sel yang terambil pada saat pembacaan hasil tidak bisa dipastikan dan memunculkan variasi data dalam setiap kelompok perlakuan

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak daun sungkai berpengaruh terhadap penurunan proliferasi sel HeLa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fitriatuzzakiyyah N, Sinuraya RK, Puspitasari IM. Terapi Kanker dengan Radiasi: Konsep Dasar Radioterapi dan Perkembangannya di Indonesia. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 2017 Dec 1;6(4):311-20.
2. Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Kementerian Kesehatan RI. Riset kesehatan dasar (RISKESDAS) tahun 2019.

2. Pemberian ekstrak daun sungkai berpengaruh terhadap penurunan migrasi sel HeLa.
3. Terdapat perbedaan hasil perhitungan proliferasi kultur sel HeLa antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak daun sungkai dengan konsentrasi IC25, IC50, dan IC75.
4. Terdapat perbedaan hasil perhitungan migrasi kultur sel HeLa antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak daun sungkai dengan konsentrasi IC25, IC50, dan IC75.

DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak ada

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada

<http://p2p.kemkes.go.id/penyakit-kanker-di-indonesia-berada-pada-urutan-8-di-asia-tenggara-dan-urutan-23-di-asia/>

3. Rasjidi I. Epidemiologi kanker serviks. *Indonesian Journal of cancer*. 2009 Oct 1;3(3).
4. Yulianti W. Asuhan Keperawatan Pada Ny. A 35 Tahun dengan Kanker Serviks Stadium IV+ Post Kemoterapi Cisplatin 2 Siklus di

- Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Hasan Sadikin (Doctoral dissertation, Universitas' Aisyiyah Bandung). 2021.
5. Silvia M. Hubungan Karakteristik Wanita Usia Subur dengan Hasil Pemeriksaan IVA di Wilayah Kerja Puskesmas Padang Pasir tahun 2017 (Doctoral dissertation, Universitas Andalas).
 6. Yeni NY. Gambaran Faktor Risiko Kejadian Kanker Serviks di RSUP Dr. M. Djamil Padang (Doctoral dissertation, Universitas Andalas).2018.
 7. Legianawati D, Puspitasari IM, Suwantika AA, Kusumadjati A. Profil Penatalaksanaan Kanker Serviks Stadium IIB–IIIB dengan Terapi Radiasi dan Kemoradiasi di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Hasan Sadikin Bandung Periode Tahun 2015–2017. Indonesian Journal of Clinical Pharmacy. 2019 Sep 29;8(3):205-16.
 8. Yuliati I, Perbowo P, Mulawardhana P, Nugroho H, Indraprasta BR, Harjanto B, Widhiarta KD, et al. Panduan Tatalaksana Kanker Ginekologi. Scopindo Media Pustaka; 2020 Jul 10.
 9. Pribadi SY. Literature Review Analisa Efek Samping Kemoterapi pada Pasien Kanker Serviks di Asia (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Magelang). 2021.
 10. Widjanarko A. Peran Obat Herbal Dalam Pengobatan Kanker di Indonesia. Indonesian Journal of Cancer. 2010.
 11. Latief, M., Tarigan, I.L., Sari, P.M. and Aurora, F.E. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan. *Pharmacoin: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1). 2021:23-37.
 12. Wilarso S. Silvikultur jenis Sungkai. Respository Institut Pertanian Bogor. <https://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/65519/13/Silvikultur%20Jenis%20sungkai-Sri%20Wilarso%20Budi%20R.pdf>
 13. Yani AP, Ruyani A, Yenita, Ansyori I, Irwanto R. Uji Potensi Daun Muda Sungkai (*Peronema canescens*) untuk Kesehatan (Imunitas) pada Mencit (*Mus. musculus*). *Jurnal Pendidikan Biologi FKIP Universitas Bengkulu*. 2017: 245-250.
 14. Ibrahim, Arsyik, and Hadi Kuncoro. "Identifikasi metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) terhadap beberapa bakteri patogen." *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry* 2.1.2012: 8-18.
 15. Andespal, Sundaryono, Agus,

- Amir, Hermansyah. Profil Fitokimia Daun Sungkai (*Peronema canescens*) serta Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Sitotoksik Terhadap *Artemia Salina* Leach. Thesis, (Doctoral dissertation, Universitas Bengkulu). 2020.
16. Nawawi DS, Sari RK, Darmawan S. Eksplorasi Senyawa Antikanker dari Limbah Industri Kayu Rakyat. *Jurnal Institut Pertanian Bogor*. 2013.
 17. Strober W. Trypan blue exclusion test of cell viability. *Curr Protoc Immunol*. 2001;21(1):1-2.
 18. Bio-Rad. TC10 Automated Cell Counter. Bio-Rad Laboratories, Inc.
<https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin%205929.pdf>
 19. Ramos S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *The journal of Nutritional Biochemistry*. 2007;18:427-442.
 20. Mondal A, Gandhi A, Fimognari C, Atanasov AG, Bishayee A. Alkaloids for cancer prevention and therapy: Current progress and future perspectives. *Eur J Pharmacol*. 2019.
 21. Millimouno FM, Dong J, Li J, Li X. Targeting Apoptosis Pathways in Cancer and Perspectives With Natural Compounds From Mother Nature. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2014;7(11):1081-107
 22. Dickson MA, Schwartz GK. Development of cell-cycle inhibitors for cancer therapy. *Journal of Current Oncology*. 2009;16(2):36-43.
 23. Basli A, Belkacem N, Amrani I. Phenolic Compounds: Biological Activity, Health Benefits of Phenolic Compounds Against Cancers. 2017.
<https://www.intechopen.com/books/phenolic-compounds-biological-activity/health-benefits-of-phenolic-compounds-against-cancers>
 24. Zujko ME, Witkowska AM. Antioxidant potential and polyphenol content of selected food. *International Journal of Food Properties*. 2011;14(2):300-308.
 25. Zinoveva VN, Spasov AA. Mechanisms of plant polyphenol anti-cancer effects. I. Blockade of carcinogenesis initiation. *Biomeditsinskaia Khimiia*. 2012;58:160-175.
 26. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;100:72-79.

27. Ansari IA, Akhtar MS. Current Insights on the Role of Terpenoids as Anticancer Agents: A Perspective on Cancer Prevention and Treatment. 2019. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7205-6_3
28. Polo MP, de Bravo MG. Effect of geraniol on fatty-acid and mevalonate metabolism in the human hepatoma cell line Hep G2. *Biochem Cell Biol.* 2006;84:102–111.
29. CRCC. Pengamatan Migrasi dengan Scratch Wound Healing Assay. Cancer Chemoprevention Research Center, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta. 2015.
30. Cory G. Scratch-wound Assay. *Methods Mol Biol.* 2011;769:25-30.
31. Ilina O, Friedl P. Mechanisms of Collective Cell Migration at a Glance. *J Cell Sci* 2009; 122:3203-8.
32. Fujisawa T, Rubin B, Suzuki A, Patel PS, Gahl WA, Joshi BH, Puri RK. Cysteamine Suppresses Invasion, Metastasis and Prolongs Survival by Inhibiting Matrix Metalloproteinases in a Mouse Model of Human Pancreatic Cancer. *PLoS One.* 2012; 7:e34437.
33. Kim JH, Serra-Picamal X, Tambe DT, Zhou EH, Park CY, Sadati M, Park J-A, Krishnan R, Gweon B, Millet E, et al. Propulsion and Navigation Within the Advancing Monolayer Sheet. *Nat Mater.* 2013; 12:856-63