



Analisis Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn.) Terhadap Sel Kanker Prostat

Tiara Nabila Putri¹, Ardi Mustakim²
^{1,2} Universitas Adiwangsa Jambi, Indonesia

Jl. Sersan Muslim NO. RT 24, Thehok, Kec. Jambi Selatan, Kota Jambi

Korespondensi penulis: tiaranabilahputri605@gmail.com

Abstract. *Soursop leaves contain active compounds annonaceous acetogenins which are known to have cytotoxic activity against cancer cells. This study aims to evaluate the effect of soursop leaf methanol extract (EMDS) on the viability and growth inhibition of PC3 prostate cancer cells. The research method used was an in vitro experiment with subjects in the form of PC3 cell lines divided into five groups, namely the cell control group, the treatment group with EMDS at concentrations of 6.25; 12.5; and 25 mg/mL, and the group given doxorubicin as a positive control. Cell viability was analyzed using the MTT assay method after incubation for 0 and 24 hours, and cell morphology was observed. Data analysis was carried out using the ANOVA test. The results showed that the EMDS group with concentrations of 6.25 and 12.5 µg/mL experienced a decrease in OD values, although statistically there was no significant difference. The concentration of 12.5 µg/mL had the highest inhibitory effect on cell viability with an OD value of 0.94. Observation of cell morphology indicates the presence of cytotoxic effects. Conclusion: methanol extract of soursop leaves has potential as an anticancer agent against PC3 prostate cancer cells, although the inhibitory effect is relatively small.*

Keywords: *Methanol Extract Of Soursop Leaves, Cell Viability, PC3 Cancer Cells*

Abstrak. Daun sirsak mengandung senyawa aktif annonaceous acetogenins yang diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak metanol daun sirsak (EMDS) terhadap viabilitas dan daya hambat pertumbuhan sel kanker prostat PC3. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen in vitro dengan subyek berupa cell line PC3 yang dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol sel, kelompok perlakuan dengan EMDS pada konsentrasi 6,25; 12,5; dan 25 mg/mL, serta kelompok yang diberikan doksorubisin sebagai kontrol positif. Viabilitas sel dianalisis menggunakan metode MTT assay setelah inkubasi selama 0 dan 24 jam, serta dilakukan pengamatan morfologi sel. Analisis data dilakukan dengan uji ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok EMDS dengan konsentrasi 6,25 dan 12,5 µg/mL mengalami penurunan nilai OD, meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Konsentrasi 12,5 µg/mL memiliki efek penghambatan viabilitas sel yang paling tinggi dengan nilai OD 0,94. Pengamatan morfologi sel mengindikasikan adanya efek sitotoksik. Kesimpulan : ekstrak metanol daun sirsak memiliki potensi sebagai agen antikanker terhadap sel kanker prostat PC3, meskipun efek penghambatannya relatif kecil.

Kata Kunci: Ekstrak Metanol Daun Sirsak, Viabilitas Sel, Sel Kanker PC3

1. LATAR BELAKANG

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menjadi tantangan kesehatan global karena insidensinya yang terus meningkat secara signifikan dan telah menjadi penyebab utama kematian di dunia. Berdasarkan laporan Global Burden of Cancer (GLOBOCAN), hingga tahun 2020 tercatat sebanyak 19,3 juta kasus kanker dengan 10 juta kematian akibat penyakit ini (International Agency for Research on Cancer, 2021). Di Indonesia sendiri, data dari Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) menunjukkan peningkatan insiden kanker, yaitu dari 1,4% pada tahun 2013 menjadi 1,49% pada tahun 2018 (Kementerian Kesehatan RI, 2019). Salah satu terapi medis yang digunakan dalam pengobatan kanker yaitu kemoterapi (*Lihawa dkk, 2022*).

Angka kematian akibat kanker saat ini semakin meningkat. kanker tergolong pada penyakit tidak menular yang angka kasusnya terus bertambah. Kanker merupakan penyakit yang tergolong tidak menular dan kasusnya terus bertambah (Hero, 2021). Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan adanya pergeseran mekanisme kontrol yang mengatur kelangsungan hidup, poliferasi dan diferensiasi sel. Sel yang telah mengalami transformasi neoplastik akan mengespresikan antigen permukaan sel. Sel tersebut merupakan tipe fetal normal, yang dapat menunjukkan karakteristik yang mencerminkan tanda-tanda imaturitas lain serta dapat menunjukkan kelainan kromosom kualitatif atau kuantitatif, termasuk translokasi dan munculnya sekuens gen teramplifikasi. Sel ini berproliferasi secara berlebihan dan membentuk tumor lokal yang dapat menekan atau menginvasi struktur normal disekitarnya. Subpopulasi sel kecil di dalam tumor disebut sebagai sel tunas tumor (tumor stem cell). Sel sel ini mampu menjalani siklus proliferasi berulang kali serta bermigrasi ke tempat yang jauh di tubuh untuk mengkolonisasi berbagai organ dalam satu proses yang disebut metastasis (Indriastuti, 2023).

Kanker prostat adalah proliferasi tidak terkendali dari sel di dalam kelenjar prostat. Proliferasi tidak terkendali ini lebih disebabkan oleh beberapa faktor daripada faktor tunggal. Menurut data GLOBOCAN tahun 2020, kanker prostat menempati peringkat keenam sebagai penyebab utama kematian pada pria, dengan tingkat insiden global mencapai 30,7 kasus per 100.000 pria dan angka kematian sebesar 7,7 per 100.000 pria. Dibandingkan dengan data tahun sebelumnya, insiden dan angka kematian akibat kanker prostat menunjukkan peningkatan masing-masing sebesar 9,56% dan 4,08% (Safriadi dkk, 2022)

Indonesia dikenal sebagai tanah surga yang kaya akan keanekaragaman hayati, di mana tumbuhan dapat tumbuh subur dan memberikan beragam manfaat bagi kehidupan manusia. Kekayaan alam ini dapat dimanfaatkan untuk mendukung perekonomian keluarga, meningkatkan kesehatan, serta digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit. Salah satu contohnya adalah daun sirsak (*Annona muricata*), yang telah terbukti berfungsi sebagai obat alami antikanker, khususnya untuk kanker prostat (Hartati et al., 2021). Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu alternatif pengobatan yang potensial untuk kanker, dan sebagai pengganti terapi konvensional seperti kemoterapi. (Utari et al. 2013).

Annona muricata (AM) atau yang dikenal dengan nama sirsak adalah salah satu tumbuhan obat yang sangat populer dan banyak dimanfaatkan. Awalnya, tanaman ini dikenal sebagai penghasil buah dari famili Annonaceae, sehingga mudah ditemukan di berbagai pekarangan. Secara etnobotani, sirsak telah lama digunakan sebagai bagian dari pengobatan tradisional untuk kanker. Dalam praktiknya, daun sirsak menjadi bagian yang paling sering

dimanfaatkan, sehingga budidaya tanaman ini di pekarangan memberikan manfaat ganda, yaitu sebagai sumber buah, bahan obat, dan peneduh. Pada tahun 2000-an di Indonesia, daun sirsak menjadi terkenal sebagai pengobatan kanker yang dianggap lebih terjangkau dan relatif aman. Keberhasilan pemanfaatan tumbuhan ini dalam pengobatan tradisional sangat bergantung pada pemilihan bahan yang tepat, serta kualitas dan komposisi yang optimal (*Silalahi 2020*). Daun sirsak mempunyai khasiat yang manjur untuk menyembuhkan penyakit kanker khususnya pada kanker prostat. Daun sirsak menjadi alternatif banyak pasien untuk mengobati karena daunnya mudah di dapat dan rasanya juga enak. Kandungan acetoginin dalam daun sirsak mempunyai manfaat untuk menyerang sel kanker dengan aman dan efektif secara alami, tanpa rasa mual, berat badan turun, rambut rontok, seperti yang terjadi pada kemoterapi. Banyak pasien kanker mempercayai manfaat dari daun sirsak sebagai salah satu alternatif untuk mengobati kanker. Daun Sirsak bersifat seperti kemoterapi dan mempunyai kemampuan untuk membunuh sel-sel yang tumbuh abnormal, serta membiarkan sel-sel yang tumbuh normal. Senyawa acetoginin yang terdapat dalam daun sirsak berperan sebagai inhibi tor sumber energi untuk pertumbuhan sel kanker. Kekuatan energi menyebabkan sel tidak bisa membelah dengan baik. Acetoginin yang ikut masuk ke dalam tubuh akan menempel pada reseptor dinding sel dan berfungsi merusak ATP di dinding mitokondria. Akibatnya produksi energi didalam sel kanker terhenti dan akhirnya sel kanker akan mati (*Utari et al. 2013*).

Acetoginin merupakan senyawa polyketides dengan struktur 30–32 rantai karbon tidak bercabang yang terikat pada gugus 5-methyl-2-furanone. Rantai furanone dalam gugus hydrofuranone pada C23 memiliki aktivitas sitotoksik, dan derivat acetoginin yang berfungsi sitotoksik adalah asimicin, bulatacin, dan squamocin. Pada konsentrasi tinggi, senyawa acetoginin memiliki keistimewaan sebagai anti feedent. Ekstrak daun sirsak dapat digunakan untuk mengendalikan belalang dan hama lainnya seperti wereng. Ekstrak daun sirsak juga menghambat pertumbuhan dan perkembangan serta dapat mematikan Nimfa R. Linearis pada konsentrasi 4,0 % (*Pradana dkk2015*). Selain kandungan acetoginin yang bersifat antikanker, juga terdapat kandungan senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat (*Aminah et al. 2016*).

Asetoginin memiliki efek sitotoksik dengan cara menghambat kompleks I pada rantai transport elektron, khususnya melalui penghambatan enzim NADH-ubiquinon oksidoreduktase di mitokondria, organel yang bertanggung jawab untuk menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Karena sel kanker membutuhkan banyak energi untuk mendukung proses proliferasi, aktivitas asetoginin menyebabkan kekurangan energi pada sel kanker, sehingga menghambat pembelahan sel dan akhirnya memicu kematian sel kanker. Menariknya, meskipun asetoginin

bersifat sitotoksik, senyawa ini bekerja secara selektif dengan hanya menyerang sel yang abnormal dengan energi yang besar untuk pertumbuhannya.

Salah satu turunan annonaceous acetogenin, yaitu Annonacin, diketahui mampu menghentikan siklus sel pada fase G1 dan mencegah sel memasuki fase S. Efek ini terjadi melalui induksi protein p21, Bax, dan Bad, yang berperan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker, khususnya pada galur sel kanker kandung kemih T24.

Ekstrak metanol dari daun sirsak menunjukkan efek sitotoksik yang signifikan dan mampu menginduksi apoptosis pada galur sel kanker payudara T47D dengan konsentrasi IC50 sebesar 46,194 µg/mL. Meskipun ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) telah dipercaya secara empiris memiliki potensi sebagai antikanker pada manusia, hasil penelitian yang ada masih menunjukkan bahwa potensi tersebut perlu terus diteliti dan dikembangkan. Hal ini penting untuk mendapatkan bukti ilmiah yang lebih akurat, terutama terkait penggunaan daun sirsak dalam pengobatan kanker prostat (*Yulianti dkk, 2015*).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik *in vitro* dengan menggunakan rancangan *post test control group only design*. Proses penelitian mencakup beberapa tahapan, yaitu kultur galur sel kanker prostat PC3, persiapan konsentrasi ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* L.), uji sitotoksisitas MTT *assay* dan analisis data.

Subjek penelitian adalah galur sel kanker prostat PC3 yang didapat dari SCI KalGen, PT Kalbe dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (doksorubisin), kontrol sel analisis dengan uji One-Way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji t-dependen. Namun, jika data tidak memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilakukan menggunakan uji Kruskal-Wallis untuk membandingkan lebih dari dua sampel, yang kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney guna membandingkan data kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan tingkat kepercayaan 95% dengan nilai $p < 0,05$.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mendeteksi aktivitas antineoplastik dari ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.), dilakukan uji kolorimetris kuantitatif untuk mengukur proliferasi sel atau viabilitas sel dengan menggunakan metode tidak langsung MTT *assay*. Prinsip dari MTT *assay* ini berfokus pada aktivitas metabolik di mitokondria sel yang masih hidup, yang bergantung pada kemampuan enzim suksinat dehidrogenase untuk mereduksi garam tetrazolium MTT.

Proses ini menghasilkan produk formazan berwarna ungu, yang jumlahnya sebanding dengan jumlah sel hidup dalam kultur. Dengan demikian, intensitas warna ungu yang terbentuk memiliki korelasi langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme, dan secara tidak langsung mencerminkan jumlah sel yang hidup. Data mengenai viabilitas sel ini kemudian diukur sebagai nilai rerata optical density (OD) untuk masing-masing kelompok.

Dalam penelitian ini, dilakukan perlakuan terhadap ekstrak metanol daun sirsak dengan konsentrasi 6,25; 12,5; dan 25 $\mu\text{g/mL}$ pada kultur sel kanker prostat PC3. Perlakuan ini dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan serta kontrol positif yang menggunakan doxorubisin.

Hasil pengamatan diperoleh nilai absorbansi yang digunakan untuk menghitung persentase viabilitas sel kanker prostat PC3, sebagaimana disajikan dalam Tabel 1. Untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak metanol daun sirsak terhadap viabilitas sel PC3, penghitungan dilakukan terhadap nilai Optical Density (OD) setelah waktu inkubasi selama 24 jam.

Pertumbuhan dan pembelahan sel memegang peranan penting dalam masalah kanker, mengingat kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkontrol. Pembelahan sel berlangsung melalui urutan peristiwa yang disebut siklus pembelahan sel atau siklus sel. Secara umum, proses pembelahan sel ini memerlukan waktu antara 12 hingga 24 jam, yang dikenal sebagai kecepatan pembelahan sel. Penelitian ini mengungkapkan bahwa proliferasi sel PC3 terjadi setelah 24 jam, yang sesuai dengan karakteristik sel tersebut.

PC3 memiliki waktu doubling sekitar 25 jam, sehingga dalam periode 24 jam, diharapkan dapat teramati efek antineoplastik dari senyawa aktif ekstrak metanol daun sirsak terhadap sel PC3. Penelitian yang dilakukan oleh Yuan dan timnya menunjukkan bahwa setelah 24 jam, terdapat penurunan jumlah hidup sel kanker kandung kemih T24 yang diinkubasi dengan asetogenin squamocin dan annonacin yang diambil dari akar *Annona reticulata*. Temuan ini memperlihatkan bahwa senyawa aktif asetogenin memiliki sifat sitotoksik terhadap sel kanker, yang ditunjukkan melalui kemampuannya menghambat pembelahan sel pada fase G1 serta meningkatkan apoptosis dengan cara meningkatkan ekspresi proapoptosis seperti Bax, Bad, dan p21.

Dari data OD yang diperoleh selama 24 jam, dilakukan analisis statistik menggunakan ANOVA. Selanjutnya, analisis Posthoc dilaksanakan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan nilai rerata absorbansi di antara masing-masing kelompok perlakuan.

Tabel 1.

Profil Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Sirsak Terhadap % Sel Hidup Sel PC3 pada Inkubasi 0 dan 24 Jam

No. Ulangan	0 Jam						24 jam					
	Med	K(-)	EMDS 6,25	EMDS 12,5	EMDS 25	Doxo	Med	K(-)	EMDS 6,25	EMDS 12,5	EMDS 25	Doxo
1	0.09	0.18	0.2	0.14	0.29	0.2	0.11	0.28	0.26	0.29	0.26	0.22
2	0.33	0.97	0.7	1.37	0.74	0.76	0.33	1.17	0.81	1.12	1.2	1.01
3	0.05	0.15	0.2	0.18	0.12	0.18	0.21	0.82	0.96	0.9	0.65	0.86
4	0.21	0.37	0.31	0.54	0.24	0.23	0.67	0.82	1.06	0.51	0.94	0.67
5	0.56	0.77	0.78	0.73	0.81	0.83	0.67	0.82	0.61	0.56	0.83	0.72
6	0.03	0.25	0.17	0.18	0.15	0.18	0.15	0.1	0.09	0.14	0.12	0.03
Mean	0.21	0.45	0.39	0.52	0.39	0.4	0.36	0.67	0.63	0.59	0.66	0.58

Keterangan: EMDS = Ekstrak Metanol Daun Sirsak ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

Tabel 2

Rata - Rata Nilai Serapan (Absorbansi/ OD) pada Berbagai Kelompok Sesudah Inkubasi 24 Jam

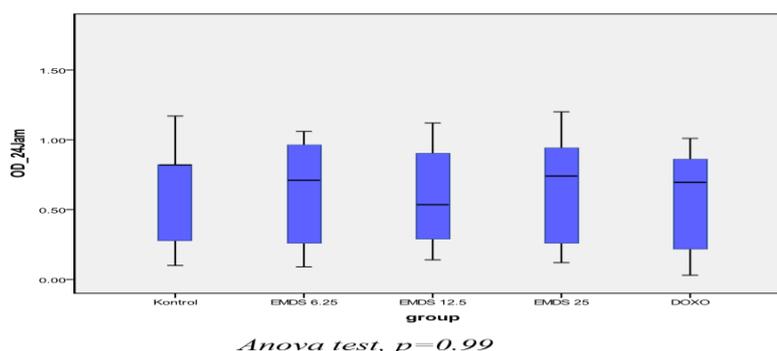
Kelompok	Perlakuan	N	Mean	Standar Deviasi
Kontrol		6	0.6683	0.39862
EMDS 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$		6	0.6317	0.38861
EMDS 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$		6	0.5867	0.36789
EMDS 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$		6	0.6667	0.41239
Doksorubisin		6	0.585	0.38025
Total		30	0.6277	0.36387

Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya kecenderungan penurunan rata-rata nilai OD pada kelompok yang diberi perlakuan EMDS 6,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan EMDS 12,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun, nilai OD meningkat kembali pada kelompok EMDS 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, sehingga hampir setara dengan kelompok kontrol yang tidak

mendapat perlakuan. Nilai OD pada kelompok yang menerima Doksorubisin sebagai kelompok kontrol positif menunjukkan angka yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mendapatkan perlakuan. Namun, meskipun terdapat kecenderungan penurunan nilai OD di seluruh kelompok dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan, perbedaan tersebut tidak mencapai signifikansi yang bermakna.

(Gambar 1)

Dalam penelitian ini, meskipun rata-rata nilai optical density (OD) pada berbagai kelompok menunjukkan peningkatan sebelum dan sesudah diinkubasi selama 24 jam, yang mengindikasikan adanya peningkatan proliferasi atau viabilitas relatif sel PC3, hasil rata-rata setelah 24 jam menunjukkan kecenderungan penurunan nilai OD pada kelompok EMDS 6,25 $\mu\text{g/mL}$ dan EMDS 12,5 $\mu\text{g/mL}$, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun, kelompok EMDS 25 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan peningkatan kembali, dengan nilai OD yang hampir setara dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan (Gambar 1). Hal ini diduga merupakan akibat dari efek sitotoksik yang dihasilkan oleh senyawa aktif, terutama asetogenin, yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak.



Gambar 1. Grafik Perbandingan Nilai Rata Rata Absorbansi (OD) Antar Kelompok Perlakuan Setelah Inkubasi 24 Jam

Efek sitotoksik asetogenin dimulai dengan proses difusi asetogenin ke dalam membran sel. Selanjutnya, asetogenin menghambat kompleks I dari rantai transport elektron di mitokondria dengan menghambat enzim NADH-ubiquinon oksidoreduktase. Enzim NADH berperan dalam transport elektron terminal yang melibatkan besi-sulfida (FeS) dan ubiquinon, sehingga penciptaan gradien proton antar membran yang penting untuk reduksi oksigen (O_2) menjadi air (H_2O) terhambat. Akibatnya, proses fosforilasi oksidatif di mitokondria terganggu, yang berujung pada penurunan produksi ATP. Hal ini menyebabkan sel kekurangan energi untuk metabolisme, yang berujung pada terhambatnya pertumbuhan sel dan akhirnya sel mengalami apoptosis.

Meski penelitian ini hanya menggunakan ekstrak kasar dari daun sirsak dan bukan hasil isolasi dari kandungan spesifiknya, tetapi efek sitotoksik yang teramati kemungkinan besar berasal dari senyawa aktif asetogenin, yang merupakan komponen utama dalam daun sirsak. Selain itu, ada juga senyawa lain yang terkandung dalam daun sirsak, seperti flavonoid, tannin, dan alkaloid, yang diketahui memiliki sifat antikanker.

Kecenderungan penurunan yang tidak signifikan menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak metanol dari daun sirsak tergolong rendah. Hal ini disebabkan oleh keberagaman

senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar tersebut, yang meliputi senyawa polar, semi-polar, dan non-polar. Keberagaman ini berpengaruh terhadap efek toksik yang saling mempengaruhi satu sama lain.

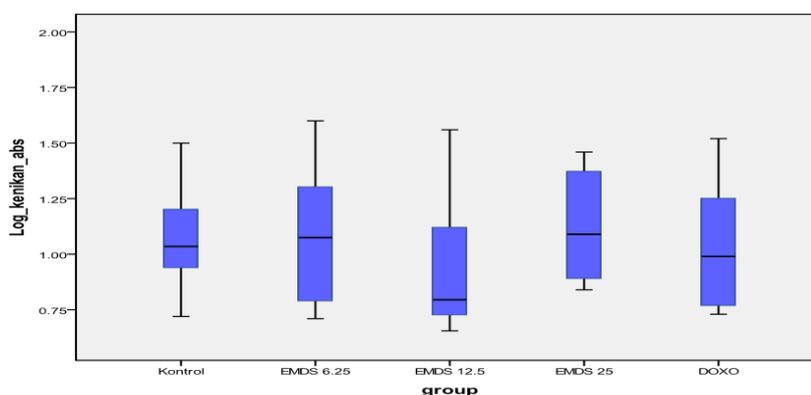
Selanjutnya, dengan mempertimbangkan bahwa proliferasi sel tidak sepenuhnya terhenti selama periode inkubasi, dilakukan analisis untuk mengevaluasi apakah pemberian EMDS memiliki efek dalam menghambat laju proliferasi antara jam 0 dan jam 24. Penghitungan ini dilakukan dengan membandingkan selisih nilai absorbansi setelah 24 jam dengan nilai absorbansi pada jam 0. Selisih nilai kenaikan pada setiap kelompok dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan dalam nilai rerata peningkatan absorbansi antara 0 jam hingga 24 jam masa inkubasi, kami melakukan analisis statistik dengan metode ANOVA. Selanjutnya, analisis Posthoc dilakukan untuk memberikan pemahaman yang lebih mendalam terhadap hasil tersebut, yang dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Tabel 3.

Peningkatan Rata - Rata Nilai Serapan (Absorbansi/ OD) Kelompok (Nilai Dalam Bentuk Log) Dari Masa Inkubasi 0 Jam Sesudah Inkubasi 24 Jam

Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation
Kontrol	6	1.07	0.26
EMDS 6.25 µg/mL	6	1.09	0.32
EMDS 12.5 µg/mL	6	0.94	0.34
EMDS 25 µg/mL	6	1.12	0.26
Doksorubisin	6	1.04	0.29
Total	30	1.05	0.29



Anova test, p=0.99

Gambar 2. Grafik Perbandingan Kenaikan Nilai Rata - Rata Absorbansi (OD) Kelompok Perlakuan dari Masa Inkubasi 0 Jam Sampai 24 Jam Inkubasi.

Dari grafik tersebut tampak bahwa kenaikan rata-rata nilai absorbansi (OD) terendah terjadi pada kelompok EMDS 12,5 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa dosis tersebut mempunyai kemampuan menghambat viabilitas sel paling besar dibandingkan kelompok lainnya yang berarti bahwa konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi optimal untuk mampu menghambat viabilitas sel PC3. Tetapi hasil tersebut tidak bermakna signifikan dan belum mencapai penghambatan sel sebesar 50%.

Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan dengan konsentrasi optimal yang ditentukan dalam studi oleh Rachmani EPN dkk. yaitu 17,149 µg/mL, yang berhasil menyebabkan apoptosis yang signifikan pada sel T47D. Hal ini mungkin dikarenakan sel T47D termasuk dalam kategori sel yang tergantung hormon, sehingga memiliki respons yang lebih baik terhadap obat dan zat antikanker, serta prognosis yang lebih favorable. Sebaliknya, sel PC3 tergolong sel yang tidak tergantung hormon dan merupakan sel yang sangat metastatik atau agresif. Akibatnya, pada konsentrasi 6,25; 12,5; dan 25 µg/mL, respons yang ditunjukkan kurang signifikan. Namun, terdapat kecenderungan pada konsentrasi 12,5 µg/mL yang menunjukkan kemampuan dalam menghambat viabilitas sel PC3.

Terdapat kecenderungan penurunan viabilitas sel pada konsentrasi 6,25 dan 12,5 µg/mL, namun viabilitas tersebut meningkat kembali pada konsentrasi 25 µg/mL. Fenomena ini dapat dijelaskan dengan semakin tinggi kadar sampel yang digunakan, maka semakin lama waktu pembelahan sel (doubling time) dan semakin sedikit jumlah sel yang bertahan hidup. Ekstrak metanol daun sirsak tidak mampu membunuh semua sel, sehingga sel-sel yang masih hidup dapat terus berkembang biak dengan dukungan nutrisi yang tersedia dari media RPMI 1640.

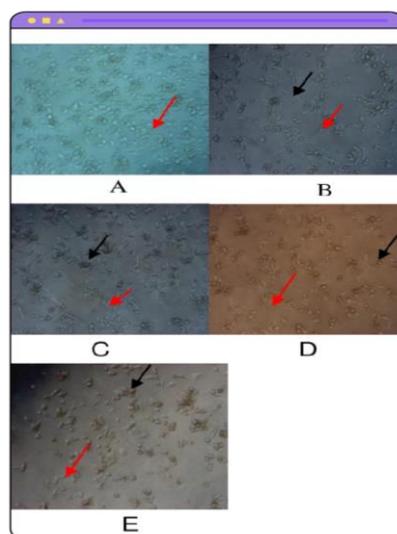
Selain itu, hasil ini juga berkaitan dengan teori respon dosis. Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Rahmawati dkk,2010). Dan (Suyatmi dkk,2012). yang menggunakan sel HeLa yang sama, diperoleh hasil yang berbeda terkait efek ekstrak daun sirsak. Penelitian Rahmawati dkk. menemukan dosis optimal pada 111,75 µg/mL dengan menggunakan empat dosis ekstrak (20, 50, 100, dan 200 µg/mL), sementara Suyatmi dkk. menemukan dosis optimal yang lebih rendah, yaitu 97 µg/mL dengan sembilan dosis (10, 20, 30, 50, 100, 150, 200, 300, dan 500 µg/mL). Hal ini menunjukkan bahwa intensitas efek obat berbanding lurus dengan fraksi reseptor yang terikat, dan fraksi reseptor tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain dosis dan lama paparan.

Setelah semua fraksi reseptor terisi oleh obat, peningkatan dosis tidak akan lagi menghasilkan respon yang terus meningkat, melainkan akan membentuk kurva plateau atau mendatar. Dalam konteks penelitian ini, terlihat adanya respon dosis yang menunjukkan

kecenderungan penurunan inhibisi pada konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$. Kemungkinan besar, konsentrasi 12 $\mu\text{g/mL}$ sudah mencapai batas optimal respon terhadap ekstrak tersebut.

Jika dilihat rerata nilai OD, konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan nilai OD sedikit lebih rendah, yaitu 0,58, dibandingkan dengan doksorubisin yang memiliki nilai 0,59. Hal ini mengindikasikan bahwa dosis doksorubisin yang digunakan belum mampu menghambat pertumbuhan sel PC3 secara signifikan. Sel PC3, yang merupakan sel metastatik dan independen hormonal, diketahui sangat resisten terhadap doksorubisin. Situasi ini berbeda saat menggunakan dosis doksorubisin sebesar 15 $\mu\text{g/mL}$, yang disadur dari penelitian oleh Titiek S dkk, di mana penggunaan senyawa alkaloid mahkota dewa (*Phaleria macocarpa*) pada sel T47D menunjukkan efek sitotoksik yang signifikan pada dosis optimal sebesar 11,14 $\mu\text{g/mL}$.

Selain melakukan uji viabilitas menggunakan teknik MTT, kami juga mengamati perubahan morfologi sel PC3 setelah pemberian ekstrak metanol dari daun sirsak selama 24 jam inkubasi. Hasil pengamatan tersebut dapat dilihat pada



Gambar 3.

Gambar 3. Gambaran Morfologi Sel PC3.

Keterangan:

- A. Kontrol Sel PC3 setelah inkubasi 24 jam
- B. Sel PC3 dengan perlakuan ekstrak metanol daun sirsak pada konsentrasi 6,25 $\mu\text{g/ml}$
(B)
- C. 12,5 $\mu\text{g/ml}$ (C)
- D. 25 $\mu\text{g/ml}$ (D)
- E. Sel PC3 dengan pemberian doksorubisin (E) (sel hidup : \leftarrow sel mati : \blackleftarrow)

Hasil Pengamatan morfologi sel PC3 dilakukan untuk mengevaluasi efek sitotoksik ekstrak metanol daun sirsak. Saat dilihat di bawah mikroskop, tampak perbedaan mencolok

antara sel PC3 yang hidup dan yang mati. Pada kelompok kontrol sel (Gambar 3. A), seluruh sel menunjukkan morfologi sel hidup yang terlihat cerah. Sel hidup berwarna terang disebabkan adanya cairan sitoplasma yang mampu meneruskan cahaya dari mikroskop dan memiliki bentuk yang relatif memanjang. Sebaliknya, pada perlakuan senyawa uji dengan konsentrasi tertinggi (25 µg/ml), morfologi sel menunjukkan tanda-tanda kematian (Gambar 3. D). Sel-sel yang mati tampak gelap dan berbentuk bulat, hal ini disebabkan karena sel kehilangan sitoplasma akibat kerusakan membran sel, sehingga tidak mampu meneruskan cahaya dari mikroskop.

Sel yang mati dapat berasal dari proses apoptosis atau nekrosis. Menurut Villo, senyawa asetogenin yang bersifat sitotoksik memiliki kemampuan untuk menghambat ikatan NADH oksidase ubiquinon pada membran sel kanker. Hal ini menyebabkan sel kekurangan ATP, yang pada gilirannya mengakibatkan kematian sel. Ketika terjadi kekurangan ATP, sinyal positif intraseluler muncul, menyebabkan perubahan pada pori-pori membran mitokondria sehingga menjadi permeabel. Akibatnya, kelompok protein pro-apoptotik seperti Bax dan Bad dilepaskan ke dalam sitosol. Protein-protein ini kemudian menginduksi pelepasan sitokrom-c, yang selanjutnya dapat mengaktifkan jalur *caspase cascade*. Ini sesuai dengan Penelitian yang dilakukan oleh Yuan SSF dan rekan-rekannya menunjukkan bahwa turunan asetogenin squamocin mampu menghambat proliferasi sel kanker pada fase G1 serta meningkatkan ekspresi protein Bax, Bad, dan juga p21. Selain itu, Liang dkk juga membuktikan bahwa squamocin dapat memicu mitokondria untuk melepaskan sitokrom-c, yang pada akhirnya mengaktifkan *caspase cascade*.

Perubahan karakteristik morfologi galur sel kanker prostat PC3 hasil kultur menunjukkan bahwa sel-sel PC3 melekat pada dasar wadah kultur (flask). Galur sel ini termasuk dalam tipe cell line adherent, yang berarti membentuk sel monolayer. Bentuk sel monolayer ini menyerupai sel epitel yang pipih, membentuk kelompok, dan dapat beradaptasi dengan medium suspensi pertumbuhan. Selain itu, sel PC3 juga tergolong sebagai sel transformed, yang memiliki kemampuan untuk tumbuh secara tidak terbatas dalam kultur, biasanya berasal dari sel tumor. Keunggulan dari pertumbuhan sel yang melekat adalah kemampuan mereka untuk menempel dan menyebar pada permukaan wadah, yang memudahkan pelaksanaan pengujian mikroskopis, hibridisasi, serta pengujian fungsional lainnya.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, ditemukan bahwa pemberian ekstrak metanol daun sirsak selama 24 jam menunjukkan kecenderungan penurunan viabilitas sel kanker prostat PC3. Meskipun tidak terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi 6,25; 12,5; dan 25 µg/mL, namun terdapat indikasi bahwa konsentrasi 12,5 µg/mL berpotensi memberikan efek sitotoksik yang lebih optimal.

5. DAFTAR REFERENSI

- Aminah, A., St Maryam, S., Baits, M., & Kalsum, U. (2016). Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) berdasarkan tempat tumbuh dengan metode peredaman DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(1), 146–150. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i1.175>
- Hartati, L., Asmawati, Hendarmin, R., & Syafitri, L. (2021). Pelatihan pemberdayaan jus sirsak sebagai minuman kesehatan olahan alami pencegah kanker. *Prima: Portal Riset dan Inovasi Pengabdian Masyarakat*, 1(1), 37–46. <https://doi.org/10.55047/prima.v1i1.29>
- Hero, S. K. (2021). Faktor resiko kanker payudara. *Jurnal Medika Hutama*, 3(1), 1533–1537.
- Indriastuti, M. (2023). *Kajian farmakoekonomi pada terapi nyeri kanker* (Vol. 15018, pp. 1–61).
- Lihawa, L., & Zainuddin, R. (2022). Tingkat kecemasan pasien kanker yang menjalani kemoterapi di masa pandemi COVID-19: Literature review. *Jurnal Akademika Baiturrahim Jambi*, 11(1), 96. <https://doi.org/10.36565/jab.v11i1.457>
- Pradana, P. Y., Suratmo, S., & Retnowati, R. (2015). Isolasi dan karakterisasi senyawa turunan acetogenin dari daun sirsak (*Annona muricata*) serta uji toksisitas. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1(1), 798–804.
- Rahmawati, A. (2010). *Aktivitas antibakteri ekstrak etanolik buah sirsak (*Annona muricata*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [Skripsi, Universitas Soedirman, Purwokerto].
- Safriadi, F., Umbas, R., & lainnya. (2022). *Panduan penanganan kanker prostat* (Vol. 2).
- Silalahi, M. (2020). *Annona muricata* (Kajian pemanfaatan dan bioaktivitasnya dalam kesehatan). *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*, 10(1), 52. <https://doi.org/10.35963/hmjk.v10i1.203>
- Suyatmin, Suselo, Y. H., & Jusuf, S. A. (2012). The selective cytotoxicity of ethanolic extract of *Annona muricata* leaf on HeLa cervical cancer cells. *International Conference: Research and Application on Traditional Complementary and Alternative Medicine in Health Care (TCAM)*, Surakarta, Indonesia.
- Utari, K., Nursafitri, E., Sari, I., Sari, R., Winda, A. K., & Harti, A. S. (2013). Kegunaan daun sirsak (*Annona muricata* L.) untuk membunuh sel kanker dan pengganti kemoterapi. *Jurnal Kesmadaska*, 1(1), 110–115.
- Yulianti, R., Kodariah, R., & Ekawuyung, P. (2015). Pengaruh ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap viabilitas galur sel kanker prostat. *Majalah Kedokteran Andalas*, 37(3), 187. <https://doi.org/10.22338/mka.v37.i3.p187-197.2014>