

Efek Antikanker dan KO-Kemoterapi Nanopartikel Alginat Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata*) dengan *Doxorubicin* pada Kultur Sel Kanker Serviks Uteri (HeLa)

Revina Mayra Salsabila Hasyim*, Yuke Andriane, Lelly Yuniarti

Prodi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*revinamsh07@gmail.com, yuke.andriane@unisba.ac.id, lely.yuniarti@gmail.com

Abstract. Uterine cervical cancer ranks fourth in the world and Asia and second in Indonesia. Cervical uteri cancer chemotherapy with doxorubicin still has high side effects. To reduce these side effects, combination therapy can be carried out between standard drugs and drugs from natural ingredients, one of which is soursop leaf in the form of nanoparticles which can increase the delivery of compounds. The purpose of this study was to analyze the anticancer effect of alginate nanoparticles of soursop leaf ethanol extract and its combination with doxorubicin on cervical uteri cancer (HeLa) cells. This research is a pure in vitro experimental study on cervical uteri cancer cell culture (HeLa). The cytotoxicity test was carried out using the microtetrazolium method and analyzed using the SPSS software probit regression. The combination test was carried out with concentrations of 1/2 IC₅₀, 3/8 IC₅₀, 1/4 IC₅₀, 1/8 IC₅₀ and analyzed using CompuSyn software to obtain a CI value indicating the synergy of the preparations. This study had an IC₅₀ of soursop leaf extract nanoparticles of 52.0825 (± 24.26) $\mu\text{g/mL}$ (moderate effect) and doxorubicin which had an IC₅₀ of 4.8 (± 0.10) $\mu\text{g/mL}$ (strong effect). The lowest CI value obtained was 0.04106. The conclusion of this study is that soursop leaf extract nanoparticles have a moderate anticancer effect and are highly synergistic with eight combinations of doxorubicin.

Keywords: *Anticancer, Doxorubicin, Soursop Leaves Nanoparticles, Uterine Cervical Cancer.*

Abstrak. Kanker serviks uteri menempati urutan keempat di dunia dan Asia serta kedua di Indonesia. Kemoterapi kanker serviks uteri dengan *doxorubicin* masih memiliki efek samping yang tinggi. Untuk menurunkan efek samping tersebut, dapat dilakukan terapi kombinasi antara obat standar dengan obat dari bahan alam, salah satunya adalah daun sirsak dalam bentuk nanopartikel yang dapat meningkatkan penghantaran senyawa. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis efek antikanker sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak dan kombinasinya dengan *doxorubicin* pada sel kanker serviks uteri (HeLa). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni *in vitro* pada kultur sel kanker serviks uteri (HeLa). Uji sitotoksitas dilakukan menggunakan metode *microtetrazolium* dan dianalisis melalui regresi probit *software* SPSS. Uji kombinasi dilakukan dengan konsentrasi 1/2 IC₅₀, 3/8 IC₅₀, 1/4 IC₅₀, 1/8 IC₅₀ dan dianalisis menggunakan *software* CompuSyn hingga didapatkan nilai CI yang menunjukkan sinergitas sediaan. Penelitian ini memiliki hasil IC₅₀ nanopartikel ekstrak daun sirsak sebesar 52,0825 ($\pm 24,26$) $\mu\text{g/mL}$ (efek sedang) dan *doxorubicin* yang memiliki IC₅₀ sebesar 4,8 ($\pm 0,10$) $\mu\text{g/mL}$ (efek kuat). Nilai CI terendah yang didapatkan adalah sebesar 0,04106. Kesimpulan penelitian ini adalah nanopartikel ekstrak daun sirsak memiliki efek antikanker sedang dan bersifat sinergis sangat kuat dengan *doxorubicin* sebanyak delapan kombinasi.

Kata Kunci: *Antikanker, Doxorubicin, Kanker Serviks Uteri, Nanopartikel Daun Sirsak.*

A. Pendahuluan

Kanker serviks uteri adalah kanker tertinggi keempat di dunia dan di Asia serta kedua di Indonesia dengan jumlah kasus sebanyak 36.633 kasus.^{1–3} Kanker serviks uteri disebabkan karena paparan Human Papilloma Virus (HPV) yang dapat ditransmisikan melalui hubungan seksual.⁴ Virus ini akan menembus lapisan basal serviks uteri dan memicu proses karsinogenesis.⁵ Penatalaksanaan kanker serviks uteri dapat menggunakan kemoterapi dengan harapan hidup dan tingkat keberhasilan sebesar 82% dan 17,3%.^{6–8} Salah satu pilihan dalam terapi kanker serviks uteri adalah menggunakan *doxorubicin* yang memiliki tingkat keberhasilan kemoterapi adalah sebesar 15–20%, tetapi memiliki efek samping yang cukup luas.^{9–11}

Strategi yang dapat digunakan untuk meningkatkan efektivitas dan menurunkan toksisitas obat adalah menggunakan terapi kombinasi baik obat sintesis maupun obat yang berasal dari bahan alam.¹² Daun sirsak (*Annona muricata*) adalah tanaman yang disebut sebagai "The cancer killer".¹³ Kandungan daun sirsak yang telah diteliti memiliki efek sebagai antikanker adalah *acetogenins*, *chloroform*, *ethanol*, *ethyl acetate*, *methanol*.¹⁴ *Acetogenins* yang terkandung dalam daun sirsak bersifat lipofilik atau tidak larut dalam air.¹⁵ Pemisahan zat aktif yang terkandung di dalam daun sirsak dapat dilakukan melalui ekstraksi menggunakan pelarut etanol karena kemampuan filtrasi nya yang tinggi.¹⁶

Metode yang saat ini sedang dikembangkan untuk meningkatkan efektivitas penghantaran obat adalah teknologi nanopartikel sehingga sediaan obat mampu menembus dinding sel dengan lebih mudah.^{17,18} Pilihan nanopartikel yang dapat digunakan adalah alginat karena memiliki biokompabilitas dan biodegradasi yang baik.¹⁹ Tujuan penelitian ini adalah menguji efek antikanker dan ko-kemoterapi nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan *doxorubicin* pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) memiliki efek antikanker pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa?
 2. Apakah sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) bersifat sinergis dengan *doxorubicin* pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa?
- Selanjutnya, tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:
1. Untuk menganalisis efek antikanker sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa.
 2. Untuk menganalisis efek sinergis sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan *doxorubicin* pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa.

B. Metodologi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni *in vitro* dengan rancangan *randomize posttest only control grup design*. Pengambilan sampel secara acak untuk dimasukkan sebagai kelompok eksperimen dan kontrol. Pengujian yang dilakukan adalah pemberian senyawa nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dan *doxorubicin* terhadap kultur sel kanker serviks uteri HeLa.

Pembuatan ekstrak etanol daun sirsak dimulai dengan maserasi simplisia halus daun sirsak pada pelarut etanol 96% selama 2×24 jam. Selanjutnya, hasil filtrasi akan disaring kembali sebanyak tiga kali. Pemisahan filtrat dengan pelarut dilakukan melalui proses penguapan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan *water bath* hingga didapatkan ekstrak daun sirsak dalam bentuk pasta.²⁰

Proses pembuatan nanopartikel alginat dimulai dengan mencampurkan 1 gram ekstrak etanol daun sirsak dengan alginat dalam 100 mL NaOH. Lalu campuran ini akan dihomogenkan menggunakan *ultrasonic probe* selama 3 menit. Setelah itu, dilakukan penambahan CaCl₂ sebanyak 350 mL secara perlahan. Selanjutnya akan dihomogenkan kembali dengan stirrer selama 2 jam. Hasilnya akan dilakukan pengukuran nanopartikel menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA).²¹

Sel kanker serviks uteri HeLa yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Gajah Mada. Sel HeLa akan ditumbuhkan dalam media

tumbuh *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) dengan penambahan 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS), fungison 0,5%, dan 1% penisilin-streptomisin. Konsentrasi sel yang digunakan yaitu 1×10^4 sel/mL dimasukkan ke dalam flask dan diinkubasi dalam inkubator 5% CO₂ selama 24 jam pada suhu 37°C sampai sel *subclonfluent*.

Pengujian sitotoksitas sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol duan sirsak dilakukan dengan penambahan lima seri konsentrasi yang dimulai dari konsentrasi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,625 µg/mL, dan 7,8125 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengujian toksisitas menggunakan methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) dengan prinsip penambahan garam tetrazolium pada kultur sel yang menyebabkan terbentuk formazan berwarna ungu.²² Pengujian MTT akan menghasilkan nilai absorbansi setelah dilakukan pembacaan menggunakan ELISA reader yang selanjutnya akan dihitung viabilitas sel dengan rumus berikut²³:

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100$$

Setelah viabilitas didapatkan kemudian dilakukan analisis menggunakan probit dengan SPSS sehingga didapatkan regresi linear untuk mendapatkan nilai IC₅₀.²³ Nilai IC₅₀ yang telah didapatkan dibuat menjadi empat seri konsentrasi yaitu 1/2 IC₅₀, 3/8 IC₅₀, 1/4 IC₅₀, dan 1/8 IC₅₀ yang digunakan dalam uji kombinasi antara kedua senyawa hingga didapatkan nilai *combination index* (CI) melalui analisis *software* CompuSyn.²⁴

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa laboratorium. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Farmasi, Universitas Islam Bandung. Pembuatan nanopartikel dilakukan di Laboratorium Farmasi, Universitas Islam Indonesia. Uji MTT dan kombinasi dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Madal.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Potensi antikanker sediaan nanopartikel alginat daun sirsak dan *doxorubicin* terhadap kultur sel kanker serviks uteri HeLa dilakukan melalui uji sitotoksitas MTT.²⁵ Hasil uji sitotoksitas sediaan nanopartikel alginat ekstrak daun sirsak memiliki IC₅₀ sebesar 52,0825 (±24,26) µg/mL yang menunjukkan efek toksisitas sedang, sedangkan *doxorubicin* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 4,8 (±0,10) µg/mL yang menunjukkan efek toksisitas kuat.

Perlakuan terhadap sel untuk uji kombinasi diawali dengan pembuatan seri konsentrasi dari sediaan nanopartikel alginat ekstrak daun sirsak dan *doxorubicin* dengan empat seri konsentrasi yaitu 1/2 IC₅₀, 3/8 IC₅₀, 1/4 IC₅₀, dan 1/8 IC₅₀ yang telah didapatkan pada uji MTT.²⁴ Nanopartikel alginat ekstrak daun sirsak yang digunakan pada uji kombinasi adalah IC₅₀ dengan konsentrasi sebesar 26,04 µg/mL, 19,53 µg/mL, 13,02 µg/mL, dan 6,51 µg/mL. Konsentrasi IC₅₀ *doxorubicin* adalah sebesar 2,40 µg/mL, 1,80 µg/mL, 1,20 µg/mL, dan 0,60 µg/mL. Hasil viabilitas kultur sel kanker serviks uteri HeLa yang diberi sediaan nanopartikel alginat daun sirsak dengan konsentrasi 1/2 IC₅₀, 3/8 IC₅₀, 1/4 IC₅₀, dan 1/8 IC₅₀ dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Efek Sediaan Nanopartikel Alginat Ekstrak Daun Sirsak terhadap Kultur Sel Kanker

Dosis µg/mL	Viabilitas (%)
26,04	0,16804
19,53	0,13074
13,02	0,15276
6,51	0,10381

Berdasarkan Tabel 1, ditemukan bahwa hasil uji viabilitas sel menggunakan empat seri konsentrasi dari IC₅₀ menunjukkan viabilitas terendah pada konsentrasi 6,51 dengan viabilitas sebesar 0,10381. Pada tabel tersebut juga terlihat bahwa semakin besar konsentrasi, semakin tinggi pula viabilitas sel yang ada. Walaupun demikian, toksisitas sediaan ini masih dalam rentang sedang.

Hasil viabilitas kultur sel kanker serviks uteri HeLa yang diberi sediaan *doxorubicin* dengan konsentrasi konsentrasi 1/2 IC₅₀, 3/8 IC₅₀, 1/4 IC₅₀, dan 1/8 IC₅₀ dapat dilihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Efek *Doxorubicin* terhadap Kultur Sel Kanker Serviks Uteri HeLa

Dosis µg/mL	Viabilitas (%)
2,40	0,5497
1,80	0,8340
1,20	0,7346
0,60	0,7677

Pada Tabel 2 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi *doxorubicin* yang diberikan, semakin kecil viabilitas sel yang dihasilkan.

Empat seri konsentrasi masing-masing sediaan akan dimasukkan ke dalam *software* CompuSyn untuk menghitung nilai CI sehingga sinergitas obat dapat diketahui. Hasil uji kombinasi sediaan nanopartikel alginat daun sirsak dengan *doxorubicin* pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa dapat dilihat pada Tabel 3.

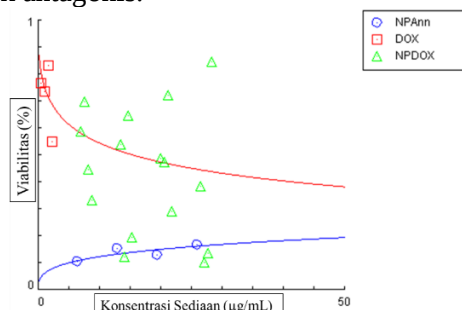
Tabel 3. Nilai *Combination Index* (CI) Sediaan Nanopartikel Alginat Ekstrak Daun Sirsak dengan *Doxorubicin* terhadap Kultur Sel Kanker Serviks Uteri HeLa

Konsentrasi NP (µg/mL)	Konsentrasi <i>Doxorubicin</i>	Viabilitas	CI (sangat kuat <0,1)
26,04	2,40	0,848	10,2871
19,53	2,40	0,29	0,09826
13,02	2,40	0,1949	0,26142
6,51	2,40	0,3317	0,04303
26,04	1,80	0,1350	1,90114
19,53	1,80	0,7218	1,19008
13,02	1,80	0,6470	0,50984
6,51	1,80	0,4460	0,07187
26,04	1,20	0,1019	4,91651
19,53	1,20	0,4749	0,06806
13,02	1,20	0,1211	1,37800
6,51	1,20	0,6993	0,60731
26,04	0,60	0,3851	0,04248
19,53	0,60	0,4888	0,04106
13,02	0,60	0,5411	0,06009
6,51	0,60	0,5882	0,09298

Hasil penghitungan CI pada Tabel 3 menunjukkan kombinasi sediaan nanopartikel alginat ekstrak daun sirsak dengan *doxorubicin* yang memiliki CI <0,1 yaitu pada kombinasi delapan konsentrasi dan efek kombinasi tersebut termasuk dalam efek sinergis sangat kuat. Hasil CI yang menunjukkan efek sinergis kuat yaitu pada satu kombinasi, dan bersifat sinergis sedang yaitu pada dua kombinasi serta yang menunjukkan efek antagonis adalah pada lima kombinasi.²⁴

Dosis kombinasi antara sediaan nanopartikel ekstrak daun sirsak dengan *doxorubicin* yang memberikan efek paling kuat dengan CI sebesar 0,04106 merupakan kombinasi dosis 19,53 µg/mL NP dengan 0,60 µg/mL *doxorubicin*. Sebaliknya, dosis kombinasi antara sediaan nanopartikel ekstrak daun sirsak dengan *doxorubicin* yang menunjukkan efek antagonis kuat-sangat kuat yaitu dengan CI sebesar 10,2871 adalah kombinasi antara 26,04 µg/mL NP dengan 2,40 µg/mL *doxorubicin*.²⁴

Pada Tabel 3, terlihat bahwa penambahan dosis sediaan nanopartikel ekstrak daun sirsak dengan dosis *doxorubicin* yang tetap tidak memberikan efek yang lebih baik. Penambahan dosis *doxorubicin* dengan dosis sediaan nanopartikel ekstrak daun sirsak yang tetap juga tidak memberikan efek yang lebih baik. Perlakuan uji kombinasi dengan dosis maksimum pada kedua sediaan justru memberikan efek antagonis.

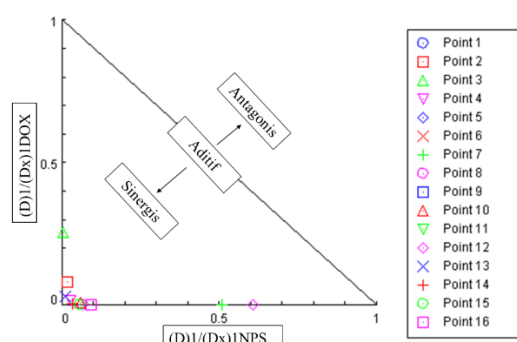


Gambar 1. Kurva Kombinasi Sediaan NPS dan DOX

Keterangan:

-  Kelompok HeLa yang diberi nanopartikel alginat ekstrak daun sirsak
-  Kelompok HeLa yang diberi *doxorubicin*
-  Kelompok HeLa yang diberi nanopartikel alginat ekstrak daun sirsak dengan *doxorubicin*

Gambar 1 memperlihatkan bahwa tidak ada perubahan signifikan dari penambahan konsentrasi sediaan NPS terhadap viabilitas sel. Pada sediaan DOX, semakin tinggi konsentrasi yang diberikan akan semakin kecil pula viabilitas sel. Kurva efek sinergitas berdasarkan nilai *combination index* antara kombinasi sediaan nanopartikel ekstrak daun sirsak dengan *doxorubicin* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Kombinasi NPS dan DOX

Keterangan:

- | | | |
|--|--|--|
|  26,04 NPS + 2,40 DOX |  13,02 NPS + 1,80 DOX |  26,04 NPS + 0,60 DOX |
|  19,53 NPS + 2,40 DOX |  6,51 NPS + 1,80 DOX |  19,53 NPS + 0,60 DOX |
|  13,02 NPS + 2,40 DOX |  26,40 NPS + 1,20 DOX |  13,02 NPS + 0,60 DOX |
|  6,51 NPS + 2,40 DOX |  19,53 NPS + 1,20 DOX |  6,51 NPS + 0,60 DOX |
|  26,04 NPS + 1,80 DOX |  13,02 NPS + 1,20 DOX | |
|  19,53 NPS + 1,80 DOX |  6,51 NPS + 1,20 DOX | |

Gambar 2 menunjukkan bahwa kombinasi sediaan nanopartikel ekstrak daun sirsak dengan *doxorubicin* bersifat sinergis karena sebanyak sebelas kombinasi kedua senyawa tersebut berada di bawah garis diagonal dan sebanyak lima kombinasi menunjukkan efek

antagonis yang berada di atas garis diagonal.

Kanker serviks uteri adalah kanker dengan kasus tertinggi keempat di dunia¹ dan di Asia serta kedua di Indonesia.^{1–3} Mortalitas kanker serviks uteri terbilang cukup tinggi pada negara berpenghasilan sedang dan rendah.²⁶ Salah satu penatalaksanaan kanker serviks uteri yaitu menggunakan kemoterapi dengan memanfaatkan *doxorubicin* sebagai pilihan obatnya.^{6,11} Keberhasilan kemoterapi menggunakan *doxorubicin* masih terbilang cukup rendah dengan diikuti beberapa efek samping.^{9,27} Salah satu strategi yang dapat dilakukan untuk menurunkan efek samping yang ada adalah dengan menggunakan terapi kombinasi yang diharapkan memunculkan efek sinergis.¹² Terapi kombinasi yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan bahan alam, salah satu nya yaitu daun sirsak.²⁸ Penggunaan daun sirsak (*Annona muricata*) dapat memunculkan efek sebagai antikanker.²⁹

Hasil uji sitotoksitas pada penelitian ini yang dilakukan menggunakan metode MTT menunjukkan IC₅₀ sebesar 52,0825 µg/mL yang menunjukkan efek sedang berdasarkan referensi Baharum dkk (2014).³⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Hadisaputri dkk (2021) juga memiliki hasil bahwa daun sirsak memiliki efek melawan kanker payudara.³¹ Hasil penelitian tersebut juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Syed Najmudin dkk (2016) yang membuktikan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki efek antikanker pada kultur sel kanker payudara (MCF-7).³² Penelitian sitotoksitas daun sirsak terhadap kultur sel kanker payudara MCF-7 juga dilakukan oleh Widiyastuti dkk (2018) dengan hasil IC₅₀ sebesar 56,61 µg/mL.³³ Uji sitotoksitas yang dilakukan oleh Prayitno dkk juga menemukan bahwa daun sirsak dapat berperan sebagai antikanker serviks uteri (HeLa) dengan IC₅₀ sebesar 76,17 yang menandakan toksisitas sedang.³⁴ Hasil penelitian tersebut juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Apriyanto dkk dengan hasil bahwa daun sirsak memiliki toksisitas tinggi untuk melawan sel kanker hati HUH7IT-1.³⁵

Efek antikanker yang dimiliki oleh daun sirsak berasal dari beberapa kandungan aktif di dalamnya seperti *acetogenins*, *alkaloids*, dan *phenolic*. *Acetogenins* berperan menghambat NADPH oxidase sehingga *mitochondrial complex I* yang bekerja untuk mensintesis ATP sel akan menurun. Ketika terjadi penurunan ATP, sel kanker akan kekurangan suplai energi sehingga memicu terjadinya apoptosis.¹⁴ Mekanisme lain yang mengganggu stabilitas sel kanker adalah melalui kandungan *alkaloids*. *Alkaloids* akan berikatan dengan DNA sehingga terjadi gangguan replikasi, repair, dan transkripsi pada protein. Ikatan *alkaloids* juga terjadi dengan mikrotubul sel sehingga akan mengganggu proliferasi sel kanker.³⁶ Peningkatan *caspase-9* yang terjadi pada sel kultur juga menyebabkan terjadinya peningkatan apoptosis sel.³⁵

Walaupun sebanyak sebelas kombinasi konsentrasi antara daun sirsak dengan *doxorubicin* bersifat sinergis, namun sebanyak lima hasil kombinasi kedua senyawa tersebut memiliki efek antagonis. Efek antagonis yang timbul dapat terjadi dengan adanya peranan dari reseptor pada sel. Senyawa yang menuju ke dalam sel dapat memiliki sifat agonis yang menyerupai endogenous ligands dari dalam sel itu sendiri sehingga akan berikatan dengan reseptor dan menyebabkan perubahan intraselular. Adanya ikatan ini akan menimbulkan efek yang hampir sama dengan efek dari endogenous ligands. Sebaliknya, efek antagonis terjadi karena senyawa tersebut menghambat ikatan senyawa agonis dengan reseptornya. Akibatnya, efek yang muncul juga akan menurun. Penggambaran ini didasari oleh pernyataan yang dikemukakan Paracelsus pada tahun 1538 yang berbunyi, “sola dosis facit venenum” dengan arti hanya dosis yang mampu menjadi racun.³⁷

Efek antagonis dalam mekanisme kerja obat dapat berupa antagonis secara fisiologi, kimia, dan farmakokinetik. Efek antagonis fisiologi bertujuan untuk mempertahankan homeostasis ketika terdapat dua mekanisme yang berbeda, misalnya efek norepinefrin yang meningkatkan tekanan darah akan diseimbangkan oleh asetilkolin. Efek antagonis secara kimia muncul ketika salah satu obat menurunkan konsentrasi obat lain dengan membentuk kompleks kimiawi sehingga efek yang diharapkan tidak muncul. Terakhir, efek antagonis farmakokinetik terjadi ketika salah satu obat meningkatkan metabolisme atau eliminasi obat lain.³⁸

Bioavailabilitas sediaan ekstrak daun sirsak juga dapat ditingkatkan melalui penggunaan nanopartikel.³⁹ Nanopartikel adalah salah satu alternatif dalam pemberian obat

dengan keuntungan yaitu dapat meningkatkan efektivitas penghantaran senyawanya.^{17,18} Nanopartikel dengan zeta potensial yang lebih besar dari +30 mV atau lebih kecil dari -30 mV menunjukkan sifat kation atau anion kuat.⁴⁰ Penelitian ini menunjukkan hasil nanopartikel sebesar 192,83 nm dengan zeta potensial sebesar -60,16 mV. Hasil zeta negatif atau positif yang tinggi memperlihatkan stabilitas fisik yang baik pada nanopartikel karena partikel-partikel yang tidak saling berikatan sehingga tidak menyebabkan agregasi yang besar.⁴¹

Pernyataan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lima Cavalcanti dkk (2019) dengan hasil bahwa penggunaan nanopartikel pada bahan alam dapat menurunkan toksisitas dan meningkatkan penghantaran obat dalam melawan sel kanker paru.⁴² Penelitian yang dilakukan oleh Gonzales-Pedroza dkk (2021) menunjukkan bahwa ekstrak daun dan kulit sirsak yang dikemas dalam bentuk nanopartikel dengan ukuran 16–19 nm mampu melawan kanker kolon, payudara, dan melanoma.⁴³ Pemberian ekstrak kurkumin yang dibentuk dalam nanopartikel juga meningkatkan efektivitas terapi kanker payudara (MDA-MB-231) sebesar 3–6 kali pada penelitian yang dilakukan oleh Song dkk (2018).⁴⁴

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa IC₅₀ *doxorubicin* sebesar 4,8 µg/mL dengan toksisitas kuat. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti dkk (2018) dengan hasil sitotoksitas *doxorubicin* terhadap sel kanker serviks uteri (HeLa) adalah sebesar 4,8 µg/mL yang menunjukkan hasil toksisitas kuat.⁴⁵ *Doxorubicin* memiliki efek antikanker melalui beberapa mekanisme yaitu gangguan DNA sel, peningkatan radikal bebas, dan gangguan terhadap membran sel. Ikatan DOX dengan DNA akan mengganggu DNA repair sehingga akan menurunkan siklus sel kanker. Ikatan *doxorubicin* dengan *topoisomerase* II juga mampu menyebabkan terjadinya apoptosis melalui penghambatan replikasi DNA. Oksidasi kandungan quinone pada *doxorubicin* akan membentuk ROS sehingga memicu kematian sel kanker. Pembentukan ROS juga dapat terjadi melalui gangguan homeostasis iron, kalsium, dan ikatan *doxorubicin* dengan inner mitochondrial membrane.⁴⁶

Kombinasi antara nanopartikel ekstrak daun sirsak dengan *doxorubicin* yang menunjukkan hasil sinergis sangat kuat adalah sebanyak delapan kombinasi, efek sinergis kuat adalah sebanyak satu kombinasi, dan sinergis sedang adalah sebanyak dua kombinasi serta efek antagonis adalah sebanyak lima kombinasi. Hasil sinergitas ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Artanti dkk (2018) yaitu pengujian sinergitas antara daun sirsak dengan *doxorubicin* pada kultur sel kanker nasofaring (raji cell line) dengan hasil *combination index* sebesar 0,13–0,65 yang menandakan efek sinergis kuat–sedang.⁴⁷ Selain itu hasil penelitian yang dilakukan juga sejalan dengan uji kombinasi antara daun sirsak dengan *doxorubicin* pada kultur sel kanker payudara (4T1) yang dilakukan oleh Salsabila dkk (2021) dengan hasil CI sebesar 0,15 dengan penurunan viabilitas sel sebesar 58%.⁴⁸ Dengan demikian, penelitian ini sejalan dengan penelitian-penelitian lain yang telah dipaparkan dengan hasil kombinasi sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dengan *doxorubicin* memiliki efek sinergis sangat kuat pada delapan kombinasi, sinergis kuat pada satu kombinasi, sinergis sedang pada dua kombinasi, dan antagonis pada lima kombinasi.

Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu hanya dilakukan pada satu jenis kultur sel kanker serviks uteri HeLa dan hanya menggunakan satu jenis nanopartikel yaitu alginat. Selain itu, uji MTT juga tidak dilakukan terhadap sel normal sehingga tidak dapat mengetahui efek samping.

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan beberapa hasil penelitian sebagai berikut:

1. Sediaan nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) memiliki efek antikanker sedang pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa dengan nilai IC₅₀ sebesar 52,08 µg/mL;
2. Sediaan senyawa nanopartikel alginat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) bersifat sinergis sangat kuat pada delapan kombinasi konsentrasi, sinergis kuat pada satu kombinasi konsentrasi, dan sinergis sedang pada dua kombinasi konsentrasi pada kultur sel kanker serviks uteri HeLa.

Acknowledge

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Unit Pengabdian Kepada Masyarakat (UPPM) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung yang telah membiayai penelitian ini. Peneliti mengucapkan terimakasih juga kepada Laboratorium Farmasi Universitas Islam Indonesia, Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Islam Bandung.

Daftar Pustaka

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49.
- [2] the global cancer observatory. GLOBOCAN Asia2020. Mars 2021. 2021;136:2020–1.
- [3] The Global Cancer Observatory. Cancer Incident in Indonesia. *Int Agency Res Cancer* [Internet]. 2020;858:1–2. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
- [4] WHO. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem and its associated goals and targets for the period 2020 – 2030. Vol. 2, United Nations General Assembly. 2020. 1–3 p.
- [5] Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(1):1–17.
- [6] Regalado Porras GO, Chávez Noguera J, Poitevin Chacón A. Chemotherapy and molecular therapy in cervical cancer. *Reports Pract Oncol Radiother* [Internet]. 2018;23(6):533–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rpor.2018.09.002>
- [7] Santoso C, Askandar B. Keberhasilan Kemoterapi Neoajuvan Cisplatin-Vincristine-Bleomycin dan Paclitaxel-. 2011;19(3):1.
- [8] Liu YM, Ni LQ, Wang SS, Lv QL, Chen WJ, Ying SP. Outcome and prognostic factors in cervical cancer patients treated with surgery and concurrent chemoradiotherapy: A retrospective study. *World J Surg Oncol*. 2018;16(1):1–7.
- [9] Scatchard K, Forrest JL, Flubacher M, Cornes P, Williams C. Chemotherapy for metastatic and recurrent cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;2012(10).
- [10] Johnson-Arbor K, Dubey R. *Doxorubicin* [Internet]. StatPearls. 2022. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30784672>
- [11] Matyszevska D, Nazaruk E, Campbell RA. Interactions of anticancer drugs *doxorubicin* and *idarubicin* with lipid monolayers: New insight into the composition, structure and morphology. *J Colloid Interface Sci* [Internet]. 2021;581:403–16. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.07.092>
- [12] Yin N, Ma W, Pei J, Ouyang Q, Tang C, Lai L. Synergistic and antagonistic drug combinations depend on network topology. *PLoS One*. 2014;9(4).
- [13] Yajid AI, Ab Rahman HS, Wong MPK, Wan Zain WZ. Potential benefits of *Annona muricata* in combating cancer: A review. *Malaysian J Med Sci*. 2018;25(1):5–15.
- [14] Rady I, Bloch MB, Chamcheu RCN, Banang Mbeumi S, Anwar MR, Mohamed H, et al. Anticancer Properties of Graviola (*Annona muricata*): A Comprehensive Mechanistic Review. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018.
- [15] Shi JF, Wu P, Cheng XL, Wei XY, Jiang ZH. Synthesis and cytotoxic property of annonaceous acetogenin glycoconjugates. *Drug Des Devel Ther*. 2020;14:4993–5004.
- [16] Puspitasari AD, Prayogo LS. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta* 7. 2017;7–14.
- [17] Lee SH, Jun BH. Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine. *Int J Mol Sci*. 2019;20(4).
- [18] Martien R, Adhyatmika, Irianto IDK, Farida V, Sari DP. Perkembangan teknologi nanopartikel dalam sistem penghantaran obat. *Maj Farm* [Internet]. 2012;8(1):133–44. Available from: https://www.academia.edu/download/41739804/Perkembangan_Teknologi_Nanopartike_l_dala20160129-20505-1jxjfb.pdf

- [19] Jost A, Sapra A. Alginate. StatPearls [Internet]. 2021 Jun 3 [cited 2022 Feb 11]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551566/>
- [20] Hikmawanti NPE, Fatmawati S, Asri AW. The effect of *ethanol* concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2021;755(1):1–8.
- [21] Putri GM, Atun S. Pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol temu kunci (. :19–26.
- [22] LI W, ZHOU J, XU Y. Study of the *in vitro* cytotoxicity testing of medical devices. Biomed Reports. 2015;3(5):617–20.
- [23] CCRC. Prosedur tetap uji sitotoksik metode MTT. Cancer Chemoprevention Res Cent. 2015;1–8.
- [24] CCRC. Prosedur tetap Uji Kombinasi dengan Agen Kemoterapi. Cancer Chemoprevention Res Cent Farm UGM Yogyakarta. 2009;6–9.
- [25] Meerloo J van, Kaspers GJL, Cloos J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. 2011 [cited 2022 Jan 30];237–45. Available from: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-61779-080-5_20
- [26] Agustiansyah P, Sanif R, Nurmaini S. Bioscientia Medicina : Journal of Biomedicine & Translational Research Epidemiology and Risk Factors for Cervical Cancer. 2018;624–31.
- [27] Ajaykumar C. Overview on the Side Effects of *Doxorubicin*. In: Advances in Precision Medicine Oncology. 2020.
- [28] Halder S, Modak P, Sarkar BK, Das A, Sarkar AP, Chowdhury AR, et al. Traditionally Used Medicinal Plants with Anticancer Effect: A Review. Int J Pharm Sci Rev Res. 2020;65(1):1–13.
- [29] Astirin OP, Artanti AN, Fitria MS, Perwitasari EA, Prayitno A. & Annona muricata & Linn Leaf Induce Apoptosis in Cancer Cause Virus. J Cancer Ther. 2013;04(07):1244–50.
- [30] Baharum Z, Akim AM, Taufiq-Yap YH, Hamid RA, Kasran R. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of *methanolic* plant part extracts of *Theobroma cacao*. Molecules. 2014;19(11):18317–31.
- [31] Hadisaputri YE, Habibah U, Abdullah FF, Halimah E, Mutakin M, Megantara S, et al. Antiproliferation activity and apoptotic mechanism of soursop (*Annona muricata* L.) leaves extract and fractions on mcf7 breast cancer cells. Breast Cancer Targets Ther. 2021;13:447–57.
- [32] Syed Najmuddin SUF, Romli MF, Hamid M, Alitheen NB, Abd Rahman NM. Anti-cancer effect of *Annona Muricata* Linn Leaves Crude Extract (AMCE) on breast cancer cell line. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2016;16(1):1–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12906-016-1290-y>
- [33] Widiyastuti Y, Sholikhah IYM, Haryanti S. Efek Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak , Buah Takokak , dan Umbi Bidara Upas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Cytotoxic Effect of Jamu Formula of Sirsak Leaves , Takokak Fruits , and Bidara Upas Bulb against Breast Cancer Cell Line MCF-7 sumber obat b. 2019;9(2):140–9.
- [34] A P, AN A. Tetrahydrofurane is a Component of *Annona muricata* Leaf will Induce Apoptosis Program in Cancer Cell because the Virus: A Proxy for Cancer Treatment. Immunome Res. 2016;12(2).
- [35] Apriyanto D, Hartati S, Dewi BE, AokiUtsubo C HH. Aktivitas sitotoksisitas ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap karsinoma hepatoseluler strain Huh7it-1 cell line. J fKedokteran dan Kesehatan. 2018;4:1–4.
- [36] Yun D, Yoon SY, Park SJ, Park YJ. The anticancer effect of natural plant alkaloid isoquinolines. Int J Mol Sci. 2021;22(4):1–15.
- [37] Currie GM. Pharmacology, part 1: Introduction to pharmacology and pharmacodynamics.

- J Nucl Med Technol. 2018;46(2):81–6.
- [38] basic_principles_of_pharm [TUSOM | Pharmwiki] [Internet]. [cited 2022 Dec 21]. Available from: https://tmedweb.tulane.edu/pharmwiki/doku.php/basic_principles_of_pharm
- [39] Sharma S, Parveen R, Chatterji BP. Toxicology of Nanoparticles in Drug Delivery. Curr Pathobiol Rep [Internet]. 2021;9(4):133–44. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40139-021-00227-z>
- [40] Clogston JD, Patri AK. Zeta potential measurement. Methods Mol Biol [Internet]. 2011 [cited 2022 Dec 24];697:63–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21116954/>
- [41] Joseph E, Singhvi G. Multifunctional nanocrystals for cancer therapy: A potential nanocarrier. Nanomater Drug Deliv Ther [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Dec 24];91–116. Available from: https://www.researchgate.net/publication/331799097_Multifunctional_nanocrystals_for_cancer_therapy_A_potential_nanocarrier
- [42] Lima Cavalcanti ID, Cleberson Santos Soares J, Da Silva WFP, Silva BG, Souza IA de. Nanoparticles in the Use of Natural Products for the Treatment of Lung Cancer TT - Nanopartículas en el empleo de productos naturales para el tratamiento del cáncer de pulmón. Ars pharm [Internet]. 2019;60(3):185–92. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&apd=S2340-98942019000500007&lng=es&anrm=iso&atlng=en
- [43] González-Pedroza MG, Argueta-Figueroa L, García-Contreras R, Jiménez-Martínez Y, Martínez-Martínez E, Navarro-Marchal SA, et al. Silver nanoparticles from *annona muricata* peel and leaf extracts as a potential potent, biocompatible and low cost antitumor tool. Nanomaterials. 2021;11(5).
- [44] Song W, Su X, Gregory DA, Li W, Cai Z, Zhao X. Magnetic alginate/chitosan nanoparticles for targeted delivery of curcumin into human breast cancer cells. Nanomaterials. 2018;8(11).
- [45] Yuniarti L, Mustofa M, Aryandono T, Haryana SM. Synergistic action of 1,2-epoxy-3 (3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-on) propane with *doxorubicin* and cisplatin through increasing of p53, TIMP-3, and microRNA-34a in cervical cancer cell line (HeLa). Asian Pacific J Cancer Prev. 2018;19(10):2955–62.
- [46] Micallef I, Baron B. *Doxorubicin* : An Overview of the Anti-Cancer and Chemoresistance Mechanisms. Ann Clin Toxicol. 2020;3(2):1031.
- [47] Artanti AN, Astirin OP, Prayito A, Fisma R, Prihapsara F. Synergistic Cytotoxicity Effect by Combination Treatment of Polyketide Derivatives from *Annona muricata* Linn Leaves and *Doxorubicin* as Potential Anticancer Material on Raji Cell Line. IOP Conf Ser Mater Sci Eng. 2018;333(1).
- [48] Salsabila IA, Nugraheni N, Ahlina FN, Haryanti S, Meiyanto E. Synergistic cotreatment potential of soursop (*Annona muricata* L.) leaves extract with *doxorubicin* on 4t1 cells with antisenescence and anti-reactive-oxygen-species properties. Iran J Pharm Res. 2021;20(2):57–67.
- [49] O. Tiara dan R. Risanti, “Karakteristik Pekerja Industri Tekstil yang Terdiagnosis Kanker di Purwakarta,” Jurnal Riset Kedokteran (JRK), pp. 101-106, 2022.