

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 70 % BUAH MERICA
HITAM (*Piper nigrum* L.) TERHADAP SEL HeLa**

MAKALAH



Oleh:

**NUR LIA AMALINA
K 100 040 017**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2008**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan diikuti proses invasi ke jaringan sekitar serta penyebarannya (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (King, 2000).

Setiap tahun jumlah penderita kanker di dunia bertambah 6,25 juta orang, dua pertiga dari penderita kanker di dunia berada di negara-negara yang sedang berkembang termasuk Indonesia. Data Departemen Kesehatan menunjukkan jumlah penderita kanker di Indonesia mencapai 6 persen dari populasi (Anonim^a, 2006).

Kanker serviks atau kanker leher rahim merupakan jenis kanker yang paling banyak diderita wanita di Indonesia dan angka kematian akibat kanker tersebut di Indonesia cukup tinggi. (Anonim^b, 2006). Kanker leher rahim (kanker serviks) adalah kanker yang terjadi pada serviks uteri, suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim yang terletak antara rahim (uterus) dengan liang senggama (vagina) (Riono, 1999).

Obat antikanker yang ideal akan membasmi sel kanker tanpa merugikan jaringan normal. Sampai sekarang ini belum banyak obat yang memenuhi kriteria tersebut (Katzung, 1995). Usaha untuk mengobati penyakit kanker dengan obat tradisional semakin banyak dilakukan karena alasan biaya yang lebih murah, lebih

mudah didapat, efek samping yang relatif kecil, dan dapat diramu sendiri. Penelitian untuk mendapatkan obat anti kanker antara lain dilakukan dengan menggali senyawa-senyawa alam yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Hal tersebut dikarenakan kecenderungan masyarakat untuk kembali ke alam (*back to nature*) semakin tinggi dengan lebih memilih menggunakan obat-obatan tradisional (Mangan, 2003). Keanekaragaman hayati Indonesia sangat berpotensi dalam penemuan senyawa baru yang berkhasiat sebagai antikanker. Salah satunya tanaman yang digunakan adalah genus Piper. Spesies tanaman piper banyak digunakan pada pengobatan seperti *Piper longum*, *Piper nigrum* L., *Piper cubeba* L., *Piper retrofraktum* Vahl., dan *Piper bettle* L.

Komponen yang menimbulkan efek toksik pada tanaman piper adalah piperin. Piperin digunakan dalam pengobatan *colic*, *diarroea*, *cholera*, *scarlatina*, *chronic gonorrhoea* dan *tinea capitis* (Felter dan Lioyd, 1898). Piperin juga digunakan dalam pengobatan tradisional dan sebagai insektisida (Anonim^a, 2007). Piperidin yang terdapat dalam piperin merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antikanker (Kintzios dan Barberaki, 2003) dan pada saat ini, banyak penelitian yang menunjukkan bahwa tanaman piper dapat digunakan sebagai obat antikanker.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Piper longum* diketahui mempunyai efek toksik terhadap sel DLA (*Dalton's Lymphoma Ascites*) dan sel EAC (*Ehrlich Ascites Carcinoma*). Nilai LC₅₀ ekstrak alkohol *Piper longum* sebesar 500 µg/ml untuk sel DLA dan 250 µg/ml untuk sel EAC (Sunila dan Kutan, 2003). Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70%

dari buah merica hitam (*Piper nigrum* L.) mempunyai efek toksik terhadap sel myeloma dengan nilai IC₅₀ sebesar 51,20 µg/ml (Prarianti, 2003).

Penapisan aktivitas sitotoksik dilakukan terhadap sel yang cepat tumbuh dan mudah penanganannya seperti sel HeLa. Oleh karena itu, perlu diteliti efek sitotoksik buah merica hitam (*Piper nigrum* L.) pada sel HeLa.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti merumuskan permasalahan sebagai berikut: apakah ekstrak etanol 70 % buah merica hitam (*Piper nigrum* L.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa dan berapa IC₅₀ nya?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol 70 % buah merica hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap sel HeLa dan IC₅₀.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Merica Hitam (*Piper nigrum* L.)

a. Sistematika Tanaman

Kedudukan tanaman merica hitam (*Piper nigrum* L.) dalam taksonomi adalah sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledoneae

Ordo : Piperales
Familia : Piperaceae
Genus : Piper
Species : *Piper nigrum* L.

(Van Steenis, 2003)

b. Morfologi Tanaman Merica Hitam (*Piper nigrum* L.)

Tanaman merica hitam berupa tanaman yang memanjat, dengan akar pelekat, batang 5-15 m. Daun berseling atau tersebar, bertangkai, dengan daun penumpu yang mudah gugur dan meninggalkan bekas yang berupa suatu lingkaran. Helaihan daun bulat telur, memanjang dengan ujung meruncing, 5-15 cm x 8-20 cm, pada sisi buah pada kelenjar-kelenjar yang tenggelam. Bulir terpisah-pisah, bergantung terdapat pada ujung atau berhadapan dengan daun. Daun pelindung memanjang, 4-5 mm panjang. Buah berupa buah buni, bangun bulat (Tjitrosoepomo, 2005).

c. Nama Daerah

Merica hitam (*Piper nigrum* L.) mempunyai nama Sumatera: lada (Aceh), leudeu pedih (Gayo), lada (Batak), lada (Nias), raro (Mentawai), lada kecil (Bengkulu), lade ketek (Minangkabau), lada (Lampung). Jawa: Lada, pedes (Sunda), merica (Jawa). Nusa Tenggara: maicam, mica (Bali), saha (Bima), saang (Flores). Kalimantan: sahang laut (Dayak), sahang (Sampit). Sulawesi: kaluya jawa, marisa jawa, malita lodawa (Gorontalo). Maluku: marisano (Sepa), rica jawa, rica polulu (Ternate), mica jawa, rica tamelo (Tidore) (Anonim, 1980).

d. Kandungan Kimia

Buah merica hitam mengandung minyak atsiri, piperin, kariofilen, limonen, filandren, alkaloid piperin, kavisin, piperitin, piperidin, zat pahit, dan minyak lemak (Soedibyo, 1998).

e. Manfaat Tanaman

Buah merica hitam berkhasiat sebagai bahan penyegar, menghangatkan badan, merangsang semangat, obat perut kembung, merangsang keluarnya keringat, dan obat sesak nafas (Gunawan, 1999). Selain itu juga sebagai karminatif, diaforetik, dan analgesik (Soedibyo, 1998).

2. Piperin

Piperin ditemukan sebagai bahan aktif dan merupakan alkaloid yang bertanggung jawab terhadap rasa pedas serta bau merica hitam. Konsentrasi piperin dalam merica hitam sekitar 5-9 %. Piperin juga digunakan dalam pengobatan tradisional dan sebagai insektisida (Anonim^a, 2007).

Piperin merupakan senyawa amida basa lemah yang dapat membentuk garam dengan asam mineral kuat. Piperin bisa dihidrolisis dengan KOH-etanolik yang akan menghasilkan kalium piperinat dan piperidin. Oleh sebab itu pada proses isolasi, pemberian KOH- etanolik tidak boleh berlebihan dan harus dalam keadaan panas. Tumbuhan jenis piper juga mengandung minyak atsiri berwarna kuning, berbau aromatis, senyawa berasa pedas (kavisin), amilum, resin, protein. Senyawa amida (piperin) berupa kristal berbentuk jarum, berwarna kuning, tidak berbau, tidak berasa, lama-kelamaan pedas, larut dalam etanol, asam cuka, benzen, dan kloroform (Anonim^c, 2006).

3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Anonim, 2000). Hasil ekstraksi adalah ekstrak yang merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dan simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan (Anonim, 1995).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan faktor seperti sifat bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi (Ansel, 1989).

Maserasi berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 1989). Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan / kamar (Anonim, 2000).

Dalam proses maserasi, simplisia yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang. Maserasi biasanya dilakukan dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Ansel, 1989).

4. Penelitian tanaman piper dalam kaitannya dengan kanker

Ekstrak alkohol buah dari *Piper longum* diketahui mempunyai efek toksik dengan LD50 (*Lethal Dose* 50) pada konsentrasi 500 µg/ml terhadap sel DLA (*Dalton's Lymphoma Ascites*) dan pada konsentrasi 250 µg/ml terhadap sel EAC (*Ehrlich Ascites Carcinoma*) (Sunila dan Kutan, 2003). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa *Piper nigrum* L., *Piper retrofractum* Vahl. dan *Piper cubeba* L. mempunyai efek toksik terhadap sel Myeloma dengan IC₅₀ nilai berturut-turut sebesar 51,20 µg/ml (Prarianti, 2007), 55,48 µg/ml (Setyorini, 2007) dan 76,10 µg/ml (Nurhayati, 2007).

5. Kanker

a. Definisi Kanker

Kanker adalah suatu penyakit dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler (Nafrialdi dan Gan, 1995). Kanker sebenarnya merupakan suatu tumor atau neoplasma, yang terdiri dari tumor jinak (*benign, benigna*) dan tumor ganas (*malignant, maligna, kanker*) (Mulyadi, 1997).

Perbedaan antara tumor ganas dengan tumor jinak selain faktor masa pertumbuhannya yaitu bahwa tumor ganas bersifat infiltratif, sedangkan tumor jinak ekspansif. Tumor ganas bersifat residif sedangkan tumor jinak tidak residif. Tumor ganas bersifat metastatif (Mulyadi, 1997).

Perbandingan antara inti sel dengan sitoplasma tumor ganas 1:1 sedangkan tumor jinak 1:4 (sama dengan sel normal). Adanya pleomorfi yaitu bentuk dan ukuran inti sel yang berbeda-beda pada tumor ganas, terdapat juga sel datia yaitu

sel yang mempunyai inti lebih dari satu. Pada tumor ganas sudah tidak ada anaplasia (dediferensiasi) yang berarti kehilangan polaritas yaitu perbedaan antara bagian atas dengan bawah atau bagian muka dengan belakang (Mulyadi, 1997). Kanker dapat dibedakan menjadi beberapa jenis berdasarkan organ yang diserang seperti: limfe, darah, sumsum dan otak (Tjay dan raharja, 1985).

b. Sifat Kanker

Menurut Sukardja (2000) sifat-sifat kanker adalah sebagai berikut :

1) Heterogenesis

Populasi sel dalam suatu tumor tidak homogen, tetapi heterogen, walaupun semua berasal dari sel yang sama. Heterogenitas ini terjadi karena sel-sel kanker tumbuh dengan cepat, sehingga sebelum dewasa, sebelum matang, sel tersebut mengalami mitosis. Setelah itu berkembangbiak, sehingga semakin lama semakin banyak keturunan sel yang jauh menyimpang dari sel induknya, yang menimbulkan bentuknya bervariasi.

2) Tumbuh autonom

Sel kanker tumbuh terus tanpa batas (*immortal*), liar, dan terlepas dari kendali pertumbuhan normal, sehingga terbentuk suatu tumor yang terpisah dari bagian tubuh yang normal. Tumor dapat menimbulkan kelainan bentuk dan gangguan fungsi organ yang diserangnya.

3) Mendesak dan merusak sel-sel normal sekitarnya

Sel-sel tumor tersebut mendesak (ekspansif) sel-sel normal di sekitarnya, dan kemudian berubah menjadi kapsel yang membatasi pertumbuhan tumor. Pada tumor jinak, kapsel tersebut berupa kapsel sejati yang memisahkan gerombolan

sel tumor dengan sel-sel normal, sedangkan pada tumor ganas berupa kapsel palsu (pseudokapsul), karena kapsel tersebut dapat ditembus atau diinfiltrasi oleh sel-sel kanker.

4) Amoeboid

Sel-sel kanker dapat bergerak sendiri seperti amoeba dan lepas dari gerombolan sel-sel tumor induknya, kemudian masuk di antara sel-sel normal di sekitarnya. Hal ini menimbulkan :

a) Infiltrasi atau invasi ke jaringan atau organ di sekitarnya

Sel-sel kanker dapat tumbuh di jaringan sekitarnya, menimbulkan perlekatan-perlekatan, obstruksi saluran-saluran tubuh.

b) Metastase atau anak sebar di kelenjar limfe atau di organ lainnya

Sel-sel kanker dapat masuk ke dalam pembuluh limfe dan bersama aliran limfe masuk ke kelenjar limfe dan tumbuh sebagai anak sebar di kelenjar limfe (penyebaran limfogen). Sel-sel tersebut juga masuk ke dalam pembuluh darah dan bersama aliran darah beredar ke seluruh tubuh (penyebaran hematogen).

5) Tidak mengenal batas-batas kewajaran

Ketidakwajaran itu antara lain disebabkan oleh :

a) Kurang daya adhesi dan kohesi

Kurangnya daya adhesi dan kohesi menyebabkan sel-sel kanker itu mudah lepas dari gerombolan sel-sel induknya dan dapat bergerak menyusup di antara sel-sel normal.

b) Tidak mengenal kontak inhibisi

Sel-sel normal akan berhenti tumbuh jika ada kontak dengan sel normal di sekitarnya, sedangkan sel kanker tidak.

c) Tidak mengenal tanda posisi

Sel normal akan berhenti tumbuh jika berada pada tempat atau posisi yang tidak seharusnya, sedangkan sel kanker tidak, sehingga dapat menimbulkan anak sebar (metastase).

d) Tidak mengenal batas kepadatan

Sel normal akan berhenti tumbuh jika kepadatan sel telah mencapai konsistensi tertentu, sedangkan sel kanker tidak.

c. Siklus Sel Kanker

Sel tubuh manusia akan selalu mengadakan generasi dan regenerasi, yaitu tumbuh, berkembangbiak dan terdeferensiasi membentuk sistem organ dan jaringan sampai terbentuk sel organ dewasa. Kemudian sel mengalami degenerasi dan berakhir dengan kematian. Menurut Sukardja (2000) secara biokimiawi, siklus pertumbuhan sel terdiri dari 4 fase :

1) Fase G1 (*Growth phase-1*)

Pada fase G1, sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa membentuk protein, enzim, dan sebagainya. Sel dewasa tersebut masuk ke zone perbatasan (*restriction zone*) yang menentukan apakah sel tersebut akan berhenti tumbuh atau tumbuh terus. Sel yang berhenti tumbuh akan masuk ke fase G0 dan terbagi menjadi 2 golongan. Golongan pertama adalah stem sel, yaitu sel yang dapat tumbuh lagi bila ada

rangsangan tertentu, misalnya untuk mengganti sel yang rusak atau mati dan kembali ke fase-S. Golongan kedua adalah sel yang tetap tidak akan tumbuh sampai sel itu mati dan hanya sel syaraf yang praktis tidak tumbuh.

2) Fase-S (*Synthetic phase*)

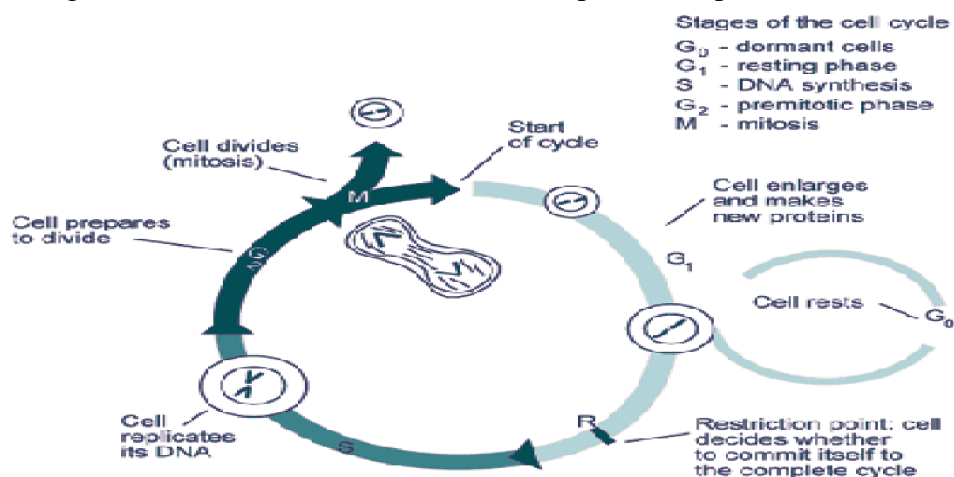
Pada fase-S ini dibentuk untai DNA baru melalui proses replikasi. Replikasi DNA terjadi dengan bantuan enzim DNA-polimerase. Dengan dibentuknya DNA baru maka rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda.

3) Fase-G₂ (*Growth phase-2*)

Pada fase ini dibentuk RNA, protein, enzim, dan sebagainya untuk persiapan fase-M berikutnya.

4) Fase-M (*Mitotic phase*)

Pada fase ini hampir tidak ada kegiatan kimiawi. Kegiatan yang ada adalah pembelahan sel, dari satu induk menjadi dua sel anak yang mempunyai struktur genetika yang sama dengan sel induknya. Di sini rantai ganda DNA yang merupakan pembawa informasi gen terbelah menjadi dua rantai tunggal masing-masing untuk satu sel anak baru. Siklus sel dapat dilihat pada Gambar I.



Gambar 1. Siklus Sel (Anonim^b, 2007)

d. Jenis Kanker

Secara garis besar, kanker dibagi menjadi 4 jenis yaitu karsinoma, sarkoma, leukemia, dan limfoma. Karsinoma adalah kanker yang tumbuh dan berkembang di sel epitel. Sarkoma adalah kanker yang tumbuh dan berkembang di jaringan penunjang, seperti jaringan penunjang payudara. Leukimia adalah kanker yang menyerang jaringan yang menghasilkan darah. Sedangkan limfoma adalah kanker yang menyerang jaringan limfa (Mangan, 2003).

e. Gejala Kanker

Gejala kanker secara umum, pada stadium dini kanker biasanya belum menimbulkan keluhan atau rasa sakit. Biasanya penderita menyadari bahwa tubuhnya telah terserang kanker ketika sudah timbul rasa sakit, padahal saat ada keluhan tersebut kanker sudah memasuki stadium yang lebih lanjut. Pengenalan gejala kanker perlu dilakukan sedini mungkin, meskipun tidak ada rasa gangguan atau rasa sakit. Mengetahui serangan kanker yang masih stadium dini membuat persentase kesembuhannya semakin besar (Mangan, 2003). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengetahui gejala kanker stadium dini adalah dengan pemeriksaan contoh sel yang diambil dari lendir leher rahim. Metode tersebut dinamakan test papanicolaon atau biasa disebut *pap smear*.

f. Pencegahan dan Pengobatan Kanker

Kanker dapat dikatakan sebagai penyakit gaya hidup karena dapat dicegah dengan melakukan gaya hidup sehat dan menjauhi faktor-faktor resiko terserang kanker. Pencegahan kanker dapat dilakukan dengan cara menghindari makanan yang berlemak tinggi, hubungan seksual dengan pasangan yang bukan suami istri,

asap rokok atau berhenti merokok, stress, terkena sinar matahari yang berlebihan, dan sebaiknya secara rutin memeriksakan kesehatan (Mangan, 2003).

Tidak semua kanker yang telah dideteksi atau ditemukan dapat disembuhkan. Namun semakin dini kanker ditemukan dan diobati, semakin besar kemungkinan untuk sembuh. Secara umum pengobatan kanker mempunyai tujuan sebagai kuratif dan paliatif. Kuratif (penyembuhan) adalah membebaskan penderita dari kanker untuk selamanya. Penyembuhan ini hanya berhasil jika kanker yang diderita masih stadium dini, penyebarannya belum meluas, dan ukurannya masih kecil. Sedangkan paliatif merupakan tindakan aktif guna meringankan beban penderita kanker, terutama yang tidak mungkin bias disembuhkan lagi. Hal ini bertujuan untuk memperbaiki kualitas hidup, mengatasi terjadinya komplikasi, dan mengurangi atau menghilangkan keluhan penderita (Mangan, 2003).

Faktor-faktor atau zat-zat yang dapat menyebabkan kanker disebut karsinogen. Faktor-faktor penyebab tersebut antara lain bahan kimia, penyinaran yang berlebihan, virus, hormon, rangsangan fisik berulang, dan makanan (Anonim, 1994).

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain pembedahan (operasi), penyinaran (radioterapi), obat pembunuh sel kanker (sitostatika atau kemoterapi), peningkatan daya tahan tubuh (imunoterapi), dan pengobatan dengan hormon (Mangan, 2003). Obat antikanker (sitostatika) merupakan zat-zat yang dapat menghentikan pertumbuhan sel-sel maligna. Obat yang ada sekarang belum memenuhi syarat terutama ditinjau dari segi efektivitas

dan keamanan. Pada umumnya obat antikanker (sitostatika) menekan proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit. Tetapi hanya dikatakan berhasil bila dosis yang digunakan dapat membunuh sel tumor yang ganas dan tidak mengganggu pertumbuhan sel normal (Nafrialdi dan Gan, 1995).

6. Sel HeLa

HeLa *cell line* merupakan sel turunan yang tumbuh sebagai sel yang semi melekat. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim (serviks) manusia. Sel ini diisolasi tahun 1951 dari rahim wanita penderita kanker leher rahim bernama Henrietta Lacks yang berusia 31 tahun (Anonim^c, 2007).

Sel HeLa dapat digunakan untuk tes antitumor, transformasi, uji tumorigenesis, biologi sel dan invasi bakteri. Sel ini secara morfologi merupakan sel epitelial yang sudah dimasuki oleh *Human Papiloma Virus* (HPV) tipe 18. Sel ini bersifat *immortal* dan sangat agresif sehingga mudah untuk dikultivasi tetapi sel ini mudah menginvasi kultur sel lain (Doyle dan Griffiths, 2000).

Media yang digunakan pada sel HeLa adalah RPMI 1640 serum. Media RPMI mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan glukosa. Serum mengandung hormon yang memacu pertumbuhan sel, albumin yang merupakan protein transport, lipid yang diperlukan untuk pertumbuhan sel, dan mineral yang merupakan kofaktor enzim. Seluruh komponen dalam media RPMI-serum tersebut berguna untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel untuk tetap bertahan hidup dan memperbanyak diri (Fresney, 1986).

Kanker leher rahim (kanker serviks) adalah kanker yang terjadi pada serviks uteri, suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke rahim yang terletak antara rahim (uterus) dengan liang senggama (vagina) (Riono, 1999). Kanker serviks terjadi karena adanya HPV (*Human Papiloma Virus*). Hal itu dapat dibuktikan karena DNA virus HPV dapat ditemukan menjadi satu di dalam DNA yang diambil dari penderita karsinoma serviks. Kelompok virus ini telah diketahui mempunyai kemampuan menyebabkan terjadinya pertumbuhan berpapil-papil (Underwood, 1999). Tetapi, infeksi virus yang hanya sekali tidak dapat menginisiasi munculnya sel kanker. Terjadinya kanker merupakan fungsi waktu dan parahnya infeksi virus ditularkan (King, 2000).

7. Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan perkembangan untuk mengidentifikasi obat sitotoksik baru atau deteksi obat dengan aktivitas antitumor. Dasar dari percobaan ini antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis seharusnya memberikan kurva dosis respon yang menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel. Informasi yang diperoleh dari kurva seharusnya berhubungan dengan efek *in vivo* dari obat sitotoksik yang sama (Burger, 1970).

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel

(Meiyanto, 2002). Nilai IC_{50} yang menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitostatik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik.

Uji sitotoksik sebagian besar masih menggunakan hewan percobaan meskipun terdapat kesulitan untuk diekstrapolasikan pada manusia. Metode *in vitro* merupakan alternatif pengganti metode hewan uji. Uji mempunyai relevansi cukup baik yang bertujuan untuk mendeteksi potensi ketoksikan suatu obat pada manusia (Doyle dan Griffiths, 2000).

Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel tumor secara *in vitro* dan jika toksisitas ini ditransfer menembus sel tumor *in vivo* senyawa tersebut mempunyai aktivitas antitumor (Evans, 2002). Uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksik pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle dan Griffiths, 2000).

MTT *assay* merupakan metode yang penggunaannya sudah banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium (3[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria sel hidup. Konsentrasi dari formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup (Price *et al.*, 1999). Kristal formazan berwarna ungu yang terbentuk terlarut dengan adanya penambahan isopropanol asam (100 μ l 0,04 N HCL dalam isopropanol) (Mosmann, 1983) atau SDS 10% dalam HCl 0,01N (Tada *et al.*, 1986). Selanjutnya dibaca absorbansinya

pada panjang gelombang 550 nm (Mostmann, 1983). Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme (Sigma, 1999).

E. KETERANGAN EMPIRIS

Hasil penelitian ini diharapkan memperoleh data ilmiah efek sitotoksik buah merica hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap sel HeLa.