

UJI SITOTOKSIK FRAKSI EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 SECARA *IN VITRO*

Nurpada Uleng^{1*} · Nurhilaliyah² · Risky Nurul Fadlila RN³

^{1,2,3} Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan, Indonesia

e-Mail: nurpadauleng@gmail.com

No Tlp WA : 082345895498 / 085696019404

Abstract

Breast cancer occurs due to be abnormal cell growth in the breast tissue. The prevalence of breast cancer cases is reported to increase every year. One form of cancer treatment is chemotherapy, but chemotherapy has side effects for patients, prompting the use of alternative treatments to minimize these effects, such as utilizing plants, including avocado seeds (*Persea americana* Mill.). Based on phytochemical screening, avocado seeds contain secondary metabolites like tannins, saponins, and flavonoids, which have anticancer properties. This study aims to determine the cytotoxic effects of ethanol extract fractions of avocado seeds and at what concentrations these fractions provide inhibitory effects on the growth of MCF-7 breast cancer cells. The study used an experimental laboratory research design with avocado seeds extracted using 90% ethanol, followed by fractionation using ethyl acetate. Cytotoxic tests were conducted using the Microculture Tetrazolium Technique Assay (MTT assay). The results showed that ethyl acetate fractions, which IC_{50} values of 108.497 ± 21.835 ppm (moderate cytotoxic effect) at 24 hours incubation and IC_{50} values of 75.926 ± 18.686 ppm (strong cytotoxic effect) at 48 hours incubation. It can be concluded that ethanol extract fractions of avocado seeds have potential as MCF-7 anticancer agents.

Keywords : MTT assay, *Persea americana* Mill., MCF-7 Cells, Cytotoxic

Abstrak

Kanker payudara terjadi akibat sel-sel payudara yang tidak normal tumbuh di luar kendali. Prevalensi kasus kejadian kanker payudara dilaporkan meningkat setiap tahunnya. Salah satu bentuk upaya penatalaksanaan kanker payudara adalah dengan kemoterapi, namun kemoterapi memiliki efek samping bagi penderita sehingga digunakan pengobatan alternatif untuk meminimalisir efek tersebut dengan memanfaatkan tanaman, salah satunya biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Berdasarkan skrining fitokimia, biji alpukat mengandung metabolit sekunder tanin, saponin, dan flavonoid yang bersifat antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik fraksi ekstrak etanol biji alpukat dan pada konsentrasi berapa fraksi ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek penghambatan terhadap perkembangan sel kanker payudara MCF-7. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen laboratorium menggunakan sampel biji alpukat yang diekstrak menggunakan etanol 96%, kemudian dilanjutkan fraksinasi menggunakan etil asetat. Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode *Microculture Tetrazolium Technique Assay* (MTT assay). Hasil yang diperoleh fraksi etil asetat mampu menghambat perkembangan sel MCF-7 paling baik dibandingkan dengan fraksi air dengan nilai IC_{50} $108,497 \pm 21,835$ ppm menunjukkan efek sitotoksik kategori sedang selama inkubasi 24 jam dan IC_{50} $75,926 \pm 18,686$ ppm pada masa inkubasi 48 jam menunjukkan efek sitotoksik yang kuat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi ekstrak etanol biji alpukat berpotensi sebagai antikanker MCF-7.

Kata Kunci : MTT assay, *Persea americana* Mill., Sel MCF-7, Sitotoksik

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang menjadi penyumbang kematian nomor satu di dunia. Kanker dapat terjadi karena pertumbuhan sel yang tidak normal dan terbentuk karena adanya mutasi genetik, yang disebabkan oleh faktor keturunan, gaya hidup, dan karsinogenik. Kanker dapat terjadi pada pria maupun wanita. Pembentukan sel kanker di dalam tubuh terjadi ketika radikal bebas mengganggu produksi DNA, sehingga elektron DNA berkurang dan menyebabkan perubahan struktur DNA yang menjadi pemicu terbentuknya sel-sel mutan. Sel-sel mutan tersebut akan bermutasi dan jika berlangsung lama dapat menjadi kanker. Kanker yang sering terjadi pada wanita adalah kanker payudara (Kusmardika, 2020).

Menurut data GLOBOCAN pada tahun 2020, tercatat sebanyak 2.261.419 (11,7%) kasus kanker payudara dengan angka kematian lebih dari 600.000 jiwa di seluruh dunia. Prevalensi kasus kejadian kanker payudara dilaporkan meningkat setiap tahunnya. Sedangkan di Indonesia, tercatat sebanyak 65.858 (16,6%) kasus dengan angka kematian lebih dari 22.000 jiwa (GLOBOCAN, 2020).

Salah satu bentuk upaya penatalaksanaan kanker payudara adalah dengan kemoterapi. Namun, kemoterapi memiliki efek samping diantaranya dapat membunuh sel-sel yang normal, menyebabkan kerontokan rambut, dan gangguan pada organ lain (Prasetyo & Suprayitno, 2021). Selain itu, kemoterapi juga dapat berdampak terhadap aspek psikologis pasien, diantaranya timbul rasa cemas, sedih, emosional yang berlebihan, keputusasaan, penurunan rasa percaya diri hingga menyebabkan stres dan berujung depresi (Agustina dkk., 2020).

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Tengah dan dapat tumbuh di daerah tropis. Semua bagian alpukat mulai dari buah, kulit, hingga biji alpukat dapat digunakan sebagai obat. Dalam kehidupan sehari-hari, masyarakat hanya mengonsumsi daging buah alpukat, padahal mulai dari daun, kulit, akar, hingga bijinya dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Kopon dkk., 2020).

Berdasarkan pengujian secara fitokimia yang dilakukan oleh Risma dkk. (2023), biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kandungan sitotoksik senyawa antioksidan yaitu flavonoid. Sitotoksik merupakan senyawa yang dapat merusak dan menyebabkan kematian pada sel, seperti alkaloid, tanin, saponin, terpenoid,

fenolik, dan flavonoid (Ambarwati & Rustiani, 2022). Antioksidan yang terkandung di dalamnya berperan dalam mencegah dan menghilangkan efek radikal bebas serta flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antimikroba, dan antikanker (Risma dkk., 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Widiyastuti dkk., (2018) menggunakan sampel biji alpukat yang diekstrak menggunakan kloroform dan dilanjutkan fraksinasi metanol dengan metode MTT assay, diperoleh hasil bahwa fraksi metanol biji alpukat berpotensi untuk menginduksi apoptosis dan sebagai antiproliferasi terhadap garis sel MCF-7.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul ‘Uji Sitotoksik Fraksi Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Secara *In Vitro*’ menggunakan metode mikroskopik untuk melihat apoptosis dan MTT assay untuk mengetahui tingkat toksisitas fraksi terhadap sel.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji alpukat, etanol 96%, aluminium foil, kain saring, kertas saring, aquadest waterone, etil asetat, tisu, FeCl₃, HCl 2N, serbuk magnesium, amil alkohol, pereaksi bouchardat, pereaksi dragendorff, pereaksi wagner, biakan sel MCF-7 dalam flask 50, PBS 10%, FBS, Amphotericin B, Pen Strep Penicillin Streptomycin, medium kultur DMEM, tip 1000 µL, tip 100 µL, tip 10 µL, trypsin EDTA, tabung eppendorf, dan trypan blue. Populasi pada penelitian ini adalah biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Sampel dalam penelitian ini adalah fraksi ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan variasi konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm. Adapun tahapan penelitian ini diantaranya:

a. Penyiapan sampel

Sampel penelitian merupakan limbah biji alpukat yang diperoleh dari Pedagang Jus Buah, daerah Pasar Cidu Makassar. Biji alpukat dibersihkan dan dikupas bagian kulit bijinya, kemudian dicuci sampai bersih dan diparut. Selanjutnya, dikering anginkan di dalam ruangan dan setelah kering dihaluskan menggunakan blender kemudian disaring.

b. Pembuatan ekstrak etanol biji alpukat

Biji alpukat diekstrak dengan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak kental biji alpukat. Serbuk biji alpukat ditimbang sebanyak 500 gram dan dimasukkan ke dalam toples kaca. Setelah itu, ditambahkan 1,5 liter etanol 96% hingga simplisia terendam dan didiamkan selama 3×24 jam dengan diaduk 1 kali per hari. Kemudian, disaring menggunakan kain saring dan diremaserasi selama 24 jam. Hasil remaserasi disaring menggunakan kain saring dan disatukan semua filtrat. Setelah itu, disaring kembali menggunakan kertas saring. Hasil saringan kemudian diuapkan menggunakan *rotary* evaporator sampai seluruh pelarut menguap dan dianginkan selama ± 2 hari untuk mendapatkan ekstrak kental.

c. Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol biji alpukat

Ekstrak kental biji alpukat sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 100 mL pelarut air. Selanjutnya, dilakukan pemisahan larutan dengan cara ditambahkan 100 mL etil asetat dan dihomogenkan. Kemudian, didiamkan selama 30-60 menit. Selanjutnya, dipisahkan lapisan yang terbentuk yaitu lapisan atas (etil asetat) dan lapisan bawah (ekstrak-air). Fraksi yang diperoleh diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C dan dianginkan selama 24 jam hingga diperoleh fraksi kental.

d. Uji tanin

Uji senyawa tanin dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL aquadest dan dididihkan selama 15 menit. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat ditambahkan 2 tetes FeCl_3 . Ekstrak positif mengandung senyawa tanin apabila terbentuk warna ungu atau hijau, biru hingga hitam.

e. Uji saponin

Uji senyawa saponin dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL aquadest dan dididihkan selama 5 menit. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat dikocok kuat secara vertikal hingga terdapat busa, selanjutnya ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Ekstrak positif mengandung senyawa saponin apabila busa setinggi ± 1 cm bertahan selama 5 menit.

f. Uji flavonoid

Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan

dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 100 mg serbuk magnesium, 2 mL HCl 2N dan dipanaskan. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat ditambahkan 3 tetes Amil alkohol dan dikocok kuat. Ekstrak positif mengandung senyawa flavonoid apabila timbul warna merah atau kuning atau jingga di lapisan alkohol.

g. Uji alkaloid

Uji senyawa alkaloid dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL aquadest, 1 mL HCl 2N dan dipanaskan selama 2 menit. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat dibagi ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL.

- 1) Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes pereaksi *Bouchardat*. Ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam.
- 2) Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendorff*. Ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk warna merah atau jingga.
- 3) Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes pereaksi *Wagner*. Ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna coklat.

h. Pengenceran fraksi ekstrak etanol biji alpukat

Fraksi air dan etil asetat masing-masing ditimbang sebanyak 0,01 gram dan dilarutkan dalam pelarut DMSO sebanyak 100 μ L dan 900 μ L medium kultur untuk mendapatkan larutan stok dengan konsentrasi 10.000 ppm. Setelah itu, dibuat seri konsentrasi fraksi yang terdiri dari 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, dan 31,25 ppm.

i. Pembuatan medium kultur

Medium kultur dibuat dengan cara dimasukkan 5 mL FBS ke dalam *conical tube*. Setelah itu, ditambahkan 250 μ L antifungi *Amphotericin B* dan 250 μ L antibiotik *Pen Strep Penicillin Streptomycin*. Kemudian, dicukupkan menggunakan DMEM hingga mencapai 50 mL dan dihomogenkan dengan cara dibolak balik.

j. Kultur sel kanker payudara MCF-7

Suspensi sel yang terdapat dalam *flask* dicuci terlebih dahulu dengan cara dibuang medium dan dimasukkan 2 mL PBS steril, digoyangkan bagian dasar dan dibuang PBS, pencucian dilakukan sebanyak 2 kali. Setelah itu, dimasukkan medium DMEM sebanyak 6 mL dan diinkubasi di dalam inkubator CO₂ 5%. Sel dipelihara di

dalam *flask* hingga mencapai pertumbuhan >80% dan diamati di mikroskop. Setelah sel mencapai populasi 80%, dilakukan panen sel dengan cara dicuci menggunakan PBS sebanyak 2 kali, kemudian dimasukkan 500 μL *trypsin* EDTA untuk melepaskan perlekatan sel dari dinding *flask*. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam inkubator suhu 27°C selama 5 menit dan diamati di mikroskop untuk memastikan bahwa sel sudah tidak melekat di dinding dasar *flask*. Setelah itu, ditambahkan medium kultur sebanyak 3 mL dan digoyangkan untuk inaktivasi *trypsin* EDTA dan dipindahkan suspensi sel ke *conical tube* yang baru untuk disentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit. Terbentuk endapan setelah disentrifugasi berwarna putih yang merupakan sel MCF-7, dipindahkan supernatan ke dalam *flask* dan endapan sel MCF-7 ditambahkan 1 mL medium kultur DMEM, dihomogenkan. Terakhir dihitung sel panen dengan cara dipipet suspensi sel sebanyak 10 μL dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*, kemudian ditambahkan 10 μL *Trypan blue* dan dihomogenkan. Setelah itu diambil suspensi sebanyak 10 μL dan dimasukkan ke kamar hitung, dan dihitung sel seperti menghitung leukosit 4 x 16 (4 kotak besar di tepi, 16 kotak kecil di dalamnya). Sel yang dihitung adalah sel hidup yang terlihat seperti bintik bercahaya, karena *Trypan blue* hanya mewarnai sel yang mati atau rusak.

k. Uji sitotoksik dengan metode *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) Assay

Proses penanaman sel pada *well* dilakukan dengan memipet suspensi sel dari 1 mL sebanyak 660 μL dan dimasukkan ke dalam *conical tube*, kemudian ditambahkan 9.840 μL medium kultur DMEM dan dihomogenkan. Selanjutnya, didistribusikan sel ke tiap *well* untuk masing-masing pengujian dan dilakukan secara triplo (15 *well* untuk uji fraksi air, 15 *well* untuk fraksi etil asetat, 3 *well* untuk masing-masing kontrol sel dan kontrol medium). Penanaman sel uji dilakukan untuk 3 waktu (24 jam, 48 jam, dan 72 jam), lalu diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator CO₂ 5% suhu 37°C. Setelah 24 jam, dibuang medium pada *well* dan didistribusikan variasi konsentrasi fraksi ke masing-masing *well* sesuai dengan perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi, selanjutnya diinkubasi di inkubator CO₂ 5%.

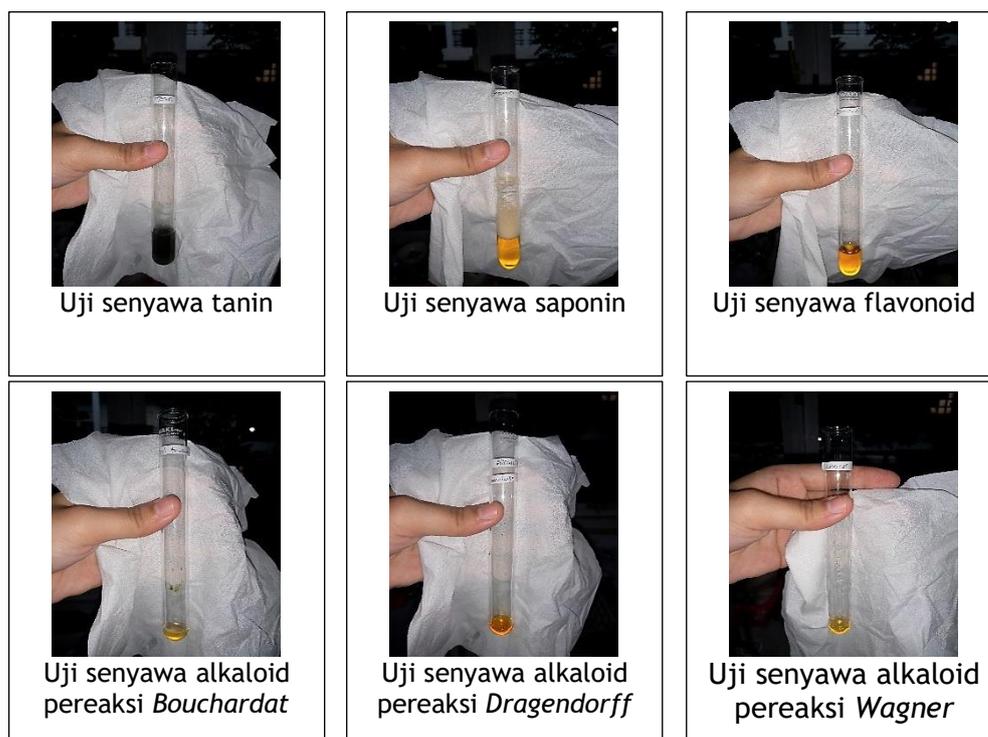
Perlakuan untuk uji 24 jam dicuci sel menggunakan PBS untuk menghilangkan komponen pengganggu, kemudian ditambahkan 100 μL medium kultur untuk menyamaratakan warna, ditambahkan 10 μL reagen MTT assay dan diinkubasi selama 4 jam di inkubator CO₂ 5%. Setelah 4 jam, didokumentasikan formazan yang

terbentuk baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Selanjutnya, ditambahkan 100 μ L SDS 10% untuk menghentikan reaksi formazan, lalu dibungkus *well* menggunakan aluminium foil untuk inkubasi selama 24 jam di suhu ruang. Setelah 24 jam, intensitas warna yang terbentuk diukur menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 620 nm. Data absorbansi yang diperoleh dihitung nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*) dari hasil hambatan proliferasi sel 50% dan tingkat sitotoksik pada sel. Prosedur perlakuan untuk uji 48 jam sama dengan uji 24 jam.

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini bersumber dari data primer yang diperoleh berdasarkan pengamatan terhadap viabilitas sel kanker payudara MCF-7 sebelum dan sesudah perlakuan, baik secara mikroskopik dan pengukuran nilai absorbansi menggunakan *ELISA reader*. Kemudian, dibuat perbandingan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Nilai absorbansi yang diperoleh diolah untuk mengetahui persentase inhibisi kemudian ditentukan nilai IC_{50} menggunakan aplikasi *GraphPad*. Selanjutnya, data disajikan dalam bentuk tabel, gambar, dan dinarasikan.

HASIL

1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Alpukat



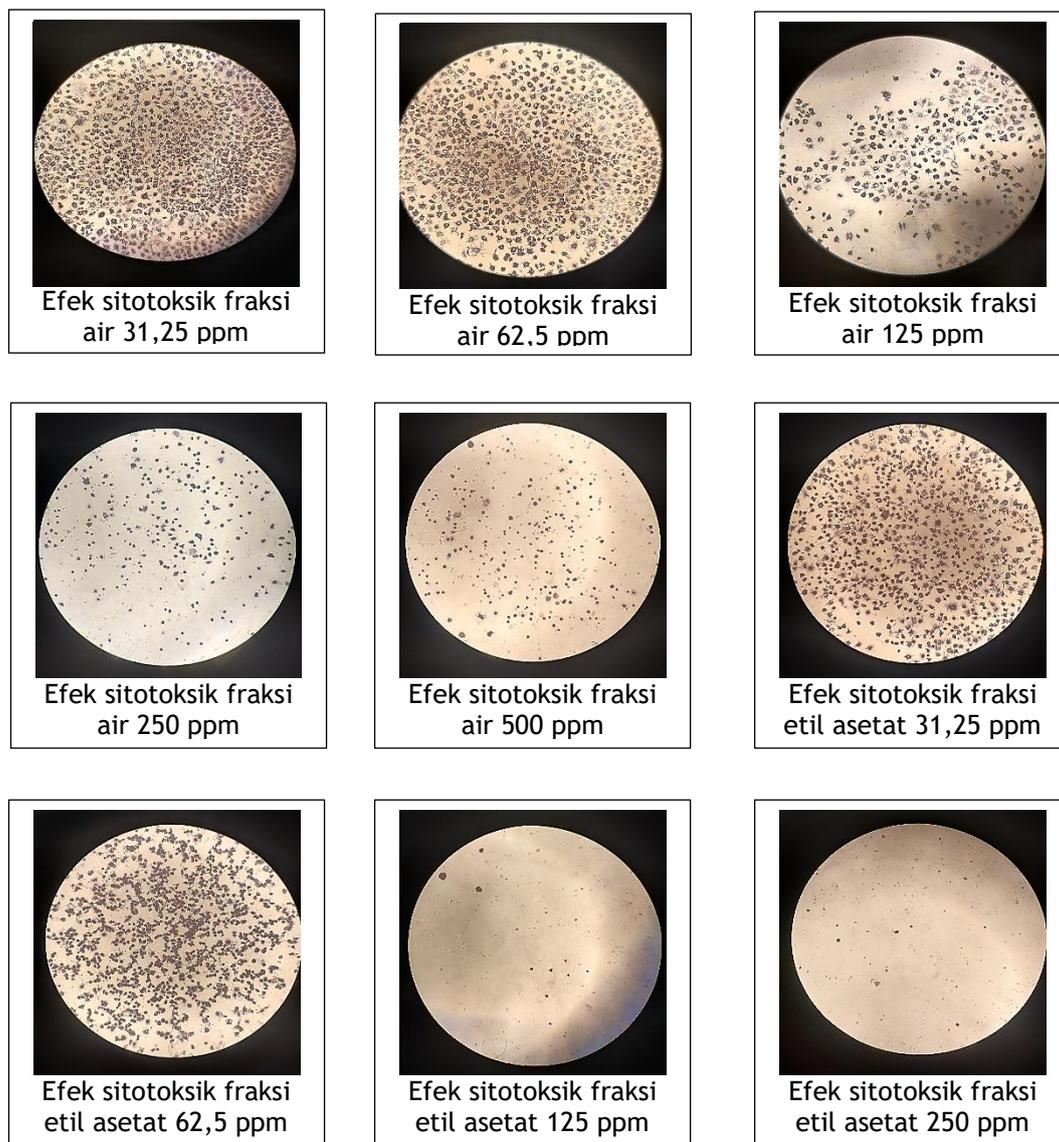
Gambar 1. Hasil Skrining Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Alpukat

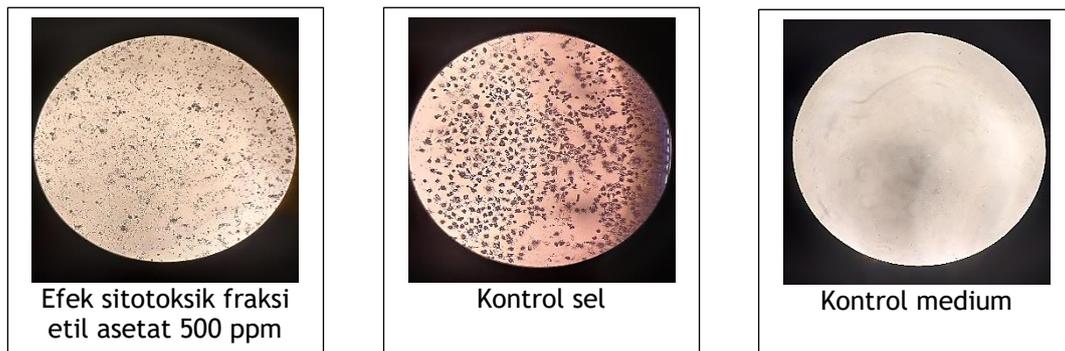
Tabel 1. Hasil Skrining Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Alpukat

Senyawa	Hasil
Tanin	+
Saponin	+
Flavonoid	+
Alkaloid pereaksi <i>Bouchardat</i>	-
Alkaloid pereaksi <i>Dragendorff</i>	-
Alkaloid pereaksi <i>Wagner</i>	-

Berdasarkan Gambar 1. dan Tabel 1., metabolit sekunder yang positif terkandung di dalam biji alpukat setelah dilakukan skrining fitokimia diantaranya senyawa tanin karena terjadi perubahan warna menjadi hitam, senyawa saponin karena busa tidak hilang selama 5 menit setelah ditambahkan pereaksi, dan senyawa flavonoid karena timbul warna merah pada lapisan alkohol. Sedangkan pada uji alkaloid menggunakan pereaksi *Bouchardat*, *Dragendorff*, dan *Wagner* didapatkan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna.

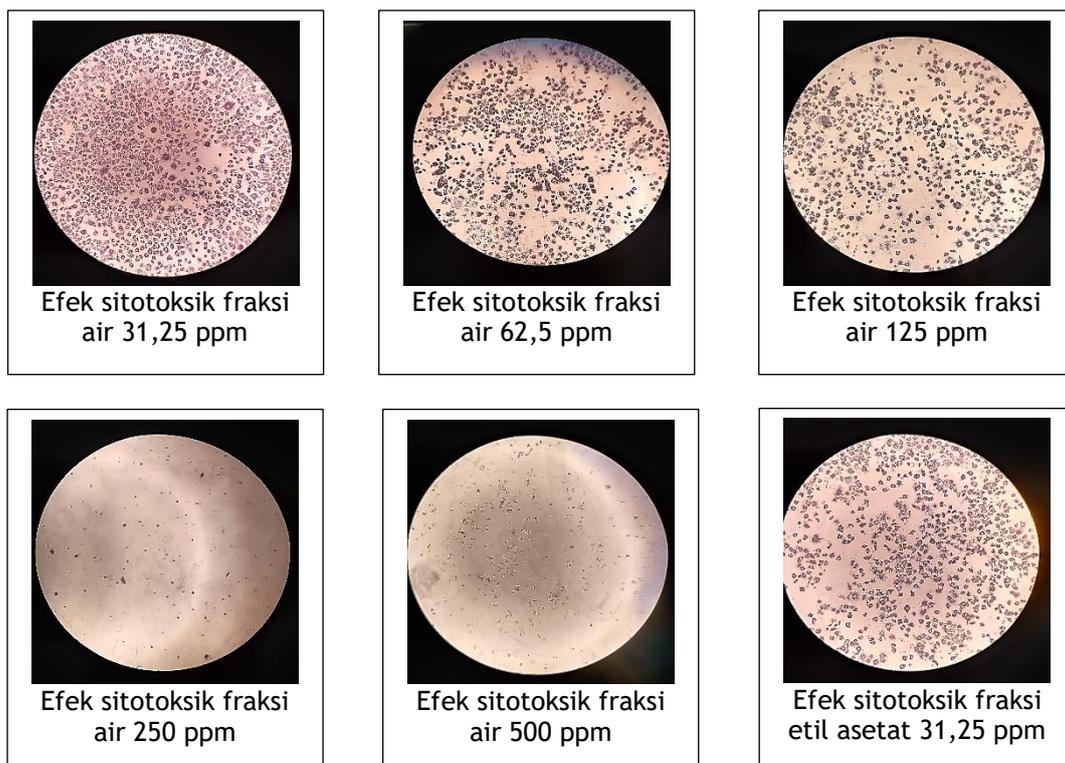
2. Hasil Uji Mikroskopik Sel MCF-7

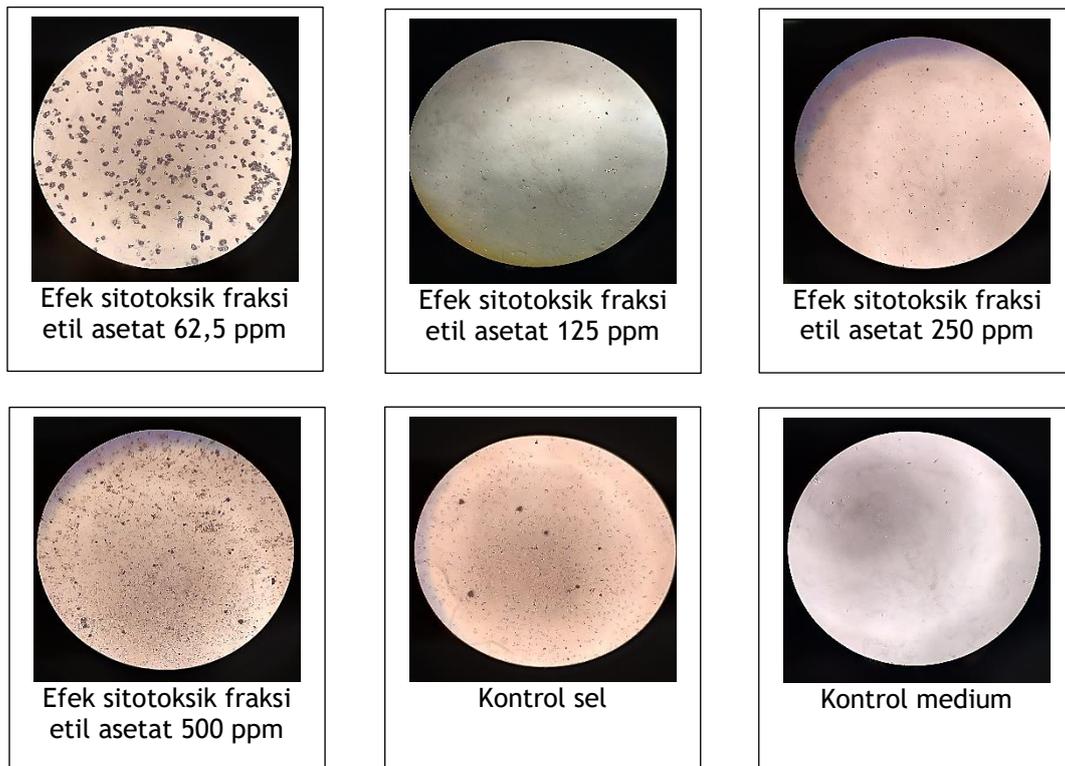




Gambar 2. Hasil Pengamatan Viabilitas Sel MCF-7 untuk Uji 24 Jam

Berdasarkan Gambar 2. untuk uji 24 jam, fraksi air yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm dimana formazan yang terbentuk sangat banyak, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 500 ppm dimana hanya sedikit formazan yang terbentuk. Fraksi etil asetat yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 125 ppm.





Gambar 3. Hasil Pengamatan Viabilitas Sel MCF-7 untuk Uji 48 Jam

Berdasarkan Gambar 3. untuk uji 48 jam, fraksi air yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 500 ppm. Fraksi etil asetat yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 250 ppm

3. Persentase Inhibisi Fraksi

Tabel 2. Persentase Inhibisi Fraksi Air Selama 24 Jam

Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			Mean
	I	II	III	
31,25	-150	-150	-73	-124
62,5	-154	-140	-70	-121
125	-33	-139	-52	-75
250	46	56	65	55
500	69	80	83	77

Berdasarkan Tabel 2., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi air selama 24 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -124, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 500 ppm yaitu sebanyak 77%.

Tabel 3. Persentase Inhibisi Fraksi Etil Asetat Selama 24 Jam

Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			Mean
	I	II	III	
31,25	-32	-83	-49	-54
62,5	2	-17	39	8
125	98	94	99	97
250	95	94	96	95
500	57	-8	33	28

Berdasarkan Tabel 3., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi etil asetat selama 24 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -54, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 125 ppm yaitu sebanyak 97%.

Tabel 4. Persentase Inhibisi Fraksi Air Selama 48 Jam

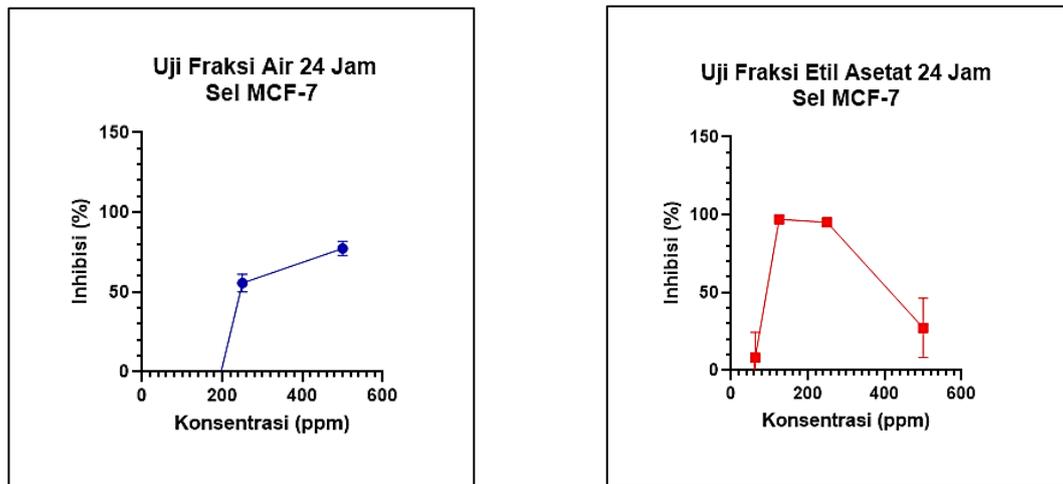
Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			Mean
	I	II	III	
31,25	-97	-146	-117	-120
62,5	-107	-122	-92	-107
125	-94	-93	-84	-90
250	91	101	93	95
500	94	102	96	97

Berdasarkan Tabel 4., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi air selama 48 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -120, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 500 ppm yaitu sebanyak 97%.

Tabel 5. Persentase Inhibisi Fraksi Etil Asetat Selama 48 Jam

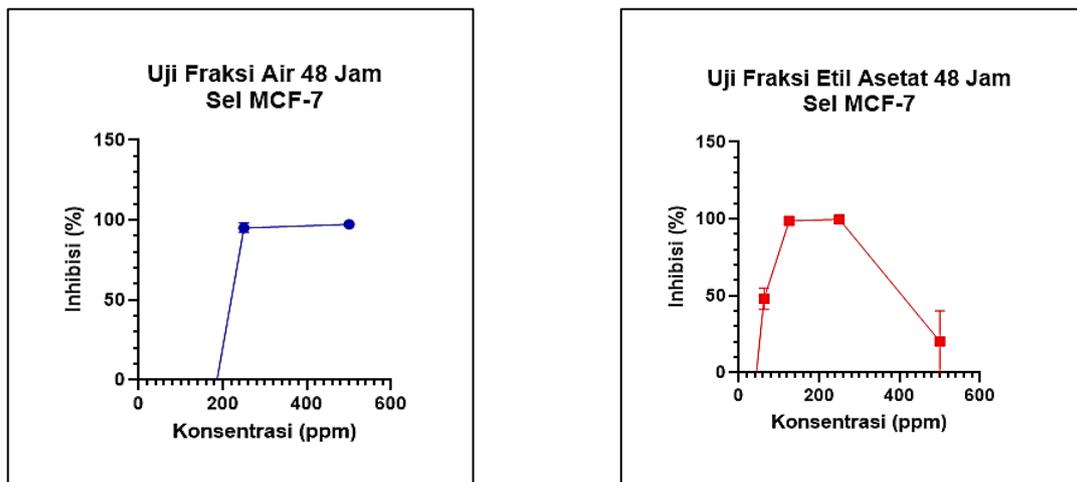
Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			Mean
	I	II	III	
31,25	-33	-66	5	-31
62,5	43	39	62	48
125	97	100	99	99
250	96	100	103	100
500	4	-3	60	20

Berdasarkan Tabel 5., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi etil asetat selama 48 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 250 ppm yaitu sebanyak 97%.



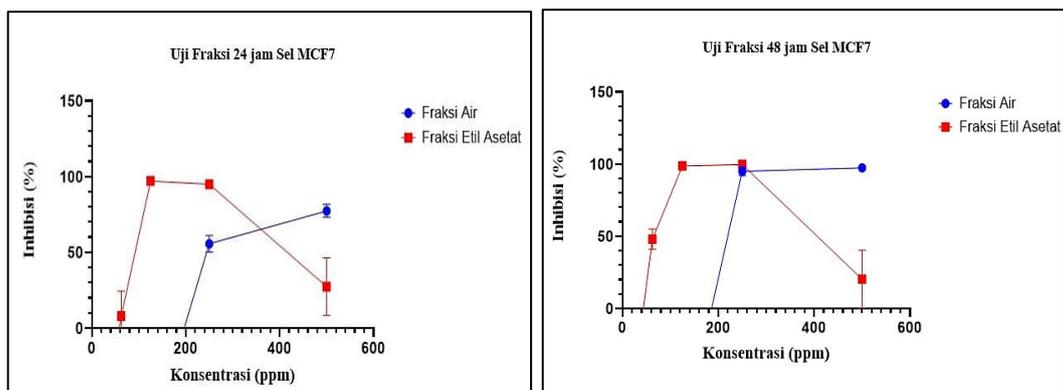
Gambar 4. Grafik Persentase Inhibisi Fraksi Air dan Etil Asetat Selama 24 Jam

Berdasarkan Gambar 4., dapat diketahui bahwa pada fraksi air semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persentase inhibisinya, namun tidak demikian dengan fraksi etil asetat. Nilai IC_{50} yang diperoleh pada fraksi air yaitu $232,466 \pm 9,134$ ppm sedangkan pada fraksi etil asetat $108,497 \pm 21,835$ ppm.



Gambar 5. Grafik Persentase Inhibisi Fraksi Air dan Etil Asetat Selama 48 Jam

Berdasarkan Gambar 5., dapat diketahui bahwa pada fraksi air semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persentase inhibisinya, namun tidak demikian dengan fraksi etil asetat. Nilai IC_{50} yang diperoleh pada fraksi air yaitu $209,684 \pm 3,357$ ppm sedangkan pada fraksi etil asetat $75,926 \pm 18,686$ ppm.



Gambar 6. Grafik Perbandingan Persentase Inhibisi Fraksi Air dan Etil Asetat Selama 24 dan 48 Jam

Berdasarkan Gambar 6., dapat dilihat bahwa fraksi etil asetat memiliki persentase inhibisi yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi air, baik selama inkubasi 24 jam maupun 48 jam.

DISKUSI

Skринing senyawa metabolit sekunder ekstrak biji alpukat dilakukan 4 jenis uji yaitu uji tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid yang menggunakan 3 jenis pereaksi diantaranya *Bouchardat*, *Dragendorff*, dan *Wagner*. Uji senyawa tanin dilakukan menggunakan FeCl_3 dengan hasil positif karena terjadi perubahan warna menjadi hitam. Hal ini dikarenakan tanin termasuk golongan polifenol dengan gugus OH, dimana akan berikatan dengan FeCl_3 dan membentuk Fe fenolik berwarna gelap (Amelia, 2015). Uji senyawa saponin dilakukan menggunakan HCl 2N dengan hasil positif karena terdapat busa setinggi ± 1 cm bertahan selama 5 menit. Hal ini disebabkan saponin memiliki struktur glikosida dengan senyawa sapogenin nonpolar dan rantai polar, dimana ketika dikocok rantai polar menghadap ke luar sedangkan sapogenin nonpolar menghadap ke dalam sehingga terlihat seperti busa (Hanifa dkk., 2021).

Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan serbuk magnesium, HCl 2N, dan Amil alkohol dengan hasil positif yang ditandai dengan timbul warna merah di lapisan alkohol dikarenakan flavonoid mempunyai inti α -benzopyron, dimana penambahan HCl akan menginduksi protonasi yang membentuk garam flavonoid berwarna merah (Fadiyah dkk., 2019). Uji senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan HCl 2N, filtrat dibagi ke dalam 3 tabung yang masing-masing ditambahkan pereaksi yang berbeda. Penambahan pereaksi *Bouchardat* didapatkan

hasil negatif alkaloid karena tidak terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, penambahan pereaksi *Dragendorff* didapatkan hasil negatif karena tidak terbentuk warna merah atau jingga, dan penambahan pereaksi *Wagner* didapatkan hasil negatif karena tidak terbentuk endapan berwarna coklat.

Hasil diperoleh setelah uji selama 24 jam yaitu secara mikroskopik dan analisis nilai absorbansi serta persentase inhibisi untuk mendapatkan nilai IC_{50} . Secara mikroskopik, selama inkubasi 24 jam fraksi air dengan konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, dan 125 ppm belum memiliki efek penghambatan terhadap sel MCF-7. Konsentrasi 250 sudah memiliki efek penghambatan yang ditandai sel sudah tidak terhubung satu sama lain dan pada konsentrasi 500 ppm fraksi air paling baik memberikan efek penghambatan yang ditandai dengan lisis sel. Sedangkan fraksi etil asetat dengan konsentrasi 31,25 ppm dan 62,5 ppm belum terlihat efek penghambatan sel karena sel masih terhubung satu sama lain. Pada konsentrasi 125 ppm dan 250 ppm sel mengalami kematian yang signifikan, sedangkan pada konsentrasi 500 ppm terdapat banyak flek hitam yang dapat dipicu karena adanya ikatan senyawa fraksi dengan komponen sel hingga terjadi penumpukan flek.

Persentase inhibisi terendah pada fraksi air terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -124% dan tertinggi terdapat pada konsentrasi 500 ppm yaitu 77%. Artinya setelah pemberian fraksi konsentrasi 500 ppm, viabilitas sel sangat menurun ditandai dengan persentase inhibisi yang tinggi. Sedangkan pada konsentrasi 31,25 ppm, sel masih dapat bertahan hidup yang ditandai dengan persentase inhibisi yang rendah. Persentase inhibisi terendah pada fraksi etil asetat terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -54% dan tertinggi terdapat pada konsentrasi 125 ppm yaitu 97%. Fraksi etil asetat dapat merusak sel MCF-7 maksimal pada konsentrasi 125 ppm selama inkubasi 24 jam dikarenakan pada konsentrasi 250 dan 500 ppm persentase inhibisi mengalami penurunan.

Setelah dilakukan uji selama 48 jam diperoleh hasil secara mikroskopik dan analisis persentase inhibisi. Secara mikroskopik, fraksi air pada konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, dan 125 ppm belum terlihat efek penghambatan yang signifikan. Konsentrasi 250 dan 500 ppm menghambat pertumbuhan sel secara signifikan karena sudah tidak terlihat lagi sel-sel yang saling terhubung. Sedangkan hasil mikroskopik fraksi etil asetat dapat diamati pada konsentrasi 31,25 ppm memiliki efek penghambatan yang sangat kecil, namun pada konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, dan

250 ppm mampu melisiskan sel sehingga didapatkan persentase inhibisi yang tinggi, pengamatan pada konsentrasi 500 ppm terlihat banyak flek hitam. Selanjutnya setelah pembacaan absorbansi dan analisis persentase inhibisi diperoleh nilai terendah fraksi air pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -120% dan tertinggi pada konsentrasi 500 ppm yaitu 97%. Fraksi etil asetat memiliki persentase inhibisi terendah pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -31 sedangkan tertinggi pada konsentrasi 250 ppm yaitu 100%.

Lama waktu pemberian fraksi dan besaran konsentrasi mempengaruhi persentase inhibisi terhadap viabilitas sel. Semakin lama waktu pemberian fraksi dan semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi persentase inhibisi sehingga viabilitas sel menurun. Selama 24 jam pada fraksi air menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka persentase inhibisi fraksi semakin meningkat, sedangkan pada fraksi etil asetat tidak sejalan dengan pernyataan tersebut. Etil asetat memiliki batas konsentrasi maksimal penghambatan sel pada masa inkubasi 24 jam yaitu pada 125 ppm, karena pemberian fraksi pada konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm menunjukkan persentase inhibisi menurun.

Selama 48 jam pada fraksi air menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka persentase inhibisi fraksi semakin meningkat, sedangkan pada fraksi etil asetat tidak sejalan dengan pernyataan tersebut. Etil asetat memiliki batas konsentrasi maksimal penghambatan sel pada masa inkubasi 48 jam yaitu pada 250 ppm, karena pemberian fraksi pada konsentrasi 500 ppm menunjukkan penurunan persentase inhibisi yang sangat signifikan. Hal ini dikarenakan konsentrasi etil asetat yang sangat tinggi dapat merubah tekanan osmotik sehingga terjadi lisis sel. Selain itu, etil asetat dengan konsentrasi yang sangat tinggi juga dapat langsung membunuh sel sehingga tidak ada sel yang cukup untuk uji penghambatan.

Sifat sitotoksik suatu senyawa dapat dinyatakan dalam nilai IC_{50} yang digolongkan ke dalam beberapa kategori, diantaranya memiliki efek sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, 50-100 ppm kategori kuat, 100-150 ppm kategori sedang, 150-200 ppm kategori lemah, dan > 500 ppm kategori sangat lemah (Pratiwi dkk., 2023). Berdasarkan kategori tersebut, fraksi air biji alpukat memiliki efek penghambatan yang lemah karena diperoleh nilai IC_{50} yaitu $232,466 \pm 9,134$ ppm untuk 24 jam dan $209,684 \pm 3,357$ ppm untuk 48 jam. Sedangkan fraksi etil asetat biji alpukat memiliki efek penghambatan yang sedang karena diperoleh nilai IC_{50} yaitu $108,497 \pm 21,835$

untuk 24 jam dan $75,926 \pm 18,686$ ppm untuk 48 jam menunjukkan efek penghambatan yang kuat. Hasil ini sejalan dengan penelitian Dabas dkk., (2019) menggunakan sampel biji alpukat terhadap sel kanker payudara MCF-7 yang menyatakan bahwa ekstrak biji alpukat mampu menghambat perkembangan sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} 132,2 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Abubakar dkk., (2016) menggunakan sampel biji alpukat terhadap sel kanker payudara MCF7 diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol biji alpukat memiliki kemampuan antiproliferasi sel dengan nilai IC_{50} 62 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan penelitian terdahulu, dapat dinyatakan bahwa fraksi air dan etil asetat ekstrak etanol biji alpukat memiliki efek penghambatan terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} paling baik pada fraksi etil asetat yaitu $108,497 \pm 21,835$ ppm menunjukkan efek sitotoksik kategori sedang pada masa inkubasi 24 jam dan IC_{50} $75,926 \pm 18,686$ ppm pada masa inkubasi 48 jam menunjukkan efek sitotoksik yang kuat. Fraksi ekstrak etanol biji alpukat berpotensi sebagai agen antikanker payudara MCF-7.

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat memiliki kemampuan penghambatan perkembangan sel MCF-7 paling baik dibandingkan dengan fraksi air, selama inkubasi 24 jam pada konsentrasi 125 ppm dengan nilai IC_{50} $108,497 \pm 21,835$ ppm menunjukkan efek sitotoksik yang sedang dan dalam masa inkubasi 48 jam pada konsentrasi 250 ppm dengan nilai IC_{50} $0,06 75,926 \pm 18,686$ ppm menunjukkan efek sitotoksik yang kuat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Melalui kesempatan ini, peneliti mengucapkan rasa hormat serta terima kasih yang setinggi-tingginya terkhusus kepada kedua orang tua peneliti yang tak hentinya memberikan do'a, semangat, dan dukungan kepada peneliti baik dari segi moril maupun materil.

1. Hijral Aswad, S.Si., M.Kes, selaku Pembimbing penelitian di HUM-RC.
2. Laboran Universitas Megarezky dan Laboran Universitas Almarisah Madani yang telah mengarahkan saat proses penelitian.
3. Pihak-pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa peneliti sebutkan satu per satu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan baik dalam proses penelitian maupun penyusunan naskah ini. Penelitian ini murni dilakukan untuk mencari dan menguji tanaman herbal sebagai agen antikanker agar pengobatan herbal semakin bervariasi. Penelitian ini belum pernah dipublikasikan di media manapun.

REFRENSI

- Abubakar, A. N. F., Achmadi, S. S., & Suparto, I. H. (2016). *Triterpenoid of Avocado (Persea americana) Seed and its Cytotoxic Activity Toward Breast MCF-7 and Liver HepG2 Cancer Cells. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8-14.
- Agustina, L., Yuliani, B., & Bahrul, I. (2020). *Study Fenomenologi: Psikologis Pasien Kanker Yang Menjalani Kemoterapi. Jurnal Keperawatan Suaka Insan (JKSI)*, 5(1), 52-66.
- Ambarwati, R., & Rustiani, E. (2022). *Formulasi dan Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Biji Alpukat (Persea Americana Mill) Dengan Polimer Plga. Majalah Farmasetika*, 7(4), 305-313.
- Amelia, F. R. (2015). *Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda (Lagerstroemia speciosa Pers.) Secara Spektrofotometri dan Permanganometri. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 4(2), 1-20.
- Dabas, D., Elias, R. J., Ziegler, G. R., & Lambert, J. (2019). *In Vitro Antioxidant and Cancer Inhibitory Activity of a Colored Avocado Seed Extract. International Journal of Food Science*, 1-7.
- Fadiyah, I., Lestari, I., Victory, S., & Mahardika, R. G. (2019). *Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Maserasi Buah Rukam (Flacourtia Rukam). Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 1(1), 14-19.
- GLOBOCAN. (2020). *Cancer Incidence in Indonesia. International Agency for Research on Cancer*, 1-2.
- GLOBOCAN. (2020). *Cancer Incidence in the World. International Agency for Research on Cancer*, 1-2.
- Hanifa, N. I., Wirasisya, D. G., Muliani, A. E., & Utami, S. B. (2021). *Phytochemical Screening of Decoration and Ethanolic Extract of Amomum dealbatum Roxb. Leaves. Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 510-518.
- Kopon, A. M., Baunsele, A. B., & Boelan, E. G. (2020). *Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (Persea Americana Mill.) Asal Pulau Timor. Akta Kimia Indonesia*, 5(1), 43-52.
- Kusmardika, D. A. (2020). *Potensi Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (Moringa Oleifra)*

Dalam Mencegah Kanker. *Jurnal Stikes Siti Hajar*, 2(1), 46-50.

Prasetyo, D. Y., & Suprayitno, E. (2021). Faktor Kualitas Hidup Pasien Kanker. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 9(2), 322-333.

Pratiwi, A. R., Yusran., Islawati., & Artati (2023). Analisis Kadar Antioksidan pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*. *Jurnal Biologi Makassar*, 8(2), 65-74.

Risma, W. O., Abidin, Z., & Rahmawati. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmaceutical Science Journal*, 1(3), 216-223.

Widiyastuti, Y., Pratiwi, R., Riyanto, S., & Wahyuono, S. (2018). *Cytotoxic Activity and Apoptosis Induction of Avocado Persea americana Mill. Seed Extract on MCF-7 Cancer Cell Line*. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 23(2), 61-67.