

Efektivitas Enkapsulasi Nano Kitosan Serai Dapur dalam Meningkatkan Depolarisasi Mitokondria pada Sel Kanker HSC-3

Komariah^{a,1*}, Jenyfer Ignatia Moksidy^{b,2}, Didi Nugroho^{a,3}, Dewi Ranggaini^{c,4}, Rezky Anggraeni⁵, Johni Halim⁶

^a Program Studi Magister Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, DKI Jakarta, Indonesia

^b Program Studi Profesi Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, DKI Jakarta, Indonesia

^c Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, DKI Jakarta, Indonesia

¹ komariah@trisakti.ac.id, ² jenifer.moksidy@yahoo.com, ³ didi.nugroho@trisakti.ac.id, ⁴ monica@trisakti.ac.id,

⁵ rezkyanggraeni@trisakti.ac.id, ⁶ johnihalim@trisakti.ac.id

*email komariah@trisakti.ac.id

Kata kunci:

Potensi membran mitokondria; HSC-3; Daun serai dapur; Kitosan; Enkapsulasi

ABSTRAK

Kanker mulut menempati peringkat ke-12 jenis kanker di dunia, dengan prevalensi sekitar 25%-40% terletak di tepi lateral dan bagian bawah lidah. Terapi konvensional sering kali menimbulkan efek samping yang merusak sel normal, sehingga mendorong penggunaan alternatif bahan alami yang lebih aman, seperti *Cymbopogon citratus* (serai dapur). Senyawa aktif dalam daun serai dapur dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), yang memicu apoptosis melalui depolarisasi potensi membran mitokondria (MMP). Untuk meningkatkan stabilitas senyawa aktif tersebut, dilakukan enkapsulasi dengan kitosan yang dimodifikasi menjadi nanopartikel guna meningkatkan difusi melalui membran sel, sehingga efektivitasnya sebagai agen antikanker meningkat. Tujuan penelitian untuk mengetahui efektivitas enkapsulasi kitosan serai dapur dalam meningkatkan depolarisasi mitokondria sel HSC-3. Penelitian terbagi menjadi kontrol negatif, kontrol positif (doksorubisin), nano kitosan, ekstrak serai dapur, dan lima kelompok perlakuan dengan berbagai konsentrasi enkapsulasi (100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5%). Depolarisasi MMP dilakukan dengan probe JC-1 dan DAPI yang diamati intensitas fluoresensi merah dan biru menggunakan mikroskop **fluoresensi**. Analisis data menggunakan *one way ANOVA* untuk melihat signifikan diantara kelompok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enkapsulasi nano kitosan ekstrak serai dapur meningkatkan depolarisasi MMP secara signifikan dibandingkan kontrol. Efek depolarisasi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi enkapsulasi, dengan intensitas fluoresensi merah terendah pada konsentrasi 100%, yang menunjukkan tingkat depolarisasi tertinggi pada sel HSC-3. Enkapsulasi nano kitosan dan ekstrak serai dapur efektif meningkatkan depolarisasi MMP dan apoptosis sel kanker, membuka peluang terapi kanker mulut alami yang aman, efektif, dan ramah lingkungan.

Key word:

Mitochondrial membrane potential; HSC-3; Lemongrass; Chitosan; Encapsulation.

ABSTRACT

Oral cancer ranks 12th among the most common types of cancer worldwide, with a prevalence of approximately 25%-40% occurring on the lateral borders and the underside of the tongue. Conventional therapies often cause side effects that damage normal cells, prompting the use of safer natural alternatives, such as *Cymbopogon citratus* (lemongrass). The active compounds in lemongrass leaves can enhance the production of reactive oxygen species (ROS), which trigger apoptosis through the depolarization of mitochondrial membrane potential (MMP). To improve the stability of these active compounds, they are encapsulated with chitosan, which is modified into nanoparticles to enhance diffusion through cell membranes, thereby increasing their effectiveness as anticancer agents. This study involved nine groups, including a negative control, a positive control (doxorubicin), nano chitosan, lemongrass extract, and five treatment groups with various encapsulation concentrations (100%, 75%, 50%, 25%, and 12.5%). The results showed that nano chitosan encapsulation of

lemongrass extract significantly increased MMP depolarization compared to the control. The depolarization effect increased with higher encapsulation concentrations, with the lowest red fluorescence intensity observed at the 100% concentration, indicating the highest level of depolarization in HSC-3 cells.

Pendahuluan

Kanker mulut merupakan salah satu jenis kanker yang banyak ditemukan di seluruh dunia. Kanker mulut menempati urutan ke-12 dari insiden kanker yang paling sering terjadi secara global (Amtha et al., 2022). Kanker lidah menjadi salah satu yang paling banyak ditemukan, dengan predileksi sekitar 25% hingga 40% dari kasus kanker mulut (Lathifa dkk., 2021). Kanker lidah sering kali terjadi di tepi lateral dan bagian bawah lidah, yang merupakan area-area yang rentan terhadap iritasi kronis, baik dari kebiasaan merokok, konsumsi alkohol, maupun trauma mekanis (Suharto 2018). Penyakit ini memiliki dampak signifikan terhadap kualitas hidup penderita, terutama terkait dengan fungsi bicara, makan, dan menelan (Prasetyo dan Suprayitno, 2021).

Terapi konvensional seperti pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi meskipun telah banyak digunakan untuk mengobati kanker mulut, namun terapi ini sering kali disertai dengan efek samping yang tidak diinginkan (Fitriatuzzakiyyah dkk., 2017). Kemoterapi bekerja dengan membunuh sel-sel yang memiliki tingkat proliferasi tinggi, termasuk sel-sel kanker (Elisya dkk., 2022). Namun, dalam proses ini, sel-sel normal dengan tingkat pertumbuhan yang tinggi (Firdaus dan Susilowati, 2023), seperti sel-sel di folikel rambut, mukosa saluran pencernaan, dan sumsum tulang (Susilowati 2023), sehingga menyebabkan efek samping seperti kerontokan rambut, mual, muntah, dan anemia (Huzaifah dkk., 2023). Kondisi tersebut tidak hanya menurunkan kualitas hidup pasien, tetapi juga dapat menghambat keberhasilan terapi jangka panjang (Dewi 2020). Oleh karena itu, kebutuhan akan pengembangan terapi yang lebih aman dan lebih selektif serta efektif sangat penting untuk mengurangi penyakit ini di masyarakat. Salah satu pendekatan yang kini menjadi fokus penelitian adalah pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif atau pelengkap dalam pengobatan kanker, seperti serai dapur (*Cymbopogon citratus*). Serai dapur secara tradisional digunakan sebagai bumbu dapur dan obat herbal, namun penelitian terbaru menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi besar dalam pengobatan kanker (Felicia dkk., 2022).

Cymbopogon citratus atau dikenal juga dengan lemongrass mengandung berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, terpenoid, dan fenolik (Irfan Fadhlurrohman dkk., 2023), senyawa ini mampu menginduksi produksi *reactive oxygen species* (ROS) di dalam sel kanker (Fitriansyah dkk., 2023). ROS yang terbentuk dalam jumlah berlebihan dapat merusak organel sel, terutama mitokondria, yang berujung pada depolarisasi potensi membran mitokondria (mitochondrial membrane potential atau MMP) dan memicu jalur apoptosis sel kanker (Zalukhu dkk., 2016). Apoptosis, atau penghancuran sel secara terprogram, merupakan mekanisme mendasar dalam mengendalikan perkembangan sel kanker (Agustin 2020), dan penggunaan bahan alami yang dapat memicu apoptosis dianggap sebagai pendekatan yang aman dan efektif dalam pengobatan kanker.

C. citratus meskipun memiliki potensi sebagai antikanker yang menjanjikan, namun terdapat tantangan utama dalam aplikasinya yaitu stabilitas senyawa aktifnya. Senyawa aktif dari tumbuhan sering kali memiliki stabilitas yang rendah, terutama dalam sistem biologis manusia, yang dapat mengurangi efektivitasnya sebagai agen terapeutik. Untuk mengatasi masalah tersebut, diperlukan teknologi enkapsulasi yang telah dikembangkan untuk meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas senyawa aktif dari bahan alam. Enkapsulasi menggunakan polimer alami seperti kitosan telah terbukti efektif dalam meningkatkan stabilitas senyawa aktif melalui pembentukan matriks pelindung yang dapat melindungi senyawa dari degradasi enzimatik atau faktor lingkungan lainnya (Veronica dkk., 2021).

Kitosan adalah polimer alami yang diperoleh dari kitin, zat utama yang ditemukan pada cangkang krustasea, jamur dan serangga. Kitosan memiliki sifat biokompatibel, biodegradable, dan non-toksik, yang menjadikannya bahan pilihan dalam teknologi enkapsulasi. Selain itu, kitosan juga memiliki kemampuan untuk membentuk nanopartikel, yang memungkinkan peningkatan penetrasi dan distribusi senyawa aktif melalui membran sel (Komariah dkk., 2023). Modifikasi enkapsulasi ekstrak daun serai dapur menjadi nanopartikel kitosan secara fisik dapat meningkatkan efektivitasnya

sebagai agen antikanker dengan cara meningkatkan kemampuan difusi senyawa aktif ke dalam sel kanker. (Timothy dkk., 2023). Selain itu, enkapsulasi dengan kitosan juga dapat memfasilitasi pelepasan senyawa aktif secara terkendali.

Pada penelitian sebelumnya secara *in vitro* menunjukkan ekstrak daun serai dapur tidak berifat toksik serta mampu meningkatkan daya proliferasi dan migrasi fibroblas (Fitria dkk., 2022), selain itu hasil enkapsulasi ekstrak daun serai dapur dengan kitosan kumbang tanduk terbukti tidak bersifat toksik pada fibroblas (Erica dkk., 2023), serta mampu meningkatkan proliferasi dan daya migrasi fibroblas (Komariah dkk., 2023). Penelitian lain pada sel kanker HSC-3 menunjukkan bahwa ekstrak daun serai dapur dapat meningkatkan sitotoksitas serta mengurangi perkembangan dan invasi sel kanker HSC-3 (Felicia et al., 2022), serta penggunaan kitosan sebagai pengenkapsulasi ekstrak daun serai mampu meningkatkan produksi ROS sel HSC-3 (Andikoputri dkk., 2021). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa enkapsulasi ekstrak daun serai dapat meningkatkan produksi ROS pada sel HSC-3, namun pengaruhnya terhadap gangguan keseimbangan potensial membran mitokondria pada sel kanker HSC-3 belum pernah diteliti. Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh enkapsulasi ekstrak daun serai dapur dengan kitosan kumbang tanduk terhadap depolarisasi potensi membran mitokondria pada sel kanker mulut.

Metode

Kitosan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari kumbang tanduk dengan jenis *Xylotrupes gideon*. *X. gideon* berasal dari Kota Bogor, Jawa Barat. Pembuatan kitosan melalui beberapa tahapan, yaitu demineralisasi, proteinisasi, dekolorisasi, dan deasetilasi (Komariah 2012). Sementara itu, daun serai dapur yang digunakan diperoleh dari Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Rempah, Obat dan Aromatik (BPSI TROA), Parung, Bogor, Jawa Barat. Daun serai yang dipanen pada usia 3 bulan, kemudian dikeringkan selama 14 hari dibawah sinar matahari secara tidak langsung. Setelah proses pengeringan, daun serai diekstraksi menggunakan metode dingin maserasi. Hingga terbentuk ekstrak berupa cairan kental. Penelitian ini juga telah mendapatkan persetujuan etik dengan nomor surat: 042/S3/KEPK/FKG/12/2023.

Ekstraksi Daun Serai Dapur dengan Metode Maserasi

Simplisia daun serai dapur diekstraksi mengadopsi teknik maserasi dengan cara merendam sampel dalam larutan etanol 70% dengan rasio 1:10 selama 72 jam pada suhu ruang. Selama proses tersebut, sampel dikocok secara manual selama 15 menit setiap 8 jam dan dilakukan secara konsisten selama tiga hari. Cairan hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman untuk memisahkan residu dari larutan. Pelarut etanol kemudian diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 50-60°C hingga dihasilkan ekstrak daun serai dapur berupa cairan pekat (Fitria dkk., 2022).

Pembuatan Enkapsulasi Nano Kitosan Ekstrak Daun Serai

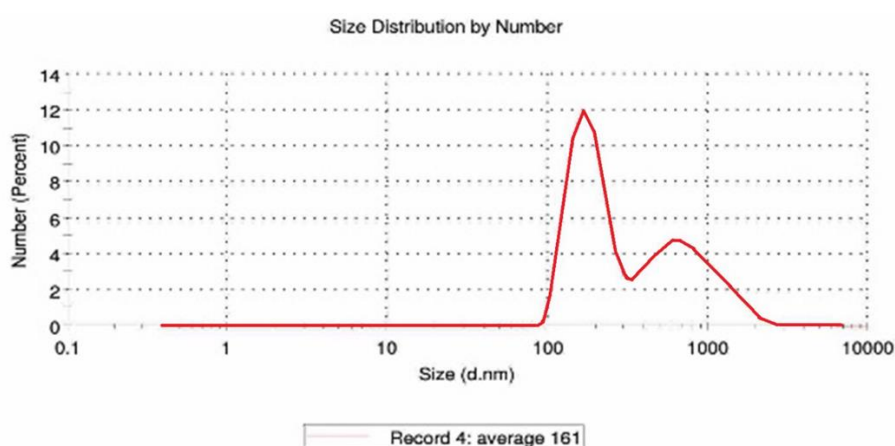
Kitosan *X. gideon* dengan derajat deasetilasi sebesar 83% dan berat 0,3 gram dilarutkan dalam larutan asam asetat 1% (Merck, Jerman) (Veronica dkk., 2021). Sebanyak 2 gram serai dilarutkan dalam 10 mL air destilasi (Andikoputri dkk., 2021). 150 mL larutan ekstrak serai diaduk bersama 300 mL larutan kitosan menggunakan magnetic stirrer (IKATM RH basic 2, Jerman) pada suhu 40°C dan kecepatan 2500 rpm selama 20 menit. Pengadukan kemudian dilanjutkan tanpa pemanasan selama 100 menit. Selanjutnya, 40 mL larutan tripolifosfat 0,1% (Sigma-Aldrich, Amerika) diteteskan tetes demi tetes secara perlahan sambil diaduk, kemudian pengadukan dilanjut selama satu jam pada kecepatan 2500 rpm. 0,1 mL larutan tween 80 (Merck, Prancis) dengan konsentrasi 0,1% ditambahkan dan campuran diaduk pada kecepatan 2500 rpm selama 30 menit (Veronica et al., 2021). Serum enkapsulasi nanokitosan ekstrak daun serai dapur dilakukan pengujian ukuran partikel menggunakan uji Particle Size Analyzer (PSA) (Komariah dkk., 2023).

Uji Fluoresensi Potensial Membran Mitokondria (MMP) pada Sel Kanker Lidah HSC-3

Terdapat sembilan kelompok penelitian yaitu doksorubisin (kontrol positif), tanpa perlakuan (kontrol negatif), ekstrak daun serai dapur, nano kitosan, serta kelompok perlakuan dengan enkapsulasi kitosan ekstrak daun serai dapur (EKEDSD) pada konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5%. Pewarna digunakan berupa bubuk MitoProbe JC-1 assay kit (JC-1). (Thermo Fisher Scientific Inc, U.S.) dan Dimethyl sulfoxide (DMSO)(Merck KgaA, Jerman) ditempatkan pada suhu kamar. Kedua bahan kemudian dicampur hingga larut, dan menghasilkan larutan stok dengan konsentrasi 100x. Kemudian, sel HSC-3 dikultur dalam medium pada suhu 37°C dengan paparan 5% CO₂, hingga sel mencapai konfluensi (confluency). Sel HSC-3 dari media kultur diambil dan dicampur dengan larutan EDTA. Sel kemudian ditempatkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 6 menit. Setelah inkubasi, larutan EDTA diambil dan ditambahkan ke dalam tabung sentrifuge bersama dengan sel. Proses sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 2250 rpm selama 7 menit pada suhu 25°C. Setelah itu, medium di dalam tabung dikeluarkan dengan menggunakan aspirator. Sel-sel yang tersuspensi dicuci dengan larutan PBS dan disentrifugasi kembali selama 5 menit pada suhu 25°C. Sel disuspensikan dalam 1 mL media kultur baru. Kemudian, sebanyak 100 µL pewarna JC-1 dengan konsentrasi akhir 2 µM ditambahkan ke dalam suspensi sel, lalu diinkubasi pada suhu 37°C dengan paparan 5% CO₂ selama 15-30 menit. Pewarnaan nuklei dilakukan dengan 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) dengan konsentrasi 300 µM selama 3 menit dalam kondisi gelap. Setelah itu, sel-sel diobservasi menggunakan mikroskop fluoresen (Zeiss Z1 Inverted Fluorescence Microscope, Jerman) (Timothy et al., 2023).

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji distribusi ukuran partikel dari enkapsulasi kitosan dengan ekstrak etanol daun serai dapur menunjukkan tiga puncak distribusi. Puncak pertama menunjukkan distribusi partikel berukuran 186 nm dengan persentase sebesar 58,8%. Puncak kedua menggambarkan distribusi partikel berukuran 818 nm dengan persentase total sebesar 40,8%. Sementara itu, puncak terakhir menunjukkan partikel berukuran 4858 nm dengan persentase distribusi sebesar 0,4% (Gambar 1).



Gambar 1. Distribusi dari jumlah partikel enkapsulasi kitosan ekstrak etanol daun serai dapur

Penggunaan JC-1 dye, dapat membantu dalam melihat perubahan potensial membran mitokondria yang diamati melalui intensitas fluoresensi merah yang terbentuk oleh J-aggregate pada MMP. Mitokondria dengan membran yang tetap utuh (sehat) akan memancarkan intensitas fluoresensi merah yang kuat, sedangkan intensitas fluoresensi merah yang lemah menandakan mitokondria yang mengalami kerusakan, kehilangan keutuhan, atau mengalami depolarisasi. Dalam kondisi ini, JC-1 dye tidak akan membentuk agregat di dalam mitokondria, melainkan membentuk J-monomer yang memancarkan fluoresensi hijau. 30,31

Hasil Shapiro-Wilk menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Pengujian lanjut dengan uji One-way ANOVA. Hasil memperlihatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dalam kelompok penelitian. Untuk mengidentifikasi kelompok yang memiliki perbedaan, dilakukan uji lanjutan (post hoc) menggunakan metode Duncan. Hasil uji lanjut memperlihatkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$).

Kelompok yang diberi doksorubisin tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok EKEDSD konsentrasi 100%, kelompok ekstrak daun serai dapur, kelompok nano kitosan, serta kelompok EKEDSD konsentrasi 75%, namun kelompok doksorubisin memiliki intensitas fluoresensi lebih tinggi sebesar 0,47% dibandingkan dengan kelompok EKEDSD konsentrasi 100%, sedangkan dengan kelompok nano kitosan, kelompok ekstrak daun serai dapur dan kelompok EKEDSD 75% memiliki intensitas fluoresensi lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok doksorubisin berturut-turut sebesar 4,25%, 0,19%, dan 5,18%. Rerata intensitas fluoresensi pada kelompok penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

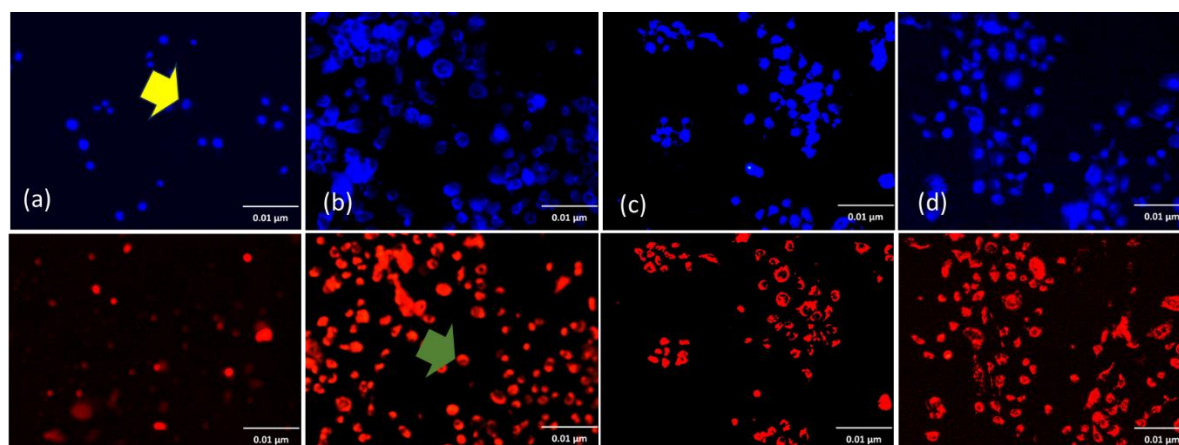
Tabel 3. Rerata Intensitas Fluoresensi MMP

Kelompok	Intensitas Fluoresensi (%)	P value
Doksorubisin	48,30 ± 1,19 ^d	0,000
HSC-3 (tanpa perlakuan)	58,29 ± 3,10 ^a	
Ekstrak daun serai dapur	48,40 ± 2,84 ^d	
Nanopartikel kitosan	50,36 ± 0,55 ^{c,d}	
Enkapsulasi 12,5%	54,46 ± 1,58 ^b	
Enkapsulasi 25%	53,02 ± 1,27 ^{b,c}	
Enkapsulasi 50%	53,22 ± 2,13 ^{b,c}	
Enkapsulasi 75%	50,81 ± 0,89 ^{c,d}	
Enkapsulasi 100%	48,07 ± 1,51 ^d	

^{a-d} pada kolom yang sama berbeda signifikan

Kelompok yang terpapar doksorubisin menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif serta kelompok EKEDSD pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%, dengan peningkatan intensitas fluoresensi masing-masing sebesar 20,68%, 10,17%, 9,75%, dan 12,74% dibandingkan kelompok doksorubisin. Pada kelompok doksorubisin, intensitas fluoresensi merah terlihat menurun dan tidak menunjukkan ketajaman yang signifikan, yang mungkin disebabkan oleh pembentukan J-monomer dengan intensitas fluoresensi hijau.

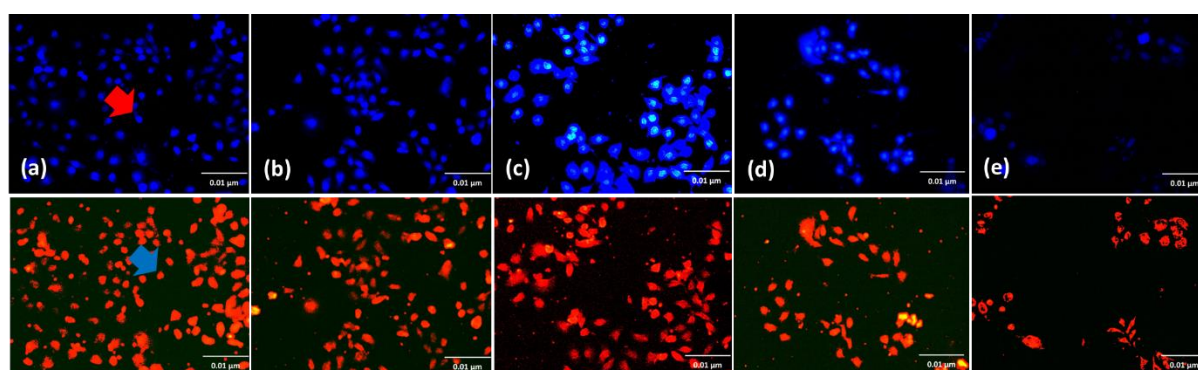
Kelompok tanpa perlakuan (kontrol negatif) menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok doksorubisin, kelompok ekstrak daun serai, kelompok nano kitosan, serta kelompok EKEDSD 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5%, dengan penurunan intensitas masing-masing sebesar 17,14%, 16,97%, 13,60%, 17,53%, 12,8%, 8,69%, 9,04%, dan 6,57% dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hasil uji statistik terhadap rerata intensitas fluoresensi kelompok ekstrak daun serai dapur menunjukkan nilai $p > 0,05$ dengan kelompok doksorubisin, kelompok nano kitosan, dan kelompok EKEDSD pada konsentrasi 75% dan 100%. Meskipun tidak signifikan, kelompok doksorubisin dan kelompok EKEDSD konsentrasi 100% menunjukkan penurunan intensitas fluoresensi sebesar 0,21% dan 0,68%. Ekstrak daun serai dapur dan EKEDSD konsentrasi 75%, meskipun tidak signifikan, terjadi peningkatan intensitas fluoresensi sebesar 4,98% pada kelompok EKEDSD konsentrasi 75%. Tingkat fluoresensi pada kelompok kontrol dan kelompok pembanding dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengamatan intensitas fluoresensi pada kelompok sebagai berikut: (a). Dokсорubisin (kontrol positif); (b). Tanpa perlakuan (kontrol negatif); (c). Ekstrak daun serai dapur; (d). Nano kitosan. Panah berwarna kuning menunjukkan pewarnaan DAPI (intensitas fluoresensi biru/inti sel), sedangkan panah berwarna hijau menunjukkan pewarnaan JC-1 dye (intensitas fluoresensi merah/MMP) dengan pembesaran 100x.

Kelompok yang hanya terpapar nano kitosan tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok dokсорubisin, ekstrak daun serai dapur, serta kelompok EKEDSD 75% dan 100%. Meskipun tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), kelompok dokсорubisin, ekstrak daun serai dapur, dan kelompok EKEDSD 100% mengalami pelemahan intensitas masing-masing 4,09%, 3,89%, dan 4,55%. Sementara itu, pada kelompok EKEDSD konsentrasi 75% terjadi peningkatan intensitas sebesar 0,89% dibandingkan dengan kelompok nano kitosan.

Hasil perhitungan statistik pada kelompok perlakuan EKEDSD 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5% memperlihatkan kelompok EKEDSD 100% memiliki intensitas fluoresensi terendah dibandingkan dengan kelompok EKEDSD 75%, 50%, 25%, dan 12,5%. Kelompok EKEDSD konsentrasi 100% tidak berbeda signifikan dengan kelompok 75%, namun kelompok EKEDSD 100% memiliki intensitas fluoresensi lebih rendah 5,39% dibandingkan kelompok EKEDSD 75%. Kelompok EKEDSD 100% berbeda signifikan dengan kelompok EKEDSD 50%, 25% dan 12,5%, dengan intensitas fluoresen kelompok EKEDSD 100% lebih rendah berturut-turut sebesar 9,6%, 9,34%, dan 11,73%. Kelompok EKEDSD 12,5% menjadi kelompok dengan intensitas fluoresen warna merah yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok EKEDSD konsentrasi lainnya. Intensitas fluoresensi kelompok EKEDSD konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5%, dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pengamatan intensitas fluoresensi pada EKEDSD pada berbagai konsentrasi: (a). 100%; (b). 75%; (c). 50%; (d). 25%; dan (e). 12,5%. Panah berwarna merah menunjukkan pewarnaan DAPI (intensitas fluoresensi biru/inti sel), sedangkan panah berwarna biru menunjukkan pewarnaan JC-1 dye (intensitas fluoresensi merah/MMP) dengan pembesaran 100x.

Penelitian ini mengevaluasi efek EKEDSD terhadap depolarisasi potensi membran mitokondria (MMP) pada sel kanker lidah HSC-3. Daun serai dapur diketahui mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, terpenoid, dan fenolik yang berperan sebagai antioksidan dan antikanker dengan cara meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Veronica et al., 2021), yang dapat memicu apoptosis sel kanker melalui depolarisasi MMP dan kerusakan mitokondria (Zalukhu dkk., 2016). Namun, stabilitas senyawa aktif dalam ekstrak daun serai dapur masih menjadi tantangan utama, sehingga perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan bioavailabilitasnya. Penggunaan kitosan sebagai polimer enkapsulasi dinilai efektif untuk bioavailabilitas, dikarenakan kitosan bersifat biokompatibel, biodegradable, dan non-toksik, serta mampu diubah menjadi nanopartikel untuk meningkatkan penetrasi senyawa aktif ke dalam sel kanker (Komariah dkk., 2023). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun serai dapur dapat meningkatkan sitotoksitas, menghambat proliferasi, dan migrasi sel kanker HSC-3 (Felicia dkk., 2022). Ekstrak daun serai dapur dengan proses enkapsulasi menggunakan kitosan dapat meningkatkan produksi ROS pada sel HSC-3 (Andikoputri dkk., 2021), namun dapat meningkatkan viabilitas sel normal seperti fibroblas (Veronica dkk., 2021).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata intensitas fluoresensi pada kelompok yang diberikan ekstrak daun serai dapur tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan yang diberikan doksorubisin, nano kitosan, serta EKEDSD dengan konsentrasi 75% dan 100%. Meski perbedaannya tidak signifikan, kelompok doksorubisin menunjukkan sedikit penurunan intensitas fluoresensi dibandingkan dengan kelompok EKEDSD konsentrasi 100%, yang mengindikasikan bahwa pada konsentrasi tinggi, enkapsulasi kitosan ekstrak daun serai dapur mendekati efektivitas doksorubisin dalam memengaruhi potensial membran mitokondria. Hasil penelitian selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh (Andikoputri dkk., 2021), yang memperlihatkan enkapsulasi ekstrak daun serai dapur dengan kitosan dapat meningkatkan produksi ROS pada konsentrasi 100%. Peningkatan produksi ROS dapat menyebabkan kerusakan pada MMP, yang merupakan indikator dari fungsi mitokondria. Ketidakseimbangan ROS menyebabkan disfungsi mitokondria, mempengaruhi permeabilitas membran, dan memicu pelepasan faktor pro-apoptosis (Timothy dkk., 2023). Potensi senyawa alami untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai terapi alternatif, mengingat kemungkinan efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan kemoterapi konvensional seperti doksorubisin.

Kelompok nano kitosan, ekstrak daun serai dapur, serta enkapsulasi kitosan ekstrak daun serai dapur dengan EKEDSD 75% menunjukkan intensitas fluoresensi yang lebih tinggi dibandingkan kelompok yang diberikan doksorubisin. Meski intensitas fluoresensi yang lebih tinggi dapat mengindikasikan potensi depolarisasi mitokondria yang lebih rendah, yang tetap menunjukkan kemampuan dalam mempengaruhi MMP. Kelompok EKEDSD memperlihatkan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan pada sel HSC-3 semakin rendah intensitas fluoresensi merah yang terbentuk, akibat J aggregate yang terbentuk dalam mitokondria rendah (Timothy dkk., 2023). Aktivitas EKEDSD dalam meningkatkan produksi ROS mengarah pada kerusakan atau penurunan mitokondria membran potensial lebih tinggi. Hal ini membuktikan kitosan mengenkapsulasi ekstrak daun serai dapur dan dimodifikasi menjadi partikel nano menjadi lebih efektif dalam bekerja meningkatkan produksi ROS sel kanker, sehingga terjadi penurunan mitokondria membran potensial yang mengakibatkan membran mitokondria mengalami depolarisasi dan mengalami disfungsi. Penurunan potensi membran mitokondria ini memicu aktivasi protein pro-apoptosis, seperti keluarga Bcl-2 (Bax dan Bak), yang mengakibatkan pelepasan protein dari ruang antar membran ke sitoplasma, seperti sitokrom C (Timothy dkk., 2023). Sitokrom C yang dilepaskan ke sitoplasma akan berikatan dengan protein sitoplasmik bernama Apaf-1, yang selanjutnya mengaktifkan inisiator caspase-9.

Caspase-9 kemudian mengubah procaspase-3 menjadi caspase-3, yaitu caspase efektor yang bertanggung jawab dalam menjalankan proses apoptosis. (Sari 2018).

Penggunaan nanopartikel kitosan sebagai sistem penghantaran senyawa aktif herbal dinilai efektif karena dapat memfasilitasi pelepasan senyawa aktif secara bertahap dan terarah pada sel kanker (Mursal dkk., 2023), sehingga meningkatkan efektivitas antikanker ekstrak daun serai dapur. Struktur nanopartikel juga memungkinkan penetrasi senyawa aktif lebih baik dibandingkan senyawa bebas, sehingga meningkatkan daya serap dan efek sitotoksik pada sel kanker (Komariah dkk., 2023). Hasil penelitian ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa terapi kanker menggunakan ekstrak herbal dapat memberikan hasil yang lebih optimal ketika dikombinasikan dengan teknologi enkapsulasi. Enkapsulasi menggunakan kitosan telah terbukti melindungi senyawa aktif dari degradasi enzimatik serta meningkatkan stabilitas dan aktivitas biologisnya (Purwandari dkk., 2022). Oleh karena itu, nano enkapsulasi kitosan ekstrak daun serai dapur dapat menjadi alternatif yang menjanjikan dalam pengobatan kanker, terutama dalam meningkatkan stabilitas dan efikasi senyawa aktif herbal.

Kesimpulan dan Saran

Enkapsulasi ekstrak etanol daun serai dapur dengan kitosan yang dimodifikasi menjadi nano kitosan terbukti efektif menginduksi depolarisasi MMP pada sel kanker lidah HSC-3. Peningkatan konsentrasi enkapsulasi menyebabkan depolarisasi yang lebih besar, ditunjukkan oleh penurunan intensitas fluoresensi merah, dengan konsentrasi optimal pada 100%. Disarankan agar pengembangan enkapsulasi nano kitosan ekstrak daun serai dapur dilanjutkan dengan penelitian mengenai stabilitas, biokompatibilitas, serta toksisitas jangka panjang pada model *in vivo*, sehingga hasil penelitian berpotensi untuk dikembangkan menjadi terapi kanker mulut alami yang aman, efektif, ramah lingkungan serta dapat meningkatkan kualitas hidup pasien.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada kepala laboratorium BIOCore FKG USAKTI drg M. Orliando Roesland yang telah memberikan dukungan fasilitas beserta tim laboratorium BIOCore.

Daftar Pustaka

- Agustin, T. 2020. Potensi metabolit aktif dalam sayuran cruciferous untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. *Jurnal Penelitian Perawat Profesi*, 2(4), 459-472.
- Amtha, R., Komariah, K., Priandini, D., Roeslan, M. O., Kelsi, F., Landy, R., Agustini, D., Ardiana, I. S., Krista, J. I., & Budi, K. S. A. 2022. Pelatihan deteksi dini kanker mulut dengan SAMURI pada komunitas penyintas kanker Love and Healthy Tangerang. *ABDI MOESTOPO: Jurnal Pengabdian Pada Masyarakat*, 5(1), 10–21.
- Andikoputri, S. F., Komariah, K., Roeslan, M. O., Ranggaini, D., & Bustami, D. A. 2021. Nano chitosan encapsulation of *Cymbopogon citratus* leaf extract promotes ROS induction leading to apoptosis in human squamous cells (HSC-3). *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 34(3), 134–137.
- Dewi, R. K. 2020. Hubungan kepatuhan menjalani kemoterapi dengan kualitas hidup pasien kanker payudara di RSUD Dr. Moewardi Surakarta. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat*, 12(4), 158-163
- Elisya, Y., Achmadi, N. K., & Kurniawan, D. 2022. Overview of cytostatic drug prescribing for inpatient cancer patients at RSUD Tarakan July-December 2021 period. *SANITAS: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan*, 13(2), 270–282.
- Ericksa, N., Komariah, K., Wahyudi, R., & Trisfilha, P. 2022. Nano encapsulation of lemongrass leaves extract (*Cymbopogon citratus* DC) on fibroblast viability with oxidative stress. In *Quality Improvement*

in Dental and Medical Knowledge, Research, Skills and Ethics Facing Global Challenges. Proceedings of the International Conference on Technology of Dental and Medical Sciences (ICTDMS), Jakarta, Indonesia, 8–10 December 2022 (pp. 450-460). CRC Press/Balkema.

Fadhlurrohman, I., Maulaeni, R., & Tirta, A. C. 2023. Fortifikasi serai (*Cymbopogon citratus*) pada produk susu fermentasi sebagai potensi pangan fungsional: Kajian literatur. Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian, 4(1), 418-421

Felicia, F., Komariah, K., & Kusuma, I. 2022. Antioxidant potential of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) leaf ethanol extract in HSC-3 cancer cell line. Tropical Journal of Natural Product Research, 6(4), 520–528.

Firdaus, N. Z., & Susilowati, S. 2023. Evaluasi penggunaan kemoterapi pada pasien kanker payudara di Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang tahun 2022. Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik, 20(2), 155-166

Fitria, N., Bustami, D. A., Komariah, K., & Kusuma, I. 2022. The antioxidant activity of lemongrass leaves extract against fibroblasts oxidative stress. Brazilian Dental Science, 25(4).

Fitriansyah, S. N., Fadhilah, S., Ruslan, K., Hartati, R., & Fidrianny, I. 2023. Antioxidant activity and sun protection factor of different parts of Sawo Walanda (*Pouteria campechiana* (Kunth.) B.) extract. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 5(2), 207-214.

Fitriatuzzakiyyah, N., Sinuraya, R. K., & Puspitasari, I. M. 2017. Cancer therapy with radiation: The basic concept of radiotherapy and its development in Indonesia. Indonesian Journal of Clinical Pharmacy, 6(4), 311–320.

Huzaifah, Z., Rahayu, S. F., Sari, R. T., & Linda, L. 2023. Hubungan kejadian anemia pada pasien kemoterapi dengan karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin. Malahayati Nursing Journal, 5(2), 533–540.

Irfan Fadhlurrohman, Ridho Maulaeni, & Asmaradika Cahya Tirta. 2023. Fortifikasi serai (*Cymbopogon citratus*) pada produk susu fermentasi sebagai potensi pangan fungsional: Kajian literatur. Prosiding Seminar Nasional Pembangunan Dan Pendidikan Vokasi Pertanian, 4(1), 418–428.

Lathifah, S. H., Yohana, W., & Rodian, M. 2021. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR) as an inflammation degree marker in tongue cancer patient. Jurnal Kesehatan Gigi, 8(2), 96-108.

Komariah, K., Trisfilha, P., Wahyudi, R., Erica, N., Nugroho, D., Ariesanti, Y., & Swain, S. K. 2023. Chitosan *Xylotrupes gideon* encapsulated lemongrass leaf ethanol extract reduces H₂O₂-induced oxidative stress in human dermal fibroblast. Indonesian Journal of Biotechnology, 28(4), 191–199.

Komariah, K., & Astuti, L. 2012. Preparasi dan karakterisasi kitin yang terkandung dalam eksoskeleton kumbang tanduk (*Xylotrupes gideon* L) dan kutu beras (*Sitophilus oryzae* L). In Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya dalam Upaya Peningkatan Daya Saing Bangsa (pp. 648-654). Prosiding Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi, FKIP UNS.

Kumala, R. 2020. Hubungan kepatuhan menjalani kemoterapi dengan kualitas hidup pasien kanker payudara di RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat, 12(4), 158-163.

Mursal, I. L. P., Warsito, A. M. P., Ariyanti, D. K., Susanti, E. I., & Irma, R. 2023. Penggunaan nanopartikel kitosan sebagai penghantar obat baru. Journal of Pharmaceutical and Sciences, 6(2), 804-809.

Prasetyo, D. Y., & Suprayitno, E. 2021. Faktor-faktor kualitas hidup pasien kanker. Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan, 9(2), 322-333.

Purwandari, V., Isnaeni, I., Rahmi, R., Akbari, A. Z., & Akbari, M. Z. 2022. Formulasi nanoenkapsulasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)/kitosan-natrium tripolifosfat (NaTPP). *Journal of Science and Applicative Technology*, 6(2), 77.

Sari, L. M. (2018). Apoptosis: Mekanisme molekuler kematian sel. *Cakradonya Dental Journal*, 10(2), 65-70

Suharto, D. N. 2018. Analisis kasus kanker lidah dalam konteks asuhan keperawatan dengan pendekatan Comfort Theory Model. *Poltekita: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 12(2), 88-94.

Susilowati, E. 2023. Hubungan Fatigue Dengan Kualitas Hidup Pasien Ca Mammae Yang Menjalani Kemoterapi di RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten. *Jurnal Kesehatan RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten*, 1(1), 1-20.

Timoty, H., Komariah, K., & Nugroho, D. 2023. Pengaruh partikel silver ekstrak daun serai dapur (*Cymbopogon citratus* DC) terhadap galur sel rongga mulut HSC-3: Penelitian eksperimen laboratorium. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 35(1), 78-85.

Veronica, G., Komariah, K., & Maria, L. G. C. 2021. Microencapsulation of lemongrass leaves effect on reactive oxygen species (ROS) fibroblasts. In *HeNce 2021 - 2021 IEEE International Conference on Health, Instrumentation and Measurement, and Natural Sciences*.

Zalukhu, M. L., Phyma, A. R., & Pinzon, R. T. (2016). Proses menua, stres oksidatif, dan peran antioksidan. *CDK-245*, 43(10), 733-734.