

EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN BERENUK (*Crescentia cujete* Linn) TERHADAP SEL MCF-7

Devi Nisa Hidayati^{1*}, Fitriasih², Siti Mega Komariah² dan Nenni Pratiwi²

¹Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

²Program Studi SIFarmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

*Email : devinisahidayati@yahoo.com

Abstrak

Kanker payudara merupakan penyakit yang mempunyai prevalensi tertinggi di Indonesia. Kegagalan dalam terapi kanker akibat resistensi sel telah mendorong usaha pengembangan obat anti kanker termasuk dari bahan alam. Daun berenuk terbukti memiliki aktivitas sitotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak daun berenuk memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Ekstrak etanol daun berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) diperoleh dengan metode maserasi. Ekstrak etanol daun berenuk (EEDB) konsentrasi 1000; 500; 250; 31,25; 15,625 µg/ml dilakukan uji sitotoksitas dengan MTT assay. Analisis nilai IC₅₀ menggunakan regresi linier. Hasil penelitian menyatakan bahwa perlakuan dengan ekstrak etanol daun berenuk memperlihatkan perubahan morfologi sel dibandingkan dengan kontrol sel. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun berenuk adalah 643 µg/mL.

Kata kunci : daun (*Crescentia cujete* Linn.), Sitotoksik, MCF-7.

PENDAHULUAN

Indonesia menempati posisi pertama di Asia sebagai negara dengan jumlah kasus baru kanker payudara terbanyak yaitu 25.208 kasus (IARC, 2013). Kegagalan dalam terapi kanker akibat resistensi sel telah mendorong usaha pengembangan obat anti kanker termasuk dari bahan alam. Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan dalam dunia pengobatan adalah tanaman berenuk (*Crescentia cujete* Linn.), namun penelitian tentang tanaman berenuk masih jarang dilakukan.

Ekstrak etanol daun berenuk terbukti memiliki aktivitas antikanker pada sel kanker payudara T47D namun hasil membuktikan potensi yang masih rendah sebagai antikanker (Kusuma dkk, 2014). Sedangkan, menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* ekstrak daun berenuk memiliki sitotoksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 30,54 µg/mL dengan senyawa metabolit sekunder yang terkandung yaitu flavonoid, fenolik, steroid dan alkaloid (Arel dkk, 2018). Sel MCF-7 merupakan sel kanker payudara yang memiliki over-ekspresi bcl-2 dan cenderung menimbulkan resistensi terhadap agen sitotoksik (Amundson *et al.*, 2000). Hutapea (1993) mengidentifikasi kandungan kimia yang ada pada daun, berenuk yaitu polifenol, flavonoid, dan saponin. Berdasarkan studi tersebut, maka kami ingin mengetahui ekstrak etanol daun berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Simplisia

Daun berenuk yang digunakan yang didapat dari taman Durian watu simbar kecamatan Gunungpati. Daun berenuk disortasi untuk mendapatkan daun berenuk dengan warna yang seragam, selanjutnya dilakukan pencucian dengan menggunakan air mengalir.

Ekstraksi daun berenuk dengan metode maserasi dengan etanol 96%

Daun berenuk yang telah disortasi dan dicuci dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu ±50°C. Daun berenuk dihentikan pengeringannya apabila didapatkan kadar air dari simplisia <10%. Apabila kadar air sudah sesuai maka dilakukan perubahan bentuk bahan menjadi serbuk. Serbuk daun berenuk kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi yang dilakukan selama 5 hari (3 hari maserasi, 2 hari remaserasi). Bahan yang digunakan sebesar 2000 gram dengan total pelarut etanol 96% sebesar 15000 mL. Filtrat yang dihasilkan dari maserasi dan remaserasi digabungkan kemudian dikentalkan menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 40°C.

Uji Sitotoksitas

- a. **Penyiapan Larutan Stok Konsentrasi Ekstrak Daun Berenuk**
Ekstrak etanol daun berenuk ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 200µL dimetil sulfoksid (DMSO) didapatkan konsentrasi 50.000µg/ml. Larutan stok Ekstrak etanol daun berenuk dilakukan pengenceran menggunakan media kultur sehingga diperoleh konsentrasi 1000; 500; 250; 31,25; dan 15,625 µg/ml yang akan digunakan sebagai larutan uji sitotoksik.
- b. **Uji Sitotoksik menggunakan MTT Assay**
Pengujian menggunakan metode MTT, dengan tahapan pertama yaitu mengambil sel MCF-7 yang telah konfluen dilanjutkan mendistribusikan sel sebanyak 5000 sel/sumuran pada 96 wellplate. Sel diinkubasi selama 24 jam menggunakan inkubator CO2 5% dengan suhu 37°C. Sel hidup akan terlihat menempel pada plate. Setelah 24 jam dan sel konfluen maka dilanjutkan dengan perlakuan menggunakan seri konsentrasi ekstrak daun berenuk. Setiap seri konsentrasi diaplikasikan untuk 3 sumuran. Kontrol pelarut yang digunakan adalah DMSO, kemudian kontrol sel MCF-7 (sel yang tanpa diberi perlakuan seri konsentrasi ekstrak) dan kontrol media yaitu DMEM. 96 wellplate yang telah diberikan perlakuan dimasukkan kembali ke dalam inkubator CO2 5% selama 24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya, plate diamati dibawah mikroskop untuk melihat morfologi dari sel dan diberikan perlakuan menggunakan reagen MTT. Setiap sumuran diberikan 100µl MTT 0,5 mg/ml. Selanjutnya inkubasi selama 4 jam hingga terbentuk kristal formazan. Sel yang hidup akan memperlihatkan warna biru tua, sedangkan apabila sel yang mati warna tidak akan merubah warna dari reagen MTT (kuning). Dilanjutkan dengan penambahan larutan SDS 10% dalam 0,1 N HCL pada masing-masing sumuran sebanyak 100µl. Well plate harus terlindung dari cahaya dan didiamkan semalaman pada suhu kamar, kemudian dibaca dengan Elisa reader dengan panjang gelombang 595 nm.

Analisis Data

Data yang didapat dari ELISA *Reader* berupa hasil absorbansi masing masing sumuran dikonversikan dalam persen kehidupan sel. Persen kehidupan sel dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

Presentasi sel hidup dengan konsentrasi ekstrak dianalisis dengan regresi linier untuk menghitung nilai IC₅₀.

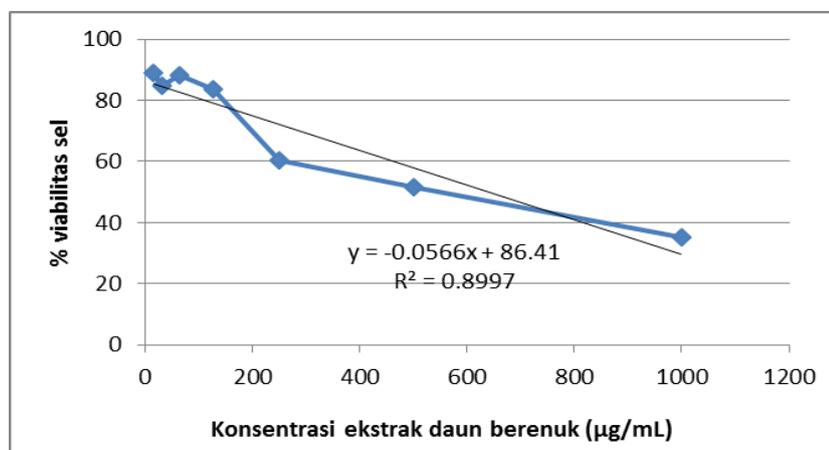
HASIL DAN PEMBAHASAN

Memastikan kebenaran bahan/simplisia yang digunakan maka dilakukan determinasi tanaman dan terbukti bahwa bahan yang digunakan adalah daun *Crescentia cujete*Linn. Ekstrak kental yang diperoleh sebesar 95 gram dari 2000 gram serbuk daun berenuk. Rendemen yang diperoleh sebesar 4,75% yang artinya 100 gram serbuk daun berenuk didapatkan ekstrak etanol daun berenuk sebesar 4,75 gram. Pada pembuatan simplisia tahapan yang harus dilakukan adalah sortasi basah, pengeringan dan sortasi kering. Pada proses pengeringan dengan oven harus memastikan sesuai dengan syarat kadar air simplisia yaitu <10% (Depkes RI, 2000). Metode maserasi dipilih untuk menghindari rusaknya senyawa yang ada pada daun berenuk rusak karena panas.



Gambar 1. Morfologi sel kanker payudara (MCF-7) setelah inkubasi 24 jam.
(A) Kontrol sel kanker payudara MCF-7. (B) Ekstraketanol daun berenuk konsentrasi 15,625 µg/mL. (→) Sel hidup (---→) Sel mati.

Melihat hasil di atas (gambar 1) maka memperlihatkan adanya perubahan morfologi sel yang diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol daun berenuk.



Gambar 2. Efek Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Berenuk terhadap Viabilitas sel MCF-7.

Uji dilakukan dengan menginkubasi 1×10^4 sel MCF7 dengan EEDB (15,625-1000 µg/mL). Grafik (Gambar 2) menunjukkan efek perlakuan EEDB terhadap viabilitas sel pada berbagai seri kadar.

Tabel I. Data % viabilitas sel hidup ekstrak etanol daun berenuk pada uji sitotoksisitas.

No.	Konsentrasi EEDB (µg/ml)	Viabilitas Sel MCF (%)
	1000	35,14
	500	51,56
	250	60,25
	125	83,58
	62,5	88,41
	31,25	84,73
	15,625	88,86

Konsentrasi ekstrak etanol daun berenuk dan viabilitas sel masing-masing konsentrasi terlihat pada tabel I. Perolehan nilai IC_{50} dikerjakan menggunakan regresi linear dapat dilihat pada gambar 2 dari kurva log kadar vs % viabilitas sel dengan persamaan yang didapatkan yaitu $Y = -0,0566x + 86,41$ dan diperoleh IC_{50} 643 µg/ml.

Nilai IC_{50} yang diperoleh pada ekstrak etanol daun berenuk memperlihatkan bahwa ekstrak daun berenuk memiliki aktivitas sitotoksik namun aktivitas yang dihasilkan belum sangat aktif

sebagai agen sitotoksik. Menurut Weerapreeyakul *et al*, 2012 suatu ekstrak dikategorikan memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat aktif apabila nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$. Melihat hasil tersebut, diperlukan penyederhanaan komponen senyawa yang ada di ekstrak agar lebih spesifik senyawa yang diduga memiliki aktivitas sitotoksik yang terkandung.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun berenuk memperlihatkan perubahan morfologi sel dibandingkan dengan kontrol sel. Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun berenuk adalah $643 \mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Amundson, S.A., Myers, T.G., Scudiero, D., Kitada, S., Reed, J.C., and Fornace, A.J., 2000, An Informatics Approach Identifying Markers of Chemosensitivity in Human Cancer Cell Lines, *Cancer Res*, **60**, 6101–6110.
- Arel, A., Wardi, E.S., dan Oktaviani, Y., 2018, Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenuk dan Uji Sitotoksik dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*, *LLDIKTI Wilayah X*, 3(2), 82-88.
- Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan, Vol.I: Jakarta.
- Hutapea, J. R., 1993, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia II*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), 2013, Cancer Fact Sheets Indonesia, [Online], Diakses dari http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx.
- Kusuma, A.M., Susanti, dan Akbariani, G., 2014, Potensi Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Berenuk Terhadap Sel Kanker, *Farmasains*, 2 (4), 191-194.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2015, *Stop Kanker*, Departemen Kesehatan, Jakarta.
- Weerapreeyakul, N., Nonpunya, A., Barusrux, S., Thitimetharoch, T., and Sripanidkulchai, 2012, Evaluation of The Anticancer Potential of Six Herbs Against a Hepatoma Cell Line, *Chinese Medicine*, 7 (15), 1-7.