

POTENSI ANTIKANKER DARI EKSTRAK BUNGA KECOMBRANG DENGAN BERBAGAI TINGKAT KEPOLARAN TERHADAP SEL T47D

Tresna Lestari, Ruswanto
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya
Jl Cilolohan No 36 Tasikmalaya
E-mail : beatsign@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan uji aktivitas sitotoksik dari ekstrak bunga kecombrang yang diekstraksi menggunakan pelarut dengan berbagai tingkat kepolaran terhadap sel T47D. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu refluks secara bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Hasil uji aktivitas sitotoksik diketahui ekstrak n-heksan memiliki potensi sitotoksitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan metanol dengan nilai IC₅₀ berturut-turut adalah 372,117 ppm; 455,263 ppm; 448,589 ppm.

Kata Kunci : kecombrang, refluks, kepolaran pelarut, aktivitas sitotoksik

Pendahuluan

Etilingera elatior merupakan tanaman rempah yang tergolong ke dalam famili Zingiberacea dan dikenal dengan nama kecombrang. Beberapa tahun terakhir ini, tanaman kecombrang mendapat perhatian sangat besar karena adanya fakta empiris serta bukti penelitian ilmiah yang menyatakan bahwa kecombrang memiliki potensi untuk digunakan dalam pengobatan penyakit degeneratif seperti kanker dan tumor. Ekstrak etanol bunga kecombrang dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa (Mackeen *et al.*, 1997). Hasil uji sitotoksitas yang lain menyebutkan bahwa ekstrak etil asetat bunga kecombrang memiliki aktivitas penghambatan terhadap sel CEM-SS dan MCF-7 dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 4 mg/ml 6,25 mg/ml (Habsah *et al.*, 2005).

Bunga kecombrang telah diketahui memiliki kandungan kimia terdiri dari alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, saponin dan minyak atsiri (Tampubolon *et al.*, 1983). Senyawa-senyawa kimia tersebut memiliki kelarutan yang berbeda pada berbagai macam pelarut. Senyawa kimia yang diduga paling berperan terhadap berbagai aktivitas biologis dari bunga kecombrang adalah senyawa-senyawa fenolik dan minyak atsiri. Selain itu bunga kecombrang juga diketahui memiliki kadar lemak yang cukup tinggi (10,81%) (Naufalin *et al.*, 2005). Lemak dan minyak

lainnya yang berukuran besar dapat menjadi penghalang minyak atsiri atau senyawa fenolik ke dalam sel karena tidak dapat melewati dinding sel (Kanazawa, *et al.*, 1995). Untuk mengurangi kandungan lemak di dalam ekstrak dapat diatasi dengan cara ekstraksi bertingkat.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan telaah fitokimia terhadap ekstrak yang diperoleh dengan ekstraksi bertingkat serta mengetahui pengaruh polaritas ekstrak bunga kecombrang terhadap aktivitas sitotoksiknya pada sel T47D menggunakan metode MTT *assay*.

Metode Penelitian

Alat

Seperangkat alat refluks, rotavapor, *Laminar Air Flow*, well 96, mikroskop inverted, inkubator CO₂, ELISA *Reader*, serta alat-alat lain yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan

Sampel bunga kecombrang, pelarut n-heksan, etil asetat, metanol, reagen-reagen skrining fitokimia, akuades, diklormetan, dimetil sulfoksida (DMSO), media RPMI 1640, *Fetal Bovine Serum*, Penstrep, amfoterisin B, *Methyl Thiazole Tetrazolium* (MTT), SDS 0,01N.

Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara refluks. Bubuk bunga kecombrang diekstraksi dua kali dengan n-heksan (1:4

b/v). Residunya diekstraksi kembali sebanyak dua kali dengan etil asetat (1:4 b/v). Residu etil asetat selanjutnya diekstraksi dua kali dengan metanol (1:4 b/v). Masing-masing filtrat diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotavapor. Ekstrak yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk analisa fitokimia dan pengujian sitotoksitas.

Analisa Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Analisa fitokimia ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol bunga kecombrang dilakukan dengan metode Harborne (1987) untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, polifenol, tannin, monoterpenoid dan seskuioterpenoid, steroid dan triterpenoid, kuinon.

Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT Assay

Kultur sel T47Da sebanyak 100 µl dengan kepadatan 3×10^4 sel/100 µl media didistribusikan ke dalam 96-well plate dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi tambahkan 100 µl larutan uji dengan berbagai seri konsentrasi. Selain kultur dengan perlakuan sampel dibuat kontrol pelarut, kontrol media, kontrol sel dan pembanding senyawa asli menggunakan cisplatin dengan berbagai seri konsentrasi. Campuran diinkubasi kemabali selama 24 jam dengan aliran 5% CO₂ dan 95% O₂. Pada akhir inkubasi medium dibuang dan diganti 190 µl media RPMI 1640 komplit dan 10 µl MTT (5 mg/ml PBS). Campuran diinkubasi kembali selama 3-4 jam. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan reagen stopper SDS (100 µl). Selanjutnya dilakukan inkubasi pada temperatur kamar di ruang gelap selama 24 jam. Sel yang hidup bereaksi membentuk warna ungu dengan MTT.

Hasil pengujian dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm (Dheta *et al.*, 2009).

Hasil dan Pembahasan

Analisa Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Tujuan dilakukan analisa fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak adalah untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder tertentu yang terdapat di dalam simplisia atau ekstrak, sehingga dapat diketahui kemungkinan senyawa yang memberikan bioaktivitas, dalam hal ini yaitu sebagai senyawa sitotoksik.

Pada penelitian ini diketahui bahwa pada simplisia bunga kecombrang yang digunakan terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, polifenol, monoterpenoid dan seskuioterpenoid serta kuinon. Sementara itu pada hasil analisis fitokimia ekstrak, kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada masing-masing ekstrak bervariasi, hal ini dikarenakan perbedaan sifat kelarutan dari masing-masing senyawa dan polaritas dari pelarut yang digunakan. Hasil analisis fitokimia dapat dilihat pada tabel 1.

Selain dilakukan analisis fitokimia, terhadap simplisia yang digunakan juga ditetapkan kandungan minyak atsirinya. Simplisia bunga kecombrang merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan minyak atsiri yang tinggi. Minyak atsiri pada bunga kecombrang juga telah diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis. Pada penelitian ini kadar minyak atsiri bunga kecombrang yang terdapat pada simplisia yang digunakan adalah sebesar 0,047%.

Tabel 1. Hasil Analisa Fitokimia

| Golongan Senyawa | Hasil | | | |
|------------------|-----------|------------|-------------|----------------|
| | Simplisia | Ekst. MeOH | Ekst. EtoAc | Ekst. N-Heksan |
| Alkaloid | - | - | - | - |
| Flavonoid | + | + | + | - |
| Tanin | - | - | - | - |
| Polifenol | + | + | + | - |

| | | | | |
|-------------------------|---|---|---|---|
| Steroid/triterpenoid | - | - | - | - |
| Monoterpen/seskuiterpen | + | - | + | + |
| Saponin | - | - | - | - |
| Kuinon | + | + | + | - |

Keterangan

- (+) = Terdeteksi
- (-) = Tidak terdeteksi

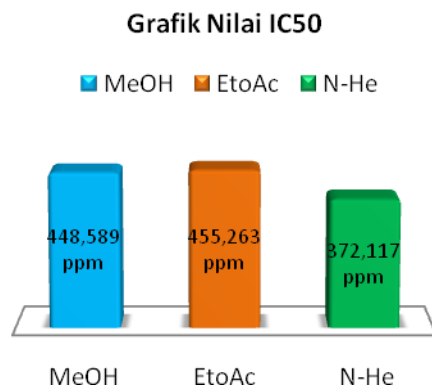
Selain dilakukan analisis fitokimia, terhadap simplisia yang digunakan juga ditetapkan kandungan minyak atsirinya. Simplisia bunga kecombrang merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan minyak atsiri yang tinggi. Minyak atsiri pada bunga kecombrang juga telah diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis. Pada penelitian ini kadar minyak atsiri bunga kecombrang yang terdapat pada simplisia yang digunakan adalah sebesar 0,047%.

Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT Assay

Sitotoksik adalah sifat suatu zat untuk mampu membunuh sel. Metode MTT dapat digunakan untuk mengukur sitotoksitas suatu zat dengan prinsip terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen stopper (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak.

Pada penelitian ini diketahui bahwa ekstrak n-heksan (IC₅₀ 372,117) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat (IC₅₀ 455,263) dan metanol (IC₅₀ 448,389). Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar dari bunga kecombrang, termasuk juga minyak atsiri,

memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih poten dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang bersifat semi polar atau polar.



Gambar 4.1 Nilai IC₅₀ Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik

Berdasarkan hasil analisa fitokimia diketahui bahwa di dalam ekstrak n-heksan terdapat senyawa golongan monoterpenoid dan seskuiterpenoid yang merupakan golongan senyawa penyusun komponen minyak atsiri. Sedangkan senyawa-senyawa fenolik yang bersifat polar seperti flavonoid, polifenol dan kuinon lebih tertarik pada ekstrak metanol dan memiliki aktivitas sitotoksik yang paling rendah. Pada ekstrak etil asetat mengandung senyawa yang lebih lengkap seperti terdapat pada simplisianya, namun aktivitas sitotoksiknya lebih rendah dibandingkan ekstrak n-heksan. Hal ini kemungkinan dikarenakan kandungan senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid yang terkandung dalam ekstrak etil asetat lebih sedikit dibandingkan dalam ekstrak n-heksan.

Kesimpulan

1. Pelarut n-heksan dapat menarik senyawa-senyawa bersifat non polar seperti monoterpenoid dan

- seskuiterpenoid yang merupakan komponen penyusun minyak atsiri
2. Pelarut etil asetat mampu menarik lebih banyak jenis senyawa baik yang bersifat polar maupun non polar
 3. Pelarut metanol lebih banyak menarik senyawa-senyawa fenol seperti flavonoid, polifenol dan kuinon yang bersifat polar
 4. Aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dari ekstrak n-heksan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan metanol dengan nilai IC₅₀ berturut-turut adalah 372,117 ppm; 455,263 ppm; 448,589 ppm.

Daftar Pustaka

- Dheta, E.M., 2009. Sitotoksisitas dan efek ekstrak etanol kulit buah jambu mente (*Anacardium occidentale* L.) terhadap sel meiloma. Yogyakarta : Fakultas Biologi UGM.
- Habsah, M., Lajis, N. H., Sukari, M. A., Yap, Y. H., Kikuzaki, H., *et al.*, 2005. Antitumor-promoting and cytotoxic constituents of *Etilingera elatior*. *Malays J Med Sci, January 12 (1)* : 6-12
- Harborne, J.B. 1987. *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung : Penerbit ITB : 102-108.
- Kanazawa A, Ikeda T, Endo T. 1995. A novel approach to made of action on cationic biocides : morphological effect on antibacterial activity. *J Appl Bacteriol.* 78 :55-60
- Mackeen, M.M., Ali, A.M., El-Sharkawy, S.H., Salleh, K.M., Lajis, N.H., Kawazu, K., 1997. Antimicrobial and cytotoxic properties of some traditional Malaysian vegetables (ulam). *Int. J. Pharmacogn.* 35, 174-178.
- Naufalin, R., Jenie, B.S.L. Kusnandar, F., Sudarwanto, M., Rukmini, H., 2005. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan, Vol. XVI, No. 2* : 119-125.
- Tampubolon, O.T., Suhatsyah, S., Sastrapradja, S., 1983. Penelitian Pendahuluan Kimia Kecombrang (*Nicolaia Speciosa* Horan). *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi UGM.