

# SKRINING AKTIVITAS SITOTOKSIK BEBERAPA TUMBUHAN OBAT YANG DIGUNAKAN ETNIS DI SULAWESI SELATAN TERHADAP CELL LINE MCF-7 DAN T47D

Abdul Rahim\*, Gemini Alam\*, Rina Agustina\*, Habibie\*, Ismail\*, Muh.Raihan\*, Muh. Azwar AR\*, dan Sari Haryanti\*\*

\* Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

\*\* Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tumbuhan Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu

## ABSTRAK

Berbagai macam tumbuhan obat telah lama digunakan oleh para pengobat tradisional (battrra) di beberapa etnis di Sulawesi Selatan untuk mengobati berbagai penyakit termasuk kanker. Penelitian ini dimaksudkan untuk memberikan bukti ilmiah penggunaan tumbuhan obat yang biasa terdapat dalam ramuan obat tradisional untuk pengobatan kanker pada etnis di Sulawesi Selatan. Tahap awal penelitian dilakukan melalui pengujian mutu simplisia dan skrining aktivitas sitotoksik dari 11 tumbuhan obat terpilih yaitu Bambang epa (*Cleome viscosa*), Barrang-barrang (*Drynaria quercifolia* (L) J.Sm), Sereh dapur (*Andropogon citratus* L), Bu'ne (*Antidesma bunius* L.), Caleo (*Jatropha curcas* L.), Cambarinono, Korrong-korrong (*Borreria ocymoides* (Burm.F).CD), Minceng (*Tithonia grandiflora* (Hemsl.) A.Gay), Pelleng (*Aleurites moluccanus* L.), Pucuk Merah (*Eupatorium triplinerve* L) dan Porrok tongko menggunakan cell line kanker payudara yaitu MCF-7 dan T47D dengan metode MTT. Hasil skrining sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak daun minceng yang paling aktif dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 59,622  $\mu\text{g/ml}$  untuk MCF-7 dan 35,313  $\mu\text{g/ml}$  untuk T47D. Ekstrak Etanol daun Minceng kemudian dipartisi dengan etil asetat dan diuji kembali aktivitas sitotoksiknya. Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi yang larut etil asetat lebih aktif dibanding fraksi yang tidak larut etil asetat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 13,474  $\mu\text{g/ml}$  pada MCF-7 dan 7,203  $\mu\text{g/ml}$  pada T47D. Isolasi komponen kimia fraksi larut etil asetat dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) diperoleh 7 fraksi, yaitu fraksi A, B, C, D, E, F dan G, dimana fraksi D yang paling aktif dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 3,636  $\mu\text{g/ml}$  pada MCF-7 dan 2,103  $\mu\text{g/ml}$  pada T47D. Hasil identifikasi komponen kimia secara kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa fraksi D mengandung senyawa terpenoid. Berdasarkan hasil tersebut maka diduga senyawa aktif terhadap cell line MCF-7 dan T47D dari daun minceng adalah senyawa golongan terpenoid.

## Kata Kunci :

Skrining, Sitotoksik, Cell line MCF-7, T47D, *Tithonia grandiflora*

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang dicirikan dengan pertumbuhan dan penyebaran sel secara abnormal. Di Indonesia, menurut hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018, sebanyak 1,79 dari 1000 penduduk Indonesia menderita kanker. Kanker payudara dan leher rahim merupakan jenis kanker tertinggi pada seluruh pasien di Rumah Sakit Indonesia (1)

Tumbuh-tumbuhan memiliki peranan yang penting dalam penemuan obat-obatan baru, terutama obat antikanker (2). Beberapa senyawa yang diisolasi dari tumbuh-tumbuhan telah digunakan dalam penggunaan klinis antara lain; alkaloid vinca, vinkristin, dan vinblastin dari tanaman *Catharanthus roseus* (L), (Apocynaceae) telah berhasil digunakan dalam mengobati berbagai jenis kanker seperti leukemia, lymphoma, kanker payudara, kanker paru, dan Kaposi's sarcoma (3). Derivat semisintesis paclitaxel yaitu docetaxel dan Vinorelbine merupakan contoh obat yang disetujui FDA untuk digunakan dalam pengobatan kanker paru-paru dari derivat semisintesis dari alkaloid vinca (4). Hal tersebut merupakan bukti nyata keberhasilan natural product drug discovery.

Dalam dua dekade terakhir telah dilaporkan berbagai jenis senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antikanker. Senyawa Epipodophyllotoxin (Isomer dari senyawa podophyllotoxin), senyawa antitumor yang diisolasi dari akar tanaman *Podophyllum* spesies (Berberidaceae), Etoposide dan teniposide, senyawa semisintetik turunan

epipodophyllotoxin yang digunakan dalam pengobatan kanker lymphoma, bronkhus dan testis (5). Senyawa baru, seco-phenanthroquinolizidine yang diisolasi dari daun parang romang (*Bohmeria virgata*) menunjukkan efek sitotoksik yang potent terhadap beberapa sel kanker seperti sel kanker paru (A549), sel kanker payudara (MCF-7), sel epidermoid karsinoma (KB), dan sel epidormoid karsinoma resisten terhadap vinkristin (KB-VIN) (6). Selain itu, Senyawa 7-O-methylmearnsitritin (7-OM) dan roseoside A (RA) yang diisolasi dari daun *Leea aequata* memiliki efek toksisitas yang kuat terhadap sel HeLa (7). Penemuan senyawa tersebut merupakan bukti keberhasilan pencarian senyawa-senyawa antikanker dari tumbuhan.

Indonesia, khususnya daerah Sulawesi Selatan kaya akan berbagai sumber daya alam khususnya tumbuhan-tumbuhan yang digunakan sebagai obat-obatan. Tradisi pengobatan dengan menggunakan *sanro* dan ramuan-ramuan obat yang tertuang dalam buku "Lontara Pabbura" menjadi bukti bahwa penggunaan tumbuhan untuk pengobatan telah lama dikenal oleh etnis di Sulawesi Selatan khususnya etnis bugis-makassar.

Menurut hasil penelitian Riset Tumbuhan Obat dan Jamu (RISTOJA) Tahun 2012 yang dilakukan pada 11 etnis (14 titik pengamatan) yang ada di Sulawesi Selatan yang meliputi Etnis Ammatoa/Kajang (Bulukumba), Bugis (Bone dan Pinrang), Makassar (Gowa dan Je'neponto), Massenrempulu

Masuk 11-08-2023

Revisi 14-08-2023

Diterima 29-08-2023

DOI: 10.20956/mff.v27i2.28251

## Korespondensi

Abdul Rahim

abdulrahim@unhas.ac.id

## Copyright

© 2023 Majalah Farmasi Farmakologi Fakultas Farmasi Makassar

Diterbitkan tanggal

31 Agustus 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



(Enrekang), Toraja (Rantepao dan Makale), Tolotang (Sidrap), Tobalo (Barru), Karampuang (Sinjai), Selayar (Selayar), Tobento (Luwu) dan Torampi (Luwu Utara) diperoleh 657 jenis ramuan, baik berupa tanaman tunggal atau campuran yang digunakan untuk mengobati berbagai penyakit (17 ramuan digunakan untuk pengobatan kanker/tumor) (8, 9). Sedangkan pada Ristoja Tahun 2015 yang dilaksanakan pada 5 etnis terpilih yaitu etnis Konjo (Sinjai), Pattae (Maros), Duri (Enrekang), Wotu (Luwu Timur), dan Seko (Luwu Utara) diperoleh diperoleh 598 ramuan (19 ramuan untuk pengobatan penyakit kanker/tumor) (10). Beberapa tumbuhan obat yang biasa terdapat dalam ramuan obat antikanker yang digunakan oleh etnis di Sulawesi Selatan dapat terlihat pada tabel 1. Hasil penelusuran literatur, beberapa tumbuhan obat yang terdapat dalam ramuan tersebut (Tabel 2) belum banyak diteliti aktivitas farmakologinya sebagai antikanker terutama kanker payudara.

**Tabel 1.** Rekapitulasi Tumbuhan obat yang digunakan oleh beberapa etnis di Sulawesi Selatan untuk pengobatan kanker (8, 9, 10)

NO	Nama Daerah	Nama Latin	Cara Pemakaian
1	Alang-alang	<i>Imperata cylindrica</i> L.	Oral
2	Bambang epa	<i>Cleome viscosa</i> L.	Topikal
3	Bangkabani (dako - dako)	-	Topikal
4	Barrang-barrang	<i>Drynaria quercifolia</i> (L.) J.Sm	Oral
5	Batang Sereh	<i>Andropogon citrates</i>	Oral
6	Bitassu	-	Topikal
7	Bu'ne	<i>Antidesma bunius</i> L.	Oral
8	Caleo	<i>Jatropha curcas</i>	Topikal
9	Cambarinono	-	Oral
10	Cenrana	<i>Santalum album</i>	Oral
11	Daun jeruk bali	<i>Citrus maxima</i> L.	Oral
12	Daun Malaciu	<i>Loranthus sp.</i>	Topikal
13	Gandi-gandi	<i>Lantana camara</i> L.	Topikal
14	Kaddorobuku	<i>Justicia gandarusa</i> L.	Oral
15	Kai sule	-	Topikal
16	Kasumba turate	<i>Carthamus tinctorius</i>	Oral
17	Katangka	-	Topikal
18	Katimbang kacalla	<i>Brucea javanica</i> L.	Topikal
19	Korrong-korrong	<i>Borreria ocyroides</i> (Burm.F) CD	Topikal (Payudara)
20	Lasuna cella	<i>Allium cepa</i>	Topikal
21	Latette	-	Topikal
22	Leme	<i>Centella asiatica</i> L.	Topikal (Payudara)
23	Minceng	-	Oral
24	Pelleng	<i>Aleurites moluccanus</i>	Topikal
25	Pololupa'	<i>Physalis angulata</i> Wild.	Oral
26	Porrok Tongka	-	Topikal (payudara)
27	Pucuk Merah	<i>Eupatorium triplinerve</i>	Oral
28	Rampu-rampu	-	Oral
29	Jahe	<i>Zingiber officinale</i>	Oral
30	Sirih	<i>Piper betle</i> L.	Topikal
31	Tabo-tabo/salo	<i>Ficus septica</i> L.	Topikal
32	Tahasa cina	-	Oral
33	Unyi	<i>Curcuma domestica</i> L.	Oral dan Topikal
34	Wijen/Langnga	<i>Sesamum indicum</i> L.	Topikal

Berdasarkan uraian tersebut, telah dilakukan pengujian terhadap beberapa tumbuhan obat terpilih yang terdapat dalam ramuan yang digunakan oleh battra pada beberapa etnis di Sulawesi Selatan terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan T47D. Upaya ini diharapkan menjadi tahap awal dalam pencarian senyawa aktif antikanker yang baru. Walaupun saat ini telah banyak ditemukan obat antikanker, namun efek dari obat antikanker yang digunakan saat ini menunjukkan efek samping yang berbahaya bagi pasien. Selain itu, beberapa jenis kanker menunjukkan resistensi terhadap obat antikanker yang digunakan. Memperhatikan hal tersebut, upaya pencarian obat-obat antikanker yang baru masih terus dilakukan untuk mendapatkan obat antikanker baru yang lebih aman dan selektif (tidak mengganggu pertumbuhan sel normal).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat ekstraksi, alat uji antiproliferasi: scintillation -counter dan Elisa Reader, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat kromatografi kolom cair vakum (KCV), micropipette (Soccorex) dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan adalah, lempeng KLT Silika gel 60 F<sub>254</sub> (E. Merck), pelarut-pelarut organik (E. Merck), silika gel 60 F<sub>254</sub>, Human cell line yaitu T47D dan MCF-7, yang diperoleh dari laboratorium B2P2TOOT Tawangmangu, 96 wellplate, Doksorubisin, DMEM, RPMI 1640, PBS. Pewarna: MTT, Hoeschst & Propidium iodida, 3H Thyimidin, dapar fosfat, dan asam trikloroasetat.

### Pengambilan dan Pengolahan Sampel

#### Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan obat terpilih yang digunakan oleh battra dalam pengobatan kanker (tabel 2). Sampel diperoleh dari etnis Toraja, Bugis, Makassar, dan Ammatoa (kajang).

**Tabel 2.** Tumbuhan obat terpilih dari ramuan obat antikanker/tumor yang digunakan oleh battra pada beberapa etnis di Sulawesi Selatan (8, 9, 10)

NO	Nama Daerah	Nama Latin	Bagian TO	Cara Pemakaian
1	Bambang epa	<i>Cleome viscosa</i> L.	Daun	Topikal
2	Barrang-barrang	<i>Drynaria quercifolia</i> (L.) J.Sm	Umbi	Oral
3	Sereh dapur	<i>Andropogon citrates</i>	Batang	Oral
4	Bu'ne	<i>Antidesma bunius</i> L.	Daun	Oral
5	Caleo	<i>Jatropha curcas</i>	Daun	Topikal
6	Cambarinono	-	Daun	Oral
7	Korrong-korrong	<i>Borreria ocyroides</i> (Burm.F) CD	Herba	Topikal
8	Minceng	<i>Tithonia grandiflora</i> (Hemsl.) Gray	Daun	Oral
9	Pelleng	<i>Aleurites moluccanus</i>	Isi biji	Topikal
10	Pucuk Merah	<i>Eupatorium triplinerve</i>	Daun	Oral
11	Porrok Tongka	-	Daun	Topikal (payudara)

#### Pengolahan Sampel

Sampel dikumpulkan, disortasi basah, kemudian dicuci dengan air untuk menghilangkan debu, tanah, dan kotoran yang lain. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan

menggunakan oven pada suhu 60°C. Setelah kering dibuat serbuk yang siap untuk pengujian selanjutnya.

### Uji Mutu Tumbuhan Obat

#### Susut Pengerinan Simplisia

Ditimbang seksama 2 gram serbuk simplisia dalam botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan selama 30 menit dan telah ditara. Diratakan serbuk simplisia dalam botol timbang hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. dimasukkan ke dalam oven, dibuka tutupnya, dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar, dilakukan hingga bobot tetap (11).

#### Kadar Sari Larut Air

Ditimbang seksama sebanyak 5 g serbuk simplisia, dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air-kloroform menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. disaring, diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air (11).

#### Kadar Sari Larut Etanol

Ditimbang sebanyak 5 g serbuk simplisia, dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 95% menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring cepat untuk menghindari penguapan, diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara. Dipanaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut etanol (11).

#### Pembuatan Ekstrak

Simplisia tumbuhan terpilih diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% (1 bagian simplisia dalam 10 bagian etanol). Dibiarkan selama 24 jam terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, ampasnya diekstraksi kembali dengan pelarut etano 70% dengan cara dan perlakuan yang sama sebanyak tiga kali. Ekstrak etanol yang diperoleh digabung kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental. Masing-masing ekstrak kemudian diuji aktivitas sitotoksiknya pada cell line MCF-7 dan T-47D.

#### Uji Aktivitas Sitotoksik

Cell line masing-masing dikulturkan di dalam flacon flask sesuai dengan modifikasi metode (7), menggunakan media RPMI 1640 (sigma) dengan fetal bovin serum (FBS) 10%, penisilin-streptomisin 2% dan fungison 0,5%, pada suhu 37°C dengan aliran udara CO<sub>2</sub> 5%. Setelah kerapatan sel mencapai 60-70% media dapat diganti dan satu hari berikutnya dapat dipanen. Suspensi sel yang diperoleh dapat digunakan sebagai bahan uji. Kerapatan sel dihitung dengan hemocytometer, jumlah sel yang digunakan 2 x 10<sup>4</sup>/100 µl tiap sumuran. Sebanyak 100 µl sel dengan kepadatan 2 x 10<sup>4</sup> sel/100 µl didistribusikan ke dalam mikroplate sumuran 96 dan diinkubasi overnight bersama sampel dengan seri kadar berbeda, yang telah berisi media RPMI 1640 pada inkubator dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C.

Sebagai kontrol positif 100 µl suspensi sel ditambahkan dalam sumuran yang berisi media RPMI 1640 dan doksorubisin dengan seri kadar berbeda. Sedangkan untuk kontrol negatif 100 µl suspensi sel ditambahkan ke dalam sumuran yang berisi medium RPMI 1640. Untuk kontrol

DMSO, 100 µl suspensi sel ditambahkan kedalam sumuran yang berisi medium RPMI 1640 dan DMSO dengan kadar yang berbeda. Untuk kontrol medium, 100 µl medium RPMI 1640 ditambahkan kedalam sumuran. Kemudian diinkubasi dengan perlakuan yang sama dengan sampel, yaitu diinkubasi overnight pada inkubator dengan 5% aliran CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C.

Setelah diinkubasi, masing-masing sumuran ditambahkan MTT 10 µl, kemudian diinkubasi 4 jam. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan pereaksi penghenti (stop solution) SDS 10% dalam HCl 0,01 N. Serapan (A = absorbansi) dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm.

Semua data pengamatan yang telah terkumpul diolah dan dihitung persentase sel hidup (% viabilitas sel) dengan rumus:

$$\% \text{ viabilitas} = \frac{((A \text{ perlakuan} - A \text{ media}))}{((A \text{ kontrol sel} - A \text{ media}))} \times 100 \%$$

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan analisis probit. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak minceng (*Tithonia grandiflora*) memiliki aktivitas sitotoksik paling tinggi (IC<sub>50</sub> paling kecil) baik pada cell line MCF-7 maupun T47D.

#### Partisi dan Fraksinasi Senyawa aktif

##### Partisi Sampel

Ekstrak Etanol Minceng dipartisi dengan pelarut etil asetat sehingga diperoleh fraksi yang larut etil asetat dan tidak larut etil asetat. Selanjutnya masing-masing fraksi dimonitor komponen kimianya secara KLT dan diuji kembali aktivitas sitotoksiknya terhadap sel MCF-7 dan T47D

##### Fraksinasi sampel

Sebanyak 2,5 g fraksi larut etil asetat daun Minceng difraksinasi lebih lanjut dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KCV) menggunakan fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak dengan gradient kepolaran yang meningkat yaitu n-heksan, n-heksan:etilasetat 25:1, 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 1:1, 1:5, 1:10, etil asetat dan etil asetat : MeOH 1:1. Fraksi yang diperoleh ditampung dan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase diam silika gel 60 GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksan :etil asetat (4:1). Fraksi yang memiliki kesamaan profil klt digabung menjadi satu. Hasil fraksinasi diperoleh 7 fraksi gabungan, yaitu fraksi A (1-6), B (7), C (8-9), D (10), E (11-12), F (13-15) dan G (16). Fraksi gabungan yang diperoleh kemudian diuji kembali aktivitas sitotoksiknya pada cell line MCF-7 dan T47D. Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi D yang paling aktif dibandingkan fraksi yang lain.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian skrining aktivitas sitotoksik beberapa tumbuhan obat yang digunakan oleh etnis di Sulawesi Selatan terhadap cell line MCF-7 dan T47D dimaksudkan untuk menguji aktivitas sitotoksik beberapa tumbuhan obat terpilih (Tabel 3) yang digunakan oleh battra dalam ramuan obat antikanker/tumor. Tumbuhan tersebut dipilih karena berdasarkan hasil penelusuran literatur belum banyak diteliti aktivitas farmakologi obat antikanker, terutama pada kanker payudara.

Untuk pengujian kanker payudara, digunakan sel line MCF-7 dan T47D sebagai model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian dan secara molekular dikelompokkan sebagai luminal A (ER+/PR+/HER2-). MCF-7 adalah wild-type dari P53, sedangkan T47D merupakan mutan P53 yang berperan dalam peristiwa apoptosis

Tahap awal penelitian dimulai dengan penentuan mutu simplisia yang akan digunakan dalam penelitian. Pengujian mutu simplisia yang dilakukan meliputi uji susut pengeringan, kadar sari larut air dan larut etanol. Hasil pengujian mutu simplisia dapat terlihat pada tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil penentuan susut pengeringan simplisia

No	Nama sampel		Susut pengeringan	Uji Simplisia Kadar sari (%)	
	Nama Daerah	Nama Latin		b/b Larut air	Larut etanol
1	Bambang epa	<i>Cleome viscosa</i> L.	6,62	18,79	6,62
2	Barrang-barrang	<i>Drynaria quercifolia</i> (L.) J.Sm	8,49	21,93	9,04
3	Sereh dapur	<i>Andropogon citrates</i>	8,93	29,74	9,19
4	Bu'ne	<i>Antidesma bunius</i> L.	9,87	4,47	2,63
5	Caleo	<i>Jatropha curcas</i>	8,88	13,80	4,04
6	Cambarinono		7,25	15,39	5,04
7	Korong-korong	<i>Borreria ocyroides</i> (Burm.F) CD	8,18	16,68	7,02
8	Minceng	<i>Tithonia grandiflora</i> (Hemsl.) A. Gray)	9,10	41,36	6,49
9	Pelleng	<i>Aleurites moluccanus</i>	2,48	28,45	3,37
10	Pucuk Merah	<i>Eupatorium triplinerve</i>	8,47	19,04	3,19
11	Porrok Tongka		5,13	39,66	11,70

Hasil pengujian mutu simplisia menunjukkan bahwa susut pengeringan untuk semua simplisia yang digunakan telah memenuhi persyaratan Famakope Herbal Indonesia (FHI), yaitu tidak lebih dari 10% v/b. Untuk Pengujian kadar sari larut air dan etanol dimaksudkan untuk mengetahui komposisi senyawa polar dan nonpolar yang terdapat dalam simplisia yang digunakan. Hasil pengujian diperoleh kadar sari larut air untuk semua simplisia lebih tinggi dibandingkan kadar sari larut etanol. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi senyawa polar dalam simplisia lebih tinggi dibanding senyawa yang nonpolar/semipolar.

Ekstraksi komponen kimia dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Selain kurang toksik, pelarut etanol merupakan pelarut yang disarankan dalam Farmakope Herbal Indonesia. Masing-masing ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas sitotoksiknya pada cell line kanker payudara MCF-7 dan T47D. Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT assay, dimana nilai IC<sub>50</sub> diperoleh melalui analisis probit. Hasil uji sitotoksik disajikan pada tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil pengujian sitotoksik beberapa tumbuhan obat terpilih

No	Nama sampel		IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
	Nama Daerah	Nama Latin	MCF-7	T47-D
1	Bambang epa	<i>Cleome viscosa</i> L.	>500	>500
2	Barrang-barrang	<i>Drynaria quercifolia</i> (L.) J.Sm	>500	>500
3	Sereh dapur	<i>Andropogon citrates</i>	>500	>500
4	Bu'ne	<i>Antidesma bunius</i> L.	412,62	155,92
5	Caleo	<i>Jatropha curcas</i>	>500	165,69
6	Cambarinono		461,92	>500
7	Korong-korong	<i>Borreria ocyroides</i> (Burm.F) CD	>500	>500
8	Minceng	<i>Tithonia grandiflora</i> (Hemsl.) A. Gray)	59,62	35,31
9	Pelleng	<i>Aleurites moluccanus</i>	>500	>500
10	Pucuk Merah	<i>Eupatorium triplinerve</i>	>500	>500
11	Porrok Tongka		>500	>500

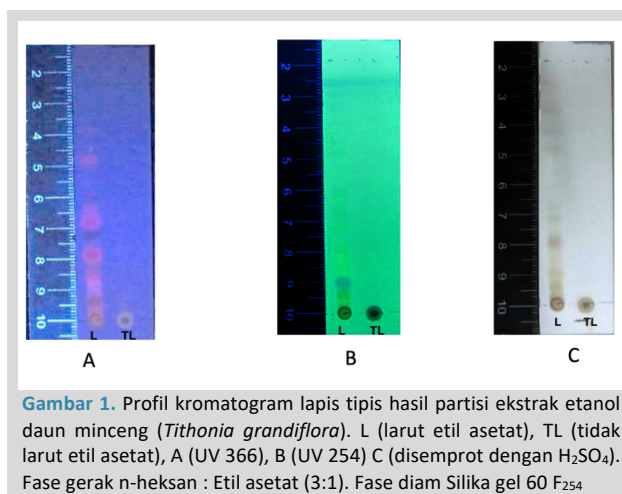
Hasil uji sitotoksitas menunjukkan bahwa sampel daun Minceng (*Tithonia grandiflora* (Hemsl.) a Gray) memiliki aktivitas sitotoksik yang paling tinggi dibanding sampel yang lain, yaitu untuk MCF-7 sebesar 59,622 µg/ml dan T47D sebesar 35,313 µg/ml (tabel 5). Untuk nilai IC<sub>50</sub> >500 µg/ml berarti bahwa pada konsentrasi tertinggi yang digunakan (500 µg/ml) belum mampu menghambat 50% sel uji.

Menurut American Cancer Institute, dikatakan suatu ekstrak kasar (crude extract) memiliki aktifitas sitotoksik dan dipertimbangkan untuk dimurnikan jika memiliki nilai IC<sub>50</sub> lebih kecil dari 30 µg/ml (12). Walaupun tidak memenuhi persyaratan tersebut, ekstrak daun Minceng dipilih untuk dipartisi dan difraksinasi lebih lanjut dengan pertimbangan kemungkinan setelah difraksinasi aktivitasnya akan lebih meningkat.

**Tabel 5.** Hasil uji sitotoksik fraksi larut etil asetat dan tidak larut etil asetat daun munceng (*Tithonia grandiflora*)

No	Sampel	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
		MCF-7	T47D
1	Fraksi larut Etil asetat	13,474	7,203
2	Fraksi tidak larut etil asetat	>100	>100

Ekstrak etanol daun Minceng yang paling aktif selanjutnya dipartisi dengan etil asetat. Hasil partisi diperoleh fraksi yang larut etil asetat dan tidak larut etil asetat. Kedua fraksi tersebut dimonitor komponen kimianya dengan kromatografi lapis tipis untuk menunjukkan adanya perbedaan komponen kimia pada kedua ekstrak tersebut. Kedua fraksi tersebut kemudian diuji kembali aktivitasnya terhadap cell line MCF-7 dan T47D dan diperoleh hasil pada tabel 5.



**Gambar 1.** Profil kromatogram lapis tipis hasil partisi ekstrak etanol daun munceng (*Tithonia grandiflora*). L (larut etil asetat), TL (tidak larut etil asetat), A (UV 366), B (UV 254) C (disemprot dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Fase gerak n-heksan : Etil asetat (3:1). Fase diam Silika gel 60 F<sub>254</sub>

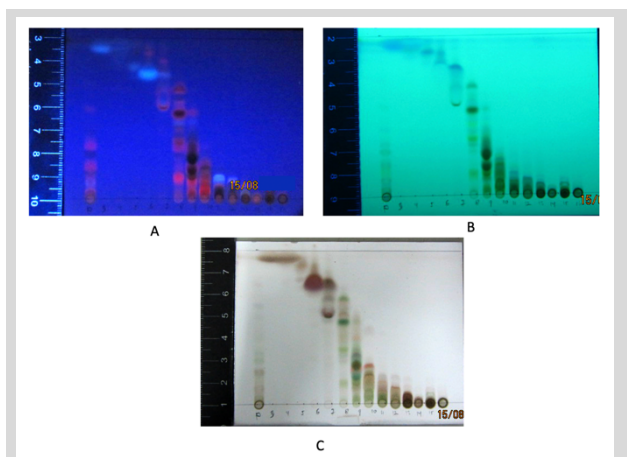
Hasil identifikasi secara klt menunjukkan bahwa komponen kimia dalam fraksi larut etil asetat dan tidak larut etil asetat berbeda sehingga nilai IC<sub>50</sub> untuk cell line MCF-7 dan T47D menunjukkan hasil yang berbeda. Hasil pengujian ini diperoleh bahwa fraksi larut etil asetat lebih aktif dibanding fraksi yang tidak larut etil asetat. Nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh lebih rendah dari ekstrak awal. Hal ini berarti komponen kimia yang memiliki aktivitas sitotoksik terdapat pada fraksi larut etil asetat.

**Tabel 6.** Hasil uji sitotoksik hasil fraksinasi fraksi larut etil asetat daun Minceng (*Tithonia grandiflora*)

No	Sampel	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
		MCF-7	T47D
1	FA	>100	>100
2	FB	>100	>100
3	FC	7,477	5,592
4	FD	3,636	2,103
5	FE	8,728	8,884
6	FF	12,173	14,937
7	FG	15,272	17,492

Fraksi larut etil asetat selanjutnya difraksinasi kembali menggunakan metode kromatografi kolom cair vakum menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak n-heksan etil asetat dengan gradient kepolaran yang meningkat. Hasil fraksinasi diperoleh 7 fraksi gabungan, yaitu fraksi A (1-6) = 0,1407 g; fraksi B (7) = 0,0723 g; fraksi C (8-9) = 0,4216 g; fraksi D (10) = 0,280 g; fraksi E (11-12) = 0,816 g; fraksi F (13-16) = 0,3968 g dan fraksi G (16) = 0,2646 g. Kromatogram

lapis tipis hasil fraksinasi ekstrak larut etil asetat Minceng terlihat pada gambar 2.

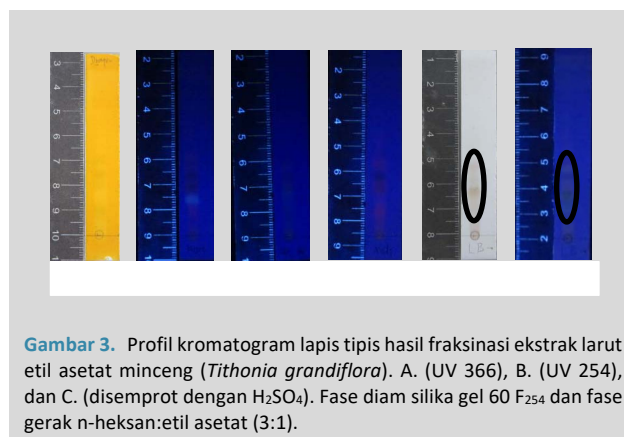


**Gambar 2.** Profil kromatogram lapis tipis hasil fraksinasi ekstrak larut etil asetat minceng (*Tithonia grandiflora*). A. (UV 366), B. (UV 254), dan C. (disemprot dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksan:etil asetat (3:1).

Masing-masing fraksi kemudian diuji kembali aktivitas sitotoksiknya terhadap cell line MCF-7 dan T47D sebagaimana hasilnya dapat terlihat pada tabel 6. Berdasarkan hasil pengujian ini diperoleh bahwa fraksi D yang paling aktif dibandingkan dengan fraksi lain dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 3,636 µg/ml pada MCF-7 dan 2,103 µg/ml pada T47D. Identifikasi komponen kimia dengan menggunakan beberapa pereaksi semprot KLT menunjukkan hasil positif dengan pereaksi Libermann-burchard (bercak berwarna merah-coklat atau berfluoresensi merah pada UV366) sebagaimana dapat terlihat pada gambar 3. Dengan demikian senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas sitotoksik adalah senyawa golongan terpenoid. Hal ini sesuai dengan penelusuran pustaka dimana tumbuhan genus dari *Tithonia* dilaporkan adanya beberapa senyawa terpenoid yang menunjukkan aktivitas antikanker, salah satunya adalah senyawa sesquiterpenoid yaitu Tagitinin C dari *Tithonia diversifolia* yang aktif terhadap sel kanker kolorektal (13) serta aktivitas antimetastasis terhadap sel hepatokarsinoma pada model hewan coba mencit (14). Meskipun secara pasti mekanisme kerjanya belum diketahui, tetapi diduga aktivitas antikanker senyawa tagitinin C dengan meningkatkan kemampuan autophagi sel (15).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari 11 tumbuhan obat yang ditemukan dalam ramuan obat antikanker yang digunakan oleh battra pada beberapa etnis di Sulawesi Selatan, daun Minceng (*Tithonia grandiflora*) yang aktif terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan T47D. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun minceng diperoleh fraksi D yang menunjukkan aktivitas sitotoksik dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 3,636 µg/ml pada MCF-7 dan 2,103 µg/ml pada T47D. Senyawa aktif dari daun minceng yang diduga aktif terhadap sel MCF-7 dan T47D adalah senyawa golongan terpenoid.



**Gambar 3.** Profil kromatogram lapis tipis hasil fraksinasi ekstrak larut etil asetat minceng (*Tithonia grandiflora*). A. (UV 366), B. (UV 254), dan C. (disemprot dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksan:etil asetat (3:1).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Jenderal Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian kesehatan RI yang telah mendanai kegiatan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Penyusun, T. (2018). Profil Kesehatan Indonesia 2018. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
2. Newman, D.J., Cragg, G.M. (2019) Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* 2020;83:770–803. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285
3. Unnati, S., Ripal, S., Sanjeev, A., & Niyati, A. (2011). Novel Anticancer Agents from Plant Sources. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 16-23.
4. Ruiz-Ceja, K.A., Chirino, Y.I. (2017) Current FDA-approved treatments for non-small cell lung cancer and potential biomarkers for its detection. *Biomed. Pharmacother.* 90:24–37. doi: 10.1016/j.biopha.2017.03.018
5. Hung, H.-Y., Nakagawa-Goto, K., Tokuda, H., Iida, A., Suzuki, N., Bori, I. D., et al. (2014). A-ring modified betulinic acid derivatives as potent cancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14, 1005-1008.
6. Rahim, A., Saito, Y., Miyake, K., Goto, M., Goto, K N. (2021). Novel seco-phenanthroquinolizidine alkaloids from Indonesian *Boehmeria virgata*. *Phytochemistry Letters* 45, 132-136
7. Rahim, A., Mostofa, M.G., Sadik, M.G., Rahman, M.A.A., Khalil, M. I., Tsukahara, T., Goto, K. N & Alam, A. K (2021). The anticancer activity of two glycosides from the leaves of *Leea aequata* L., *Natural Product Research*, 35:24, 5867-5871, DOI: 10.1080/14786419.2020.1798661
8. Penyusun, T. (2012). Riset Tumbuhan Obat dan Jamu (RISTOJA), Kementerian Kesehatan RI.
9. Agustina, R., Rahim, A., Kahar., Asrianni, Saud, A. 2012. Riset Khusus Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin Dan Tumbuhan Obat Di Etnis Ammatoa Sulawesi Selatan, RISTOJA, Kementerian Kesehatan RI.
10. Penyusun, T. (2015). Riset Tumbuhan Obat dan Jamu (RISTOJA) lanjutan, Kementerian Kesehatan RI.
11. Kementerian Kesehatan RI, (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, Jakarta: Kementerian Kesehatan RI
12. Torres, M.R., Sousa, A.P.A., Pessoa, C., and Costalatufu, L.V. 2005, Biological Activity of Aqueous and Organic Extracts of Seaweeds from Ceare State, Brazil. *Arq. Clie. Mar, Fortaleza*, 38: 55 – 63
13. Wei R, Zhao Y, Wang J, et al. (2022) Tagitinin C induces ferroptosis through PERK-Nrf2-HO-1 signaling pathway in colorectal cancer cells. *International Journal of Biological Sciences*. 2021 ;17(11):2703-2717. DOI: 10.7150/ijbs.59404. PMID: 34345202; PMCID: PMC8326123
14. Lin, C.-Y.; Liao, M.-H.; Yang, C.-Y.; Chang, C.-K.; Hsu, S.-M.; Juang, C.-L.; Wen, H.-C. (2022) .Anti-Metastatic Activity of Tagitinin C from *Tithonia diversifolia* in a Xenograft Mouse Model of Hepatocellular Carcinoma. *Livers* , 2, 400–411. <https://doi.org/10.3390/livers2040030>
15. Au, T.H.; Skarbek, C.; Pethe, S.; Labruere, R.; Baltaze, J.P.; Nguyen, T.P.H.; Vu, T.T.H.; Thanh, G.V. (2011), Structural modification and biological activity studies of tagitinin C and its derivatives. *Fitoterapia*, 82, 331–341. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2021.132248>

**Sitasi artikel ini:** Rahim A, Alam G, Agustina R, Habibie, Ismail, Raihan M, Azwar ARM, Haryanti S. Skrining Aktivitas Sitotoksik beberapa Tumbuhan Obat yang digunakan Etnis di Sulawesi Selatan terhadap Cell Line MCF-7 dan T47D *MFF* 2023;27(2):58-62