

**AKTIVITAS ANTIPROLIFERASI SENYAWA KALKON
DARI DAUN JAMBU AIR (*Eugenia aquea* Burm f.)
TERHADAP SEL KANKER PROSTAT DU145**

Noni Cahyana, Anas Subarnas, Yuni Elsa Hadisaputri

Universitas Padjadjaran Bandung, Jl. Raya Bandung Sumedang
km 21, Jatinangor, Jawa Barat, Indonesia
Email : nonicahyana@gmail.com

ABSTRAK

Senyawa kalkon telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis terhadap beberapa sel kanker, diantaranya adalah terhadap sel kanker ovarium (Qi *et al.*, 2014), hati (SMMC-7721) (Ye *et.al.*, 2004), HeLa (Zi *et.al.*, 2005) dan payudara MCF-7 (Subarnas *et al.*, 2012). Telah dilakukan uji aktivitas penghambatan senyawa kalkon 2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone dari daun jambu air *Eugenia aquea* Burm f. terhadap sel kanker prostat DU145 dengan pengamatan profil pertumbuhan sel menggunakan metoda MTS *assay*. Hasil uji MTS menghasilkan nilai IC₅₀ pada pengamatan 24 jam adalah sebesar 7,47 µg/mL dan pada pengamatan 48 jam sebesar 5,84 µg/mL.

Kata kunci: Kanker payudara, Kalkon, Kanker prostat, DU145, MTS *assay*.

ABSTRACT

Chalcone has been reported that it has pharmacology activity towards cancer cells, one of them is ovarium (Qi et al., 2014), liver (SMMC-7721), HeLa (Zi et.al., 2005), and breast cancer cell line MCF-7(Subarnas et al., 2012). This research has conducted the activity test of chalcone 2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone inhibition from Eugenia aquea Burm.f. leaves towards lung cancer cell A549 by observation of cell growth profile using MTS assay technique. The result of MTS test showed the value of IC₅₀ at 24 hours observation was 7.47 µg/mL and meanwhile, at 48 hours observation was 5.84 µg/mL.

Keywords: Breast cancer, Kalkon, prostate cancer, DU145, MTS *assay*.

PENDAHULUAN

Angka kejadian dan kematian akibat penyakit kanker dewasa ini semakin meningkat. Lebih dari 7 juta orang per tahun kematian di dunia disebabkan oleh kanker (Pilatova,2010). Di Indonesia angka kejadian

penyakit kanker secara nasional pada tahun 2013 dari semua golongan umur penduduk adalah sebesar 1,4‰ atau diperkirakan sekitar 347.792 orang. (Kementerian Kesehatan, 2015).

Kanker prostat merupakan kanker yang berkembang pada kelenjar prostat yang terdapat pada sistem reproduksi laki-laki. Kanker prostat adalah keganasan yang paling umum dan penyebab utama kedua kematian akibat kanker pada pria Amerika. Kejadian kanker prostat sangat luas di seluruh dunia. The American Cancer Society awalnya meramalkan 334.500 kasus baru dan 41.800 kematian akibat kanker prostat pada tahun 1997. Pada tahun 2012, kanker prostat menduduki ranking kedua kejadian paling sering pada pria, dengan angka 1,1 juta kasus baru di seluruh dunia (Torre, 2015).

Beberapa strategi dapat dilakukan dalam penemuan obat antikanker baru, diantaranya adalah pencarian senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker secara spesifik, isolasi senyawa aktif dari bahan alam, dan sintesis senyawa organik yang memiliki aktivitas antikanker. Sampai saat ini banyak senyawa metabolit sekunder dan turunannya yang berasal dari bahan alam telah diaplikasikan dalam terapi penyakit kanker (Newman et al., 2003; Butter, 2004). Senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas anti kanker berasal dari berbagai golongan diantaranya golongan flavonoid. Kalkon dan turunannya merupakan senyawa yang termasuk dalam golongan flavonoid, dan dianggap sebagai kandidat obat baru dalam kapasitasnya sebagai antitumor, antibakterial, dan antiinflamatory (Shah, et al., 2008).

Senyawa kalkon telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis terhadap

beberapa sel kanker, diantaranya adalah *tetramethoxychalcone* dapat menekan proliferasi, memblokir siklus sel, dan menginduksi apoptosis sel kanker ovarium (Qi et al., 2014). Penelitian *in vitro* *2,4-dihydroxy-3,5-dimethyl-6-methoxychalcone* menunjukkan efek sitotoksik pada sel kanker karsinoma hati SMMC-7721 (Ye et al., 2004) dan *2,4-dihydroxy-4-methoxychalcone* memiliki aktivitas sitotoksik dengan efek apoptosis pada sel HeLa (Zi et al., 2005).

Subarnas et al., (2015) melaporkan bahwa senyawa kalkon dari daun jambu air, yaitu *2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone* dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-57 dengan IC_{50} 74,5 μ g/mL. Untuk mengetahui potensi senyawa kalkon *2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone* sebagai kandidat obat untuk penyakit kanker, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji aktivitas antiproliferasinya terhadap sel-sel kanker lain, karena setiap sel kanker mempunyai karakteristik dan spesivitas yang berbeda. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antiproliferasi kalkon yang diperoleh dari daun jambu air ini terhadap sel kanker prostat DU 145 dengan metode MTS.

Bahan dan Metode

Bahan Isolat

Bahan yang digunakan adalah senyawa kalkon (*2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone*) yang diisolasi dari daun jambu air (*Eugenia aquea* Burn f.) oleh peneliti sebelumnya (Subarnas, et al., 2015).

Sel Line Kanker

Sel kanker manusia yang digunakan adalah sel kanker prostat DU145 yang merupakan koleksi Laboratorium Pusat Studi *Drug Discovery and Product Development* Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Bahan Kimia

Media kultur RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640, FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10%, *Cell Counting Kit-8* (CCK-8), Fetal Bovine Serum (FBS), antibiotik penisilin-streptomisin 5%, aquadest, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), aquadest, tripsin-EDTA 0,25%, Tripian Blue, *buffer lysis, phenol klorofoam isoamil alcohol* (PCL), Etanol 70%, *choloroform isoamil alcohol* (CL), *ethanol absolute, ammonium asetat* (7,5 M).

Uji sitotoksitas dengan metode MTS assay

Sel didistribusikan ke dalam sumuran (10.000 sel DU145/sumuran) kemudian diinkubasi hingga keadaan normal kembali. Setelah itu sel diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam pada inkubator 5% CO₂ dengan suhu 37°C. Pada akhir inkubasi, ke dalam masing-masing sumuran ditambahkan 100 µl MTS 5 mg/ml dalam media. Diinkubasi kembali selama 4 jam. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTS membentuk warna orange. Reaksi MTS dihentikan dengan reagen stopper (HCl 10% dalam SDS), diinkubasi semalam pada suhu kamar. Serapan dibaca dengan menggunakan *micro plate reader* pada panjang gelombang 450 nm dengan *reference* 620 nm.

Analisis Data IC₅₀

Perhitungan IC₅₀ data absorbansi dikonversi ke dalam persen sel hidup. Persen sel hidup dihitung menggunakan rumus : Nilai viabilitas masing-masing sel pada perlakuan isolat dengan konsentrasi tertentu dianalisa dengan persamaan regresi linier untuk mendapatkan nilai IC₅₀ (konsentrasi tertentu yang menghasilkan 50% sel viabel).

Hasil

Uji sitotoksitas dengan MTS assay

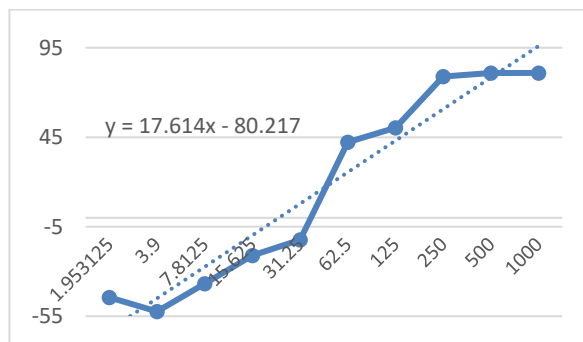
Pada uji sitotoksitas isolat senyawa kalkon dari daun jambu air, hasil yang diperoleh menunjukkan senyawa kalkon daun jambu air bersifat toksik dapat menghambat pertumbuhan sel kanker yang ditunjukkan dengan efek toksik meningkat seiring peningkatan konsentrasi (gambar 1). Hasil analisis dengan regresi linier diperoleh nilai IC₅₀ untuk sel kanker DU 145.

Tabel 1 Persentase penghambatan proliferasi sel kanker prostat DU145 oleh senyawa kalkon *2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethyl-chalcone* daun jambu air pada pengamatan 24 jam

Konsent -rasi	Rata-rata Absorbansi		Pengham -batan Prolifera si (%)
	Kontrol Negatif	Sampel Uji	
1000	0,72	0,14	80,93
500	0,77	0,15	80,83
250	0,75	0,16	78,92
125	0,77	0,34	50,28
62,5	0,84	0,42	42,27
31,25	0,68	0,89	-12,21
15,625	0,70	0,76	-20,97
7,8125	0,70	0,91	-36,70
3,9	0,81	1,31	-52,34
1,9	0,68	0,98	-44,39

Berdasarkan Tabel 1 kemudian dibuat grafik regresi linier hubungan antara konsentrasi dengan presentase penghambatan proliferasi seperti yang terlihat pada Gambar 1, dan diperoleh persamaan garis $y = 17,614x - 80,217$. Dari persamaan garis tersebut dihitung nilai IC_{50} dengan memasukkan nilai y sebesar 50% sehingga diperoleh nilai X yaitu 7,392813

Hasil dari perhitungan tersebut, IC_{50} antiproliferasi *2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethyl-chalcone* terhadap sel kanker prostat DU145 pada pengamatan 24 jam adalah sebesar 7,39 $\mu\text{g/mL}$.



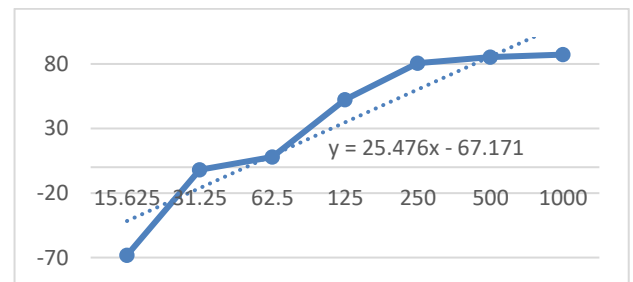
Gambar 1 Efek antiproliferasi sel kanker prostat DU145 oleh senyawa kalkan *2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethyl-chalcone* daun jambu air *Eugenia aquea burm f.* pada pengamatan 24 jam.

Berdasarkan Tabel 2 kemudian dibuat grafik regresi linier hubungan antara konsentrasi dengan presentase penghambatan proliferasi seperti yang terlihat pada Gambar 1, dan diperoleh persamaan garis $y = 25,476x - 67,171$. Dari persamaan garis tersebut dihitung nilai IC_{50} dengan memasukkan nilai y sebesar 50% sehingga diperoleh nilai X yaitu 4,59927.

Tabel 2 Persentase penghambatan proliferasi sel kanker prostat DU145 oleh senyawa kalkan

2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethyl-chalcone daun jambu air pada pengamatan 48 jam

Konsentrasi	Rata-rata Absorbansi		Penghambatan Proliferasi (%)
	Kontrol Negatif	Sampel Uji	
1000	0,72	0,09	87,24
500	0,69	0,10	85,28
250	0,66	0,13	80,54
125	0,74	0,35	52,21
62,5	0,69	0,63	8,00
31,25	0,66	0,67	-1,91
15,625	0,73	1,23	-68,23
7,8125	0,76	1,38	-81,10
3,9	0,69	1,32	-91,25
1,9	0,68	1,38	-103,63



Gambar 1 Efek antiproliferasi sel kanker Prostat DU145 oleh senyawa kalkan *2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethyl-chalcone* daun jambu air *Eugenia aquea Burm f.* pada pengamatan 48 jam.

Hasil dari perhitungan tersebut, IC_{50} antiproliferasi

2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethyl-chalcone terhadap sel kanker prostat DU145 pada pengamatan 24 jam adalah sebesar 4,59 $\mu\text{g/mL}$.

Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan

sel sebesar 50% dari total populasi. Nilai IC₅₀ yang lebih kecil menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki sifat yang lebih toksik dibanding dengan nilai IC₅₀ yang lebih besar. Senyawa murni dikategorikan bersifat antiproliferasi memiliki empat tingkatan yaitu (1) sangat aktif bila IC₅₀ < 5 µg/mL, (2) aktif dengan nilai IC₅₀ 5-10 µg/mL, (3) sedang dengan nilai IC₅₀ 11-30 µg/mL dan (4) kurang aktif dengan nilai IC₅₀ > 30 µg/mL (Ito et al, 2003). Senyawa *2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethyl-chalcone* dari daun jambu air memiliki nilai IC₅₀ pada pengamatan perlakuan 24 jam dan 48 jam = 7,39 µg/mL. (24,79866 µM), dan 4,59 µg/mL. (15,40268 µM), dan termasuk kategori aktif.

Nilai IC₅₀ senyawa kalkon dari daun jambu air ini lebih efektif terhadap sel kanker prostat DU145 daripada terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan IC₅₀ 74,5 µg/mL (250µM) (Subarnas et al., 2015). Hal ini menunjukkan bahwa sel kanker prostat DU145 memiliki karakteristik atau sensitivitas yang berbeda dengan sel kanker payudara MCF-7.

DAFTAR PUSTAKA

Pilatova M., Varinska L., Perjesi P., Sarissky M., Mirossay L., Solar P., Ostro A., Mojzis J., (2010). *In Vitro Antiproliferative and Antiangiogenic Effects of Synthetic Chalcone Analogues*. Toxicology in Vitro : an International Journal Published in Association With BIBRA (24) : 1347–1355.

Kemenkes RI, (2015). *Stop Kanker*. Pusat Data dan Informasi Kementerian

Kesehatan RI.
<http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/infodatin-kanker.pdf> (22 Agustus 2016).

Subarnas A., Diantini A., Abdulah R., Zuhrotun A., Hadisaputri Y.E., Puspitasari I.M., Yamazaki C., Kuwano H., Koyama H. (2015). *Apoptosis induced in MCF-7 human breast cancer cells by 2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone isolated from Eugenia aquea Burm f. Leaves*. Oncology Letters (5), 2303-2306.

Torre LA1, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. 2015. *Global cancer statistics, 2012*. CA Cancer J Clin. 2015 Mar;65(2):87-108.

Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. 2015. *Global Cancer Statistics, 2012*. CA Cancer J Clin. 65(2):87-108.