

Efek Sitotoksik Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Pada Sel Kanker Payudara T47D

BARINTA WIDARYANTI*, NUR KHIKMAH**, NUNUNG SULISTYANI

Akademi Analis Kesehatan Manggala, Yogyakarta

Diterima: 27 Juni 2016 – Disetujui: 20 September 2016
© 2016 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Cancer is the second cause of death in the world after heart disease. Cancer therapy using natural product was considered has no side effect. Secondary metabolites from ketapang (*Terminalia catappa* L) leaves has a prospect for cancer therapy. The objective of this research was to determine the cytotoxic effect of *ketapang* leaves on T47D breast cancer cells. *Ketapang* leaves were macerated using chloroform, ethyl acetate and methanol. Cytotoxicity effect were determined using *MTT Cell Viability Assay*. The result showed that chloroform, ethyl acetate and methanol extract were not able to reduce cell viability of T47D cells.

Key words: cancer, ketapang, *T. catappa*, cytotoxic, T47D cells.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu proses pertumbuhan sel yang tidak terkontrol yang diikuti oleh invasi sel ke jaringan di sekitarnya serta penyebaran (metastasis) ke bagian tubuh lain. Sifat utama sel kanker adalah proliferasi terus menerus sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara sel hidup dengan sel mati (Parton *et al.*, 2001; Pebrina *et al.*, 2008). Menurut WHO pada tahun 2000 hingga tahun 2010 kanker menempati urutan kedua sebagai penyebab kematian di dunia setelah penyakit jantung dan mengalami peningkatan hingga pada tahun 2030 akan menempati urutan pertama, dapat mencapai 11,4 juta kematian akibat kanker (Rahmawati *et al.*, 2013). Tahun 2005 kanker membunuh sekitar 206.000 penderita di Indonesia, 135.000 diantaranya berusia di bawah 70 tahun. Oleh karena itu, diperlukan pengobatan yang tepat untuk

meningkatkan kualitas hidup penderita kanker.

Hingga saat ini pengobatan kanker yang efektif dan efisien belum ditemukan (Sugiyanto *et al.*, 2003; Susilowati *et al.*, 2012). Kemoterapi merupakan salah satu cara dalam pengendalian kanker dengan hasil yang bagus, namun toksisitas dan efek samping kemoterapi cukup tinggi (Siswandono, 1993). Bahan alam memiliki prospek sebagai penghambat kanker, karena dianggap tidak memiliki efek samping yang membahayakan apabila dibandingkan dengan kemoterapi yang toksisitas dan efek sampingnya sangat tinggi. Bahan alami mempunyai prospek sebagai obat antikanker berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang secara biologis dapat memberi pertahanan terhadap penyakit.

Tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) di Indonesia hanya dikenal sebagai tanaman pelindung. Daun dan batang ketapang telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi, karena kandungan senyawa alkaloid, tannin, saponin, terpenoid dan senyawa fenolik (Muhammad & Mudi, 2011). Batang ketapang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antitumor pada sel *Erlich ascites carcinoma* (EAC)

* Alamat korespondensi:

Akademi Analis Kesehatan Manggala Yogyakarta, Jl.
Bratajaya 25 Sokowaten, Banguntapan, Bantul,
Yogyakarta. E-mail: w.barinta@gmail.com
atau **E-mail: khikmahnr@gmail.com

(Venkatalakshmi *et al.*, 2013). Ekstrak air daun ketapang dapat menghambat invasi dan metastasis pada sel A549 dan *Lewis lung carcinoma* (LLC) (Chu *et al.*, 2007). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak daun ketapang pada sel kanker payudara T47D.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah aktivitas antikanker ekstrak daun ketapang sehingga dapat memberikan kontribusi pada pengembangan penggunaan bahan alam sebagai agen kemoprevensi.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah daun ketapang yang masih berwarna hijau diperoleh dari daerah Sokowaten Banguntapan Bantul, Yogyakarta. Sel T47D merupakan koleksi laboratorium kultur sel bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta.

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi selama 48 jam menggunakan pelarut kloroform, etil asetat dan metanol. Masing-masing filtrat yang diperoleh, dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Uji sitotoksitas dilakukan dengan *MTT Cell Proliferation Assay*. Sel T47D yang telah diperbanyak, ditanam pada mikropate 96 sumuran sebanyak 10.000 sel/sumuran. Setelah diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂, sel kemudian diperlakukan menggunakan ekstrak kloroform (6.25-800 µg/ml), ekstrak etil asetat (100-800 µg/ml) dan ekstrak metanol (6.25-800 µg/ml). Setelah 24 jam sel ditambahkan (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) dengan konsentrasi 50 mg/ml sebanyak 10 µl per sumuran, 4 jam kemudian reaksi dihentikan dengan penambahan 100 ml SDS 10% dalam HCl 0.01 N. Absorbansi dibaca menggunakan *Benchmark microplate reader* (BioRad) pada panjang gelombang 595 nm. Viabilitas sel dalam persen dihitung dengan persamaan :

$$\frac{(AbsP - AbsM)}{(AbsK - AbsM)} \times 100\% = Viabilitas Sel$$

Abs P = absorbansi sel dengan perlakuan

Abs M = absorbansi media

Abs K = absorbansi sel kontrol
Nilai IC₅₀ ditentukan dengan analisis probit menggunakan program SPSS 19.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi daun ketapang menggunakan tiga jenis pelarut kloroform, etil asetat dan metanol bertujuan untuk memisahkan senyawa yang memiliki aktivitas antikanker yang berbeda dalam daun ketapang. Maserat yang diperoleh dari 500 gram daun ketapang dalam 3 liter pelarut diperoleh maserat kloroform 9.390 mg, etil asetat 20.610 mg dan metanol 43.690 mg.

Untuk mengetahui sitotoksitas ketiga ekstrak dilakukan uji sitotoksitas menggunakan MMT Assay. Perlakuan ekstrak kloroform pada sel T47D, dengan konsentrasi 800-6.25 µg/ml menunjukkan bahwa ekstrak kloroform tidak mampu menurunkan viabilitas sel sampai 50% sehingga tidak dapat ditentukan nilai IC₅₀ nya menggunakan analisa probit (Tabel 1). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kloroform memiliki efek sitotoksik yang rendah terhadap sel T47D.

Perlakuan ekstrak etil asetat pada sel T47D pada waktu inkubasi 24 jam, dengan seri konsentrasi 800-100 µg/ml menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dapat menurunkan viabilitas sel (Tabel 2) dengan rentang konsentrasi diatas 400 µg/ml, sedangkan pada konsentrasi diatasnya

Tabel 1. Uji sitotoksitas ekstrak kloroform pada sel kanker payudara T47D.

No	Konsentrasi (µg/ml)	Viabilitas sel (%)
1	800	69
2	400	91
3	200	89
4	100	91
5	50	91
6	25	93
7	12,5	94
8	6,25	99

menunjukkan penurunan viabilitas sel secara drastis. Berdasarkan analisis probit diperoleh nilai IC50 ekstrak etil asetat adalah 316 µg/ml. Oleh karena itu diperlukan pengujian lebih lanjut untuk menunjukkan apakah ekstrak etil asetat memiliki potensi sitotoksik terhadap sel T47D.

Pengaruh pemberian ekstrak metanol dengan seri konsentrasi 800–6.25 µg/ml pada sel T47D dengan waktu inkubasi 24 jam menunjukkan profil yang mirip dengan pengaruh pemberian ekstrak kloroform. Hasil uji sitotoksik ekstrak metanol tidak menunjukkan pengaruh yang berarti pada hambatan pertumbuhan sel T47D (Tabel 3). Pemberian ekstrak metanol pada konsentrasi dibawah 400 µg/ml tidak memberikan penurunan viabilitas sel, yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol tidak dapat menghambat pertumbuhan sel T47D.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol memiliki efek sitotoksik yang rendah terhadap sel kanker payudara T47D. Kemungkin-

Tabel 2. Hasil uji sitotoksitas ekstrak etil asetat pada sel T47D.

No	Konsentrasi (µg/ml)	Viabilitas sel (%)
1	800	2
2	700	0
3	600	3
4	500	41
5	400	59
6	300	55
7	200	82
8	100	87

Tabel 3. Hasil uji sitotoksitas ekstrak metanol pada sel T47D.

No	Konsentrasi (µg/ml)	Viabilitas sel (%)
1	800	64
2	400	98
3	200	79
4	100	89
5	50	89
6	25	87
7	12,5	88
8	6,25	95

an senyawa bioaktif yang terekstrak ke dalam kloroform, etil asetat dan metanol masih terdiri dari beberapa senyawa yang tidak memiliki efek pada sel kanker T47D. Menurut Da'i *et al.* (2007) dalam penelitiannya menggunakan tanaman *Typhonium divaricatum*, ekstrak etanol dan ekstrak kloroform relatif tidak memiliki potensi sitotoksik. Kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak bukan merupakan penanda utama potensi sitotoksik suatu ekstrak.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Pebrina *et al.*, 2008). Dengan memanfaatkan ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), hasil kajian menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat sitotoksik terhadap sel T47D dengan IC50 sebesar 344,91 µg/ml. Sementara menurut Da'i *et al.* (2007) ekstrak etil asetat tanaman *Typhonium divaricatum* dengan kandungan senyawa fenolik 13,154 mg/g memiliki potensi sitotoksik terbesar terhadap sel Hela dengan nilai IC50 147,77 mg/mL. Rahmawati *et al.* (2013) mengungkapkan ekstrak n- heksana herba pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) memiliki nilai IC50 sebesar 97,493 µg/ml, sedangkan ekstrak metanol sebesar 295,359 µg/ml.

Perbedaan pengaruh penghambatan sel kanker sangat wajar. Menurut Putra *et al.* (2012), fraksi dichloromethane (DCM) lebih efektif dalam menghambat proliferasi sel MCF-7 dibandingkan ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi heksanolik, umbi fraksi etanolik, daun fraksi DCM, daun fraksi etanolik dan daun fraksi heksanolik. Ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi diklorometanolik memiliki prospek lebih baik untuk dikembangkan sebagai agen kanker.

Pengaruh penghambatan sel kanker pada penelitian ini, walaupun tidak signifikan, namun dipercaya bahwa sumber senyawa aktif yang berasal dari berbagai jenis tanaman mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara. Hal tersebut mendorong perlunya pengembangan sumber alternatif obat yang berasal dari tanaman (Putra *et al.*, 2012; Pebrina *et al.*, 2008). Banyak jenis tumbuhan yang berpotensi untuk dimanfaatkan dalam kepentingan tersebut, termasuk tanaman pohon yang telah lama kita kenal sebelumnya (Witantri *et al.*, 2015). Oleh karena itu

usaha untuk mencari alternatif tanaman obat untuk penyakit mematikan ini perlu dilakukan (Kampa *et al.*, 2004; Susilowati *et al.*, 2012; Rahmawati *et al.*, 2013; Witantri *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol daun ketapang tidak memiliki efek sitotoksik terhadap penurunan viabilitas sel T47D.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Kopertis wilayah V Yogyakarta, dengan nomor kontrak: 0600/023.04.01/14/2011. Anggaran pendukung lain berasal dari anggaran rutin Unit Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Akademi Analisis Kesehatan Manggala Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

- Chu, S.C., S.F. Yang, S.J. Liu, W.H. Kuo, Y.Z. Chang, and Y.S. Hsieh. 2007. *In vitro* and *in vivo* antimetastatic effect of *Terminalia catappa* L. leaves on lung cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 1194-1201.
- Da'i, M., A. Fiveri, dan E. Meiyanto. 2007. Efek sitotoksik ekstrak tanaman keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) terhadap sel HeLa. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 3(4): 163-167.
- Ellington, A.A., M. Berhow, and K.W. Singletary. 2005. Induction of macroautophagy in human colon cancer cells by B-group soybean saponins. *Carcinogenesis*. 26: 159-167.
- Ferguson, P.J., E. Kurowska, D.J. Freeman, and D.J. Koropatnick. 2004. A flavonoid fraction from cranberry extract inhibits proliferation of human tumor cell lines. *J. Nutr.* 134: 1529-1535.
- Kampa, M., V. Alexaki, G. Notas, A. Nifli, A. Nistikaki, A. Hatzoglou, Bakogeorge, Efstathia, E. Koumtzoglou, G. Blekas, D. Boskou, A. Gravanis, and E. Castanas. 2004. Antiproliferatif and apoptotic effect of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: Potential mechanisms of action. *Breast Cancer Res.* 6: 63-74.
- Mathivadani, P., P. Shanthi, and P. Sachdanandam. 2007. Apoptotic effect of *Semecarpus anacardium* nut extract on T47D cancer cell line. *Cell Biology International* 31: 1198-1206.
- Muhammad, A. and S.Y. Mudi. 2011. Phytochemical screening and antimicrobial activities of *Terminalia catappa* leaves extracts. *Biochemistri*. 23(1): 35-39.
- Parton, M., M. Dowsett, and I. Smith. 2001. Studies of apoptosis in breast cancer. *BMJ*. 322: 1528-1532.
- Pebriana, R.B., B.W.K. Wardhani, E. Widayanti, N.L.S. Wijayanti, T.R. Wijayanti, S. Riyanto dan E. Meiyanto. 2008. Pengaruh ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap pemecuan apoptosis sel kanker payudara. *Pharmacon*. 9(1): 21-26.
- Putra, A., Tjahjono, dan Winarto. 2012. Efektivitas ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi diklorometanolik dalam menghambat proliferasi sel MCF-7 kanker payudara. *J Indon Med Assoc*. 62(1): 10-15.
- Rahmawati, E., Sukardiman, dan A.F. Muti. 2013. Aktivitas antikanker ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol herba pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) terhadap sel kanker payudara T47D. *Media Farmasi*. 10(2): 47-55.
- Ruth, S.M. 2005. Environmental influence on isoflavone and saponins in soybeans and their role in colon cancer. *Journal of Nutrition*. 135: 1239-1242.
- Siswandono. 1983. Mekanisme kerja obat-obat antikanker. *Buletin ISFI Jatim Tahun X*. 3: 1-2.
- Sugiyanto, B. Sudarto, E. Meiyanto, A.E. Nugroho, dan U.A. Jennie. 2003. Aktivitas antikarsinogenik senyawa yang berasal dari tumbuhan. *Majalah Farmasi Indonesia*. 14: 206-225.
- Susilowati, S., E. Meiyanto, Sugiyanto. 2012. EFEK ekstrak etanolik daun *Gynura procumbens* (Lour) Merr terhadap proliferasi sel kanker payudara tikus yang diinduksi 7,12- Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) <http://dosen.narotama.ac.id/wp-content/uploads/2012/02>. Download, 1 September 2016.
- Venkatalakshmi, P., P. Brinda, and K. Induja. 2014. *In vitro* anti oxidant and anti tumor studies on *Terminalia catappa* Bark. *International of Pharmacy and Pharamceutical Sciences*. 6: Suppl 1.
- Witantri, R.G. E.C.A. Ruspenti, D.S. Saputro. 2015. Keanekaragaman pohon berpotensi obat antikanker di kawasan Kampus Kentingan Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1(3): 477-483.