

Aktivitas Antiproliferatif Ekstrak Metanol Daun *Pereskia grandifolia* Haw terhadap Berbagai Sel Kanker

Antiproliferative Activity of Methanol Extract of Pereskia grandifolia Haw Leaves Against Different Human Cell Lines

Aditya Krishar Karim¹, Sismindari^{2*}

¹Department of Biology, Faculty of Science and Mathematic, Universitas Cenderawasih, Papua,

²Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy UGM Yogyakarta, Indonesia.

*Email: sismindari@yahoo.com

Abstrak

Pereskia grandifolia (famili Cactaceae) atau biasa dikenal sebagai tanaman Tujuh jarum telah banyak dimanfaatkan masyarakat lokal di Malaysia dan China untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti diabetes, hipertensi, antikanker, antitumor, antiinflamasi dan antirematik. Penelitian ini bertujuan untuk mencari aktivitas antiproliferatif terhadap kultur sel kanker HCT-116, C2C12 dan 293A. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan menggunakan metanol. Efek antiproliferatif diuji dengan menggunakan reagen WST-1 ((2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitro-phenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium monosodium salt) selama 1, 2 dan 4 jam setelah inkubasi selama 72 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun *P. grandifolia* bersifat antiproliferatif terhadap sel kanker kolon HCT-116 dengan IC_{50} yaitu 509,83 μ g/ml (1 jam), 503,60 μ g/ml (2 jam), 519,24 μ g/ml (4 jam) tetapi tidak bersifat antiproliferatif terhadap sel C2C12 dan 293A. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak methanol daun *P. grandifolia* bersifat selektif terhadap sel kanker HCT-116.

Kata kunci; *Pereskian grandifolia*, WST-1, HCT-116, C2C12, 293A Cell line

Abstract

Pereskia grandifolia (Cactaceae family) commonly known as jarum tujuh bilah. This plant commonly used by the local community in Malaysia and Chinese for treat a variety of illnesses including diabetes, hypertension, anticancer, antitumor and anti rheumatic. The aim of this study was to investigate antiproliferative activity of methanol extract of *P. grandifolia* leaves against HCT-116, C2C12 and 293A cell line. Leaves powder extracted using methanol. Antiproliferative activity was determined by Cell Proliferation Reagents WST-1 ((2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitro-phenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium mono-sodium salt), test for 1h, 2h, and 4h after incubated for 72h. The result showed that methanol extract of *P. grandifolia* leaves possessed remarkable antiproliferative activity against HCT-116 cell line with IC_{50} values of IC_{50} were 509,83 μ g/ml (1h), 503,60 μ g/ml (2h), 519,24 μ g/ml (4h), and had no active to against C2C12 and 293A cell line. The result indicated methanol extract of *P. grandifolia* leaves exhibit selective antiproliferative activity against HCT-116 cell line.

Key words: *Pereskian grandifolia*, WST-1, HCT-116, C2C12, 293A Cell line

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit kedua terbesar di dunia setelah penyakit kardiovaskuler yang menyebabkan kematian.^{1,2} Insiden kanker di Indonesia diperkirakan 100 per 100.000 penduduk per tahun atau sekitar 200.00 populasi per tahun.³ Kanker terjadi akibat adanya gangguan fungsi homeostasis atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi pada organisme multiseluler.⁴

Pengobatan panyakit kanker yang digunakan umumnya bekerja tidak selektif, karena menghambat juga sel normal yang memiliki aktivitas pembelahan sel tinggi seperti sel sumsum tulang, epitel germinativum, mukosa saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit.⁵

Tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan yang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat antikanker, antiinflamasi, antibakteri, antioksidan. Masyarakat di dunia telah memanfaatkan tumbuhan dari alam untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit termasuk kanker. Akhir-akhir ini banyak ditemukan senyawa dari tanaman yang memiliki aktivitas antikanker dengan efek samping yang kecil.^{6,7}

Pereskia grandifolia merupakan salah satu tumbuhan tradisional yang telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di Malaysia dan China dalam menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti kanker, tekanan darah tinggi, diabetes dan penyakit yang berhubungan dengan rematik dan inflamasi.⁸ Tumbuhan ini termasuk famili kaktus (Cactaceae) yang mungkin satu-satunya memiliki daun sebenarnya dan merupakan genus yang paling primitif, dapat tumbuh dan beradaptasi pada hampir semua iklim kecuali tundra.⁹

Genus *Pereskia* secara umum dikenal sebagai jarum tujuh bilah (Malaysia), sedangkan di Cina dikenal dengan nama Cak Sing Cam, di Indonesia dikenal dengan nama daun tujuh jarum.^{10,11,12} Kaktus diketahui sebagai tumbuhan kering dan dikenal secara umum mampu tumbuh dalam kondisi yang kering, dan merupakan tumbuhan herba atau pohon kecil. Famili Cactaceae diketahui terdiri dari 1.500-1.800 species.¹³

Doetsch *et al.*(1980),¹⁴ mengisolasi senyawa alkaloid p-methoxy-b-hydroxy phenethylamine, 3-methoxytyramine dan tyramine dari daun *P. grandifolia*, sedangkan Sahu *et al.*(1974),¹⁵ melaporkan berhasil mengisolasi asam oleonic dari buah kering dari *P. grandifolia*.

Beberapa studi menunjukkan bahwa *P. grandifolia* mengandung senyawa b-sitosterol, vitamin E, phytone, 2,4-ditert-butylphenol dan campuran yang mengandung 2,4-ditert-butylphenol, methyl palmitate, methyl oleate dan methyl stearate, dan senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas sitotoksik terhadap berbagai jenis sel kanker, dan merupakan studi pertama yang melaporkan aktivitas sitotoksik dari *P. grandifolia*.¹⁶

Takeiti *et al.*(2009)¹⁷ melaporkan genus lain dari *Pereskia* seperti ekstrak daun *P. aculeate* banyak mengandung serat alami, mineral (seperti kalsium, magnesium, mangan and zink) dan vitamin A, vitamin C dan asam folat serta banyak mengandung asam amino triptofan.

Berdasarkan latar belakang di atas maka penelitian ini akan menguji aktivitas antiproliferatif ekstrak metanol daun *P. grandifolia* terhadap sel kanker HCT-116, C2C12 dan 2943A secara *in vitro*.

BAHAN DAN CARA

Persiapan bahan dan ekstraksi

Bahan tanaman berupa daun *P. grandifolia* yang tumbuh di sekitar Laboratorium LPPT, sudah berbunga dan berbuah. Tanaman tersebut selanjutnya diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi UGM sebagai *Pereskia grandifolia*. Daun yang telah dikumpulkan dicuci dengan air, dikeringkan, diblender, diayak. Serbuk diekstraksi dengan maserasi menggunakan methanol. Ekstrak dipisahkan dengan menggunakan evaporator.

Preparasi kultur sel kanker

Sel HCT-116 diperoleh dari Clinical Oncology Laboratory stock of Kawasaki Medical School, Japan. Sel kanker HCT-116 ditumbuhkan di medium McCoy'S 5A medium (Gibco) yang mengandung 10% v/v Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma) dan ditambahkan 1%w/v Penicillin-streptomycin (Sigma). Untuk sel C2C12 dan 293A diperoleh dari koleksi Departement Molecular and Developmental Biology Laboratory, Kawasaki Medical School, Japan. C2C12 ditumbuhkan pada medium Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM, Sigma) yang mengandung 10% v/v Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma) dan 1% v/v kanamicin (Sigma), sedangkan sel 293A ditumbuhkan pada medium komplit yang mengandung 10% Fetal bovine serum (FBS), 2mM L glutamine (Gibco), Amino acids (NEAA) (Gibco) dan kehadiran 1% w/v of Penicillin-streptomycin (Sigma). Kultur sel kanker diinkubasi pada suhu 37°C dengan 5% CO₂.

Uji aktivitas antiproliferatif secara *in vitro*

Kultur sel dengan kepadatan 4,0x10³ sel/ml (100µl) dimasukkan ke dalam sumuran (96 well

microplate, Nunc-Germany) bersama suatu seri konsentrasi kadar uji ekstrak methanol daun *P. grandifolia* (500, 250, 125, 62.50, 31.25 dan 15.625, 7.8125 µg/ml) dengan DMSO 01% sebagai blanko dan sel dalam media sebagai control. Kemudian sumuran diinkubasi didalam incubator CO₂ pada suhu 37°C dengan 5% CO₂ selama 72 jam. Pada akhir masa inkubasi media dihilangkan dengan aspirator, dan selanjutnya ditambahkan medium dan 10 µl reagen WST-1, selanjutnya diinkubasi selama 1, 2 dan 4 jam pada 37°C dengan 5%CO₂. Nilai absorpsi dibaca pada panjang gelombang 450nm menggunakan ELISA reader (*Type Varioskan Flash (Thermo cientific)*). Persentasi viabilitas sel dihitung dengan cara jumlah sel hidup kontrol dikurangi jumlah sel hidup perlakuan dibagi jumlah sel hidup kontrol dikalikan 100%. Data diolah dengan menggunakan program Microsoft Excel.

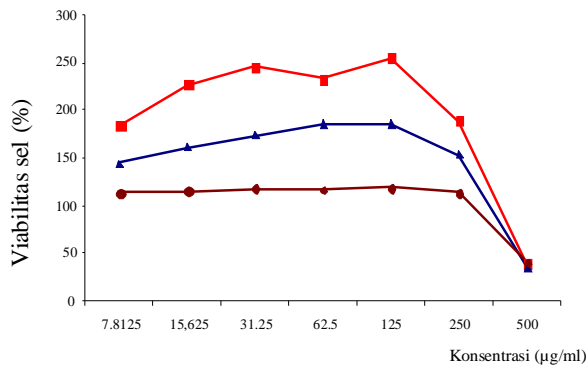
HASIL

Uji sitotoksik digunakan untuk mengetahui potensi efek sitotoksik dari suatu ekstrak tumbuhan terhadap sel kanker. Data yang diperoleh digunakan untuk penghitungan potensi sitotoksik suatu senyawa yaitu berupa nilai *Inhibition concentration* (IC₅₀). Hasil uji sitotoksitas dapat diperoleh dosis yang menyebabkan kematian sel sebesar 50% dari populasi sel. Semakin kecil IC₅₀ suatu ekstrak maka semakin toksik ekstrak tersebut terhadap sel kanker yang diuji. Selain persentase kematian, tingkat toksisitas juga dapat diamati dari morfologi sel dengan menggunakan mikroskop.¹⁸

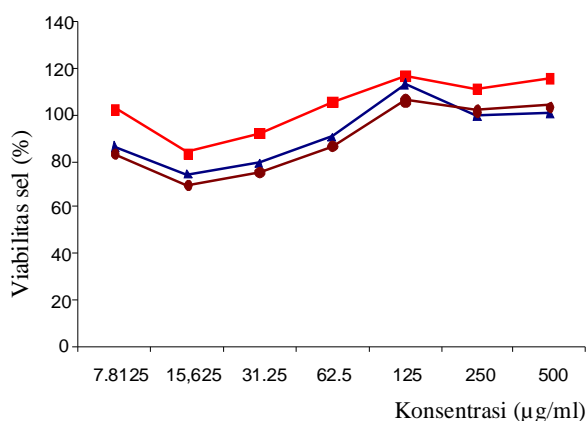
DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *P. grandifolia* dengan menggu-

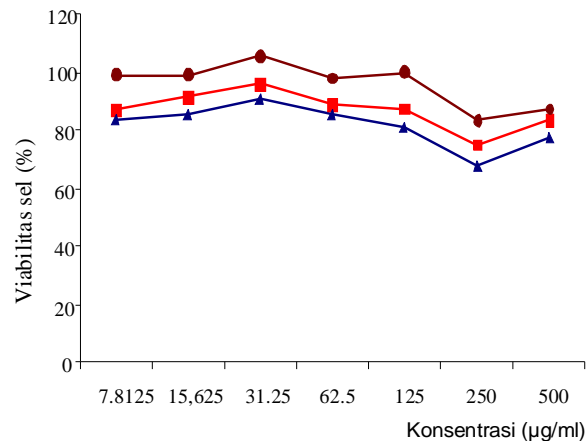
nakan uji WST-1 menunjukkan aktivitas anti-proliferatif terhadap sel kanker HCT-116, dan tidak bersifat antiproliferatif terhadap sel kanker C12C12 dan 293A (Gambar 1, 2, dan 3). Hasil penelitian ini sama seperti yang di laporkan oleh Sri Nurestri (2009) yang menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun *P. grandifolia* memiliki sifat sitotoksik terhadap sel kanker kolon HCT-116 dengan nilai IC_{50} 53 μ g/ml dan diklasifikasikan memiliki aktivitas sitotoksik yang sedang.



Gambar 1. Grafik Hubungan Viabilitas Sel HCT-116 (%) dengan Konsentrasi Ekstrak Methanol Daun *P. grandifolia* Setelah Inkubasi 72 jam pada Suhu 37°C dengan 5% CO₂, dan Setelah Penambahan Reagen WST-1 untuk 1 Jam (■-Merah), 2 Jam (▲-Biru) dan 4 Jam (●-Coklat).



Gambar 2. Grafik Hubungan Viabilitas Sel C2C12 (%) dengan Konsentrasi Ekstrak Methanol *P. grandifolia* setelah Inkubasi 72 Jam pada Suhu 37°C dengan 5% CO₂, dan Setelah Penambahan Reagen WST-1 untuk 1 Jam (■-Merah), 2 Jam (▲-Biru) dan 4 Jam (●-Coklat).



Gambar 3. Grafik Hubungan Viabilitas Sel 293A (%) dengan Konsentrasi Ekstrak Methanol daun *P. grandifolia* setelah Inkubasi 72 jam pada Suhu 37°C dengan 5% CO₂, dan Setelah Penambahan Reagen WST-1 untuk 1 Jam (■-Merah), 2 Jam (▲-Biru) dan 4 Jam (●-Coklat).

Hasil penelitian ini kemungkinan tanaman ini mengandung berbagai senyawa yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel tetapi terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit atau bersifat selektif terhadap sel kanker. Pada penelitian ini juga terlihat pada pengamatan sel setelah diberikan perlakuan dengan dengan WST-1 terlihat intensitas warna antara kontrol dan perlakuan tampak sama pada sel C2C12 dan 293A. Peningkatan warna semakin terang menunjukkan bahwa semakin banyaknya formazan yang terbentuk yang diakibatkan aktifnya enzim dehidrogenase yang dihasilkan dari sel yang hidup. Pembentukan formazan diasumsikan berkaitan erat dengan jumlah reaksi metabolis dari sel-sel yang hidup dalam kultur sel.¹⁹ Beberapa penelitian melaporkan senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak yang berasal dari tanaman sering menunjukkan sifat selektif terhadap jenis sel kanker tertentu.

Beberapa laporan penelitian menunjukkan aktivitas sitotoksik ekstrak metanol dari *Pereskia bleo* dengan menggunakan uji MTT tidak bersifat

sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7) setelah inkubasi selama 72 jam¹², hal ini berbeda seperti yang dilaporkan oleh Tan *et al.*(2005)¹⁰, pada uji sitotoksik secara *in vitro* dengan menggunakan methylene blue assay menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari *P. bleo* bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara yang lain yaitu sel T47D setelah inkubasi selama 72 jam.

Arkadiusz *et al.*(2001),²⁰ melaporkan bahwa kuersetin dan dimetilsulfoksida (DMSO) merangsang ekspresi gen Bcl2 (merupakan suatu protein pengatur proses apoptosis) pada proses miogenesis sel C2C12 sedangkan Ana *et al.*(2007),²¹ menunjukkan bahwa Arsenic trioxide (As₂O₃) yang memiliki aktivitas antikanker mengurangi jumlah sel hidup SY-5Y neuroblastoma dan sel 293 (*embryonic kidney*).

Pada penelitian ini terlihat bahwa ekstrak metanol daun *P. grandifolia* bersifat selektif dan antiproliferatif terhadap sel kanker HCT-116, tetapi tidak memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap sel kanker C2C12 atau 293A.

SIMPULAN

Ekstrak methanol daun *P. grandifolia* bersifat antiproliferatif terhadap sel kanker kolon HCT-116 dengan IC₅₀ yaitu 509,83µg/ml (1jam), 503,60µg/ml (2 Jam), 519,24µg/ml (4 jam) tetapi tidak bersifat antiproliferatif terhadap sel C2C12 dan 293A.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih atas pemberian dana dari DIKTI melalui program beasiswa Sandwich 2010 dan LPPT Unit III Universitas Gadjah Mada. Kami juga mengucapkan terima kasih untuk Prof. Tsutomu Nohno, Ph.D dari De-

partment Molecular and Developmental Biology, Kawasaki Medical School, Japan

DAFTAR PUSTAKA

1. Alan, G.T. Progress in Cancer Care: A Rational Call to Do Better. *C.A. Cancer.J. Clin*, 2010; 60(1): 7-11.
2. Ahmedin, J., Rebecca, S., Jiaquan, X., & Elizabeth, W. 2010. Cancer Statistics. *C.A. Cancer. J. Clin*, 2010; 60(5):277-300.
3. Aziz, M.F., Andrijono, & Saifuddin, A.B. (Eds). *Onkologi dan Ginekologi Buku Acuan Nasional*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. 2006.
4. DeVita,, V.T., Hellman, Jr.S., & Rosenberg, S.A. (Eds). *Cancer: Principle and Practise of Oncology*. 5ed. Lippincott-Raven. Philadelphia. 1997. p121-133;185-215;259-1880.
5. Li, Thomas S. C. *Taiwanese Native Medicinal Plants: Phytopharmacology and Therapeutic Values*. Published by CRC Press Taylor & Francis Group, Broken Sound Parkway NW. USA.p37. 2006.
6. McChesney, J.D., Sylesh, K.V & John, T.H. *Plant Natural Product : Back to The Future or Into Extinction*. *Phytochemistry*, 2007; 68(14): 2015-2022.
7. Xin, G., Xifeng, L, Yinggang, C., Mingqi, L, Shixiong, J., & Xishan, W. *Rhein Induces Apoptosis of HCT-116 Human Colon Cancer Cells via Activation of The Intrinsic Apoptotic Pathway*. *African J.Biotech*; 2011.10(61): 13244-13251.
8. Goh, K.L. *Malaysian Herbaceous Plants*. Millennium edn. Advanco Press. Malaysia: 2000.

9. Charles, B., & Erika, J.E. Investigating *Pereskia* and The Earliest Divergences in Cactaceae. *Haseltonia*. 2008; 14: 46-53.
10. Tan, M.L., Sulaiman, S.F., Najimuddin, N., Samian, R.M., & Muhammad, T.S. Methanolic Extract of *Pereskia bleo* (Kunth) D.C. (Cactaceae) Nucleus Apoptosis in Breast Carcinoma, T47D Cell Line. *J.Ethno pharm*, 2005; 96(1-2):287-294.
11. Sri Nurestri, A.M., Wahab, N.A., Yacob, H., Shin, S.K., Lai, H.S., Serm, L.G., & Rahman, N.S.A. Cytotoxic Activity of *Pereskia bleo* (Cactaceae) Against Human Cell Lines. *Inter.J.Cancer.Res*, 2008; 4(1):20-27.
12. Wahab, S.I.A., Abdul, A.B., Mohan, S.M., Al-Zubairi, A.S., Elhassan, M.M., and Ibrahim, M.Y. Research Article Biological Activities of *Pereskia bleo* Extracts. *Inter.J.Pharm*, 2009; 5(1): 71-75.
13. Edwards, E.J., Nyffeler, R., & Donoghue, M.J. Basal Cactus Phylogeny: Implications of *Pereskia* (Cactaceae) Paraphyly for The Transition to The Cactus Life Form. *American J. Bot*, 2005; 92(1):1177-1188.
14. Doetsch, P.W., Cassady, J.M., & McLaughlin, J.L. Cactus Alkaloid: Identification of Mescaline and Other β -Phenethylamin in *Pereskia*, *Pereskia* and *Islaya* by Use Fluorescamin Conjugate. *J. Chromatograph A*, 1980; 189:79-85.
15. Sahu, N.P., Banerji, N., & Chakravarti, R. N. A New Saponin of Oleanolic Acid from *Pereskia grandifolia*. *Phytochemistry*, 1974;13: 529-530.
16. Sri Nurestri, A.M., Sim, K.S., and Norhanom, A.W. Phytochemical and Cytotoxic Investigations of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae) Leaves. *J. Bio. Scie*, 2009;9(5): 488-493.
17. Takeiti, C.Y., Graziella, C., Antonio, G.C., Motta, E.M.P., Fernanda, P.C.Q., & Park, K.J. Nutritive Evaluation of a Non-Conventional Leafy Vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). *Inter. J.Food.Scie.Nutr*, 2009;60(1):148-160.
18. Doyle, A., & Griffiths, J.B. Cell and Tissue Culture for Medical Research. John Willey and Sons, Ltd. New York. 2000.
19. Francoeur, A.M. and Assalian, A. Microcat: A Novel Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Based On WST-1. *Biochem*, 1996; (3):19-25.
20. Arkadiusz, O., Katarzyna, G., Wojciech, K., & Tomasz, M. Effect of Quercetin and DMSO on Skeletal Myogenesis from C2C12 Skeletal Muscle Cells with Special Reference to PKB/Akt Activity, Myogenin and Bcl-2 Expression. *Basic. Appl. Myol*, 2001;(1): 31-44.
21. Ana, M.F., Frank, S., & Dietrich, B. Arsenic Trioxide (As_2O_3) Induced Calcium Signals and Cytotoxicity in Two Human Cell Lines: SY-5Y Neuroblastoma and 293 Embryonic Kidney (HEK). *Toxicol. Appli. Pharmacol*, 2007;220(3): 292-301.