

# Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol *Physalis angulata* Linn. terhadap Sel MCF-7

Em Sutrisna<sup>1</sup>, Indwiani Astuti<sup>2</sup>, Haryadi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>2,3</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

Correspondence to : Em Sutrisna

Bagian Farmakologi Molekuler Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

Email : em\_sutrisna@yahoo.com

## ABSTRACT

*Cepukan plant (Physalis angulata Linn.) has cytotoxic effect in some human cancer line cells in vitro among others HA22T (hepatoma), HeLa (cervical cancer), KB (Nasopharyngeal cancer), Colo 205 (colon) dan Calu (lung cancer). The aim of the research is to investigate cytotoxic activity of the ethanol extract of Physalis angulata Linn. on breast cancer cell MCF-7. Test of cytotoxic effect of the ethanol extract of P. angulata Linn. was done by direct counting method with triphan blue staining. Positive control was used by tamoxiphene. The cytotoxic activity was calculated based on inhibitory of the ethanol extract of P. angulata Linn. and tamoxiphene on breast cancer cell MCF-7. The cytotoxic activity was expressed by IC<sub>50</sub> (Inhibitory concentration fifty). The difference of IC<sub>50</sub> of the ethanol extract of P. angulata Linn. from tamoxiphene were analyzed by ANOVA test followed LSD test. The results of this research show that the ethanol extract of P. angulata Linn. has cytotoxic activity with IC<sub>50</sub> 29,2 ± 1,3 µg/mL, while IC<sub>50</sub> of tamoxiphene is 4,5 ± 0,74 µg/mL. The IC<sub>50</sub> of the ethanol extract of P. angulata Linn. is significantly lower (P < 0.05) than IC<sub>50</sub> of tamoxiphene.*

*Keywords: Physalis angulata Linn, Cytotoxic, Direct Counting Method*

## Pendahuluan

Di Indonesia penyakit kanker menempati peringkat keenam penyebab kematian setelah penyakit infeksi, kardiovaskular, kecelakaan lalu lintas, malnutrisi dan kelainan congenital (Tjindarbumi dan Mangunkusumo, 2002). Menurut laporan WHO pada tahun 1998, jenis kanker yang paling sering dijumpai pada wanita adalah kanker leher rahim (25,3%) dan kanker payudara sebesar 18,4% (Anonim, 2005).

Pengobatan penyakit kanker yang selama ini dilakukan adalah pembedahan, radioterapi, kemoterapi dan imuno terapi (Van de Velde *et al.*, 1999). Prinsip pengobatan kanker dengan kemoterapi berdasar pada eliminasi sel sel tumor dengan sedikit mungkin efek samping pada jaringan yang normal. Tidak ada pengobatan kemoterapi yang dapat berhasil 100%. Pengobatan dikatakan berhasil tergantung sejauh mana pengobatan tersebut bisa mengurangi jumlah sel tumor/kanker tersebut (Van de Velde *et al.*, 1999).

Mahalnya kemoterapi dan pengobatan kanker lainnya dan tingkat keberhasilan terapi yang belum memuaskan mendorong banyak peneliti untuk mengkaji dan menemukan obat baru yang lebih efektif dan selektif. Indonesia merupakan negara yang sangat kaya

keanekaragaman hayati. Dari sekitar 30.000 spesies tanaman, kurang lebih 1260 spesies dapat digunakan sebagai tanaman obat, salah satunya adalah untuk pengobatan kanker. (Mangan, 2003). Salah satu tanaman obat yang diduga mempunyai efek antikanker adalah tanaman cepukan (*Physalis angulata* Linn. dan *Physalis minima* Linn.). Tanaman tersebut termasuk familia *Solanaceae*. Penelitian Chiang *et al.* (1992), menyatakan bahwa ekstrak etanol tanaman utuh (*whole plant*) *P. angulata* Linn. Memiliki aktivitas sitotoksik *in vitro* pada beberapa *cell line* pada manusia yaitu: HA22T (hepatoma), HeLa (kanker serviks), KB (Nasopharing), Colo 205 (colon) dan Calu (paru). Sedang pada binatang, tanaman tersebut memiliki aktivitas sitotoksik *in vitro* terhadap H1477 (melanoma), Hep-2 (laryngeal) dan 8401 (glioma) dan memiliki efekanti tumor melawan P388 limpositik leukemia pada tikus secara *in vivo* (Chiang *et al.*, 1992).

Penelitian ini bertujuan mengkaji efek sitotoksik dan antiproliferatif *P. angulata* Linn. terhadap sel MCF-7

## Metode

Jenis penelitian adalah eksperimental *post test only with control group design*

## 1. Alat dan bahan

- a. Alat: peralatan gelas ( *Pyrex*), neraca analitik, gelas becker (*Pyrex*), pengaduk, blender, filter 0,2 um, mikropipet, tangki nitrogen cair, lemari pendingin, pipet tetes, inkubator CO2 (*Nuair*), *laminar air flow cabinet* (*Nuair*), *microplate 96* (*Nuclone*) sumuran, pipet ependrof, *inverted microscope*, hemositometer (*NewBouer*), PH meter, gelas obyek, mikroskop cahaya, sentrifus, *tissue culture flask* (*Olympus*)
- b. Bahan
  1. Bahan uji: ekstrak etanol tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.), kontrol positif tamoksifen (tamoplex ® Combiphar).
  2. Cell line MCF-7: Pada penelitian ini menggunakan sel line MCF-7. Sel ini merupakan turunan dari karsinoma mammae manusia. Sel MCF-7 tersebut mengandung alpha dan betha Estrogen reseptor isoforms (Anonim,1998).
  3. Untuk uji aktivitas sitotoksik: medium RPMI 1640 (GIBCO), *fetal bovine serum/FBS* 10%, penisilin-streptomisin 3 %, fungison 1%, gentamisin (Merck), akuabides, etanol 70%, tripsin 0,5% dan *thrypanblue*

## 2. Cara kerja

1. Pembuatan serbuk tanaman *P. angulata* Linn.

Satu pohon *P. angulata* Linn. yanmeliputi akar, batang, buah dan daun dicuci bersih, dipotong potong lalu dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering kemudian diserbuk dengan halus menggunakan blender.
2. Pembuatan ekstrak etanol tanaman *P. angulata* Linn  
Tanaman utuh ceplukan (akar, batang, daun dan buah) yang telah diserbuk tadi ditimbang sekitar 50 g, dibungkus dengan kertas saring dan dibuat dengan bentuk dan ukuran yang sesuai dengan labu soklet yang akan digunakan. Alat soklet dirangkai dan labu diisi dengan cairan penyari etanol 96% hingga dua kali sirkulasi. Penyarian dilakukan terus sampai cairan dalam labu soklet berwarna bening. Hasil penyarian ini ditampung dalam cawan porselin yang diuapkan sehingga diperoleh sediaan kental yang disebut ekstrak etanol (DepKes, 1986)
3. Uji sitotoksik
  - a. Pembuatan media kultur RPMI 1640

Serbuk RPMI 1640 ditambah akuades sampai 800 ml lalu ditambahkan Na Bicarbonat 2 g dan HEPES 2 g kemudian ditambah akuades 1 liter. Larutan dibuat sampai PH 7.2-7.4 dengan menambahkan HCl 1M atau NaOH 1M. kemudian larutan disterilkan dengan penyaringan menggunakan filter diameter 0.2 um, kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu 4° C.

- b. Pembuatan media RPMI-serum  
100ml RPMI 1640 ditambah FBS 10% dan ditambahkan penisilin- streptomisin 3% dan fungison 1%
- c. Pembuatan PBS sebagai larutan pencuci  
Serbuk PBS tanpa CaCl dan MgCl dilarutkan dalam akuades 800 ml dicampur dengan stirer sampai semua serbuk larut. Dibuat PH 7.2 dan ditambahkan akuades sampai 1 liter. Kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu 4° C.
- d. Propagasi sel MCF-7  
Sel MCF-7 diambil dari tangki nitrogen bertingkat segera dicairkan dengan pemanasan 37° C kemudian disemprot dengan alkohol 80%. Sel kanker kemudian dipindahkan dalam tabung sentrifugasi steril yang berisi 10 ml medium RPMI 1640-serum. Suspensi sel kanker tersebut kemudian disentrifugasi pada kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Cairan supernatant dibuang dan diganti medium RPMI 1640-serum segar. Setelah didiamkan 20 menit sel disentrifugasi pada kecepatan dan waktu yang sama. Cairan supernatan dibuang, disisakan 1 ml untuk dilakukan suspensi ulang. Setelah homogen, sel ditumbuhkan dengan cara dimasukkan dalam TCF kecil dengan medium penumbuh yang mengandung 20% FBS. Sel diamati di bawah *inverted microscope*. Jika pertumbuhan sel telah konfluen (medium menjadi kuning), sel dipanen lalu disentrifugasi pada 2000 rpm selama 5 menit. Cairan supernatan dibuang dan disisakan sekitar 1ml untuk disuspensi ulang. Setelah homogen ditambahkan media penumbuh yang mengandung FBS 10%.Kemudian sel kanker dikembangkan menjadi 3 atau 4 TCF kecil.
- e. Preparasi bahan uji  
Ekstrak etanol *P. angulata* Linn. diencerkan dengan media RPMI 1640

dibuat lima serial konsentrasi (10, 20, 40, 80, 160 µg/mL). Tamoksifen (1,25; 2,5; 5; 10; 20 µg/mL).

f. Persiapan mikrokultur

Disiapkan mikrokultur dengan 96 sumuran. Sel kanker dengan kepadatan  $1,5 \times 10^4$  /mL dimasukkan dalam *plate* 96 sumuran yang terlarut pada media kultur RPMI 1640 100ul. Diinkubasi selama 24 jam, kemudian diambil 100 ul ekstrak etanol bahan uji dan kontrol positif tamoksifen ditambahkan ke sumuran sel kanker payudara. Tiap konsentrasi dibuat 3 kali. Mikrokultur lalu diinkubasi lagi dalam inkubator CO2 37° C selama 24 jam. Sel kanker yang telah diberi perlakuan di cuci dengan 100 ul PBS 0,25% 2 kali. Untuk melepaskan sel kanker hidup yang menempel di sumuran diberikan tripsin 0,25% 100 ul. 10 uL sel kanker yang telah diberi perlakuan tadi dibuang lalu ditambahkan 10 uL *triphpan blue* pada sumuran tersebut. 10ul campuran ini diambil, diletakkan pada bilik hemositometer dan dihitung jumlah

sel yang hidup. Persentase penghambatan Ekstrak etanol bahan uji, kontrol + dan kontrol – dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Sel hidup (K -) - sel hidup (bahan uji)}}{\text{sel hidup (K-)}} \times 100\%$$

Jumlah sel hidup dihitung pada sampel uji dibanding kontrol (+) dan kontrol (-). Persentase penghambatan ekstrak etanol *P. angulata* Linn., tamoksifen terhadap sel MCF-7dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\frac{\text{Sel hidup (K -) - sel hidup (bahan uji)}}{\text{sel hidup (K-)}} \times 100\%$$

Aktivitas penghambatan ekstrak etanol *P. angulata* Linn. dan tamoksifen terhadap sel MCF-7 dinyatakan dalam IC<sub>50</sub>. Perbedaan nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol *P. angulata* Linn. dan tamoksifen dianalisis dengan ANOVA satu jalan dan dilanjutkan dengan uji LSD.

## Hasil dan Pembahasan

Hasil perhitungan uji sitotoksik setelah pemberian bahan uji pada inkubasi 24 jam dapat dilihat di Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rerata IC50 aktivitas sitotoksik dari *P. angulata* Linn., tamoksifen dancelcoxib pada sel MCF-7

BU(ug/mL)	K1	E1	%DH	probit	K2	E2	%DH	Probit	K3	E3	%DH	probit
PA 10	10	8	20	4,16	12,5	8,25	34	4,58	18,75	12,5	33,33	4,57
PA20	10	6,25	37,5	4,68	12,5	7,5	40	4,74	18,75	12	36	4,64
PA40	10	4	60	5,25	12,5	5	60	5,25	18,75	7,5	60	5,25
PA80	10	2,5	75	5,67	12,5	3,5	72	5,58	18,75	5,5	70,67	5,54
PA160	10	1,25	87,5	5,15	12,5	2,75	78	5,77	18,75	4,5	76	5,7
TM 1,25	10	6,25	37,5	4,68	12,5	8,75	30	4,48	18,75	13,75	26,67	4,37
TM2,5	10	6	40	4,74	12,5	8,75	30	4,48	18,75	13,5	28	4,42
TM5	10	4	60	5,25	12,5	5	60	5,25	18,75	8	57,33	5,19
TM10	10	2,75	72,5	5,6	12,5	4,25	66	5,51	18,75	7,75	58,67	5,21
TM20	10	2,25	77,5	5,76	12,5	4	68	5,46	18,75	5,5	70,67	5,54

Keterangan: BU: Bahan uji, PA: *P. angulata* Linn, TM: tamoksifen

Dari jumlah sel yang hidup setelah pemberian bahan uji dilakukan penghitungan persentasi penghambatan dan ditentukan nilai IC<sub>50</sub>-nya, hasilnya terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai IC<sub>50</sub> *P. angulata* L& Tamoksifen terhadap sel MCF-7

Bahan uji(µg/mL)	IC <sub>50</sub>			Rerata IC <sub>50</sub> (µg/mL±SD)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
<i>P. angulata</i> L	31,261	26,925	29,444	29,20 ± 1,30
Tamoksifen	3,117	4,812	5,635	4,52 ± 0,74

Dari Tabel 2 terlihat bahwa nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol *P. angulata* Linn. adalah 29,2067±1,2602 µg/mL, sedang IC<sub>50</sub> tamoksifen sebesar 4,5214±0,7413 µg/mL. Hal ini berarti walaupun *P. angulata* Linn. memiliki efek sitotoksik tetapi potensi sitotoksik dari ekstrak etanol tersebut lebih rendah dari tamoksifen. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna atau tidak dari IC<sub>50</sub> kedua bahan uji tersebut dilakukan analisis statistik dengan independent T test. Hasilnya terlihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna nilai IC<sub>50</sub> dari *P. angulata* Linn. terhadap tamoksifen p. 0,001 (95% CI).

Ekstrak etanol *P. angulata* Linn. memiliki aktivitas sitotoksik dengan IC<sub>50</sub> 29,2067±1,2602 µg/mL., sedang tamoksifen memiliki nilai IC<sub>50</sub> 4,5214±0,7413 µg/mL. Nilai aktivitas sitotoksik ekstrak etanol *P. angulata* Linn yang lebih rendah dibanding tamoksifen tersebut dikarenakan ekstrak tersebut masih berupa ekstrak kasar sehingga untuk mendapatkan nilai aktivitas sitotoksik yang besar perlu diisolasi senyawa aktif yang diperkirakan mempunyai efek sitotoksik tersebut.

Efek sitotoksik dari ekstrak etanol *P. angulata* Linn. ini tidak berbeda jauh dengan penelitian Chiang<sup>1</sup> *et al.*, (1992). Pada penelitian tersebut, ekstrak etanol *P. angulata* Linn. konsentrasi 10 µg/mL sudah mampu menghambat pertumbuhan sel kanker line karsinoma epidermoid mulut manusia (Kanker-9KB), kanker kolon manusia, kanker paru manusia (lu-1), *adenocarcinoma* cervical manusia (HeLa), hepatoma-2 dan hepatoma-HA22T. Pemberian ekstrak metanol daun *P. angulata* Linn. pada kucing yang diinduksi dengan karsinoma paru (CA-A549) mampu menghambat pertumbuhan sel kanker tersebut dengan IC<sub>50</sub> 3,93 µg/mL (Ismail *et al.*, 2001), pemberian ekstrak methanol *P. angulata* Linn. secara intraperitoneal pada mencit pada konsentrasi 75mg/kgBB mempunyai efek penghambatan pertumbuhan terhadap sel kanker leukemia P388 (Chiang<sup>2</sup> *et al.*, 1992). Pada uji *in*

*vitro* ekstrak metanol daun *P. angulata* Linn. mempunyai efek sitotoksik terhadap sel line KB-16 dengan IC<sub>50</sub> 3,15 µg/mL., sedang pada pemberian ekstrak methanol daun *P. angulata* Linn. *in vitro* terhadap sel kanker leukemia P388 menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan dengan IC<sub>50</sub> 2,5 µg/mL (Ismail *et al.*, 2001). Perbedaan nilai IC<sub>50</sub> dalam beberapa penelitian tersebut kemungkinan disebabkan karena perbedaan *cell line* yang digunakan.

### Simpulan

1. Ekstrak etanol ceplukan (*P. angulata* Linn.) mempunyai efek sitotoksik dengan IC<sub>50</sub> sebesar 29,2067±1,2602 µg/mL terhadap sel kanker payudara MCF-7
2. IC<sub>50</sub> ekstrak etanol ceplukan (*P. angulata* Linn.) terhadap sel kanker payudara MCF-7 lebih rendah dibanding tamoksifen

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa aktif yang mempunyai efek sitotoksik dan mengkaji mekanisme efek sitotoksik ekstrak etanol *Physalis angulata* Linn. terhadap sel MCF-7.

### Daftar Pustaka

- Anonim, 2005. *Disease Specific NCD Morbidity and Mortality Profile*, [Http://w3.whosea.org/linkfiles/NCD\\_inforbase.diseases-specific.pdf](http://w3.whosea.org/linkfiles/NCD_inforbase.diseases-specific.pdf), diakses, April 2005.
- Anonim, 1998, Feasibility Demonstration Project for HTPS, <http://www.bdbiosciences.com/clontech>, diakses Juli 2005.
- Chiang, H.C., Jaw, S.M., Chen, C.F., and Kan, W.S., 1992. Antitumor Agent, Physalin F from *Physalis angulata* L., *Anticancer Res.*, 12(3): 837-43.
- Chiang, H.C., Jaw, S.M., and Chen, P.M., 1992. Inhibitory Effects of Physalin B and Physalin F on Various Human Leukemia Cells *in vitro*, *Anticancer Res.*, 12(4): 1155-62.

DepKes, 1986, *Sedian galenik*, Jakarta. Departemen Kesehatan RI, 1-21.

Ismail, N., and Alam, M., 2001. A novel Cytotoxic flavonoid Glycoside from *Physalis angulata*, *Fitoterapi*, 72(6): 676-79.

Mangan, Y., 2003. *Cara bijak menaklukan kanker*, Agromedia Pustaka, Jakarta, 28-44.

Tjindarbumi, D & Mangunkusumo, R., 2002. Cancer in Indonesia, Present and Future. *Jpn J Clin Oncol.*, 32 (1): 17-21.

Van de velde, C.J.H., Bosman, F.T., Wagener, D.J.Th., 1999. *Onkologi*, ed 5, Terjemahan Aryono, Gadjah Mada University Press, Jogjakarta, 24-60.