

Efek Sitotoksik Ekstrak Metanol Akar Tumbuhan Purwoceng (*Pimpinella Alpina*) Terhadap Sel Kanker Payudara (MCF-7 Breast Cancer Cells)

Dharma Permana^{1*} dan Herman Usman²

¹Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi, Jakarta

²Bagian Kimia Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi, Jakarta

*Korespondensi : Email : dharma.permana@yarsi.ac.id

Abstract

Background. Purwoceng (*Pimpinella alpina*) is one of the plants which has a property as a traditional medicine and the roots of this plant has been known as a sexual desire arousing (aphrodisiac). Epoxypseudoisoeugenol-2-methyl butyrate (EPB), a phenylpropanoid isolated from *Pimpinella corymbosa* inhibited the proliferation of both MCF-7 and BT-549 cells.

Objective. This study aims to investigate of the cytotoxic effect of methanolic extracts from the roots of *Pimpinella alpina* on MCF-7 cells line *in vitro*.

Methods. The *In vitro* cytotoxicity of methanolic extracts of the roots of *Pimpinella alpina* was studied using various concentrations (0.1, 1, 10 and 100 µg/ml) by MTT viability assay. The MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide] salt will be induced to its coloured formazan by the action of mitochondrial dehydrogenases. The MTT formazan product is dissolved in DMSO and the amount is estimated by measuring absorbance at 550 nm using an ELISA plate reader. The IC₅₀ values (concentration of a extracts that produces 50% reduction in the absorbance compared with untreated controls) are determined from the dose-response curves.

Results. The *in vitro* screening of the methanolic extracts showed strong cytotoxic activity on MCF-7 Breast Cancer cells. The significant decrease in cell viability was observed for 100 µg/ml and the IC₅₀ value is 22.98 µg/ml.

Conclusion. The results indicated that methanolic extract of the roots of *Pimpinella alpina* has a potential cytotoxicity activity on MCF-7 Breast Cancer cells and considered to be a particularly valuable source of cytotoxic substances.

Keywords: Purwoceng, *Pimpinella alpina*, Cytotoxic, MCF-7 cells, MTT assay

Pendahuluan

Penyakit kanker merupakan termasuk masalah kesehatan didunia dan insiden kanker selalu meningkat pada setiap Negara. Kemoterapi masih digunakan sebagai standar pengobatan dan hampir semua obat anti kanker dapat menyebabkan sitotoksik pada sel normal dan juga imunotoksitas, Sebagian obat anti kanker berasal dari tumbuhan seperti Vincristine (*Catharanthus roseus*), Taxane (*Taxus bervifolia*) dan Etoposide (*Podophyllum peltatum*) (Grever, 2009). Penemuan obat anti kanker yang baru dari tumbuhan sangat diperlukan untuk mendapatkan obat anti kanker yang efektif, efek samping ringan dan biaya pengobatan yang ringan.

Purwoceng (*Pimpinella alpina*) merupakan tanaman obat komersial yang

akarnya dilaporkan berkhasiat sebagai aphrodisiac. Tumbuhan ini merupakan tanaman asli Indonesia dan sudah dibudidayakan oleh Balitro (Darwati, 2006). Spesies lain genus *Pimpinella* dilaporkan kandungan senyawa phenyl propanoids dan essential oil (Abbas et al, 2006, Tabanca et al, 2005 dan Maria et al, 1994). Senyawa epoxypseudoisoeugenol-2-methyl butyrate (EPB), phenylpropanoid dari tumbuhan *Pimpinella corymbosa*, mempunyai efek AntiKanker terhadap MCF-7 (estrogen-dependent) dan BT-549 (estrogen-independent) breast cancer cells (Ma, 2009). Ekstrak etanol *Pimpinella anisoides* menghambat produksi NO (murine monocytic macrophage cell line RAW 264.7) dengan IC(50) value of 72.7 microg/mL (Conforti, 2010). Berdasarkan hal tersebut diatas perlu untuk mengetahui potensi efek sitotoksik tumbuhan Purwoceng terhadap sel

kanker, dimana dalam penelitian ini digunakan sel kanker Payudara (MCF-7 Breast Cancer cells).

Material dan Metoda Penelitian

Pembuatan Ekstrak Metanol

Akar tumbuhan Purwoceng (*Pimpinella alpina*) di didapatkan dari Dataran Tinggi Dieng, Wonosobo. Akar tumbuhan dikeringkan (300 g) dan dihaluskan, selanjutnya di ekstraksi dengan cara maserasi direndam dengan metanol (3 x 5 L x 3 hari). Ekstrak disaring dengan kapas kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan Rotary evaporator dan didapatkan ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng sebanyak 103 gram.

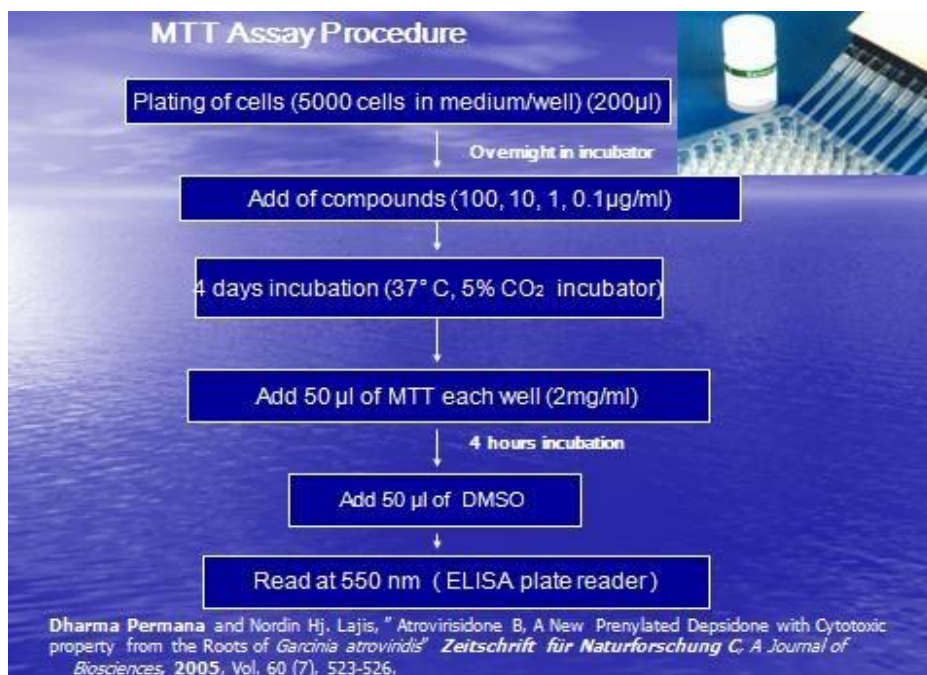
Kultur Sel

Sel Kanker Payudara (MCF-7 Cells) didapatkan dari National Cancer Institute (USA), sel di kultur dalam medium pertumbuhan RPMI-1640 (Sigma, USA) dan di suplemen dengan 10% Fetal Calf Serum (Peasal & Laurel, Germany), 100 UI/ml penicillin dan 100 µg/ml Streptomycin

(Sigma, USA). Sel di kultur dalam Inkubator pada kondisi 5 % CO₂ dan suhu 37 °C.

Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng terhadap sel MCF-7 dilakukan dengan metoda in vitro MTT assay dimana Mitochondrial dehydrogenase pada sel mengubah tetrazolium salt [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide] (MTT) menjadi senyawa Formazan dan senyawa Formazan yang terbentuk di ukur secara Kolorimetri dengan ELISA Plate Reader (Mosmann, 1983 dan Permana, 2005). Sel dihitung menggunakan hemocytometer dengan bantuan larutan trypan blue dan selanjutnya sel ditumbuhkan dalam *microwell plate* 96 sumuran (5000 sel/sumuran) selama 24 jam. Uji sitotoksik larutan ekstrak metanol dilakukan dengan konsentrasi 0,1 ug/ml, 1 ug/ml, 10 ug/ml dan 100 ug/ml dalam DMSO triplikasi perulangan dan sel yang tidak ditambahkan ekstrak sebagai kontrol (Gambar 1). Data yang didapatkan ditentukan IC₅₀ menggunakan saintific Software Bioassay Ultra 9.0 (Cambridge Soft).



Gambar 1. Prosedur uji sitotoksik ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng terhadap sel kanker Payudara (MCF-7 Cells).

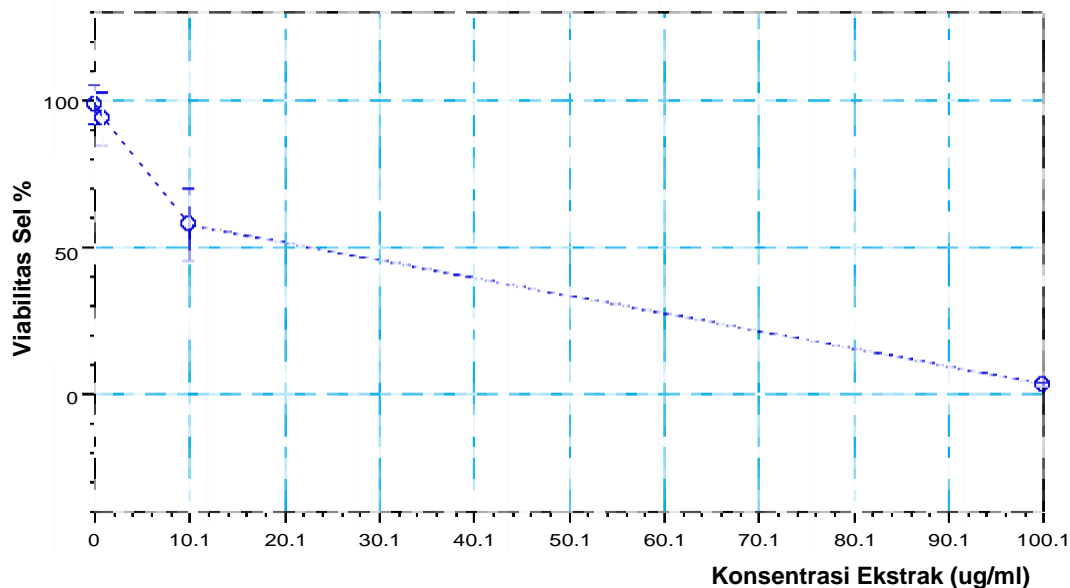
Hasil Dan Diskusi

Ekstraksi merupakan suatu cara untuk menyari senyawa senyawa (metabolit sekunder) yang terdapat dalam tumbuhan. Penggunaan metanol dalam proses ekstraksi untuk lebih mengoptimalkan kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak, dimana metanol dapat melarutkan senyawa non polar, semi polar dan polar yang terdapat pada tumbuhan (Houghton, 1998).

Uji sitotoksik ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng terhadap sel MCF-7 dilakukan dengan konsentrasi ekstrak yang bervariasi dan viabilitas sel dibandingkan dengan sel kontrol. Pada penelitian ini terlihat efek sitotoksik secara dinamis dimana kenaikan konsentrasi ekstrak terjadi penurunan persentase viabilitas sel MCF-7 (Gambar 2). Pada konsentrasi ekstrak 0,1 ug/ml dan 1 ug/ml terjadi penurunan viabilitas sel atau penghambatan pertumbuhan sel (Viabilitas sel 92,42 % dan 87,73 %). Ekstrak dengan konsentrasi 10 ug/ml menurunkan viabilitas sel menjadi 54,12 % dan efek sitotoksik yang sangat kuat terlihat pada konsentrasi ekstrak 100 ug/ml, dimana viabilitas sel menurun dengan signifikan menjadi 3,31 %. Konsentrasi penghambatan 50 % pertumbuhan sel (IC_{50})

pada penelitian ini adalah 22,98 ug/ml yang mana memberikan indikasi bahwa ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng mempunyai efek sitotoksik yang kuat terhadap sel MCF-7 (Breast Cancer Cells).

Efek sitotoksik ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng berhubungan dengan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan tersebut. Peningkatan konsentrasi ekstrak akan meningkatkan jumlah kuantitatif kandungan senyawa aktif didalamnya dan hal ini menyebabkan penurunan viabilitas sel MCF-7. Tumbuhan Purwoceng (*Pimpinella alpina*) mungkin memiliki kandungan senyawa yang sama dengan species *Pimpinella* yang lain, dimana senyawa epoxypseudoisoeugenol-2-methyl butyrate (EPB), phenylpropanoid dari tumbuhan *Pimpinella corymbosa*, mempunyai efek Anti kanker terhadap MCF-7 (estrogen-dependent) dan BT-549 (estrogen-independent) Breast Cancer Cells (Ma, 2009). Uji Cyanidin tes terhadap ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng memberikan indikasi adanya kandungan flavonoid pada ekstrak tersebut (Harbone, 1998). Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang mempunyai aktifitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 (Yao, 2011 dan Yadegarynia, 2012).



Gambar 2. Efek Sitotoksik ekstrak etanol Akar tumbuhan Purwoceng (IC_{50} = 22,98 ug/ml)

Kesimpulan

Ekstrak metanol akar tumbuhan Purwoceng mempunyai efek sitotoksik yang kuat terhadap sel MCF-7 (Breast Cancer Cells) dengan $IC_{50} = 22,98$ ug/ml dan sangat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang mungkin dapat dikembangkan sebagai obat kemoterapi kanker.

Ucapan Terima Kasih

Terima Kasih di ucapkan kepada Proyek Health Professional Education Quality Improvement (HPEQ), Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi Tahun Anggaran 2013 dengan Kontrak Nomor : 141 / HPEQ-YARSI/VI/ 2013 yang telah membiayai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Abbas D, Fahimeh B, Solmaz E, Hossein N, Amir HT, Lutfun N, Satyajit DS . 2006. GC-MS analysis of the essential oils, and the isolation of phenylpropanoid derivatives from the aerial parts of *Pimpinella aurea*. *Phytochemistry*, Volume 67, Issue 19, Pages 2176-2181.
- Conforti F, Tundis R, Marrelli M, Menichini F, Statti GA, De Cindio B, Menichini F, Houghton PJ. 2010. Protective effect of *Pimpinella anisoides* ethanolic extract and its constituents on oxidative damage and its inhibition of nitric oxide in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J Med Food*. Feb;13(1):137-41.
- Darwati I dan Roostika I. 2006. Status Penelitian Purwoceng (*Pimpinella alpina* Mol.) di Indonesia, *Buletin Plasma Nutfah Vol. 12 No. 1*.
- Grever, M.C.B., 2001. Cancer drug discovery and Anticancer therapy targeting the apoptotic development. In V.H.S. De Vita and S.A. Rosenberg, Editors, *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, Lippincott-Raven, Philadelphia, PA, pp: 328-339.
- Houghton PJ and Raman A. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. London: Chapman and Hall.
- Harborne JB. 1998. *Phytochemical methods: A guide To modern techniques of plant analysis*. 2nd ed. London: Chapman and Hall. pp. 54-84.
- Mosman, T, 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assay, *J.Immunol Method*, 65, 55-63.
- María J. Macías, Vicente Martín, Manuel Grande' and Karl - Heinz Kubeczka. 1994. Phenylpropanoids from *Pimpinella villosa*. *Phytochemistry*, Volume 37, Issue 2, Pages 539-542
- Ma G, Tabanca N, Husnu Can Baser K, Kirimer N, Pasco DS, Khan IA, Khan SI. 2009 . Inhibition of NF - kappa B - mediated transcription and induction of apoptosis in human breast cancer cells by epoxypseudoisoeugenol-2-methyl butyrate. *Cancer Chemother Pharmacol.* ; 63 (4):673-80.
- Permana D, Abbas F, Saari K, Lajis NH, and Manaf A. 2005. Atroviridone B, A New Prenylated Depsidone with Cytotoxic property from the Roots of *Garcinia atroviridis*" *Z. Naturforsch C*, Vol. 60, 523-526
- Tabanca N, Demirci B, Kirimer N, Baser KH, Bedir E, Khan IA, Wedge DE. 2005. Gas Chromatographic - mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella aurea*, *Pimpinella corymbosa*, *Pimpinella peregrina* and *Pimpinella puberula* gathered from Eastern and Southern Turkey. *J Chromatogr A*. 2 ;1097(1-2):192-8
- Yao H, Xu W, Shi X, Zhang Z. 2011. Dietary flavonoids as cancer prevention Agents. *J Environ Sci Health* 29(1):1-31.
- Yadegarynia S, Pham A, Alex Ng A, Nguyen D, Lialiutka T, Bortolazzo A, Syviruk V, Bremer M, White JB. 2012. Profiling flavonoid cytotoxicity in human breast cancer cell lines: determination of structure-function relationships. *Nat Prod Commun* 7(10):1295-1304.