

## Aktivitas Sitotoksik Fraksi Polar Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Sel T47D

Amalia Suci Medisusyanti<sup>1\*</sup>, Haryoto<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

\*Email: amaliasuci11@gmail.com

**Keywords:**  
*Allium sativum* L.;  
sitotoksik; sel  
T47D; MTT assay;  
fraksi polar

### Abstrak

Kanker payudara merupakan penyebab umum kematian kedua terbesar pada perempuan. Terapi dengan suatu agen kemoterapi biasanya tidak selektif karena dapat mengganggu pertumbuhan sel normal sehingga hal tersebut mendorong untuk dikembangkan sebagai agen kemopreventif yang berasal dari bahan alam seperti umbi bawang putih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi polar umbi bawang putih terhadap sel kanker payudara T47D. Serbuk umbi bawang putih diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak kemudian di fraksinasi dengan metode partisi cair-cair sehingga diperoleh fraksi polar. Uji aktivitas sitotoksik dengan metode MTT assay untuk mengetahui  $IC_{50}$ . Konsentrasi larutan uji yang di gunakan sebesar 500; 250; 125  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil dibaca menggunakan Elisa reader dengan panjang gelombang 550 nm. Hasil uji sitotoksik fraksi polar umbi bawang putih menunjukkan persen sel hidup terkecil pada konsentrasi 500  $\mu\text{g/mL}$  sebesar 99,702%.

### 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang berhubungan dengan abnormalitas dan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol (American Cancer Society, 2017). Pada tahun 2015, sebanyak 8,8 juta orang meninggal karena kanker. Salah satu jenis kanker yang umumnya terjadi pada wanita adalah kanker payudara. Kanker payudara merupakan penyebab kedua kematian didunia. Sejak tahun 2008, diperkirakan angka kematian akibat kanker payudara meningkat sebesar 14 persen dan ada 522 ribu kematian pada tahun 2012 (World Health Organization, 2017).

Pengobatan kanker dilakukan melalui operasi, radiasi dan pemberian agen kemoterapi. Dengan pengobatan tersebut dapat menimbulkan efek samping toksik pada jaringan normal dan resistensi sel kanker (Fitria et al, 2011). Obat antikanker yang ideal memiliki toksisitas selektif artinya menghancurkan sel tanpa merusak sel normal. Antikanker yang ada saat ini umumnya menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas karena menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat seperti sumsum tulang, mukosa saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit (Kurnijasanti et al, 2008). Salah satu terapi yang kini sedang mendapatkan suatu agen kemoprevensi. Pendekatan yang dilakukan untuk mengembangkan senyawa kemoprevensi yaitu mengeksplorasi bahan alam. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai agen kemoprevensi adalah bawang putih. Bawang putih merupakan salah satu bahan alam Indonesia yang diketahui memiliki aktivitas mencegah dan mengobati kanker. *Allicin* dan *Diallyl disulfide* merupakan senyawa yang terdapat didalam bawang putih yang diketahui memiliki aktivitas antikanker (Yuniarti et al, 2011). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang putih memiliki aktivitas sitotoksik dengan menghambat pertumbuhan sel MCF-7, PA-1 dan A-549 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $6 \pm 1 \mu\text{g/mL}$ ,  $15 \pm 1 \mu\text{g/mL}$  dan  $28 \pm 1 \mu\text{g/mL}$  (Nema et al, 2014).

## 2. METODE

### 2.1 Ekstraksi

Sebanyak 364,038 g serbuk simplisia umbi bawang putih yang telah di ayak dengan mesh 40 di rendam menggunakan etanol 96% sebanyak 3L. Kemudian di aduk sesekali, didiamkan selama 3 hari pada suhu kamar. Maserat dipisahkan dan proses diulangi sebanyak 3x. Kemudian maserat yang diperoleh di saring dan diuapkan menggunakan evaporator hingga terbentuk masa kental berwarna kuning kecoklatan.

### 2.2 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstrak etanol umbi bawang putih dilarutkan dalam etanol:akuades dengan perbandingan (1:4) sebanyak 50 mL hingga larut sempurna. Kemudian ekstrak di partisi menggunakan 50 mL pelarut dengan kepolaran berbeda. Fraksi polar yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan menggunakan evaporator sampai diperoleh fraksi kental.

### 2.3 Uji Aktivitas Sitotoksik

Fraksi polar umbi bawang putih sebanyak 10 mg di larutkan dalam 100  $\mu$ L DMSO kemudian ditambahkan media kultur RPMI ad 10 mL. Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 500; 250; 125  $\mu$ g/mL dengan proses pengenceran. Sampel sebanyak 100  $\mu$ L dimasukkan dalam sumuran dengan kepadatan sel  $100 \times 10^4$  dan diinkubasi dengan inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam. Setelah masa inkubasi media kultur yang mengandung sampel dibuang dan ditambahkan MTT sebanyak 100  $\mu$ L pada tiap-tiap sumuran. Plate kemudian diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C pada inkubator CO<sub>2</sub>. Reaksi pembentukan dihentikan dengan reagen SDS 10% dalam HCL 0,01N kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Serapan di baca menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 550 nm. Presentase sel hidup dihitung berdasar data absorbansi kemudian di buat kurva log konsentrasi vs % sel hidup.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Umbi bawang putih dikeringkan dengan lemari pengering dan diserbuk menggunakan blender. Serbuk di ayak menggunakan ayakan 40 mesh. Tujuan dilakukan penyerbukan agar proses ekstraksi menjadi efektif dan efisien. Ukuran bahan yang semakin kecil menyebabkan sel-sel yang pecah semakin banyak sehingga luas bidang kontak antara pelarut dengan bahan semakin besar (Anam, 2010). Proses ekstraksi dari umbi bawang putih dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena peralatan yang digunakan sederhana, cocok untuk bahan yang tidak stabil terhadap panas sehingga tidak mudah terurai (Nurhasnawati et al., 2017), tidak banyak gangguan fisis (Saifudin, 2014). Pada penelitian ini, serbuk simplisia sebanyak 364,038 g di rendam dalam 3 L etanol 96%. Etanol 96% digunakan sebagai penyari karena merupakan pelarut universal yang dapat mengekstraksi sejumlah komponen polar, semipolar dan nonpolar (Sarker et al, 2006). Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi sebesar 2,45% dan fraksi polar yang diperoleh 11,28%.

### 3.2 Uji Aktivitas Sitotoksik

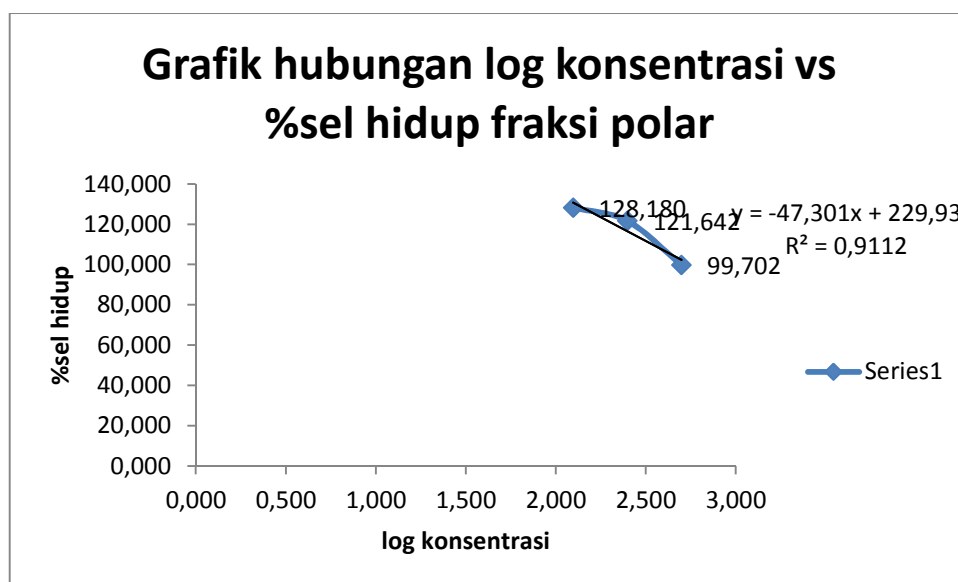
Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT *assay*. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak yaitu nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration 50*) merupakan konsentrasi senyawa uji yang mampu menghambat 50% populasi sel hidup. Pada uji aktivitas sitotoksik, seri konsentrasi dibuat dengan melarutkan fraksi polar menggunakan pelarut DMSO. DMSO digunakan sebagai pelarut karena merupakan *solvent* yang mampu melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar (BPOM RI, 2010). Kadar DMSO yang digunakan pada uji sitotoksik sebesar 1%. Purwaningsih et al (2014) menyatakan bahwa DMSO dengan kadar kurang dari 3% tidak bersifat toksik atau membunuh sel kanker sehingga dapat digunakan sebagai kontrol pelarut.

Pengamatan sel T47D dilakukan di bawah mikroskop dengan melihat perubahan morfologinya. Sel T47D akan berwarna gelap dan bentuknya sudah tidak beraturan dengan kepadatan yang lebih rendah, sedangkan sel yang hidup memiliki karakteristik lebih padat dan lebih terang (Djajanegara and Wahyudi, 2009). Perubahan morfologi sel T47D ditunjukkan pada gambar. 1b sel yang mengalami kematian berubah morfologinya dari yang bentuknya lonjong dan panjang (gambar 1a) menjadi bulat disertai titik hitam di tengah sel.



Gambar 1. Menunjukkan sel T47D hidup sebelum perlakuan (A), sesudah perlakuan dengan konsentrasi 125 µg/mL (B) dan terbentuknya kristal formazan pada perlakuan ekstrak etanol yang diberi MTT (C).

Metode MTT digunakan untuk mempermudah dalam pengamatan sel. Sel yang diberi MTT setelah perlakuan akan membentuk kristal formazan berwarna ungu (gambar 1c). Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase yang terdapat dalam mitokondria. Reaksi tersebut akan menghasilkan kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen stopper (bersifat detergenik) seperti SDS akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 550 nm menggunakan ELISA reader. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Putri, 2013).



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi vs persen sel hidup dengan fraksi polar.

Tabel 1. Hasil uji sitotoksik dengan fraksi polar.

Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	% sel hidup				Persamaan Regresi Linear
		Data 1	Data 2	Data 3	Rata-rata	
F. Polar	125	104,032	105,601	174,907	128,180	$y = -47,301x + 229,93$
	250	99,412	104,468	104,468	121,642	
	500	97,058	97,930	104,119	99,702	

Dari hasil penelitian ini jika dibandingkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bawang putih memiliki aktivitas sitotoksik yang potensial sedangkan dalam penelitian ini fraksi polar umbi bawang putih tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Hal tersebut ditunjukkan dari persen sel hidup rata-rata sel T47D yang tidak menunjukkan penghambatan sebanyak 50%. Persen sel hidup T47D yang terkecil ditunjukkan pada konsentrasi 500  $\mu\text{g/mL}$  sebesar 99,702%. Data uji sitotoksik menunjukkan fenomena *dose dependent* artinya semakin besar konsentrasi maka semakin kecil viabilitas sel hidup. Apabila di hitung nilai  $\text{IC}_{50}$  menunjukkan  $\text{IC}_{50}$  lebih dari 1000  $\mu\text{g/mL}$  yaitu 6,37mg/mL. Suatu senyawa dikategorikan potensial memiliki aktivitas sitotoksik apabila nilai  $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ , dikategorikan moderat apabila nilai  $\text{IC}_{50}$  terdapat pada rentang 100-1000  $\mu\text{g/mL}$ , dan tidak memiliki aktivitas sitotoksik apabila nilai  $\text{IC}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  (Prayong et al., 2008).

Perbedaan hasil dapat dipengaruhi antara lain asal tanaman bawang putih. Sampel umbi bawang putih yang digunakan dalam penelitian berasal dari Desa kalisoro, Kecamatan Tawangmangu sedangkan sampel penelitian Nema (2014) berasal dari Bhopal, India dan Jasamai (2016) berasal dari Kuala Lumpur, Malaysia. Metode ekstraksi yang dilakukan, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, karakteristik jenis sel kanker yang digunakan dan cara uji sitotoksitas yang dilakukan berbeda. Pada penelitian ini kepadatan sel T47D yang dibuat yaitu  $1 \times 10^6$  dengan waktu inkubasi setelah perlakuan selama 24 jam, sedangkan kepadatan sel yang dibuat pada penelitian Nema (2014) dengan sel kanker MCF-7; PA-1; A-549 sebesar  $5 \times 10^3$  dengan lama inkubasi setelah perlakuan 96 jam serta Jasamai (2016) pada sel kanker U-937, Jurkat Clone E6-1 dan K-562 yaitu  $5 \times 10^5$  dengan lama inkubasi setelah perlakuan yaitu 48 jam.

#### 4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar dan nonpolar umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D. Hal tersebut ditunjukkan dari nilai  $\text{IC}_{50}$  fraksi polar 6,37 mg/mL.

#### REFERENSI

- American Cancer Society, 2017, Cancer Facts and Figures 2017, American cancer society, Atlanta, pp. 2525–2538.
- Anam C., 2010, Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Kajian dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu, Jurnal Pertanian MAPETA, XII (1411–2817), 101–110.
- Djajanegara, Ira, Wahyudi P., 2009, Pemakaian Sel Hela dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Ethanol Biji Mimba (*Azadirachta indica*), 26 (2), 59–64.
- M., Fitria, Armandari, I., Septhea, D.B. Ikawati A.H.M. and dan Meiyanto E., 2011, Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Berefek Sitotoksik Dan Menginduksi Apoptosis Pada Sel Kanker Payudara MCF-7, Bionatura Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik, 13 (2), 101–107.

- Nema R., Khare S. and Pradhan A., 2014, Anticancer activity of *Allium sativum* (Bulb) polyphenolic compound, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 29 (1), 131–134.
- Nurhasnawati H., Handayani F. and Samarinda A.F., 2017, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.), *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3 (1), 91–95.
- Prayong P., Barusrux S. and Weerapreeyakul N., 2008, Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants, *Fitoterapia*, 79 (7–8), 598–601. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.007>.
- Putri H., 2013, Protokol Uji sitotoksik metode mtt, *Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM*, 8.
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*, edition 1., Deepublish, Yogyakarta.
- Sarker, Satyajid D., Latif, Sahid, Gray A., 2006, *Dereplication and Partial Identification of Natural Products*, Second Edi. Sarker, S. D., ed., Human Press, Totowa, new jersey. Terdapat di: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-59259-256-2\\_10](http://link.springer.com/10.1007/978-1-59259-256-2_10).
- World Health Organization, 2017, 10 Facts About Cancer, <http://www.who.int/features/factfiles/cancer/en/> (diakses tanggal 5 November 2017).
- Yuniarti L., Tejasari M., Pubaningsih W. and Pratama E., 2011, EFEK KEMOTERAPI EKSTRAK BAWANG PUTIH PADA KANKER SERVIKS UTERI, *Dalam Bandung*, pp. 319–324.