

Aktivitas Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap Pertumbuhan dan Apoptosis Sel Kanker Payudara MCF-7

(Activity of Fenugreek Seed (*Trigonella foenum-graecum* L.) on Proliferation and Apoptotic Potency of MCF-7 Breast Cancer Cells)

KURNIA AGUSTINI^{1,2*}, FRANS SUYATNA¹, NURJATI CHAIRANI SIREGAR¹,
WAHONO SUMARYONO²

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

² Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Jakarta.

Diterima 18 Januari 2012 , Disetujui 16 September 2012

Abstrak: Biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) adalah salah satu tanaman obat Indonesia yang telah dikenal memiliki aktivitas sebagai antidiabetes, antikoolesterol, fitoestrogen dan antikanker. Biji klabet mengandung sejumlah sapogenin steroid (diosgenin, yamogenin, tigogenin dan trigoneosida), alkaloid trigonellin dan flavonoid (vitexin, orientin). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dan potensinya menginduksi apoptosis pada galur sel kanker payudara MCF-7. Pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) terhadap sel MCF-7. Sampel biji klabet dipreparasi melalui proses ekstraksi (ekstrak metanol dan ekstrak etanol) serta proses fraksinasi menggunakan perbedaan kepolaran pelarut (fraksi heksan, etilasetat, butanol dan air). Sedangkan analisis potensi apoptotik terhadap sel MCF-7 dilakukan dengan analisis siklus sel menggunakan *flowcytometer* dengan marker propidium iodida (20µg/mL) pada konsentrasi sampel 100µg/mL. Potensi apoptotik diukur berdasarkan % populasi sel pada fase subG₀/G₁. Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi etilasetat memberikan aktivitas sitotoksik yang terbaik dengan IC₅₀ = 41,81ppm dan secara signifikan (p<0,05) meningkatkan % populasi sel pada fase subG₀/G₁ sebesar 20,87% pada konsentrasi 100ppm. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi etilasetat biji klabet mempunyai aktivitas sitotoksik dan dapat menginduksi apoptosis sel kanker MCF-7.

Kata kunci: apoptosis, biji klabet, MCF-7, sitotoksitas, *Trigonella foenum-graecum* L.

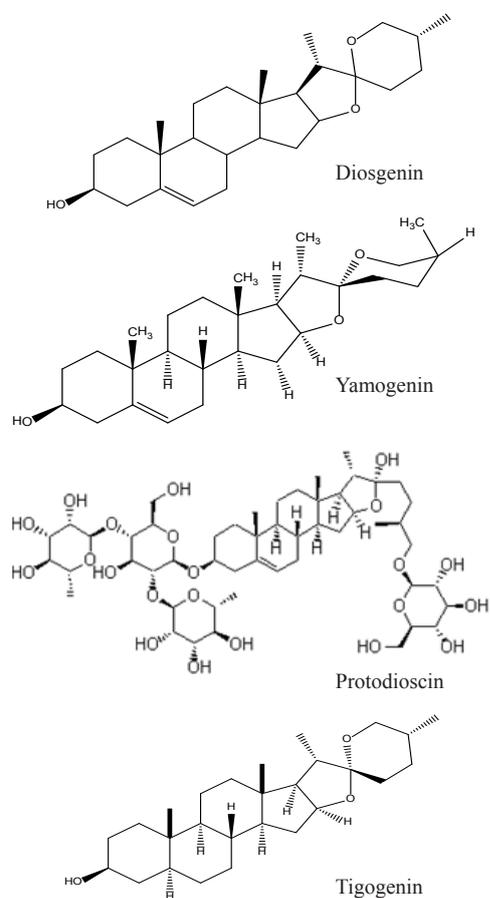
Abstract: Fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum* L.) is one of Indonesian medicinal plant with many known activities such as antidiabetic, antihypercholesterolemia, phytoestrogen and anticancer. Fenugreek seed contains steroidal sapogenines (i.e. diosgenin, yamogenin, gitogenin, tigogenin and trigoneoside), alkaloid trigonellin and flavonoid (i.e vitexin, orientin). This experiment was carried out to investigate the cytotoxic activity and its potency to induce apoptotic on breast cancer cell line, MCF-7. Cytotoxic activity was carried out by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) method. Fenugreek seed was prepared by extraction (methanolic and ethanolic extract) and fractionation using solvents with different polarity (hexane, ethylacetic, buthanolic and water fractions). The potency of apoptotic induction assay was carried out using flowcytometric method staining with propidium iodide (20µg/mL) on 100 ppm sample. Apoptotic potency was evaluated based on % population of cells in subG₀/G₁ phase. Results showed that ethylacetic fraction has the lowest IC₅₀ (41.81 ppm) and significantly (p<0.05) increase % population of cells in subG₀/G₁ phase (20.87%) on 100 ppm concentration. It is concluded that fenugreek seed posses cytotoxic activity and potency of apoptotic induction on MCF-7 cells.

Keywords: apoptotic, Fenugreek seed, MCF-7, cytotoxicity, *Trigonella foenum-graecum* L.

* Penulis korespondensi, Hp. 08158822226
e-mail: kurnia_atini@yahoo.com.

PENDAHULUAN

PENELITIAN untuk mencari obat-obatan khususnya untuk penanganan kanker hingga saat ini masih menduduki tempat teratas, tak terkecuali dari tanaman obat. Salah satu tanaman obat Indonesia yang diduga mempunyai aktivitas sebagai antikanker adalah biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.). Biji klabet mengandung fitoestrogen sapogenin steroid, diantaranya adalah diosgenin, yamogenin, tigogenin dan gitogenin), protodioscin, trigonelin dan protease inhibitor⁽¹⁾. Secara *in vitro*, biji klabet memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker leukemia H-60⁽²⁾, sel kanker usus besar manusia HT-29⁽³⁾ dan *human chag liver cells*⁽⁴⁾.



Gambar 1. Struktur kimia beberapa senyawa sapogenin steroid dalam biji klabet^(1,2,3).

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa ekstrak etanol biji klabet mempunyai aktivitas sebagai fitoestrogen pada tikus putih betina prepubertal dan tikus betina dewasa yang telah diovariectomi⁽⁵⁾. Biji klabet bersifat estrogenik pada tubuh diduga karena kandungan beberapa sapogenin steroidnya yaitu diosgenin, yang merupakan prekursor pembentukan hormon seks⁽⁶⁾, isomernya yaitu yamogenin,

gitogenin dan tigogenin, serta trigoneosida (saponin steroid mirip estrogen) yang memiliki efek terapi pada gejala menopause, diabetes mellitus serta hiperkolesterolemia⁽¹⁾. Kandungan diosgeninnya terdapat dalam bentuk basa bebas sebesar 0,8 - 2,2%⁽⁷⁾. Struktur kimia dari beberapa senyawa sapogenin steroid yang terkandung dalam biji klabet disajikan pada Gambar 1.

Kanker payudara hingga kini masih merupakan salah satu jenis kanker dengan prevalensi tertinggi setelah kanker mulut rahim. Wanita mempunyai faktor risiko terkena kanker payudara yang lebih tinggi daripada kaum pria. Selain itu penggunaan obat-obat kontrasepsi dan terapi sulih hormon juga semakin meningkatkan resiko kejadian kanker ini.

Secara umum, kanker payudara pada wanita dibedakan menjadi kanker payudara yang tidak tergantung hormonal (*non hormonal dependent breast cancer*) dan kanker payudara yang tergantung hormonal (*hormonal dependent breast cancer*). Penanganan kanker payudara yang tergantung hormonal biasanya dilakukan dengan terapi hormon, yang salah satunya dengan menggunakan obat-obatan golongan *selective estrogen receptor modulators* (SERMs) seperti tamoksifen. Akan tetapi penggunaan jangka panjang tamoksifen justru meningkatkan resiko kejadian kanker rahim⁽⁸⁾.

Pesatnya perkembangan metode *in vitro* kian memudahkan untuk skrining pencarian tanaman ataupun senyawa aktif antikanker sebelum dilakukannya pengujian *in vivo* menggunakan hewan coba. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik biji klabet terhadap sel kanker payudara yang mempunyai estrogen reseptor positif, MCF-7. Selain itu juga dilakukan analisis secara flowsitometrik untuk mengetahui potensinya dalam menginduksi apoptosis terhadap sel MCF-7.

Apoptosis adalah suatu proses kematian sel yang terprogram, diatur secara genetik, bersifat aktif, ditandai dengan adanya kondensasi kromatin, fragmentasi sel dan fagositosis sel tersebut oleh sel tetangganya⁽⁹⁾. Apoptosis juga merupakan proses penting dalam homeostasis normal, proses ini menghasilkan keseimbangan dalam jumlah sel jaringan tertentu melalui eliminasi sel yang rusak dan proliferasi fisiologis, sehingga dapat memelihara fungsi jaringan normal. Deregulasi apoptosis dapat mengakibatkan keadaan patologis, termasuk proliferasi sel secara tidak terkontrol seperti dijumpai pada kanker⁽¹⁰⁾. Diharapkan hasil penelitian ini dapat menambah informasi data potensi biji klabet sebagai salah satu simplisia untuk penanganan kanker, khususnya kanker payudara.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sampel penelitian adalah simplisia biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO), Tawangmangu, Solo. Simplisia dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Sel MCF-7 diperoleh dari Laboratoria Pengembangan Teknologi Industri Agro dan Biomedika (LAPTIAB), Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang, yang sebelumnya diperoleh dari *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC) Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Doxorubicin (PT Ferron Par Pharmaceuticals). Media kultur terdiri dari RPMI 1640 Gibco Life Technologies dengan fenol red dan 2 mM glutamin, 100 U/mL penicillin, 0,1 mg/mL streptomisin, 1 mM natrium piruvat, serta suplemen 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS, Gibco Life Technologies) yang telah diinaktivasi dengan pemanasan suhu 56 °C selama 30 menit. DMSO; MTT (3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazolium bromida); *sodium dodecyl sulphate* (SDS, Sigma).

Alat. *Grinder* (Retsch), pengaduk (Heidolph RZR 2020), *rotary evaporator* (Heidolph Laborota 4000), HPLC (Knauer), mikrosentrifuga (BioRad), mikropipet (BioRad), inkubator CO₂ (Retsch), *ELISA Reader Spectroscopy* (BioTech), *flowsitometer* (Beckman-Coulter, EPICS-XL).

METODE. Persiapan sampel. Simplisia sebanyak 2 kg digiling menggunakan *grinder* kemudian dimaserasi menggunakan pelarut metanol dan etanol, masing-masing sebanyak 2 L, lima kali. Maserat kemudian diuapkan dengan alat rotavaporator hingga pelarut habis. Ekstrak metanol dan ekstrak etanol yang diperoleh berupa masa kental coklat kehitaman dengan bau khas biji klabet. Ekstrak metanol kemudian difraksinasi bergantian menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya, masing-masing 200 mL, tiga kali, yaitu *n*-heksana, etilasetat, *n*-butanol dan air. Masing-masing fraksi diuapkan dari pelarutnya dengan menggunakan rotavaporator. Semua ekstrak dan fraksi dianalisis profil kromatogramnya dengan menggunakan HPLC, dengan kolom Agilent Eclipse plus C18, 5 µm, 4,6 x 150 mm, metode gradien universal dengan eluen metanol HPLC-H₂O⁽¹¹⁾.

Kultur sel. Galur sel kanker MCF-7 adalah sel kanker payudara manusia dengan reseptor estrogen positif. Sel secara rutin dikultur dalam botol kultur 75cm² yang diinkubasi pada suhu 37 °C, 5% CO₂ dan kelembaban 95%. Pemanenan sel dilakukan menggunakan 4 mL tripsin-EDTA pada suhu kamar, selama 3 menit dalam inkubator. Kemudian dilakukan

inaktivasi enzim tripsin dengan menambahkan 10 mL media kultur yang mengandung 10% FBS. Suspensi kemudian di sentrifugasi untuk mendapatkan *pellet* sel yang selanjutnya akan ditumbuhkan dalam sumuran-sumuran 96 *microwell plate*.

Pengujian sitotoksitas dengan metode MTT⁽¹²⁾. Sel MCF-7 ditumbuhkan ke dalam sumuran 96 *microwell plate* (NUNKTM, Denmark), dengan kepadatan 1x10⁴ sel/200µL/sumuran, dalam media kultur, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, 5% CO₂ dan kelembaban 95%. Setelah 24 jam, media diganti dengan media kultur yang telah dipreparasi dengan sampel, yaitu ekstrak metanol, ekstrak etanol, fraksi heksana, etilasetat, *n*-butanol dan air dari biji klabet. Tiap sampel dibuat enam konsentrasi yaitu 10, 20, 50, 100, 250 dan 500 ppm, kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam pada 37 °C, 5% CO₂ dan kelembaban 95%. Setelah perlakuan sampel 24 jam, sel dibilas dengan *phosphate buffer saline* (PBS).

Larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium) sebanyak 20 µL (50 mg MTT dalam 10 mL PBS steril) dalam media kultur kemudian ditambahkan pada masing-masing sumuran. Sel kembali diinkubasi selama 4 jam pada 37 °C, 5% CO₂ dan kelembaban 95%. Pada tahapan ini kristal formazan biru akan terbentuk. Setelah 4 jam reaksi dihentikan dengan menambahkan *sodium dodecyl sulphate* (SDS) ke dalam tiap sumuran. *Plate* kemudian didiamkan di tempat gelap selama 12 jam atau satu malam. Intensitas warna yang terbentuk diukur dengan ELISA reader pada panjang gelombang 570 nm. Hasil dianalisis menggunakan statistik nilai probit.

Pengujian potensi apoptotik⁽¹³⁾. Sel MCF-7 sebanyak 3 x 10⁴ sel/500 µL/sumuran ditumbuhkan dalam sumuran 24 *microwell plate* (NUNKTM, Denmark) dalam media kultur dan diinkubasi pada suhu 37 °C, 5% CO₂ dan kelembaban 95% selama 24 jam. Kemudian media diganti dengan media kultur yang telah mengandung sampel masing-masing 100 ppm, tiga kali pengulangan. *Plate* diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37 °C, 5% CO₂ dan kelembaban 95%. Setelah 24 jam, media kultur diambil dari tiap sumuran. Pemanenan dengan enzim tripsin dalam PBS dan diinkubasi selama 3 menit, agar sel terpisah satu sama lain. Deaktivasi dengan tripsin menggunakan media kultur yang mengandung FBS. Suspensi sel kemudian disentrifugasi untuk mendapatkan *pellet* sel. Sel kemudian difiksasi dengan alkohol 70% selama 15 menit dalam suhu 4 °C, kemudian disentrifugasi kembali selama 5 menit, kemudian media pada setiap sumuran dibuang. *Pellet* sel disuspensi dengan 450 µL PBS. Kemudian

ditambahkan zat pewarna propidium iodida (PI) 20 µg/mL dan diinkubasi di suhu kamar serta gelap selama 30 menit. Setiap suspensi yang telah diwarnai kemudian jumlah selnya diukur dalam setiap tahapan siklus sel dengan menggunakan alat. Hasil dianalisis secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa biji klabet memiliki potensi sebagai antikanker secara *in vitro*, diantaranya terhadap sel leukemia H-60, sel kanker usus besar manusia HT-29 dan *human chang liver cells*. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitasnya terhadap sel kanker payudara MCF-7. Grafik pertumbuhan sel MCF-7 hasil pengujian aktivitas sitotoksitas ekstrak dan fraksi dari biji klabet disajikan pada Gambar 2.

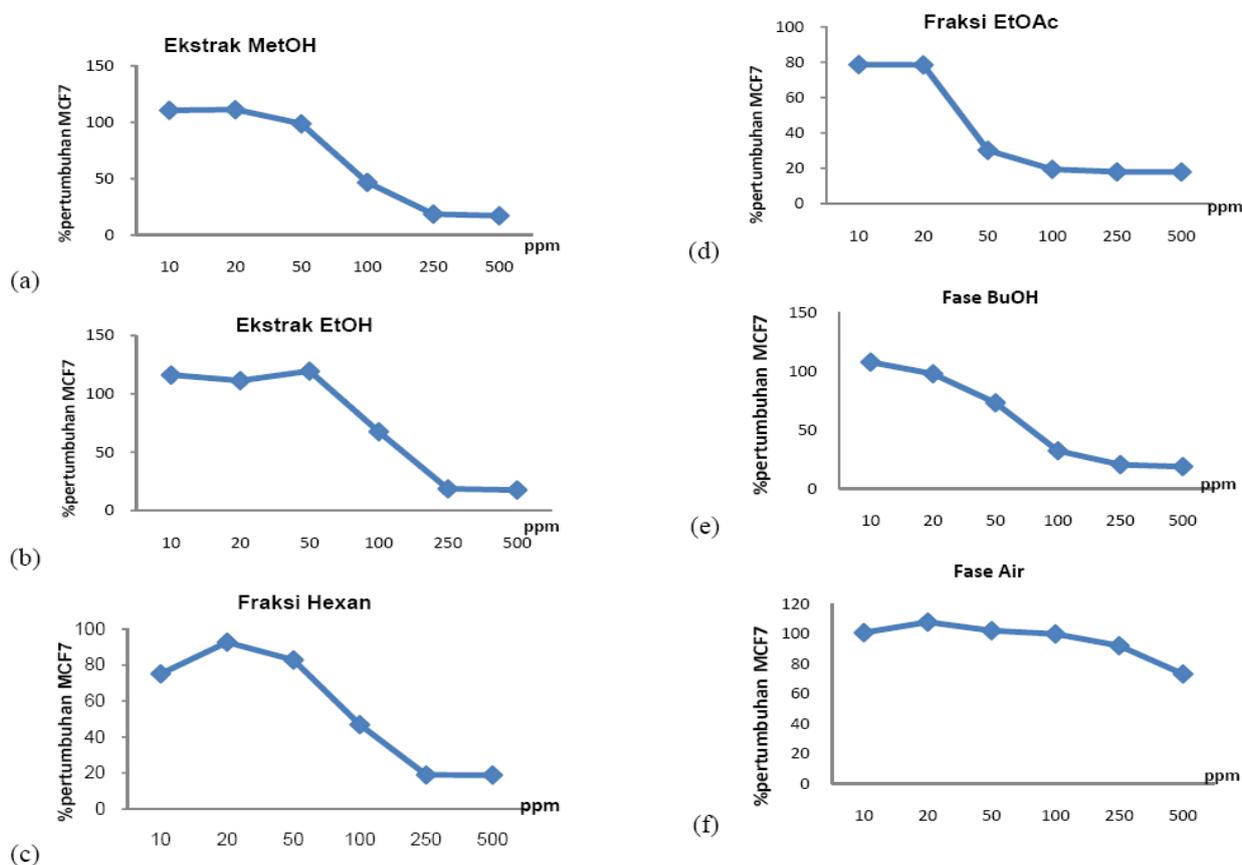
Gambar 2 grafik hasil pengujian sitotoksitas menunjukkan bahwa pertumbuhan sel MCF-7 di lingkungan ekstrak etanol, ekstrak metanol dan fraksi-fraksi biji klabet, mempunyai pola yang sama yaitu menurunkan % pertumbuhan sel seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak atau fraksi, dengan kata

lain menghambat proliferasi sel secara *dose dependent*. Dari data pertumbuhan sel MCF-7 tersebut kemudian dihitung nilai IC_{50} atau besarnya konsentrasi sampel yang dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan sebesar 50%.

Tabel 1. Nilai IC_{50} hambatan pertumbuhan masing-masing ekstrak dan fraksi biji klabet terhadap sel MCF-7. Setiap data diperoleh dari 6 (enam) variasi konsentrasi dengan tiga kali pengulangan.

No.	Sampel	IC_{50} (ppm)
1.	Ekstrak metanol	186,09
2.	Ekstrak etanol	241,24
3.	Fraksi etil asetat	41,81
4.	Fraksi heksana	102,11
5.	Fraksi butanol	136,25
6.	Fraksi air	1569,26

Tabel 1 menunjukkan bahwa sampel yang mempunyai aktivitas sitotoksik terbaik adalah fraksi etil asetat, dengan IC_{50} terendah yaitu 41,81 ppm. Berdasarkan data ini dapat diperkirakan bahwa



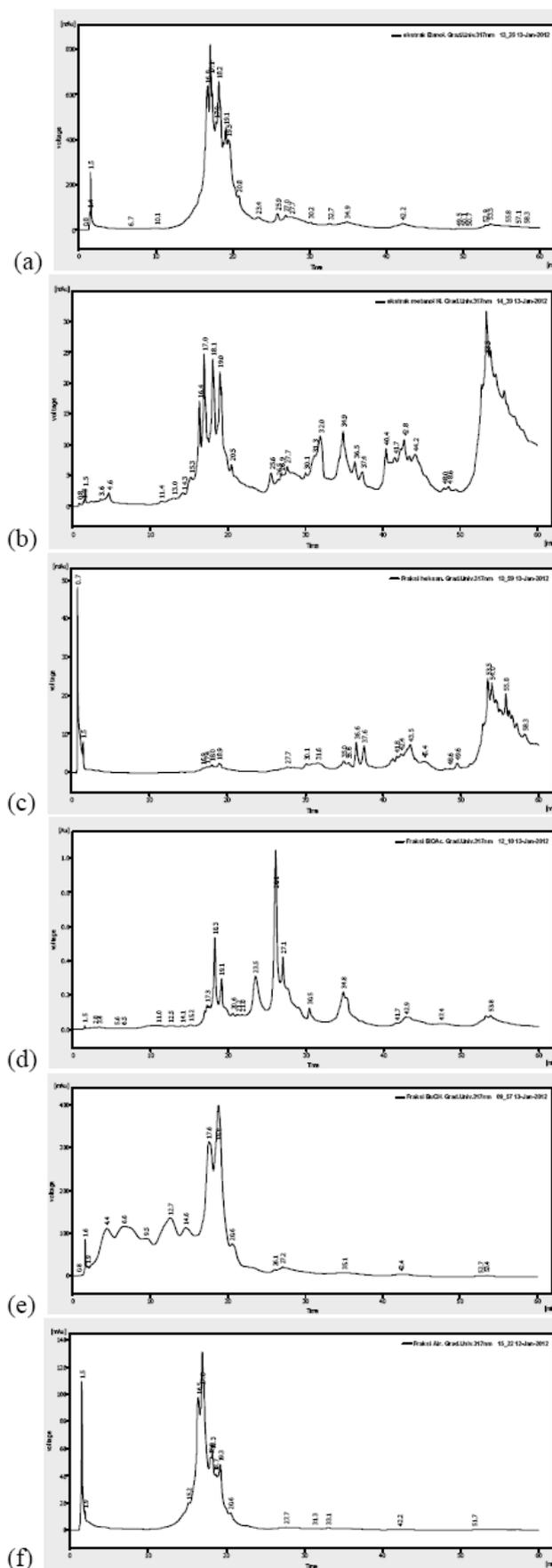
Gambar 2. Grafik pertumbuhan sel MCF-7 setelah perlakuan sampel ekstrak metanol (a), ekstrak etanol (b), fraksi heksana (c), fraksi etilasetat (d), fraksi butanol (e) dan fraksi air (f) selama 24 jam. Setiap sampel menunjukkan penghambatan pertumbuhan sel MCF-7 sejalan dengan bertambahnya dosis.

kandungan senyawa aktif yang mempunyai aktivitas sitotoksik kemungkinan berada di fraksi etil asetat yang bersifat semi polar. Sementara itu dari kedua ekstrak kasar yaitu ekstrak metanol dan ekstrak etanol, dapat dilihat bahwa ekstrak metanol mempunyai aktivitas sitotoksik yang lebih baik, dalam arti bahwa senyawa aktif sitotoksik kemungkinan lebih mudah diekstrak dengan metanol dibandingkan dengan etanol.

Hal ini dapat diterangkan karena kepolaran pelarut metanol memang lebih mudah melarutkan senyawa-senyawa dari tanaman dibandingkan dengan etanol. Berdasarkan aplikasi penerapannya harus dipertimbangkan mengenai toksisitas/keamanan pelarut, karena metanol lebih toksik dibandingkan etanol. Penyebaran senyawa kimia pada berbagai fraksi berdasarkan kepolarannya dapat dilihat dari profil kromatogram HPLC dari masing-masing ekstrak dan fraksi pada Gambar 3. Senyawa-senyawa lebih polar berada di fraksi air dan *n*-butanol. Senyawa-senyawa yang bersifat semi polar akan terlarut di fraksi etil asetat, sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan terlarut di fraksi heksana. Kromatogram dari ekstrak metanol dan ekstrak etanol menunjukkan semua senyawa yang dapat terlarut pada kedua pelarut utama tersebut.

Selanjutnya untuk mengetahui apakah biji klabet juga dapat menginduksi apoptosis, dilakukan pengujian apoptosis secara pengamatan siklus sel secara *flowcytometry*. Pengujian ini hanya dilakukan terhadap ekstrak metanol, ekstrak etanol dan fraksi yang memiliki aktivitas sitotoksik terbaik, yaitu fraksi etilasetat. Sel MCF-7 diinkubasi dalam media yang mengandung sampel selama 24 jam. Sebagai kontrol, adalah DMSO (pelarut sampel), kontrol obat kemoterapi doxorubicin 1 μ M dan kontrol obat kemopreventif tamoksifen 10 μ M. Tahap selanjutnya dianalisis jumlah sel pada berbagai fase dalam siklus sel menggunakan flowsitometer. Hasil disajikan pada Gambar 4. Hasil perhitungan rata-rata % sel yang berada di fase subG₀/G₁ pada siklus sel, disajikan pada Tabel 3.

Pada suatu populasi sel kanker yang telah diberi perlakuan sampel sitotoksik, dapat dianalisis fase-fase siklus sel, sel yang apoptosis serta sel yang mengalami poliploidi. Masing-masing jenis sel tersebut memiliki perbedaan pada jumlah set kromosom, dimana pada fase subG₀/G₁, fase S, fase G₂/M berturut-turut memiliki 2, 3 dan 4 set kromosom. Semakin banyak jumlah set kromosom, maka intensitas sinyal optik yang diberikan semakin kuat karena kemampuan fluoresen untuk berinterkalasi pada DNA semakin besar. Pada sel yang mengalami apoptosis (subG₀/G₁), intensitas fluoresen sangat lemah karena kromosom



Gambar 3. Profil HPLC ekstrak etanol (a), ekstrak metanol (b), fraksi heksana (c), fraksi etilasetat (d), fraksi *n*-butanol (e) dan fraksi air (f).

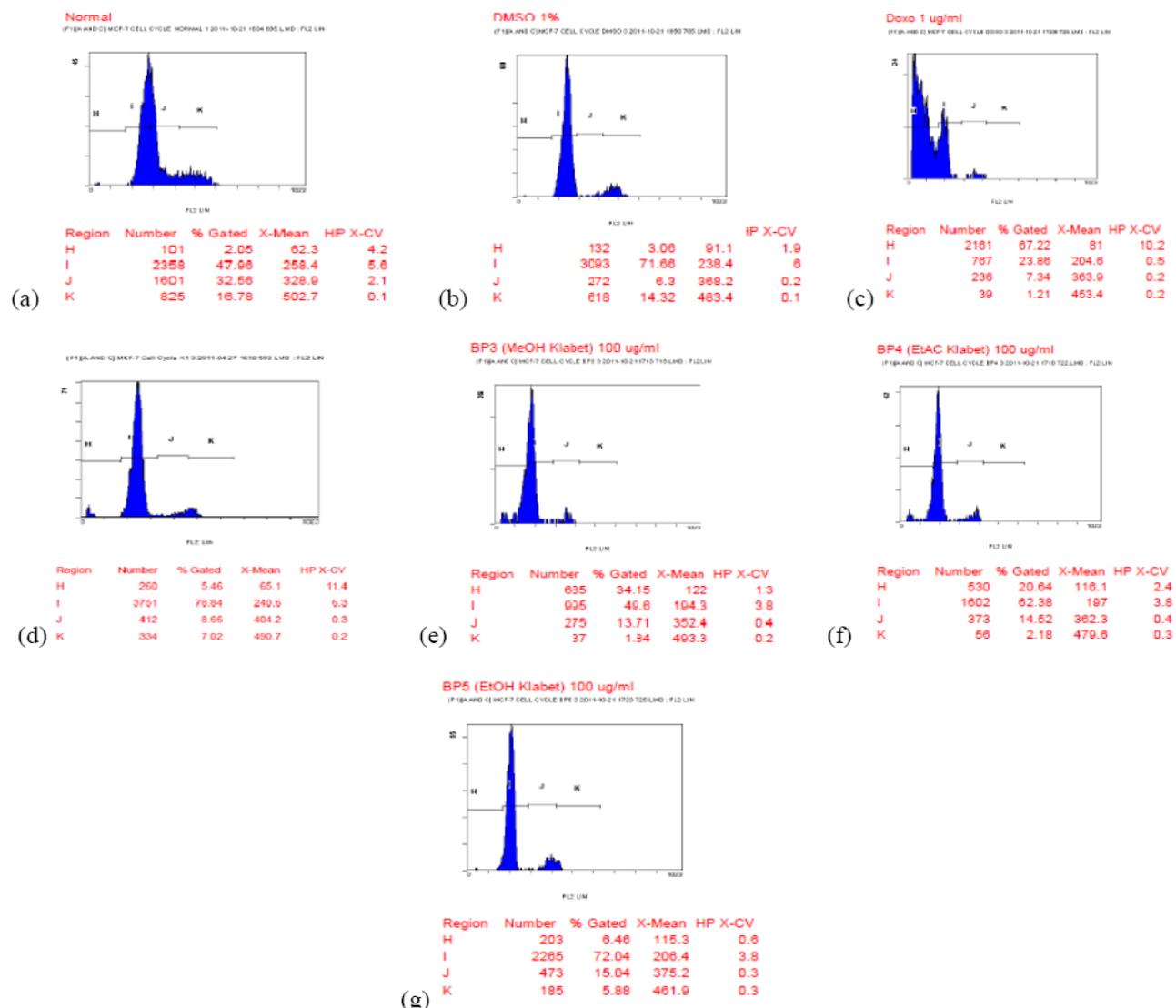
telah mengalami fragmentasi Sedangkan pada sel poliploidi, intensitas yang diberikan sangat kuat karena set kromosom yang lebih dari 4 set⁽¹⁴⁾.

Tabel 3. Hasil perhitungan rerata % sel di fase sub G₀/G₁.

Sampel	Rerata % sel di fase sub G ₀ /G ₁	SD	T-test
Normal	2,64	0,96	
DMSO	2,97	0,19	0,5903
Doxorubicin	51,96	14,83	0,0045
Tamoksifen	5,34	0,10	0,0602
Ekstrak MetOH	27,04	7,65	0,0053
Fraksi EtOAc	20,87	2,25	0,0002
Ekstrak EtOH	6,46	0,94	0,0078

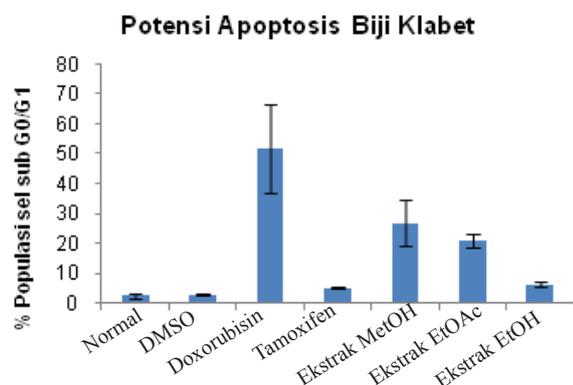
Gambar 5 menunjukkan bahwa kedua kontrol obat yang digunakan, doxorubicin dan tamoksifen memberikan profil siklus sel yang berbeda. Perlakuan dengan doxorubicin 1 μM menunjukkan % populasi sel pada fase apoptosis (fase sub G₀/G₁) yang paling tinggi. Sementara itu profil % populasi sel yang ditunjukkan karena perlakuan ekstrak etanol dan metanol biji klabet maupun fraksi etilasetat, memberikan pola yang sama dengan % populasi sel setelah perlakuan tamoksifen, yaitu lebih banyak di fase G₁.

Tamoksifen adalah salah satu obat golongan *selective estrogen receptor modulators* (SERMs) yang merupakan obat pilihan untuk penanganan kanker payudara dengan estrogen reseptor positif/ER(+). Obat golongan ini mempunyai aktivitas agonis parsial terhadap estrogen reseptor. Antiestrogen dapat mereduksi pertumbuhan sel kanker dengan ER(+)



Gambar 4. Hasil pengukuran flowsitometer sel MCF-7 setelah perlakuan 24 jam dengan sampel, (a) kontrol sel normal tanpa sampel, (b) kontrol DMSO, (c) kontrol obat doxorubicin, (d) kontrol obat tamoksifen, (e) ekstrak metanol, (f) fraksi etil asetat dan (g) ekstrak etanol biji klabet. Region H, I, J, K menunjukkan masing-masing fase pada siklus sel, yaitu masing-masing berurutan G₀/G₁, G₁, S dan G₂/M.

namun tidak mereduksi sel kanker dengan ER(-). Antiestrogen hanya dapat menghambat pertumbuhan sel pada awal hingga pertengahan fase G_1 pada siklus sel⁽¹⁵⁾.



Gambar 5. Grafik potensi apoptosis biji klabet berdasarkan % populasi sel pada fase sub G_0/G_1 .

Biji klabet yang juga merupakan fitoestrogen, mempunyai potensi sebagai SERMs natural. Fitoestrogen mulai banyak diteliti saat ini sebagai SERMs natural karena golongan senyawa tersebut memiliki sifat agonis parsial terhadap estrogen reseptor⁽¹⁶⁾. Berdasarkan Gambar 5, dapat dilihat bahwa % populasi sel MCF-7 yang telah diberi perlakuan ekstrak dan fraksi biji klabet, paling banyak terdapat pada fase G_1 , dengan profil grafik yang sama dengan profil grafik tamoksifen. Walaupun demikian, analisis potensi apoptosis yang digunakan tetap berdasarkan pada % populasi sel pada fase sub G_0/G_1 . Pada gambar 5, dapat dilihat bahwa ekstrak etanol, ekstrak metanol dan fraksi etil asetat biji klabet pada konsentrasi 100 ppm dapat menginduksi apoptosis yang signifikan.

SIMPULAN

Biji klabet memiliki potensi sebagai antikanker, terutama fraksi etilasetat memiliki potensi menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis sel kanker payudara MCF-7. Hasil studi ini diharapkan dapat memberikan tambahan data mengenai aktivitas biji klabet sebagai antikanker dan salah satu kandidat SERMs alami, khususnya untuk penanganan kanker payudara dengan reseptor estrogen positif.

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan analisis ekspresi gen yang berperan menginduksi apoptosis karena perlakuan ekstrak atau fraksi biji klabet pada sel MCF-7.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Pusat Teknologi

Farmasi dan Medika, Deputi Bidang Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) yang telah menyediakan fasilitas penelitian dan kepada Dra. Tjandrawati Mozef, M.Sc, Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) atas bantuannya dalam analisis apoptosis secara siklus sel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. WHO monograph on selected medicinal plants. Volume 3. Ottawa: 2007. 338-48.
2. Hibasami H, Hiroyuki M, Kengo I, Hirotaka K, Kunio I, Kazumi Y, *et al.* Protodioscin isolated from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) induces cell death and morphological change indicative of apoptosis in leukemic cell line H-60, but not in gastric cancer cell line KATO III – International Journal of Molecular Medicine. 2003.11:23-6.
3. Raju J, Jagan MRP, Malisetty VS, Chinthalapally VR, *et al.* Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 2004.13: 1392-8.
4. Kaviarasan S, Ramamurty R. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed extract prevent ethanol induced toxicity and apoptosis in Chang liver cells. Alcohol and Alcoholism. 2006.41(3):267-73.
5. Agustini K. Pengaruh pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap kadar estradiol dan FSH serta struktur histologi uterus dan *mammæ* tikus putih betina galur wistar prepubertal dan yang diovariectomi [Thesis]. Depok:Departemen Farmasi. Universitas Indonesia. 2004.
6. Evans CW. Pharmacognosy. 15th ed. London: W.B. Saunders; 2002.
7. Wiryowidagdo S. Kimia dan farmakologi bahan alam. Jakarta: Universitas Indonesia; 2001. 318-28.
8. Guyton CA. Human physiology and mechanism of disease. Diterjemahkan oleh P. Andrianto. Jakarta: EGC: 1995. 741-53.
9. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins patologic basic of disease. 6th ed. Tokyo: WB Saunders Company; 1999. 18-25.
10. Kresno SB. Ilmu onkologi dasar. Jakarta: Bagian Patologi Klinik FKUI; 2001.
11. Laboratorium Analisa HPLC, Laboratorium Teknologi Farmasi dan Medika, LAPTIAB, BPPT. 2010.
12. Hughes D, Mehmet H. (Eds). Cell proliferation and apoptosis. Oxford. BIOS Scientific Publisher Ltd; 2003. 1-24.
13. Laboratorium Kultur Sel, Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (Puslitkim-LIPI). Protokol analisis apoptosis. 2010. (Adopsi dan modifikasi dari sumber lain).
14. Rabinovitch PS. Multicycle for windows, Multicycle

- DNA content and cell cycle analysis software. Washington: University of Washington. Phoenix Flow System Inc; 2002: 2-55.
15. Gauduchon J, Gouilleux F, Maillard S, Marsaud V, Renoir MJ, Sola B. The selective estrogen receptor modulator 4-hydroxy tamoxifen induces G₁ arrest and apoptosis multiple myeloma cell lines. *Ann NY Acad Sci.* 2003.1010:321-5.
 16. Rice S and Whitehead SA. Phytoestrogens and breast cancer—Promoter or protectors?. *Endocrine Related Cancer.* 2006.13:995-1015.