

Komponen Fitokimia Ekstrak Daun Suren (*Toona sinensis*) serta Uji Sitotoksitasnya terhadap Sel Vero dan MCF-7

(Phytochemical Compounds and Cytotoxicity Screening of Suren (*Toona sinensis*) Leaves Extracts against Vero and MCF-7 Cells)

SYAMSUL FALAH^{1*}, DIDIT HARYADI¹, POPI ASRI KURNIATIN¹, SYAEFUDIN¹

¹Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor, Indonesia 16680.

Diterima 2 Februari 2015, Disetujui 26 Juni 2015

Abstrak: Daun suren diindikasikan memiliki beragam aktivitas farmakologi seperti antioksidan, antidiabetes, antihiperlipidemia, dan antikanker. Penelitian ini bertujuan menganalisis komponen-komponen fitokimia daun suren secara kualitatif dan kuantitatif, serta menguji aktivitas sitotoksitasnya terhadap sel vero dan sel kanker payudara MCF-7. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi daun suren adalah air, etanol 70%, etil asetat, dan n-heksana. Rendemen yang diperoleh untuk pelarut air, etanol 70%, etil asetat, dan n-heksana secara berurutan sebesar 33,54; 34,85; 6,38; dan 1,31%. Komponen fitokimia dalam daun suren meliputi alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, fenol, dan steroid. Total fenolik ekuivalen asam galat (GAE) tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 70% diikuti oleh ekstrak air, etil asetat, dan n-heksana masing-masing sebesar 101,78; 97,84; 33,24; dan 14,81 mg/g GAE. Total flavonoid ekuivalen kuersetin (QE) ekstrak air, etanol 70%, etil asetat, dan n-heksana masing-masing sebesar 81,14; 53,72; 17,58; dan 6,46 mg/g QE. Uji sitotoksitas menunjukkan bahwa semua ekstrak daun suren tidak toksik terhadap sel vero dengan nilai IC_{50} sebesar 463,03 (ekstrak air), 197,88 (ekstrak etanol 70%), 121,09 (ekstrak etil asetat), dan 217,43 $\mu\text{g/ml}$ (ekstrak n-heksana). Nilai IC_{50} semua ekstrak daun suren terhadap sel kanker payudara MCF-7 $>100 \mu\text{g/ml}$. Berdasarkan National Cancer Institute (NCI), nilai ini menunjukkan aktivitas antikanker ekstrak daun suren yang sangat lemah terhadap sel MCF-7.

Kata kunci: Sitotoksitas, *Toona sinensis*, sel vero, sel MCF-7, total fenolik, total flavonoid.

Abstract: The compounds of suren leaves are indicated a wide range of pharmacology activity, such as antioxidant and anticancer. The objectives of this research were to analyze phytochemical compounds and cytotoxicity of suren leaves extracts against vero and MCF-7 cells line. Extraction of suren leaves was performed by maceration method with some solvents: water, ethanol 70%, ethyl acetate, and n-hexane. Suren leaves extracts showed the presence of alkaloids, triterpenoids, flavonoids, tannin, phenols, and steroids. The highest value of total phenolic content with equivalent gallic acid (GAE) was obtained from ethanol 70% extracts (101.78 mg/g GAE), followed by water (97.84 mg/g GAE), ethyl acetate (33.24 mg/g GAE), and n-hexane extracts (14.81 mg/g GAE). Total flavonoid content equivalent quercetin (QE) of water, ethanol 70%, ethyl acetate, and n-hexane extracts were 81.14; 53.72; 17.58; and 6.46 mg/g QE; respectively. The cytotoxicity assay showed that extracts were not toxic on vero cell with IC_{50} value: 463.03 (water extract); 197.88 (ethanol 70% extract); 121.09 (ethyl acetate extract); and 217.43 $\mu\text{g/ml}$ (n-hexane extract). Suren leaves extracts had no anticancer potency against MCF-7 cell with IC_{50} value of all extracts more than 100 $\mu\text{g/ml}$. Based on National Cancer Institute (NCI) regulation, these values showed low cytotoxicity in MCF-7 cell.

Keywords: Cytotoxicity, *Toona sinensis*, vero cell, MCF-7 cell, phenolic total, flavonoid total.

* Penulis korespondensi, Hp. 08121083220
e-mail: syamsulfalah7053@gmail.com

PENDAHULUAN

KANKER payudara merupakan penyakit kanker yang sering ditemui pada wanita setelah kanker leher rahim. National Cancer Institute memperkirakan pada tahun 2014 di Amerika Serikat terdapat kasus baru kanker payudara sebanyak 232.670 (wanita) dan 2.360 (laki-laki) dengan jumlah kematian sebanyak 40.000 (wanita) dan 430 (laki-laki). Kanker payudara dapat terjadi pada wanita dan laki-laki, walaupun kejadian yang terjadi pada laki-laki tergolong sangat jarang⁽¹⁾. Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, prevalensi kanker sebesar 1.4 dari tiap 1000 penduduk. Penderita kanker terbanyak terdapat di Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) dengan angka prevalensi mencapai 4.0 dari tiap 1000 penduduk⁽²⁾. Salah satu upaya untuk mengatasi penyakit ini adalah dengan mengembangkan obat asal tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa antikanker.

Indonesia sebagai negara dengan biodiversitas tinggi memiliki banyak tumbuhan yang berpotensi dapat digunakan sebagai obat-obatan. Salah satu tumbuhan yang diduga memiliki potensi sebagai antikanker adalah suren (*Toona sinensis*). Daun tumbuhan ini memiliki banyak komponen fitokimia dengan aktivitas farmakologi yang beragam, seperti antioksidan⁽³⁾, antidiabetes⁽⁴⁾, antihiperlipidemia⁽⁵⁾, dan antikanker⁽⁶⁾. Beberapa komponen fitokimia yang terdapat di dalam daun suren adalah β -karoten, lutein, askorbat, α -tokoferol, dan komponen fenolik seperti asam galat, metil galat, dan kuersetin⁽⁷⁾. Terkait potensinya sebagai agen antikanker, komponen fitokimia ekstrak daun suren, yaitu asam galat, telah terbukti memiliki aktivitas sebagai agen antikanker terhadap sel kanker prostat. Beberapa penelitian lain juga melaporkan aktivitas ekstrak daun suren terhadap beberapa sel kanker, seperti sel kanker paru-paru kecil⁽⁸⁾ dan besar⁽⁹⁾.

Sampai saat ini belum ada laporan penelitian tentang aktivitas ekstrak daun suren terhadap sel kanker payudara baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian ini bertujuan menganalisis senyawa bioaktif daun suren secara kualitatif dan kuantitatif serta menentukan aktivitas sitotoksitasnya terhadap sel vero dan sel kanker payudara MCF-7 secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Daun suren (*Toona sinensis*) dari Kebun Rakyat Cibugel Kab. Sumedang, Jawa Barat – Indonesia, sel vero (ATCC CCL 81), sel kanker payudara MCF-7 (ATCC HTB 22), Fetal Bovine Serum (FBS) 10%, Media Dulbecco's Modified

Eagle's Medium (D-MEM), streptomisin, penicillin, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT), larutan 0.1 N asam klorida (HCl), isopropanol, akuades, etanol absolut, etil asetat, n-heksana, metanol, kertas saring Whatmann No. 1, kloroform, amoniak, asam sulfat (H₂SO₄), pereaksi Mayer's, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendroff, aluminium foil, logam magnesium (Mg), besi (III) klorida (FeCl₃), aluminium klorida (AlCl₃) 10%, natrium nitrit (NaNO₂) 5%, natrium hidroksida (NaOH) 1 M, reagen Folin-Ciocalteu 10%, natrium karbonat (Na₂CO₃) 7,5%, asam galat, dan kuersetin anhidrida asetat.

Alat. Oven, penggiling, pipet tetes, pipet volumetrik, pipet mikro, neraca analitik, *shaker* (Eyela Multishaker MMS-3010, China), *rotavapor* (Eyela Rotavapor N-1100, China), spektrofotometer (Thermo-Genesys 10 UV, USA), inkubator karbon dioksida (CO₂) (Nuaire Water-Jacketed NU-2700E, USA), *laminar air flow cabinet*, perangkat sumur kultur, *microplate reader* (BioRad Model 3550, USA), dan alat-alat gelas.

METODE. Ekstraksi Daun Suren. Daun suren dicuci sampai bersih, kemudian diangin-anginkan di udara terbuka. Selanjutnya daun dikeringkan dalam oven pada suhu 40 °C lalu digiling sehingga berbentuk serbuk. Ekstraksi serbuk simplisia suren dilakukan menggunakan metode maserasi dengan tiga pelarut berbeda secara terpisah masing-masing dengan etanol 70%, etil asetat, n-heksana dan perebusan (pelarut air). Teknik maserasi serbuk simplisia daun suren dilakukan dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 24 jam dengan pengadukan menggunakan shaker pada kecepatan 150 rpm. Hasil maserasi disaring dengan kertas Whatmann No. 1 dan filtratnya ditampung dalam wadah plastik. Perlakuan maserasi diulang hingga 3 kali. Hasil maserasi dipekatkan dengan rotavapor dan ditimbang berat keringnya.

Ekstraksi serbuk simplisia daun suren menggunakan pelarut air dilakukan dengan cara merebus serbuk simplisia daun suren pada air mendidih selama 2 jam. Serbuk simplisia daun suren dicampurkan ke dalam air dengan perbandingan 1:10(b/v), kemudian direbus pada suhu 100 °C selama 2 jam. Hasil rebusan serbuk simplisia daun suren disaring dengan kertas *Whatmann* No. 1 dan filtratnya ditampung dalam wadah plastik. Perebusan simplisia daun suren alam air diulang hingga 3 kali. Filtrat hasil rebusan dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotavapor hingga didapat ekstrak yang kering. Ekstrak kemudian ditimbang berat bersihnya.

Analisis Fitokimia. Analisis fitokimia ekstrak daun suren meliputi penapisan golongan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan fenol, serta

steroid dan triterpenoid. Metode yang digunakan merujuk pada teknik yang dikembangkan oleh Harborne⁽¹⁰⁾.

Penentuan Bilangan Total Fenolik dan Flavonoid Ekstrak Daun Suren. Penentuan total fenolik dan flavonoid didasarkan pada prinsip kolorimetri menggunakan metode *Folin-Ciocalteu assay* (FCA) dan *aluminium chloride assay*. Penentuan bilangan total fenolik mengacu kepada metode dari Sen *et al.*⁽¹¹⁾. Total fenolik ekstrak daun suren diekspresikan sebagai milligram (mg) asam galat ekuivalen per gram bobot ekstrak kering (mg GAE/g ekstrak daun suren). Standar yang digunakan adalah asam galat dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/mL. Adapun total flavonoid ditentukan dengan merujuk metode Jiang *et al.*⁽¹²⁾. Total flavonoid diekspresikan sebagai milligram (mg) kuersetin ekuivalen per gram ekstrak kering (mg QE/g ekstrak daun suren). Kuersetin dengan berbagai konsentrasi (0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) digunakan sebagai standar.

Uji Sitotoksitas. Uji sitotoksitas pada sel vero dan MCF-7 menggunakan metode MTT assay yang dikembangkan oleh Yang *et al.*⁽⁸⁾. Konsentrasi ekstrak daun suren yang digunakan untuk perlakuan terhadap sel vero adalah 10, 50, 100, 500, dan 1000 µg/ml, sedangkan konsentrasi ekstrak daun suren untuk perlakuan terhadap sel MCF-7 sebesar 6.25, 12.5, 50, dan 100 µg/mL. Sel yang tidak mendapat perlakuan ekstrak daun suren dijadikan sebagai kontrol. Pengukuran Absorban (A) dilakukan menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 595 nm. Analisis data dan IC₅₀ dilakukan dengan menghitung % inhibisi melalui persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Suren. Ekstraksi merupakan pemisahan senyawa bioaktif tumbuhan menggunakan pelarut selektif melalui prosedur yang telah ditentukan. Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi ke dalam dinding sel tumbuhan dan akan melarutkan senyawa-senyawa bioaktif dengan tingkat kepolaran yang sama. Metode maserasi dipilih karena sangat sederhana dan cukup baik dalam mengekstrak senyawa-senyawa tidak tahan panas. Perendaman simplisia dalam pelarut terpilih menyebabkan dinding sel daun suren lisis sehingga senyawa bioaktifnya keluar dan ikut terlarut⁽¹³⁾.

Ekstraksi daun suren menghasilkan nilai rendemen berbeda-beda sesuai dengan pelarut yang digunakan

(Tabel 1). Rendemen terbesar diperoleh pada ekstrak dengan pelarut etanol 70%, diikuti oleh pelarut air, etil asetat, dan n-heksana. Hasil ini menunjukkan bahwa komponen bioaktif dalam daun suren lebih bersifat polar karena banyak terekstrak dalam pelarut polar. Menurut Cheng *et al.*⁽⁷⁾, komponen kimia terbesar dalam daun suren adalah asam galat. Senyawa bioaktif golongan fenolik ini cenderung polar sehingga mudah larut dalam pelarut air, etanol, dan pelarut polar lainnya.

Huang *et al.*⁽¹⁴⁾ melaporkan bahwa serbuk daun suren asal Taiwan yang dilarutkan pelarut air, etil asetat, serta n-heksana berturut-turut menghasilkan rendemen sebanyak 18,66; 16,20; dan 2,14%. Perbedaan tersebut disebabkan oleh kondisi agrobiofisik tempat tumbuh tumbuhan yang berbeda. Curah hujan, ketinggian tempat, kondisi fisika dan kimia tanah yang beragam akan mempengaruhi jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan. Tak hanya kadar metabolit, perbedaan juga ditunjukkan oleh aktivitas farmakologi senyawa yang diekstraksi dari daerah dengan kondisi agrobiofisik berbeda⁽¹⁵⁾.

Penapisan Golongan Senyawa Fitokimia. Perbedaan jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi memberikan hasil yang berbeda terhadap senyawa fitokimia yang terdapat pada daun suren. Berbagai aktivitas biologi (antimikroba, antioksidan, antikanker) yang dimiliki oleh tumbuhan sangat dipengaruhi oleh komponen-komponen fitokimia yang terkandung didalamnya, seperti flavonoid dan fenol. Komponen-komponen fitokimia yang terdapat pada ekstrak daun suren ini diantaranya adalah alkaloid, tanin, fenol, flavonoid, steroid, saponin, dan triterpenoid (Tabel 2). Chen *et al.*⁽⁶⁾ melaporkan bahwa daun suren kaya akan senyawa fitokimia flavonoid, alkaloid, terpen, dan antrakuinon. Selain itu, Negi *et al.*⁽¹⁶⁾ juga menyebutkan bahwa tumbuhan genus *Toona* mengandung golongan senyawa fitokimia kumarin, flavonoid, fitosterol, fenol, tanin, fenol, alkaloid,

Tabel 1. Rendemen ekstrak daun suren.

Ekstrak	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
Air	20	6,707	33,54
Etanol 70%	20	6,970	34,85
Etil asetat	20	1,276	6,38
n-Heksana	20	0,263	1,31

Tabel 2. Komponen fitokimia ekstrak daun suren.

Komponen fitokimia	Pelarut			
	air	etanol 70%	etil asetat	n-heksana
alkaloid	+	+	+	+
tanin	+	+	+	-
fenolik	+	+	+	-
flavonoid	+	+	-	-
steroid	-	-	+	+
saponin	-	-	+	-
terpenoid	+	+	+	+

Keterangan: + = senyawa fitokimia terdeteksi

triterpen dan antrakuinon.

Komponen - komponen fitokimia dalam daun suren ini memiliki berbagai efek farmakologi, terutama komponen fenoliknya. Komponen fenolik secara luas terdistribusi di dalam tumbuhan dan merupakan metabolit sekunder dengan jumlah yang sangat melimpah di dalam tumbuhan. Komponen fenolik seperti asam galat, flavonoid, dan metil galat yang terdapat di dalam daun suren terbukti memiliki beberapa aktivitas farmakologi. Asam galat yang merupakan salah satu komponen fenolik terbesar dalam daun suren berperan sebagai agen antikanker⁽⁶⁾ dan antioksidan⁽¹²⁾. Flavonoid dalam daun suren juga dilaporkan berperan sebagai antioksidan⁽¹²⁾.

Salah satu komponen fenolik yang lainnya, metil galat, memiliki aktivitas antioksidan dan mampu menghambat stres oksidatif lebih tinggi dibandingkan dengan α -tokoferol⁽¹⁷⁾. Selain itu, tanin juga telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antimikroba. Saponin dikenal sebagai zat busa (detergen) yang sering digunakan sebagai obat antihiperkolesterolemia, antihiperqlikemia, antioksidan, antikanker, dan antiinflamasi. Steroid pada tumbuhan diketahui memiliki aktivitas kardiotonik dan antibakteri⁽¹⁸⁾.

Bilangan Total Fenolik dan Flavonoid. Jumlah total fenolik dan flavonoid ekstrak daun suren sangat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Total fenolik untuk ekstrak yang dilarutkan menggunakan pelarut etanol 70% lebih besar dibandingkan ekstrak air, etil asetat, dan n-heksana (Tabel 3). Total flavonoid ekstrak daun suren juga lebih banyak terdapat pada ekstrak dengan pelarut polar, yaitu air dan etanol 70%. Namun, dalam penentuan total flavonoid ini, ekstrak air memiliki total flavonoid yang paling besar dibandingkan dengan semua ekstrak yang lainnya, yaitu sebesar 81,14 QE mg/g ekstrak kering. Total flavonoid untuk ekstrak etanol 70%, etil asetat, dan n-heksana masing-masing sebesar 53,72 QE mg/g, 17,58 QE mg/g, dan 6,46 QE mg/g.

Pelarut polar seperti air dan etanol sangat efektif untuk mengisolasi senyawa fenolik dan flavonoid. Hal inilah yang menyebabkan total fenolik dan flavonoid terbesar ekstrak daun suren terdapat pada ekstrak dengan pelarut polar (air dan etanol). Ekstraksi senyawa fenolik dengan pelarut etanol akan lebih

efektif karena tingkat kepolaran etanol lebih rendah dibandingkan air. Hal ini akan mengakibatkan dinding sel tumbuhan yang bersifat kurang polar lebih mudah didegradasi dan senyawa fenolik akan lebih mudah keluar dari sel tumbuhan⁽¹³⁾. Pelarut lainnya yang sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenol diantaranya adalah metanol. Metanol diketahui sangat efektif untuk mengekstraksi polifenol dengan berat molekul rendah. Adapun aseton, senyawa semipolar yang sering digunakan sebagai pelarut, cocok digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenolik dengan berat molekul lebih besar seperti flavanol⁽¹⁹⁾.

Jumlah total fenolik dan flavonoid terbesar dari ekstrak daun suren, yaitu ekstrak etanol 70% (total fenolik) dan ekstrak air (total flavonoid), tergolong ke dalam kategori sedang⁽²⁰⁾. Komponen fenolik memiliki peran penting terhadap berbagai aktivitas farmakologi daun suren. Komponen fenolik seperti asam galat dan flavonoid yang terdapat di dalam daun suren ini diharapkan bisa memberikan efek sitotoksitas terhadap sel kanker.

Asam galat adalah salah satu komponen fenolik yang merupakan senyawa bioaktif terbesar dalam daun suren⁽⁶⁾. Senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas antikanker, antioksidan, dan tidak bersifat toksik terhadap sel normal. Asam galat memiliki peran sebagai agen antikanker dengan cara menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis. Chen *et al.*⁽⁶⁾ melaporkan bahwa asam galat dalam daun suren dapat mengaktivasi caspase-9 dan caspase-3 yang memiliki peran dalam proses terjadinya apoptosis kanker prostat.

Flavonoid memiliki peran dalam aktivitas antioksidan daun suren. Jiang *et al.*⁽¹²⁾ melaporkan bahwa kenaikan jumlah total fenolik dan flavonoid ekstrak daun suren berkorelasi positif dengan peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak daun suren. Aktivitas antioksidan dari komponen fenolik dalam daun suren ini diduga memiliki peran dalam mengatasi serangan radikal bebas yang bisa merusak DNA. Senyawa flavonoid kuersetin juga dilaporkan mampu menghambat pelepasan sitokrom-45 dan protein CYP1A *family* yang berperan dalam induksi penyakit kanker⁽²¹⁾.

Sitotoksitas Ekstrak Daun Suren. Hasil uji MTT menunjukkan semua ekstrak daun suren tidak

Tabel 3. Kandungan total fenolik dan flavonoid ekstrak daun suren.

Analisis kuantitatif	Pelarut			
	Air	Etanol 70%	Etil Asetat	n-Heksana
Total fenolik (mg/g GAE)	97,80	101,80	33,20	14,80
Total flavonoid (mg/g QE)	81,14	53,72	17,58	6,46

Tabel 4. Nilai IC₅₀ ekstrak daun suren terhadap sel vero dan MCF-7.

Cell lines	Pelarut (µg/mL)			
	Air	Etanol 70 %	Etil asetat	n-Heksana
Vero	464,03	197,88	121,09	217,43
MCF-7	>100	>100	>100	>100

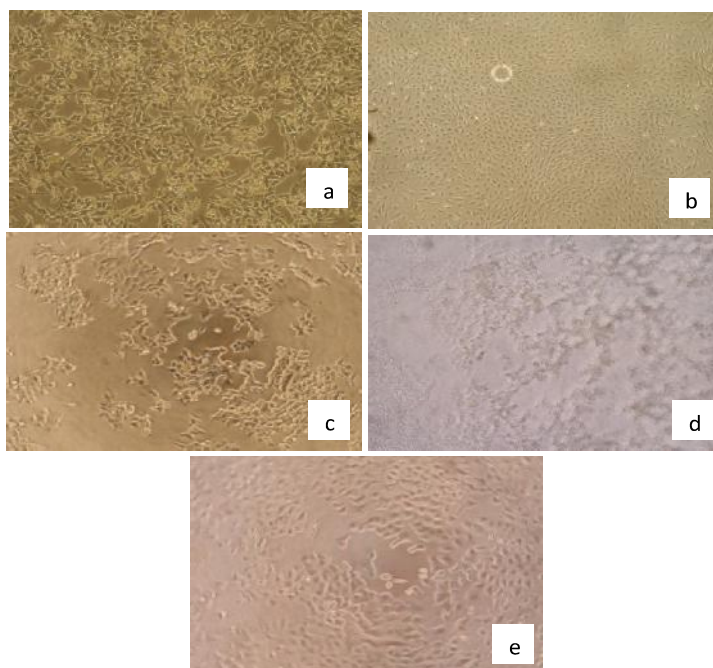
Keterangan: Potensi antikanker berdasarkan National Cancer Institute (NCI) Guideline, aktif ($IC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$), moderat aktif ($20 \mu\text{g/ml} \leq IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$), tidak aktif ($IC_{50} \geq 100 \mu\text{g/ml}$).

bersifat toksik terhadap sel vero karena nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} ekstrak daun suren terhadap sel vero masing-masing sebesar 463,03 (ekstrak air), 197,88 (ekstrak etanol 70%), 121,09 (ekstrak etil asetat), dan 217,43 $\mu\text{g/mL}$ (ekstrak n-heksana) (Tabel 4). Ekstrak air daun suren memiliki tingkat sitotoksitas yang paling rendah terhadap sel vero dibandingkan dengan semua ekstrak yang lainnya. Tingkat toksisitas pelarut air yang sangat rendah dibandingkan dengan semua pelarut yang lainnya diduga memberikan pengaruh terhadap sitotoksitas ekstrak air daun suren ini terhadap sel vero⁽¹³⁾.

Tingkat sitotoksitas semua ekstrak daun suren yang sangat lemah terhadap sel vero juga diduga dipengaruhi oleh senyawa asam galat yang merupakan senyawa bioaktif terbesar dalam daun suren. Berdasarkan hasil penelitian Liu *et al.*⁽²²⁾, sitotoksitas asam galat bersifat selektif terhadap sel kanker. Jumlah enzim katalase dalam setiap sel sangat menentukan perbedaan selektifitas setiap sel yang diinduksi asam galat. Enzim katalase yang terdapat di dalam sel akan meningkatkan terjadinya apoptosis sel. Ekspresi enzim katalase sel normal yang lebih rendah dibandingkan sel kanker mengakibatkan ekstrak daun suren yang

banyak mengandung asam galat tidak bersifat toksik terhadap sel vero.

Nilai IC_{50} semua ekstrak daun suren terhadap sel kanker payudara MCF-7 $> 100 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan National Cancer Institute (NCI), nilai ini menunjukkan aktivitas antikanker ekstrak daun suren yang sangat lemah terhadap sel kanker MCF-7. Ekstrak kasar dikatakan memiliki potensi yang kuat sebagai agen antikanker jika nilai IC_{50} nya $< 20 \mu\text{g/mL}$ ⁽²³⁾. Ekstrak etil asetat memiliki persen inhibisi terbesar terhadap sel MCF-7 dengan nilai sebesar 45,1% pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Walaupun berdasarkan standar NCI nilai persen inhibisi ini tidak menunjukkan potensi sebagai agen antikanker, namun pada konsentrasi yang sama nilai ini lebih besar dibandingkan dengan ekstrak yang lain, yaitu 17,6, 21,4, dan 14,2% masing-masing untuk ekstrak dengan pelarut air, etanol 70%, dan n-heksana. Harun *et al.*⁽²⁴⁾ melaporkan bahwa ekstrak etil asetat Eupatorium memiliki potensi sitotoksitas terhadap sel MCF-7 melalui peningkatan ekspresi protein LC3-A yang mengindikasikan kematian sel. Saponin yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun suren diduga memberikan efek sitotoksitas terhadap sel MCF-7. Penelitian Cao *et al.*⁽²⁵⁾ menunjukkan bahwa



Gambar 1. Morfologi sel vero dan MCF-7 : a) sel vero normal, b) sel MCF-7 normal, d) sel vero inhibisi <50%, e) sel vero inhibisi >50%, e) sel MCF-7 inhibisi <50%.

senyawa saponin pada ekstrak *Albizia gummiera* memiliki aktivitas sitotoksitas yang tinggi terhadap beberapa sel kanker.

Sitotoksitas ekstrak daun suren yang rendah terhadap sel MCF-7 ini diduga karena sel MCF-7 bersifat resisten terhadap komponen-komponen bioaktif yang terdapat dalam daun suren. Beberapa gen yang terlibat dalam peristiwa apoptosis dilaporkan bersifat resisten terhadap beberapa agen kemoterapi, diantaranya adalah *multidrug resistance protein* (MDR1), *multidrug resistance associated protein* (MRPs), *glutathione-S-transferase* (GST), *dihydropyrimidine dehydrogenase* (DPD), dan *galectin-3*⁽²⁶⁾. Gen-gen yang terlibat dalam apoptosis ini diduga memiliki peran dalam sifat resistensi yang ditimbulkan sel MCF-7 terhadap komponen-komponen bioaktif daun suren.

Penelitian lain menyebutkan bahwa sel MCF-7 menunjukkan sifat resisten terhadap beberapa agen antikanker, salah satunya adalah doksorubisin. Protein P-glikoprotein (Pgp) yang diekspresikan oleh sel MCF-7 akan mengeluarkan doksorubisin dari dalam sel sehingga sel MCF-7 akan terhindar dari apoptosis. Sel MCF-7 merupakan salah satu sel kanker yang mampu mengekspresikan MDR1. Gen MDR1 yang diaktivasi oleh sel kanker MCF-7 ini akan meningkatkan ekspresi Pgp. Mekanisme ini menyebabkan sel kanker MCF-7 bersifat resisten terhadap beberapa agen kemoterapi⁽²⁷⁾. Melalui mekanisme ini juga diduga sel MCF-7 mampu menghindari dari mekanisme apoptosis yang dipicu oleh komponen-komponen bioaktif daun suren.

Gambar 1 menunjukkan morfologi normal sel vero dan sel MCF-7 sebelum diinduksi ekstrak daun suren dan perubahannya ketika mengalami inhibisi akibat induksi ekstrak daun suren. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa sel vero akan mengalami perubahan morfologi sel jika inhibisinya di atas 50%. Perubahan ini sebanding dengan tingkat inhibisi yang dialami sel vero ketika diinduksi oleh ekstrak daun suren. Sementara itu, nilai persen inhibisi MCF-7 di bawah 50% hanya memperlihatkan sedikit perubahan morfologi sel dibandingkan sel normal.

SIMPULAN

Senyawa bioaktif daun suren yang terekstrak lebih bersifat polar dengan rendemen terbesar terdapat pada pelarut etanol 70% (34,85%) dan air (33,54%). Komponen fitokimia yang terdapat dalam daun suren di antaranya alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, fenol, dan steroid. Ekstrak etanol 70% memiliki jumlah total fenolik ekuivalen asam galat (GAE) tertinggi dibandingkan semua ekstrak daun suren

yang lainnya, yaitu 101,78 mg/ g GAE. Adapun total flavonoid ekuivalen kuersetin (QE) terbesar dimiliki oleh ekstrak air sejumlah 81,14 mg/g QE. Semua ekstrak daun suren tidak bersifat toksik terhadap sel vero dengan nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$. Sitotoksitas semua ekstrak daun suren terhadap sel kanker MCF-7 sangat lemah (tidak aktif) dengan nilai IC_{50} semua ekstrak $> 100 \mu\text{g/mL}$. Gy.

DAFTAR PUSTAKA

1. National Cancer Institute. Breast cancer. diambil dari: <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast>. diakses 15 Januari 2015.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Riset kesehatan dasar: Riskesdas 2013. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2013. 86.
3. Hseu YC, Chang WH, Chen CS, Liao JW, Huang CJ, Lu FJ, *et al.* Antioxidant activities of *Toona sinensis* leaves extracts using different antioxidant models. *Food Chem Toxicol.* 2008. 46:105-14.
4. Zhao J, Zhou XW, Chen XB, Wang QX. α -Glucosidase inhibitory constituents from *Toona sinensis*. *Chem Natl Compounds.* 2009. 45(2):244-6.
5. Wang PH, Tsai MJ, Hsu CY. *Toona sinensis* Roem (Meliaceae) leaf extract alleviates hyperglycemia via altering adipose glucose transporter 4. *Food Chem Toxicol.* 2008. 46(7):2554-60.
6. Chen HM, Wu YC, Chia YC, Chang FR, Hsu HK, Hsieh YC, *et al.* Gallic acid, a major component of *Toona sinensis* leaf extracts, contains a ROS-mediated anti-cancer activity in human prostate cancer cells. *Cancer Lett.* 2009. 286(2):161-71.
7. Cheng KW, Yang RY, Tsou SCS, Lo CSC, Ho CT, Lee TC, *et al.* Analysis of antioxidant activity and antioxidant constituents of Chinese toon. *J Funct Food.* 2009. 1(3):253-9.
8. Yang CJ, Huang YJ, Wang CY, Wang PH, Hsu HK, Tsai MJ, *et al.* Antiproliferative effect of *Toona sinensis* leaf extract on non-small-cell lung cancer. *Transl Res.* 2010. 155(6):305-14.
9. Wang CY, Lin KH, Yang CJ, Tsai JR, Hung JY, Wang PH, *et al.* *Toona sinensis* extracts induced cell cycle arrest and apoptosis in the human lung large cell carcinoma. *Kaohsiung J Med Sci.* 2010. 26(2):68-75.
10. Harborne JB. *Phytochemical methods – a guide to modern techniques of plant analysis.* 3rd edition. New Delhi: Springer Pvt. Ltd; 2005.
11. Sen S, De B, Devanna N, Chakraborty R. Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of *Meyna spinosa* Roxb., an Indian medicinal plant. *Chin J Nat Med.* 2013. 11(2):149-57.
12. Jiang SH, Wang WL, Chen ZQ, Chen MH, Wang YR, Liu CJ, *et al.* Antioxidant properties of the extract and subfractions from old leaves of *Toona sinensis* Roem (Meliaceae). *J Food Biochem.* 2009. 33: 425-41.
13. Tiwari P, Kumar B, Kaur G, Kaur H, Kaur M.

- Phytochemical screening and extraction: a review. *Int Pharm Sci.* 2011. 1(1):98-106.
14. Huang GL, Wang BJ, Weng YM. Physicochemical properties and antioxidant activities of *Toona sinensis* Roem leaves as affected by drying methods. *J Food Process Pres.* 2014. 38(1):364-72.
 15. Nurcholis W, Purwakusumah ED, Rahardjo M, Darusman LK. Variasi bahan bioaktif dan bioaktivitas tiga nomor harapan temulawak pada lokasi budidaya berbeda. *J Agron Indonesia.* 2012. 40(2):153-59.
 16. Negi JS, Bisht VK, Bhandari AK, Bharti MK, Sundriyal RC. Chemical and pharmacological aspects of *Toona* (Meliaceae). *Rese J Phytochem.* 2011. 5(1):14-21.
 17. Asnaashari M, Farhoosh R, Sharif A. Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chem.* 2014. 159:439-44.
 18. Sermakkani M, Thangapandian V. Phytochemical screening for active compounds in *Pedaliium murex* L. *Recent Res Sci Tech.* 2010. 2(1):110-4.
 19. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolic: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* 2010. 15(10):7313-52.
 20. Habib MR, Rahman MM, Hamid K, Raihan MO, Sayeed MA. Phytochemical screening, cytotoxicity, antioxidant capacity, and antibacterial potentiality of methanol extract of *Antidesma ghaesembilla* Gaertn. *Advan Nat Appl Sci.* 2011. 5(2):69-74.
 21. Sandhar HK, Kumar B, Prasher S, Tiwari P, Salhan M, Sharma P. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoid. *Int Pharm Sci.* 2011. 1(1):25-41.
 22. Liu Z, Li D, Yu L, Niu F. Gallic acid as a cancer-selective agent induces apoptosis in pancreatic cancer cells. *Chemotherapy.* 2012. 58(3): 185-94.
 23. Sugitt M, Bibby MC. 50 years of preclinical anticancer drug screening: empirical to target-driven approaches. *Clin Cancer Res* 2005. 11:971-81.
 24. Harun FB, Jamalullail SMSS, Yin KB, Othman Z, Tilwari A, Balam P. Autophagic cell death is induced by acetone and ethyl acetate extracts from *Eupatorium odoratum* *in vitro*: effects on MCF-7 and vero cell lines. *The Sci World J.* 2012. 2012: 1-9.
 25. Cao S, Norris A, Miller JS, Ratovoson F, Razafitsalama J, Andriantsiferana R, *et al.* Cytotoxic triterpenoid saponins of *Albizia gummiera* from the Madagascar rain forest. *J Nat Prod.* 2006. 70(3): 361-6.
 26. Mahavorasirikul W, Viyanant V, Chaijaroenkul W, Itharat A, Na-Bangchang KN. 2010. Cytotoxic activity of Thai medicinal plants against human cholangiocarcinoma, laryngeal and hepatocarcinoma cells *in vitro*. *BMC Complement Altern Med.* 2010. 10: 55-62.
 27. Györfy B, Serra V, Jürchott K, Abdul-Ghani R, Garber M, Stein U, *et al.* Prediction of doxorubicin sensitivity in breast tumors based on gene expression profiles of drug-resistant cell lines correlates with patient survival. *Oncogen.* 2005. 24(51): 7542-51.