

**SITOTOKSISITAS KOMBINASI EKSTRAK PUSPA (*Schiima wallichii*) DAN  
KECAMBAH BROKOLI  
(*Brassica olerasea*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7**

**Ajeng Diantini, Maya Febriyanti, Melisa Intan Barliana, Rizky Abdulah**  
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

**Abstrak**

Puspa (*Schiima wallichii*) diketahui memiliki aktivitas antikanker melalui mekanisme menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7, sedangkan kecambah brokoli (*Brassica olerasea*) dilaporkan dapat menghambat proliferasi sel-sel kanker kandung kemih dan prostat secara *in vitro*. Pada penelitian ini dilakukan pengujian sitotoksitas kombinasi ekstrak puspa (EP) dan ekstrak kecambah brokoli (EKB) terhadap sel kanker payudara MCF-7. EP memberikan nilai  $IC_{50}$  60,76  $\mu$ g/ml, sedangkan EKB tidak memberikan persentasi inhibisi lebih besar dari 50% pada rentang konsentrasi uji. Sitotoksitas kombinasi EP-EKB dengan perbandingan  $IC_{50}$  1:2 memiliki nilai Indeks Kombinasi  $< 0,9$  menunjukkan bahwa kombinasi EP-EKB memberikan efek sinergisme.

*Kata kunci : puspa, kecambah brokoli, sinergisme, MCF-7*

**Abstract**

*Puspa (Schiima wallichii) are known to have anticancer activity through a mechanism induces apoptosis in breast cancer cells MCF-7, while the broccoli sprouts (Brassica olerasea) has been reported inhibit the proliferation of cancer cells of bladder and prostate in vitro. In this study the cytotoxicity assay of combination puspa extract (EP) and broccoli sprout extract (EKB) against breast cancer cell line MCF-7 were evaluated.  $IC_{50}$  value of EP were 60.76  $\mu$ g / ml, whereas EKB didn't give a percentage inhibition greater than 50% in the tested concentration range. Cytotoxicity assay of combination EP-EKB with  $IC_{50}$  ratio of 1:2 showed higher cytotoxicity than EP or EKB alone in same concentration and given CI (combination index) value  $< 0.9$ , indicates that the combination of EP-EKB had synergism effect.*

*Keywords : puspa, broccoli sprout, synergism, MCF-7*

**Pendahuluan**

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling sering diderita oleh wanita dan menempati urutan pertama sebagai penyebab kematian pada wanita akibat kanker (Anonim, 2004). Pengobatan kanker payudara dengan agen kemoterapi masih terbatas karena masalah resistensi obat dan efek toksik pada jaringan normal yang mengarah ke immunosupresi dan kardiotoxikitas (Tyagi, *et al.*, 2004). Oleh karena itu perlu dikembangkan alternatif lain untuk meningkatkan efisiensi terapi sekaligus

mengurangi toksisitas terhadap sel-sel bukan kanker.

Penggunaan tumbuhan alami untuk keperluan pengobatan, hingga saat ini masih diminati sebagian besar penduduk di Indonesia sebagai pilihan pengobatan alternatif. Tumbuhan memiliki peran penting sebagai sumber senyawa antikanker yang efektif pada praktek klinis, seperti *vinblastine*, *vincristine*, derivat *camptothecin*, *topotecan*, *irinotecan*, dan etoposid, yang diisolasi atau berasal dari *Catharanthus roseus* G.Don. (*Apocynaceae*), *Camptotheca acuminata* Decne (*Nyssaceae*),

*Podofilum peltatum* Linnaeus (*Podophyllaceae*) dan *Taxus brevifolia* Nutt. (Cragg, *et al.*, 2005). Tanaman lain yang telah diteliti memiliki aktivitas antikanker adalah puspa (*Schima wallichii*) dan brokoli (*Brassica oleracea*).

Puspa merupakan tanaman yang tumbuh di sebagian besar wilayah Indonesia, tetapi pemanfaatannya saat ini terbatas pada batangnya, untuk dijadikan kayu, sedangkan daunnya menjadi pakan primata. Daun puspa mengandung senyawa bioaktif kaempferol-3-O-rhamnoside yang memiliki aktivitas antikanker melalui mekanisme menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7. Hasil penelitian menunjukkan kaempferol-3-O-rhamnoside menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7 dan memicu apoptosis melalui *caspase signaling cascade*, yang meliputi caspase-9, caspase-3, dan PARP (Diantini, *et al.*, 2012).

Saat ini kecambah brokoli juga menjadi perhatian para peneliti karena mengandung sulforaphane sepuluh kali lebih banyak dibandingkan brokoli dewasa. Kecambah brokoli telah dilaporkan dapat menghambat karsinogenesis kulit dan kandung kemih *in vivo* dan juga menghambat proliferasi sel-sel kanker kandung kemih dan prostat secara *in vitro*. Sifat antikanker dihasilkan mikronutrien aktif utama kecambah brokoli, sulforaphane, dengan mekanisme induksi apoptosis *mitochondria-mediated*, induksi *cycle arrest*, penghambatan *deacetylase histon* (HDAC), induksi enzim fase 2 termasuk glutathione S-transferase (GST) dan kuinon oksidoreduktase 1 (NQO1). Selain itu, studi klinis dari Inggris mengusulkan bahwa kecambah brokoli juga berinteraksi dengan glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) genotipe untuk mengganggu jalur sinyal onkogenik (Abdulah, *et al.*, 2009).

Kombinasi dari dua bahan alam untuk pengobatan kanker merupakan masalah yang menarik untuk dipelajari.

Salah satu model sel kanker yang dapat digunakan dalam pengujian obat terapi kanker payudara yaitu sel MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*). Sel MCF-7 memiliki beberapa karakteristik khusus yang sesuai, merujuk pada epitel payudara. Salah satu karakteristik khusus

sel MCF-7 adalah kemampuan sel ini untuk membentuk estradiol dari estrogen melalui reseptor estrogen dalam sitoplasma sel. Hal ini membuat sel MCF-7 menjadi penerima estrogen (ER) positif dalam kontrol sel (ATCC, 2012).

Pada penelitian ini dilakukan pengujian untuk mengetahui sinergisitas sitotoksitas kombinasi ekstrak puspa dan kecambah brokoli. Dalam penelitian ini sebagai alat uji digunakan galur sel kanker payudara yang umum digunakan dalam uji aktivitas antikanker secara *in vitro*, yaitu galur sel MCF-7.

## Bahan dan Metode

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas :

1. Sel MCF-7 (sel kanker payudara manusia) *ATCC cell lines* HTB 22 koleksi Laboratorium Kultur Sel dan Sitogenetik Rumah Sakit Pendidikan Universitas Padjadjaran.
2. Bahan uji berupa ekstrak etanol daun puspa (EP )dan ekstrak air kecambah brokoli (EKB).
3. Bahan kimia yaitu: etanol 96% teknis, dimetilsulfoksida (DMSO, Sigma), medium kultur Rosewell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640, Gibco), Fetal Bovine Serum (Gibco), tripsin (Sigma), Phosphate Buffer Saline (PBS, Gibco), dan Kit WST-8 (Dojindo).

### Alat

Labu kultur jaringan 40 ml (Tissue Culture Flask, Nunclon), pelat kultur jaringan 96 sumuran (Tissue Culture Plate 96 well, Nunclon), *Laminar Air Flow Biological Safety Cabinet*, inkubator seldengan aliran oksigen 95% dan CO<sub>2</sub> 5%, tangki nitrogen cair, oven, otoklaf, tabung 1,5 ml (Eppendorf™), pipet serologiksteril 2 ml (Falcon), tabung dan alat sentrifuge (Falcon, Porta Centrifuge), mikropipet (Eppendorf™), ELISA plate reader (Stat Fx 2100), rotary evaporator dan *freeze dryer*.

### Metode

#### 1. Pembuatan Ekstrak Puspa

Daun puspa yang sudah dibersihkan diiris tipis-tipis dan dikeringkan, dimaserasi dalam etanol 96% selama 3 x 24 jam. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* sampai menjadi ekstrak kental.

## 2. Pembuatan Serbuk Kecambah Brokoli

Kecambah brokoli segar (300 gram) diblender dengan 250 ml aquadest sehingga diperoleh ekstrak air kecambah brokoli sebanyak 300 ml. Kemudian ekstrak air dikeringkan menggunakan *freeze dryer* hingga diperoleh serbuk kering.

## 3. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak puspa dan ekstrak kecambah brokoli masing-masing ditimbang sebanyak 0,1 g, kemudian masing-masing dilarutkan dalam 1 ml aqua bidestilata sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 100.000 µg/ml, lalu diencerkan dengan penambahan medium sampai diperoleh bermacam-macam konsentrasi yaitu 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 15,6; 31,2; 62,5; dan 125 µg/ml.

## 4. Pengujian Sitotoksisitas Terhadap Sel MCF-7

Pengujian sitotoksisitas dilakukan pada pelat 96 sumuran. Ke dalam tiap sumur dimasukkan suspensi sel dalam medium RPMI 1640 sebanyak 50 µl kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator sel pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, ke dalam sumur uji dimasukkan 50 µl larutan ekstrak sehingga diperoleh konsentrasi akhir 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 15,6; 31,2; dan

62,5 µg/ml kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator sel pada suhu 37°C. Setelah perlakuan ditambahkan 10 µl Kit WST-8 ke dalam tiap sumur kemudian diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37°C dalam inkubator sel sampai terbentuk kompleks formazan yang berwarna kuning. WST-8 [2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-

nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt] adalah garam tetrazolium yang menghasilkan formazan yang larut dalam air setelah direduksi oleh dehidrogenase.

Masukkan pelat kultur 96 sumuran ke dalam ELISA *plate reader*. Baca serapannya dengan ELISA *plate reader* pada panjang gelombang 450 nm dengan referensi 630 nm. Persentase kematian sel MCF-7 dari larutan uji dihitung dengan rumus :

Dari pengujian aktivitas sitotoksik diperoleh IC<sub>50</sub> masing-masing ekstrak.

## 5. Pengujian Efek Kombinasi

Untuk uji efek sitotoksik kombinasi ekstrak puspa dan kecambah brokoli dibuat seri konsentrasi berdasarkan perbandingan IC<sub>50</sub> dengan cara pengenceran yang menggunakan media kultur RPMI 1640. Efek kombinasi dinyatakan dalam nilai Indeks Kombinasi (*combination index*).

## 6. Perhitungan Statistik

Indeks Kombinasi (*combination index* (CI)) secara luas digunakan untuk mengukur sinergisme obat berdasarkan efek obat multiple persamaan Chou-Talalay (Chou TC and Talalay P, 1984). Dalam penelitian kami, nilai tersebut CI ditentukan untuk masing-masing konsentrasi ekstrak puspa, ekstrak kecambah brokoli, dan kombinasi keduanya dalam uji sitotoksisitas. CI <0,9 menunjukkan sinergisme, CI = 0,9-1,10 menunjukkan interaksi aditif, dan CI > 1.10 menunjukkan antagonisme [Zhu *et al.*, 2010].

## Hasil dan Pembahasan

### Sitotoksisitas EP dan EKB terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7

Tanaman yang dikonsumsi oleh primata merupakan sumber obat potensial untuk aplikasi dalam pengobatan dan pengelolaan penyakit manusia. Milton (1999) menyebutkan bahwa makanan secara rutin dikonsumsi oleh

primata merupakan sumber heksosa, selulosa, hemiselulosa, zat pectic, vitamin C, mineral, asam lemak esensial dan protein. Hal ini menunjukkan bahwa diet primata non-manusia mungkin merupakan bidang penelitian yang penting untuk kesehatan manusia (Milton *et al.*, 1999). Dalam penelitian ini, diuji sitotoksitas puspa (*Schima walichii* Korth). salah satu tanaman yang dikonsumsi primata dan secara luas ditemukan di daerah tropis Nepal, Sikkim, Assam, Myanmar, China Selatan, Semenanjung Melayu, Indonesia dan Filipina (Chalise, 2003).

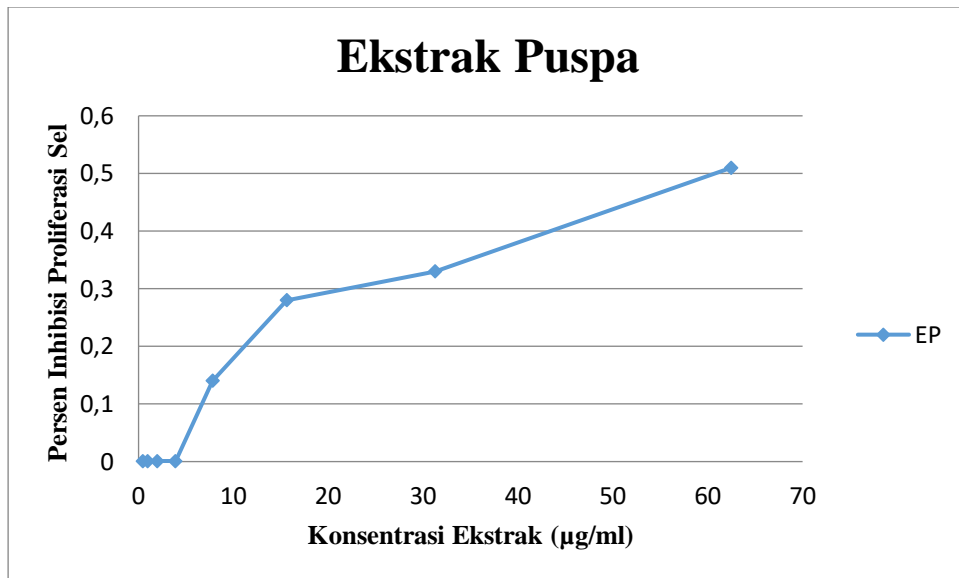
Perlakuan sel MCF-7 dengan sampel uji EP menghasilkan grafik persen inhibisi proliferasi sel terhadap konsentrasi yang diperlihatkan pada **Gambar 1**. Senyawa aktif puspa yang telah diteliti memiliki aktivitas sitotoksik adalah kaempferol-3-O-rhamnoside. Kaempferol-3-O-rhamnoside dapat memicu apoptosis melalui *caspase signaling cascade* pada sel kanker payudara MCF-7 (Diantini, *et al.*, 2012). Dari penelitian ini diketahui bahwa EP memiliki nilai  $IC_{50}$  60.76 ug/ml terhadap sel kanker payudara MCF-7.

Kecambah brokoli diketahui memiliki kandungan sulforafan yang sangat tinggi. Aktivitas kemopreventif sulforafan mulai diteliti pada awal tahun 1990 dimana diketahui dapat menghambat induksi tumor oleh 7,12-dimethylbenz-(a)-anthracene pada tikus (Zhang, *et al.*, 1994). Sulforafan memiliki sifat antikanker dengan mekanisme induksi

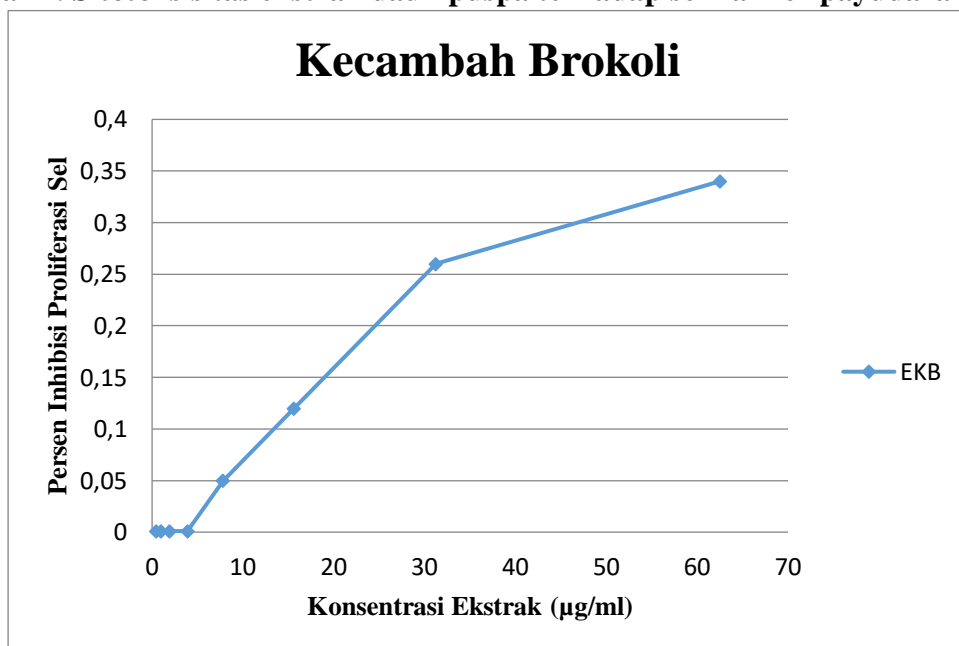
apoptosis *mitochondria-mediated*, induksi *cycle arrest*, penghambatan *deacetylase histon* (HDAC), induksi enzim fase 2 termasuk glutathione S-transferase (GST) dan kuinon oksidoreduktase 1 (NQO1). Selain itu, studi klinis dari Inggris mengusulkan bahwa kecambah brokoli juga berinteraksi dengan glutathione S-transferase- $\mu$ -1 (GSTM1) genotipe untuk mengganggu jalur sinyal onkogenik (Abdulah, *et al.*, 2009). Pada penelitian ini EKB memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 yang ditunjukkan pada **Gambar 2**. Namun pada rentang konsentrasi uji, tidak diperoleh konsentrasi yang menghambat proliferasi sel lebih dari 50%.

### Sitotoksitas Kombinasi EP dan EKB

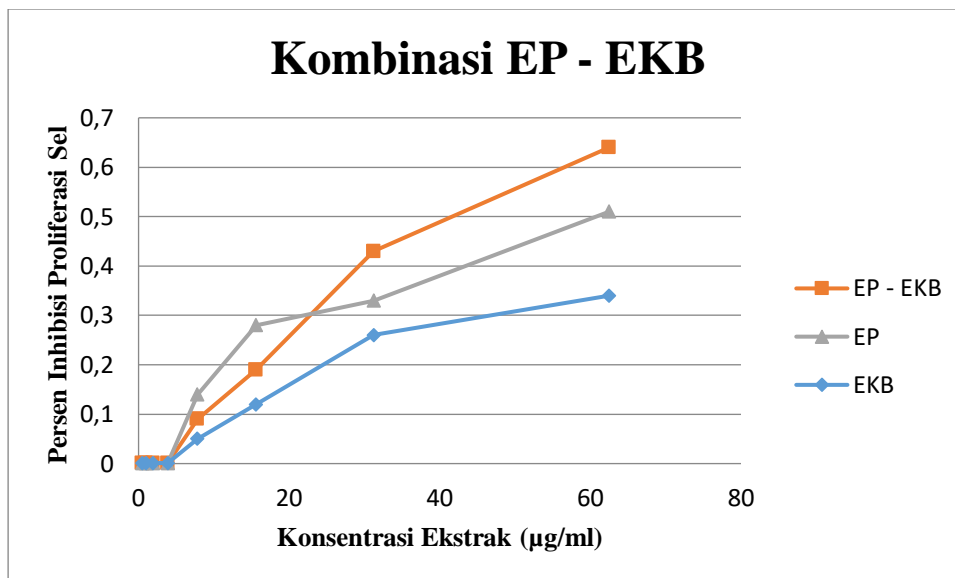
Pada uji sitotoksitas kombinasi EP-EKB digunakan seri konsentrasi dengan perbandingan  $IC_{50}$  EP dan EKB 1 : 2 dengan konsentrasi uji 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 15,6; 31,2; dan 62,5  $\mu$ g/ml. Hasil perlakuan sel MCF-7 dengan ekstrak kombinasi EP-EKB ditunjukkan pada **Gambar 3**. Kombinasi EP-EKB memberikan persen inhibisi proliferasi sel yang lebih besar dibandingkan dengan EP dan EKB pada konsentrasi yang sama. Berdasarkan % Inhibisi Proliferasi Sel EP, EKB, dan kombinasi EP-EKB dihitung nilai CI dengan persamaan Chou-Talalay. Nilai  $CI < 0,9$  (**Gambar 4**) menunjukkan bahwa kombinasi EP memberikan efek sinergisme pada rasio  $IC_{50}$  1:2.



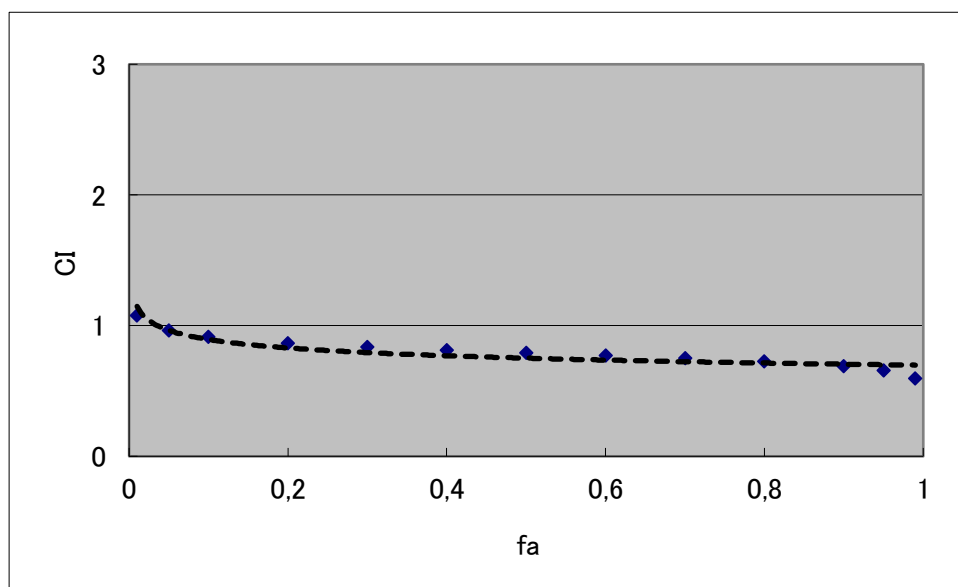
Gambar 1. Sitotoksitas ekstrak daun puspa terhadap sel kanker payudara MCF-7



Gambar 2. Sitotoksitas ekstrak kecambah brokoli terhadap sel kanker payudara MCF-7



Gambar 3. Sitotoksitas kombinasi ekstrak daun puspa dan ekstrak kecambah brokoli



Gambar 4. Perhitungan persen inhibisi proliferasi berdasarkan persamaan Chou-Talalay

### Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi EP-EKB memberikan efek sitotoksik sinergis terhadap sel kanker MCF-7. Dengan demikian, kombinasi EP-EKB potensial untuk dikembangkan sebagai terapi penyerta dalam terapi kanker.

### Daftar Pustaka

**Ajeng Diantini**, Rizky Abdulah, Melisa Intan Barliana: Produksi Tablet Herbal Terstandar Kombinasi Ekstrak Daun Puspa (*Schima wallichii*) dan Kecambah Brokoli (*Brassica*

*oleracea*) sebagai Terapi Penyerta (Ajuvan) pada Kemoterapi Kanker Payudara,

Anonim. 2004. *National cancer control programmes: Policies and managerial guidelines*. 4th Edition. Geneva: World Health Organization, 9-61.

Chalise, MK. 2003. Assamese Macaques (*Macaca assamensis*) in Nepal. *Primate Conservation* 19: 99-107

Chou TC, Talalay P. 1984. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or

enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regul*, 22, 27–55.

Milton K. 1999. Nutritional characteristics of wild primate foods: do the diets of our closest living relatives have lessons for us? *Nutrition* 15: 488-498

Tyagi AK, Agarwal C, Chan DCF, Agarwal R. 2004. *Oncology Reports*, 11, 493-499.

Zhang Y, Kensler TW, Cho CG, Posner GH, Talalay P. 1994. Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91:3147 – 50.

Zhu H, Ding WJ, Wu R, Weng QJ, Lou JS, Jin RJ, Lu W. 2010. Synergistic anti-cancer activity by the combination of TRAIL/APO-2L and celastrol. *Cancer Invest*, 28, 23–32.