Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 9, No. 2, 2004, 53 – 54
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410-0177

Aktifitas Antikanker Senyawa Rhodomyrton terhadap Sel MCF-7

Dachriyanus
Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas

Diterima tanggal : 19 Juli 2004; Disetujui tanggal : 27 Agustus 2004

Abstract

An anticancer compound, Rhodomyrthone, had been investigated by using MTA towards MCF-7 cell lines with LC_{50} value at 2.4 µg/ml. This compound was found as pale yellow needless which has melting point at 185-186° C.

Keywords : Rhodomyrtus tomentosa (Ait.) Hassk.; Rhodomyrthon, MTA, Sitotoksik, LC_{50}.

Pendahuluan

Dari penelitian terdahulu terhadap tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk., yang lebih dikenal sebagai "kemuntiang", telah diisolasi senyawa aktif antivirus dan antimikroba (Dachriyanus, *et al*., 2002; Dachriyanus, *et al*., 2004). Diketahui bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa-senyawa turunan poliketida yang memiliki aktifitas yang beragam, seperti sitotoksik, antioksidan, dan antiinflamasi (Dachriyanus, 2004). Dari informasi di atas, dilakukanlah pengujian aktifitas antikanker terhadap ekstrak, fraksi dari ekstrak, dan senyawa yang diisolasi dari daun tumbuhan tersebut; mengingat pentingnya penemuan senyawa antikanker yang baru.

Metodologi Penelitian

Umum. Kromatografi kolom, kromatografi radial, spektrometer Bruker ADV-600 (500 & 125 MHz), spektrofotometer UV-Vis Shimadzu, spektrometer IR Biorad (Digilab FTS-45), spektrometer massa Fison VG Autospec Instrument (energi ionisasi 70 eV), Fisher-John Melting point apparatus, pipet mikro, mikrotiter plat, *plate reader*, Si gel BDH (40-63 µm) (Merck®), Si gel 60 PF_{254} gipshaltig (Merck®), MCF-7 HTB-22 (ATCC®), RPMI-1640 (ECACC®), reagen MTT (Roche®).

Bahan tumbuhan. Sampel dikoleksi dari daerah sekitar kampus Unand Limau Manis, Padang. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) dengan nomor koleksi DR-174.

Ekstraksi. Daun kering (2 kg) dihaluskan dengan mesin grinder dan dimaserasi dengan metanol. Ekstrak metanol diuapkan *in vacuo* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol (233,3 g). Ekstrak kental metanol selanjutnya difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan butanol berturut-turut dan pelarutnya diuapkan sehingga didapatkan fraksi kering *n*-heksana (41 g), etil asetat (95 g), dan butanol (102 g). Ekastrak metanol dan semua fraksi kemudian diuji aktifitas antikankernya dengan metoda MTA terhadap sel kanker payudara, MCF-7 (Gerlier and Thomasset, 1986).

Fraksi yang paling aktif selanjutnya dikolom kromatografi; fraksi hasil kolom yang memberikan pola yang sama pada KLT digabung dan dikromatografi radial serta dikristalisasi dengan menggunakan kombinasi pelarut eter-heksana sehingga diperoleh kristal jarum berwarna kekuningan dengan titik leleh 185-186° C, $[\alpha]^{20}_{D}$ +3.8 (8.1 mg dalam 1 ml CH_2Cl_2). Diketahui bahwa [f.a.b] : M⁺+H 443.2425. $^{12}C_{26}{}^{1}H_{35}{}^{16}O_6$ menunjukkan M⁺ +H 443.2434; dengan fragmen pada *m/z* 385 (100%), 315 (14%). ν_{maks}/cm^{-1} (KBr) 3220, 2957, 1625, 1589, 1467, 1429, 1386, 1363, 1170. λ_{maks}/nm (CH_2Cl_2) 225, 261, 301 (ε 16200, 7910, 12850) yang memiliki data NMR yang mirip dengan 4,9-dihidro-6,8-dihidroksi-2,2,4,4-tetrametil-9-(2-metilpropil)-7-(3-metil-1-oksobutil)-1-H-xanthen-1,3-(2H)-dion (Rodhomyrton) (1).

Pengujian Aktifitas Antikanker. Ekstrak metanol dan fraksi yang telah kering dilarutkan dalam DMSO untuk membuat larutan stok 10%. Larutan stok diencerkan dalam media RPMI-1640 untuk membuat larutan substok dengan konsentrasi 1%. Untuk pengujian, dilakukan pengenceran bertingkat sehingga diperoleh konsentrasi akhir larutan uji 100, 10, 1, dan 0,1 µg/ml.

Sel uji MCF-7 dibiakkan dalam media RPMI-1640 dengan kerapatan 4000 sel/sumur dan diinkubasi selama 24 jam, 37°C, 5% CO_2; sebelum ditambahkan larutan uji. Setelah 24 jam, ditambahkan 20 µl larutan uji (berbagai konsentrasi) ke dalam sumur plat mikrotiter. Plat uji

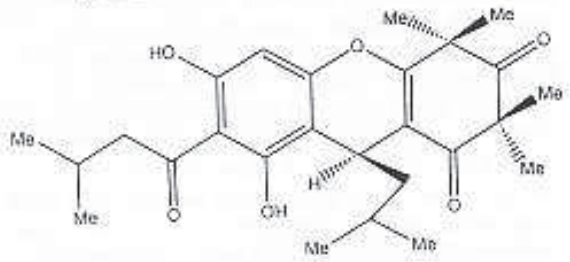
Penulis untuk korespondensi. Telp 62-751-71682,Fax.62-751-7311
E-mail : dachriyanus@telkom.net

diinkubasi kembali selama 4 hari, 37°C, 5% CO_2. Empat jam sebelum inkubasi berakhir, ditambahkan 50 µl reagen MTT ke dalam masing-masing sumur. Setelah diinkubasi kembali, akan terlihat perubahan larutan MTT menjadi kristal violet formazan oleh aktifitas sel viabel di dalam sumur uji. Kristal formazan dilarutkan dengan 100 µl DMSO dan absorban diukur pada λ 550 nm. Dengan kurva respon-konsentrasi, dapat diketahui harga LC_{50} sampel uji (Boyd and Paull, 1995).

Hasil dan Diskusi

Pengujian aktifitas antikanker ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi butanol dari daun *Rhodomyrtus tomentosa*, terhadap sel kanker payudara MCF-7, memperlihatkan bahwa fraksi *n*-heksana memiliki aktifitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel uji lainnya. Pengujian dilanjutkan terhadap senyawa hasil isolasi **1**. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Sampel Uji	LC_{50} (µg/ml)
Ekstrak metanol	34,3
Fraksi *n*-heksana	11,5
Farksi etil asetat	54,7
Fraksi butanol	> 100
Rhodomyrton	2,4



Senyawa Rhodomyrton

Setiap ekstrak meliputi ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi butanol, diuji aktifitas sitotoksiknya dengan metoda MTA terhadap sel kanker payudara MCF-7. Pengujian dilakukan untuk mengetahui adanya aktifitas sitotoksik melalui parameter harga IC_{50}. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktifitas sitotoksik semakin besar.

MTA (MTT Assay) merupakan metoda pengujian viabilitas sel yang didasarkan pada perubahan garam tetrazolium yang berwarna kuning menjadi kristal violet formazan yang sukar larut air melalui reduksi oleh metabolit yang dihasilkan sel aktif. Reaksi reduksi intra sel ini melibatkan koenzim nikotinamid adenin dinukleotida (NAD$^+$ dan NADH). Kristal violet formazan yang terbentuk dilarutkan dengan DMSO dan menghasilkan larutan berwarna ungu dan diukur absorbannya pada panjang gelombang 550 nm.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Drs. Rusjdi Tamin yang telah melakukan identifikasi sample, Prof. Peter Proksch atas segala fasilitas pengukuran spektrum, Suryati, S.Si atas bantuan selama pengujian aktifitas, dan kepada DAAD sebagai penyandang dana.

Daftar Pustaka

Boyd M.R. and K.D. Paull, 1995, "Cl *in vitro* Screen Microculture Tetrazolium Assay", *Drug Development Research*, 34 (91), 589-601.

Dachriyanus, Salni, M.V. Sargent, B.W. Skelton, I. Soediro, M. Sutisna, A.H. White, and E. Yulinah, 2002, "Rhodomirtone, an Antibiotic from *Rhodomyrtus tomentosa*", *Aust. J. Chem.*, 55, 229-232.

Dachriyanus, R. Fahmi, M.V. sergeant, B.W. Skelton, and A.H. White, 2004, "5-Hydroxy-3,3',4',5',7'-pentamethoxyflavone (combretol)", *Acta Cryst.*, E60, 086-088.

Dachriyanus, 2004, Cytotoxic compound from Karamuntiang (*Rhodomyrtus tomentosa*)", *DAAD Research Report*.

Gerlier D. and N. Thomasset, 1986, "Use of MTT Colorimetric Assay to Measure Cell Activation", *Journal of Immunological Methods*, 95, 589-601.