

Potensi Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun *Averrhoa bilimbi* L. terhadap Beberapa Sel Kanker Secara In Vitro

Lusiana Arifianti*, Mulja Hadi Santosa, Sukardiman

Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

l.arifianti@gmail.com

ABSTRACT

Averrhoa bilimbi L. (Oxalidaceae), commonly known as bilimbi, belongs to the family of the Oxalidaceae. It is widely cultivated in the tropics region. It bears a great significance in traditional medicine. The aimed of this work was to investigate the sitotoxic potency of *A. bilimbi* leaves extract on T47D (breast cancer), WiDr (Colon cancer), and HeLa (Servick cancer) cells line by using MTT assay. The result showed the ethanol extract of *Averrhoa bilimbi* L. only active on T47D cancer cell line with IC_{50} was $805.05 \pm 4.37 \mu\text{g/ml}$.

Key word : *Averrhoa bilimbi*, MTT assay, T47D, WiDr, HeLa

PENDAHULUAN

Penelitian mengenai eksplorasi tanaman berkhasiat sebagai obat telah banyak dikembangkan. Diantaranya yaitu familia Oxalidaceae, genus *Averrhoa*. Termasuk didalamnya yaitu spesies *Averrhoa bilimbi* atau yang umum dikenal dengan nama belimbing wuluh. Bagian tanaman yang umum digunakan sebagai pengobatan adalah daun, bunga dan buah. Penggunaan secara tradisional pada bagian daun *Averrhoa bilimbi* digunakan sebagai pasta untuk mengatasi gatal, bengkak gondok dan rematik, dan erupsi kulit, gigitan binatang berbisa. Penduduk Malaysia memanfaatkan daun segar atau fermentasinya sebagai pengobatan untuk penyakit kelamin. Infusa daun digunakan untuk mengatasi batuk dan tonikum pada anak. Dekok daun *A. bilimbi* dapat mengurangi radang pada anus. Infusa bunga, efektif mengatasi batuk dan sariawan. Di Jawa, Indonesia, buah dikombinasikan dengan cabe digunakan untuk mengatasi demam. Sebuah pasta dari acar bilimbi yang dioleskan di seluruh tubuh untuk mempercepat pemulihan setelah demam. Buah yang sangat asam digunakan untuk membersihkan pisau keris (keris), dan karena kandungan asam oksalat yang tinggi jus buah berguna sebagai bleaching (pemutih) (Roy *et al.*, 2011).

Kandungan dari *Averrhoa bilimbi* antara lain yaitu senyawa golongan saponin, flavonoid. Pada bagian buah nutrisi yang terkandung antara lain vitamin b1, asam askorbat, vitamin A, protein, kalsium, fosfat, karoten, niasin (Kumar *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian ilmiah dari daun *Averrhoa bilimbi* diantaranya yaitu ekstrak etanol dan fraksi dari daun *A. bilimbi* terbukti aktif sebagai agen antidiabetes (Pusparaj, 2001). Ekstrak metanol daun *A. bilimbi* memiliki kemampuan hepatoprotektif dan antioksidan (Nagmoti *et al.*, 2010; Hasanuzzaman *et al.*, 2013). Ekstrak kloroform daun dan ekstrak air buah *A. bilimbi* terbukti aktif sebagai antibakteri gram positif yaitu *S. aureus*, *S. epidermis*, *B. cereus*, *C. diphtheriae* dan *K. rhizophila*. Kedua ekstrak tersebut juga aktif terhadap bakteri gram negatif yaitu *S. typhi*, *C. fuendii* dan *A. Hydrophila* (Zakaria *et al.*, 2007). Fraksi air dari ekstrak etanol daun *Averrhoa bilimbi* memiliki kemampuan yang signifikan hipoglikemia dan hipotrigliseridemia pada tikus diabetes yang diinduksi streptozosin (Kumar *et al.*, 2013).

Namun sampai saat ini belum pernah dilakukan pengujian mengenai aktivitas antikanker dari daun *Averrhoa bilimbi* L. Untuk itu didalam penelitian ini akan dilakukan penentuan potensi sitotoksitas dari ekstrak etanol daun *Averrhoa bilimbi* secara in vitro terhadap sel kanker payudara manusia (T47D), sel kanker kolon (WiDr) dan sel kanker servik (HeLa) dengan menggunakan metode MTT. Sehingga hasil yang akan diperoleh dapat memberikan tambahan informasi ilmiah mengenai khasiat dari daun *Averrhoa bilimbi* L.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman. Penelitian ini menggunakan bagian daun dari tanaman *Averrhoa bilimbi* yang diperoleh dari daerah Surabaya. Simplisia kering daun diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan untuk pengujian.

Sel Kanker Manusia. Sel kanker manusia yang digunakan adalah jenis continuous cell line, yaitu sel kanker payudara (T47D), sel kanker kolon (WiDr), dan sel kanker servik (HeLa), yang diperoleh dari CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center) Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 96%, Medium RPMI, fetal bovine serum (FBS) 10 % v/v (Gibco), penisilin-streptomisin 1% v/v (Gibco), fungison 0,5 % v/v (Gibco), Phosphat Buffer Saline (PBS) 20 % (Sigma); Dimetil sulfolid (DMSO); reagen MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide) (Sigma).

Metode Uji Sitotoksik dengan MTT assay. Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) yang dikatalis oleh enzim suksinat dehidrogenase yang dikandung oleh sel hidup. Secara ringkas tahapan yang dilakukan dalam pengujian ini adalah terhadap masing-masing sel kanker uji di transfer sejumlah 1×10^4 sel/sumuran dalam media kultur lengkap (volume masing-masing sumuran 100 μl) kedalam 96-well plate dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% semalam. Selanjutnya dilakukan pemberian sampel uji dengan beberapa kadar dan dibuat replikasi tiga kali (triplo), kemudian diinkubasikan kembali semalam. Pengujian hari ke

tiga, penambahan reagen MTT, dan setelah 4 jam (terbentuk kristal formazan), selanjutnya ditambahkan SDS stopper untuk menghentikan reaksi dari MTT. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan elisa reader pada panjang gelombang 595nm. Berdasarkan data absorbansi pada masing-masing sumuran, maka selanjutnya ditentukan perhitungan persen viabilitas dari masing-masing sampel. Selanjutnya bersama dengan data kadar sampel yang digunakan dilanjutkan dengan penentuan nilai IC₅₀ (Fresney, 2005).

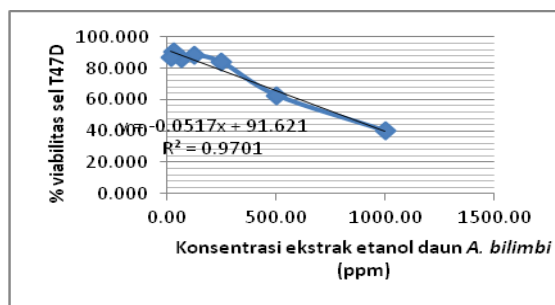
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan potensi sitotoksik terhadap sel kanker merupakan pengujian dasar yang umum pada obat antikanker maupun senyawa kemopreventif dengan parameter pengukuran nilai IC₅₀. Metode MTT merupakan salah satu pengujian secara in vitro dengan mekanisme reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida) oleh enzim reduktase yaitu suksinat tetrazolium yang masuk ke dalam rantai respirasi pada mitokondria sel-sel yang hidup dan membentuk kristal formazan dan memberikan warna ungu pada sel hidup, yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 595nm (Fresney, 2005).

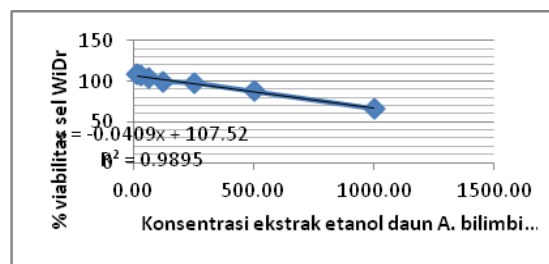
Berdasarkan data absorbansi yang diperoleh dari ELISA reader, untuk masing-masing sumuran, maka selanjutnya ditentukan perhitungan persen viabilitas dari masing-masing sampel. Selanjutnya bersama dengan data kadar sampel yang digunakan dilanjutkan dengan penentuan nilai IC₅₀. Berdasarkan hasil pengujian potensi sitotoksitas secara in vitro dengan menggunakan metode MTT assay diperoleh gambaran kurva hubungan konsentrasi ekstrak daun *A. bilimbi* dengan persentase sel kanker uji yang masih hidup yang ditunjukkan pada gambar 1 dan nilai IC₅₀ yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian sitotoksitas secara in vitro dengan metode MTT

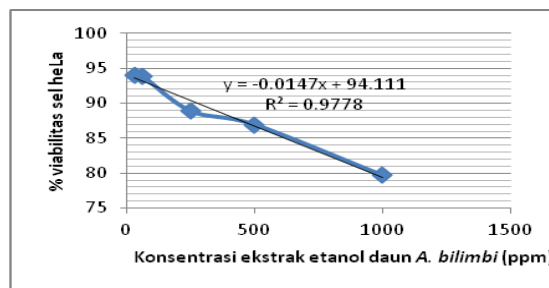
	Sel T47D (sel kanker payudara) IC ₅₀ (µg/ml)	Sel WiDr (sel kanker kolon) IC ₅₀ (µg/ml)	Sel HeLa (sel kanker servik) IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak etanol daun <i>Averrhoa</i> <i>bilimbi</i>	805.05 ± 4.37	1406.36 ± 3.96	3000.75 ± 3.11



(a)



(b)



(c)

Gambar 1. Kurva linieritas antara konsentrasi ekstrak daun *A. bilimbi* terhadap persen viabilitas masing-masing sel kanker uji (a) sel kanker payudara (T47D); (b) sel kanker kolon (WiDr) dan (c) sel kanker servik (HeLa).

Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A. bilimbi* memiliki potensi sitotoksik terhadap sel kanker payudara (T47D) saja, namun tidak aktif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker kolon (WiDr) dan sel kanker servik (HeLa). Berdasarkan nilai rujukan yang ada dimana harga IC₅₀ sebesar 1000 µg/ml merupakan syarat minimal kadar ekstrak dinyatakan memiliki kemampuan sitotoksik (Meyer *et al.*, 1982). Meskipun demikian harga IC₅₀ pada pengujian sel kanker payudara tidak begitu kuat. Hal ini berkesesuaian dengan pernyataan pada pustaka Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang, yang menyatakan bahwa daun belimbing bermanfaat untuk mengobati kanker apabila dikombinasi dengan daun tanaman lainnya (Sudarman and Harsono, 1986). Untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kombinasi antara daun belimbing dengan daun tanaman lainnya untuk mengetahui kemampuan sitotoksitas yang lebih poten. Namun demikian, berdasarkan data yang diperoleh dapat memberikan sumbangan ilmiah mengenai potensi sitotoksik dari daun *Averrhoa bilimbi*.

Kesimpulan. Ekstrak etanol daun *Averrhoa bilimbi* L. memiliki potensi sitotoksitas spesifik terhadap sel kanker payudara (T47D) secara in vitro dengan menggunakan metode MTT dengan nilai IC₅₀ sebesar 805.05 ± 4.37 µg/ml.

Ucapan Terima Kasih. Ucapan terima kasih, kami sampaikan kepada DIKTI karena penelitian ini merupakan salah satu bentuk program Hibah Universitas Airlangga yang didanai oleh BOPTN.

PUSTAKA

- Fresney, R.I., 2005. *Culture Of Animal Cell : A Manual of Basic Technique*. 5th Ed. John Wiley and Sons
- Hasanuzzaman, Md., Ramjan Ali, Md., Marjan Hossain, Sourov Kuri, Mohammad Safiqul Islam, 2013. Evaluation of total phenolic content, free radical scavenging activity and phytochemical screening of different extracts of *Averrhoa bilimbi* (fruits). *International Current Pharmaceutical Journal*. Vol. 2(4): 92-96
- Kumar, K.A., Gousia, SK., Anupama, M. And Naveena Lavanya Latha. J., 2013. A Review On Phytochemical Constituents And Biological Assays Of *Averrhoa bilimbi*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research Universal Research Publications*. ISSN: 2249-0337, Available online at [http:// www.urpjournals.com](http://www.urpjournals.com).
- Meyer, BN, Ferrigni, NR, Putnam, JE, Jacobsen, LB, Nichols, DE, McLaughlin JL., 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*. Vol 45(5):31-34
- Nagmoti, DM., Shekhar B. Yeshwante, Shaijesh S. Wankhede, Archana, R. Juvekar, 2010. Hepatoprotective Effect Of *Averrhoa Bilimbi* Linn. Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatic Damage In Rats. *Pharmacologyonline*. Vol 3: 1-6.
- Pushparaj P, Tan CH, Tan BKH., 1999. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic Sprague Dawley rats. *Diabetologia*. Vol 42: 871 (Suppl. 1)
- Roy A, Geetha Rv, Lakshmi T, 2011. *Averrhoa Bilimbi* Linn–Nature’s Drug Store- A Pharmacological Review. *International Journal Of Drug Development & Research*. Vol 3 (3):101-106
- Sudarman, M., and Harsono, R., 1986. Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang. Cetakan Kedua, Jakarta , pp. 67-68
- Zakaria , Z.A., Zaiton , H., Henie , E.F.P., Mat Jais , A.M., and Engku Zainuddin ,E.N.H., 2007. *In vitro* Antibacterial Activity of *Averrhoa bilimbi* L. Leaves and Fruits Extracts. *International Journal of Tropical Medicine*. Vol 2 (3): 96-100