

Uji Aktivitas Sel Kanker dengan menggunakan senyawa Flavonoid dari Lengkuas (*Alpinia Galanga*)

I. A. K. Pramushinta¹ dan P. S. Ajiningrum²

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

ABSTRAK

Tanaman ini sudah cukup dikenal masyarakat Indonesia dan biasanya digunakan sebagai bumbu campuran pada masakan. Bagian tanaman ini yang biasa digunakan adalah rimpangnya. Rimpang lengkuas ini bisa digunakan sebagai obat tradisional untuk diare, disentri. Pada rimpang lengkuas terdapat senyawa-senyawa flavonoid, glikosida dan diarilheptanoids. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Penggunaan sel murin leukemia P388 dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, karena pada gugus hidroksil (-OH), gugus amida (-CONH) dan gugus dilakton merupakan gugus yang menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dan sel kanker. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dilakukan melalui tahapan ekstraksi dengan methanol kemudian dilanjutkan dengan uji skrining senyawa dan uji antikanker. Analisis ekstrak senyawa rimpang lengkuas dengan perbandingan 1:3 hasil lebih jernih dan baik, analisis uji skrining serbuk rimpang lengkuas didapatkan hasil positif adanya senyawa flavonoid pada uji Bate Smith & Mertcalf dan Uji Wilstater Sianidin, penghambatan sel kanker leukimia P388 50% dari ekstrak metanol lengkuas 16,76 µg/mL

Kata kunci: Lengkuas; anti kanker

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman tumbuhan terutama hasil pertanian dan rempah-rempahnya. Hal ini didukung oleh keadaan geografis Indonesia yang mempunyai iklim tropis dengan curah hujan yang tinggi. Sumber daya alam yang dimiliki telah memberikan manfaat yang tinggi dalam kehidupan sehari-hari. Disamping sebagai bahan makanan dan bahan bangunan, juga dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional. Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia sudah banyak menggunakan tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Hal ini dilakukan sebelum masyarakat mengenal obat-obatan modern yang dibuat dari bahan kimia sintetik.

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah lengkuas (*Alpinia galanga* L). Tanaman ini sudah cukup dikenal masyarakat Indonesia dan umumnya digunakan sebagai bumbu campuran pada masakan. Bagian tanaman

ini yang biasa digunakan adalah rimpangnya. Rimpang lengkuas ini bisa digunakan sebagai obat tradisional untuk diare, disentri dan lain-lain (Parwata, 2008). Pada rimpang lengkuas terdapat senyawa-senyawa flavonoid, glikosida dan diarilheptanoids. Pada penelitian sebelumnya tiga senyawa golongan flavonoid telah berhasil diisolasi dari rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L) yaitu 3,5,7-trihidroksiflavon (galangin), 3,5,7-trihidroksi-4'-metoksiflavon (kaempferide) dan 5,7-dihidroksi-4'-metoksi-3-O- -d-glukopiranosidaflavon (kaempferide-3-O- -D-glukosida). Senyawa – senyawa tersebut diketahui mempunyai bioaktivitas sebagai antioksidan (Samart, 2007).

Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Hess, tt). Sistem penomoran

digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Rega A., 2010). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Rega A., 2010).

METODE PENELITIAN

Persiapan Bahan Penelitian

Rimpang lengkuas dicuci bersih menggunakan akuades, dipotong kecil-kecil, dikeringkan, dijemur dan dihaluskan dengan mesin giling sampai berbentuk serbuk halus.

Ekstraksi Senyawa

Serbuk halus dari rimpang lengkuas dimaserasi dengan 1 L metanol selama 3X24 jam kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring Whattman untuk memisahkan antara larutan dan filtrat. Untuk analisis tersebut dengan menggunakan perbandingan 1 : 1 ; 1 : 2 ; 1 : 3. Air rendaman yang diambil untuk analisis uji selanjutnya.

Uji Skrining Senyawa Flavonoid

Uji skrining senyawa flavonoid diambil 3 mL sampel diuapkan, dicuci dengan larutan n-heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 mL metanol kemudian disaring menggunakan kertas saring Whattman. Filtrat tersebut dibagi menjadi 4 bagian A, B, C. Pada filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambahkan 0,5 mL HCl pekat yang kemudian dipanaskan pada penangas air (Uji Bate Smith & Mertclf), filtrat C ditambahkan 0,5 mL HCl dan logam Mg yang kemudian diamati adanya perubahan warna yang terjadi (Metode Willstater sianidin). Dengan munculnya warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavonoid, sedang warna merah diberikan oleh flavonol atau

flavonon. Filtrat D digunakan untuk uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji KLT dari hasil pada uji skrining flavonoid pada filtrat C ditotolkan pada plat silika gel G₆₀. Kemudian dielusi dengan perbandingan larutan butanol : asam asetat : air = 3 : 1 : 1 setelah itu dikeringkan dan diamati pada cahaya sinar tampak Spektrofotometer UV-Vis dengan UV 254 nm dan 366 nm. Plat silika gel kemudian disemprot dengan larutan amonia, dikeringkan dan diamati ulang pada cahaya sinar tampak dengan UV 254 nm dan 366 nm.

Uji Aktivitas Anti kanker

Uji antikanker dapat dilakukan dengan menggunakan sel murin leukemia P388. Pengkulturan sel dilakukan dalam keadaan steril. Sel murin leukemia P388 dipelihara dalam botol kultur 25 cm², medium pemeliharaan dalam botol kultur diganti setiap 2 hari dan subkultur dilakukan ketika kultur sel telah memenuhi 80% substrat, kemudian medium pemeliharaan dibuang selanjutnya sel dicuci dengan 1,5 mL FBS (*Fetal Bovine Serum*) replikasi 3 kali. Setelah itu sel dibilas dengan 1,5 mL EDTA 0,02% kemudian diberikan 1,5 mL tripsin 0,25% selanjutnya sel diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 menit. Selanjutnya medium dasar yang mengandung 50% FBS (*Fetal Bovine Serum*) ditambahkan 1,5 mL. Suspensi sel tersebut dipindahkan ke dalam tabung falcon 15 mL kemudian suspensi sel di sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 5 menit sehingga didapatkan pellet sel. Medium pemeliharaan sebanyak 3 mL ditambahkan ke dalam pellet sel disuspensikan hingga homogen.

Ekstrak metanol kering sebanyak 1 mg ditambahkan DMSO (Dimethyl sulfoxide) sampai larut sebagai stok larutan ekstrak untuk membuat variasi konsentrasi. Kemudian dibuat variasi konsentrasi ekstrak mulai dari 0,1 µg/mL ; 0,3 µg/mL ; 1 µg/mL ; 3 µg/mL ; 10µg/mL ; 30 µg/mL

; 100 µg/mL. Masing-masing ekstrak tersebut dimasukkan ke kultur sel murin leukemia P388. Sel yang telah diberi ekstrak dipelihara pada medium dasar yang mengandung 2 % FBS dan diinkubasi selama 24 jam agar sel dapat melekat dengan substrat.

Aktifitas pertumbuhan sel setelah melakukan setelah perlakuan diukur dengan pemberian larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltertrazolium bromid). Medium dibuang dan diberi 200 µl medium dasar yang mengandung 2% FBS (*Fetal Bovine Serum*) dan 50 µl larutan MTT, sel diberi MTT untuk mengukur efek sitotoksik sampel dan sel diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37 °C dengan kondisi gelap. Kemudian medium dibuang dan diberi 200 µl DMSO dan 25 µl buffer glisin.

HASIL PENELITIAN

Ekstraksi maserasi dengan berbagai perbandingan konsentrasi maka hasil yang paling baik yaitu pada perbandingan konsentrasi 1:3 yaitu 1 gram serbuk lengkuas dengan 3 L larutan metanol. Sedangkan pada perbandingan 1:1 dan 1:2 warna rendaman maserasi berwarna gelap dan keruh sehingga apabila dilakukan uji analisis selanjutnya akan mendapatkan hasil yang kurang baik.



Analisis skrining ekstrak metanol rimpang lengkuas disajikan pada Tabel berikut :

Kandungan Kimia	Metode Pengujian	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Uji Bate Smith & Mertcalf	Orange	+
	Uji Wilstater Sianidin	Merah	+

Pelarut yang digunakan pada uji kromatografi lapis tipis (KLT) flavonoid adalah butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 3 : 1 : 1 disajikan pada Tabel berikut :

Kandungan Kimia	Rf	Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Ket
Flavonoid	0,92	Kuning Muda	-	Biru	+
	0,54	Kuning Muda	-	Biru	+

Hasil analisis uji sel kanker

Jenis Ekstrak	Konsentrasi µg/mL	Replikasi			Rata-rata	IC ₅₀ µg/mL
		1	2	3		
Lengkuas	100	0,00033	0,00133	0,00033	0,00066	16,76
	30	0,000667	0,00133	0,00133	0,00133	
	10	0,209667	0,179667	0,168667	0,186	
	3	0,190667	0,179667	0,163667	0,178	
	1	0,153667	0,164667	0,157667	0,158	
	0,3	0,045667	0,170667	0,171667	0,129	
	0,1	0,201667	0,081667	0,165667	0,149	

PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi maserasi dengan berbagai perbandingan konsentrasi maka hasil yang paling baik yaitu pada perbandingan konsentrasi 1:3 yaitu 1 gram serbuk lengkuas dengan 3 L larutan metanol. Sedangkan pada perbandingan 1:1 dan 1:2 warna rendaman maserasi berwarna gelap dan keruh sehingga apabila dilakukan uji analisis selanjutnya akan mendapatkan hasil yang kurang baik.

Analisis yang dilakukan setelah melakukan ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut metanol dan serbuk lengkuas adalah analisis skrining fitokimia. Analisis skrining fitokimia menggunakan pelarut n-heksana, adapun penggunaan pelarut tersebut dikarenakan pelarut bersifat polar sehingga dapat berinteraksi dengan sampel yang digunakan berdasarkan prinsip “*like dissolve like*”

Dari hasil uji kandungan kimia fitokimia dengan uji Wilstater Sianidin pada umumnya digunakan untuk mendeteksi senyawa yang mempunyai inti benzopyron, warna orange yang terbentuk pada Uji Bate Smith & Mertcalf dan warna merah pada Uji Wilstater Sianidin timbul warna merah disebabkan karena terbentuknya garam flavilium dengan timbulnya warna tersebut maka positif adanya kandungan senyawa flavonoid.

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk menegaskan hasil yang didapatkan dari analisis skrining fitokimia. Uji kromatografi lapis tipis (KLT) dapat dilakukan untuk golongan-golongan senyawa yang dapat menunjukkan hasil positif pada skrining fitokimia. Adapun pelarut yang digunakan pada uji kromatografi lapis tipis (KLT) flavonoid adalah butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 3 : 1 : 1. Setelah disemprot dengan menggunakan amonia maka timbul noda Rf 0,92 dan 0,54 yang menimbulkan warna kuning muda setelah disemprot dengan amonia pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna biru pada UV 366 nm menegaskan adanya

kandungan flavonoid pada ekstrak metanol pada lengkuas, sedangkan sinar tampak pada UV 254 nm tidak menimbulkan warna. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) menegaskan bahwa sampel ekstrak metanol lengkuas mengandung flavonoid didalamnya.

Analisis uji sitotoksik pada penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui efek sitotoksik dan potensi antikanker dari ekstrak metanol lengkuas terhadap sel kanker Leukimia P388 secara invitro. Hasil pengujian analisis uji antikanker ekstrak metanol lengkuas ditentukan dengan menghitung nilai IC₅₀ yaitu nilai konsentrasi yang dapat menekan pertumbuhan 50% populasi sel Leukimia P388. Data hasil uji MTT pada tersebut digunakan untuk menentukan OriginLab 9.0 kemudian hasil perhitungan diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak metanol lengkuas. Hasil uji sitotoksitas dan nilai IC₅₀ ekstrak metanol lengkuas terhadap sel leukimia P388.

Hasil analisis memperlihatkan bahwa ekstrak metanol pada lengkuas terhadap sel kanker leukimia P388 mempunyai nilai konsentrasi hambatan 16,76 µg/mL sehingga dapat dikatakan bahwa lengkuas tergolong salah satu ekstrak yang sangat aktif hal tersebut dikarenakan kemampuan menghambat pertumbuhan sel kanker leukimia P388 sebanyak 50% terjadi pada konsentrasi ekstrak yang sangat rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Analisis ekstrak senyawa rimpang lengkuas dengan perbandingan 1:3 hasil lebih jernih dan baik.
2. Analisis uji skrining serbuk rimpang lengkuas didapatkan hasil positif adanya senyawa flavonoid pada uji Bate Smith & Mertcalf dan Uji Wilstater Sianidin.

3. Penghambatan sel kanker leukimia P388 50% dari ekstrak metanol lengkuas 16,76 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Adom, Kafui Kwami and Rui Hai Liu, 2002, Antioksidant Activity of Grains. *J. Agric. Food. Chem.* (50): 6182-6187
- Agoes.G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, ITB Press Bandung.
- Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2011, *Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107.
- Deinstrop, Elke, 2007, **Applied Thin-Layer Chromatography**. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCA hal. 1-2.
- Hanafi, M., *et al*, 2010, *Sintesis dan uji sitotoksik in vitro senyawa 2-Hidroksinikotinin Oktilamida terhadap sel kanker murin P388*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Haris, M. 2011, *Penentuan Kadar Flavanoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* [Lour] DC) Dengan spektrofotometer UV-Visibel*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Anadala. Padang.
- Kurniasari, I. 2006, *Metode Cepat Penentuan Flavanoid Total Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Berbasis Teknik Spektrofotometri Inframerah Dan Kemometrik*. IPB, Bogor.
- Midun, 2012, Uji Efektivitas Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan Bakteri *Escherichia coli* Dengan Metode Disc Diffusion
- Redha, A. 2010, *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Perannya Dalam Sistem Biologis*. *Jurnal Belian* Vol.9 No. 2 Sep: 196-202
- Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, 2006, **Natural products isolation**. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. hal. 6-10, 18.
- WHO, 2011, *Global Infection disease response: epidemic update and health sector progress toward universal access*. Progress Report.