

**UJI AKTIVITAS KEMOPREVENTIF FRAKSI KLOOROFORM EKSTRAK  
ETANOLIK BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) PADA SEL KANKER  
PAYUDARA MCF-7 SECARA *IN SILICO* DAN *IN VITRO***

*TEST CHEMO-PREVENTIVE ACTIVITY EXTRACT ETHANOLIC CHLOROFORM  
FRACTION OF NONI (MORINDA CITRIFOLIA L.) IN BREAST CANCER CELLS IN  
MCF-7 IN SILICO AND IN VITRO*

***Febi Hapsari*<sup>1</sup>, *Rifki Febriansah*,<sup>2</sup>**

Undergraduated, Muhammadiyah University of Yogyakarta<sup>1</sup>

Lecturer, Muhammadiyah University Of Yogyakarta<sup>2</sup>

*by feby@yahoo.com*

## **INTISARI**

Penyakit kanker merupakan penyakit yang menjadi salah satu ancaman utama terhadap kesehatan manusia. Kanker payudara merupakan kanker yang sering ditemui pada wanita setelah kanker leher rahim. Berbagai cara pengobatan telah dilakukan untuk mengobati penyakit kanker payudara. Terdapat berbagai kendala dan efek samping yang ditimbulkan oleh pengobatan kanker sehingga diperlukannya suatu pengobatan dengan efektifitas tinggi dan efek samping yang minimal. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai agen kemopreventif kanker payudara adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Tujuan dari penelitian ini ialah mengetahui efek ekstrak fraksi kloroform sebagai agen kemopreventif kanker payudara pada buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Ekstraksi buah mengkudu dilakukan menggunakan metode maserasi dan difraksinasi dengan kloroform, Identifikasi senyawa dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Uji aktivitas antioksidan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), Uji sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan metode MTT dan analisis molekuler *docking* terhadap senyawa skopoletin pada protein *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) dengan pembanding erlotinib.

Ekstrak kental fraksi kloroform didapatkan sebanyak 14 gram, identifikasi senyawa kumarin terlihat spot dengan  $R_f$  0,76. Uji aktifitas antioksidan di dapatkan nilai  $IC_{50}$  221  $\mu$ g/ml, untuk hasil uji sitotoksik didapatkan nilai  $IC_{50}$  516  $\mu$ g/ml. Senyawa skopoletin dianalisis secara molekuler *docking* terhadap protein EGFR didapatkan skor *native ligand* -100, dibanding senyawa skopoletin -60 dan erlotinib -83. Dapat disimpulkan bahwa senyawa kumarin berpotensi lemah sebagai agen kemopreventif sehingga dalam pengembangan fraksi kloroform buah mengkudu sebagai agen kemopreventif dibutuhkan dosis yang tinggi dan dilakukan penelitian pada sel kanker yang lain.

**Kata Kunci:** Fraksi Kloroform buah mengkudu, EGFR, Kumarin, Kemopreventif

## ABSTRACT

Cancer is a disease that is become the one of the major threats to human health. Breast cancer is a common cancer in women after cervical cancer. Various ways of treatment has been done to treat breast cancer. But, side effects are caused by a variety of cancer treatments trigger the need for a breakthrough cancer treatment with high effectiveness and minimal side effects. One of the natural compounds that can be used as a chemopreventive agent is noni (*Morinda citrifolia* L.). The purpose of this study is to know the effect of chloroform fraction as a chemopreventive agent in breast cancer noni (*Morinda citrifolia* L.)

The extraction of the active compounds in the noni fruit with maceration method on suspend with chloroform, identification of coumarin compounds with Thin Layer Chromatography (TLC) method, antioxidant activity of chloroform fraction of noni fruit with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), cytotoxic activity of noni's fruit against MCF-7 cells was done with MTT assay and molecular docking analysis of scopoletin an Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) was compare with erlotinib.

Chloroform fraction of noni was got 14 grams, the identification of coumarin compounds on the sample showed spots with Rf 0.76. Antioxidant activity of chloroform fraction noni had IC<sub>50</sub> value 221 µg/ml, for cytotoxic activity had IC<sub>50</sub> values 516 µg/ml. Scopoletin was analised by molecular docking with EGFR. Docking score of native ligand was -100, be compared scopoletin -60 and erlotinib -84. It could be concluded chloroform fraction of noni had a weak potentiation as chemopreventif agent so in the development it needs higher dose and continous study for the other cancer cell.

Keywords: Chloroform fraction noni fruit, EGFR, Coumarins, chemopreventif

---

## PENDAHULUAN

*National Cancer Institute* (2012)

Penyakit kanker merupakan penyakit diperkirakan pada tahun 2012 di yang menjadi salah satu ancaman utama Amerika Serikat akan ada kasus baru terhadap kesehatan manusia. Kematian kanker payudara sebanyak 226.870 akibat kanker diperkirakan akan (Wanita) dan 2.190 (laki-laki) dengan meningkat setiap tahunnya dan jumlah kematian sebanyak 39.510 diperkirakan pada tahun 2030 nanti (wanita) dan 410 (laki-laki). Di sebanyak 12 juta penduduk di dunia Indonesia kanker merupakan urutan ke akan mengalami kematian akibat kanker 6 dari pola penyakit Nasional. Setiap (NCI, 2012). Kanker payudara tahunnya 100 kasus baru terjadi merupakan kanker yang sering ditemui diantara 100.000 penduduk (Depkes RI, pada wanita setelah kanker leher rahim. 2001). Meningkatnya pengguna rokok

(57 juta orang), konsumsi alkohol, empiris manfaatnya namun belum kegemukan atau obesitas dan kurangnya terbukti secara ilmiah, maka dengan aktifitas fisik/olahraga juga berperan berbagai efektifitas tinggi dan efek dalam peningkatan angka kejadian samping yang minimal perlu suatu agen kanker di Indonesia (Depkes RI, 2005). kemopreventif. Buah mengkudu Berbagai cara pengobatan telah (*Morinda citrifolia* L.) memiliki dilakukan untuk mengobati penyakit kandungan kumarin yang memiliki kanker payudara, seperti kemoterapi, aktifitas farmakologi dan fisiologi radioterapi, dan pembedahan. Berbagai seperti antibakteri, antiinflamasi, kendala dan efek samping yang vasodilator dan diuretik. Senyawa yang ditimbulkan oleh berbagai pengobatan terkandung dilaporkan memiliki kanker memicu perlunya suatu aktifitas terapeutik terhadap diabetes terobosan pengobatan kanker dengan melitus, diare dan kanker (Wichi, 1988; efektifitas tinggi dan efek samping yang Sherwin, 1990). Untuk mengidentifikasi minimal. Salah satu pilihannya ialah senyawa kumarin yang terkandung agen kemopreventif, dimana agen dalam fraksi kloroform, menggunakan kemopreventif itu adalah senyawa yang metode Kromatografi Lapis Tipis dapat menghambat dan menekan proses (KLT) (Anonim, 2009). karsinogenesis pada manusia sehingga Pada penelitian ini dilakukan uji pertumbuhan kanker dapat dicegah sitotoksik, uji aktifitas antioksidan (Zuhud, 2009). fraksi kloroform ekstrak etanolik buah mengkudu terhadap sel kanker payudara MCF-7. Uji sitotoksik dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode 3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT). Uji aktivitas antioksidan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) untuk mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen, memberikan efek 50% Buah mengkudu di ketahui secara aktifitas antioksidan. Penggunaan uji



**Gambar 1.** Buah

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) alam yang akan sebagai (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) untuk mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen, memberikan efek 50% Buah mengkudu di ketahui secara aktifitas antioksidan. Penggunaan uji

molekuler pada protein target kumarin p.a, fraksi kloroform buah merupakan salah satu cara penetapan *in* mengkudu. Metanol p.a, DPPH p.a, *silico* menggunakan metode *docking aquabidest*. Sel kanker payudara. Media molekuler untuk mendapatkan obat- Sel kanker payudara MCF-7 obat yang menghambat pertumbuhan ditumbuhkan pada media *Roswell Park sel kanker. Memorial Institute (RPMI) yang mengandung Foetal Bovine Serum*

## METODE PENELITIAN

**Alat dan Bahan** Blender, alat-alat (FBS) 10% (v/v), *Dulbecco's Modified* gelas, kertas saring, *Rotary evaporator. Eagle Medium (DMEM), penisillin-Silika gel 60 F<sub>254</sub>, bejana, pipa kapiler, streptomisin 1% (v/v). Larutan pencuci sinar UV 254 dan UV 366 nm. Alt-alat Phosphat Buffer Saline (PBS). Pelarut. Digunakan dimetil sulfoksida (DMSO) tabung reaksi, mikro pipet, pipet tetes, untuk preparasi larutan uji dengan sendok tanduk, cawan porselen, konsentrasi tidal lebih dari 0,2%. timbangan analitik, spektrofotometer *Reagen MTT. MTT [3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] 5 mg/ml dalam media kultur. Reagen stopper sodium dodesil sulfat (SDS) dalam HCl 0,1%. Selain bahan-konikal 15 ml steril, sentrifus, bahan di atas juga digunakan Tripsin-haemositometer, cell counter, yellow EDTA untuk membantu melepas sel tip, blue tip, mikropipet, mikroskop yang melekat pada flask maupun plate. Bahan-bahan yang digunakan selama inverted, 96-well plate, shake, ELISA penelitian apabila tidak dikatakan lain berupa PC (intel<sub>inside</sub> Core i3). Sistem berarti berderajat proanalisis. Protein Operasi Linux versi 10.10, PLANTS diperoleh dari *Protein Data Bank (Protein Ligand ANT-System) 1.2. (PDB) di download dari situs: MarvinSketch 5.6.2 dari YASARA versi http://www.rcsb.org/pdb.***

6.

**Preparasi sampel** Buah mengkudu yang akan digunakan dikumpulkan L.), kloroform. Eter-Toluen (1-1),

dan selanjutnya dicuci dengan air kloroform kemudian dipekatkan mengalir hingga bersih. Buah menggunakan *rotary evaporator* mengkudu yang telah dicuci kemudian dengan suhu 60°C. Setelah fraksi dikeringkan pada udara terbuka dan kloroform dipekatkan kemudian terlindung dari sinar matahari langsung. dikentalkan dengan *waterbath*.

Simplisia yang telah kering kemudian Uji KLT Senyawa pada fraksi diserbuk menggunakan blender. kloroform buah mengkudu

**Pembuatan ekstrak** Serbuk kering diidentifikasi menggunakan KLT. Fase simplisia dimasukkan kedalam bejana diam yang digunakan adalah silika gel kemudian diekstraksi dengan metode 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak yang digunakan maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan adalah toluen-eter (1-1, Saturasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. 10% asam asetat).

Perbandingan pelarut yang digunakan **Molecular Docking** adalah 1 : 10. Pada maserasi dilakukan **1. Pengambilan Data** pengadukan setiap hari selama 5 hari. Konformasi protein dicari dari Setelah 5 hari residu disaring dan *protein data bank* (PDB ID 3W33) dipisahkan dari filtrat. Setelah protein target dalam bentuk aktif yang dipisahkan, dilakukan remaserasi berikatan dengan *native ligand*.

selama 2 hari. Setelah 2 hari, residu **2. Pemodelan Molekul** disaring dan filtrat yang didapatkan Optimasi struktur senyawa uji dipekatkan menggunakan *rotary* dilakukan menggunakan bantuan *evaporator* dengan suhu 60°C, maka program *Marvin Skecth*. Struktur 3D didapatkan ekstrak etanolik buah kumarin digambar lengkap dengan atom mengkudu. Penguapan selanjutnya hidrogen, kemudian dilakukan optimasi dilakukan menggunakan penangas air konformasi.

agar didapatkan ekstrak kental. Ekstrak **a. Preparasi Protein Target** kental etanol selanjutnya difraksinasi Protein target dipreparasi menggunakan *software* YASARA, yaitu partisi cair-cair dengan pelarut menggunakan *software* YASARA, yaitu kloroform. Proses fraksinasi ini berkas protein dalam format pdb, kemudian dihapus salah satu rantai dilakukan sampai perubahan warna dan proteinnya untuk meminimalisasi pemisahan terlihat jelas. Fraksi

wilayah *docking*. Selanjutnya NAG dan air dihapus sehingga hanya tersisa molekul asam amino dan tambahkan hidrogen. Hasilnya kemudian disimpan dalam bentuk mol2 yang akan digunakan sebagai protokol *docking* untuk penapisan virtual senyawa EGFR.

#### **b. Simulasi dan Validasi Docking**

File input ligan dan file protein target disimpan bersama dalam sebuah folder bersama *PLANTS* versi 1.2, kemudian ditentukan pose konfigurasi dan konfigurasi *docking* (*plantsconfig*) yang merupakan modifikasi dari konfigurasi standar dari *PLANTS*. Jalankan *pendrivelinux* dan kopi file yang dibutuhkan ke *pendrivelinux* untuk melihat koordinat pusat tempat ikatan x,y,z dan radiusnya. Lakukan simulasi program *docking* *PLANTS*, kemudian lakukan evaluasi dan interpretasi hasil simulasi. Pilih konformasi yang memberikan hasil dengan *score* terendah (dapat dikatakan yang terbaik). Dimana konformasi yang memiliki nilai skoring terbaik dipilih sebagai sebagai tempat sampel diperkirakan berikatan. Kemudian *docking* ligan asli (4FC), setelah itu dilakukan perhitungan RMSD (*Root Mean Square Deviance*) dengan

menggunakan *YASARA* (RMSD dinyatakan valid apabila lebih rendah dari 2Å). Apabila nilainya kurang dari 2Å, maka dapat digunakan sebagai protokol *docking* untuk skrining virtual dalam usaha penemuan senyawa yang menghambat proliferasi EGFR.

#### **Uji Antioksidan Metode DPPH**

##### **1. Pembuatan Larutan DPPH**

Sebanyak 19,72 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam metanol hingga 25 mL. Diambil sebanyak 10 mL dan di tambah metanol hingga volume 100 mL.

##### **2. Pembuatan Larutan Sampel**

Sampel ekstrak dikeluarkan dari *freezer* dan didiamkan pada suhu kamar. Ditimbang 10 mg sampel dan dilarutkan dengan metanol hingga 10 mL dan diperoleh larutan induk sampel dengan kadar 1000 µg/mL. Setelah itu di buat lima larutan seri kadar dari larutan tersebut dengan di pipet sejumlah sampel dan larutkan dengan pelarut metanol. Fraksi kloroform dari ekstrak etanol buah mengkudu (250; 200; 150; 100; dan 50 µg/ml).

##### **3. Panjang Gelombang Maksimum DPPH**

Sebanyak 1000 µL larutan DPPH ditambahkan 1000 µL metanol ke dalam

tabung ulir 10 mL. Kemudian dihomogenkan dengan bantuan *vortex* dan baca spektra pada gelombang larutan tersebut pada rentang 200-800 nm. Lalu ditentukan panjang gelombang maksimum dengan melihat nilai absorbansi tertinggi dari spektra panjang gelombang.

#### **4. Panjang Gelombang Maksimum Sampel**

Sebanyak 1000  $\mu$ L larutan sampel dan ditambahkan 1000  $\mu$ L metanol ke dalam tabung ulir 10 mL lalu larutan dihomogenkan dengan bantuan *vortex* dan dibaca spektra pada panjang gelombang larutan tersebut dengan rentang 200-800 nm. Lalu ditentukan panjang gelombang maksimum dengan melihat nilai absorbansi tertinggi dari spektra panjang gelombang tersebut.

#### **5. Penentuan Operating Time**

Sebanyak 1000  $\mu$ L larutan sampel dan ditambahkan 1000  $\mu$ L metanol ke dalam tabung ulir 10 mL kemudian larutan dihomogenkan dengan bantuan *vortex* lalu baca absorbansi larutan tersebut pada panjang gelombang maksimum DPPH yang telah diperoleh selama 90 menit. Ditentukan waktu stabil dari absorbansi larutan sampel.

#### **6. Uji Antioksidan**

Larutan seri kadar standar dan sampel yang telah dibuat sebelumnya diambil sebanyak 1000  $\mu$ L larutan dan tambahkan 1000  $\mu$ L metanol ke dalam tabung ulir 10 mL lalu homogenkan larutan dengan bantuan *vortex* dan diamkan larutan selama *operating time* (OT) yang diperoleh kemudian baca absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum DPPH dan hitung nilai  $IC_{50}$  dengan mengolah data absorbansi sampel menjadi % antioksidan dengan menggunakan rumus.

#### **Uji sitotoksik**

##### **1. Sterilisasi alat**

Semua alat yang akan dipakai dicuci dengan menggunakan sabun dan dikeringkan, kemudian di sterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C, dengan tekanan 15 lb lalu dikeringkan dalam oven. Pengerjaan dilakukan secara dalam *Laminar Air Flow Hood* (LAF) yang telah disterilkan dengan sinar UV selama 30 menit, disemprot etanol 70% dan dilap.

##### **2. Pembuatan larutan media dan media kultur**

Larutan DMEM dibuat dengan melarutkan DMEM dalam aquadest,

ditambah 2,0 gram  $\text{NaHCO}_3$  dan 2,0 gram Hepes. Larutan selanjutnya distirer sampai homogen kemudian di-buffer dengan HCl encer 1 N hingga pH 7,2-7,4 polietilensulfon steril 0,2  $\mu\text{m}$  secara aseptis. Media kultur dibuat dengan cara mencampurkan larutan DMEM steril dengan FBS 10% dan penisilin streptomisin 1% secara aseptis didalam LAF.

### 3. Preparasi sel

Sel yang inaktif dalam ampul diambil dari tangki nitrogen cair, segera dicairkan pada suhu  $37^\circ\text{C}$ , kemudian ampul disemprot dengan etanol 70%. Ampul dibuka dan sel dipindahkan ke dalam tabung konikal steril berisi media kultur. Suspensi sel disentrifugasi dengan kecepatan 3000 *rpm* selama 5 menit, supernatan dibuang, pellet ditambah 1 ml media penumbuh yang mengandung 10% FBS, resuspensi perlahan hingga homogen, selanjutnya sel ditumbuhkan dalam beberapa *tissue culture flask* kecil, diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $37^\circ\text{C}$  dengan aliran 5%  $\text{CO}_2$ . Setelah 24 jam, media diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen dan jumlahnya cukup untuk penelitian.

### 4. Panen sel

Setelah jumlah sel cukup, media dibuang dan sel dicuci koloninya dengan jalan penambahan larutan PBS dan jika perlu resuspensikan perlahan, buang larutan tersebut, tambahkan 1 ml larutan tripsin 2,5% pada sel, namun agar merata ditambahkan 3 ml larutan PBS, diamkan selam 3-5 menit agar tripsin bekerja dengan baik. Sel dipindah kedalam tabung konikal steril dan ditambah PBS sampai volume 10 ml dan disentrifugasi pada 3000 *rpm* selama 3 menit. Sel dicuci dua kali menggunakan media yang sama dan dihitung jumlah sel nya menggunakan haemositometer. Suspensi sel ditambah jumlah media kultur sehingga diperoleh konsentrasi sel sebesar  $5 \times 10^3$  sel/100  $\mu\text{l}$  dan siap untuk penelitian.

### 5. Pembuatan larutan uji

Fraksi *Morinda citrifolia* L. yang telah di fraksinasi dibuat stok dengan kadar  $2 \times 10^5$   $\mu\text{g/ml}$  dalam DMSO. Selanjutnya dari larutan stok tersebut dibuat seri konsentrasi dalam media kultur.

### 6. Uji sitotoksik menggunakan metode MTT (Mosman,1983)

Sel dengan kepadatan  $10^4$  sel per sumuran didistribusikan ke dalam *plate*

96 sumuran dan diinkubasi selama 48 MTT dibuang, dicuci PBS kemudian jam untuk beradaptasi dan menempel di ditambahkan larutan stopper SDS dalam dasar sumuran. Keesokannya media HCL 0,1% 200  $\mu$ L untuk melarutkan diambil, dicuci PBS kemudian kristal formazan. Digoyangkan diatas ditambahkan 100  $\mu$ L media kultur yang *shaker* selama 10 menit kemudian mengandung DMSO 0,2% saja dibaca dengan ELISA *reader* pada  $\lambda$  (kontrol) atau sampel uji diinkubasi 595 nm.

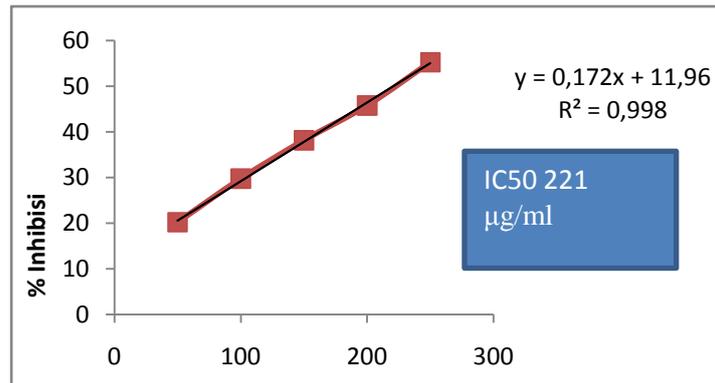
selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, **HASIL DAN PEMBAHASAN** Dari hasil penyiapan sampel media kultur yang mengandung sampel Didapatk ektrak kental sebanyak 237 dibuang, dicuci dengan 100  $\mu$ L PBS.

Kemudian ke dalam masing-masing gram lalu di fraksinasi dan mendapat sumuran ditambahkan 100  $\mu$ L media ekstrak kental fraksi sebanyak 14 gram. kultur yang mengandung 5 mg/ml Uji yang dilakukan pertama ialah KLT MTT, inkubasi lagi selama 4 jam pada untuk mengidentifikasi senyawa yang suhu 37°C. Sel yang hidup akan ada di (*Morinda citrifolia L.*). bereaksi dengan MTT membentuk identifikasi senyawa kumarin pada buah kristal formazan berwarna ungu. mengkudu dengan metode KLT. Hasil Setelah 4 jam, media yang mengandung bisa dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Profil KLT Fraksi Kloroform Buah Mengkudu

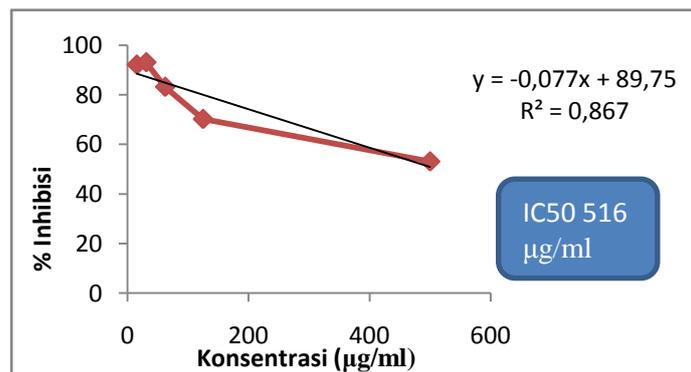
No Spot	Harga R <sub>f</sub>	Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,76	Biru	-	Biru Muda
2	0,76	Biru	-	Biru Muda
3	0,88	Biru Muda	Peredaman	Biru Muda

Senyawa kumarin tampak pada nilai fraksi kloroform buah mengkudu R<sub>f</sub> 0,76 pada UV 366. Senyawa memiliki aktivitas antioksidan yang kumarin di uji antioksidan dengan lemah. Hal ini ditunjukkan dengan nilai metode DPPH, Pengujian aktivitas IC<sub>50</sub> sebesar 221  $\mu$ g/ml, dapat dilihat antioksidan ini menunjukkan bahwa pada gambar 2.



**Gambar 2.** Grafik Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Buah Mengkudu

Uji sitotoksik digunakan untuk menunjukkan potensi ketoksikan suatu menentukan parameter nilai  $IC_{50}$ . Nilai senyawa terhadap sel. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi merupakan patokan untuk melakukan yang menghasilkan hambatan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto, proliferasi sel sebesar 50% dan 2003). Pada gambar 3.



**Gambar 3.** Grafik Uji sitotoksik fraksi kloroform terhadap sel kanker payudara MCF-7.

Dalam penelitian ini telah dilakukan Semakin tinggi nilai skor *docking* maka *docking* antara senyawa skopoletin semakin lemah ikatan *ligand* dengan dengan EGFR sebagai target, yang reseptor, begitupun sebaliknya semakin diperkirakan mempunyai aksi sebagai kecil skor *docking* maka semakin kuat sitotoksik, Hasil menunjukkan bahwa ikatan *ligand* dengan reseptor. Pada *native ligand* memiliki skor lebih kecil tabel 2. dibandingkan dengan skor skopoletin.

**Tabel 2.** *Score docking ligand* dengan protein EGFR

<b>Ligand</b>	<b>Score Docking</b>
<b><i>Native Ligand</i></b>	-100
<b>Skopoletin</b>	-60
<b>Erlotinib</b>	-84

Fraksi kloroform buah mengkudu di menggunakan spektrofotometri UV- uji aktivitas antioksidannya Vis. Semakin tinggi konsentrasi larutan menggunakan metode DPPH yang sampel maka akan semakin besar pula menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 221 peredaman warna yang ditandai dengan µg/ml, pada penelitian sebelumnya uji terbentuknya warna kuning. Mekanisme antioksidan dengan fraksi etil asetat kemopreventif pada antioksidan terjadi buah mengkudu mendapatkan nilai IC<sub>50</sub> pada fase inisiasi. Pada fase ini 7,90 µg/ml (Rohman *et al*, 2005). Hasil antioksidan dapat menstabilkan radikal dari penelitian sebelumnya, uji bebas yang terdapat pada senyawa- antioksidan dari buah mengkudu senyawa yang bersifat karsinogenik memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang sangat kuat seperti radikal oksigen, peroksidan, dan dibanding dengan penelitian ini, superperoksida (Gordon, 1990). dikarenakan metode yang berbeda Senyawa radikal bebas ini berpotensi dalam segi ekstraksi menggunakan merusak DNA sehingga mengacaukan pelarut yang lebih polar sehingga sistem info genetik dan berlanjut pada senyawa yang dituju lebih spesifik lalu pembentukan sel kanker. Jaringan lipid di fraksinasi lagi menggunakan pelarut juga akan dirusak oleh senyawa radikal polar yang bermacam-macam sehingga bebas sehingga terbentuk peroksida hasil yang didapat juga lebih baik. yang memicu munculnya penyakit Mekanisme dari antioksidan berupa degeneratif (Winarsi, 2007; Juniarti *et penangkapan radikal bebas DPPH al*, 2009).

dengan perubahan warna ungu yang Uji sitotoksik fraksi kloroform buah memudar pada DPPH dan penurunan mengkudu yang dilakukan sebagai absorbansi yang diukur pada panjang profil presentase kehidupan sel kanker gelombang maksimum DPPH payudara MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub>

sebesar 516 µg/ml, dari nilai yang mengkudu diduga ikut berkontribusi diperoleh menunjukkan bahwa fraksi terhadap efek sitotoksik yang diberikan. kloroform buah mengkudu memiliki Agen kemopreventif ditunjukkan potensi yang lemah untuk menghambat dengan adanya mekanisme antioksidan, proliferasi sel kanker. Pada penelitian penetralan dan ekskresi senyawa sebelumnya uji sitotoksik dengan karsinogenik atau melalui peningkatan ekstrak etanolik buah mengkudu kemampuan DNA repair (Beliveau *and* mendapatkan nilai IC<sub>50</sub> 1117 µg/ml Gingras, 2007; Katiyar *et al*, 2007; Surh (Bintang *et al*, 2013). Hasil dari *and* Na, 2008; Walaszek *et al.*, 2004). penelitian sebelumnya, uji sitotoksik Menurut beberapa penelitian, suatu dari buah mengkudu memiliki nilai IC<sub>50</sub> senyawa dapat digolongkan sebagai yang sangat lemah dibanding dengan agen kemopreventif dikarenakan penelitian ini, dikarenakan pada adanya mekanisme dalam penelitian ini menggunakan fraksi penghambatan proses transformasi, kloroform, sehingga senyawa yang proliferasi dan invasi dari sel kanker dituju lebih spesifik, dimana telah diuji (Agarwal *et al*, 2000). Mekanisme dengan KLT dari fraksi kloroform buah kemopreventif fraksi kloroform buah mengkudu terdapat senyawa golongan mengkudu adalah kemampuannya kumarin yang mempunyai mekanisme sebagai antioksidan tetapi dalam sebagai agen kemopreventif dan juga penelitian ini hasil yang diperoleh sudah mengarah ke suatu formulasi, kandungannya sangat lemah (Winarsi, sehingga hasil yang didapat juga lebih 2007).

baik dari penelitian sebelumnya. Efek Mekanisme lain pada agen sitotoksik fraksi kloroform buah kemopreventif yaitu dengan adanya mengkudu berdasarkan hasil yang asam arakidonat didalam tubuh yang diperoleh dimana dosis mempengaruhi, memproduksi COX-2, dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghambat invasi sel kanker melalui maka semakin rendah persentase inhibisi. COX-2 adalah suatu enzim kehidupan sel. Senyawa kumarin yang yang dapat mempercepat terbentuknya terdapat pada fraksi kloroform buah prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) dari asam arakidonat. Oleh karena itu jika enzim

COX-2 dihambat, proses pertumbuhan faktor transkripsi gen melalui Fos dan sel kanker tidak terjadi dan proliferasi Jun sehingga akan memacu sel kanker dapat dihambat (Surh, 1998). pertumbuhan sel (Chen YR *et al.*, 2006

Pada penelitian ini juga dilakukan dan Amann J *et al.*, 2005). analisis molekuler *docking* skopoletin Berdasarkan penelitian ini bahwa terhadap EGFR. EGFR adalah protein fraksi kloroform buah mengkudu dapat pada membran sel yang dapat berikatan di kembangkan sebagai agen dengan faktor pertumbuhan. Dalam kemopreventif walaupun hasilnya tidak kondisi normal ikatan ini akan cukup memuaskan. Namun potensi mengaktivasi enzim tirosin kinase (TK) penghambatan fraksi kloroform buah melalui jalur Ras/Raf/Map kinase. mengkudu bisa dilihat dengan hasil Ketika faktor pertumbuhan (*growth* molekuler *docking*, senyawa skopoletin *factor*) berikatan dengan reseptornya terhadap protein EGFR. Skopoletin maka akan terjadi dimerisasi yang akan memiliki skor *docking* terhadap EGFR meningkatkan kemampuan enzimatik lebih tinggi dibandingkan *native ligand* suatu reseptor. Reseptor yang nya yang menunjukkan bahwa terdimerisasi akan saling mengaktifkan skopoletin memiliki ikatan yang lemah satu sama lain dan akan terfosforilasi. dibandingkan *native ligand* nya. Reseptor akan menjadi tempat ikatan Skopoletin juga dibandingkan dengan bagi protein lain yaitu Grb<sub>2</sub> yang erlotinib, skopoletin memiliki skor kemudian akan terikat dengan SOS. *docking* yang lebih tinggi. Sehingga Apabila SOS teraktivasi maka akan dalam pengembangan fraksi kloroform menyebabkan aktifnya Ras. Ras sebagai agen kemopreventif dibutuhkan berfungsi menghantarkan signal dari penelitian lebih lanjut.

reseptor *tirosin kinase* ke dalam **KESIMPULAN**

nukleus. Ras yang teraktivasi akan 1. Fraksi kloroform buah mengkudu mengaktifkan kinase seluler yaitu Raf-1 (*Morinda citrifolia* L.) mengandung senyawa kumarin. Raf-1 kinase akan 2. Fraksi kloroform buah mengkudu memfosforilasi kinase seluler yang lain yaitu MEK dan MAPK, karena MEK (*Morinda citrifolia* L.) memiliki dan MAPK aktif maka akan terjadi

- aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 221 µg/ml.
3. Fraksi klorofrom buah mengkudu memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 516 µg/ml.
  4. Senyawa skopoletin menghambat protein EGFR secara molekular *docking* berpotensi lemah dengan *score docking* -60.
- SARAN**
- Penelitian ini disarankan di lanjutkan dengan mencoba penyari yang berbeda dengan mengekstraksi menggunakan penyari non-polar. Uji selanjutnya bisa dilanjutkan dengan uji apoptosis dan uji pada sel kanker lain.
- DAFTAR PUSTAKA**
- Agarwal, S., Rao A.V., 2000, Role of Antioxidant Lycopene in cancer and heart diseases, *Journal of the American College of Nutrition*, Vol 19, No. 5, 563–569
- Amann, J., Kalyankrishna, S., Massion, P. P., Ohm, J. E., Girard, L., 2005, Aberrant reseptor faktor pertumbuhan epidermal sinyal dan peningkatan sensitivitas terhadap EGFR inhibitor pada kanker paru-paru. *Kanker Res* 65: 226-235.
- Anonim, 2009, Kromatografi Lapis Tipis, [http://www.chemistry.org/materi\\_kimia/instrumen\\_analisis/kromatografi1/kromatografi\\_lapis\\_tipis/](http://www.chemistry.org/materi_kimia/instrumen_analisis/kromatografi1/kromatografi_lapis_tipis/).
- Beliveau, R., Gingras, D., 2007, Role of Nutrition in Preventing Cancer, *Can. Fam. Physician* 53: 1906- 1911.
- Bintang, D., Hardika, D.,S., Praba, D.H., Dzilqi, B.H., Nur, O., Rifki, F., 2013, 20 Maret, Kajian Secara In Vitro Ekstrak Buah Mengkudu Sebagai Obat Kanker Payudara yang Potensial. PKM-AI, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Jakarta
- Chen, Y.R., Fu, Y. N., Lin, C. H., Yang, S. T., Hu, S. F., 2006, Pola Aktivasi Khas di mutan EGFR konstitutif aktif dan gefitinib-sensitif, *Onkogen* 25: 1205-1215.
- Departemen Kesehatan, Survei Kesehatan Nasional, Laporan Studi Mortalitas 2001, Depkes R I Jakarta, 2002.
- Gordon, M. H., 1990, The mechanism of antioxidant activity in vitro, In: Hudson B.J.F. (ed), *Food Antioxidants, Elseviere Applied Science*, London.
- Juniarti, N., Zillies, I., Enade, P, I., 2009, The importance of ARG513 as a hydrogen bond anchor to discover COX-2 inhibitor in a virtual screening campaign, *Bioinformation*, 6(4), 164-166
- Katiyar, S., Elmets, C. A., Katiyar, S. K., 2007, Green tea and skin cancer: Photoimmunology, angiogenesis and DNA repair, *J. Nutr. Biochem.*18: 287–296.
- Mosmann, T., 1983. Rapid colourimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Meth.* 65:55-63
- NCI. 2012. *Breast Cancer*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast.html> (11 Februari 2012).
- NCI. 2012. *Cancer Treatment*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment.html> (11 Februari 2012).

- Rohman, A., Riyanto, S., dan Utari D., 2005, Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat buah mengkudu serta fraksi-fraksinya, *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(3), 136-142, 2006
- Sherwin E.R., in. A. L., Branen, P. M., Davidson, S., Salminen, 1990, Eds., *Food Additives*, Marvel Dekker Inc., New York,;139–193.
- Surh, Y. and Na, H. (2008). NF- $\kappa$ B and Nrf2 as prime molecular targets for chemoprevention and cytoprotection with anti-inflammatory and antioxidant phytochemicals. *Genes Nutr.* 2:313–317
- Surh, Y.J., 1998, Cancer Chemoprevention by Dietary Phytochemicals a Mechanistic Viewpoint, *Cancer J.*, 11(1), 6-10
- Walaszek, Z., Hanausek, M., and Slaga, T.J., 2004, Mechanisms of Chemoprevention. *Chest* .125:128S-133S.
- Wichi, H. P, *Food Chem, Toxicol*, 1988, 26, 717–723.
- Winarsi, H.2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Zuhud, E.A.M., 2009, Potensi hutan tropika Indonesia sebagai penyangga bahan obat alam untuk kesehatan bangsa, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6:227-232