

## Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol-Air, Etil Asetat serta N-Heksana Buah Pare (*Momordica Charantia*) pada Sel MCF-7 secara *In-Vitro*

### Cytotoxic Activity of Ethanol, Ethanol-Water, Ethyl Acetate, and N-Hexane Extracts of *Momordica Charantia* Against MCF-7 Cells *In-Vitro*

Adhe Retnantya Pamungkas, Peni Indrayudha\*

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A Yani Tromol Pos I, Pabelan, Kartasura, Sukoharjo 57162

\*E-mail: [peni.indrayudha@ums.ac.id](mailto:peni.indrayudha@ums.ac.id)

Received: 16 Oktober 2019; Accepted: 26 Desember 2019; Published: 27 Desember 2019

#### Abstrak

Buah pare merupakan salah satu buah mempunyai khasiat salah satunya sebagai antikanker yang aktif pada sel kanker payudara MCF-7. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan potensi aktivitas sitotoksik antara ekstrak etanol buah pare dengan hasil fraksi etanol, etil asetat serta n- heksana terhadap sel kanker payudara MCF-7 serta untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam masing-masing sampel. Serbuk buah pare diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80% kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi dengan metode partisi cair- cair menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol 96%-air. Hasil ekstrak dan fraksi diuji sitotoksik dengan metode MTT assay. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa bahwa ekstrak etanol 80% buah pare memiliki aktivitas sitotoksik yang tidak poten. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi tertinggi 16 µg/mL memiliki daya hambat yang paling tinggi yaitu sebesar 43,87% populasi sel MCF-7. Ekstrak dan fraksi diuji skrining fitokimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil deteksi menunjukkan fraksi n-heksana terdapat lebih banyak golongan senyawa daripada ekstrak etanol, fraksi etanol-air dan fraksi etil asetat.

**Kata Kunci:** MTT assay, MCF-7, *Momordica charantia*

#### Abstract

*Bitter melon is one of fruit that have pharmacological effects such as an anticancer which potentially active on breast cancer cell MCF-7. The aim of this study was to compare the potential cytotoxic activity between ethanol extract of pare and the results of ethanol, ethyl acetate and n-hexane fraction on MCF-7 breast cancer cells and to determine the class of compounds contained in each sample. Pare's powder was extracted with maceration method in 80% ethanol solvent and then continue to fractionated in 96% ethanol, ethyl acetate and hexane solvent. Extract and fractions were continue to cytotoxic assay using the MTT assay method. Cytotoxic test results showed that the ethanolic extract had no potential cytotoxic activity. Ethyl acetate fraction with the highest concentration 16 µg/mL has the highest potential inhibition 43,87% on MCF-7 cells population. Extract and fractions than continue to phytochemical screening with Thin Layer Chromatography (TLC) method. TLC detection showed that n-hexane fraction contained more compound groups than ethanolic extract, ethanolic-water fraction and ethyl acetate fraction.*

**Keywords:** MTT assay, MCF-7, *Momordica charantia*

#### PENDAHULUAN

Negara berkembang seperti Indonesia memiliki persentase kematian akibat kanker yang cukup tinggi yaitu sekitar 70%. Tingginya persentase tersebut dikarenakan rendahnya layanan pengobatan bagi pasien kanker. Layanan pengobatan kanker yang

tersedia di Indonesia hanya sekitar 30%. Fakta ini didukung dengan kecilnya ketersediaan obat kanker di masyarakat hanya sekitar 45 jenis pada tahun 2013 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2013 dan Sudoyo, 2017). Laporan pengeluaran biaya pada bulan juni tahun 2017 menunjukkan bahwa BPJS (Badan

Penyelenggara Jaminan Sosial) telah mengeluarkan biaya pengobatan kanker sebanyak 6,3 triliun (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2018). Tahun 2018 BPJS telah memutuskan untuk tidak membiayai terapi bagi pasien kanker yang menggunakan obat Trastuzumab, namun tetap menanggung penuh terapi kanker yang menggunakan obat sesuai dengan yang tercantum dalam formularium (Arnani, 2018). Fakta ini akan semakin membebani pasien, terutama pasien kanker dari kalangan masyarakat kurang mampu yang menggunakan obat tersebut sebagai terapi kanker. Melihat kondisi tersebut, saat ini sangat diperlukan pengembangan suatu obat kanker baru yang lebih terjangkau sehingga mampu meringankan beban masyarakat meskipun secara tidak langsung masih diperlukan aplikasi, contohnya dengan memanfaatkan buah pare.

Buah pare merupakan salah satu buah yang memiliki banyak manfaat secara farmakologis (Thomasset *et al.*, 2007 dan Yin *et al.*, 2008). Salah satu khasiatnya adalah anti-karsinogenik (Huang *et al.*, 2008). Buah ini mengandung berbagai komponen bioaktif yang kaya akan aktivitas farmakologis (Jia *et al.*, 2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 50% buah pare mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dengan  $IC_{50}$  0,77  $\mu\text{g/mL}$  (Vishwanath *et al.*, 2015). Penelitian lain tentang fraksinasi dari ekstrak buah pare kini telah dikembangkan, fraksi *crude flavonoid* ekstrak etanol buah pare memiliki aktivitas sitotoksik yang signifikan dengan  $LC_{50}$  12,38  $\mu\text{g/mL}$  terhadap sel kanker pankreas MiaPaCa2 (Barua *et al.*, 2014). Konstituen bioaktif yang terkandung seperti *cucurbitane type terpenoid*, glikosida triterpen, serta beberapa komponen hasil isolasi seperti kuguacin J, karaviloside XI, kuguaglikosida C, momordicosid Q-U, charantin,  $\alpha$ -momorcharin, dan MAP30 (Dandawate *et al.*, 2017). Buah pare juga mengandung senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik seperti taikuguasin C, taikuguasin

D, charantagenin D, goyaglikosid, charantagenin E, momordikosid K, asam 3,7-diokso-23,24,25,26,27-pentanorcucurbit-5-en-22-oat,25,26,27-trinorcucurbit-5-ene-3,7,23-trione, cucurbitacin B dan *stigmasta-7,25(27)-dien-3 $\beta$ -ol*. Taikuguasin C serta taikuguasin D yang diperoleh dari ekstrak etanol buah pare memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 masing-masing memiliki  $ED_{50}$  42,60  $\mu\text{M}$  dan 42,66  $\mu\text{M}$  (Liaw *et al.*, 2015). Charantagenin D dan goyaglikosid diperoleh dari ekstrak etanol buah pare memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih poten terhadap sel kanker glioblastoma U87 daripada charantagenin E, momordikosid K dan *stigmasta-7,25(27)-dien-3 $\beta$ -ol*, charantagenin D memiliki  $IC_{50}$  sebesar 1,08  $\mu\text{mol/L}$  dan goyaglikosid sebesar 0,19  $\mu\text{mol/L}$  (Wang *et al.*, 2012). Asam 3,7-diokso-23,24,25,26,27-pentanorcucurbit-5-en-22-oat dan 25,26,27-trinorcucurbit-5-ene-3,7,23-trione yang diperoleh dari ekstrak metanol buah pare memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker hati HepG2 dengan  $IC_{50}$  >100  $\mu\text{M}$  (Hen *et al.*, 2010). Cucurbitacin B diperoleh dari ekstrak etanol buah pare dan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker pankreas HPDE dan MiaPaCa2 dengan  $GI_{50}$  masing-masing 939,1  $\mu\text{g/mL}$  dan 516,5  $\mu\text{g/mL}$  (Richmond *et al.*, 2017).

Buah pare telah terbukti secara ilmiah mengandung berbagai macam isolat yang memiliki khasiat berbeda-beda. Isolat yang berhasil diperoleh dari ekstrak etanol buah pare seperti taikuguasin C terbukti memiliki aktivitas sitotoksik yang aktif terhadap sel MCF-7. Melihat potensi aktivitas sitotoksik ekstrak etanol buah pare yang menjanjikan, namun belum terdapat data yang memuat aktivitas sitotoksik hasil fraksinasinya seperti fraksi etanol, etil asetat serta n-heksana. Sehingga sangat diperlukan suatu penelitian untuk mengetahui potensi aktivitasnya terutama pada sel kanker payudara MCF-7. Hal ini di karenakan karakteristik dari sel MCF-7 yang kurang agresif, tidak invasif, memiliki potensi metastatis yang rendah serta merupakan salah satu sel yang paling sering

dikembangkan dalam sebuah penelitian (Comşa *et al.*, 2015).

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan**

Bahan utama yang digunakan pada tahap preparasi sampel adalah buah pare yang kulitnya berwarna hijau muda yang diperoleh dari Pasar Boloh, Toroh, Grobogan, Jawa Tengah, selanjutnya dicuci dengan 10 L akuades. Ekstraksi membutuhkan bahan seperti serbuk pare yang telah halus, etanol 96% serta akuades. Fraksinasi membutuhkan bahan seperti ekstrak etanol buah pare, etanol 96%, etil asetat, n-heksana serta akuades. Uji sitotoksik membutuhkan bahan seperti sel kanker payudara MCF-7 koleksi Laboratorium Kultur Sel Mamalia Fakultas Farmasi UMS, SDS (sodium dodesil sulfat), PBS (phosphate buffer saline), akuades, media kultur DMEM, tripsin-EDTA (tripsin 0,025%), DMSO serta larutan MTT. Skrining fitokimia membutuhkan bahan berupa ekstrak etanol, fraksi etanol-air, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana, fase gerak (etil asetat dan n-heksana), reagen semprot (sitroborat, Liebermann Burchard, anisaldehyd-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Dragendorff, dan FeCl<sub>3</sub>).

### **Preparasi sampel**

Buah pare ditimbang lalu dicuci dengan akuades sebanyak 10 L hingga bersih dari pengotor seperti debu dan tanah. Buah pare kemudian dibelah dan dihilangkan bijinya. Buah pare selanjutnya dipotong menjadi berbentuk dadu dengan ukuran ±1x1 cm dengan tujuan untuk mempercepat dan mempermudah proses pengeringan, selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C selama 6 jam. Potongan buah pare yang telah kering selanjutnya dibuat serbuk dengan menggunakan blender. Serbuk buah pare disimpan dalam plastik kedap udara lalu

diletakkan pada kulkas dengan suhu 4°C (Budrat and Shotipruk, 2008).

### **Ekstraksi**

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan pelarut etanol 80% dengan perbandingan pelarut 1:4 dalam volume 2 L. Proses ekstraksi dan remaserasi masing-masing berlangsung selama 4 hari. Evaporasi dilakukan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 80°C sampai pelarutnya menguap sempurna, penguapan yang sempurna ditandai dengan berhentinya tetesan pelarut yang tertampung dalam rotary evaporator. Penguapan dilanjutkan di atas waterbath selama 9-14 hari untuk mendapatkan ekstrak yang lebih kental. Kekentalan tersebut dapat dilihat dari viskositas ekstrak saat cawan porselin yang berisi ekstrak dibalik dan ekstrak tidak tumpah/mengalir.

### **Fraksinasi**

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode partisi cair-cair. Sebanyak 10 g ekstrak etanol dilarutkan dalam 25 mL akuades ditambah etanol 96% 10 mL pada cawan porselin di atas waterbath. Larutan ekstrak dimasukkan dalam corong pisah lalu ditambahkan etanol 96% sebanyak 25 mL dan 25 mL akuades sehingga volume akhir larutan ekstrak adalah 85 mL. Pemisahan yang pertama kali dilakukan dengan pelarut n-heksana sebanyak 50 mL, kemudian digojok dan ditampung dalam Erlenmeyer 250 mL. Penambahan n-heksana dilakukan sampai 4 kali. Fraksinasi yang kedua menggunakan pelarut etil asetat. Sisa larutan ekstrak etanol yang sudah selesai digojok dengan pelarut n-heksana kemudian ditambahkan 50 mL etil asetat, dan diulangi sampai 4 kali. Etanol dan etil asetat saat dicampurkan tidak menunjukkan adanya pemisahan, agar pemisahan terlihat jelas,

ditambahkan 50 mL akuades lalu digojog dan ditampung dalam Erlenmeyer yang berbeda. Evaporasi dilakukan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60-80°C. Fraksi n-heksana mampu mengental dengan sempurna tanpa perlu diuapkan di atas waterbath, sedangkan fraksi etil asetat dan etanol-air perlu mendapatkan perlakuan di atas waterbath selama 1-3 jam untuk mendapatkan fraksi yang lebih kental. Seluruh fraksi ditampung dalam botol coklat, ditutup rapat dan disimpan dalam suhu ruangan.

#### **Uji Sitotoksik dengan Metode MTT Assay**

Uji sitotoksik diawali dengan proses panen sel. Panen kultur sel dilakukan saat sudah mencapai 80% konfluen. Kultur sel dikatakan 80% konfluen saat sudah tumbuh merata pada permukaan plate dan membentuk monolayer. Proses sel selanjutnya adalah perhitungan sel yang diawali dengan pengambilan 10 µL sel lalu dimasukkan ke dalam hemasitometer kemudian dilakukan perhitungan sel di bawah mikroskop. Sel kemudian dipindahkan ke conical tube sesuai dengan hasil perhitungan sel selanjutnya ditambahkan media DMEM hingga 10 mL. Sebanyak 100 µL suspensi sel MCF-7 dipindahkan ke dalam plate 96 well (disisakan 4 sumuran kosong sebagai kontrol media) lalu diinkubasi selama 7 hari (Junedi et al., 2009). Kontrol positif yang digunakan adalah Methotrexat 10 mM (Fodor et al., 2016). Kontrol perlakuan mengandung 5 seri konsentrasi ekstrak etanol 80% buah pare (15,63; 31,25; 62,5; 125; 250 µg/mL), fraksi etanol-air, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana (1; 2; 4; 8; 16 µg/mL), media DMEM serta sel MCF-7. Larutan kontrol perlakuan dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak etanol dan ketiga fraksi dalam tabung mikro 1,5 mL, selanjutnya dilarutkan dengan 100 µL larutan DMSO hingga larut sempurna kemudian

ditambahkan 900 µL media DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) yang mengandung penisilin-streptomisin 1 mL dan 10% (10 mL) FBS (Fetal Bovine Serum). Inkubasi dilakukan selama 48 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C.

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT. Sel yang masih hidup akan bereaksi dengan reagen MTT dengan membentuk warna ungu. Pembacaan absorbansi dilakukan menggunakan alat ELISA reader dengan λ 550 nm. Hasil absorbansi yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase sel hidup. Berdasarkan data persentase sel hidup dibuat plot antara log konsentrasi sampel dengan persentase sel hidup sehingga diperoleh parameter A, B, r dari persamaan regresi linier  $y=Bx+A$ . Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari antilog x persamaan regresi linier tersebut (Putri, 2013).

#### **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi golongan senyawa yang terkandung di dalam sampel dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase diam yang digunakan adalah silika F254. Fase gerak yang digunakan dalam ekstrak etanol, fraksi etanol-air serta fraksi etil asetat adalah etil asetat:n-heksana dengan perbandingan 7:3 sedangkan fraksi n-heksana menggunakan fase gerak n-heksana:etil asetat dengan perbandingan 8:2. Golongan senyawa yang akan dideteksi antara lain flavonoid (sitroborat) (Andersen and Markham, 2005), steroid (Lieberman-Burchard) (Farnsworth, 1966), fenolik dan tannin (FeCl<sub>3</sub>) (Wardhani and Sulistyani, 2012), alkaloid (Dragendorff) dan terpenoid (anisaldehid-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Saifudin, 2014). Skrining fitokimia yang ideal dilakukan dalam kondisi lempeng KLT ukurannya sama dan mendapatkan perlakuan yang sama, penotolan sampel dan proses elusi KLT dilaksanakan secara bersamaan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi Sampel

Bobot total buah pare segar yang digunakan adalah  $\pm 10$  kg dan setelah dicuci, dibuang bijinya kemudian dipotong menjadi potongan yang lebih kecil, bobot daging buah pare sebesar 8,5 kg. Biji pare dibuang karena biji pare tidak termasuk dalam sampel penelitian. Pemotongan buah pare dengan ukuran yang kecil bertujuan untuk memperluas permukaan pare serta untuk memudahkan saat proses pengeringan. Bobot total simplisia yang diperoleh sebesar 498,57 g. Simplisia tersebut kemudian dihaluskan menggunakan blender, proses ini bertujuan agar senyawa-senyawa yang terkandung di dalam buah pare dapat terekstraksi dengan maksimal dengan semakin luasnya permukaan simplisia. Bobot serbuk pare yang diperoleh adalah 477,84 g. Terdapat perbedaan jumlah bobot antara simplisia dan serbuk pare, hal ini dikarenakan selama proses pembuatan serbuk terdapat serbuk yang saat dituangkan ke dalam wadah.

### Ekstraksi

Serbuk pare selanjutnya diekstraksi dan diperoleh bobot total ekstrak sebesar 70,80 g dengan rendemen ekstrak sebesar 14,82%. Nilai rendemen ekstrak etanol 80% buah pare 5 kali lebih banyak jika dibandingkan dengan rendemen ekstrak etanol 96% buah pare (Afifah, 2017). Perbedaan nilai rendemen mungkin disebabkan oleh perbedaan pelarut, perbedaan volume pelarut serta perbedaan lamanya ekstraksi. Ekstrak etanol 80% memiliki karakteristik berwarna coklat kehitaman dan sangat lengket. Ekstrak disimpan di dalam eksikator, karena saat disimpan di dalam kulkas ekstrak akan mengeras dan sukar untuk dilarutkan.

### Fraksinasi

Ekstrak etanol buah pare selanjutnya difraksinasi. Total volume fraksi etanol-air 75 mL, fraksi etil asetat 250 mL serta fraksi n-heksana 200 mL. Volume fraksi etanol-air paling sedikit karena pada fraksi etanol-air volume yang digunakan hanya sebanyak 50 mL dan tidak dilakukan penambahan secara

berulang. Meningkatnya volume fraksi etil asetat, hal ini disebabkan karena etil asetat dan etanol saat disatukan bercampur sempurna karena keduanya memiliki kepolaran yang mirip, sehingga ada sebagian etanol yang ikut tercampur bersama etil asetat. Total bobot fraksi etanol-air, etil asetat serta n-heksana setelah dievaporasi adalah 9,8 g; 0,08 g dan 0,12 g. Persentase rendemen dari masing-masing fraksi yaitu, fraksi etanol 98%, fraksi etil asetat 0,8% dan fraksi n-heksana 1,2%. Masing-masing fraksi memiliki karakteristik yang berbeda. Fraksi etanol memiliki sifat yang sedikit berbeda dengan ekstrak etanol. Fraksi etanol kental namun tidak lengket seperti ekstrak etanol. Fraksi etil asetat berwarna coklat jingga dengan tekstur encer. Fraksi n-heksana berwarna hijau dengan tekstur encer.

### Uji Sitotoksik

Sel yang telah mendapatkan perlakuan ekstrak serta fraksi, diinkubasi, selanjutnya dilakukan uji sitotoksik. Uji sitotoksik memiliki prinsip reduksi garam kuning tetrazolium MTT dengan mekanisme reduktase. Reagen MTT akan bereaksi dengan suksinat dihidrogenase yang berasal dari mitokondria sel hidup yang mengakibatkan pecahnya cincin suksinat tetrazolium. Sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa hanya kontrol media saja yang berwarna kuning, dan sisanya berwarna ungu serta ungu kekuningan. Hasil ini menunjukkan bahwa sel yang mendapatkan perlakuan dan hasil uji MTT-nya berwarna ungu maka tidak terdapat adanya kematian sel, namun pada sel yang mendapatkan perlakuan dan hasil uji MTT-nya berwarna ungu kekuningan menunjukkan adanya kematian sel namun tidak maksimal. Persentase sel hidup dihitung kemudian dimasukkan ke dalam grafik dan dibuat persamaan regresi liniernya (lampiran), dari seluruh perlakuan tidak ada yang memiliki persentase sel hidup dibawah 50%, sehingga hanya bisa ditentukan persentase sel yang mati.

**Tabel 1. Persentase sel hidup ekstrak etanol buah pare, fraksi etanol, etil asetat serta n-heksana pada sel kanker payudara MCF-7**

Sampel	Konsentrasi tertinggi	Persentase sel hidup (%)	Persentase penghambatan (%)
Ekstrak etanol 80%	250 µg/mL	124,03	-
Fraksi etanol	16 µg/mL	77,20	22,80
Fraksi etil asetat	16 µg/mL	56,13	43,87
Fraksi n-heksana	16 µg/mL	77,20	22,80
Kontrol positif metotreksat	10 µM	71,70	28,30

Hasil perhitungan persentase sel hidup (Tabel 1) sesuai dengan hasil dokumentasi mikroskopis, terlihat bahwa pada gambar yang mendapat perlakuan ekstrak tidak menunjukkan adanya kematian sel, namun pada sel yang mendapatkan perlakuan fraksi etanol, etil asetat, n-heksana serta kontrol positif metotreksat menunjukkan adanya kematian sel. Rendahnya aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 80% buah pare berbanding terbalik dengan penelitian Vishwanath et al, yang menunjukkan bahwa ekstrak 50% buah pare memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat poten pada sel kanker payudara MCF-7 (Vishwanath et al., 2015). Perbedaan ini dapat disebabkan oleh perbedaan konsentrasi pelarut yang digunakan. Semakin rendah konsentrasi etanol yang digunakan maka aktivitas sitotoksiknya akan semakin baik. Ekstrak etanol 80% pada penelitian sebelumnya oleh Raina et al mengandung senyawa fenolik yang cukup tinggi sehingga cenderung lebih cocok digunakan untuk uji aktivitas antioksidan (Raina et al., 2016). Potensi aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat

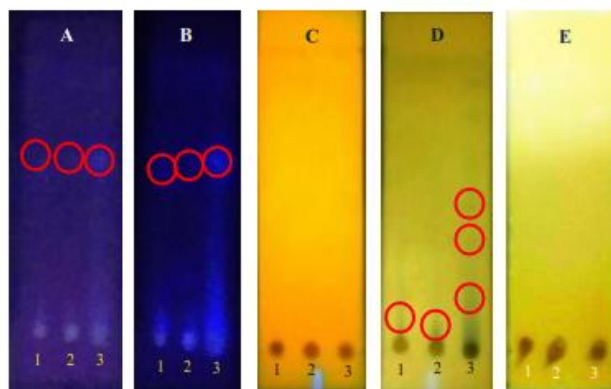
berbanding lurus dengan penelitian sebelumnya oleh Zahrah et al yang membahas tentang aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat ekstrak etanol 70% buah pare terhadap sel HeLa dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 22,19 µg/mL (Zahrah et al, 2018). Fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambatan sel yang paling baik diantara sampel lainnya. Taikuguasin C, taikuguasin D serta charantagenin D merupakan isolat ekstrak etanol buah pare yang memiliki aktivitas sitotoksik dengan struktur senyawa yang cenderung bersifat semi polar (Liaw et al., 2015 dan Wang et al., 2012). Ketiga isolat tersebut akan lebih tertarik dalam fraksi etil asetat karena fraksi etil asetat juga bersifat semi polar. Tingginya aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat dapat disebabkan karena adanya senyawa-senyawa isolat yang memiliki aktivitas sitotoksik.

#### Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2. Larutan ekstrak etanol dan larutan fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol-air selanjutnya dilakukan skrining fitokimia.

**Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat serta fraksi n- heksana buah pare**

Pereaksi	Warna hasil deteksi sinar tampak				Senyawa
	Ekstrak etanol	Fraksi etanol-air	Fraksi etil asetat	Fraksi n-heksana	
Sitroborat	Kuning	Kuning	Kuning	Hijau	Flavonoid
Lieberman-burchard	Biru	Biru	Biru	Biru	Steroid
Dragendorff	-	-	-	Coklat	Alkaloid
Anisaldehyd-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ungu	Ungu	Ungu	Ungu	Terpenoid
FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	Hitam	Fenol dan tanin



**Gambar 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol (1), fraksi etanol (2) dan fraksi etil asetat (3) dengan fase gerak etil-asetat: n-heksana (7:3)**

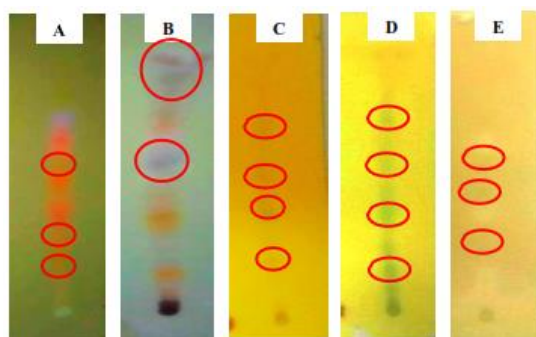
Keterangan: (A) pereaksi sitroborat, (B) pereaksi Lieberman-burchard, A dan B diamati pada UV 366 nm. (C) pereaksi Dragendorff, (D) pereaksi anisaldehyd- $H_2SO_4$ , (E) pereaksi  $FeCl_3$ . C, D, dan E diamati di bawah sinar UV 254 nm

Berdasarkan hasil skrining fitokimia (Tabel 2), fraksi n-heksana mengandung 5 golongan senyawa dan ekstrak etanol, fraksi etanol-air serta fraksi etil asetat hanya mengandung 3 golongan senyawa.

Dokumentasi skrining fitokimia ekstrak etanol, fraksi etanol dan fraksi etil asetat (Gambar 1) menunjukkan adanya spot yang terdeteksi pada pereaksi sitroborat (A), Lieberman-burchard (B) dan anisaldehyd- $H_2SO_4$  (D). Kesimpulannya ekstrak etanol, fraksi etanol dan fraksi etil asetat mengandung golongan senyawa flavonoid, steroid dan terpenoid. Hasil penelitian ini kurang sesuai dengan penelitian sebelumnya (Supraja and

Usha, 2013 dan Ainia, 2017), karena tidak ditemukan golongan senyawa alkaloid pada ekstrak etanol. Komposisi fase gerak yang digunakan adalah etil asetat serta n-heksana dengan perbandingan 7:3, sehingga spot hasil elusi ekstrak etanol dan fraksi etanol sangat tipis dan tidak sejelas spot elusi fraksi etil asetat.

Dokumentasi skrining fitokimia fraksi n-heksana (Gambar 2) menunjukkan bahwa terdapat spot elusi yang tampak saat plat disemprot dengan pereaksi sitroborat (A), Lieberman-burchard (B), dragendorff (C), anisaldehyd- $H_2SO_4$  (D) dan  $FeCl_3$  (E). Kesimpulannya fraksi n-heksana mengandung



**Gambar 2. Hasil skrining fitokimia fraksi n-heksana dengan fase gerak n-heksana:etil-asetat (8:2)**

Keterangan : (A) pereaksi sitroborat, (B) pereaksi Lieberman-burchard, (C) pereaksi Dragendorff, (D) pereaksi anisaldehyd- $H_2SO_4$ , (E) pereaksi  $FeCl_3$ . A,B,C, D dan E diamati di bawah UV 254

5 golongan senyawa antara lain flavonoid, steroid, alkaloid, terpenoid, fenol dan tanin. Fraksi n-heksana mengandung lebih banyak senyawa karena n-heksana merupakan pelarut yang pertama kali difraksinasi sehingga lebih banyak senyawa yang terlebih dahulu tertarik di dalamnya dibandingkan fraksi yang lain. Tingginya aktivitas sitotoksik tidak tergantung pada banyaknya golongan senyawa yang terkandung.

### KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% buah pare memiliki aktivitas sitotoksik yang tidak poten. Fraksi

etil asetat mempunyai aktivitas sitotoksik yang paling besar dengan persentase penghambatan 43,87% sedangkan fraksi etanol dan n-heksana memiliki persentase penghambatan yang sama terhadap populasi sel MCF-7 yaitu 22,80%.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada laboran Laboratorium Kultur Sel Mamalia, Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UMS, Ibu Rela Religia, A.Md, yang telah mendampingi dan banyak membantu selama jalannya penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Afifah U.N., 2017, Uji Aktivitas Atidiabetes Ekstrak Etanol 96% Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan, *Publikasi Ilmiah*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Ainia N., 2017, Uji Fitokimia Infusa Pekat Buah Pare (*Momordica charantia* L.) dan Pengaruh Lama Terapi dengan Variasi Dosis Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan, *Skripsi*, Central Library of Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang
- Andersen Ø.M. and Markham K.R., 2005, Flavonoids: Chemistry, *Biochemistry and Applications*, CRC Press Taylor & Francis Group, New York.
- Arnani M., 2018, Obat Kanker Dihentikan Penjaminannya, Ini Jawaban BPJS Kesehatan - Kompas.com, Kompas Media Terdapat di: <https://megapolitan.kompas.com/read/2018/07/18/07000081/obat-kanker-dihentikan-penjaminannya-ini-jawaban-bpjs-kesehatan> [Diakses pada February 5, 2019].
- Budrat P. and Shotipruk A., 2008, Extraction of Phenolic Compounds from Fruits of Bitter Melon (*Momordica charantia*) with Subcritical Water Extraction and Antioxidant Activities of These Extracts, *Chiang Mai Journal of Science*, 35 (1), 123–130.
- Comşa Ş., Cîmpean A.M. and Raica M., 2015, The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 Years of Experience in Research, *Anticancer Research*, 35 (6), 3147–3154.
- Dandawate P.R., Subramaniam D., Padhye S.B., Anant S., Physiology I., City K., City K., City K. and Campus A., 2017, Bitter Melon: A Panaceae for Inflammation and Cancer, *HHS Public Access*, 14 (2), 913–945.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2013, *Formularium Nasional 2013*, Dalam Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, pp. 1689–1699.



- Farnsworth N.R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*
- Fodor, T., Szántó, M., Abdul-Rahman, O., Nagy, L., Dér, Á., Kiss, B. and Bai, P., 2016. Combined treatment of MCF-7 cells with AICAR and methotrexate, arrests cell cycle and reverses Warburg metabolism through AMP-activated protein kinase (AMPK) and FOXO1. *PLoS One*, 11(2), p.e0150232.
- Chen, C.R., Liao, Y.W., Wang, L., Kuo, Y.H., Liu, H.J., Shih, W.L., Cheng, H.L. and Chang, C.I., 2010. Cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* and their cytoprotective activity in tert-butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity of HepG2 cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(12), pp.1639-1642.
- Huang H.L., Hong Y.W., Wong Y.H., Chen Y.N., Chyuan J.H., Huang C.J. and min Chao P., 2008, Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Inhibits Adipocyte Hypertrophy and Down Regulates Lipogenic Gene Expression in Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Rats, *British Journal of Nutrition*, 99 (2), 230–239.
- Jia S., Shen M., Zhang F. and Xie J., 2017, Recent Advances in *Momordica charantia*: Functional Components and Biological Activities, *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (12)
- Junedi S., Sarmoko, Ikawati M. and Meiyanto E., 2009, *Prosedur Tetap Panen Sel*, (CCRC) Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM, 1–3.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2018, *Panduan Pelaksanaan Hari Kanker Sedunia 2018*, Jakarta.
- Liaw C.C., Huang H.C., Hsiao P.C., Zhang L.J., Lin Z.H., Hwang S.Y., Hsu F.L. and Kuo Y.H., 2015, 5 $\beta$ ,19-Epoxycurcubitane Triterpenoids from *Momordica charantia* and Their Anti- Inflammatory and Cytotoxic Activity, *Planta Medica*, 81 (1), 62–70.
- Putri H., 2013, *Protokol Uji Sitotoksik Metode MTT*, CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center) Fakultas Farmasi UGM, 1–8.
- Raina K., Kumar D. and Agarwal R., 2016, Seminars in Cancer Biology Promise of Bitter Melon (*Momordica charantia*) Bioactives in Cancer Prevention and Therapy, *Seminars in Cancer Biology*, 40–41, 116–129. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2016.07.002>.
- Richmond R.A., Vuong Q. V. and Scarlett C.J., 2017, Cytotoxic Effect of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Ethanol Extract and Its Fractions on Pancreatic Cancer Cells in vitro, *Exploratory Research and Hypothesis in Medicine*, 2 (4), 1–11. Terdapat di: <http://www.xiahepublishing.com/ArticleFullText.aspx?sid=2&jid=2&id=10.14218%2FE RHM.2017.00032>.
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*, Deepublish.
- Sudoyo A., 2017, *Melantun Kebersamaan Berantas Kanker*, Yayasan Kanker Indonesia, 69.

- Supraja P. and Usha R., 2013, Antibacterial and Phytochemical Screening from Leaf and Fruit Extracts of *Momordica charantia*, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*
- Thomasset S.C., Berry D.P., Garcea G., Marczylo T., Steward W.P. and Gescher A.J., 2007, Dietary Polyphenolic Phytochemicals - Promising Cancer Chemopreventive Agents in Humans? A Review of Their Clinical Properties, *International Journal of Cancer*, 120 (3), 451–458.
- Vishwanath, Shobha Cr P., Mn S., Prashant A. and Rangaswamy C., 2015, In Vitro Anti - Cancer Activity of Ethanolic Extract of *Momordica charantia* on Cervical and Breast Cancer Cell Lines, *International Journal of Health and Allied Sciences*, 4, 210–7.
- Wang X., Sun W., Cao J., Qu H., Bi X. and Zhao Y., 2012, Structures of New Triterpenoids and Cytotoxicity Activities of the Isolated Major Compounds from the Fruit of *Momordica charantia* L., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (15), 3927–3933.
- Wardhani L.K. and Sulistyani N., 2012, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2 (1), 1–16.
- Yin, J., Zhang, H. and Ye, J., 2008. Traditional Chinese medicine in treatment of metabolic syndrome. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 8(2), pp.99-111.
- Zahrah A., Kusmardi and Sunaryo H., 2018, Uji Sitotoksitas Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 70% Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Sel HeLa, *Farmasains*, Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka