

Efek antioksidan dan antikanker ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) secara *in vitro*

**Asril Burhan¹, Andi Nur Aisyah¹, Akbar Awaluddin², Zulham¹,
Burhanuddin Taebe², Abdul Gafur¹**

¹Akademi Farmasi Kebangsaan Makassar

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

Corresponding author email: asrilburhan@gmail.com

Abstrak

Murbei merupakan salah satu obat yang penting didalam pengobatan tradisional Cina. Murbei mengandung berbagai macam senyawa diantaranya fenol dan flavanoid yang umumnya berfungsi sebagai antioksidan alami dan juga memiliki fungsi antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik, aktivitas antioksidan dan antikanker ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.). Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Penetapan kadar fenolik menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dan pengujian aktivitas antikanker menggunakan metode MTT terhadap sel kanker WIDR dan sel vero. Hasil pengujian menunjukkan kadar total fenolik ekstrak batang murbei sebesar 35,9%. Nilai aktivitas antioksidan ekstrak batang murbei adalah 83,18 µg/mL. Aktivitas antikanker pada sel WIDR menunjukkan nilai IC₅₀ 71,24 µg/ml dan pada sel vero memiliki nilai IC₅₀ 154,241 µg/ml. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol batang murbei (*Morus alba* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan berpotensi sebagai antikanker alami yang bekerja selektif terhadap sel kanker.

Kata kunci : Murbei (*Morus alba* L.), batang, IC₅₀, antioksidan, antikanker

Antioxydant and anticancer effect of mulberry (*Morus alba* L.) stem extract in vitro

Abstract

*Mulberry is one of the important medicines in traditional Chinese medicine. Mulberry contains a variety of compounds including phenols and flavonoids which generally function as natural antioxidants and also have anticancer functions. This study aims to determine phenolic levels, antioxidant activity and anticancer of mulberry stem extract (*Morus alba* L.). Extracts were made by maceration using ethanol as a solvent. Determination of phenolic levels using the Folin-Ciocalteu reagent, testing of antioxidant activity using the ABTS method and testing of anticancer activity using the MTT method against WIDR cancer cells and vero cells. The test results showed total phenolic levels of mulberry stem extract amounted to 35.9%. The antioxidant activity value of mulberry stem extract was 83.18 µg / mL. Anticancer activity in WIDR cells showed IC₅₀ values 71.24 µg / ml and vero cells had IC₅₀ values 154.224 µg / ml. It can be concluded that the ethanol extract of mulberry stem (*Morus alba* L.) has a strong antioxidant activity and has the potential as a natural anticancer that works selectively against cancer cells.*

Keywords: *Mulberry (*Morus alba* L.), stem extract, IC₅₀, antioxidant, anticancer*

Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian utama di seluruh dunia. Angka penderita kanker diperkirakan akan mengalami peningkatan tiap tahun dan pada tahun 2030 akan mencapai 23,6 juta kasus baru (Kemenkes RI, 2016).

Salah satu senyawa yang umumnya dimiliki tumbuhan adalah senyawa fenolik. Beberapa golongan senyawa fenolik antara lain adalah flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan tokoferol (Gupita dan Rahayuni, 2012). Beberapa efek senyawa fenolik diantaranya adalah sebagai antioksidan dan antikanker. Senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan di antaranya flavonoid, alkaloid, tanin, dan juga fenolik. Kuntorini dan Astuti (2010) menyebutkan bahwa efek antioksidan dari vitamin C, vitamin E, karoten, golongan senyawa fenolat (terutama polifenol dan flavonoid) berpotensi mengurangi resiko penyakit degenerative (Kuntorini dan Astuti, 2010). Antioksidan juga diduga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, karena kesamaan mekanisme hambatan dalam tingkat seluler (Anam, dkk., 2014). Kandungan yang diduga memiliki aktivitas antikanker seperti senyawa flavonoid yang bekerja dengan penghambatan inaktivasi karsinogenesis, inhibisi siklus sel, penghambatan angiogenesis, proliferasi sel dan mekanisme apoptosis (Ahmad, dkk., 2014; Meiyanto, dkk., 2008).

Salah satu tanaman yang digunakan masyarakat sebagai obat adalah murbei (*Morus Alba L.*) Murbei adalah salah satu tanaman yang berpotensi untuk mengobati kolesterol darah, kencing manis, dan hipertensi (Mallaleng et al., 2011). Hasil penelitian dilakukan oleh Burhan dan Aisyah (2018) mengenai uji toksisitas ekstrak batang murbei dengan berbagai pelarut dengan nilai IC_{50} untuk ekstrak etanol sebesar 2,8045 $\mu\text{g/mL}$, menunjukkan potensi batang murbei sebagai anti kanker. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak batang murbei dengan metode ABTS dan menguji aktivitas anti kanker dengan

menggunakan sel WIDR dan sel vero.

Metode Penelitian

Tahapan pada penelitian ini adalah penyiapan bahan, ekstraksi, skrining fitokimia, pengujian total fenol, pengujian antioksidan dengan ABTS dan pengujian antikanker terhadap sel WIDR dan sel vero.

Penyiapan bahan. Penyiapan bahan dimulai dengan pengambilan batang murbei (*Morus alba L.*), dan pengolahan bahan. Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol, kemudian ekstrak cair di *rotary evaporator* hingga mendapatkan ekstrak kental.

Skrining Fitokimia. Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan alkaloid, flavanoid, tanin, fenol dan saponin.

Pengujian kadar total fenol. Pengujian total fenol dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis dengan pereaksi Follin-Ciocalteu dengan panjang gelombang 714 nm dengan pembanding asam galat

Pengujian Aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode peredaman ABTS. Sampel dibuat seri konsentrasi 40, 80, 120 dan 160 ppm. Sampel kemudian dicampurkan dengan ABTS dan di diamkan selama 12 jam. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 750 nm. Pembanding yang digunakan dalam percobaan ini ialah vitamin C.

Pemeriksaan aktivitas antikanker. Pengujian aktivitas antikanker dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel WIDR dan sel vero. Sel dimasukkan ke dalam sumuran dan untuk melihat distribusi sel dilakukan pengamatan di bawah mikroskop *inverted*. Sel diinkubasi minimal 4 jam dan setelah sel telah siap, *well plate* diambil dari inkubator dan kemudian media sel dibuang. Selanjutnya dilakukan pencucian sel dengan memasukan 100 μL PBS ke dalam sumuran yang telah terisi sel, lalu dibuang. Kemudian sampel dimasukan dalam sumuran (*triplo*) dan diinkubasi dalam inkubator CO_2 5% selama 24 jam pada suhu 37°C . Reagen MTT 100 μL ditambahkan ke dalam sumuran.

Suspensi sel diinkubasikan kembali selama 2-4 jam dalam inkubator CO₂. SDS 100 µL ditambahkan saat *formazan* telah jelas terbentuk dan dibungkus kertas. Kemudian disimpan selama semalam pada suhu kamar di tempat yang gelap. Setelah inkubasi, dilakukan pembacaan serapan dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Hasil dan Pembahasan

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol dengan nilai rendemen 4,91 %. Pada percobaan yang dilakukan oleh Burhan dan Aisyah (2018), menunjukkan hasil rendemen yang diperoleh pada ekstraksi batang murbei pada 3 pelarut yakni n-Hesan, Etil Asetat dan Etanol 70%, yakni 0,34%, 0,859% dan 1,51%. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut polar lebih besar menghasilkan rendemen, tetapi banyaknya rendemen yang didapatkan belum tentu berbanding lurus dengan kualitas ekstrak yang diperoleh, sehingga perlu dilakukan penentuan lebih lanjut.

Skrining senyawa fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung didalam ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.). Skrining fitokimia untuk ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) yang dilakukan diantaranya uji fenol, alkaloid, flavanoid tanin dan saponin. Hasil skrining fitokimia ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining fitokimia ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.)

Kandungan Kimia	Ekstrak Batang Murbei
Alkaloid	+
Fenol	+
Flavonoid	+
Tanin	-
Saponin	+

Keterangan :

+ = Mengandung senyawa yang dilakukan pengujian

- = Tidak mengandung senyawa yang dilakukan pengujian

Dari hasil skrining fitokimia ekstrak batang murbei mengandung senyawa

flavanoid, alkaloid, fenol dan saponin. Adanya kandungan senyawa flavonoid menyebabkan ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) memiliki potensi antioksidan. Hal ini dikarenakan senyawa flavanoid memiliki banyak gugus hidroksi (OH), atom hidroksi dapat didonorkan pada senyawa radikal yang tidak stabil sehingga senyawa radikal dapat stabil. Senyawa alkaloid juga memiliki gugus OH sehingga dapat juga mendonorkan kepada senyawa radikal begitu pula dengan senyawa fenol.

Uji total fenolik dilakukan dengan uji kuantitatif menggunakan metode Folin–Ciocalteu dan pembanding asam galat. Asam galat digunakan karena asam galat merupakan turunan dari asam hidrosibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana dan juga sebagai standar yang stabil dan murni (Rahmawati, 2009). Dari uji total fenolik didapatkan ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) sebesar 35,9%. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Radojkovic *et al.* (2012), bahwa murbei memiliki kadar fenol yang besar. Semakin besar total fenol yang ditunjukkan maka semakin besar potensi sebagai antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat), dimana aktivitas antioksidan diketahui dengan melihat seberapa besar IC₅₀ yang dihasilkan oleh ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) dalam meredam senyawa radikal bebas ABTS. IC₅₀ menunjukkan peredaman 50% terhadap radikal bebas, semakin kecil IC₅₀ yang didapatkan maka semakin besar potensi ekstrak tersebut sebagai antioksidan. Pembanding yang digunakan adalah vitamin C sebagai mana diketahui bahwa vitamin C adalah senyawa yang digunakan sebagai salah satu antioksidan alami.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) terhadap sel kanker WIDR dan sel normal vero.

Konsentrasi (ppm)	% kematian		Nilai IC ₅₀ (µg/ml)	
	Sel WIDR	Sel normal vero	Sel WIDR	Sel normal vero
7,8125	22,89744266	1,7337		
15,625	30,49037701	8,3576		
31,25	36,07962035	18,3033		
62,5	44,04165568	35,2965		
125	58,41022937	43,8393	71,24044	154,24106
250	75,03295544	66,2123		
500	93,45504877	70,2157		
1000	97,66016346	88,3536		

Pengukuran Vitamin C mendapatkan hasil IC₅₀ sebesar 1,02 µg/mL. Pengukuran IC₅₀ ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) didapatkan hasil sebesar 83,18 µg/mL. Menurut Blois (1985), suatu senyawa memiliki antioksidan yang sangat kuat bila nilai IC₅₀ < 50 ppm, kuat bila IC₅₀ bernilai 50 - 100 ppm, sedang bila IC₅₀ bernilai 101 - 150 ppm, dan lemah bila

IC₅₀ bernilai 151 – 200 ppm. Berdasarkan klasifikasi diatas, ekstrak etanol batang murbei (*Morus alba* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sedang.

Uji aktivitas antikanker ekstrak batang murbei dilakukan dengan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) dengan menggunakan sel WIDR dan sel Vero. Aktivitas antikanker diketahui dengan melihat nilai IC₅₀. IC₅₀ diperoleh dengan menggunakan analisis probit dan regresi linear, analisis probit biasanya digunakan untuk mengetahui respon subjek yang diteliti. Hasil perhitungan yang didapatkan dalam pengujian aktivitas antikanker ekstrak murbei (*Morus alba* L.) dengan sel WIDR dan sel Vero dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil uji toksistas ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) terhadap sel WIDR dan sel vero menunjukkan nilai IC₅₀ untuk sel WIDR 71,24 µg/ml dan untuk sel vero memiliki nilai IC₅₀ 154,241 µg/ml. Penetapan batas toksik penelitian ini menggunakan kriteria *National Cancer Institute* (NCI) 2009 yang menyebutkan bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas apabila memiliki nilai IC₅₀ < 30 µg/ml, moderate aktif apabila memiliki

nilai IC₅₀ ≥ 30 µg/ml dan dikatakan tidak aktif apabila IC₅₀ >100 µg/ml. Hasil perhitungan nilai IC₅₀ didapatkan ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) terhadap sel kanker WIDR menunjukkan moderate aktif terhadap sel kanker WIDR dan ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) tidak aktif terhadap sel vero karena memiliki nilai IC₅₀ >100 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak batang murbei (*morus alba* L.) bekerja selektif pada sel WIDR.

Kesimpulan

Dapat disimpulkan bahwa ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) mengandung senyawa alkaloid, fenol, flavanoid dan saponin. Ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) berpotensi sebagai antioksidan dan sebagai antikanker yang bekerja selektif terhadap sel kanker.

Daftar Pustaka

- Ahmad, H., Suprianto., Marhamah., Rasmidar., 2014, Aktivitas Antikanker dan Antiproliferasi fraksi etanol sarang semut(*Myrmecodya pendans*) pada sel kanker lidah manusia SP-C1, Dentofasial, Vol. 13, No.1, 1-6
- Anam, S., Yuliet., Agus, R., Firmanita, D.,Dewi, R., Muhammad, S.Z., 2014, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Benalu Batu (*Begonia* sp.): ethnomedicine Suku Wana Sulawesi Tengah, Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, Vol.12 No.1, 10-16

- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181 : 199-1200
- Burhan A., Aisyah N.A. , 2018, skrining fitokimia dan penentuan LC50 dengan metode bslt (*Brine Shrimp Lethality Test*) ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) dengan variasi pelarut sebagai kandidat antikanker. *Jurnal ilmiah pharmacy*, 5(2), 159-167.
- Gupita, C.M, Rahayuni, A., 2012, Pengaruh berbagai pH Sari Buah Dan Suhu Pasteurisasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Tingkat Penerimaan Sari Kulit Buah Manggis, *Journal of Nutrition College*, Volume 1 No. 1
- Kemenkes RI., 2016, Pusat data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Kanker Payudara, Kemenkes RI, Jakarta.
- Kuntorini, E.M., Astuti, M.D., 2010, Penentuan Aktivitas Antioksi dan Dari Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak, fmipa.unlam.ac.id/.../vol-4- No-1_pp,-15-22
- Mallaleng, H.R., Purwaningtyas, U., Hermawati, R., Solichah, N., & Syah, F.Z.N. 2011. *Tanaman Obat untuk Penyakit Sindrom Metabolisme (Metabolic Syndrome Disease)*. Malang: Penerbit Universitas Negeri Malang (UM Press).
- Natioanal Cancer Institute (NCI), 2009, Measuring cancer death,Cited. (Online), (<http://www.cancer.gov/csr>), diakses 21 mei 2017.
- Radojkovic, M.M., Zekovic, Z.P., Vidovic, S.S., Kocar, D.D.,& Maskovic, P.Z., 2012, Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic and Flavanoid Contents of Mullberry (*Morus* spp. L., Moraceae) Ekstracts, *Hemijjska Insdusija Impact Factor*