

UJI SITOTOKSIK BEBERAPA SENYAWA MONO PARA HIDROKSI KALKON TERHADAP *CANCER CELL LINE* T47D

Retno Arianingrum, Indyah Sulisty Arty, Sri Atun

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta
Jl. Colombo No. 1 Yogyakarta 55281

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dari beberapa senyawa para hidroksi kalkon MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E terhadap sel kanker T47D. Senyawa MPHK disintesis dari derivat benzaldehida dan asetofenon dan derivatnya melalui reaksi kondensasi aldol silang dalam suasana asam. Pemisahan dan pemurnian senyawa kimia dilakukan dengan teknik rekristalisasi dengan pelarut yang sesuai. Identifikasi dan elusidasi struktur dilakukan dengan membandingkan data kromatografi lapis tipis (KLT) pada berbagai eluen dengan senyawa yang telah ditemukan sebelumnya, dan menggunakan analisis data spektrum IR. Masing-masing senyawa selanjutnya dilakukan uji sitotoksitasnya secara invitro terhadap sel T47D menggunakan metode *MTT assay*. Pengamatan perubahan morfologi sel juga diamati menggunakan mikroskop fase kontras. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, dan MPHK D memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *cancer cell line* T47D, sedangkan senyawa MPHK E tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Sifat toksisitas tertinggi dimiliki oleh MPHK A dengan harga LC_{50} sebesar 66,44 $\mu\text{g/mL}$. Adanya gugus hidroksil memberikan kontribusi pada peningkatan efek sitotoksik.

Kata kunci : senyawa MPHK, sitotoksik , dan sel T47D

Abstract

The aim of this research was to study cytotoxic activity from some mono para hydroxy compounds (MPHC) i.e. MPHC A, MPHC B, MPHC C, and MPHC D against T47D cancer cell lines. Those compounds were synthesized from benzaldehyde derivatives and acetophenone derivatives through cross aldol reaction under acid condition. Separation and purification of these compounds were conducted by recrystallization technique using suitable eluent. Identification and structure elucidation was done by comparing the data of thin-layer chromatography (TLC) with marker (compounds that have been found previously), and also used the data of IR spectrum. Each compound then was performed cytotoxicity test by in vitro against T47D cells using MTT assay. Observation of cell morphological changes was observed using phase contrast microscopy. The results showed that the compound MPHC A, MPHC B, MPHC C, and MPHC D had cytotoxic activity against T47D cancer cell line, while the compound MPHC E did not have cytotoxic activity. The highest toxicity was MPHC A with $LC_{50}=66.44 \mu\text{g/mL}$. The presence of hydroxyl groups contributed to the enhancement of cytotoxic effect.

Key words : MPHC compounds , cytotoxic, and T47D cell.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, diikuti dengan proses invasi ke jaringan sekitar dan penyebaran (metastatis) ke bagian tubuh yang lain. Sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (King, 2000).

Beberapa metode penyembuhan penyakit kanker saat ini telah diupayakan, antara lain pembedahan, penyinaran, imunoterapi, dan kemoterapi, namun masing-masing mempunyai kelemahan, sehingga tingkat keberhasilannya masih rendah. Masalah-masalah tersebut mendorong perlunya usaha menemukan antikanker baru yang lebih spesifik dan lebih sensitif (Bohm, 1998; dan Goldie, 2001). Beberapa strategi dalam penemuan antikanker baru telah dilakukan, diantaranya melalui isolasi senyawa aktif dari bahan alam, pencarian senyawa antimetabolit untuk menghambat pertumbuhan sel kanker secara spesifik, dan sintesis senyawa organik yang dikenal memiliki aktivitas antikanker.

Beberapa senyawa golongan flavonoid dan terpenoid telah diketahui memiliki aktivitas antitumor (Mathivadhani *et.al.* 2007). Kalkon (1,3-difenilpropen-1-on) merupakan senyawa yang termasuk dalam famili flavonoid dan banyak diteliti sebagai *therapeutic*, khususnya sebagai obat antitumor. Bahkan disebutkan oleh karena

aktivitasnya sebagai "*high therapeutic index*", kalkon dianggap sebagai "*the new era of medicines*" dalam kapasitasnya sebagai antitumor, antibakterial, dan anti-inflammatory (Afzal S., et al., 2008). Disebutkan pula bahwa sebagian besar target utama dari senyawa-senyawa kalkon adalah mempengaruhi siklus sel (*cell cycle*) (Boumendjel, A., Ronox X., and Boutonnat, J., 2009).

Beberapa senyawa kalkon hasil sintesis di antaranya: *Trans-4-Iodo,4-boranylchalcone* memiliki aktivitas antitumor terhadap *malignant glioma cell lines* secara *in vitro* dan *in vivo* (Sasayama, T., et al., 2007); senyawa *4-dihydroxy-6-methoxy-3, 5-dimethylchalcone* bersifat antitumor terhadap enam *cancer cell lines* secara *invitro* (Ye, C.L., et al., 2004); senyawa *2, 4-dihydroxy-6-methoxy-3, 5-dimethylchalcone* memiliki aktivitas antitumor terhadap "*solid human carcinoma xenograft model*". secara *invivo* (Ye, C.L., et al., 2005). Tidak kalah menariknya adalah senyawa *2-hydroxy-4-methoxychalcone* yang memiliki aktivitas anti-angiogenic dan antitumor (Lee, Y.S, et. al., 2006). Indyah S.A, dkk. (2000), berhasil mensintesis beberapa senyawa mono parahidroksi kalkon, yaitu: (a) 3-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1-fenil-2-propen-1-on atau MPHK A; (b) 3-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1-(4''-metoksifenil)-2-propen-1-on atau MPHK B; (c) 1-(4''-fluorofenil)-3-

(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-2-propen-1-on atau MPHK C; (d) 3-(3', 5'-detersierbutil-4'-hidroksifenil)-1-(4''-fluorofenil)-2-propen-1-on atau MPHK D, dan (e) 3-(3',5'-detersierbutil-4'-hidroksifenil)-1-(4''-klorofenil)-2-propen-1-on atau MPHK E (Gambar 1) Berdasarkan uji aktivitas penghambatan lipid peroksidasi non enzimatis, dan aktivitas penghambatan siklooksigenase, senyawa-senyawa ini menunjukkan sangat poten sebagai antioksidan. Hasil uji sitotoksisitas dari senyawa tersebut terhadap sel Raji menunjukkan aktivitas yang menarik dalam menghambat pertumbuhan sel Raji.

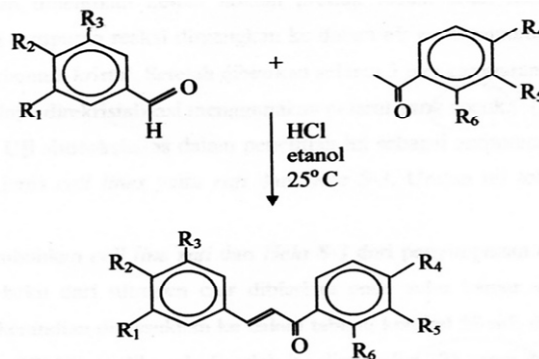
Pada beberapa senyawa golongan terpenoid, adanya aktivitas antiinflamasi, antimutagenik dan antioksidan yang dimiliki dapat memacu apoptosis, dan menekan

karsinogenesis yang di picu oleh bahan kimia. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji terhadap *cancer cell line* yang lain, khususnya sel kanker payudara T47D, yang banyak diderita oleh kaum perempuan, serta mengkaji hubungan struktur senyawa tersebut dengan aktivitas yang dihasilkan

Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh senyawa derivat kalkon yang berguna sebagai antikanker, serta dapat digunakan sebagai bahan obat di industri farmasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yaitu untuk mengetahui aktivitas sitotoksik senyawa MPHK terhadap *cancer cell lines*, sel T47D.



Kode Senyawa	Warna	Rendemen	Titik Lebur (°C)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
MPHK A	Kuning	37	85-90	CH ₃ O	OH	H	H	H	H
MPHK B	Kuning	34	161 - 164	CH ₃ O	OH	H	CH ₃ O	H	H
MPHK C	Kuning	36	94 - 97	CH ₃ O	OH	H	F	H	H
MPHK D	Kuning	69	125 - 127	t-Bu	OH	t-Bu	F	H	H
MPHK E	Kuning	30	123 - 124	t-Bu	OH	t-Bu	Cl	H	H

Gambar 1. Senyawa-Senyawa Mono Para-Hidroksi Kalkon Hasil Sintesis dari Derivat Benzaldehida dan Asetofenon atau Derivatnya melalui Reaksi Kondensasi Aldol Silang dalam Suasana Asam (Indyah, S.A., dkk., 2000).

Subyek penelitian ini adalah 5 (lima) senyawa MPHK hasil sintesis: MPHK A, MPHKB, MPHKC, MPHK C, MPHKD, dan MPHKE. Objek penelitiannya adalah aktivitas sitotoksik dari kelima senyawa tersebut terhadap *cancer cell lines*, sel T47D.

Alat yang digunakan: penentu titik leleh mikro Fisher John dengan tidak terkoreksi, varian Cary 100 Conc untuk mengukur spektrum ultraviolet (UV), FTIR 8300 Shimadzu untuk mengukur spektrum inframerah (IR), alat evaporasi Buchi Rotavapor R-114 untuk menguapkan pelarut pada tekanan rendah

Bahan yang digunakan: a) Bahan yang digunakan untuk mensintesis senyawa MPHK antara lain: asetofenon dan derivatnya 4-metoksiasetofenon, 4-fluoroasetofenon, dan 4-kloroasetofenon. Derivat benzaldehid, yaitu 4-hidroksi-3-metoksi-benzaldehida; 4-hidroksi-3,5-ters butil benzaldehid. Natrium klorida p.a., asam sulfat pekat p.a., gas nitrogen, etanol, dan b) Metanol, aseton, *n*-heksan, etil asetat, metilen klorida, kloroform dengan kualitas teknis dan p.a. sebagai pelarut dalam pemisahan dan pemurnian senyawa, dan plat TLC.

Alat yang digunakan: tangki nitrogen cair, mikroskop fluoresensi, mikroskop fase kontras, mikroskop fluoresensi, penangas air, sentrifuge, inkubator CO₂, incubator, ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

reader, hemocytometer (New Bauer), tabung *conical* steril, *scraper*, *tissue culture flask*, ampul, *plate*, *laminar airflow*, pH meter, mikroplate 96 sumuran, mikropipet, vorteks, timbangan elektrik, eppendorft, pipet, dan tip.

Bahan yang digunakan: *Cell line* cancer Sel T47D, Medium *Rosewell Park Memorial Institut* (RPMI) 1640 (GIBCO BRL), medium penumbuh mengandung *growth factor* 10% dan 20% FBS (*Fetal Bovine Serum*) (Sigma Chem. CO. St. Louis. USA), DMEM (*Dulbecco's modified Eagle's Medium*) (Invitrogen), etidium bromid, RNA-se, DMSO (*Dimetil Sulfoksida*), natrium karbonat (E.Merck), kertas saring 0,2 µm, akuades, fungison dan antibiotik penisilin dan streptomisin (Sigma Chem. CO. St. Louis. USA), hepes dan tripsin (Sigma Chem. CO. St. Louis. USA). PBS (*Phospat Buffer Saline*), MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida), SDS (*Sodium duodecyl sulphate*) 10% dalam HCl 0,01 N.

Sintesis dan pemurnian senyawa MPHK dilakukan dengan mengikuti prosedur kerja sebagai berikut: turunan benzadehida (26,6 mmol) dan asetofenon atau turunannya (30 mmol) dilarutkan dalam etanol yang dijenuhkan dengan HCl. Tetes demi tetes HCl dimasukkan dalam campuran reaksi bersamaan dengan itu gas N₂ juga dialirkan ke dalam campuran reaksi. Pengadukan

dilakukan selama 6 jam dan setiap jam di cek dengan KLT. Pengadukan dihentikan ketika noktah produk reaksi nampak dominan. Kemudian campuran reaksi dituangkan ke dalam air es dan di aduk sampai terbentuk kristal. Setelah dibiarkan selama 3 jam campuran reaksi disaring dan kristalnya direkristalisasi menggunakan pelarut yang sesuai. Identifikasi dan elusidasi struktur dilakukan dengan membandingkan data kromatografi lapis tipis (KLT) pada berbagai eluen dengan senyawa yang telah ditemukan sebelumnya, dan menggunakan analisis data spektrum IR.

Penumbuhan *cell lines* dari penyimpanan dalam nitrogen cair untuk uji sitotoksisitas dilakukan dengan mengikuti prosedur kerja sebagai berikut: uji sitotoksisitas sebagai antikanker dalam penelitian ini menggunakan *cell lines* T47 D dan sel Vero yang dikembangkan di laboratorium Kedokteran UGM. Tahapan yang dilakukan sebelum uji sitotoksik adalah menumbuhkan *cell lines* dari penyimpanan dalam nitrogen cair. Sel beku dari nitrogen cair dibiarkan pada suhu kamar sampai mencair sebagian, kemudian dimasukkan dalam tabung konikal 15 ml, dan ditambah 10 ml media pencuci lalu dikocok. Setelah itu disentrifus 750 g selama 7 menit. Pelet diambil ditambahkan dengan media kultur, kemudian sel dimasukkan dalam flask. Untuk sel vero digunakan media kultur DMEM. Semua

kegiatan tersebut dilakukan secara aseptis dalam laminar *laminar airflow*. Sel kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C dengan aliran CO₂ 5%. Perkembangan sel diamati tiap hari dan jika media mulai menguning diganti dengan media baru.

Uji sitotoksisitas senyawa hasil sintesis dengan MTT *assay* dilakukan dengan mengikuti prosedur kerja sebagai berikut: jika sel sudah tumbuh memenuhi flask, media pada sel T47D dan sel Vero diambil, dicuci dengan PBS secukupnya. Selanjutnya sel dilepas dari dinding flask (*scapper*) menggunakan 0,5 ml tripsin 0,05%. Flask dikocok perlahan sampai sel terlepas semua. Suspensi sel diinkubasi 2-5 menit di inkubator CO₂ pada 37°C. Selanjutnya suspensi sel tersebut dimasukkan dalam tabung *conical* 15 ml dan ditambahkan dengan media kultur sebanyak 5 ml. Jumlah sel dihitung dengan *hemocytometer*, disuspensikan dalam media kultur sampai diperoleh kepadatan sel 1,5 x 10⁴ sebanyak 100 µL pada setiap sumuran untuk sel T47D dan 1 x 10⁴ untuk sel vero. Selanjutnya diinkubasi selama 12-24 jam pada suhu 37°C di inkubator CO₂. Uji sitotoksisitas dilakukan dalam plate 96 sumuran. Sampel dilarutkan dalam media kultur yang mengandung DMSO 0,05%. Setiap sumuran dimasukkan 100 µl sampel dengan berbagai konsentrasi menggunakan 3 kali ulangan. Sumuran yang tersisa digunakan untuk kontrol positif yang

berisi sel tanpa penambahan sampel, dan kontrol negatif hanya mengandung media kultur. Selanjutnya diinkubasi 12-24 jam pada suhu 37°C di inkubator CO₂. Media kemudian diambil, dan masing-masing sumuran ditambahkan 110 µl media kultur yang mengandung MTT. Kultur diinkubasi 4 jam pada suhu 37°C di inkubator CO₂. Selanjutnya ditambahkan 100 µl pelarut formazan, di gojog pelahan dengan shaker selama 5 menit. Dilanjutkan diinkubasi 12-24 jam pada suhu kamar dalam ruang gelap. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Untuk uji sitotosis dilakukan penghitungan jumlah sel yang hidup, dibandingkan kontrol dengan memperhatikan pengaruh variasi kadar sampel terhadap kematian sel. Analisis sitotoksitas menggunakan analisis probit dan ditentukan nilai LC₅₀ dari masing-masing senyawa terhadap masing-masing sel. Nilai LC₅₀ merupakan nilai antilog pada saat nilai probit 50. Analisis probit diperoleh dari konversi prosentase kematian ke nilai probitnya, prosentase kematian dihitung dengan Rumus 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E telah berhasil disintesis melalui reaksi kondensasi aldol silang. Identifikasi dan elusidasi struktur dilakukan dengan membandingkan data kromatografi lapis tipis (KLT) pada berbagai eluen dengan senyawa MPHK yang telah ditemukan sebelumnya (senyawa marker), dan menggunakan analisis data spektrum IR.

Hasil identifikasi yang dilakukan menggunakan KLT dengan eluen kloroform : heksana = 2 : 1, dan heksana : metilen klorida = 1 : 2 menunjukkan hasil satu noda yang berarti bahwa senyawa-senyawa hasil isolasi tersebut telah murni. Bila dibandingkan dengan senyawa-senyawa marker MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E, senyawa-senyawa hasil sintesis memiliki harga Rf (*Retardation factor*) yang sama dengan senyawa marker. Ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis tersebut adalah senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E.

$$\% \text{ Kematian Sel} = \frac{\{(abs K - abs M) - (abs P - abs M)\}}{(abs K - abs M)} \times 100\%$$

Keterangan :
abs K = absorbansi kontrol sel
abs M = absorbansi media
abs P = absorbansi sel dengan perlakuan

Untuk lebih memastikan bahwa senyawa-senyawa hasil sintesis tersebut merupakan senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E, senyawa-senyawa hasil sintesis tersebut lebih lanjut dianalisis gugus fungsionalnya menggunakan FT-IR dan dibandingkan dengan senyawa marker. Hasil analisis menggunakan FT-IR disajikan Tabel 1.

Berdasarkan data FT-IR Tabel 1 diketahui bahwa senyawa-senyawa hasil sintesis memiliki gugus fungsional yang sama dengan senyawa marker. Hal ini lebih memperkuat bukti bahwa senyawa hasil sintesis yang diperoleh adalah senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E

Potensi ketoksikan senyawa MPHK terhadap sel T47D disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Analisis IR Senyawa MPHK

Senyawa	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)		Keterangan Gugus Fungsional
	Marker	Hasil Sintesis	
MPHK A	1655,03	1655,19	C=O, (gugus karbonil)
	3323,56	3323,47	OH str aromatik
	1564,37	1583,60	C=C str aromatik
	3000-2800 & 1419,70	3000-2800 & 1465,89	alkil
	1284,67	1369,47	metil
MPHK B	1651,17	1650,42	C=O, (gugus karbonil)
	3418,08	3371,85	OH str aromatik
	1591,37	1591,06	C=C str aromatik
	3000-2800 & 1464,06	3000-2800 & 1460,79	alkil
	1280,81	1373,89	metil
MPHK C	1637,67	1636,55	C=O, (gugus karbonil)
	3439,30	3495,52	OH str aromatik
	1597,16	1585,89	C=C str aromatik
	3000-2800 & 1444,77	3000-2800 & 1444,46	alkil
	1238,38	1340,73	metil
MPHK D	1655,03	1655,03	C=O, (gugus karbonil)
	3499,09	3527,90	OH str aromatik
	1601,02	1602,54	C=C str aromatik
	2958,99	2959,07	C-H str
	3000-2800 & 1425,48	3000-2800 & 1452,37	alkil
	1207,52 & 1238,38	1373,38 & 1399,60	metil ganda
	1400-1000	1400-1000	florida
MPHK E	1655,03	1655,92	C=O, (gugus karbonil)
	3551,17	3548,98	OH str aromatik
	1591,37	1592,49	C=C str aromatik
	2955,13	2954,04	C-H str
	3000-2800 & 1425,48	3000-2800 & 1453,79	alkil
	1209,44 & 1276, 96	1389,71 & 1357,19	metil ganda
	800-600	800-600	klorida

Tabel 2. Sifat Aktivitas Sitotoksik Berkaitan dengan Gugus Fungsional dari Senyawa MPHK

Kode Senyawa	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	LC ₅₀ (µg/mL)	Keterangan
MPHK A	CH ₃ O	OH	H	H	H	H	66,44	Sangat aktif
MPHK B	CH ₃ O	OH	H	CH ₃ O	H	H	5.263,80	Kurang aktif
MPHK C	CH ₃ O	OH	H	F	H	H	1.671,09	Kurang aktif
MPHK D	t-Bu	OH	t-Bu	F	H	H	1.638,70	Kurang aktif
MPHK E	t-Bu	OH	t-Bu	Cl	H	H	-	Tidak aktif

Hasil uji sitotoksisitas pada senyawa MPHK menunjukkan bahwa senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, dan MPHK D memiliki sifat sitotoksik terhadap sel T47D, sedangkan senyawa MPHK E tidak menunjukkan sifat sitotoksik terhadap sel T47D. Berdasarkan hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa terdapat hubungan langsung antara perubahan gugus fungsional pada senyawa MPHK dengan tingkat kematian sel T47D yang dinyatakan dalam LC₅₀ (*Lethal Concentration*), yaitu nilai kematian sel sebanyak 50%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas sitotoksik tertinggi dimiliki oleh senyawa MPHK A (LC₅₀ = 66,44, µg/mL), sedangkan MPHK C dan MPHK D memiliki sitotoksisitas rendah dengan harga LC₅₀ hampir sama, berturut-turut 1.671,09 µg/mL dan 1.638,70 µg/mL. Senyawa MPHK B memiliki sitotoksisitas lebih rendah dibanding MPHK A, MPHK C, dan MPHK D memiliki harga LC₅₀ sebesar 5.263,80 µg/mL.

Pada konsentrasi MPHK A tertinggi, yaitu 500 µg/mL diperoleh nilai rata-rata prosentase kematian sel sebesar 99,81%

dengan nilai LC₅₀ sebesar 66,44 µg/mL. Terdapatnya gugus OH cincin 4' diperkirakan memberikan kontribusi pada sifat toksisitas senyawa ini terhadap sel T47D. Bila dibandingkan dengan senyawa MPHK A, potensi ketoksikan senyawa MPHK B jauh sangat rendah. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya gugus metoksi -OCH₃ pada posisi 3' dan 4''. Perbedaan gugus fungsional ini mengakibatkan sifat toksisitas terhadap sel T47D menurun.

Harga LC₅₀ dari senyawa MPHK C adalah sebesar 1.671,09 µg/mL, lebih tinggi dibanding senyawa MPHK A, namun lebih rendah dari senyawa MPHK B. Hal ini menunjukkan bahwa potensi ketoksikan senyawa MPHK C lebih rendah dibanding senyawa MPHK A, dan lebih tinggi dibanding MPHK B. Adanya gugus fluoro pada posisi 4'' diperkirakan meningkatkan toksisitas MPHK C bila dibanding MPHK B. Harga LC₅₀ dari senyawa MPHK D adalah sebesar 1.638,70 µg/mL. Nilai ini lebih tinggi dibanding senyawa MPHK A, namun lebih rendah dari senyawa MPHK B dan

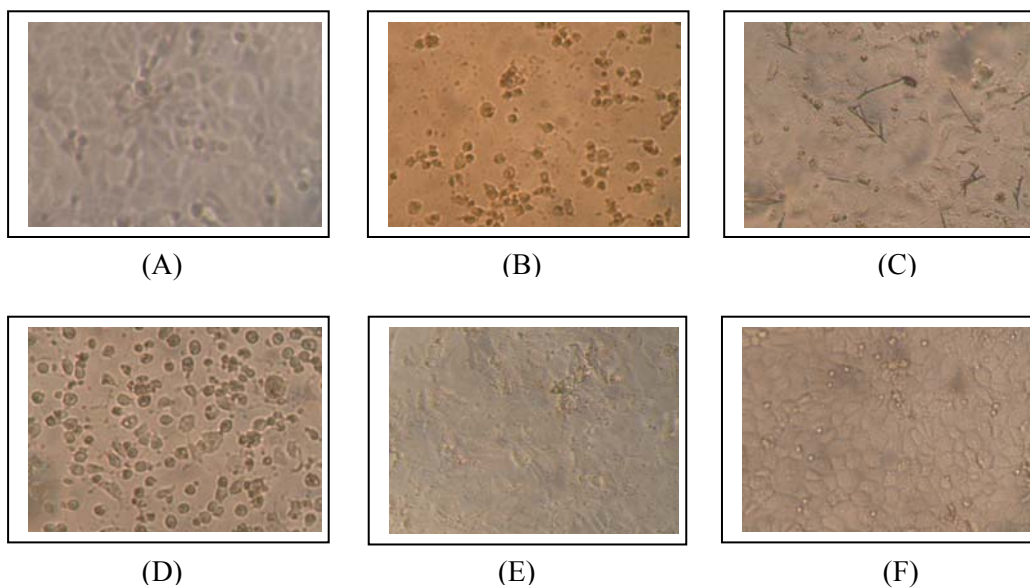
MPHK C. Hal ini menunjukkan bahwa potensi ketoksikan senyawa MPHK D lebih rendah dibanding senyawa MPHK A, dan lebih tinggi dibanding MPHK B, dan MPHK C. Adanya tersier butil pada posisi 3' dan 5' meningkatkan sifat toksisitasnya bila dibanding MPHK B yang mengandung gugus 2 gugus metoksi, dan MPHK C yang mengandung 1 gugus metoksi dan 1 gugus fluoro.

Berdasarkan hasil penelitian juga menunjukkan bahwa potensi ketoksikan senyawa MPHK E sangat rendah terhadap sel T47D. Pada pemberian konsentrasi 500 µg/mL hanya menyebabkan kematian sebesar 7,02%, dan pada pemberian konsentrasi di bawah konsentrasi tersebut tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan sel T47D. Hal ini diperkirakan

adanya pengaruh dari gugus kloro pada posisi 4''.

Secara keseluruhan sifat aktivitas sitotoksik berkaitan dengan gugus fungsional dari senyawa MHPK. Adanya gugus OH memberikan kontribusi pada sifat toksisitas senyawa ini terhadap sel T47D, namun dengan penambahan gugus metoksi berakibat sangat menurunnya aktivitas sitotoksik. Bila gugus metoksi tersebut disubstitusi dengan gugus tersier butil dan fluoro dapat meningkatkan aktivitasnya. Namun adanya substitusi gugus kloro justru akan menurunkan toksisitas terhadap sel T47D.

Pengamatan kematian sel dapat dilihat dari morfologi sel akibat perlakuan senyawa. Sel yang mati akan kehilangan cairan sitoplasma karena rusaknya membran.



Gambar 2. Morfologi Sel T47D: (A) Tanpa Perlakuan, dan dengan Penambahan senyawa: (B) MPHK A, (C) MPHK B, (D) MPHK C, (E) MPHK D dan (F) MPHK E

sel, sehingga pada pengamatan mikroskop akan menunjukkan warna hitam (gelap). Sebaliknya, pada sel hidup akan terlihat warna terang, karena adanya cairan sitoplasma yang bersifat meneruskan cahaya dari mikroskop. Pengamatan morfologi sel T47D akibat pemberian senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D dan MPHK E disajikan pada Gambar 2.

Penambahan senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, dan MPHK D (Gambar

2B, 2C, 2D, dan 2E) menunjukkan adanya fenomena kematian yang pada sel T47 D dibandingkan dengan sel tanpa perlakuan (Gambar 2A). Penambahan senyawa MPHK E (Gambar 2E) menunjukkan fenomena kematian sel T47D hanya sedikit.

Pada penelitian ini dilakukan juga uji sitotoksis senyawa MPHK terhadap sel Vero atau sel normal. Potensi ketoksikan senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E terhadap sel Vero sangat

Tabel 3. Prosen Kematian/Sel Hidup Sel Vero dengan Pemberian Senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E Dibandingkan dengan Doxorubicin

No	Senyawa	Konsentrasi (µg/mL)	% Sel Mati	% Sel Hidup	Keterangan
1.	MPHK A	500	-93,79	193,79	Tidak toksik
		250	-30,16	130,16	
		125	9,89	90,11	
		62,5	7,73	92,27	
		31,25	6,21	93,79	
2.	MPHK B	500	-63,12	163,12	Tidak toksik
		250	-43,98	143,98	
		125	-13,31	113,31	
		62,5	-1,01	101,01	
		31,25	-2,79	102,79	
3.	MPHK C	500	-36,38	136,38	Tidak toksik
		250	-37,52	137,52	
		125	-3,42	103,42	
		62,5	-25,73	125,73	
		31,25	-2,79	102,79	
4.	MPHKD	125	-31,31	131,31	Tidak toksik
		62,5	-52,22	152,22	
		31,25	-13,94	113,94	
5.	MPHK E	500	-30,67	130,67	Tidak toksik
		250	-33,71	133,71	
		125	-36,63	136,63	
		62,5	-16,86	116,86	
		31,25	-15,46	115,46	
6.	Doxorubicin	100	54,75	45,25	Toksik LC 50 = 76,21 (µg/mL)
		50	45,78	54,22	
		25	40,16	59,84	
		12,5	38,02	61,98	
		6,25	37,62	62,38	

rendah, bahkan dapat dikatakan tidak bersifat toksik (Tabel 3).

Demikian juga pengamatan morfologi sel Vero akibat pemberian senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, MPHK D, dan MPHK E tidak menunjukkan adanya fenomena kematian pada sel Vero dibandingkan dengan tanpa perlakuan. Demikian pula bila dibandingkan dengan doxorubicin yang selama ini digunakan untuk pengobatan kanker. Senyawa ini memiliki sifat toksik pada sel normal. Hal ini menunjukkan bahwa dengan sifat senyawa MPHK yang tidak toksis pada sel normal, maka senyawa ini sangat berpotensi digunakan sebagai obat kanker yang aman, khususnya senyawa MPHK A. Selanjutnya perlu dilakukan analisis lebih lanjut pada senyawa MHPK A untuk mengetahui mekanisme penghambatan dari senyawa tersebut, apakah mempengaruhi siklus sel atau memacu terjadinya apoptosis.

KESIMPULAN

Senyawa MPHK A, MPHK B, MPHK C, dan MPHK D memiliki sifat sitotoksik terhadap *cancer cell line* T47D, sedangkan senyawa MPHK E tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Sifat toksisitas tertinggi dimiliki oleh MPHK A dengan harga LC_{50} sebesar 66,44 $\mu\text{g/mL}$. Adanya gugus hidroksil memberikan kontribusi pada peningkatan toksisitas. Perlu dilakukan lebih lanjut bagai-

mana mekanisme antikanker dari senyawa MPHK A apakah mempengaruhi siklus sel atau dengan memacu apoptosis. Penelitian ini akan dilakukan pada Tahun ke 2.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal S., Asad M.K, Rumana Q.F, Ansari, Muhammad F.N, and Syed S.S. (2008). redox behavior of anticancer chalcone on a glassy carbon electrode and evaluation of its interaction parameters with DNA. *Int. J. Mol. Sci.*, 9, 1424-1434.
- Bohm, T., (1998). An old paradigm for treating cancer and other disease in 21 century, *Cane and Met rev*, 12: 149-154.
- Boumendjel A., Ronot X., Boutonnat. (2009). Chalcone derivatives acting as cell cycle blockers: potensial anticancer drugs? *J Curr Drug Targets*. Apr;10 (4):363-71.
- Goldie, J.H. (2001). Drug resistance in cancer: A perspective. *Cancer and Metastasis Rev*, 20: 63-68.
- Indyah S.A., Henk T., Samhudi, Sastrohamidjojo, and Henk an der Goot. (2000). Synthesis of benzylideneacetophenones and their inhibition of lipidperoxidation. *Eur. J. Med. Chem.*, 35, 449-457.
- Indyah S.A. (2007). Cyclooxygenase inhibitory activity of benzilideneaceto-fenone analogue. Recent development in curcumin pharmacology. *Proceeding of International Symposium on Recent Progress in Curcumin Research*, 11-12 September.
- King, R.J.B. (2000). *Cancer biology*, 2nd ed. England: Pearson Education Limited.

- Lee, Y.S., Lim, S.S., Shin, K.H., Kim, Y.S., Ohuchi, K., Jung, S.H. (2006). Anti-angiogenic and antitumoractivities of 2-hydroxy-4-methoxychalcone. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 1028-1031.
- Mathivadani, P., Shanthi, P., and Sachdanandam, P. (2007). Apoptotic effect of semecarpus anacardium nut extract on T47D cancer cell line. *Cell. Biol. Int.*, 31, 1198-1206.
- Sasayama, T.; Tanaka, K.; Mizukawa, K.; Kawamura, A.; Kondoh, T.; Hosoda, K.; Kohmura, E. (2007). Trans-4-Iodo,4-boranyl-chalcone induces antitumor activity against malignant glioma cell lines in vitro and in vivo. *J. Neu-Onc.*, 85, 123-132.
- Ye, C.L., Liu, J.W., Wei, D.Z., Lu, Y.H., Qian, F. (2004). In vitro antitumor activity of 2, 4-dihydroxy-6-methoxy-3, 5-dimethylchalcone against six established human cancer cell lines. *Pharmacol. Res.*, 50, 505-510.
- _____. (2005). In vivo antitumor activity by 2, 4-dihydroxy-6-methoxy-3, 5-dimethylchalcone in a solid human carcinoma xenograft model. *Canc. Chemo.Pharm.*, 55, 447-452.