

Efek Sitotoksik Ekstrak Etanolik *Ocimum basilicum*, L. Pada Sel Kanker Payudara

Devi Nisa Hidayati*, Ibrahim Arifin, Fatimatuz Zahroh, Lina Wahyuni

Faculty of Pharmacy, Wahid Hasyim University, Semarang

*Email: devinisahidayati@yahoo.com

ABSTRAK

Pengobatan kanker menggunakan bahan alam terus dikembangkan. Salah satu tanaman yang memiliki efek sitotoksik *Ocimum basilicum*, L. tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol *Ocimum basilicum* (EEOB) terhadap sel kanker payudara T47D dan MCF7. *Ocimum basilicum* diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Pengujian aktivitas sitotoksik menggunakan metode MTT assay dengan seri konsentrasi EEOB 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31,25 µg/mL. Hasil uji aktivitas sitotoksik EEOB memperlihatkan nilai IC₅₀ pada sel T47D dan MCF-7 sebesar 399.86 µg/ml dan 387.76 µg/ml.

Kata Kunci—Sitotoksik, *Ocimum basilicum* L., T47D, MCF-7

ABSTRACT

*Cancer treatment using natural ingredients continues to be developed. One of the plants that is proven to have cytotoxic activity is basil leaves (*Ocimum basilicum*, L.). This study aims to determine the cytotoxic activity of ethanol extract of basil leaves (EEOB) on T47D and MCF-7 breast cancer cells. Basil leaves were extracted using maceration with ethanol 70%. The cytotoxic test was performed using MTT assay with various EEOB concentrations: 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31,25 µg/mL. The results showed that IC₅₀ of cytotoxic activity in T47D and MCF-7 was 399.86 µg/ml and 387.76 µg/ml respectively.*

Keywords—Cytotoxic, *Ocimum basilicum* L., T47D, MCF-7

I. PENDAHULUAN

Penderita penyakit kanker di Indonesia cukup besar dan prevalensi kematian yang diakibatkan penyakit tersebutpun cukup tinggi (Ferlay *et al.*,

2010). Di Indonesia kanker payudara menempati urutan pertama pasien rawat inap di seluruh rumah sakit (Rachman dan Purnami, 2012). Pengobatan kanker saat ini menggunakan berbagai cara antara lain

pembedahan, kemoterapi dan radiasi. Dimana cara tersebut memiliki tingkat keberhasilan yang masih rendah (King, 2000). Pengobatan kanker menggunakan bahan alam diminati oleh masyarakat karena minimnya efek samping.

Ocimum basilicum merupakan salah satu tanaman yang telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antikanker. Ekstrak metanol *Ocimum basilicum* terbukti mampu memicu kematian sel MCF7 dengan nilai GI_{50} 6,7 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai LC_{50} 98 $\mu\text{g/ml}$ (Qamar *et al*, 2010). Ekstrak metanol *Ocimum basilicum* juga terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HL60 (Naidu *et al*, 2016) dan sel MCF-7 (Al-Ali *et al*, 2013).

Maka berdasarkan latar belakang diatas peneliti ingin mengetahui efek sitotoksik dari ekstrak etanol *Ocimum basilicum* terhadap sel kanker payudara yaitu T47D dan MCF-7.

II. METODE

Variabel bebas pada penelitian ini adalah seri konsentrasi ekstrak etanol *Ocimum basilicum*. Variabel tergantung adalah persentase viabilitas sel.

A. Bahan dan Alat Penelitian

Ocimum basilicum yang digunakan dipanen dari daerah Bandungan, Jawa Tengah dengan kondisi bebas hama. Sel kultur kanker payudara (T47D dan MCF-7) berasal dari Laboratorium Parasitologi

Fakultas Kedokteran UGM. Media DMEM, FBS 10%, PenSre 1%, DMSO, reagen MTT, PBS, SDS 10%.

Alat yang digunakan antara lain oven, rotary evaporator, alat maserasi, inkubator CO₂, LAF, mikropipet, mikroskop, conical tube, elisa reader.

B. Pembuatan Ekstrak Etanol *Ocimum basilicum*

Ocimum basilicum dipanen pada usia \pm 3,5 bulan. Panen dilakukan pada pagi hari. *Ocimum basilicum* yang telah dipanen dilakukan sortasi basah untuk mendapatkan *Ocimum basilicum* yang segar dan bebas hama. *Ocimum basilicum* dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C. Simplisia kering yang didapatkan diserbuk dan kemudian diayak dengan ukuran pengayak 40 mesh.

Serbuk *Ocimum basilicum* sebesar 1,35 Kg diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 5 hari (maserasi dan remaserasi). Total pelarut etanol 70% yang digunakan sebanyak 13,5 Liter.

C. Uji Aktivitas Sitotoksik *Ocimum basilicum*

Sel T47D dan MCF-7 yang telah didistribusikan dalam 96-well plate dengan jumlah 1×10^4 sel/sumuran. Inkubasi pada inkubator CO₂ dilakukan selama 24 jam dan pada suhu 37°C. Sel yang telah diinkubasi diberikan perlakuan menggunakan ekstrak etanol *Ocimum*

basilicum dengan konsentrasi yang telah ditetapkan (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31, 25 µg/ ml untuk sel T47D dan 1000; 500; 250; 62,5; 31, 25; 15,625 µg/ ml untuk sel MCF-7). Sel yang telah diberi perlakuan konsentrasi ekstrak *Ocimum basilicum* diinkubasi selama 24 jam. Masing-masing sumuran ditambahkan dengan reagen MTT selama 4 jam pada inkubator. Selanjutnya, ditambahkan SDS selama semalaman pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Baca absorbansi pada panjang gelombang 595 nm dengan elisa reader.

D. Analisis data

Analisis data pada uji aktivitas sitotoksik adalah mengkonversikan nilai absorbansi yang didapatkan menjadi nilai % viabilitas sel dengan membandingkan jumlah sel hidup bakteri (viabilitas sel) dengan perlakuan (ekstrak etanol *Ocimum basilicum*, kontrol media, dan kontrol sel) dengan rumus dibawah ini (CCRC, 2010):

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\text{Absorbansi sel perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

Viabilitas sel yang didapatkan kemudian dianalisis menggunakan regresi linier, sehingga didapatkan persamaan $Y=Bx+A$ yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Semakin besar nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Doyle and Griffiths, 2000).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Ekstrak Etanol *Ocimum basilicum*

Ocimum basilicum merupakan bahan yang akan digunakan pada penelitian kali ini. Determinasi tanaman dilakukan untuk menyakinkan bahan yang digunakan adalah benar *Ocimum basilicum* L.. Hasil dari determinasi tanaman membuktikan bahwa tanaman yang digunakan memang benar *Ocimum basilicum* L. dengan kunci determinasi 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14b, 161, Golongan 10 : Daun tunggal, terletak berhadapan. 239b, 243b, 244b, 248b, 259b, 250b, 266b, 267a, 268b, 271b, Famili 110 : Labiatae. 1a, 2b, 4b, 6b, 7b, 8. Genus : *Ocimum*. Spesies : *Ocimum basilicum* L. Nama lain *Ocimum sanctum* L. (Selasih, Telasih, Kemangi).

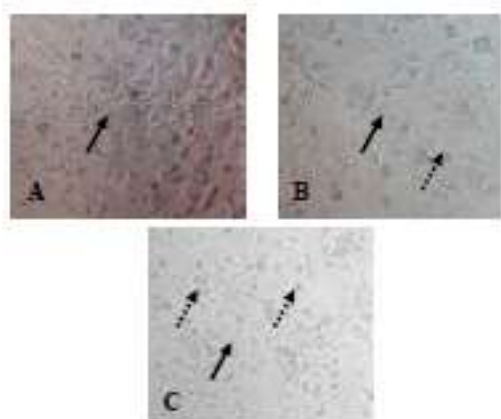
Serbuk *Ocimum basilicum* yang digunakan memiliki kadar air sebesar 5,9%. Suatu simplisia dikatakan memenuhi syarat apabila kadar air yang didapatkan sebesar <10% (Depkes RI, 2000). Total serbuk yang digunakan dalam proses maserasi sebesar 1,35 Kg dan didapatkan ekstrak kental sebesar 221,5 gram dengan nilai rendemen sebesar 16,41%. Ekstrak kental yang didapatkan memiliki warna hijau kehitaman dan berbau khas. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Penggunaan pelarut tersebut karena diduga senyawa yang memiliki efek sitotoksik adalah flavonoid.

Ocimum basilicum memiliki senyawa aktif antara lain minyak atsiri, saponin, flavonoid dan tanin (Depkes RI, 2001). Ekstrak etanol *Ocimum basilicum* terbukti mengandung senyawa flavonoid (Dhianawaty dkk, 2012).

B. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol

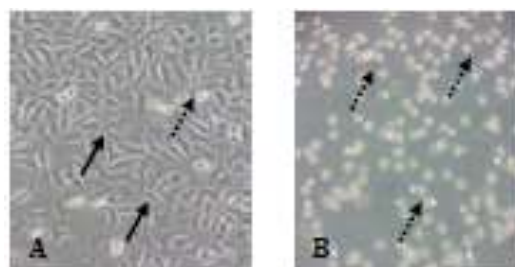
Ocimum basilicum

Uji sitotoksitas ekstrak etanol *Ocimum basilicum* dilakukan dengan melihat nilai IC_{50} yang dihasilkan. Metode MTT yang digunakan untuk mengetahui potensi penghambatan pertumbuhan sel kanker dengan melihat intensitas warna. MTT akan direduksi oleh sel hidup menjadi kristan formazan yang berwarna ungu (Nikkah *et al*, 2004).



Gambar 1. Efek perlakuan ekstrak etanol *etanol Ocimum basilicum* terhadap morfologi sel MCF-7, (A) Kontrol sel atau tanpa perlakuan EEOB, (B) Sel MCF7 dengan perlakuan EEOB 250 µg/ml, (C) Sel MCF7 dengan perlakuan EEOB 500 µg/ml setelah inkubasi 24 jam. Sel yang hidup melekat berbentuk daun (→) sedangkan sel yang mati berbentuk bulat dan mengapung (•••➤).

Perlakuan ekstrak etanol *Ocimum basilicum* pada sel kanker payudara MCF-7 dan T47D memperlihatkan perubahan morfologi sel yang dapat dilihat pada gambar 1 dan 2. Sel mati terlihat berbentuk bulat sedangkan sel yang hidup terlihat seperti bentuk daun melekat pada dasar sumuran (Fitriasih *et al*, 2019).



Gambar 2. Efek perlakuan ekstrak *etanol Ocimum basilicum* terhadap morfologi sel T47D, (A) Kontrol sel atau tanpa perlakuan EEOB, (B) Sel T47D dengan perlakuan EEOB 500 µg/ml setelah inkubasi 24 jam. Sel yang hidup melekat berbentuk daun (→) sedangkan sel yang mati berbentuk bulat dan mengapung (•••➤).

Tabel I. Data % viabilitas sel hidup ekstrak etanol *Ocimum basilicum* pada uji sitotoksitas. (-) tidak dilakukan pengujian

No.	Konsentrasi EEOB (µg/ml)	Viabilitas Sel T47D (%)	Viabilitas Sel MCF (%)
1	1000	17,50	28,15
2	500	46,42	48,45
3	250	76,55	59,92
4	125	81,28	-
5	62,5	87,09	87,50
6	31,25	102,72	90,39
7	15,625	-	91,74

Data % viabilitas sel yang didapatkan dari mengkonversi hasil absorbansi yang didapatkan dari perlakuan ekstrak etanol *Ocimum basilicum* terhadap sel kanker payudara dapat dilihat pada tabel I. Tabel tersebut memperlihatkan semakin besar konsentrasi ekstrak etanol *Ocimum basilicum* memperlihatkan semakin kecil viabilitas sel/ sel hidup. Hal tersebut memperlihatkan bahwa perlakuan ekstrak etanol *Ocimum basilicum* terhadap sel T47D dan MCF-7 bersifat *dose-dependent*.

Nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol *Ocimum basilicum* terhadap sel T47D dan sel MCF-7 dikerjakan menggunakan regresi linier dengan seri konsentrasi vs % viabilitas sel. Pada sel kanker MCF-7 didapatkan persamaan $Y = -35,85x + 142,8$ dan nilai IC₅₀ sebesar 387,76 µg/ml. Persamaan $Y = -52,473x + 186,53$ diperoleh pada perlakuan ekstrak etanol *Ocimum basilicum* terhadap sel T47D, sehingga nilai IC₅₀ sebesar 399,86 µg/ml. Nilai IC₅₀ yang didapatkan memiliki efek sitotoksik yang cukup aktif terhadap sel kanker payudara baik pada sel T47D dan MCF-7. Kategori cukup aktif apabila nilai IC₅₀ pada range 100-500 µg/ml (Weerapreeyakul *et al.*, 2012). Terlihat dari nilai IC₅₀ yang didapatkan maka ekstrak etanol *Ocimum basilicum* berpotensi sebagai antikanker terhadap kanker payudara (T47D dan MCF-7).

IV. KESIMPULAN

Ekstrak etanol *Ocimum basilicum* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan MCF-7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 399,86 µg/ml dan 387,76 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Ali, K.H., Beshbishy, H.S.E., Badry, A.A.E., and Alkhalaf, M., 2013, Cytotoxic Activity of Methanolic Extract of Mentha Longifolia and Ocimum basilicum Against Human Breast Cancer, *Pakistan Journal of Biological Science*, 10, 1028-8880.
- CCRC, 2010, *Standard Operating Procedure*, Cancer Chemoprevention Research Cancer Fakultas Farmasi Universitas Gadjah mada, Yogyakarta.
- Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 11.
- Depkes, RI., 2001, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1) Jilid 2*, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia, Jakarta.
- Dhianawaty, D., Panigoro, R., Surialaga, S., Purushothman, P., 2012, Metode Cepat Identifikasi Flavonoid dari Daun *Ocimum santum* L. (Selasih), *MKB*, 40 (1), 32-37.
- Doyle A. and Griffiths J.B., 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, John Wiley and Sons Ltd, New York, 402-418.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Firman D, Mathers C, Parkin D.M., 2010, Estimates of World Wide Burden of Cancer in 2008, *GLOBOCAN 2008, Int J Cancer*, 127 (12), 2893-917.
- Firiasih., Komariyah, S.M., Sandra, F., Pratiwi, N., and Hidayati, D.N., 2019, Mangifera indica L. Leaves Extract Induced Intrinsic Apoptotic Pathway

- in MCF-7 Cells by Decreasing Bcl-2 Expression and Inducing Bax Expression, *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 10 (1), 1-6.
- King, R.J.B., 2000, *Cancer Biologi*, 2nd edition, Pearson Education Limited, London, 149-168.
- Naidu, J. R., Gunjan, M., Chen, Y., Sasidharan, S., 2016, Evaluation of in vitro Cytotoxic Activity of Ocimum Basillicum and Mentha Spicata Extracts, *Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research*, 9, 131-134.
- Nikkhah, G., Tonn, J.C., Hoffmann, O., Kraemer, H.P., Darling, J.L., Schönmayr, R., and Schachenmayr, W., 2004, The MTT Assay for Chemosensitivity Testing of Human Tumors of The Central Nervous System, *Journal of Neuro-Oncology*, 13, 1-11.
- Qamar, K.A., Dar, A., Siddiqui, B.S., Kabir, N., Aslam, H., Ahmed, S., Erum, S., Habib, S., and Begum, S., 2010, Anticancer Activity of *Ocimum basilicum* and the Effect of Ursolic Acid on the Cytoskeleton of MCF-7 Human Breast Cancer Cells, *Letters in Drug Design and Discovery*, 7, 726-736.
- Rachman, F., dan Purnami, S. W., 2012, Perbandingan Klasifikasi Tingkat Keganasan Breast Cancer dengan Menggunakan Regresi Logistik Ordinal dan Support Vector Machine (SVM), *Jurnal Sains dan Seni Its*, 1(1), D124-D129
- Weerapreeyakul, N., Nonpunya, A., Barusrux, S., Thitimetharoch, T., and Sripanidkulchai, 2012, Evaluation of The Anticancer Potential of Six Herbs Against a Hepatoma Cell Line, *Chinese Medicine*, 7 (15), 1-7.