

POTENSI SELADA AIR (*Nasturtium Officinale* R. Br) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN AGEN ANTIPROLIFERASI TERHADAP SEL MCF-7 SECARA *IN VITRO*

(*Antioxidant and agent anti-proliferation of extract Watercress [*Nasturtium officinale* R. Br] for MCF-7 cells in vitro*)

Dewi Rahmayani Rahman^{1*}, Rimbawan¹, Siti Madanijah¹, Sri Purwaningsih²

¹Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia (FEMA), Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

²Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan (FPIK), Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRACT

*This study aimed to determine the potential of watercress extract as an antioxidant and antiproliferation against cancer cells in vitro. Cells used in this study were breast cancer culture cells (MCF-7) and vero cells. Watercress was extracted using water solvent and 70% ethanol. Phytochemical test was performed on both types of extract. Toxicity test was measured using BSLT method, assessment of antioxidant activity was measured using DPPH method and inhibitory proliferation in cancer cell was measured using MTT Assay method. Analysis of the data using ANOVA, if there is a significant difference between treatments will be followed up with Duncan test. The results of phytochemical tests showed that watercress extracts had bioactive content namely flavonoids, tannins, saponins, and steroids. The result of BSLT test showed that the strongest extract toxicity was 70% ethanol extract with LC₅₀ value of 406.02 ppm and had the highest antioxidant activity with IC₅₀ value of 102.26 ppm, while proliferation inhibitory test found in MCF-7 breast cancer cells had IC₅₀ value of 1.696 µg / ml and not toxic to vero cells. Result showed that the ethanolic extract of *Nasturtium Officinale* gave a significant effect on MCF-7 breast cancer cells inhibition (p=0.015) at concentration 50, 400, 800 and 1000 ppm. The mechanism of proliferative inhibition was associated with phytochemical content present in watercress.*

Keywords: *antioxidant, cancer cell, nasturtium officinale, phytochemical*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi dari ekstrak selada air sebagai antioksidan dan antiproliferasi terhadap sel kanker secara *in vitro*. Sel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sel kultur kanker payudara (MCF-7) dan sel vero. Selada air diekstrak dengan menggunakan pelarut air dan etanol 70%, uji fitokimia dilakukan pada kedua jenis ekstrak. Uji toksisitas menggunakan metode BSLT, penilaian aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode DPPH dan daya hambat proliferasi pada sel kanker menggunakan metode MTT Assay. Analisis data menggunakan ANOVA, jika terdapat pengaruh nyata antar perlakuan dilakukan uji lanjut berupa uji Duncan dengan menggunakan program SPSS. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak selada air memiliki kandungan bioaktif yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa toksisitas ekstrak paling kuat adalah ekstrak etanol 70% dengan nilai LC₅₀ sebesar 406,02 ppm dan aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 102,26 ppm, sedangkan uji daya hambat proliferasi pada sel kanker payudara MCF-7 ditemukan nilai IC₅₀ 1,696 µg/ml dan tidak bersifat toksik pada sel vero. Berdasarkan hasil uji ANOVA ekstrak etanol selada air berpengaruh signifikan terhadap daya hambat sel MCF-7 dengan nilai p sebesar (p=0,015) pada konsentrasi 50, 400, 800 dan 1000 ppm. Mekanisme daya hambat proliferasi dikaitkan dengan kandungan fitokimia yang terdapat pada selada air.

Kata Kunci: *antioksidan, fitokimia, nasturtium officinale, sel kanker*

*Korespondensi: Telp: +6285298394334 , Surel: dewirahmayanirahman@gmail.com

PENDAHULUAN

Penggunaan bahan alam sebagai obat-obatan tradisional sejak dahulu kala telah diterima secara luas baik di negara berkembang maupun di negara-negara maju. Selama 20 tahun terakhir perhatian dunia terhadap obat-obatan tradisional telah meningkat. *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa 65% dari penduduk negara maju menggunakan pengobatan tradisional dan obat-obat dari bahan alami (Depkes RI 2007).

Tanaman dikenal mempunyai kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang tinggi dan telah digunakan untuk pengobatan penyakit. Banyak produk alam menunjukkan adanya bahan biologi yang menarik dan mempunyai aktifitas farmakologi sebagai bahan kemoterapi yang digunakan untuk pengembangan pengobatan modern. Penggunaan herbal telah digunakan sejak tahun 1990. Pada beberapa tanaman ditemukan kandungan melimpah dari metabolit sekunder seperti tanin, terpenoid, alkaloid, flavonoid (Solkani & Selvanagayam 2013).

Selada air (*Nasturtium officinale* R. Br.) adalah tumbuhan yang tergolong dari famili Brassicaceae berasal dari Eropa dan Asia. Selada air biasanya dikonsumsi sebagai sayuran atau salad. Selada air merupakan sumber vitamin A dan C yang baik, mengandung niasin, asam askorbat, tiamin, riboflavin, dan zat besi (Stephens 2012). Masyarakat Turki menggunakan tumbuhan ini untuk mengobati sakit perut (Ozen 2009). Selada air juga digunakan sebagai obat untuk diabetes, bronkitis, diuresis, sebagai anti-ulserogenik, mengobati kudis, tuberkulosis, influenza, asma, suplemen nutrisi, melancarkan pencernaan, antimikroba, serta antikarsinogenik (Hoseini *et al.* 2009).

Selada air merupakan salah satu sayuran yang mempunyai efek antikanker, penelitian ini memprediksi kandungan selada air yaitu *phenethyl isothiocyanate* yang berperan sebagai anti kanker dengan menggunakan metode *docking analysis* (Rajalakshmi & Agalyaa 2010). Menurut Ibrahim *et al.* (2015), selada air mengandung senyawa isotiosinat, kaemferol glikosida dan l-triptofan yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas, membantu memperbaiki kerusakan dan sintesis DNA. Penelitian mengenai selada air belum banyak dilakukan di Indonesia dan hanya sebatas pada kandungan fitokimia dan antioksidan. Oleh sebab itu, diperlukan penelitian yang berbasis *in vitro* untuk mengetahui efektifitas dan peranan selada air. Penelitian ini bertujuan mengetahui

potensi dari ekstrak selada air sebagai antioksidan dan *inhibitor* pembelahan sel yang tidak terkontrol pada kanker.

METODE

Desain, tempat, dan waktu

Desain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua kelompok perlakuan berupa ekstrak etanol dan ekstrak air, tujuh taraf dan tiga kali ulangan yang dilaksanakan secara bertahap pada periode waktu bulan April sampai November 2016. Identifikasi ilmiah tanaman selada air dilakukan di Pusat Penelitian Biologi LIPI bagian Herbarium. Analisis fitokimia, dan uji BSLT dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka IPB. Pengujian secara *in vitro* dilakukan pada sel *vero* (sel normal) dan *cell line* MCF-7 (sel kanker payudara) dilakukan di Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) IPB.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan berupa selada air, etanol 70%, etil asetat, akuades, larutan 1,1-difenil-2 pikrilhidrazin (DPPH), asam askorbat, larutan buffer fosfat pH 7,0, eter, HCl, amil alkohol, serbuk Mg, kloroform, amonia, H₂SO₄, FeCl₃, pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorf, pereaksi Lieberman-Buchard, reagen Folin-Ciocalteu, AlCl₃, CH₃COONa, media pertumbuhan (*dulbecco's modified eagle medium* (D-MEM) (Gibco, USA *Fetal Bovine Serum* (FBS) (Hyclone, USA), penisilin-streptomisin (Invitrogen, USA), *phosphate buffer saline* (PBS), (Gibco, USA), *trypsin* (Gibco, USA), DMSO (Sigma USA), etanol (Merck, Germany), MTT (Sigma, USA).

Alat yang digunakan oven, cawan porselen, timbangan analitik, erlenmeyer, pipet mikro, inkubator, corong pisah, tabung reaksi, labu volumetrik, penangas air, autoklaf, *rotary evaporator*, ELISA *microplate reader*, *biosafety cabinet level-2*, (Nuair, USA), inkubator CO₂ (Binder, Germany), alat sentrifugasi (Tommy, Japan), *inverted microscope* (Nikon, Japan), *flask* T25 (Corning, USA), tabung 15 mL (Corning, USA), tabung 1.5 mL (Axygen, USA), perangkat hemositometer, *improved neubauer 96-wells tissue culture plate* (Corning, USA), *12-wells tissue culture plate* (Corning, USA), *micro pipette*, 200ul, 1000ul (Gilson, USA), pipet tips 200ul, 1000ul (Axygen, USA).

Tahapan penelitian

Preparasi sampel selada air. Preparasi sampel selada air dilakukan dengan menimbang bahan selada air sebanyak 1-3 kg, kemudian di oven pada suhu 50°C selama 5 hari. Selada air yang sudah kering selanjutnya digiling dengan blender. Selanjutnya tepung selada air diekstrak dengan air dan etanol 70% (Wetwitayaklung & Phaechamud 2011).

Ekstraksi sampel selada air. Ekstraksi dilakukan dengan cara merebus simplisia sebanyak 50 gram ke dalam pelarut air 300 ml, sedangkan ekstrak etanol, dengan cara memasukkan 50 g serbuk selada air ke dalam pelarut etanol 70%. Larutan ekstrak air maupun etanol kemudian di letakkan di atas *shaker* selama 6 jam pada kecepatan 110 rpm. Campuran dipisahkan dan filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak air dan ekstrak etanol 70%.

Uji fitokimia (Harborne 1987). Uji fitokimia adalah uji yang dilakukan untuk menentukan senyawa aktif dari ekstrak tumbuhan. Penelitian tahap ini bertujuan untuk mengetahui komponen fitokimia yang terkandung pada selada air secara kualitatif. Analisa kualitatif dilakukan dengan beberapa uji yaitu: alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid/steroid.

Identifikasi alkaloid. Sebanyak 0,0549 g sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2N kemudian diuji dengan tiga pereaksi alkaloid, yaitu pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer dan pereaksi Wagner. Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Meyer terbentuk endapan putih kekuningan, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff.

Identifikasi flavonoid. Sebanyak 0,0549g sampel ditambahkan 0,1mg serbuk magnesium dan 0,4ml amil alkohol dan 4ml alkohol kemudian campuran dikocok. Terdapatnya kandungan flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Identifikasi saponin. Sebanyak 0,0549 g sampel ditambahkan dengan 5ml akuades lalu dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya larutan disaring, filtratnya dikocok dengan kuat. Adanya kandungan saponin ditandai dengan timbulnya buih yang stabil selama 10 menit setelah pengocokan.

Identifikasi triterpenoid dan steroid. Sebanyak 0,0549g sampel dilarutkan dalam 2ml kloroform, setelah itu ditambahkan 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi

positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna kecoklatan atau violet (triterpenoid) atau warna hijau kebiruan (steroid).

Uji aktivitas antioksidan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Ekstrak kasar selada air dan bagian-bagiannya dari hasil ekstraksi tunggal dilarutkan dalam etanol dengan konsentrasi 0,100, 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm. Antioksidan sintetik BHT digunakan sebagai pembanding. Larutan DPPH dibuat dalam kondisi suhu rendah dan terlindung dari cahaya matahari, dengan menggunakan kristal DPPH dalam pelarut metanol dengan konsentrasi 1mM. Larutan ekstrak dan larutan antioksidan pembanding BHT yang telah dibuat, masing-masing diambil 4,5ml dan direaksikan dengan 500µL larutan DPPH 1mM. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi larutan blanko juga diukur untuk melakukan persen inhibisi. Larutan blanko dibuat dengan mereaksikan 4,5 ml pelarut methanol dengan 500 µl larutan DPPH 1mM dalam tabung reaksi, setelah itu aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dan antioksidan pembanding BHT dinyatakan dengan persen inhibisi (% inhibisi).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai konsentrasi sampel (ekstrak maupun antioksidan BHT) dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = a + bx$ digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*inhibitor concentration 50%*) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} .

Analisis uji daya toksisitas ekstrak selada air (BSLT). Uji toksisitas dilakukan untuk mengkaji daya toksisitas ekstrak selada air (*Nasturtium officinale* R. Br). Daya toksisitas diuji dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang merupakan pengujian toksisitas pada larva *artemia salina*. Persiapan larva udang dilakukan dengan menetasakan telur udang dalam air laut pada suhu 28°C dengan pengadukan terus menerus. Setelah inkubasi 24 jam, ekstrak selada air dilarutkan dalam air laut dengan konsentrasi (0, 100, 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm). Sebanyak 10 larva udang ditambahkan dalam setiap tabung yang mengandung sampel. Setelah 24 jam kemudian jumlah larva yang hidup dihitung dan

dicatat. Persentasi kematian setiap tabung ditentukan dengan rumus persen mortalitas = jumlah larva mati/jumlah larva hidup x 100% (Sumanthy & Sasidhiran 2011). Nilai LC 50 ditentukan dengan *probit analysis*.

Uji viabilitas terhadap sel vero dan uji daya hambat terhadap sel lestrari MCF-7 dengan MTT assay (Mattana et al. 2012). Sel vero dan sel MCF-7 dibiakkan selama 24 jam dalam media *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM). Sel vero dan sel MCF-7 yang telah dibiakkan selanjutnya ditambahkan dengan ekstrak selada air sebanyak 100 µL dengan konsentrasi ekstrak 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm. Inkubasi dilakukan dalam waktu 48 jam pada inkubator dengan suhu 37°C, sel yang tidak mendapat perlakuan ekstrak selada air digunakan sebagai kontrol.

Uji MTT assay dilakukan setelah inkubasi 48 jam dengan menambahkan 5mg/ml reagen 3-(4-,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromide (MTT) sebanyak 10µl ke dalam setiap well, kemudian diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C dan atmosfer 5% CO₂. Sel hidup akan bereaksi dengan reagen MTT membentuk formazan. Formazan dilarutkan menggunakan etanol 70% lalu nilai serapannya diukur menggunakan ELISA reader panjang gelombang 595 nm. Hasil uji serapan dikonversikan ke dalam bentuk persentase viabilitas menggunakan rumus: %viabilitas = (absorbansi sampel/absorbansi kontrol) x 100% sedangkan untuk uji daya hambat sel lestrari MCF-7. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan persamaan regresi antara persen kematian dan log konsentrasi, dengan memasukkan Y= 50, dari persamaan tersebut dan dihasilkan nilai X, IC₅₀ merupakan antilog dari nilai X (Prakash et al. 2011).

Pengolahan dan analisis data

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan *Microsoft Excel 2010* dan *SPSS 2016*. Analisis data menggunakan ANOVA (Gaspersz 1991) setelah sebelumnya dilakukan uji homogenitas untuk melihat persebaran data normal. Jika terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan akan ditindaklanjuti dengan uji Duncan (Steel & Torrie 1989).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik sampel

Tanaman selada air diperoleh dari areal persawahan di Desa Cibitung, Berdasarkan ha-

sil determinasi dari LIPI, selada air termasuk dalam famili Brassicaceae. Selada air memiliki daun dengan bentuk agak bulat berdiameter sekitar 1,5-3 cm dan tumbuh didaerah perairan atau rawa-rawa.

Ekstraksi sampel

Rendemen merupakan presentase perbandingan antara berat bagian bahan yang dapat dimanfaatkan dengan berat total bahan. Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi etanol sebesar 25,31% sedangkan untuk rendemen ekstrak air sebesar 32,76%. Rendemen dipengaruhi oleh kadar air, sampel kering akan menghasilkan rendemen lebih banyak dibandingkan dari bahan segar, karena kadar air sampel sudah berkurang sedangkan bahan segar masih mempunyai kadar air yang tinggi.

Senyawa fitokimia

Hasil uji fitokimia pada tanaman selada air terdiri dari: flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Uji fitokimia (Tabel 1) pada penelitian ini dilakukan pada kondisi ketika sampel berbentuk serbuk padatan sebelum diekstrak dan setelah diekstrak dengan menggunakan etanol 70%. Pada kedua jenis sampel yang dilakukan uji fitokimia ditemukan adanya kandungan yang sama, hal yang membedakan dari ketiga hasil uji fitokimia yaitu potensi kandungan fitokimia yang dimiliki masing-masing jenis sampel.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia selada air

Jenis sampel	Flavonoid	Tanin	Saponin	Steroid
Serbuk	++	+	++	+++
Ekstrak air	++	++	++	++
Ekstrak etanol	+++	+++	+	+++

Keterangan: + positif lemah, ++ positif kuat, +++ positif kuat sekali, - hasil negatif.

Hasil dari penelitian ini sejalan dengan penelitian Aberoumand (2012) bahwa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin dan saponin ditemukan pada beberapa jenis tanaman yang memiliki peranan dalam *pharmacology* sebagai antibakteri, antikanker, stimulan, antihipertensi, vasodilator, antiinflamasi dan antispasmodik. Ren et al. (2003) menjelaskan mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dalam menghambat sel kanker yaitu dengan cara menginduksi apoptosis melalui penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II, modulasi *signalling pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-XL,

peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak, serta aktivasi *endonuclease*.

Aktivitas antioksidan

Selada air diekstrak dengan menggunakan pelarut air dan etanol 70%, kemudian diuji aktivitas antioksidannya. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 100 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 ppm (Molyneux 2003). Berdasarkan klasifikasi tersebut maka dapat disimpulkan ekstrak etanol selada air memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 102,67 ppm. Hal ini dikarenakan terdapatnya kandungan fenol dalam selada air. Penelitian Nurlatifah (2014) mengemukakan bahwa kandungan fenolik dalam suatu bahan dapat meredam radikal bebas dengan cara mengikat ion logam dan menginhibisi sistem enzimatis yang berperan dalam pembentukan radikal bebas seperti *cyclooxygenase*, *mono-oxigenase* atau *xanthine oksidase*.

Penelitian yang dilakukan oleh Salamah *et al.* (2011) menunjukkan bahwa nilai IC_{50} selada air dengan menggunakan pelarut etanol sebesar 331,39 ppm hal ini dikarenakan ekstrak yang digunakan dalam penelitian menggunakan ekstrak kasar ada beberapa senyawa lain yang terikat selama proses ekstraksi, senyawa-senyawa ini meningkatkan hasil rendemen akan tetapi tidak meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal ini sejalan dengan penelitian Sa'adah (2016) dengan menggunakan metode yang sama dan menggunakan ekstrak selada air didapatkan nilai IC_{50} sebesar 337,32 ppm. Uji antioksidan yang dilakukan Damayanthi *et al.* (2010) pada sampel bekatul dalam bentuk minuman ditemukan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan mampu mereduksi radikal bebas DPPH yang setara dengan kemampuan vitamin C sebesar 28,74 kali. Menurut penelitian Mazandarani *et al.* (2012), kandungan total fenol dan flavonoid dari ekstrak selada air mempunyai hubungan yang positif dengan aktivitas antioksidan sebagai penghambat radikal bebas. Komponen fenol dan flavonoid merupakan konstituen penting sebagai penghambat radikal bebas dan menstabilkan lipid peroksidasi (Ozen 2009).

Toksisitas ekstrak selada air (*Nasturtium officinale* R. Br)

Nilai LC_{50} ekstrak selada air dengan menggunakan pelarut etanol didapatkan sebesar 406,02 ppm sedangkan dengan menggunakan pelarut air didapatkan nilai sebesar 558,84 ppm. Ekstrak kasar yang mempunyai nilai dibawah 100 ppm mempunyai aktivitas sitotoksik yang kuat, nilai LC_{50} antara 100 ppm sampai 500 ppm mempunyai aktivitas sitotoksik yang menengah, sedangkan ekstrak dengan nilai 500 ppm-1000 ppm mempunyai sitotoksik yang lemah (Nguta *et al.* 2012). Berdasarkan klasifikasi diatas dapat dikategorikan ekstrak selada air memiliki efek toksisitas menengah dengan nilai LC_{50} berada pada kisaran 100 ppm sampai 500 ppm baik menggunakan pelarut etanol maupun air. Hasil uji toksisitas ekstrak selada air ditampilkan pada Tabel 2.

Nilai LC_{50} ekstrak selada air berkisar antara 406,02 ppm sampai 558,84 ppm yang dapat dikategorikan sebagai toksisitas tingkat sedang. Nilai LC_{50} tertinggi ditemukan pada ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak air. Perbedaan hasil ini bisa disebabkan karena adanya perbedaan metode pada proses ekstraksi dan kemampuan pelarut dalam menarik komponen aktif ekstrak selada air. Metode perebusan yang menggunakan proses pemanasan dapat menyebabkan rusaknya komponen aktif selada air, hal tersebut diduga menyebabkan tingginya nilai nilai LC_{50} ekstrak air perebusan. Kandungan senyawa aktif yang terkandung pada masing-masing jenis ekstrak dapat mempengaruhi nilai toksisitasnya (Ali *et al.* 2013).

Hasil uji viabilitas selada air (*Nasturtium officinale* R. Br) terhadap sel vero dengan metode MTT Assay

Persentase viabilitas sel vero pada kedua ekstrak menunjukkan nilai di atas 50%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak selada air tidak bersifat toksik seperti terlihat pada ekstrak air konsentrasi terendah yaitu 50 ppm menunjukkan persentase viabilitas sel vero yaitu sebesar 88,09% (Gambar 1). Ekstrak etanol sela-

Tabel 2. Hasil uji toksisitas ekstrak selada air

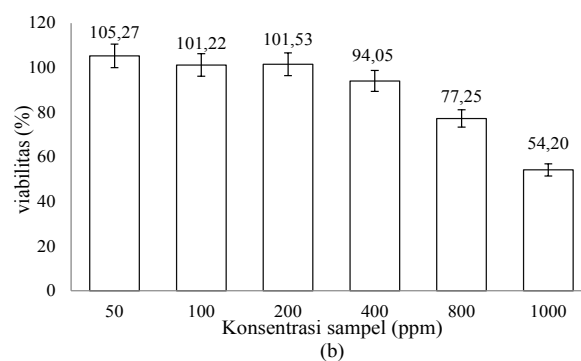
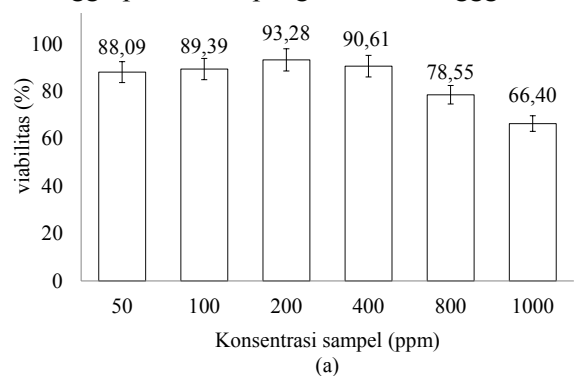
Jenis ekstrak	Nilai LC_{50} (ppm)
Ekstrak etanol	406,02
Ekstrak air	558,84

da air menunjukkan persentase viabilitas sel vero diatas 100%. Hal tersebut dapat mengindikasikan bahwa ekstrak selada air memberikan nutrisi terhadap pertumbuhan sel vero, sehingga jumlah sel vero yang hidup lebih banyak dibandingkan jumlah sel vero yang hidup pada kontrol.

Pengaruh konsentrasi selada air (*Nasturtium officinale* R.Br) terhadap daya hambat sel kanker payudara (MCF-7)

Pengaruh ekstrak selada air terhadap daya toksisitas sel kanker payudara (MCF-7) menggunakan metode MTT. Nilai IC₅₀ pada sel kanker payudara (MCF-7) paling tinggi pada ekstrak selada air ditemukan pada jenis pelarut air (Tabel 3).

Foto morfologi sel MCF-7 tanpa pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak yang diamati dengan menggunakan mikroskop dapat dilihat pada Gambar 2. Perubahan morfologi sel MCF-7 dapat ditandai dengan beberapa perubahan fisik (Arianingrum *et al.* 2011). Sel tanpa perlakuan tampak melekat pada bagian permukaan tempat tumbuh sel dan memiliki dinding yang halus, sedangkan sel yang mati sudah tidak terlihat berkoloni dan telah lepas dari tempat tumbuhnya. Sel yang mati akan kehilangan cairan sitoplasma karena rusaknya membran sel, sehingga pada hasil pengamatan menggunakan



Gambar 1. Persentase viabilitas sel vero dengan (a) ekstrak air, (b) ekstrak etanol

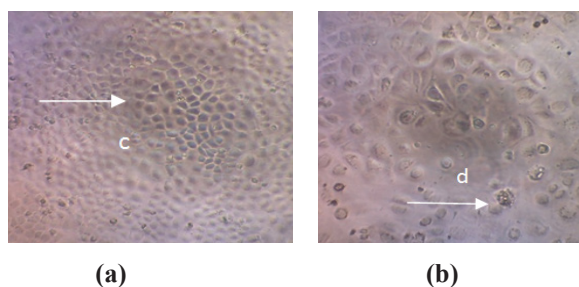
mikroskop akan menunjukkan warna hitam atau gelap.

Penelitian yang dilakukan oleh Chai *et al.* (2015) mengenai tanaman yang tergolong EFM (*edible fresh water macrophytes*) diantaranya selada air memiliki kandungan *phenethyl isothiocyanate* (PEITC) yang berpotensi sebagai anti kanker dengan cara menghambat proses karsinogenesis pada jalur inisiasi, proliferasi dan

Tabel 3. Nilai IC₅₀ ekstrak selada air

Jenis ekstrak selada air	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)
Etanol 70%	1.696
Air	1.786

metastasis. Ekstrak selada air pada konsentrasi 50 ppm dapat berperan sebagai antigenotoksik pada sel kanker kolon (HT-29) yang dikaitkan dengan kandungan glikosida kuersetin yang terdeteksi melalui analisis HPLC-MS pada selada air (Boyd *et al.* 2006). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak selada air dengan konsentrasi rendah tidak dapat menghambat sel kanker payudara (MCF-7), hanya bisa menghambat pada konsentrasi tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 1.696 µg/ml, sejalan dengan penelitian Rahman (2013) yang menggunakan ekstrak takokak dapat menghambat sel kanker MCF-7 pada konsentrasi 1.153 µg/ml.



Gambar 2. Gambaran morfologi sel MCF-7 (sel kanker payudara) (a) tanpa penambahan ekstrak, (b) dengan penambahan ekstrak etanol pada konsentrasi 1.000 ppm; (c) sel hidup, dan (d) sel mati.

Hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan ekstrak berpengaruh secara signifikan terhadap persen inhibisi sel kanker payudara (MCF-7) $p < 0,05$ ($p = 0,015$). Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa persentase penghambatan sel MCF-7 pada konsentrasi 50 ppm berbeda nyata dengan persentase penghambatan sel MCF-7 pada konsentrasi 800, 400 dan 1.000 ppm.

KESIMPULAN

Hasil pengujian fitokimia pada ekstrak selada air ditemukan adanya kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Uji aktivitas antioksidan ditemukan hasil ekstrak etanol selada air sebesar 102,26 ppm yang berpotensi sebagai antioksidan. Pada uji toksisitas *Artemia salina* menunjukkan bahwa ekstrak selada air bersifat toksik dengan nilai 406,02 ppm. Pengujian toksisitas terhadap sel vero menunjukkan semua jenis ekstrak tidak bersifat toksik. Ekstrak selada air mampu menghambat sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 1.696 $\mu\text{g/ml}$.

Penelitian ini menyimpulkan selada air dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif pangan fungsional mengingat kandungan fitokimia dan antioksidan pada uji sel vero menunjukkan hasil bahwa selada air dapat memengaruhi pertumbuhan sel normal. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini masih dalam bentuk ekstrak kasar, disarankan untuk diadakannya uji lanjut berupa fraksinasi untuk lebih mengetahui kandungan yang berpotensi sebagai zat anti kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberoumand A. 2012. Screening of phytochemical compounds and toxic proteinaceous protease inhibitor in some lesser-known food based plants and their effects and potential applications in food. *IJFNS* 2:16-20.
- Ali MR, Hossain M, Runa JF, Hasanuzzaman M. 2013. Preliminary cytotoxic activity of different extracts of *Avrrhoa bilimbi*. *ICPJ* 2(3):83-84.
- Arianingrum R, Arty IS, Atun S. 2011. Uji sitotoksik beberapa senyawa monopara hidroksi kalkon terhadap cancer cell line T47D. *Jurnal Penelitian Saintek* 16(2): 121-132.
- Boyd LA, Mark J, McCann, Yumi H, Richard N, Bennett, Chris I. R. Gill, Ian R. Rowland. 2006. Assessment of The Anti-Genotoxic, Anti-Proliferative, and Anti-Metastatic Pottencial of Crude Watercreess Extract in Human Colon Cancer Cells. *Nutrition and Cancer* 55(2):232-241.
- Chai T, Ooh KF, Quah Y, 2015. Edible freshwater macrophytes: a source of anticancer and antioxidative natural products-a mini-review. *Phytochem Rev* 14:443-457
- Damayanthi E, Kustiyah L, Malani K, Farizal H, 2010. Aktivitas Antioksidan Bekatul Lebih Tinggi Daripada Jus Tomat dan Penurunan Aktivitas Antioksidan Serum Setelah Intervensi Minuman Kaya Antioksidan. *J Gizi Pangan* 5(3):205-210.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 381 Tahun 2007 tentang Kebijakan Obat Tradisional Nasional Tahun 2007. Jakarta: Depkes RI.
- Gaspersz V. 1991. Metode Perancangan Percobaan. Bandung: Armico.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia. Padmawinata K dan Soediro L penerjemah. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Hoseini HF, Gohari AR, Soodabeh S, Naghi SM, Abbass H. 2009. The Effect of *Nasturtium officinale* of Blood Glucose Level in Diabetic Rats. *Pharmacologyonline* 3: 866-871.
- Ibrahim A, Ibrahim WG, Shousha, El-Sayed M, El-Sayed, Shimaa ShR 2015. *Nasturtium Officinale* And *Raphanus Sativus* Crude Extracts Protect Ovary From Radiation-Induced Dna Damage. *WJPPS* 4(4): 80-102.
- Mattana CM, Satorres SE, Escobar F, Sabini L, Fusco M, Alcaraz LE. 2012. Antibacterial and cytotoxic activities of Acacia aroma extracts. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 24: 308-313.
- Mazandarani M, Momeji A, Moghaddam PZ. 2012. Evaluation of Phytochemical and Antioxidant Activities from Different Parts of *Nasturtium officinale* R. Br in Mazandaran. *Iranian Journal of Plant Physiology* 3(2):659-664.
- Molyneux P. 2003. The use of the stable free radikal diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology* 26(2):211-219.
- Nguta JM, Mbaria JM, Gakuya DW, Gathumbi PK, Kabasa JD, Kiama SG. 2012. Evaluation of acute toxicity of crude plant extracts from kenyan biodiversity using brine shrimp, *Artemia salina* L. (Artemiidae). *The Open Conference Proceedings Journal* 3:30-34.
- Nurlatifah E. 2014. Analisis Kapasitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenol pada Rempah dan Bahan Penyegar.[Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Ozen T. 2009. Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (watercress)

- leaf extract. *J Drug Research* 66(2):187-193.
- Prakash SS, Poenam SS, Sarav AD, Maulik PS. 2011. In-vitro toxicity evaluation of novel n-substituted bis-benzimidazole derivatives for anti-lung and anti-breast cancer activity. *Annals of Biological Research*. 2(1): 51-59.
- Rahman N, Marliyati SA, Damanik MRM, Anwar F. 2013. Antioxidant Activity and Total Phenol content of Ethanol Extract Takokak Fruit (*Solanum Torvum*). *PJN* 12(11):973-977.
- Rajalakshmi PA, Agalyaa S. 2010. Docking analysis of phenethyl isothiocyanate (PEITC) from *Nasturtium officinale* (watercress), on 4(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), carcinogenic action in oral cancer. *IJPBS* 1(4):67-74.
- Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L, 2003, Flavonoids: promising anticancer agents. *Med Res Rev* 23(4):519-534.
- Sa'adah L. 2016. Analisis Antioksidan pada Selada Air (*Nasturtium officinale* R. Br.) sebagai Antikanker Di dalam: nama editor. 2016 Agustus 20; Semarang, Indonesia. Semarang: Sains Terapan: 456-459.
- Salamah E, Purwaningsih S, Permatasari E. 2011. Antioksidan pada selada air. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(2): 85-91.
- Steel RED, Torrie JH. 1989. Prinsip dan Prosedur Statistika. Bambang Sumantri penerjemah. Jakarta: PT Gramedia.
- Stephens, James M. 2012. Watercress –*Nasturtium officinale* R. Br. IFAS Extension. USA: University of Florida.
- Solanki SS, Selvanayagam M. 2013. Phytochemical screening and study of predictive toxicity of certain medicinal plants and extracts using brine shrimp. *Journal Herbal Science Technology* 10(1):1-4.
- Sumanthy V, Sasidharan S. 2011. In vivo toxicity Study of casseia surrattensis flower extract. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2(3): 607-617.
- Wetwitayaklung P, Phaechamud,SS T. 2011. Antioxidant activities and phenolic content of solamun and capsicum sp. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2(2):146-154.