

Total Phenolic, Anticancer and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Piper retrofractum* Vahl from Pamekasan and Karang Asem

(Total Fenolik, Aktivitas Antikanker dan Antioksidan Ekstrak Etanol Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dari Pamekasan dan Karang Asem)

Kristina Mulia¹, Akhmad Endang Zainal Hasan¹, Suryani^{1*}

¹*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

Received : 30 July 2015; Accepted: 28 January 2016

*Corresponding author: Dr. Suryani, SP, M.Sc; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; E-mail: ani3110@yahoo.com

ABSTRACT

Cancer is a deadly disease that ranks the second after heart disease. One of the causes of cancer is free radicals causing oxidative stress in humans. Antioxidant is compound that can reduce oxidative stress. The antioxidant activity is closely connected with anticancer activity. It is known that in addition to being an analgesic, aphrodisiac of Java chili also has potential as anticancer. This study examined the potential anticancer and antioxidant from the ethanol extract of Java chili from Pamekasan and Karang Asem. The method used in this study began with the extraction of Java chili using ethanol 70 %, phytochemical testing, determination of total phenol anticancer testing using MTT method on MCF-7 breast cancer cell line and antioxidant testing using DPPH. This study uses Java chili extract derived from Pamekasan and Karang Asem. IC₅₀ value of the cytotoxic activity originating from the area Karang Asem amounted to 63.283 ppm and Pamekasan of 83.662 ppm. IC₅₀ value of antioxidants samples derived from Karang Asem area of 285.613 ppm and are derived from Pamekasan amounted to 288.037 ppm.

Keywords: anticancer, antioxidant, java chili, *Piper retrofractum* Vahl

ABSTRAK

Kanker adalah penyakit mematikan yang menempati posisi kedua setelah penyakit jantung. Salah satu penyebab penyakit kanker adalah radikal bebas yang mengakibatkan stress oksidatif pada manusia. Antioksidan adalah senyawa yang dapat mengurangi stress oksidatif. Aktivitas antioksidan erat hubungannya dengan aktivitas antikanker. Diketahui bahwa selain sebagai analgetik, afrosidiak cabe jawa juga berpotensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan mengkaji potensi antikanker dan antioksidan dari ekstrak etanol cabe jawa yang berasal dari Pamekasan dan Karangasem.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini dimulai dengan ekstraksi cabe jawa menggunakan etanol 70 %, pengujian fitokimia, penentuan total fenol, pengujian antikanker menggunakan metode MTT terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan pengujian antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Penelitian ini menggunakan ekstrak cabe jawa yang berasal dari daerah Pamekasan dan Karangasem. Nilai IC_{50} dari aktivitas sitotoksik berasal dari daerah Karangasem sebesar 63.283 ppm dan Pamekasan sebesar 83.662 ppm. Nilai IC_{50} antioksidan sampel yang berasal dari daerah Karangasem sebesar 285.613 ppm dan yang berasal dari Pamekasan sebesar 288.037 ppm.

Kata kunci: antikanker, antioksidan, cabe jawa, *Piper retrofractum* Vahl

1. PENDAHULUAN

Kanker adalah tumor ganas yang ditandai dengan pertumbuhan abnormal sel-sel tubuh. Menurut laporan WHO, terdapat lebih dari 10 juta kasus kanker pertahun di dunia. Penyakit kanker di Indonesia merupakan penyebab kematian ke-6. Penyakit kanker di Amerika Serikat merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit kardiovaskular. (Tjindarbumi & Mangunkusumo 2002). Kanker payudara termasuk jenis kanker yang paling sering diderita wanita disamping kanker kulit dan merupakan penyebab kematian kedua setelah kanker paru. Kanker payudara di Amerika Serikat menduduki peringkat pertama (32 %) dan kematian karena kanker jenis ini mencapai 18 % (King, 2000). Kanker payudara di Indonesia menduduki peringkat kedua setelah kanker leher rahim (serviks) dan kasusnya mencapai 17.77 % (Tjindarbumi & Mangunkusumo 2002).

Salah satu penyebab penyakit kanker adalah radikal bebas yang menyerang sel tubuh manusia. Radikal bebas diduga merupakan penyebab kerusakan sel yang mendasari timbulnya penyakit kanker termasuk kanker payudara (Risky & Suyatno 2014). Senyawa yang dapat menunda, menghambat atau mencegah oksidasi bahan atau senyawa yang mudah teroksidasi

oleh radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif adalah antioksidan (Dai 2010). Antioksidan telah terbukti bermanfaat dalam pencegahan sel kanker (Chaudhary 2015).

Penelitian tentang obat kanker telah banyak dilakukan. Salah satunya adalah kemoterapi dan penggunaan obat-obatan untuk menghambat tumbuhnya sel kanker. Penggunaan obat seperti doksorubisin merupakan salah satu cara untuk mengatasi perkembangan kanker dan mengurangi pembentukan kanker baru. Efek samping dari pengobatan dengan doksorubisin ini adalah terjadinya kerontokan rambut, jantung berdebar, dan menurunnya jumlah sel darah putih sebagai agen pertahanan tubuh. Salah satu tantangan dalam pengobatan kanker adalah meningkatkan efektivitas dan mengurangi buruknya pengaruh pengobatan utama. Upaya yang dilakukan adalah menemukan dan mengembangkan obat berbasis bahan alam (herbal), salah satu diantaranya adalah cabe jawa (Budiman *et al.* 2013).

Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) merupakan tanaman penghasil rempah dan fitofarmaka yang penting baik ditinjau dari pemenuhan kebutuhan bumbu dan obat tradisional (Soleh 2003). Cabe jawa diketahui memiliki aktivitas antikanker. Ekowati *et al.* (2012) menunjukkan bahwa jahe, cabe jawa dan kombinasi jahe dan cabe jawa memiliki aktivitas sitotoksik pada sel

myeloma dengan IC_{50} (*Inhibitory Concentration* 50 %) dari masing-masing 28, 36, dan 55 mg/ml dan sel line WiDr dengan masing-masing IC_{50} 74, 158, dan 64 mg/ml. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa jahe (*Zingiber officinale*), cabe jawa (*Piper retrofractum*) dan kombinasinya menunjukkan aktivitas sitotoksik, induksi apoptosis dan ekspresi p53 dari sel HeLa, T47D (*Tumor 47 Ductal*), dan sel line MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*).

Serbuk dari buah cabe jawa di Madura biasa dibubuhkan ke dalam minuman seperti teh, susu, dan kopi (Djauhariya & Rosman 2008). Penduduk Ulias di Ambon menggunakan buah cabe jawa sebagai rempah pengganti cabe rawit (Heyne 1987). Cabe jawa merupakan salah satu tanaman obat unggulan untuk dilakukan uji klinik (Dewoto 2007). Penelitian senyawa bio-aktif tumbuhan obat dan pemanfaatannya akan semakin meningkat termasuk cabe jawa (Evrizal 2013). Dilihat dari produksi, buah cabe jawa tersebar di beberapa provinsi di Indonesia. Sentra produksi buah cabe jawa adalah Jawa Timur dan Lampung (Evrizal 2013).

Penelitian ini bertujuan menguji komponen senyawa kimia, total fenolik, aktivitas antikanker dan antioksidan ekstrak etanol cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dari dua lokasi di daerah sentra produksi Pamekasan (Madura) dan Karangasem (Bali) terhadap sel kanker payudara MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*). Hal ini dapat memberikan informasi penting mengenai potensi cabe jawa sebagai anti kanker secara *in vitro* pada sel kanker payudara MCF-7.

2. METODOLOGI

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) yang berasal dari Pamekasan dan Karangasem, pelarut DMSO, etanol 70 %, amonia, kloroform, larutan H_2SO_4 , CH_3COOH , HCl pekat, dietilester, bubuk Mg, amilalkohol, $FeCl_3$ 1 %, $AlCl_3$, Na-asetat, dan pereaksi analisis fitokimia, DPPH, doksorubisin, dan air suling.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laminar, inkubator, kulkas, pipet mikro, *rotary evaporator*, *Shaker*, pemanas gelombang mikro, plate 96 sumuran, spektrofotometer UV-Vis merk shimadzu, ELISA reader, dan peralatan gelas lainnya.

Ekstraksi cabe jawa

Sebanyak 20 g serbuk cabe jawa berukuran 60 mesh dipanaskan dengan pemanas gelombang mikro (frekuensi 2.450 MHz dan daya 800 Watt) selama 5 menit, dimaserasi dengan etanol 70 % 1:20, ditutup sambil diaduk dengan *orbital shaker* selama 18 jam, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotavapor pada suhu 50 ± 2 °C selama tiga jam atau hingga air dan etanol menguap sempurna. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya. Hasil ekstraksi disimpan dalam botol gelap dan ditempatkan di ruang yang tidak terkena sinar matahari langsung. Rendemen ditentukan dengan rumus sebagai berikut : Rendemen (%) = (bobot hasil ekstraksi/bobot cabe jawa) x 100 (Hasan 2013).

Pengujian kualitatif komponen kimia

Uji kualitatif cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) atau uji fitokimia meliputi uji keberadaan alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin dan tanin (Harborne 1987).

Penentuan total fenolik

Total fenol ditentukan oleh reagen Folin Ciocalteu. Sebuah ekstrak encer masing-masing ekstrak tumbuhan atau asam galat (senyawa fenolik standar) adalah dicampur dengan reagen Folin Ciocalteu 10 % dan Na₂CO₃ 1M. Campuran yang didiamkan selama 15 menit dan total fenol diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Kurva standar dibuat dengan menggunakan 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 mg L⁻¹ larutan asam galat dalam metanol : Air (50:50, v / v). Total nilai fenol yang dinyatakan dalam setara asam galat (mg g⁻¹ massa kering) (Pourmorad 2006).

Pengujian aktivitas antikanker dengan menggunakan metode MTT

Ekstrak dilarutkan dengan pelarut DMSO untuk dibuat larutan stok 10 %. Larutan stok dilarutkan dalam media RPMI 1640 untuk membentuk larutan substok 1 %. Pembuatan variasi konsentrasi dimulai dari 250, 100, 50, 10 dan 1 µg/ml. Larutan uji sebanyak 20 µL dengan berbagai konsentrasi tersebut ditambahkan dalam sumur yang sudah diberikan sel kanker payudara (MCF-7) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan kandungan 5 % CO₂. Jumlah sel yang hidup dari tiap sumur dihitung menggunakan ELISA Reader pada panjang gelombang 570 nm. Nilai IC₅₀ dibuat dengan membuat grafik antara persentase sel hidup dengan konsentrasi sampel. Persentase sel mati dihitung dengan membandingkan persamaan: %

Sel mati = (Ab-Au)/Ab x 100b %, dimana Ab: Absorbansi blank (DMSO) dan Au: Absorbansi larutan contoh (Hasan 2013)

Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH

Aktivitas antioksidan dari radikal bebas DPPH secara spektrofotometri. Ekstrak dilarutkan dalam etanol dengan variasi konsentrasi 7.625; 15.125; 32.25; 62.5; 125; 250 dan 500 µg/mL. Dalam campuran uji terkandung 80 µL ekstrak dan 80 µL dari DPPH (dilarutkan didalam etanol). Didiamkan pada suhu kamar dan gelap selama 30 menit. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC₅₀, dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

Nilai IC₅₀ dihitung dengan membuat grafik antara persentase penghambatan radikal bebas dengan konsentrasi sampel.

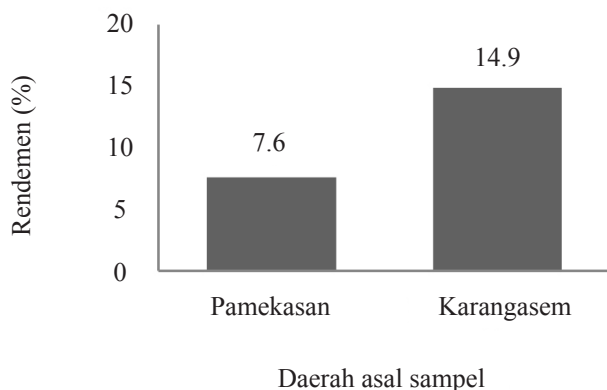
$$\text{Persen penghambatan radikal bebas} = \frac{(A - B)}{A} \times 100 \%$$

Dimana, A adalah absorbansi kontrol negatif (DPPH ditambah etanol) dan B adalah absorbansi dari sampel (DPPH, etanol ditambah sampel) (Aranda 2011).

3. HASIL

Rendemen ekstrak cabe jawa

Ekstraksi cabe jawa menggunakan pelarut etanol 70 %. Tujuan melakukan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat di dalam simplisia. Hasil rendemen ekstrak cabe jawa yang bersal dari Peme- kasan dan Karang Asem sebesar 7.6 % dan 14.9 %.



Gambar 1 Hasil rendemen ekstrak cabe jawa

Komponen fitokimia ekstrak cabe jawa

Komponen senyawa kimia di dalam ekstrak etanol cabe jawa ditentukan dengan pengujian fitokimia. Uji fitokimia meliputi uji keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, Steroid, dan saponin. Daerah Pamekasan memiliki kandungan senyawa kimia Alkaloid, Steroid, Flavonoid, Tanin, dan Saponin. Daerah Karang Asem Alkaloid, Steroid, Flavonoid, dan Saponin (Tabel 1).

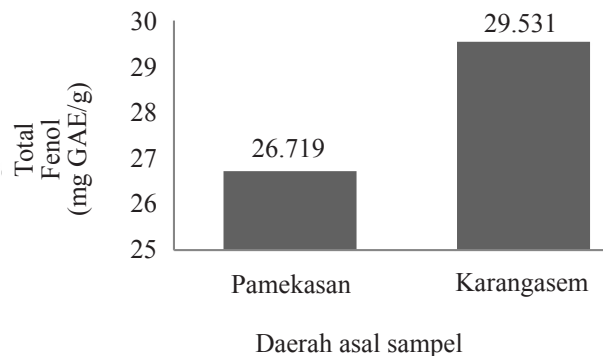
Total senyawa fenolik

Kandungan fenolik total pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau Gallic Acid Equivalent (GAE). Asam galat GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan. Asam galat digu-

Tabel 1 Kandungan kimia ekstrak etanol cabe jawa

Golongan Senyawa	Lokasi	
	Pamekasan	Karang Asem
Alkaloid	+	+
Steroid	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	-
Saponin	+	+

Keterangan : (+) = hasil positif (-) = hasil negatif



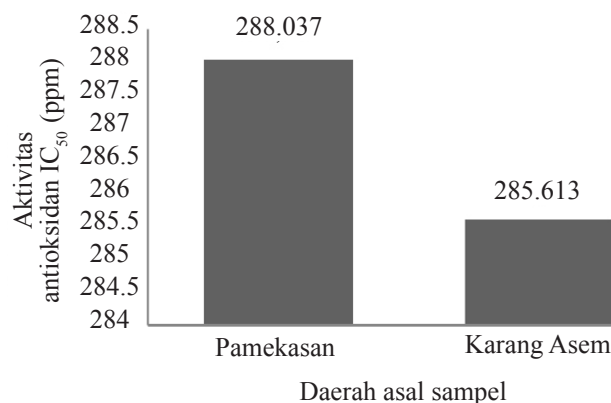
Gambar 2 Kandungan total fenolik

nakan sebagai standar, konsentrasi yang digunakan, yaitu 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 dan 35 mg/L, dengan persamaan kurva standar $y = 0.0352x + 0.0325$ dengan $R^2 = 0.9923$

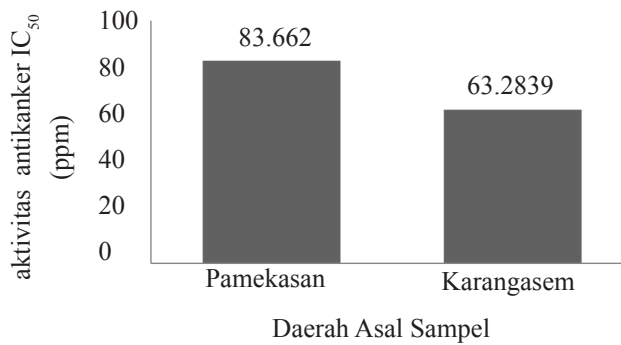
Perlakuan sampel dibuat sama dengan metode pembuatan kurva standar. Total fenolik dihitung berdasarkan nilai ekuivalen asam galat. Data hasil perhitungan ekstrak cabe jawa yang berasal dari Pamekasan sebesar 26.719 mg GAE/g dan 29.531 mg GAE/g.

Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pamekasan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 288.037 $\mu\text{g/mL}$. Karangasem memiliki aktivitas antioksidan sebesar 285.613 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 3 Aktivitas antioksidan



Gambar 3 Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker MCF-7

Aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7 dengan metode MTT

Sel kanker payudara MCF-7 diberi perlakuan dengan ekstrak etanol cabe jawa. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol cabe jawa dapat diketahui melalui nilai IC₅₀. Penelitian ini dibuat variasi konsentrasi yang dibuat dari larutan induk sebesar 1, 10, 50, 100 dan 250 µg/mL. Pamekasan sebesar 83.662 µg/mL, Karangasem sebesar 63.2839 µg/mL.

4. PEMBAHASAN

Pada ekstraksi cabe jawa komponen utama yang diinginkan adalah golongan senyawa fenolik khususnya flavonoid. Ekstraksi cabe jawa menggunakan perlakuan pemanasan gelombang mikro (*microwave-assited extraction*, MAE). Pemanasan menggunakan gelombang mikro (*microwave*) terjadi melalui interaksi langsung antara material dengan gelombang mikro mengakibatkan transfer berlangsung cepat dan berpotensi meningkatkan kualitas produk (Kurniasari 2008).

Cabe jawa pada penelitian ini didapat dari Pamekasan dan Karangasem. Hasil ekstrak cabe jawa menunjukkan perbedaan persentase rendemen. Hasil rendemen ekstrak cabe jawa

dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil rendemen berasal Pamekasan sebesar 7.6 % dan yang berasal dari Karangasem sebesar 14.9 %.

Kadungan senyawa aktif yang terdapat di dalam buah (Haryudin dan Rostiana 2011; Evrizal 2013), perbedaan daerah asal tanaman cabe jawa dan kepolaran pelarut, hal tersebut yang menyebabkan perbedaan hasil rendemen ekstrak cabe jawa yang mengarah pada perbedaan jenis dan jumlah flavonoid (Paviani *et al.* 2011).

Istiqomah (2013) membandingkan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa. Hasil rendemen ekstrak etanol 95 % cabe jawa dengan metode maserasi sebesar 8.83 % dan menggunakan metode sokletasi sebesar 15.75 %. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil rendemen pada penelitian ini.

Potensi suatu bahan bioaktif dapat dikarakterisasi melalui analisis kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam suatu ekstrak (Utami 2014). Penapisan fitokimia merupakan metode pendekatan yang dapat digunakan untuk mengungkapkan keberadaan senyawa-senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan. Senyawa yang dianalisis meliputi alkaloid, steroid, flavonoid, tanin dan saponin.

Tabel 1 lokasi Pamekasan mengandung komponen senyawa kimia alkaloid, steroid, flavonoid, tannin dan saponin. Karangasem mempunyai komponen senyawa kimia yaitu alkaloid, steroid, flavonoid, dan saponin untuk tanin diperoleh uji negatif artinya tidak terdapat tanin pada lokasi tersebut. Setiap lokasi mengandung flavonoid yang di perlukan pada penelitian ini. Perbedaan komponen kimia secara umum terjadi karena perbedaan lokasi dan perbedaan tempat hidup dari cabe jawa tersebut.

Menurut Badan POM RI 2010, buah cabe jawa mengandung alkaloid, saponin, polifenol, minyak atsiri, asam palmitat, asam tetrahidropiperat, 1- undeselinil-3,4-metilendioksi-benzena dan sesamin. Senyawa piperin adalah senyawa golongan alkaloid. Senyawa piperin biasanya terkandung dalam cabe jawa. Piperin adalah amida yang pertama kali diisolasi dari spesies piper, berguna sebagai antipiretik, antioksidan, aktivitas anti-inflamasi dan anti-rematik (Joy 2010). Piperin yang terkandung dalam cabe jawa melindungi sel-sel dari kanker dengan mengikat protein di mitokondria untuk memicu apoptosis tanpa merugikan sel normal melalui peningkatan kegiatan enzim antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase (Selvendiran *et al.* 2003, Ekowati 2012).

Metabolit sekunder menentukan senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman. Metabolit sekunder adalah pertahanan diri atau adaptasi tanaman pada suatu daerah atau iklim tertentu (Bourgaud 2001). Aktivitas biologi tanaman dipengaruhi oleh jenis metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Unit struktur atau gugus molekul mempengaruhi aktivitas biologi karena berkaitan dengan mekanisme kerja senyawa terhadap reseptor di dalam tubuh (Cutler 2000).

Senyawa tersebut sebagian besar berkontribusi untuk interaksi tanaman dengan ekosistem, seperti antibiotik, anti-jamur, anti-virus (karena dapat melindungi tanaman dari patogen), dan alelopati (Bourgaud 2001). Sehingga metabolit sekunder tiap tanaman akan berbeda menurut tempat hidupnya (Bourgaud 2001). Terlihat dari hasil pengujian komponen senyawa kimia ekstrak cabe jawa yang berasal dari Pamekasan dan Karangasem (Tabel 1).

Fenolik adalah bagian dari metabolit sekunder yang melimpah di jaringan tanaman. Kandungan fenolik total pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Asam galat GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan.

Total senyawa fenolik pada sampel diketahui berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam mereduksi asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu yang dapat menghasilkan senyawa kompleks molibdenumtungsten berwarna biru (Rorong 2008). Pada saat direaksikan antara reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolik akan terjadi perubahan warna dari kuning menjadi biru. Warna biru teramati berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa fenolik yang terbentuk. Semakin pekat warna biru yang dihasilkan maka semakin banyak senyawa fenolik yang terdapat pada sampel (Budiarso 2014).

Dari data hasil perhitungan, sampel yang berasal dari Karangasem sebesar 29.531 mg GAE/ g, sedangkan yang berasal dari Pamekasan dengan total fenolik sebesar 24.559 mg GAE/g. Artinya didalam setiap gram ekstrak cabe jawa setara dengan 29.531 dan 24.559 mg asam galat.

Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne 1987). Polifenol mempunyai sifat antioksidan yang kuat dan dapat mencegah stress oksidatif yang berhubungan dengan penyakit kanker. Selain sebagai antioksidan polifenol memiliki beberapa tindakan biologis tertentu lainnya dalam mencegah dan atau mengobati penyakit (Dai 2010).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. DPPH umumnya digunakan untuk pengujian antioksidan secara *in vitro* (Zhou & Yu 2004). Metode uji DPPH merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang paling cocok bagi komponen antioksidan yang bersifat polar, karena kristal DPPH hanya dapat larut dan memberikan absorbansi maksimum pada pelarut etanol ataupun metanol (Amrun dan Umiah 2005). Aktivitas diukur dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas cahaya ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan DPPH. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul komponen sampel dengan mekanisme transfer elektron sehingga menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Zuhra *et al.* 2008).

Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang menyebabkan hilangnya 50 % dari aktivitas DPPH dan dihitung dengan data pada Gambar 3 diketahui bahwa sampel yang berasal dari daerah Karangasem memiliki aktivitas antioksidan yang di hitung dari IC_{50} sebesar 285.61 ppm sedangkan Pamekasan memiliki nilai IC_{50} sebesar 288.037 ppm. Tingkat kekuatan antioksidan dikatakan kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, aktif IC_{50} 50-100 ppm, sedang IC_{50} 101-250 ppm, Lemah IC_{50} 250-500 ppm, dan tidak aktif $IC_{50} > 500$ ppm (Jun *et al.* 2003). Dari perhitungan di atas terlihat bahwa aktivitas antioksidan dari kedua sampel memiliki aktivitas antioksidan tergolong lemah (IC_{50} 250-500 ppm).

Aktivitas antioksidan erat hubungannya dengan kandungan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan seperti senyawa fenol (Zubia 2007). Aktivitas antioksidan me-

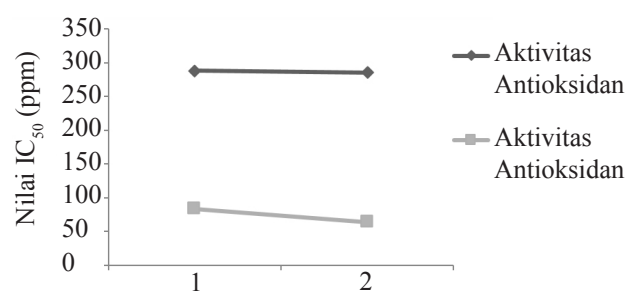
iliki korelasi terhadap kadar total senyawa fenolik, dimana kadar total senyawa fenolik yang berasal dari Karangasem lebih tinggi dibandingkan dengan yang berasal dari Pamekasan (Gambar 2). Semakin tinggi kadar total senyawa fenolik pada sampel berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} sampel. Aktivitas antioksidan yang dikatakan baik apabila memiliki nilai IC_{50} yang rendah. Polifenol dapat bersifat sebagai antioksidan karena kemampuannya mendonorkan atom hidrogen, menangkap radikal bebas dan sebagai pengikat logam (Lee 2004). Aktivitas antioksidan sangat ditentukan oleh reaktivitasnya sebagai agen pendonor hidrogen (Rice-Evans 1997).

Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol cabe jawa dapat diketahui melalui nilai IC_{50} . Pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode MTT *assay*. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difeniltetrazolium bromide] (MTT) oleh reduktase untuk membentuk produk formazan biru (Chapdelaine 2001). MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam PBS (*Phosphate Buffer saline*) berwarna biru (Padmi 2008). Konsentrasi formazan yang berwarna biru dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Padmi 2008). Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Jumlah sel yang hidup dihitung dengan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) *reader* (Chapdelaine 2001).

Ekstrak cabe jawa dengan perlakuan berbagai konsentrasi diberikan kepada sel kanker payudara MCF-7 menunjukkan adanya pengaruh terhadap sel kanker MCF-7. Gambar 4 menunjukkan peningkatan aktivitas sitotoksik seiring dengan bertambahnya konsentrasi terlihat dari nilai IC_{50} pada masing-masing sampel. Sampel tersebut mempunyai aktivitas sitotoksik sebesar 63.283 ppm untuk daerah Karangasem dan 83.662 ppm untuk daerah Pamekasan. Data di atas terlihat bahwa aktivitas sitotoksik dari kedua sampel tergolong aktif (IC_{50} 50-100 ppm).

Menurut temuan yang di laporkan Ekowati *et al.* (2011) hasil aktivitas sitotoksik ekstrak cabe jawa terhadap sel Hela sebesar 33 $\mu\text{g/mL}$ dan sel t47D sebesar 53 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Ekowati *et al.* (2012) aktivitas sitotoksik ekstrak cabe jawa terhadap myeloma sebesar 36 mg/mL dan sel WiDr sebesar 158 mg/mL . Dengan demikian cabe jawa dapat diasumsikan memiliki potensi sebagai *chemopreventif agent* terhadap sel kanker payudara (MCF-7). Ekstrak cabe jawa melindungi sel-sel normal dari sel kanker dengan mengikat protein pada mitokondria sel kanker untuk memicu apoptosis tanpa merusak sel-sel sekitarnya (Selvendiran *et al.* 2003).

Analisis korelasi untuk mengetahui ada tidaknya hubungan antara IC_{50} antioksidan dengan IC_{50} antikanker. Berdasarkan tampilan



Gambar 5 Hubungan antara IC_{50} antioksidan dengan antikanker

grafik di bawah ini, menunjukkan bahwa pengaruh perubahan nilai pada IC_{50} antioksidan mempengaruhi nilai IC_{50} antikanker, begitu juga sebaliknya. Kenaikkan atau penurunan nilai IC_{50} antioksidan berkorelasi positif dengan kenaikan/penurunan nilai IC_{50} antikanker. Semakin tinggi nilai IC_{50} aktivitas antioksidan maka, semakin tinggi pula nilai IC_{50} aktivitas antikanker. Kandungan senyawa fenolik dapat meningkatkan pengaruh penghambatan terhadap sel-sel kanker (Tsiapara 2009).

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Laboratorium Biokimia, FMIPA IPB dan Laboratorium Pusat Studi Satwa Primata IPB yang telah banyak membantu sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat

6. DAFTAR PUSTAKA

- Amrun MH, Umiyah. 2005. Pengujian Antiradical Bebas Difenilpicril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Sekitar Jember. *J Ilmu Dasar*, 6(2):110-114.
- Aranda *et al.* 2011. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Plants from Northeast of Mexico. Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine 2011:6. DOI:10.1093/ecam/nep127.
- Badan POM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Bougand F, Graval A, Melesi S, Gontier E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science* 161 (2001) 839-851.

- Chapdelaine JM. 2001. *MTT Reduction- A Tetrazolium- Based Colorimetric Assay for Cell Survival and Proliferation*, Application Note 5, MAXlineTM.
- Chaudhary S. 2015. Evaluation of antioxidant and anticancer activity of extract and fractions of *Nardostachys jatamansi* DC in breast carcinoma. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15:50. DOI : 10.1186/s12906-015-0563-1.
- Cutler, SJ., H. Cutler. *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals*. CRC Press. Boca Raton. USA 2000;l-13, 17- 22, 73-92.
- Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *J mol* 15,7313. Doi : 10.3390/molecules 15107313.
- Dewoto, H.R. 2007. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57(7): 205-211.
- Djauhariya, D., Emmyzar, dan F.M. Rachmat. 1992. Pengaruh macam setek dan jumlah ruas terhadap pertumbuhan bibit cabe jawa. *Bul. Littro VII*(2): 58- 63.
- Ekowati H *et al.* 2011. An Extract of *Zingiber officinale* and *Piper retrofractum* Combination and Its effect to Cancer Cell Line. *Indonesia J Cancer Chemo* 2(1):173-181.
- Ekowati H *et al.* 2012. *Zingiber officinale*, *Piper retrofractum* and Combination Induced Apoptosis and p53 Expression in Myeloma and WiDr Cell Lines. *J Hayati Biosci* 19 (3) 137-140. DOI: 10.4308/hjb.19.3.137.
- Evizal R. 2013. Status Fitofarmaka dan Perkembangan Agroteknologi Cabe Jawa (*Piper Retrofractum* Vahl.). *J Agro* 18(1).
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB Bandung.
- Hasan AEZ, Mangunwidjaja D, Sunarti TC, Suparno O, Setiyono A. 2013. *Production of Indonesia Nanopropolis as a Antibreastcancer Agent*. [disertasi]. IPB.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Obat Indonesia III*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Jakarta : 1794-1798.
- Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)* [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Joy B, Sandhya CP, Remitha KR. 2010. Comparison and Bioevaluation of *Piper lognum* Fruit Extracts. *J Chem Pharm Res*, 2010, 2(4): 696-706.
- Kurniasari L. 2008. *Kajian Ekstraksi Minyak Jahe Menggunakan Microwave Assisted Extraction (MAE)*. [Tesis]. Universitas Wahid Hasyim.
- Lee J, Koo N, & Min D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3: 21–33.
- Paviani L, Sacoda P, Saito E, Cabral F. 2010. Extraction techniques of red and green propolis: extraction yield of phenolic Compounds. State University of Campinas.
- Pourmorad F, Hosseinimehr S J, Shahabimajd N. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *J African Biotechnol* 5 (11), pp. 1142-1145.
- Rice-Evans C.A, Miller N.J, & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trend Planta Sciences Review*. 2: 152–159.
- Risky TA, Suyatno. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku *Adiantum philippensis* L. *J UNESA Chem* 3 No. 1.
- Rorong J. A. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Cengkeh (*Eugenia carryophyllus*) dengan Metode DPPH. *Chem. Prog*:2:111-116

- Selvendiran, K., J. P. Singh, K. B. Krishnan, D. Sakthisekaran, 2003. Cytoprotective Effect of Piperine Against Benzo[a]pyrene Induced Lung Cancer with Reference to Lipid Peroxidation and Antioxidant System in Swiss Albino Mice. *J Fitoter*, Feb; 74, 1-2, 109-115.
- Soleh M. 2003. Pengembangan sistem usaha tani cabe jamu mendukung peningkatan pendapatan petani. *Buletin Teknologi dan Informasi Pertanian* 6:42-52.
- Tjindarbumi D, Mangunkusumo R. 2002. Cancer in Indonesia. Present and Future. *J Clin Oncol* : 32 : S17-S21.
- Tsiapara AV, Jaakkola M, Chinou I, Graikou K, Tolonen T, Virtanen V, Moutsatsou P. 2009. Bioactivity of Greek honey extracts on breast cancer (MCF-7), prostate cancer (PC-3) and endometrial cancer (Ishikawa) cells: profile analysis of extracts. *Food Chemistry*. 116(3): 702-708.
- Utami AWA. 2014. Potensi Ekstrak Bakteri Laut yang Berasosiasi dengan Spons sebagai Antikanker dan Antioksidan. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Zubia M, Robledo D, & Freile-Pelegrin Y. (2007). Antioxidant activities in marine macroalgae from the coasts of Quintana Roo and Yucatan, Mexico. *Journal of Applied Phycology*. 19: 449-458.
- Zuhra C.F, Tarigan J Br, Sitohang H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatera* 3: 7-10.