

RADIOLABELING DAN UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK SENYAWA OCTADECA-8,10,12-TRIYNOIC ACID

Hendig Winarno, Ermin Katrin, dan Nanny Kartini Oekar

Jl. Lebak Bulus Raya No. 49 Pasar Jumat, Jaksel

Email : hendig@batan.go.id

ABSTRAK

RADIOLABELING DAN UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK SENYAWA OCTADECA-8,10,12-TRIYNOIC ACID. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas sitotoksik senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* terhadap sel kanker servix HeLa (*human ephiteloid cervic carcinoma*), THP1 (*human peripheral blood leukemia-acute monocytic*), dan A549 (*human lung carcinoma*) dengan hasil senyawa tersebut memiliki aktivitas sitotoksik, terutama terhadap sel kanker serviks HeLa dengan IC_{50} 0,66 $\mu\text{g/mL}$. Ujicoba penandaan/*labeling* senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan radionuklida I-131 juga telah dilakukan sebelumnya, tetapi belum memberikan hasil optimal. Pada penelitian ini telah dilakukan uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker lainnya, yaitu HUT78 (*human cutaneous T-cell lymphoma*) dan A375 (*human malignant melanoma*), serta optimalisasi penandaan/*labeling* senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan radionuklida I-131. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* juga memiliki aktivitas sitotoksik HUT78 dan A375, masing-masing dengan IC_{50} 2,38 dan 2,02 $\mu\text{g/mL}$. Optimalisasi penandaan senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan radionuklida I-131 memberikan hasil yang lebih baik dari sebelumnya, tetapi masih perlu dioptimalkan lagi agar memberikan rendemen radiokimia yang tinggi.

Kata kunci: *Radiolabeling, octadeca-8-10-12-triynoic acid, benalu teh, Scurrula atropurpurea, aktivitas sitotoksik*

ABSTRACT

RADIOLABELING AND CYTOTOXIC ACTIVITY TEST OF OCTADECA-8,10,12-TRIYNOIC ACID. Currently, cytotoxic activity test on *octadeca-8,10,12-triynoic acid* against human cancer cell lines i.e. HeLa (*human ephiteloid cervic carcinoma*), THP1 (*human peripheral blood leukemia-acute monocytic*), and A549 (*human lung carcinoma*) had been done, and the results showed that the compound exhibited cytotoxic activity, especially against HeLa with an IC_{50} of 0.66 $\mu\text{g/mL}$. Labeling trial test of *octadeca-8,10,12-triynoic acid* using I-131 radionuclide had been previously done, unfortunately was not give satisfactory result. In the research, toxicity test of *octadeca-8,10,12-triynoic acid* against others cancer cell lines, i.e.: HUT78 (*human cutaneous T-cell lymphoma*) and A375 (*human malignant melanoma*), and optimazing of *labeling* of *octadeca-8,10,12-triynoic acid* using I-131 radionuclide. The results showed that *octadeca-8,10,12-triynoic acid* also exhibited toxicity on HUT78 and A375 cancer cell lines with IC_{50} of 2.38 and 2.02 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Labeling optimazation of *octadeca-8,10,12-triynoic acid* using I-131 radionuclide gave the better result, but the optimazing for getting high radichemical yield is still needed.

Keywords: *radiolabeling, octadeca-8-10-12-triynoic acid, tea parasite, Scurrula atropurpurea, cytotoxic activity*

PENDAHULUAN

Benalu teh (*Scurrula atropurpurea* Bl. Dans.) suku Loranthaceae merupakan tanaman parasit yang tumbuh pada pohon teh (*Thea sinensis*). Rebusan benalu ini telah lama populer di berbagai daerah di Indonesia untuk mengobati kanker. Di beberapa negara, pengobatan secara langsung menggunakan ekstrak benalu juga banyak dilakukan, misalnya di Eropa, Cina, dan Korea. Di Eropa, ekstrak benalu jenis *Viscum album* L. diperdagangkan sebagai obat kanker dengan nama

dagang Iscador^[1]. Berdasarkan kenyataan tersebut, maka upaya pengobatan dengan tanaman merupakan pilihan yang lebih murah bagi Indonesia yang memiliki berbagai jenis tanaman obat.

Pada lima tahun terakhir ini telah ditemukan 20 isolat dalam benalu teh dan 16 senyawa di antaranya telah dielusidasi struktur kimianya^[2-5]. Salahsatu senyawa yaitu *octadeca-8,10,12-triynoic acid* sangat aktif menghambat invasi sel kanker MM1 secara *in vitro* dengan nilai IC₅₀ adalah 2,7 µg/mL^[2-5] berdasarkan metode Akedo^[6], sehingga isolat ini diduga merupakan senyawa aktif yang selama ini rebusannya diyakini berkasiat sebagai antikanker.

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian uji aktivitas sitotoksik terhadap 3 jenis sel kanker manusia, yaitu HeLa (*human ephiteloid cervic carcinoma*), THP1 (*humani peripheral blood leukemia-acute monocytic*), dan A549 (*human lung carcinoma*) telah dilakukan dengan hasil baik, terutama terhadap HeLa dengan IC₅₀ adalah 0,66 µg/mL.

Selanjutnya pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas sitotoksik terhadap 2 jenis sel kanker lain yaitu, HUT78 (*human cutaneous T-cell lymphoma*) dan A375 (*human malignant melanoma*). Selain itu juga dilakukan optimalisasi penandaan senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan radionuklida I-131 untuk mendapatkan rendemen radiokimia yang tinggi untuk penelitian uji distribusi dalam tikus.

BAHAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan. Isolat *octadeca-8,10,12-triynoic acid* diisolasi dari benalu teh *Scurrula atropurpurea* dengan cara yang sama dengan penelitiaasn sebelumnya^[2]. Radionuklida iodium-131 dalam bentuk Na¹³¹I diproduksi dari terulium-130. Sel kanker lestari limfoma HUT78 dan melanoma A375 diperoleh dari Bagian Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bahan kimia lainnya adalah chloramin T, natrium bisulfit, larutan buffer fosfat 0,25M, doksorubisin, medium penumbuh *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM/F-12), *fetal bovine serum* (FBS), *phosphate buffer saline* (PBS) 10%, dimetil sulfoksida, tripsin 0,2%, *tryphan blue* 0,4%, nitrogen cair, bahan *filler*, metanol.

Alat. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), kolom kromatografi, oven, haemocytometer, mikroskop, timbangan analitik, alat gelas.

Metode. Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker lestari limfoma HUT78 dan melanoma A375 dilakukan sebagai berikut: ke dalam *multiwell plate culture* 24 sumuran dimasukkan sel kanker lesrati dalam media penumbuh dengan masing-masing berisi 10⁹ sel/ml, kemudian ditambahkan sampel uji *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan 5 variasi konsentrasi yaitu: 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 µg/mL, blanko dan kontrol positif berupa doksorubisin (5 µg/mL). Tiap konsentrasi dilakukan secara triplo. Kemudian *plate* tersebut diinkubasi selama 72 jam dalam inkubator CO₂

pada suhu 37°C dengan konsentrasi CO₂ 5%. Setelah 72 jam, *plate* uji dikeluarkan dari inkubator dan dihomogenkan. Tiap-tiap sumuran dalam *plate* dipipet 100 µL dan ditambah 10 µL trypan blue, lalu dihomogenkan kembali. Sebanyak 10 µL larutan dialirkan ke dalam *haemocytometer* dan dilakukan perhitungan jumlah sel yang hidup dan yang mati di bawah mikroskop. Selanjutnya dihitung persentasi aktivitas antiproliferasi dan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi yang menyebabkan pertumbuhan sel terhambat sebesar 50%.

Radiolabelling terhadap senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* menggunakan I-131. Sebanyak kurang lebih 0,1 mg *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dalam pelarut etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi dikeringkan dengan nitrogen, kemudian ditambahkan berturut turut I-131 2,5 mCi dalam larutan bufer fosfat 0,05 M dan 50 µg chloramine T dalam 10 µl bufer fosfat 0,25 M. Setelah dikocok dengan vortex selama 18 detik, reaksi dihentikan dengan menambahkan 10 µl Na-bisulfit 0,005 M dan pengocokan diteruskan. Selanjutnya senyawa target dipisahkan menggunakan pelat silika gel dengan eluen metanol/bufer fosfat 0,05 M (85/15).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Labeling dengan I-131. Labeling senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan I-131 belum diperoleh hasil yang optimal. Berbeda dengan labeling pada senyawa model (asam γ -linolenat) yang dapat mencapai 65%, pada isolat ini masih di bawah 10%. Optimalisasi labeling akan dilakukan lagi setelah isolat senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* tersedia.

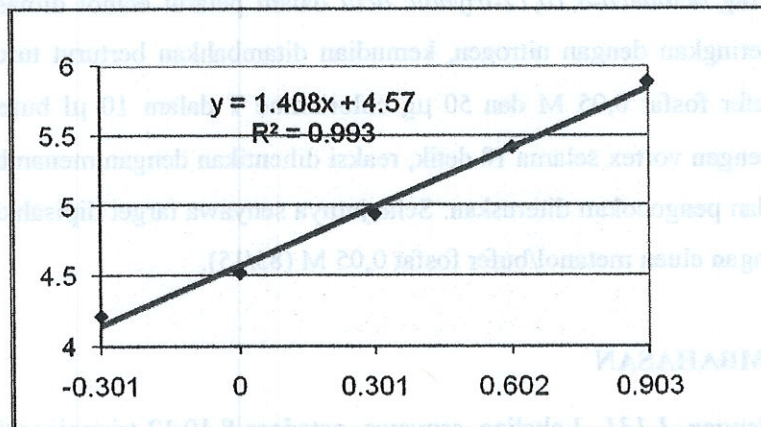
Tabel 1. Aktivitas antiproliferasi isolat *octadeca-8,10,12-triynoic acid* terhadap sel kanker lestari limfoma HUT78

No	Sampel	Log Kons. Sampel	Nilai Probit Anti-proliferasi	Pers. Regr.linier dan nilai R	IC ₅₀ (µg/mL)
1	Kontrol negatif				
2	K+ (doxorubicin)				
3	OTA 0,5 µg/mL	-0,301	4,02	Y = 1,471 X + 4,443 R = 0,998	2,38
4	OTA 1,0 µg/mL	0,000	4,40		
5	OTA 2,0 µg/mL	0,301	4,92		
6	OTA 4,0 µg/mL	0,602	5,31		
7	OTA 8,0 µg/mL	0,903	5,78		

OTA = *octadeca-8,10,12-triynoic acid*; * = rata-rata dari 3 kali ulangan

Aktivitas Sitotoksik. Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker lestari limfoma HUT78 disajikan pada Tabel 1 dan sel melanoma A375 pada Tabel 2. Berdasarkan uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker lestari manusia limfoma HUT78 dan melanoma A375 menunjukkan bahwa senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* memiliki aktivitas antiproliferasi cukup tinggi. Perhitungan nilai IC₅₀ berdasarkan log konsentrasi senyawa uji *versus* nilai probit aktivitas

antiproliferasi menunjukkan hubungan linieritas dengan $R > 0,99$ dan nilai $IC_{50} < 4,00 \mu\text{g/mL}$ (Tabel 1 dan 2). Suatu senyawa atau isolat murni memiliki nilai IC_{50} (konsentrasi zat uji pada persentase antiproliferasi sebesar 50%) $\leq 4,00 \mu\text{g/ml}$ dinyatakan memiliki aktivitas antiproliferasi. Dengan demikian senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* yang diisolasi dari benalu teh *Scurrula atropurpurea* memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker lestari manusia limfoma HUT78 dan melanoma A375.

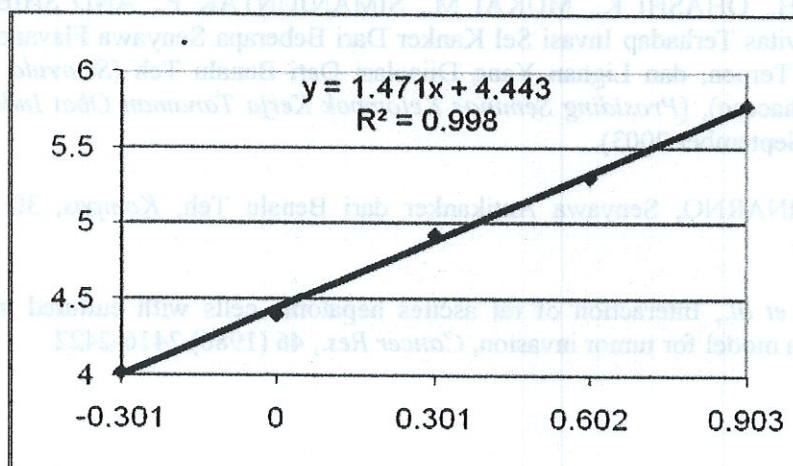


Gambar 1. Hubungan log konsentrasi isolat *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan aktivitas antiproliferasi (probit) terhadap sel kanker lestari limfoma HUT78

Tabel 2. Aktivitas antiproliferasi isolat *octadeca-8,10,12-triynoic acid* terhadap sel kanker lestari melanoma A375

No	Sampel	Log Kons. Sampel	Nilai Probit Anti-proliferasi	Pers. Regr.linier dan nilai R	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	Kontrol negatif				
2	K+ (doxorubicin)				
3	OTA 0,5 $\mu\text{g/mL}$	-0,301	4,21	Y = 1,408 X + 4,57 R = 0,993	2,02
4	OTA 1,0 $\mu\text{g/mL}$	0,000	4,52		
5	OTA 2,0 $\mu\text{g/mL}$	0,301	4,94		
6	OTA 4,0 $\mu\text{g/mL}$	0,602	5,42		
7	OTA 8,0 $\mu\text{g/mL}$	0,903	5,88		

OTA = *octadeca-8,10,12-triynoic acid*; * = rata-rata dari 3 kali ulangan



Gambar 2. Hubungan log konsentrasi isolat *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan aktivitas antiproliferasi (probit) terhadap sel kanker lestari melanoma A375

KESIMPULAN

Uji aktivitas antiproliferasi senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* terhadap 2 jenis sel kanker lestari menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai aktivitas cukup tinggi dengan aktivitas terhadap A-549 dan HUT-78 masing-masing adalah 2,38 dan 2,02 $\mu\text{g/mL}$). Radiolabeling senyawa *octadeca-8,10,12-triynoic acid* dengan radionuklida I-131 masih belum memberikan hasil yang optimal seperti yang dilakukan terhadap senyawa γ -linolenic acid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Sdr. Suhandi S.Si. yang telah membantu terlaksananya penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Drh. Bambang Pontjo Ph.D Fakultas Kedokteran Hewan IPB Bogor yang telah memfasilitasi penggunaan sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. CHENG, R. K.-Y. Z., Anticancer research on Loranthaceae plants, *Drugs of the Future*, **22**, (1997) 519-530.
2. OHASHI K., WINARNO H., MUKAI M., INOUE M., SRI PRANA M., SIMANJUNTAK P., AND SHIBUYA H., Indonesian Medicinal Plants. XXV. Cancer Cell Invasion Inhibitory Effects of Chemical Constituents in the Parasitic Plant *Scurrula atropurpurea* (Loranthaceae), *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **51** (3), (2003) 489~492.
3. OHASHI K., WINARNO H., MUKAI M., AND SHIBUYA H., Preparation and Cancer Cell Invasion Inhibitory Effects of C_{16} -Alkynic Fatty Acids, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **51** (4), (2003) 463~466.

4. WINARNO H., OHASHI K., MUKAI M., SIMANJUNTAK P., AND SHIBUYA H., Uji Bioaktivitas Terhadap Invasi Sel Kanker Dari Beberapa Senyawa Flavanoid, Flavonoid, Santin, Terpen, dan Lignan Yang Diisolasi Dari Benalu Teh (*Scurrula atropurpurea*) (Loranthaceae), (Prosiding Seminar Kelompok Kerja Tanaman Obat Indonesia, Bogor, 19~20 September 2003).
5. HENDIG WINARNO, Senyawa Antikanker dari Benalu Teh, *Kompas*, 30 Des 2003, hal.10.
6. AKEDO, H, *et al.*, Interaction of rat ascites hepatoma cells with cultured mesothelial cell layers: a model for tumor invasion, *Cancer Res.*, **46** (1986) 2416-2422.