

## Penetapan Kadar Fenol Total dengan Spektrofotometer UV-Vis dan Uji Sitotoksitas Ekstrak Air Daun Lidah Mertua (*Sansevieria masoniana* C.) Terhadap Sel Kanker Paru A-549

Lilis Febriyanti, Ayu Nala El Muna Haerussana

Program Studi Farmasi, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung, Jl. Prof. Eyckman No.24, Pasteur, Sukajadi, Kota Bandung, Jawa Barat 40161

\*Corresponding author: febriyanti.lis@gmail.com

Received: 29 December 2022; Accepted: 28 April 2023

**Abstract:** Cancer is the second most common cause of mortality globally, following cardiovascular disease, according to the World Health Organization (WHO). Leading the list of fatal cancers annually are lung, breast, stomach, liver, and colorectal cancers. Hence, the discovery and development of effective agents to treat various types of cancer is urgently needed. Mother-in-law tongue (*Sansevieria masoniana* Chahin) leaves contain flavonoids and saponins. However, information regarding the total phenolic content of the aqueous extract of the *S. masoniana* Chahin leaves is currently unavailable. Hence, this research aims to determine the total phenol content using a UV-Vis spectrophotometer and assess the invitro anticancer activity of the water extract of *S. masoniana* Chahin through the MTT Assay. From the results of measuring the total phenolic content, the water extract of the leaves contained a phenol content of 3.3061 mgGAE/g. Meanwhile, the results of the cytotoxicity assay on lung cancer cells A-549 showed that the IC<sub>50</sub> value of the aqueous extract of *S. masoniana* Chahin leaves was above 100 ppm, indicating that the extract has less potential as an anti-lung cancer agent.

**Keywords:** anticancer, A-549, phenol, *Sansevieria masoniana* C

**Abstrak:** Kanker menempati peringkat kedua sebagai penyebab kematian paling umum secara global, setelah penyakit kardiovaskular, menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO). Kanker paru-paru, payudara, perut, hati, dan kolorektal adalah penyebab kematian terbesar di seluruh dunia setiap tahun. Dengan demikian penemuan dan pengembangan agen yang sesuai untuk mengobati berbagai jenis kanker sangat dibutuhkan. Daun lidah mertua (*Sansevieria masoniana* Chahin) positif mengandung flavonoid dan saponin. Namun, hingga saat ini belum terdapat informasi mengenai kadar fenol total dari ekstrak air daun lidah mertua (*S. masoniana* Chahin). Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah menentukan kadar fenol total menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan menguji aktivitas antikanker ekstrak air *S. masoniana* Chahin secara *in vitro* dengan MTT Assay. Berdasarkan pengukuran kadar fenol total, ekstrak air daun lidah mertua memiliki kandungan fenol sebanyak 3,3061 mgGAE/g. Sedangkan untuk hasil pengujian sitotoksitas terhadap sel kanker Paru A-549 menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak air daun lidah mertua di atas 100 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak daun lidah mertua kurang potensial sebagai antikanker paru.

**Kata Kunci:** A-549, antikanker, fenol, lidah mertua

DOI: 10.15408/pbsj.v5i2.30080

### 1. PENDAHULUAN

Dari data yang dirilis oleh WHO, kanker menduduki tempat kedua sebagai penyebab kematian utama di dunia setelah penyakit kardiovaskular (Sulistiowati et al., 2016). Tentunya, kanker paru-paru, payudara, perut, hati, dan kolorektal merupakan penyebab kematian terbesar di seluruh dunia setiap tahunnya. Oleh karena itu penemuan dan pengembangan agen yang sesuai untuk mengobati berbagai jenis kanker sangat diharapkan (Kamilah, Nazir

et al., 2017). Produk yang berasal dari alam telah menjadi kategori senyawa terkemuka dalam meningkatkan desain obat rasional untuk terapi anti kanker baru. Tanveer Ahamad dkk (2017) pada penelitiannya menyatakan bahwa daun *Sansevieria cylindrica* mengandung flavonoid, steroid, tanin, saponin, dan asam fenolat. Karena kandungan senyawa tersebut, ekstrak metnol daun *Sansevieria cylindrica* memiliki aktivitas antioksidan dengan kadar fenol total sebanyak 86,2 mgGAE/g pada.

Metabolit sekunder seperti flavonoid, glikosida, tanin, dan steroid pun terkandung pada Daun *Sansevieria trifasciata*. Pinky dkk (2020) dalam penelitiannya menyatakan bahwa daun *Sansevieria trifasciata* mengandung fenol total sebanyak 10.78 dan 31.99 mgGAE/g. Ternyata flavonoid dan saponin pun terkandung pada daun *Sansevieria masoniana* Chahin. (Siregar et al., 2020). Namun, informasi mengenai kadar fenol total dari daun *Sansevieria masoniana* Chahin masih belum dapat ditemukan. Dengan demikian, penelitian ini dirancang dengan tujuan untuk mengukur kadar fenol total dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan menguji aktivitas antikanker ekstrak air *Sansevieria masoniana* Chahin secara in vitro dengan MTT Assay.

## 2. METODE

### 2.1 Alat dan Bahan

**Alat:** spatula, neraca analitik, alat-alat gelas satu set *vacuum rotary evaporator*, oven, Spektrofotometer Uv-Vis. Untuk menguji aktivitas antikanker terhadap sel kanker Paru A-549 antara lain: inkubator CO<sub>2</sub>, *microplate ELISA reader*, *microplate 96 well*, *microplate mixer*, pipet mikro.

**Bahan:** Daun lidah mertua, air, kertas whatsman no. 41. Bahan yang digunakan dalam uji sitotoksitas meliputi: sampel uji, sel kanker paru dalam kultur, DMSO (Dimetil sulfoksida), FBS (Fetal Bovine Serum), media RPMI 1640, PBS (Larutan buffer fosporik pH 7.30-7.65), MTT [3-(4,5-dimetil thiazol-2-il) - 2,5-difenil tetrazolium bromida], Doksorubisin, dan SDS (Sodium duodesil Sulfat).

### 2.2 Metode Penelitian

#### a. Pembuatan Ekstrak Air Daun Lidah Mertua

Simplisia daun lidah mertua yang sudah dijadikan Serbuk kering dimaserasi dengan pelarut air sambil sesekali

diaduk. Perbandingan antara pelarut dan serbuk adalah 1: 2. Filtrat di maserasi yang dihasilkan kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatsman no. 41, sampai residu tidak ditemukan. Kemudian dilakukan proses pengeringan Filtrat yang diperoleh dengan *freeze drier*.

#### b. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia melibatkan pengujian keberadaan alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol serta tanin. Alkaloid dilakukan dengan menimbang 0,5 gram ekstrak air daun lidah mertua ditambahkan 5 ml HCl 2N, dipanaskan di atas bunsen dan didiamkan hingga dingin selanjutnya ditambahkan 300 mg NaCl dan ditambahkan 5 ml HCl 2N dan diaduk sampai homogen. Dibagi menjadi 4 bagian yaitu untuk larutan dengan ditambahkan pereaksi mayer, pereaksi wagner, pereaksi dragendroff dan sebagai blanko atau pembanding. Hasil positif dapat diamati dari terbentuknya endapan putih saat menggunakan larutan pereaksi Mayer, terbentuknya endapan berwarna merah bata ketika pereaksi Wagner ditambahkan, dan endapan berwarna coklat muda hingga kuning. Penapisan saponin dilakukan dengan metode uji busa, yaitu dengan menimbang 0,5 g ekstrak dalam air suling, kemudian dipanaskan, disaring, dan dikocok secara vertikal selama 10 detik. Keberhasilan uji ditunjukkan oleh terbentuknya busa yang stabil. Untuk penyaringan favonoid, ekstrak ditimbang 500 mg, ditambahkan 3 ml n-heksana dan disaring, residu dilarutkan dalam etanol dan dibagi menjadi 3 bagian yaitu larutan uji Bare Smith, uji Metcalf dan uji Wilstater. Uji skrining polifenol dan tanin dilakukan dengan cara menimbang 500 mg ekstrak dalam 10 ml air

#### c. Validasi Metode Analisis

##### a) Linearitas dan Kurva Baku

Larutan stok asam galat dibuat sebagai standar dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Selanjutnya diambil 500 µL dan tambahkan 2,5 mL reagen *Folin-*

*Ciocalteu*. Setelah diaduk, diamkan selama 5 menit kemudian tambahkan 2 mL natrium karbonat 7,5%. Setelah diinkubasi selama 60 menit, serapan larutan untuk kontrol diukur dengan UV-Vis spektrometer bentuk gelombang puncak dari pemindaian sebelumnya.

Kurva kalibrasi dihasilkan kemudian persamaan regresi linier dan koefisien korelasi ditentukan untuk mengevaluasi linearitas. Dari nilai di atas dapat dilihat apakah linearitas yang diperoleh baik atau tidak. Nilai koefisien korelasi yang dapat diterima adalah  $r \geq 0,98$ . (Arikalan et al., 2018)

#### **b) Akurasi**

Standar asam galat ditambahkan pada ekstrak lidah mertua dengan rata-rata kandungan asam galat pada sampel 10, 15 dan 20 ppm, lalu dianalisis menggunakan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasilnya diekspresikan dalam bentuk persen pemulihan (% recovery) (Arikalang et al., 2018). Hasil dinyatakan dalam persentase pemulihan (% pemulihan) dan diterima jika memenuhi persyaratan akurasi, yaitu kisaran persentase pemulihan rata-rata (Harmita et al., 2004).

#### **c) Presisi**

Larutan dengan konsentrasi 30 ppm sampai dengan 500  $\mu$ l dicampurkan dengan 2,5 mL reagen *Folin Ciocalteu*, dihomogenisasi dan dibiarkan selama 5 menit. Selanjutnya 2 mL natrium karbonat 7,5% ditambahkan ke dalam larutan kemudian diinkubasi selama 60 menit. Pada panjang gelombang maksimum, serapan diukur dengan spektrometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan dan ulangi tes tersebut sebanyak enam kali.

#### **d) Batas Deteksi (LoD) dan Batas Kuantitas (LoQ)**

Dari larutan standar 1000 ppm, encerkan hingga konsentrasi 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm dalam 10 ml metanol. Sebanyak 100  $\mu$ L dari setiap konsentrasi

dicampurkan dengan 2,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10), dihomogenkan dan dibiarkan selama 5 menit.

Selanjutnya ke dalam larutan ini ditambahkan 2 mL natrium karbonat 7,5% dan dilakukan inkubasi selama 60 menit. Panjang gelombang puncak diukur dengan serapan menggunakan spektrometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan (Arikalang dkk, 2018).

#### **d. Penentuan Kandungan Total Fenol**

Ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieria masoniana* Chahin) ditimbang hingga 100 mg dan dilarutkan dengan aquades dalam labu takar 10 ml. Sebanyak 500  $\mu$ l larutan sampel ditambahkan ke reagen Folin-Ciocalteu (1:10) menjadi 2,5 mL kemudian kocok dan biarkan selama 5 menit pada suhu kamar. Ditambahkan 2 ml natrium karbonat 7,5  $\mu$ n dan didiamkan selama 60 menit pada suhu kamar (Susanti dkk, 2019). Absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Johari dan Heng, 2019). Hasil dinyatakan sebagai massa setara asam galat di setiap massa sampel.

#### **e. Uji Sitotoksitas Ekstrak Daun Lidah Buaya terhadap Sel Kanker Paru A-549**

Media kultur DMEM F12 lengkap (mengandung serum sapi janin sapi (FBS) 10% antibiotik penisilin-streptomisin) telah disiapkan. Sampel disinari sinar UV selama 24 jam. Sel yang digunakan memiliki pertemuan minimal 80%. Lalu tuang media ke dalam labu, lalu cuci sel sebanyak dua kali dengan 10 mL FBS. Kemudian tambahkan 3 ml larutan trypsin-EDTA dan inkubasi selama 5 menit untuk membubarkan lapisan sel (di bawah mikroskop, sel yang terbalik tampak mengapung). Sel-sel tersebut kemudian dipindahkan ke tabung sentrifus yang mengandung medium. Sentrifugasi dilakukan dengan dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan dihilangkan, dan pelet sel dilarutkan kembali dengan media segar. Jumlah sel dan viabilitas ditentukan

(menggunakan larutan tripan biru). Sel dihitung dan diencerkan hingga diperoleh kepadatan sel 10.000 sel/sumur untuk diinokulasi pada pelat 96 sumur dengan volume 200  $\mu\text{L}$  per sumur. Langkah selanjutnya adalah menyemai/membiakkan sel dalam *96-well plate* diikuti dengan inkubasi selama 24 jam (atau hingga setidaknya 80% konfluen) pada suhu 370°C dan 5% CO<sub>2</sub>. Pelat 96 sumur yang berisi sel dikeluarkan dari inkubator dan diberi label dengan nama sampel. Media yang dikeluarkan dari setiap sumur kemudian diisi dengan sampel dan sel kontrol. Setiap lubang diisi dengan 200  $\mu\text{L}$  media lengkap. Sel dalam lubang ditempatkan sesuai papan nama yang tertera diatas/tutup pelat dengan tang steril. Kemudian sel diinkubasi dengan memberi perlakuan yang sama dengan sampel selama 48 jam.

Sebanyak 9 mL medium lengkap dan 1 mL MTT assay kit dalam tabung sentrifus 15 mL disiapkan dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  campuran reagen ke dalam masing-masing sumur. Selanjutnya diinkubasi selama 2 hingga 4 jam dalam inkubator pada suhu 370°C dan 5% CO<sub>2</sub> hingga terbentuk kristal formazan. Setelah formazan terbentuk, larutan dikeluarkan dari peralatan dengan piring terbalik langsung ke atas tisu. Selanjutnya DMSO ditambahkan sebagai pereaksi penghentian untuk menghentikan reaksi pembentukan kristal formazan pada sel hidup. Selanjutnya absorbansi diukur pada reader Elisa Multiskan EX pada panjang gelombang 550 nm.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam suatu bahan alam. Hasil pengujian alkaloid, saponin, dan tanin pada Tabel 1 menunjukkan kesesuaian hasil dengan literatur Siregar(2020) yang telah melaporkan bahwa terdapat kandungan saponin pada daun lidah mertua. Untuk hasil pada uji flavonoid terjadi perubahan warna walaupun tidak

begitu signifikan. Untuk pengujian skrining polifenol dengan uji FeCl<sub>3</sub> hasil yang didapatkan yaitu terdapat perubahan warna merah sedangkan uji gelatin untuk tanin tidak menghasilkan perubahan.

Tabel 1. hasil skrining fitokimia ekstrak air daun lidah mertua

Metabolit sekunder	Hasil
Alkaloid	
1. uji mayer	-
2. uji wagner	-
3. uji drafendroff	-
Saponin	+
Flavonoid	+
Polifenol dan Tanin	
1. uji gelatin	-
2. Uji FeCl <sub>3</sub>	+

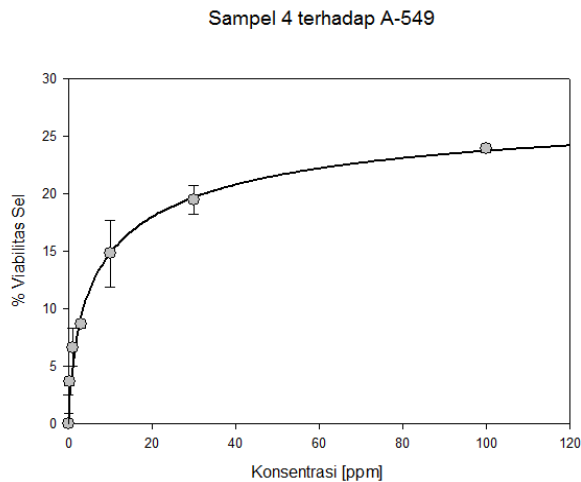
Tabel 2. hasil pengukuran kadar fenol total ekstrak air daun lidah mertua

ekstrak	Kadar fenol total
Air daun lidah mertua	3,3061mgGAE/g

Penentuan kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini merupakan pendekatan yang umum yang sering digunakan untuk mengukur kandungan fenolik total pada tanaman. Keunggulan teknik terletak pada sedrehananya prosedur dan penggunaan pereaksi Folin-Ciocalteu yang bersifat reaktif pada senyawa fenolik dengan membentuk larutan dengan daya serap terukur (Lombogia et al, 2016).

Dalam analisis ini, digunakan standar berupa asam galat, asam galat yang merupakan fenolik alami memiliki stabilitas yang baik. Asam galat akan bereaksi dengan Folin-Ciocalteu dan menghasilkan perubahan warna menjadi kuning, menunjukkan adanya senyawa fenolik, Penambahan natrium karbobat dilakukan untuk membuat media basa. Pada saat terjadinya Reaksi, gugus hidroksil

pada senyawa fenolik akan bereaksi dengan Folin-Ciocalteu membentuk kompleks yang dapat diukur.



Gambar 1. Hasil uji sitotoksitas ekstrak air daun lidah mertua terhadap sel kanker Paru A-549.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak air daun lidah mertua berada di atas 100 ppm, sementara doksorubisin yang menjadi kontrol positif memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 0.2072 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak air daun lidah mertua tidak menunjukkan potensi sebagai agen antikanker paru-paru. Sebuah ekstrak dianggap aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 100  $\mu\text{g/mL}$  menurut National Cancer Institute (2001).

#### 4. KESIMPULAN

Kadar fenol total dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat per gram sampel (mgGAE/g) dengan kandungan fenol total ekstrak air daun lidah mertua sebesar 3,3061mgGAE/g. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  di atas 100 ppm, menunjukkan bahwa ekstrak tersebut tidak memiliki potensi sebagai agen antikanker paru-paru.

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Poltekkes Kemenkes

Bandung atas dukungan finansial yang telah diberikan untuk mendanai penelitian ini. Serta terima kasih kepada Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Bandung atas fasilitas dan bantuan yang telah diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

- Harmita (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian (Vol.1)* Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Indrie Ambasari, anytah, dan S. (2013). Perubahan Aktivitas Antioksidan Pada Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) Selama Proses Pengolaha dan Penyimpanan. *Buletin Teknologi Pascapanene Pertanian* 9 (2) : 64 -73.
- Julianto, Tatang Shabur. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Buku Ajar Fitokimia* Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Kemenkes. Rencana Strategis Kementerian Kesehatan Tahun 2015-2019. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2015
- Kamilah, Nazir. (2017). Hubungan Umur, Riwayat Keluarga, Media Informasi Dan Dukungan Teman Sebaya Dengan Perilaku Sadari Pada Mahasiswi Fkm Unand. Universitas Andalas
- K. G.Rahmawati dan J.-M. Merillion. (2013). *Natural product phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolic and terpenes*. London: Springer Verlag.
- Lombogia, B., Budiarmo, F., & Bodhi, W. (2016). Uji daya hambat ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata folium*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp.* *Jurnal E-Biomedik*, 4(1).
- L. G.Rahmawati dan J.-M. Merillion. (2013). *Natural product phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolic and terpenes*. London: Springer Verlag.
- Meiyanto, E., Susidarti, RA., Handayani, S., & Rahmi, F., 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu L.*) mampu menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel MCF-7. *majalah Farmasi Indonesia*. Vol 19, No 1:12-19.

- Mukhriani.T. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*.
- Pratama,R.,EmaN,k.,Dondin,S., Departemen Biokimia, Fakultas Matematika, D. A. N. Ilmu, and Pengetahuan Alam. 2010. "Potensi Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Daun Sansevieria Cylindrica. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.FMIPA.
- Rahmawati, Emma, dkk. 2013. Aktivitas antikanker Ekstrak n-Heksan dan ekstrak Metanol herba pacar air terhadap sel kanker payudara T47D. *Media Farmasi*. Vol 10 No.2.pp 47-55.
- Siregar, A. R. S., Mawardi, & Elfrida. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria masoniana* Chahin) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Jeumpa*, 7(1), pp 310–318.
- Sulistiowati, Eva, Lolong, Dina Bisara, & Pangaribuan, Lamria. (2016). Gambaran Penyebab Kematian Kanker di 15 Kabupaten/kota di Indonesia 2011. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 19(2), PP.119-125
- Susanti, dkk. (2019). Pengaruh lama ekstraksi terhadap kadar fenol total ekstrak metanol daging umbi gadung (*Dioscorea hipida* Dennst). *Journal of pharmacopolium*, volume 2, No 3, Desember 2019, 149-155.