

UJI AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL LINE A549 PADA GREEN SYNTHESIS NANOPARTIKEL TiO₂ MENGGUNAKAN BAYAM BERDURI SECARA IN VITRO

Putry Mauzen Azzahroh¹, Frida Octavia Purnomo^{1*}, Ernie Halimatushadyah¹
¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi Universitas Binawan
Korespondensi : fridaoctavia@binawan.ac.id

Abstrak

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel yang tidak normal dan tidak terkontrol serta dapat merusak atau menyebar ke bagian tubuh lainnya. Kanker telah menjadi 1 dari 6 kematian di dunia. Jumlah kasus baru dan kematian terus meningkat karena peningkatan ekspektasi kehidupan, transisi epidemiologi, dan demografi. *Green Synthesis* nanopartikel logam/oksida logam telah menarik banyak perhatian dalam beberapa tahun terakhir karena aplikasinya yang meningkat di berbagai bidang, lebih sedikit bahan kimia yang digunakan dan metode eksperimental yang sederhana. Pada penelitian ini dilakukan *green synthesis* nanopartikel TiO₂ menggunakan ekstrak daun bayam berduri untuk mengetahui aktivitas antikanker yang diuji secara in vitro menggunakan sel line A549 dengan 3 konsentrasi pada TiO₂NPs yaitu 75, 100, 125 ppm dengan 3x pengulangan, dan pada doxorubicin sebagai kontrol positif menggunakan 4 konsentrasi yaitu 1, 1,5, 2, 2,5 ppm dengan 3x pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa TiO₂NPs berhasil di sintesis menggunakan ekstrak daun bayam berduri yang dianalisis memiliki aktivitas antikanker yang tergolong sangat lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 405 ppm.

Kata kunci: Bayam, Nanopartikel, Antikanker, Sel Line A549

ANTICANCER ACTIVITY TEST AGAINST A549 LINE CELLS ON NANOPARTIKEL TiO₂ RESULTS OF GREEN SYNTHESIS USING PRICKLY SPINACH IN VITRO

Abstract

Cancer is a disease caused by abnormal and uncontrolled cell growth that can damage or spread to other parts of the body. Cancer has become 1 in 6 deaths in the world. The number of new cases and deaths continues to rise due to increased life expectancy, epidemiologic transition, and demographics. *Green synthesis* of metal/metal oxide nanoparticles has attracted much attention in recent years due to its increasing applications in various fields, less chemicals used and simple experimental methods. In this study, *green synthesis* of TiO₂ nanoparticles using prickly spinach leaf extract was carried out to determine the anticancer activity tested in vitro using A549 cell line with 3 concentrations on TiO₂NPs namely 75, 100, 125 ppm with 3x repetition, and on doxorubicin as a positive control using 4 concentrations namely 1, 1.5, 2, 2.5 ppm with 3x repetition. The results showed that TiO₂NPs successfully synthesized using prickly spinach leaf extract analyzed had anticancer activity which was classified as very weak with an IC₅₀ value of 405 ppm.

Keywords: Spinach, Nanoparticles, Anticancer, A549 Cell Line

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel yang tidak normal dan tidak terkendali serta dapat merusak atau menyebar ke bagian tubuh lainnya (Zafrial & Amalia, 2018). Kanker telah menjadi 1 dari 6 kematian di dunia. Jumlah kasus baru dan kematian terus meningkat karena peningkatan ekspektansi kehidupan, transisi epidemiologi, dan demografi. Telah diestimasikan, total kasus kanker paru di tahun 2018 secara global adalah 1.368.524 atau 14.5% pada laki-laki dan 725.352 atau 8.4% pada wanita. Jumlah kasus ini diperkirakan akan terus meningkat dan meningkatkan angka kematian dunia (WHO, 2020).

Salah satu pengobatan yang dipakai pada saat ini adalah kemoterapi konvensional. Namun, pada pengobatan kemoterapi konvensional memiliki kekurangan metabolisme obat yang cepat sehingga absorpsi tidak maksimal, distribusi obat yang tidak spesifik ke target organ, dan efek toksisitas sistemik pada jaringan yang sehat (Wahyuddin, 2020).

Green Synthesis nanopartikel logam/oksida logam telah menarik banyak perhatian dalam beberapa tahun terakhir karena aplikasinya yang meningkat di berbagai bidang, lebih sedikit bahan kimia yang digunakan dan metode eksperimental yang sederhana. Proses biosintesis menggunakan senyawa tertentu dari tumbuhan dan mikroorganisme sebagai agen produksi (bioreduktor) yang memiliki beberapa keunggulan antara lain ramah lingkungan, hemat biaya, biokompatibel, berkelanjutan (*sustainable*) dan tidak beracun. Senyawa yang berperan dalam biosintesis nanopartikel antara lain eugenol, terpenoid, polifenol, gula, alkaloid, asam fenolik dan protein (Fajar & Ridhawati, 2017). Di antara berbagai kelompok oksida logam, TiO_2 adalah salah satu bahan terkemuka karena beberapa sifat yang sangat baik terhadap pembawa obat dan dalam beberapa kasus juga sebagai pengganti obat untuk pengobatan kanker (Shiva Samhitha et al., 2021). Salah satu tanaman yang dapat dijadikan bioreduktor adalah bayam berduri karena mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, steroid, terpenoid, lipid saponin, betalain, B sitosterol, stigmaterol, asam linoleate, amaranthosida, amarisin (Djindadi et al., 2020).

Studi tentang nanopartikel TiO_2 yang berhasil disintesis dengan metode *green synthesis* menunjukkan efek penghambatan pada pertumbuhan *E. coli* dan peningkatan aktivitas antikanker. Beberapa ekstrak tanaman telah banyak digunakan dalam proses ini misalnya, penelitian Hariharan et al., (2017) tentang sintesis nanopartikel TiO_2 menggunakan ekstrak daun *Cynodon Dactylon*. Pada penelitian Narayanan et al., (2021) mensintesis nanopartikel TiO_2 dari ekstrak air daun *Coleus aromaticus* memiliki potensi untuk membuat nanopartikel TiO_2 dari TiO_2 massa logam dan nanopartikel yang disintesis memiliki aktivitas larvasida, antibakteri dan antikanker yang wajar. Pada penelitian Mobeen Amanulla & Sundaram, (2019) berhasil mensintesis nanopartikel TiO_2 menggunakan ekstrak kulit jeruk untuk aplikasi sensor antibakteri, dan toksisitas. Pada penelitian Renuka & Soundhari, (2017) mensintesis nanopartikel TiO_2 menggunakan ekstrak kulit buah *Terminalia chebula* yang aktivitas antikankernya dilakukan terhadap garis sel A549 dengan uji MTT mampu menghambat proliferasi garis sel A549. Sel A549 sering digunakan sebagai model sel line untuk kanker paru karena memiliki karakteristik yang sama dengan sel kanker paru pada manusia. Sel A549 bersifat proliferasi tinggi dan invasif, serta seringkali mengalami resistensi terhadap kemoterapi dan terapi radiasi (Wu et al., 2018).

Ekstrak daun bayam duri belum pernah diteliti dalam banyak penelitian yang telah dilakukan untuk memproduksi nanopartikel TiO_2 menggunakan ekstrak tanaman. Senyawa yang terkandung dalam bayam berduri dapat berperan dalam biosintesis nanopartikel. Bayam duri akan di *green synthesis* menjadi nanopartikel TiO_2 . *Green synthesis* nanopartikel TiO_2 memiliki berbagai aplikasi karena stabilitas kimianya, toksisitas rendah, fotoaktivitas tinggi, biokompatibilitas yang sangat baik dan ketahanan terhadap korosi (Shiva Samhitha et al., 2021). Bunga, daun, kulit kayu, dan batang merupakan contoh bagian tanaman yang dapat mengatur agregasi dan aglomerasi nanopartikel selama sintesisnya (Santhoshkumar et al., 2014). Oleh karena itu pada penelitian ini

dilakukan sintesis nanopartikel TiO₂ menggunakan ekstrak daun bayam berduri untuk mengetahui aktivitas antikankernya. Penelitian ini akan diuji secara in vitro menggunakan garis sel A549.

BAHAN dan METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak cair daun bayam berduri, titanium tetraisopropoxide (TTIP), doksorubisin, reagen MTT 3-(4,5- dimetilthiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida, etanol, sel A549. Uji aktivitas antikanker terhadap sel A549 akan dilakukan menggunakan 3 konsentrasi pada Nanopartikel TiO₂ (TiO₂NPs) yaitu 75, 100, 125 ppm dengan 3x pengulangan, dan pada doxorubicin sebagai kontrol positif menggunakan 4 konsentrasi yaitu 1, 1,5, 2, 2,5 ppm dengan 3x pengulangan.

Sintesis Nanopartikel TiO₂ dengan Bayam Berduri

Sebanyak 100 ml ekstrak daun bayam berduri dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian ditambahkan 100 ml Titanium tetraisopropoxide yang telah dilarutkan dalam etanol dengan skala perbandingan 1:1 direaksikan dengan pengadukan selama 8 jam. Selanjutnya larutan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan antara endapan dan filtrat. endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 100°C selama 8 jam dan dipanaskan di dalam furnace pada suhu 450°C selama 2 jam.

Uji Aktivitas Antikanker menggunakan Metode MTT Assay

Sel A549 yang telah didiamkan pada flask T25 dan disubkultur, kemudian sel ditumbuhkan pada 96 wells tissue culture plate dengan jumlah 5000 sel/well dan diinkubasi selama 24 jam dalam media pertumbuhan pada suhu 37°C dan CO₂ 5%. Senyawa bioaktif pada masing - masing konsentrasi ditambahkan sebanyak 100µL/well, sel tanpa perlakuan disertakan sebagai kontrol sel selanjutnya diinkubasi kembali selama 48 jam. Senyawa MTT 3-(4,5- dimetilthiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida ditambahkan dan diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C dan CO₂ 5%. Supernatan sel dibuang, kristal formazan yang terbentuk dilarutkan dengan etanol 70%. Pembacaan densitas optik (OD) dilakukan menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 565 nm.

HASIL

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antikanker TiO₂NPs Terhadap Sel A549

Konsentrasi (ppm)	Pengulangan			Rata-rata % inhibisi	IC ₅₀
	1	2	3		
125	29,25	21,73	28,23	26,40	405 ppm
100	24,89	24,47	25,26	24,87	
75	25,70	19,70	21,28	22,22	

Konsentrasi terendah pada uji aktivitas antikanker TiO₂NPs (75 ppm) menghambat sel A549 sebesar 22,22% sedangkan pada konsentrasi tertinggi (125 ppm) menghambat sel A549 sebesar 26,40%. Pengujian aktivitas antikanker penghambat sel kanker A549 pada TiO₂NPs diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 405 ppm.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antikanker Doxorubicin Terhadap Sel A549

Konsentrasi (ppm)	Pengulangan			Rata-rata % inhibisi	IC ₅₀
	1	2	3		
2,5	77,40	67,56	72,19	72,38	3,9 ppm
2	67,26	72,34	78,60	72,73	
1,5	88,63	88,89	87,37	88,30	
1	90,55	90,37	90,79	90,57	

Konsentrasi terendah pada uji aktivitas antikanker doxorubicin (1 ppm) menghambat sel A549 sebesar 90,57% sedangkan pada konsentrasi tertinggi (2,5 ppm) menghambat sel A549 sebesar 72,38%. Pengujian aktivitas antikanker penghambat sel kanker A549 pada doxorubicin diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 3,9 ppm.

DOI : <https://doi.org/10.54771/djvrjf14>

Cara sitasi : Azzahroh PM, Purnomo FO, Halimatushadyah E. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Line A549 Pada Green Synthesis Nanopartikel Tio2 Menggunakan Bayam Berduri Secara In Vitro. Binawan Stud.J. 2024;6(2) 169-173.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan perubahan morfologi sel A549 yang sudah terpapar oleh TiO₂NPs diamati dengan cara yang bergantung pada konsentrasi yang menunjukkan bahwa TiO₂NPs dapat menginduksi apoptosis pada sel A549. Menurut penelitian Wu et al., (2018) TiO₂NPs memiliki efek antiproliferasi pada sel A549 dengan cara yang bergantung pada konsentrasi.

Potensi penghambat sel (antiproliferasi) pada senyawa diketahui melalui nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi yang dapat menghambat perkembangan sel sebesar 50%. Suatu senyawa dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ < 50 ppm, kategori kuat jika nilai IC₅₀ 50-100 ppm, kategori sedang jika nilai IC₅₀ 100-150 ppm, kategori lemah 151-200 ppm, dan nilai IC₅₀ > 200 ppm dikategorikan sangat lemah. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Tristantini et al., 2016). Berdasarkan hasil penelitian nilai IC₅₀ yang didapatkan pada TiO₂NPs adalah 405 ppm (IC₅₀ > 200 ppm) tergolong sangat lemah. Hal ini terjadi karena ekstrak tanaman yang dipakai untuk sintesis dan pemilihan konsentrasi juga dapat mempengaruhi nilai IC₅₀.

Pada penelitian Aswini et al., (2021) TiO₂NPs yang telah disintesis dengan ekstrak ledebouria dievaluasi terhadap sel line A549 dengan konsentrasi mulai dari 6,25 µg/mL hingga 100 µg/mL. Diamati bahwa penghambatan sel menurun pada konsentrasi TiO₂NPs yang lebih rendah. TiO₂NPs menunjukkan aktivitas sel A549 dengan nilai IC₅₀ 53,65 µg/mL. ROS berperan penting dalam kematian sel eukariotik oleh TiO₂NPs. ROS berasal dari iritan lingkungan, sumber seluler terutama di mitokondria, NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) oksidase. Hidroksil yang sangat reaktif bertindak sebagai oksidan kuat yang mengakibatkan kerusakan DNA oksidatif, baik DNA standar tunggal maupun ganda (Aswini et al., 2021).

SIMPULAN dan SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa TiO₂NPs memiliki aktivitas antikanker yang tergolong sangat lemah. TiO₂NPs memiliki nilai IC₅₀ sebesar 405 ppm.

Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan uji aktivitas antikanker dengan konsentrasi yang lebih bervariasi dan tanaman yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para pihak yang telah memberi dukungan dan kontribusi terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aswini, R., Murugesan, S., & Kannan, K. (2021). Bio-engineered TiO₂ nanoparticles using *Ledebouria revoluta* extract: Larvicidal, histopathological, antibacterial and anticancer activity. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 101(15), 2926–2936. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1718668>
- Djindadi, I. T., Tulandi, S. S., Mongi, J., Palandi, R. R., Biologi, P. S., Mipa, F., Kristen, U., & Tomohon, I. (2020). *Aktivitas Antibakteri Daun Bayam Duri *Amaranthus spinosus* Linn Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus**. 1(2), 22–29.
- Fajar, H., & Ridhawati. (2017). *Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Titanium Dioksida Dengan Bioreduktor Ekstrak Kayu Manis*. 2017, 978–602.

DOI : <https://doi.org/10.54771/djvrjf14>

Cara sitasi : Azzahroh PM, Purnomo FO, Halimatushadyah E. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Line A549 Pada Green Synthesis Nanopartikel Tio₂ Menggunakan Bayam Berduri Secara In Vitro. *Binawan Stud.J.* 2024;6(2) 169-173.

- Hariharan, D., Srinivasan, K., & Lc, N. (2017). Synthesis and Characterization of Tio₂ Nanoparticles Using Cynodon Dactylon Leaf Extract for Antibacterial and Anticancer (A549 Cell Lines) Activity. *Journal of Nanomedicine Research*, 5(6), 4–8. <https://doi.org/10.15406/jnmr.2017.05.00138>
- Mobeen Amanulla, A., & Sundaram, R. (2019). Green synthesis of TiO₂ nanoparticles using orange peel extract for antibacterial, cytotoxicity and humidity sensor applications. *Materials Today: Proceedings*, 8, 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.02.118>
- Narayanan, M., Vigneshwari, P., Natarajan, D., Kandasamy, S., Alsehli, M., Elfasakhany, A., & Pugazhendhi, A. (2021). Synthesis and characterization of TiO₂ NPs by aqueous leaf extract of *Coleus aromaticus* and assess their antibacterial, larvicidal, and anticancer potential. *Environmental Research*, 200(January), 111335. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111335>
- Renuka, M., & Soundhari, C. (2017). Antibacterial and Anticancer Activity of Green Synthesised Titanium Dioxide Nanoparticle From Terminalia Chebula. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(2), 1164–1179. <https://doi.org/10.20959/wjpr20182-10751>
- Santhoshkumar, T., Rahuman, A. A., Jayaseelan, C., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Kirthi, A. V., Velayutham, K., Thomas, J., Venkatesan, J., & Kim, S. K. (2014). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Psidium guajava* extract and its antibacterial and antioxidant properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(12), 968–976. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60171-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60171-1)
- Shiva Samhitha, S., Raghavendra, G., Quezada, C., & Hima Bindu, P. (2021). Green synthesized TiO₂ nanoparticles for anticancer applications: Mini review. *Materials Today: Proceedings*, 54(November), 765–770. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.11.073>
- Tristantini, D., Pradana Tegar, B., Ismawati, A., & Jonathan Gabriel, J. (2016). *Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode dpph pada ekstrak etanol daun tanjung (mimusops elengi L) melalui ekstraksi refluks = Uji aktivitas antioksidan dengan dpph pada ekstrak etanol daun tanjung menggunakan ekstraksi refluks*. 1–7.
- Wahyuddin. (2020). *Peranan Nanomedicine Sebagai Drug-Delivery Dalam Upaya Peningkatan Terapi Target Kanker : Literature Review*. Universitas Hasanuddin.
- WHO. (2020). Corpus uteri. In WHO. https://doi.org/10.1007/978-3-662-11496-4_24
- Wu, J., Wang, Y., Liu, G., Jia, Y., Yang, J., Shi, J., Dong, J., Wei, J., & Liu, X. (2018). Characterization of air-liquid interface culture of A549 alveolar epithelial cells. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 51(2), 1–9. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20176950>
- Zafrial, R. M., & Amalia, R. (2018). Artikel Tinjauan : Anti Kanker dari Tanaman Herbal. *Farmaka*, 16(1), 15–23.