

**STUDI TERMODINAMIKA DNA TERHADAP SENYAWA ANTIOKSIDAN EKSTRAK
EUPHORBIA HUMIFUSA YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIKANKER
(DNA Thermodynamic Study of Antioxidant Compounds from Methanolic Extract of Euphorbia
humifusa as Potential Anticancer Agents)**

Maria Goretti M. Purwanto*, Tjie Kok, Noviana Wulansari
Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya,
Raya Kalirungkut, 60293 Surabaya, Indonesia
*maria_gmp@ubaya.ac.id

Abstrak

Telah diketahui bahwa ekstrak metanol dari *Euphorbia humifusa* memiliki efek sitotoksik yang tinggi terhadap sel mamaloma serta menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai $EC_{50} = 56.26 \pm 0.66 \mu\text{g/mL}$ (1-2). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan screening senyawa antioksidan yang sekaligus berpotensi sebagai antikanker dengan cara berinteraksi langsung dengan DNA. Ekstrak metanol dari *E. humifusa* dibuat dengan cara Sokletasi. Ekstrak dipekatkan dan disuspensikan dalam air, kemudian dipartisi dengan petroleum eter dan etil asetat. Aktivitas antioksidan dari fraksi petroleum eter maupun etil asetat ditentukan dengan uji DPPH. Nilai IC_{50} untuk fraksi petroleum eter, etil asetat dan air masing-masing adalah $91.50 \mu\text{g/mL}$; $7.46 \mu\text{g/mL}$ dan $56.18 \mu\text{g/mL}$. Fraksi etil asetat lalu difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika dan gradient eluent metanol-aseton-kloroform. Fraksi VI dan VII menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi, masing-masing 30,73% dan 66,12%. Kedua fraksi tersebut difraksinasi lebih lanjut dengan sistem kromatografi yang sama, di mana aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh fraksi I dan L yang berasal dari fraksi VI, yaitu masing-masing sebesar 64,03 dan 56,32%. Uji titik leleh DNA menunjukkan peningkatan kestabilan termal dari DNA ketika dicampurkan dengan fraksi I. Sementara itu, uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa-senyawa dengan aktivitas antioksidan dalam fraksi I maupun L merupakan golongan senyawa alkaloid dan minyak atsiri. Namun, senyawa mana yang berinteraksi dengan DNA belum dapat diidentifikasi karena belum dilakukan pemurnian hingga komponen tunggal.

Kata kunci: *Euphorbia humifusa*, Antioksidan, DNA recognition, Thermal Denaturation Study

Abstract

It has been showed that methanolic extract of *Euphorbia humifusa* possesses cytotoxic effect toward mammaloma cell and high antioxidant activity; $EC_{50} = 56.26 \pm 0.66 \mu\text{g/mL}$ (1-2). This study aims to screening of antioxidant compounds with potential anticancer activity by direct interaction with DNA. Extract of *E. humifusa* was (prepared) by Soxhletation using methanol. The extract was concentrated and suspended in water prior to partition with petroleum ether and ethyl acetate. The antioxidant activity of collected fractions of petroleum ether, ethyl acetate, and water was measured using DPPH method. The IC_{50} values found for petroleum ether, ethyl acetate, and water fraction were $91.50 \mu\text{g/mL}$; $7.46 \mu\text{g/mL}$ and $56.18 \mu\text{g/mL}$, respectively. The ethyl acetate fraction was subjected to column chromatography on silica gel using chloroform with an increasing volume of methanol as eluent to give eight fractions. The fraction VI and VII showed highest antioxidant activity (30.73% and 66.12% respectively). The fraction VI and VII were further purified on a silica gel column with methanol-acetone-chloroform as gradient eluent. Further purification of fraction VI gave fraction I and fraction L that showed highest antioxidant activity (64.03% and 56.32%). In this research we observed the increase of thermal stability of DNA up to 11°C after mixing with fraction I. The result of phytochemical analysis of fraction I and fraction L indicated that compounds which showed antioxidant activity were alkaloids and essential oils.

However, which compound interacts with DNA is still unknown, since purification has not been done.

Keywords: Euphorbia humifusa, Antioxidants, DNA recognition, Thermal Denaturation Study

Naskah diterima tanggal 2 Juni 2012, disetujui untuk dimuat tanggal 31 Juli 2012.

Alamat korespondensi: maria_gmp@ubaya.ac.id

PENDAHULUAN

Fenomena pemblokiran transkripsi DNA (strategi *Antigene*) dalam kontrol ekspresi gen sudah banyak diteliti di Amerika dan Eropa. Pada penelitian awal melalui pemodelan molekul telah berhasil didapatkan beberapa senyawa sintetik yang berhasil menarget sekuens DNA secara spesifik (3-6). Di sisi lain, kekayaan alam Indonesia menawarkan peluang besar untuk pencarian senyawa bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker, khususnya sebagai agen *Antigene* yang menawarkan peluang pengobatan kanker dengan efek samping yang minimal, karena obat/agen tersebut hanya berinteraksi dengan target DNA tertentu (7,8). Sejauh ini, senyawa-senyawa yang banyak dieksplorasi dan dirancang untuk berfungsi sebagai agen *Antigene* maupun *Antisense* baru berupa senyawa kimia sintetik (9). Padahal, kekayaan alam Indonesia yang tinggi menawarkan peluang besar untuk pencarian senyawa bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker, khususnya sebagai agen. Demikian pula, banyak penelitian dan upaya-upaya yang selama ini dilakukan oleh peneliti di dalam maupun luar negeri yang menunjukkan bahwa bahan alam pada dasarnya jauh lebih aman dan lebih dapat diterima daripada bahan sintesis sebagai upaya pengobatan dalam tubuh (8). Bahkan, banyak obat sintetik yang beredar sesungguhnya diturunkan berdasarkan struktur bahan alam berkhasiat yang diketahui sebelumnya. Menurut cacatan berdasarkan survey pada tahun 2004, selama kurun waktu 1981-2002, hanya 43% obat yang beredar di pasaran merupakan obat sintetik, sedangkan 53%-nya diturunkan dari bahan alam (10). Melalui penelitian ini, eksplorasi agen *Antigene* dilanjutkan pada metabolit sekunder dari bahan dari Indonesia, yaitu *E. humifusa* (daun dewa) yang akan diujikan kekuatan dan kespesifikan interaksinya terhadap sekuens oligonukleotida (DNA) dalam kondisi yang memimik cairan fisiologis tubuh (pelarut, pH dan kadar ion).

Metode analisa yang akan digunakan adalah spektroskopi UV-VIS untuk uji kestabilan termal dari DNA *triple helix*

METODE

Bahan
 Penelitian ini menggunakan sampel seluruh tanaman *E. humifusa* yang dikumpulkan dari kota Malang dan Surabaya, Jawa Timur-Indonesia. Tanaman yang telah dikumpulkan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan cemaran, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung selama 4 hari hingga kering. Tanaman yang telah kering diblender hingga halus.

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi meliputi metanol, aquadest, petroleum eter, etil asetat. Bahan untuk pengujian aktivitas antioksidan: DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl), metanol. Bahan untuk purifikasi ekstrak: Silica gel 60 (0,063-0,2 mm), Plat Silica (GF₂₅₄), metanol, klorofom, aseton. Bahan untuk uji interaksi ekstrak dengan DNA: Oligonukleotida 16 s 2 (5'-AAAggAAATTTTTTCCTTT-3'), buffer Tris-Cl 10 mM pH 7, NaCl 100 mM, aquadest steril. Bahan untuk *skrining* fitokimia: pereaksi dragendorf, pereaksi anisaldehyd-H₂SO₄ pekat, dan uap amonia.

Cara kerja

Pembuatan Fraksi Petroleum Eter, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Tanaman *E. humifusa*
 Serbuk tanaman *E. humifusa* sebanyak 28 gram, dimasukkan ke dalam kantong kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam soxhlet. Serbuk dalam soxhlet dimaserasi selama semalam dengan metanol sebanyak 40 mL, sedangkan 210 mL metanol yang lain diletakkan ke dalam labu alas bulat. Serbuk tanaman diekstrak dengan metode soxhletasi selama 18 jam pada suhu 72°C. Ekstrak metanol tanaman *E. humifusa* kemudian dikeringkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C.