View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Pustaka Kesehatan

Sitotoksisitas Minyak Mesoyi (*Cryptocarya massoy)* terhadap Sel Vero (*Cytotoxicity of Mesoyi Oil (Cryptocarya massoy) on Vero Cell Lines*)

Bawon Triatmoko[1], Triana Hertiani[2], Agustinus Yuswanto[3]
[1]Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember
[2]Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada
[3]Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada
Jalan Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: bawon.farmasi@unej.ac.id

Abstract

Mesoyi oil distilled from the bark of Cryptocarya massoy have been used for traditional treatment of various ethnicities. However, its safety use has not been widely studied. This study aimed to investigate the cytotoxicity of mesoyi oil on vero cells in vitro. The Inhibitory concentration 50% (IC_{50}) of mesoyi oil is evaluated using MTT assay. The results indicated that the mesoyi oil exhibited cytotoxic effects on vero cells with IC_{50} value of 97.4 µg//mL. This call for further studies to evaluate the cytotoxic activity in vivo.

***Keywords**: cytotoxicity, essential oil, cryptocarya massoy, vero cell*

Abstrak

Minyak mesoyi yang diperoleh dari destilasi kulit batang *Cryptocarya massoy* banyak dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional berbagai etnis. Namun demikian, keamanan penggunaannya belum banyak diteliti. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh sitotoksik minyak mesoyi terhadap sel vero in vitro. Konsentrasi hambat 50% (IC_{50}) minyak mesoyi ditentukan menggunakan metode MTT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak mesoyi memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel vero dengan IC_{50} sebesar 97,4 µg/mL. Selanjutnya perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui sitotoksisitasnya in vivo.

Kata kunci: sitotoksisitas, minyak atsiri, cryptocarya massoy, sel vero

Pendahuluan

Mesoyi (*Cryptocarya massoy)* suku Lauraceae termasuk tumbuhan yang banyak dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional. Bagian tumbuhan yang dipakai terutama berasal dari kulit batangnya. Minyak mesoyi dari hasil destilasi kulit batang *Cryptocarya massoy* dimanfaatkan masyarakat jawa secara tradisional untuk mengobati keputihan, kejang perut, dan pasca persalinan [1]. Minyak mesoyi juga dipakai untuk pengobatan diare dan demam [2].

Kandungan minyak mesoyi diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antimikroba dan antikanker. Komponen utama minyak mesoyi mampu menghambat bakteri gram positif dan gram negatif [3] serta *Candida albicans* [4]. Komponen dalam minyak mesoyi juga menunjukkan aktivitas sitotoksisitas moderat terhadap sel kanker MCF-7, NCI-H292, HT-29, HI-60, dan K562 [5].

Senyawa utama yang terkandung dalam minyak mesoyi adalah masoyi lakton [6]. Senyawa ini memiliki gugus fungsi α,β-tak jenuh δ-lakton [5]. Gugus fungsi tersebut bertanggung jawab dalam aktivitas biologisnya. Gugus seperti ini cenderung mengakibatkan reaksi sensititasi terhadap kulit [7]. Sifat ini menunjukkan potensi sitotoksiknya.

Penelitian tentang evaluasi keamanan penggunaan minyak mesoyi masih jarang.

Informasi mengenai sitoksisitas minyak mesoyi terhadap sel mamalia sejauh ini belum ada. Tingkat toksisitasnya khususnya pada sel normal juga belum diketahui. Oleh sebab itu dalam penelitian ini kami melaporkan tingkat sitotoksisitas (IC_{50}) minyak mesoyi terhadap sel vero in vitro.

Sel vero berasal dari ginjal kera hijau afrika (*Cercopithecus aethiops*). Sel ini homolog dengan sel tubuh manusia dan mudah dibiakkan. Sel vero yang sehat berbentuk triangular dan akan berubah menjadi bentuk "round-off" jika berinteraksi dengan senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik. Viabilitas atau mortalitasnya dapat dianalisis dengan mudah menggunakan metode uji *methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide* (MTT). Metode ini banyak digunakan untuk mengevaluasi keamanan obat dan makanan [8].

Metode Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian in antara lain minyak mesoyi dari pasar lokal, sel vero, media komplit (RPMI, FBS 10%, Pen-strep 1%, Fungizone 0,5%), tripsin-EDTA, akuades steril, dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck), MTT (5 mg dalam PBS), PBS, SDS dan *microwell* 96 (Iwaki).

Adapun alat-alat yang digunakan antara lain *biosafety cabinet class II* (Labconco), flash 25 cm^2, inkubator CO_2 (Heraeus), *haemocytometer* (Neubauer), *microwell reader* (Bio-Rad).

Uji Sitotoksisitas

Sel vero ditumbuhkan dalam flash 25 cm^2 mengandung media komplit pada inkubator CO_2 5% bersuhu 37℃. Saat sel 80-90 persen konfluen maka ditambahkan 2 mL tripsin-EDTA untuk melepaskan sel yang menempel pada flask. Sel kemudian dipanen dan disentrifugasi. Kepadatan sel dihitung menggunakan *haemocytometer*. Sel diencerkan pada media komplit hingga diperoleh 1×10^5 sel/mL. Tiap sumuran pada *microwell 96* (kecuali kontrol media) masing-masing diberi 100 µL suspensi sel (1×10^4 sel). *Microwell 96* diinkubasi pada 37℃ dalam inkubator CO_2 5% selama 24 jam. Media dalam sumuran dibuang sebelum perlakuan sampel. Satu seri konsentrasi minyak mesoyi (5 - 40 µg/mL dalam media komplit) ditambahkan sebanyak 100 µL ke tiap sumuran. Pelarut DMSO diujikan juga dengan seri konsentrasi yang sama sesuai pengunaan. Kontrol media dan kontrol sel tidak diberi perlakuan sampel. Sel selanjutnya diinkubasi pada 37℃ dan CO_2 5% selama 24 jam dan viabilitas sel dihitung menggunakan metode MTT.

Cairan pada sumuran dibuang dan dibilas satu kali dengan PBS. Sebanyak 100 µL reagen MTT ditambahkan pada tiap sumuran termasuk pada kontrol. *Microwell 96* diinkubasi selama 4 jam. Sebanyak 100 µL SDS 10% ditambahkan pada tiap sumuran. *Microwell 96* diinkubasikan semalam di ruang gelap pada suhu ruang. Absorbansi di tiap sumuran dibaca menggunakan *microwell reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Persentase mortalitas sel vero diperoleh dari absorbansi dengan persamaan 1 [9] .

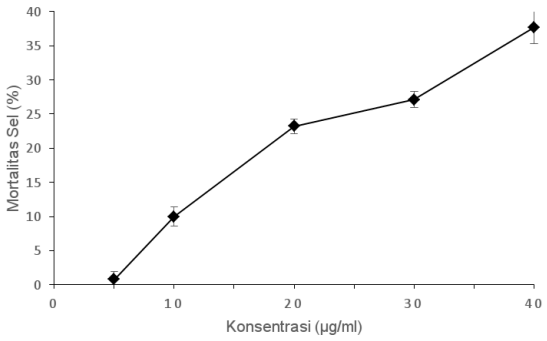
$$\text{mortalitas}(\%) = \frac{(K-M)-(S-M)}{K-M} \times 100\% \ldots (1)$$

Keterangan:
S = Absorbansi sampel
K = Absorbansi kontrol sel
M = Absorbansi kontrol media

Nilai IC_{50} ditentukan menggunakan persamaan regresi linier, log konsentrasi sampel sebagai variabel x dan mortalitas sel (%) sebagai variabel y.

Hasil Penelitian

Hasil uji sitotoksisitas beberapa konsentrasi minyak mesoyi terhadap sel vero dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh lima macam konsentrasi minyak mesoyi terhadap viabilitas sel (mortalitas). *Error bar* menunjukkan simpangan baku (n=3).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa minyak mesoyi mempengaruhi viabilitas sel vero

(Gambar 1). Pada konsentrasi terkecil 5 µg/mL sudah memberikan aktivitas sitotoksik dan aktivitasnya meningkat seiring peningkatan konsentrasi minyak mesoyi. Semakin tinggi konsentrasi minyak mesoyi yang diberikan maka semakin banyak sel yang mati (mortal). Hasil ini menunjukkan bahwa mortalitas sel vero berbanding lurus dengan konsentrasi minyak mesoyi. Hal ini berarti peningkatan konsentrasi minyak mesoyi mengakibatkan peningkatan mortalitas sel vero atau penurunan viabilitasnya.

Analisis regresi linier antara konsentrasi minyak mesoyi dan persen mortalitas sel vero menghasilkan persamaan y = 39,119x – 27,797 (R^2 = 0,977). Berdasarkan persamaan tersebut, nilai IC_{50} (variabel x) dari minyak mesoyi sebesar 97,4. Dengan demikian kadar hambat 50% (IC_{50}) minyak mesoyi yaitu 97,4 µg/mL.

Pembahasan

Potensi sitotoksisitas minyak masoyi diuji menggunakan kultur sel vero. Viabilitas sel vero setelah perlakuan diukur menggunakan metode MTT. Reagen MTT akan direduksi oleh enzim dehidrogenase (mitokondria) menjadi kristal formazan berwarna biru magenta [10]. Intensistas warna ini menunjukkan viabilitas sel vero dibawah pengaruh minyak mesoyi.

Nilai IC_{50} minyak mesoyi yang diperoleh dalam penelitian ini berbeda dengan nilai IC_{50} yang dilaporkan oleh Permanasari et al. [11]. Nilai IC_{50} yang diperoleh dalam penelitian ini dan Nilai IC_{50} yang dilaporkan berturut-turut sebesar 97,4 µg/mL dan 43,59 µg/mL. Nilai IC_{50} yang diperoleh dalam penelitian ini lebih tinggi dibanding Nilai IC_{50} yang dilaporkan Permanasari et al. [11]. Perbedaan ini mungkin disebabkan perbedaan sumber minyak mesoyi dan cara ekstraksinya sehingga berkonsekuensi berbeda pula kadar kandungan senyawanya. Permanasari et al. [11] menggunakan minyak mesoyi hasil maserasi kulit kayu mesoyi sedangkan penelitian ini menggunakan hasil destilasi kulit kayu mesoyi.

Sitotoksisitas minyak masoyi terkait dengan senyawa masoyi lakton. Masoyi lakton merupakan kandungan utama minyak masoyi. Masoyi lakton mengandung cincin lakton dan termasuk golongan terpen lakton. Senyawa terpen terutama sesquiterpen lakton diketahui cenderung bersifat toksik. Masoyi lakton memiliki rantai O=C-C=CH2. Adanya O=C-C=CH2 menyumbangkan sifat toksisitas senyawa [12]. Gugus α,β-takjenuh δ-lakton yang dimiliki masoyi lakton merupakan gugus penting yang bertanggung jawab pada aktivitas biologis senyawa sejenis [5].

Simpulan dan Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak mesoyi memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel vero. Sitotoksisitas minyak mesoyi meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasinya. Nilai IC_{50} minyak mesoyi terhadap sel vero sebesar 97,4 µg/mL. Hasil ini perlu dievaluasi lanjut lagi dengan uji sitotoksisitas in vivo.

Daftar Pustaka

[1] Shanthi RV, - J, Izzati M. Studi etnobotani pengobatan tradisional untuk perawatan wanita di masyarakat Keraton Surakarta Hadiningrat. Biosaintifika J Biol Biol Educ 2014; 6.

[2] United States Department of Agriculture (USDA). Ethnobotanical use of *Cryptocarya aromatica* (Lauraceae); Washington DC: Agriculture National Library; 1992. [cited 2016 June 9] Available from: https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/ethnoPlants/show/8554?et=.

[3] Pratiwi SUT, Lagendijk EL, Weert S De, Hertiani T, Weert S de, M CA, Hondel C Van Den. Antimicrobial effects of Indonesian medicinal plants extracts on planktonic and biofilm growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Int J Pharm Pharm Sci 2015; 7.

[4] Kishimoto N, Sugihara S, Mochida K, Fujita T. In vitro antifungal and antiviral activities of γ- and δ-lactone analogs utilized as food flavoring. Biocontrol Sci 2005; 10:31–36.

[5] Barros MESB, Freitas JCR, Oliveira JM, da Cruz CHB, da Silva PBN, de Araújo LCC, Militão GCG, da Silva TG, Oliveira RA, Menezes PH. Synthesis and evaluation of (-)-massoialactone and analogues as potential anticancer and anti-inflammatory agents. Eur J Med Chem 2014; 76:291–300.

[6] Rali T, Wossa SW, Leach DN. Comparative chemical analysis of the essential oil constituents in the bark, heartwood and fruits of *Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm. (Lauraceae) from Papua New Guinea. Molecules 2007; 12:149–154.

[7] Tisserand R, Young R. Essential oil profiles. Essential Oil Safety. Elsevier; 2014:187–482.
[8] Liao TT, Shi YL, Jia JW, Wang L. Sensitivity of different cytotoxic responses of vero cells exposed to organic chemical pollutants and their reliability in the bio-toxicity test of trace chemical pollutants. Biomed Environ Sci 2010; 23:219–229.
[9] Vijayarathna S, Sasidharan S. Cytotoxicity of methanol extracts of *Elaeis guineensis* on MCF-7 and Vero cell lines. Asian Pac J Trop Biomed 2012; 2:826–9.
[10] Mahto SK, Chandra P, Rhee SW. In vitro models, endpoints and assessment methods for the measurement of cytotoxicity. Toxicol Environ Health Sci 2010; 2:87–93.
[11] Permanasari P, Hertiani T, Yuswanto A. Immunomodulatory Effect of massoia bark extract and the cytotoxicity activity against fibroblast and Vero cells in vitro. Int J Pharm Clin Res 2016 2016; 8:326–330.
[12] Lee KH, Huang ES, Piantadosi C, Pagano JS, Geissman T a. Cytotoxicity of sesquiterpene lactones. Cancer Res 1971; 31:1649–1654.