

Kesan kemopreventif dan kandungan scopoletin dalam buah mengkudu

(Chemopreventive effect and scopoletin content in mengkudu fruit)

Kharis Zahid, Azimahtol Hawariah Lope Pihie, Mohd. Nazrul Hisham, Razali Mirad, Hasnisa Hashim, Aishah Ramli dan Mazlan Sarip

Pengenalan

Mengkudu atau nama saintifiknya *Morinda citrifolia* bukan sesuatu yang asing dalam masyarakat moden hari ini. Tumbuhan ini banyak digunakan terutamanya untuk tujuan perubatan yang terkenal dengan khasiatnya. Sejarah penggunaannya yang lama sejak ribuan tahun dahulu oleh masyarakat di kepulauan Polynesia telah membongkar khasiat penggunaan dan kelebihan tumbuhan ini. Bagi masyarakat Melayu, daunnya sering digunakan untuk rawatan bertungku wanita lepas bersalin. Buahnya pula sering diproses untuk dibuat jus selain digunakan dalam ramuan ubat-ubatan tradisional dan diambil untuk pelbagai tujuan kesihatan seperti mencegah dan merawat kanser. Banyak kajian yang dipelopori oleh barat menunjukkan mengkudu mengandungi zat penting xeronin yang berfungsi meregulasi fungsi biologi dalam tubuh badan supaya dapat berfungsi dengan normal di samping komponen-komponen bahan aktif yang lain seperti polisakarida, flavonoid, alkaloid, sebatian fenolik, terpenoid, asid-asid organik dan lain-lain.

Sehingga kini, lebih 160 jenis sebatian telah dikenal pasti dan sebahagian daripada komponen-komponen bioaktif ini boleh mempamerkan bioaktiviti tertentu seperti keupayaannya untuk mengubah suai karsinogenesis kimia yang berlaku melalui pelbagai cara termasuk merencat perkembangan sel kanser. Beberapa sebatian seperti iridoids, damnacanthal dan sebatian fenolik termasuklah flavonoid menunjukkan potensi sebagai agen antikanser dalam mengkudu dan berupaya menghalang karsinogenesis dengan merencat pertumbuhan sel kanser yang berkembang. Karsinogenesis merupakan proses yang berlaku akibat kerosakan genetik atau biokimia sel yang boleh mengganggu pelbagai proses kawal atur di dalam badan.

Kesan kemopreventif mengkudu

Pengambilan mengkudu boleh mengubah tindak balas biologi dan meningkatkan sistem imun badan. Kajian terdahulu menunjukkan kesan pemberian ekstrak mengkudu yang mengandungi polisakarida termendak (noni-ppt) terhadap mencit yang telah diaruh dengan kanser paru Lewis dan

mendapati jangka hayat hidupnya meningkat sehingga 75% lebih lama berbanding dengan kawalan. Pemberian ekstrak noni-ppt secara tidak langsung telah merangsang sistem imun mencit yang menghalang pembiakan sel kanser daripada berkembang.

Selain itu, ekstrak mengkudu juga didapati mampu mempamerkan kesan kemopreventif dengan merencat pertumbuhan sel-sel kanser daripada berkembang lebih luas dan menjadi lebih malignan. Kajian sitotoksiti buah mengkudu menunjukkan keupayaan merencat pertumbuhan sel kanser dengan berkesan. Ekstrak buah mengkudu yang diberi pada titisan sel kanser manusia secara *in vitro* didapati berkesan membunuh beberapa jenis sel kanser manusia yang diuji iaitu kanser paru, hati, serviks dan ovari.

Kesan perencatan ekstrak mengkudu didapati lebih berkesan dan signifikan terhadap pertumbuhan sel kanser paru berbanding dengan sel-sel kanser lain yang diuji. Ini ditunjukkan dengan nilai EC_{50} yang rendah iaitu $29 \mu\text{g/ml}$ (Jadual 1). Nilai EC_{50} merujuk kepada nilai kepekatan ekstrak dalam $\mu\text{g/ml}$ yang merencat pertumbuhan separuh populasi sel yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak tersebut. Nilai EC_{50} yang kecil menunjukkan kuasa perencatan terhadap pertumbuhan sel kanser yang lebih kuat berbanding dengan nilai EC_{50} yang lebih besar. Daripada kajian yang dijalankan, kesan perencatan terhadap sel kanser didapati berbeza-beza bergantung pada tahap dan jenis kanser dengan kesan perencatan paling kuat ditunjukkan pada kanser paru dan yang paling lemah pada sel kanser payudara. Kemalignan sesuatu sel kanser juga didapati menjadi lebih rintang terhadap ekstrak mengkudu. Walau bagaimanapun, ekstrak mengkudu tidak menunjukkan kesan sitotoksik yang

signifikan terhadap sel normal MDBK yang diuji apabila mempunyai nilai EC_{50} yang tinggi. Sebaliknya rawatan kemoterapi dengan taksol tidak bersifat selektif malahan turut merencat pertumbuhan sel-sel normal. Ini menunjukkan ekstrak mengkudu lebih bersifat sito-selektif dan selamat berbanding dengan rawatan kemoterapi moden seperti taksol (Jadual 2). Kajian agen kemoterapeutik moden selalunya akan bertindak atas prinsip merencat pertumbuhan sel-sel kanser yang membahagi dengan cepat. Walau bagaimanapun, terdapat beberapa bahagian sel

Jadual 1. Nilai EC_{50} ekstrak mengkudu menggunakan pelarut kloroform terhadap sel kanser berlainan

Titisan sel kanser selanjara	Nilai EC_{50}
Paru (NCI-H23)	$29.0 \pm 5 (\mu\text{g/ml})$
Hati (HepG2)	$190.55 \pm 8.5 (\mu\text{g/ml})$
Payudara (MCF-7)	$169.82 \pm 12 (\mu\text{g/ml})$
Ovari (Caov-3)	$162.18 \pm 12.8 (\mu\text{g/ml})$
Serviks (HeLa)	$102 \pm 8.6 (\mu\text{g/ml})$

Jadual 2. Kesan dan nilai EC_{50} ekstrak mengkudu menggunakan pelarut kloroform terhadap sel kanser paru NCI-H23 dan sel normal MDBK

Sampel	NCI-H23 ($\mu\text{g/ml}$)	MDBK ($\mu\text{g/ml}$)
Ekstrak mengkudu	29.00 ± 5	273.80 ± 12.5
Taksol (kawalan)	0.68 ± 0.05	0.18 ± 0.04

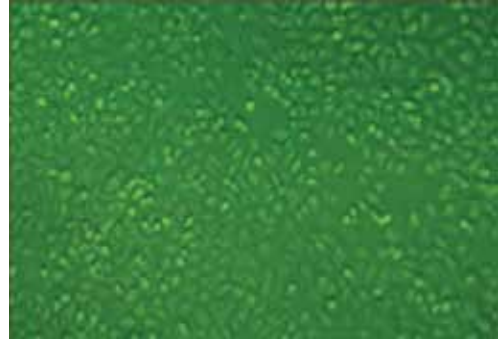
normal badan yang membiak dengan cepat termasuklah sel rambut, kuku dan beberapa sel lain. Oleh itu, sel-sel normal yang membahagi dengan cepat akan terjejas dan turut direncat oleh taksol. Kesan perencatan oleh ekstrak mengkudu didapati mengaruh kematian sel kanser melalui apoptosis.

Pemerhatian di bawah mikroskop cahaya fasa berbalik pada kuasa pembesaran 100X mendapati sel adenokarsinoma paru (NCI-H23) yang diberi perlakuan dengan ekstrak mengkudu menunjukkan kesan perencatan yang signifikan dengan morfologi sel jelas kelihatan berubah menjadi lebih kecil dan mengecut (*Gambar 1* dan *Gambar 2*). Pada peringkat awal membran sel akan kehilangan rupa bentuk asimetrinya dan hilang keupayaan perlekatan dengan sel bersebelahan. Lama kelamaan kesan kemusnahan integriti sel semakin jelas dan lebih banyak sel tertanggal dan akhirnya terapung membentuk jasad apoptotik. Daripada pemerhatian didapati kadar kematian apoptosis yang diaruh oleh ekstrak mengkudu adalah bersandar dengan masa.

Identifikasi komponen bioaktif scopoletin

Komponen bioaktif scopoletin telah berjaya diasingkan daripada ekstrak mengkudu yang menunjukkan aktiviti antiproliferasi signifikan terhadap perencatan sel kanser. Sebatian scopoletin dipisahkan melalui kromatografi kolum apabila dielut bersama dalam campuran pelarut heksan dan kloroform dengan meningkatkan darjah kepolaran pelarut secara berperingkat (*Carta alir 1*).

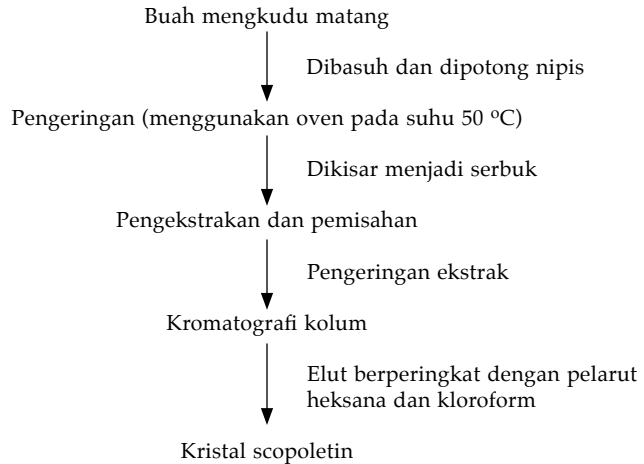
Penulenan komponen scopoletin seterusnya menghasilkan kristal putih berbentuk jarum daripada komponen matriks lain. Analisis dengan GCMS menunjukkan kehadiran spektrum ion dengan formula molekul $C_{10}H_8O_4$. Scopoletin (7-hydroxy-6-methoxy-2H-1-benzopyran-2-one) merupakan sebatian daripada kumpulan coumarin dengan berat jisim molekulnya 192.16 g/mol. Kristal scopoletin berbentuk jarum halus dan berwarna putih (*Gambar 3*). Sebanyak 0.02% sebatian tulen scopoletin telah diperolehi daripada proses pengekstrakan dan penulenan daripada sampel buah mengkudu yang matang.



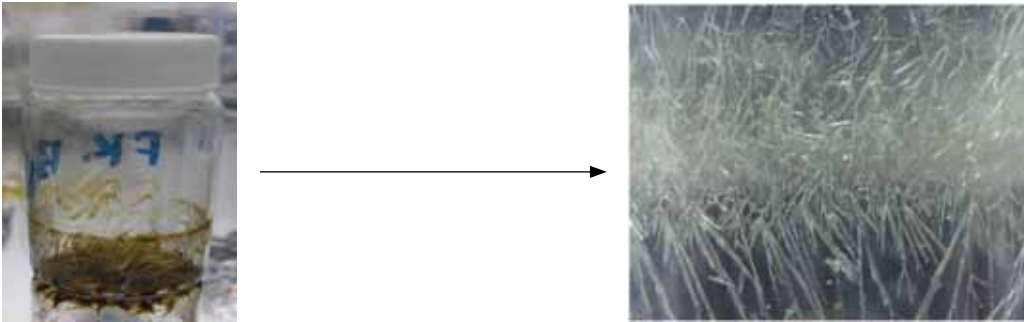
Gambar 1. Sel paru (NCI-H23) tanpa ekstrak mengkudu, tidak mengalami apoptosis dan masih melekat pada dasar kelalang



Gambar 2. Sel paru (NCI-H23) dengan ekstrak mengkudu mengalami apoptosis. Kepadatan sel berkurang, sel yang mati tertanggal dan terapung dari dasar kelalang dan membentuk serpihan-serpihan kecil jasad apoptotik



Carta alir 1. Pengekstrakan dan pemencilan scopoletin daripada buah mengkudu



Gambar 3. Kristal putih scopoletin berbentuk jarum yang terbentuk selepas penulenan

Kehadiran sebatian scopoletin ini membentuk kumpulan sebatian utama dalam ekstrak mengkudu. Oleh itu, kehadiran sebatian scopoletin menunjukkan kesan bioaktiviti antikanser dan bertindak menjadi agen kemopreventif yang signifikan di dalam buah mengkudu. Sebatian scopoletin dilaporkan boleh mempamerkan kepelbagaian dalam bioaktivitinya. Ini termasuklah keupayaannya bertindak sebagai antimikrob, antiradang, antidiabetik termasuklah keupayaannya untuk menahan kitaran sel dan seterusnya mengaruh kematian sel kanser secara normal melalui apoptosis.

Kesimpulan

Daripada kajian dapat dirumuskan bahawa ekstrak yang dihasilkan daripada buah mengkudu mengandungi kesan kemopreventif dan mampu bertindak merencat pertumbuhan sel kanser. Pemisahan dan penentuan sebatian bioaktif dalam jus dan ekstrak buah mengkudu menunjukkan kehadiran sebatian utama scopoletin. Oleh itu, dapat disimpulkan kesan kemopreventif yang ditunjukkan oleh ekstrak mengkudu

adalah disebabkan kehadiran sebatian utama scopoletin yang berupaya merencat pertumbuhan sel kanser secara apoptosis atau bersinergi dengan sebatian bioaktif lain yang hadir bersama dalam ekstrak mengkudu.

Bibliografi

- Buttke, T.M. dan Sandstrom, P.A. (1994). Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunology Today* 15: 7 – 10
- Hiramatsu, T., Imoto, M., Koyano, T. dan Umezawa, K. (1993). Induction of normal phenotypes in RAS transformed cells by damnacanthol from *Morinda citrifolia*. *Cancer Letters* 73: 161 – 166
- Kharis, Z., Azimahtol Hawariah, L.P. dan Normah, A. (2009). Elevation of p53 level in a non-small cell human lung cancer cell line NCI-H23 apoptosis treated by *M. citrifolia* extract. *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.* 37(1): 77 – 84
- Kharis, Z., Razali, M., Azimahtol Hawariah, L.P., Aishah, R. dan Normah, A. (2010). Preliminary study on the cytotoxic effect of *Morinda citrifolia* extracts toward a panel of human cancer cell lines. Proceeding of Biotechnology Symposium IV, 1 – 3 Disember, 2010 di Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu Sabah m.s. 120
- Kimura, Y., Furuhashi, T., Shiratsuchi, T., Nishimori, H., Hirata, K., Nakamura, Y. dan Tokino, T. (1997). GML sensitizes cancer cells to Taxol by induction of apoptosis. *Oncogene* 15(11): 1369 – 1374

Ringkasan

Kajian antikanser dalam buah mengkudu menunjukkan ekstrak mengkudu mengandungi agen kemopreventif yang mampu merencat pertumbuhan sel kanser. Keupayaan ekstrak mengkudu merencat pertumbuhan sel kanser berbeza-beza bergantung pada kemalignan dan jenis sel yang digunakan. Walau bagaimanapun, ekstrak mengkudu menunjukkan sifat selektiviti dengan membunuh hanya sel kanser, tetapi tidak sel normal. Ekstrak mengkudu cenderung merencat pertumbuhan sel kanser dengan mengaruh apoptosis sel dan kadar apoptosis meningkat dengan masa. Pemencilan komponen bioaktif dalam ekstrak mengkudu telah mengenal pasti sebatian utama scopoletin dalam ekstrak tersebut. Oleh itu, dapat disimpulkan kesan kemopreventif dalam ekstrak mengkudu mungkin disebabkan oleh sebatian scopoletin tersebut atau sinergi sebatian scopoletin dengan komponen bioaktif lain yang hadir sama dalam ekstrak tersebut.

Summary

Anticancer study of mengkudu extract from the mature fruit showed that it contained a chemopreventive agent that significantly inhibited the cancer cells growth. The capability of *mengkudu* extract to inhibit the cancer cells growth depends on their malignancy and type of cells used in the treatment. However, the *mengkudu* extract showed selectivity, it inhibited only the cancerous cells, but not the normal cells. The *mengkudu* extract tends to inhibit cancer cells

growth through apoptosis induction and the apoptosis rate proportionally increases with time. Isolation of the bioactives component has determined the scopoletin compound in *mengkudu* extract. Therefore, it can be concluded that the chemopreventive effect of *mengkudu* extract may be due to the presence of scopoletin compound solely or due to the synergistic effect of scopoletin with other bioactive compounds present in the extract.

Pengarang

Kharis Zahid

Pusat Penyelidikan Sains Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: hariss@mardi.gov.my

Azimahtol Hawariah Lope Pihie

Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia
43600 UKM, Bandar Baru Bangi, Selangor

Mohd. Nazrul Hisham, Razali Mirad, Hasnisa Hashim, Aishah Ramli dan
Mazlan Sarip

Pusat Penyelidikan Sains Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor