



**"Tema: 3 (pangan, gizi dan kesehatan)"**

**SIFAT SITOTOKSIK DARI EKSTRAK KULIT BATANG  
*CHISOCHETON PENTANDRUS* (MELIACEAE) TERHADAP SEL  
KANKER PAYUDARA MCF-7**

Oleh

**Muhamad Salman Fareza<sup>1\*</sup>, Unang Supratman<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman**

**<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas**

**Padjajaran**

**muhamad.fareza@unsoed.ac.id**

**ABSTRAK**

*Chisocheton* (Meliaceae) merupakan salah satu tumbuhan Indonesia yang secara empiris digunakan untuk mengobati penyakit kanker. Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksik dari ekstrak kulit batang tumbuhan *C. pentandrus* terhadap sel kanker payudara MCF-7. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair. Uji sifat sitotoksik dilakukan dengan metode uji MTT assay. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak MeOH, EtOAc, dan CHCl<sub>3</sub> berturut-turut sebesar 480,28, 434,15, dan 151,39 µg/mL. Ekstrak kloroform menunjukkan sifat sitotoksik cukup aktif.

Kata kunci: *Chisocheton pentandrus*, kulit batang, sitotoksik, sel kanker MCF-7.

**ABSTRACT**

*Chisocheton* (Meliaceae) is one of the Indonesian plants which empirically used to treat cancer. In this study, we reported a cytotoxic properties of *C. pentandrus* stem bark extract on MCF-7 breast cancer cells. Extraction was carried out using the maceration method. Fractionation is carried out by the liquid-liquid fractionation method. Cytotoxic properties were tested using the MTT assay test method. The results showed the IC<sub>50</sub> values of MeOH, EtOAc, and CHCl<sub>3</sub> extracts were 480.28, 434.15, and 151.39 µg/mL, respectively. Chloroform extract shows moderate cytotoxicity on MCF-7 breast cancer cells line.

Key words: *Chisocheton pentandrus*, stem bark, cytotoxic, MCF-7 cancer cells line.

**PENDAHULUAN**

Kanker payudara merupakan salah satu masalah utama kesehatan khususnya wanita di dunia. Pada tahun 2011 dilaporkan bahwa lebih dari 508.000 wanita meninggal karena kanker payudara (WHO, 2013). Di Indonesia khususnya di provinsi Jawa Tengah, jumlah insidensi yang terdeteksi dini terkena kanker payudara dan rahim sebesar 18.954 wanita (Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2015). Penyebab kanker payudara diperkirakan disebabkan beberapa faktor resiko seperti



masalah metabolisme hormon estrogen dan progesteron, paparan radiasi, gaya hidup, faktor genetik, atau mutasi dari tumor suppressor genes BRCA1 dan BRCA2 (Lindley dan Michaud, 2005). Terapi pengobatan penyakit kanker hingga kini salah satunya adalah menggunakan agen kemoterapi. Adanya resistensi yang cepat dari sel kanker terhadap obat-obatan yang ada menyebabkan pencarian agen kemoterapi baru hingga kini terus dilakukan. Selain itu, toksisitas dari obat kemoterapi yang digunakan menjadi masalah yang dipertimbangkan agar tidak memberikan efek samping yang tidak diharapkan (Verma dan Gange, 2014). Salah satu pendekatan untuk memperoleh senyawa-senyawa baru tersebut adalah menggantinya dari sumber bahan alam, termasuk tumbuh-tumbuhan, khususnya tumbuhan tropis.

*Chisocheton* merupakan tumbuhan famili Meliaceae yang tersebar luas khususnya di daerah Indonesia dan Malaysia (Yang *et al.*, 2009). Secara fitokimia, tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang memiliki kandungan metabolit sekunder utamanya adalah limonoid (Shilpi *et al.*, 2016). Secara struktur, limonoid merupakan turunan triterpenoid yaitu tetranorterpenoid yang memiliki tingkat oksigenasinya sangat beragam (Roy dan Saraf, 2006). Selain dari segi strukturnya yang menarik, limonoid juga memiliki bioaktivitas yang berpotensi sebagai antikanker (Tundis *et al.*, 2014; Ejaz *et al.*, 2006). Secara empiris, tumbuhan *Chisocheton* digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit berbagai penyakit diantaranya demam, ginjal, malaria, diabetes, dan kanker (Chan *et al.*, 2012). Hingga kini, laporan mengenai sifat sitotoksik dari ekstrak salah satu spesies *Chisocheton* yaitu *C. pentandrus* belum dilaporkan. Oleh karena itu, pada artikel ini akan dibahas sifat sitotoksik dari ekstrak dan fraksi dari *C. pentandrus* beserta sifat sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara MCF-7.

## **METODE PENELITIAN**

### **Preparasi Sampel**

Pencarian sampel *C. microcarpus* dilakukan di tiga tempat yaitu Taman Nasional Gunung Halimun (TNGHS), Kebun Raya Bogor-Bogor, dan Kebun Raya Cibodas-Cianjur pada bulan Maret-Mei 2018. Sampel *C. microcarpus* hanya terdapat di TNGHS. Hasil determinasi menunjukkan salah satu sampel yang diidentifikasi adalah *C. microcarpus* yang memiliki sinonim *C. pentandrus*. Sampel basah kulit batang *C. pentandrus* sebanyak sekitar 10 kg. Sample kemudian dicuci, dipotong kecil-kecil dan dijemur hingga kering. Sampel kulit batang yang telah kering kemudian di giling hingga mendapatkan serbuk halus 3,8 kg.

### **Ekstraksi**

Sebanyak 3,8 kg diekstraksi dengan pelarut metanol destilasi metode maserasi selama 8x24 jam. Hasil ekstrak metanol (MeOH) kemudian dievaporasi dalam keadaan vakum hingga diperoleh ekstrak MeOH. Ekstrak MeOH disuspensikan dalam MeOH-air kemudian dipartisi dengan fraksinsi



cair-cair dengan pelarut *n*-heksan hingga diperoleh fraksi *n*-heksan. Fraksi tak larut heksan kemudian difraksinasi kembali dengan kloroform hingga didapatkan fraksi kloroform. Fraksi tak larut kloroform kemudian difraksinasi dengan etilat (EtOAc) hingga mendapatkan fraksi EtOAc. Semua fraksi yang diperoleh kemudian diuapkan dengan evaporator hingga diperoleh fraksi kental (Supriatno *et al.*, 2018).

### **Uji Sitotoksik**

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode *MTT assay* menggunakan mikroplat 96 sumuran (Katja *et al.*, 2016). Masing-masing sumuran dimasukkan sel yang telah diencerkan dengan media DMEM dengan kepadatan sel mendekati  $3 \times 10^4 \text{ cm}^{-2}$ . Setelah 24 jam diinkubasi di dalam inkubator CO<sub>2</sub>, media sel dibuang dan masing-masing sel dicuci dengan PBS. Selanjutnya, dimasukkan sampel yang telah dilarutkan sebelumnya dalam DMSO dengan berbagai konsentrasi yang kemudian diinkubasi kembali selama 48 jam. Setelah diinkubasi ditambahkan pereaksi MTT pada tiap sumuran dan diinkubasi selama 4 jam. Ditambahkan SDS 10% dalam HCl 0,1N lalu diinkubasi kembali selama 24 jam. Dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm dengan menggunakan mikroplat reader. Diamati jumlah sel yang masih hidup dan dihitung nilai IC<sub>50</sub> dengan memplotkan % sel yang hidup dengan % kontrol (PBS dan DMSO saja). Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dimana pada konsentrasi tertentu dapat menginhibisi 50% pertumbuhan sel. Analisis dilakukan secara triplo dan hasilnya diekspresikan sebagai rata-rata  $\pm$  standar deviasi dan dibandingkan dengan uji Waller-Duncan. Nilai  $p < 0,05$  secara statistik memberikan nilai yang signifikan.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Ekstraksi dan Fraksinasi**

Sampel 3,8 kg serbuk kulit *C. pentandrus* di maserasi dengan metanol yang sudah didestilasi. Remaserasi dilakukan selama 8x24 jam. Metode maserasi ini digunakan karena metode ini sederhana dan tanpa pemanasan sehingga dapat mencegah rusak atau hilangnya senyawa aktif selama pemanasan (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015). Remaserasi bertujuan untuk mendapatkan senyawa yang lebih banyak karena dengan penggantian pelarut maka gradien konsentrasi antara pelarut dan sel berbeda jauh sehingga senyawa-senyawa yang terdapat didalam sel akan mudah tertarik (Pratiwi, 2010). Hasil maserasi kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar metanol (MeOH) sebanyak 560 gram (rendemen 14,74%). Ekstrak MeOH kemudian dilarutkan kembali dalam MeOH dan difraksinasi cair-cair dengan *n*-heksan yang telah di redestilasi hingga mendapatkan dua fraksi yaitu fraksi *n*-heksan dan MeOH. Fraksi *n*-heksan yang diperoleh kemudian di peroleh fraksi *n*-heksan sebanyak 96,6 gram (rendemen 2,54%). Fraksi MeOH kemudian ditambahkan air 1:1 lalu difraksinasi dengan kloroform hingga diperoleh fraksi kloroform dan MeOH-air. Fraksi kloroform yang diperoleh kemudian di evaporasi hingga mendapatkan fraksi kloroform

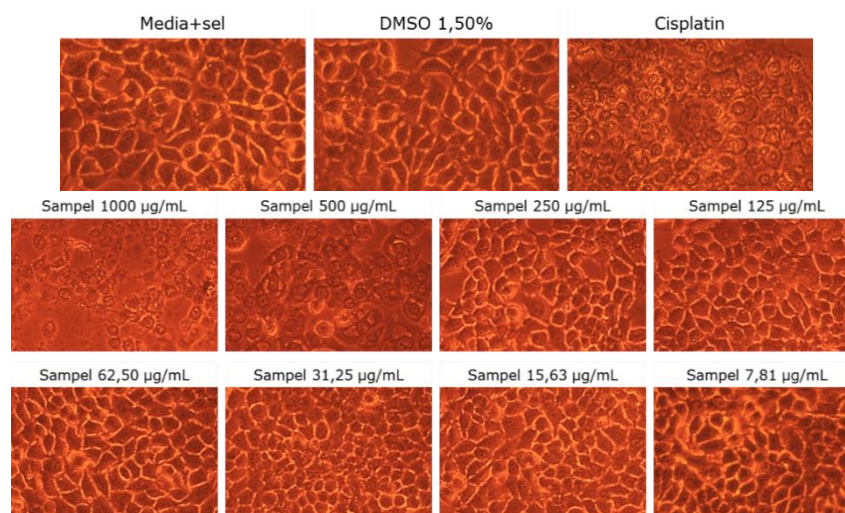
411,4 gram (rendemen 10,82%). Fraksi MeOH-air kemudian difraksinasi kembali dengan EtOAc hingga diperoleh fraksi EtOAc dan MeOH-air. Fraksi EtOAc kemudian dievaporasi hingga diperoleh fraksi EtOAc sebanyak 0,6315 gram (rendemen 0,017%). Secara keseluruhan hasil fraksinasi dapat di lihat pada Tabel 1.1.

**Tabel 1.** Data Hasil Fraksinasi *C. microcarpus*

No	Fraksi	Massa	Rendemen (%)
1	MeOH	560 gram	14,74
2	<i>n</i> -heksan	96,6 gram	2,54
3	Klorofom	411,4 gram	10,82
4	EtOAc	0,6315 gram	0,017

### Uji Sitotoksik MCF-7

Uji aktivitas antikanker yang dilakukan menggunakan metode MTS dengan Presto Blue Cell Viability Reagent. Pengujian dilakukan secara duplo baik terhadap ekstrak *C. microcarpus* maupun isolat yang diperoleh. Pada ekstrak rentang konsentrasi yang digunakan adalah 7,81-1000 µg/mL. Pada ekstrak MeOH, gambaran viabilitas sel dapat terlihat bahwa sel mulai mengalami kerusakan pada konsentrasi ekstrak MeOH 500 µg/mL yang dibandingkan dengan kontrol media+sel dan kontrol pelarut DMSO 1,5% yang digunakan. Berikut adalah gambaran viabilitas sel dari ekstrak MeOH (Gambar 5.33). Berdasarkan hasil perhitungan maka nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak MeOH sebesar 480,28 µg/mL

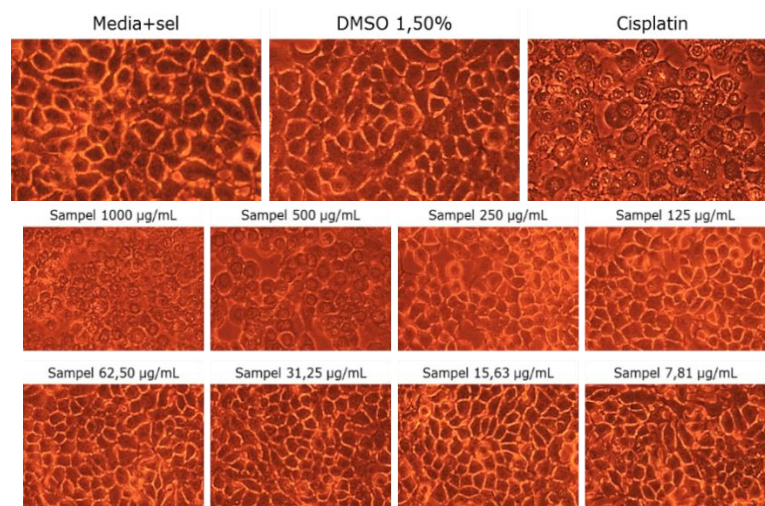


**Gambar 1.** Pengaruh ekstrak MeOH *C. microcarpus* terhadap viabilitas sel

Pada ekstrak EtOAc, gambaran viabilitas sel dapat terlihat bahwa sel mulai mengalami kerusakan pada konsentrasi ekstrak EtOAc 500 µg/mL yang dibandingkan dengan kontrol media+sel dan kontrol pelarut DMSO 1,5% yang digunakan. Berikut adalah gambaran viabilitas sel dari ekstrak

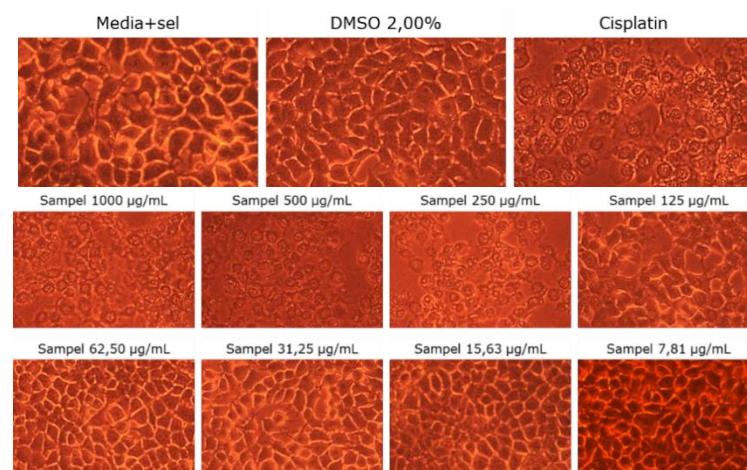


EtOAc (Gambar 5.34). Berdasarkan hasil perhitungan maka nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak EtOAc sebesar 434,15  $\mu\text{g/mL}$ .



**Gambar 2.** Pengaruh ekstrak EtOAc *C. microcarpus* terhadap viabilitas sel

Pada ekstrak  $\text{CHCl}_3$ , gambaran viabilitas sel dapat terlihat bahwa sel mulai mengalami kerusakan pada konsentrasi ekstrak  $\text{CHCl}_3$  250  $\mu\text{g/mL}$  yang dibandingkan dengan kontrol media+sel dan kontrol pelarut DMSO 1,5% yang digunakan. Berikut adalah gambaran viabilitas sel dari ekstrak  $\text{CHCl}_3$  (Gambar 5.35). Berdasarkan hasil perhitungan maka nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak  $\text{CHCl}_3$  sebesar 151,39  $\mu\text{g/mL}$ .



**Gambar 3.** Pengaruh ekstrak  $\text{CHCl}_3$  *C. microcarpus* terhadap viabilitas sel

Menurut National Cancer Institut kategori aktivitas sitotoksik ekstrak berdasarkan nilai  $IC_{50}$  adalah sebagai berikut:  $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$  = sangat aktif;  $IC_{50} 20-200 \mu\text{g/mL}$  = cukup aktif,  $IC_{50} 200-500 \mu\text{g/mL}$  = aktif lemah (Theera *et al.*, 2013). Bila dilihat dari nilai  $IC_{50}$  ekstrak kulit batang chisocheton memiliki kategori aktif lemah (ekstrak MeOH dan EtOAc) dan cukup aktif (ekstrak kloroform). Ekstrak kloroform dapat dilanjutkan untuk diisolasi senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Bila dibandingkan dengan ekstrak tanaman lain yaitu *Zingiber montanum* juga memiliki sifat sitotoksik yang hampir sama yaitu dengan nilai  $IC_{50}$  140,62  $\mu\text{g/mL}$  (Silfia *et al.*, 2019).



## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak MeOH, EtOAc, dan CHCl<sub>3</sub> berturut-turut sebesar 480,28, 434,15, dan 151,39 µg/mL. Ekstrak kloroform memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> yang paling baik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kemenristek DIKTI atas bantuan dana penelitian melalui DRPM DIKTI pada tahun 2018-2019 pada skim Penelitian Pasca Doctor.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. 2015. Waspada penyakit tidak menular terus meningkat. <http://dinkesjatengprov.go.id/v2015/index.php/component/content/article/39-rokcontent/frontpage/284-waspada-penyakit-tidak-menular-terus-meningkat>. Diakses pada 1 Mei 2017
- Ejaz, S., Ejaz, A., Matsuda, K., Lim, W. 2006. Limonoids as cancer chemopreventive agents. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 339 – 345
- Lindley, C. dan Michaud, L.B. 2005. *Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach* 6<sup>th</sup>. McGraw-Hills. USA.
- Pratiwi. 2010. *Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasi, dan reperkolasi dalam ekstraksi senyawa aktif andrographolide dari tanaman sambiloto (Andrographis paniculata (Burm F. Nees)*, Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Skripsi.
- Roy, A. dan Saraf, S. 2006. Limonids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plant kingdom. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 29(2): 191 – 201
- Sa'adah H., dan Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr.) menggunakan metode maserasi. *Jurnal ilmiah Manuntung* 1(2): 149 – 153
- Shilpi, J.A., Saha, S., Chong, S.L., Nahar, L., Sarker, S.D., Awang, K. 2016. Advances in chemistry and bioactivity of the genus *Chisocheton* Blume. *Chemical Biodiversity* 13: 483 – 503
- Silfia, R. 2019. *Uji aktivitas sitotoksik kombinasi ekstrak etanol Zingiber officinale dan Zingiber montanum pada sel kanker payudara MCF-7 secara in vitro*. Skripsi: Jurusan Farmasi, Fakultas ilmu-ilmu kesehatan, UNSOED.
- Supriatno.; Nurlelarsi.; Herlina, T.; Harneti, D.; Maharani, R.; Hidayat, A.T.; Mayanti, M.; Supratman, U.; Azmi, M.N.; Shiono, Y. 2018. A new limonoid from stem bark of *Chisocheton pentandrus* (Meliaceae). *Nat. Prod. Res.* 1 – 7
- Theera, S., Parinuch, C., Warapon, H.C., Yaowapa S., Kanyanatt, K. 2013. Phytochemical screening and cytotoxicity of crude extracts of *Vatica diospyroides* Symington Type LS. *Tropical J. Pharmaceutical* 12(1): 71 – 76



- Tundis, R., Loizzo, M.R., Menichini, F. 2014. An overview on chemical aspects and potential health benefits of limonoid and their derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54: 225 – 250
- Verma, V.C. dan Gange, A.C. 2014. *Advance in Endophytic Research*. Springer. India.
- World Health Organization. 2013. Breast cancer: prevention and control. <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index1.html>. Diakses pada 1 Mei 2017
- Yang, M.H., Wang J.S., Luo J.G., Wang, X. B., Kong, L.Y. 2009. Tetranortriterpenoids from *Chisocheton paniculatus*. *Journal of Natural Product* 72: 2014 – 2018