

Efek Ekstrak Metanol dan Partisi dari Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* Houtt. Merr.) terhadap Pertumbuhan Sel HeLa dan MCF-7

Effect of Methanol Extract and Partition of Java Bark (*Lannea coromandelica* Houtt. Merr.) on HeLa and MCF-7 Cell Growth

Nadyah Haruna¹, Zakiah Anugerah Hamzah², Syamsuri Syakri³, Isriany Ismail³, Nursalam Hamzah³,

¹Jurusan Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Kampus I. Jl. Sultan Alauddin No.63, Kota Makassar

²Mahasiswa Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Kampus II. Jl. HM Yasin Limpo No.36, Samata, Kabupaten Gowa

³Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Kampus II. Jl. HM Yasin Limpo, No.36, Samata, Kabupaten Gowa

Kontak sur-el : nursalam.hamzah@uin-alauddin.ac.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah menentukan efek ekstrak metanol dan partisi kulit batang kayu jawa dalam menghambat pertumbuhan sel kanker HeLa dan sel kanker MCF-7. Simplisia kulit kayu dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak kemudian dipartisi secara partisi cair padat menggunakan pelarut heksan. Pemisahan menghasilkan partisi larut heksan dan partisi tidak larut heksan. Pengukuran aktivitas inhibisi pertumbuhan sel dilakukan menggunakan metode MTT Assay terhadap sel HeLa, sel MCF-7 dan sel Vero. Senyawa yang dikandung diidentifikasi dengan beberapa pereaksi golongan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol, partisi tidak larut heksan dan partisi larut heksan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker HeLa dengan nilai indeks selektivitas, berturut-turut, 2,04; 1,85 dan 4,19. Sedangkan untuk sel MCF-7, indeks selektivitas, berturut-turut, 1,91; 1,44 dan 2,13. Partisi larut heksan dapat memiliki potensi sebagai antikanker dengan selektivitas yang baik.

Kata Kunci : *Lannea Coromandelica*, *HeLa*, *MCF-7*, *Vero*

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the effect of methanol extract and partition of Java wood bark in inhibiting the growth of HeLa and MCF-7 cancer cells. Dried bark is macerated using methanol as a solvent. The extract then partitioned by solid liquid partition using hexane solvent. The separation result hexane soluble partition and hexane insoluble partition. Measurement of cell growth inhibition activities were carried out using MTT Assay method for HeLa, MCF-7 and Vero cells. The compounds in samples are identified by several chemical group reagents. The results showed that methanol extract, hexane insoluble partition and hexane soluble partition could inhibit HeLa cancer cell growth with selectivity index values, respectively, 2.04; 1.85 and 4.19. For MCF-7 cells, the selectivity index is, respectively, 1.91; 1.44 and 2.13. Soluble hexane partitions can have potential as anticancer with good selectivity.

Keywords : Lannea Coromandelica, HeLa, MCF-7, Vero

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyebab kematian tertinggi di dunia dengan posisi ke dua setelah penyakit jantung. Angka kejadian penyakit kanker di seluruh dunia terus meningkat dan

diperkirakan terdapat lebih dari satu juta pasien kanker baru setiap tahunnya. Berdasarkan data American Cancer Society, bahwa pada tahun 2017, 1.688.780 kasus kanker baru dan 600.920 kematian akibat

kanker diproyeksikan terjadi di Amerika Serikat. (Siegel, Miller, & Jemal, 2017). Informasi di tingkat global dunia menunjukkan bahwa satu dari tujuh kematian terbesar disebabkan oleh kanker, dengan insiden penyebab kematian kanker lebih banyak daripada AIDS, tuberkulosis, dan malaria. Kejadian kanker yang akan membludak di masa depan pun diprediksi oleh sebab adopsi gaya hidup yang diketahui meningkatkan risiko kanker, seperti merokok, pola makan yang buruk, kurangnya aktivitas fisik dan sebagainya (American Cancer Society, 2015)

Secara nasional prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur di Indonesia tahun 2013 sebesar 1,4% atau diperkirakan sekitar 347.792 orang. Provinsi D.I. Yogyakarta memiliki prevalensi tertinggi untuk penyakit kanker, yaitu sebesar 4,1%. Berdasarkan estimasi jumlah penderita kanker Provinsi Jawa Tengah dan Provinsi Jawa Timur merupakan provinsi dengan estimasi penderita kanker terbanyak, yaitu sekitar 68.638 dan 61.230 orang. Diketahui pula bahwa Penyakit kanker serviks dan payudara merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia pada tahun 2013 (Kementrian Kesehatan, 2015)

Kemoterapi adalah langkah pengobatan yang efektif untuk melawan kanker. Obat sitotoksik pada terapi kemoterapi menyebabkan kematian sel kanker (Dan Grander's Group, 2015). Namun dalam pengaplikasiannya menuai banyak efek

samping dan resistensi antikanker itu sendiri. Terapi antikanker ditujukan untuk membunuh sel kanker tanpa merusak sel inangnya. Hal ini menjadi sulit karena sel kanker juga merupakan sel manusia juga. Di lain pihak, folikel rambut, epitelium saluran pencernaan dan sumsum tulang juga mengalami pembelahan secara terus menerus. Oleh Karena itu, penggunaan terapi antikanker akan menyebabkan efek samping pada sel-sel tersebut (Nugroho, 2014). Terapi kemoterapi dapat menginduksi terjadinya myelosuppresi, neutropenia, anemia dan trombositopenia (Tia, Lui, Chua, & Strebel, 2015). Timbulnya efek samping oleh pengobatan kemoterapi disebabkan oleh selektifitas yang rendah dari agen kemoterapi tersebut.

Kemoterapi sitotoksik selalu menjadi andalan terhadap pengobatan kanker (Kumler, Stenvang, Moreira, Brunner, & Nielsen, 2015). Namun, oleh beberapa agen kemoterapi dapat menyebabkan resisten (Luca, et al., 2015). Kemoterapi antrasiklin sering digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit berbahaya. Tetapi dalam pengaplikasiannya menemui beberapa keterbatasan oleh perkembangan efek samping yang serius, terutama kardiotoxikitas dan menjadi tidak efektif oleh adanya resistensi multi obat (Czepas & Gwozdziński, 2014).

Salah satu jenis tumbuhan yang digunakan secara empiris oleh sebagian masyarakat yang berpotensi sebagai antikanker adalah kayu jawa [*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr].

Tanaman ini mengandung sejumlah senyawa kimia dengan aktivitas farmakologi yang bervariasi. Dosis LC₅₀ ekstrak metanol kulit batang kayu jawa adalah 53,6 ug/ml (Reddy, Joy, & Kumar, 2011). Tujuan penelitian ini yakni untuk menentukan aktivitas ekstrak metanol dan partisi larut dan tidak larut heksan yang paling selektif terhadap penghambatan pertumbuhan sel kanker HeLa dan MCF-7.

METODOLOGI

Ekstraksi

Bagian tanaman yang digunakan adalah kulit batang. Sampel diperoleh dari Kabupaten Takalar. Sampel dikeringkan dan diserbukkan. Serbuk kering kulit batang kayu jawa sebanyak 1800 g diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol 5000 ml.

Partisi

Partisi dilakukan dengan metode partisi cair-padat sebanyak 20,51 g menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 1700 ml, sehingga diperoleh partisi larut heksan dan partisi tidak larut heksan.

Uji Sitotoksik MTT

Sampel dipreparasi dengan dilarutkan dalam Dimetil sulfoksida (DMSO) sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 ppm. Kontrol sel menggunakan hanya DMSO. Kontrol blangko hanya berisi media. Kontrol positif berisi obat Cisplatin dan Doxorubicin.

Sel HeLa dan MCF-7 dimasukkan ke dalam plat sumuran 96 yang berisi 5×10^3 sel dalam *Dulbecco's Modified Eagle's medium*. Plat diinkubasi dalam inkubator CO₂ sehingga sel melekat. Media diberi larutan ekstrak 500 ppm sebanyak 100µL. Sel-sel diinkubasi selama 24 jam dan kemudian dicuci dengan larutan dapar fosfat (PBS) sebelum penambahan 100 µL reagen MTT 0,5 mg/mL ke dalam setiap sumur. Inkubasi lagi selama 2-4 jam di dalam inkubator CO₂, setelah itu periksa kondisi sel di bawah mikroskop inverted. Sel yang masih hidup ditandai dengan morfologi seperti berduri atau berbentuk Kristal oleh formazan yang terbentuk akibat penyerapan MTT ke dalam sel kanker tersebut, sedangkan sel yang mati ditandai dengan morfologi yang bulat-bulat. Selanjutnya tambahkan dengan stopper SDS 10% dalam 0,01 N HCl sebanyak 100 µl. Jika selesai, maka bungkus plate dengan kertas lalu diamkan selama semalaman di tempat yang gelap atau jauh dari jangkauan sinar matahari. Setelah didiamkan, analisis nilai absorbansinya pada *elisa reader* dengan panjang gelombang 595 nm.

Persentase penghambatan sel dan indeks selektivitas dihitung dengan rumus berikut

$$\% \text{ Sel Mati} = \frac{SP - KB}{KS - KB} \times 100\%$$

$$\text{Indeks Selektivitas} = \frac{\% \text{ Sel mati kanker}}{\% \text{ Sel mati Vero}}$$

dimana KS= serapan kontrol sel tanpa sampel, KB = serapan kontrol blangko tanpa sampel dan sel, SP = serapan sampel perlakuan.

Uji Golongan Senyawa

Uji Alkaloid

Pereaksi Mayer disiapkan baru dengan melarutkan campuran merkuri klorida (1,36 g) dan kalium iodida (5 g) dalam air (100,0 ml). Pereaksi Dragendorff dibuat dengan mencampur 8 gram $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 30 ml HNO_3 pekat dan 27,2 gram KI dilarutkan dalam 50 ml air, lalu kedua larutan tersebut dicampurkan dan dibiarkan selama 24 jam, lalu diencerkan dengan air hingga 100 ml. Pereaksi Wagner dibuat dengan melarutkan 2 g iodium dan 6 g KI dalam air, dicukupkan hingga 100 ml.

Ekstrak sebanyak 5 mg digerus dengan penambahan kloroform hingga larut. Sampel ditambahkan 0,5 mL asam sulfat 1 M, kemudian dikocok perlahan. Didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas yang jernih dibagi dua, 1 bagian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff dan bagian berikutnya ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer. Endapan merah bata yang terbentuk oleh pereaksi Dragendorff dan endapan putih atau krem oleh pereaksi Meyer menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid.

Uji Flavonoid

Sebanyak 5 mg sampel dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Kemudian ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Terbentuk larutan berwarna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid

Uji Terpenoid

Sebanyak 5 mg sampel dilarutkan dalam kloroform. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid.

Uji Fenol

Sebanyak 5 mg sampel dilarutkan dengan 2 mL etanol 96% dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Terbentuknya warna hitam kebiruan mengindikasikan adanya senyawa golongan fenolik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan utama kemoterapi kanker adalah merusak secara selektif sel tumor yang berbahaya tanpa mengganggu sel normal. Tujuan ini masih mengalami kegagalan dan hingga sekarang ini masih sedikit sekali obat antikanker yang bekerja secara selektif untuk pengobatan jenis kanker tertentu. Sel kanker itu lebih rentan terhadap senyawa yang bersifat sitotoksik karena sel kanker umumnya terus membelah dengan cepat dibandingkan sel normal. Namun, antikanker umumnya bekerja dengan cara membunuh sel yang sedang berkembang, sehingga masih memungkinkan antikanker dapat menyerang sel normal yang sedang dalam proses

Tabel 1. Hasil uji sitotoksitas dan Indeks selektivitasnya

Sampel	Sel Mati (%)			Indeks Selektivitas	
	HeLa	MCF-7	Vero	HeLa	MCF-7
Ekstrak Metanol	100,0	93,0	48,8	2,05	1,91
Partisi Tidak Larut Heksan	96,0	74,3	51,8	1,85	1,44
Partisi Larut Heksan	29,2	14,9	7,0	4,20	2,13
Cisplatin	24,8	-	-		
Doxorubicin	-	54,8	32,8		

Tabel 2. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa

Sampel	Alkaloid			Terpenoid	Flavonoid	Fenolik
	Dragendorff	Meyer	Wagner	Liebermen Bourchart	AlCl ₃	FeCl ₃
Ekstraksi Metanol	-	+	+	+	+	+
Partisi Tidak larut heksan	+	-	-	+	-	+
Partisi larut heksan	-	-	+	+	-	-

pembelahan sel. Itulah timbulnya efek samping sebab ketidakselektifan atau selektifitas yang rendah dari obat-obat kemoterapi itu sendiri.

Aktivitas antiproliferasi ekstrak dan partisi kayu jawa terhadap sel HeLa dan MCF-7 dievaluasi dengan uji MTT. Konsentrasi ekstrak dan partisi yang digunakan (500 ppm) diuji terhadap sel-sel kanker dan sel normal. Sel HeLa dan MCF-7 menunjukkan kerentanan terhadap sampel yang diberikan ditunjukkan dengan adanya sel kanker mati. Jumlah sel kanker yang hidup yang terpapar dengan perlakuan ekstrak dan partisi berkurang (lihat tabel 1). Ekstrak metanol menunjukkan penghambatan terkuat, baik untuk sel HeLa maupun sel MCF-7, tetapi selektivitas tertinggi kurang baik. Aktivitas antiproliferasi untuk partisi larut heksan paling kecil, tetapi indeks selektivitas paling tinggi, baik terhadap sel HeLa dan MCF-7. Walaupun aktivitas partisi larut heksan kecil,

nilai ini masih lebih besar daripada cisplatin. Hasil ini menunjukkan bahwa partisi larut heksan memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah, tetapi selektivitas yang baik terhadap sel kanker HeLa dan MCF-7. Sampel dengan indeks selektivitas yang lebih besar dari 3 memiliki potensi yang besar sebagai obat kanker yang selektif (Chothiphirat, Nittayaboon, Kanokwiroon, Srisawat, & Navakanitworakul, 2019).

Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan partisi didominasi oleh senyawa alkaloid dan terpenoid (lihat tabel 2). Ekstrak metanol positif terhadap seluruh golongan senyawa. Berdasarkan laporan Sivaraj (2018), ekstrak metanol mengandung senyawa terpenoid seperti alfa pinen; *pentadecanoic acid-14-methyl methyl ester*; *phytol*; *9,5-octadecadienoic acid methyl ester*; *undecanoic acid -2- nonyl methyl ester*; dan *octanoic acid, tetradecyl ester*. Ekstrak metanol juga mengandung *3,5-Bis(1,1-*

dimethylethylphenol; *5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2,3-dimethyl chromone*, merupakan senyawa golongan fenolik. Alkaloid *Piperazine-1-(2-adamantyl)-4-benzoyl* juga dapat ditemukan dalam ekstrak metanol kulit batang kayu jawa. Islam & Tahara (2000) juga melaporkan kandungan flavonoid *(2R,3S)-(+)-3',5-dihydroxy-4',7-dimethoxydihydro flavonol*, *(2R,3R)-(+)-4',5,7-trimethoxydihydro flavonol*, *(2R,3R)-(+)-4',7-di-O-methyldihydro quercetin*, *(2R,3R)-(+)-4',7-di-O-methyldihydro kaempferol*, dan *(2R,3R)-(+)-4'-O-methyldihydroquercetin* yang diperoleh dari . Subramanian & Nair (1971) melaporkan penemuan senyawa golongan kuinon seperti physcion anthranol B dan physcion, terpenoid β -sitosterol, flavonoid *Quercetin-3-arabinoside* dan fenolik *ellagic acid*. Alkaloid *Piperazine-1-(2-adamantyl)-4-benzoyl* diduga berperan pada aktivitas antikanker pada kayu jawa (Sivaraj, Pavithra, Srivastav, & Arumugam, 2018).

KESIMPULAN

Partisi tidak larut heksan berpotensi menjadi antikanker dengan selektivitas yang baik.

PENGHARGAAN

Penghargaan kepada Kementerian Agama atas Hibah Penelitian Terapan dan Pengembangan Tahun 2017

DAFTAR PUSTAKA

- American Cancer Society. (2015). *Global Cancer Facts and Figure 3rd Section*. Atlanta: American Cancer Society.
- Chothiphirat, A., Nittayaboon, K., Kanokwiroon, K., Srisawat, T., & Navakanitworakul, R. (2019). Anticancer Potential of Fruit Extracts from *Vatica diospyroides* Symington Type SS and Their Effect on Program Cell Death of Cervical Cancer Cell Lines. *The Scientific World Journal*.
- Czepas, J., & Gwozdziński, K. (2014). The flavonoid quercetin: Possible solution for anthracyclines-induced cardiotoxicity and multidrug resistance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 1149-1159; Volume 68, Issue 8.
- Dan Grander's Group. (2015). *Mechanisms of action of anti-cancer drugs*. Retrieved April 16, 2017, from Oncology-Pathology Karolinska Institutet: file:///C:/Users/Microsoft/Downloads/SKRIPSI%20ZAKIAH/mechanisms-of-action-of-anti-cancer-drugs.htm
- Islam, M. T., & Tahara, S. (2000). Dihydroflavonols from *Lanea coromandelica*. *Phytochemistry*, 54(8), 901-907.
- Kementrian Kesehatan. (2015). *Pusat Data dan Informasi Kanker*. Jakarta.
- Kumler, I., Stenvang, J., Moreira, J., Brunner, N., & Nielsen, D. L. (2015). Drug transporters in breast cancer: responses to anthracyclines and taxanes. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 1075-1092; Volume 15, Issue 9.
- Luca, A. D., D'Alessio, A., Maiello, M. R., Gallo, M., Chicchinelli, N., Pergameno, M., . . . Normanno, N. (2015). Evaluation of the pharmacokinetics of Ixabepilone for the treatment of breast cancer. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 1177-1185; Volume 11, Issue 7.
- Nugroho, A. E. (2014). *Farmakologi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Reddy, A. K., Joy, J. M., & Kumar, C. A. (2011). *Lanea coromandelica: The Researcher's Tree*. Avinash Kumar Reddy et al./*Journal of Pharmacy Research*, 577-579.

- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2017). Cancer Statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 7-30; Volume 67, Issue 1.
- Sivaraj, C., Pavithra, B., Srivastav, A., & Arumugam, P. (2018). GC-MS Analysis, Antibacterial and Anticancer Activities of Bark Extract of *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 3047-3051 .
- Subramanian, S. S., & Nair, A. G. (1971). Polyphenols of *Lannea coromandelica*. *Phytochemistry*, 10(8), 1939-1940.
- Tia, L. J., Lui, A. G., Chua, N. S., & Strebel, H. M. (2015). Chemotherapy-induced neutropenia, anemia and thrombocytopenia, among Filipino breast cancer patients on adjuvant chemotherapy. *Original Article*, 26; Volume 49 No.2.