

Skrining Potensial Pinang Aceh (*Areca catechu* L.) Sebagai Elevator Transporter GLUT4 dan Fitokonstituen Antiproliferatif Sel Kanker

Mulia Safrida Sari^{1*}, Ahmad Ridwan², Vivi Mardina¹, Kartika Aprilia Putri¹, Beni Alfajar¹, Sara Gustia Wibowo¹

Program Studi Biologi

¹Universitas Samudra

²Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung

muliasari03@unsam.ac.id

ABSTRACT

Betel nut (Areca catechu L.) has been used by Acehnese people as the traditional medicine for various diseases. However, information related to the efficacy of betel nut is still limited so the screening process needs to be carried out to investigate the potential of betel nut especially as a GLUT4 transporter elevator and antiproliferative phytoconstituent against cancer cells. Ethanol extract of betel nut was obtained from maceration results in 96% ethanol and phytochemical content was identified through GC-MS analysis test. A total of 12 constituents are found in high abundance; methyl nicotinate, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, arecoline, hexadecanoic acid, 9,12-octadecanoic acid, 9,12-octadecanoic acid, ethyl ester, hexadecane, eicosane, 3-nitrophthalic acid, hexacosane, heptadecane and pentacosane. Each constituent has antihyperglycemia activity as a GLUT4 transporter elevator and antiproliferative against cancer cells through different mechanisms of action.

Keywords: *Betel nut, Areca catechu L., Hyperglycemia, GLUT4, Antiproliferative*

ABSTRAK

Pinang (Areca catechu L.) telah dimanfaatkan masyarakat Aceh sebagai obat tradisional dari berbagai penyakit. Namun, informasi terkait khasiat pinang masih terbatas sehingga proses skrining perlu dilakukan untuk menyelidiki potensial pinang terutama sebagai elevator transporter GLUT4 dan fitokonstituen antiproliferatif terhadap sel kanker. Sediaan ekstrak etanol biji pinang diperoleh dari hasil maserasi dengan etanol 96% dan kandungan fitokimia diidentifikasi melalui uji analisis GC-MS. Sebanyak 12 konstituen ditemukan dalam kelimpahan tinggi; methyl nicotinate, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, arecoline, hexadecanoic acid, 9,12-octadecanoic acid, 9,12-octadecanoic acid, ethyl ester, hexadecane, eicosane, 3-nitrophthalic acid, hexacosane, heptadecane dan pentacosane. Setiap konstituen memiliki aktivitas antihiperlikemia sebagai elevator transporter GLUT4 dan antiproliferatif terhadap sel kanker melalui mekanisme aksi yang berbeda.

Kata Kunci : *Pinang, Areca catechu L., Hiperlikemia, GLUT4, Antiproliferatif*

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler terkait komplikasi diabetes dan kanker merupakan penyakit non infeksi yang dapat menyebabkan kematian di dunia. Berdasarkan data *World Health Organization*, kematian akibat penyakit kardiovaskuler ini mencapai 17,9 juta jiwa diikuti kanker sebesar 9,6 juta jiwa per tahun secara global (WHO, 2018). *International*

Diabetes Federation juga melaporkan angka kejadian diabetes di dunia mencapai 463 juta kasus di tahun 2019 dan akan naik mencapai 700 juta kasus di tahun 2045. Indonesia termasuk salah satu negara yang menduduki peringkat ke-7 dunia dengan jumlah penderita diabetes mencapai 10,7 juta jiwa dan diperkirakan mencapai 16,6 juta jiwa di tahun 2045 (IDF Diabetes Atlas, 2019). Selain itu,

Skrining Potensial Pinang Aceh (*Areca catechu* L.) Sebagai Elevator Transporter GLUT4 dan Fitokonstituen Antiproliferatif Sel Kanker

mortalitas yang tinggi juga terdeteksi di Indonesia akibat kanker sebesar 207 ribu jiwa di tahun 2018 (IARC, 2018).

Kanker adalah penyakit kronis akibat peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan stres oksidatif intraseluler yang menginisiasi kerusakan DNA terkait disregulasi fase siklus sel dan penghambatan ekspresi gen supresor tumor sehingga menimbulkan mutasi pada sel – sel normal menjadi sel – sel proliferasi abnormal (Choi dan Myers, 2008; Ziech *et al.*, 2010). Peningkatan ROS dan stres oksidatif ini juga dapat diinisiasi oleh kondisi abnormal seperti hiperglikemia, disebut dengan reaksi Maillard, yaitu aktivitas pembentukan substansi genotoksik dari reaksi spontan yang terjadi antara gugus karbonil glukosa dan gugus amina asam amino yang menginduksi aberasi kromosom pada proses karsinogenesis (Hiramoto *et al.*, 1997; Dorsey dan Jones, 2017). Reaksi Maillard ini dikenal pula dengan reaksi glikasi protein terkait pembentukan AGE (*Advanced Glycation Endproduct*). Produk reaksi Maillard seperti *carboxymethyl lysine* (CML) dilaporkan dapat memicu komplikasi diabetes dan akrilamid sebagai zat karsinogen yang menginduksi karsinogenesis (Tamanna dan Mahmood, 2015).

Kondisi hiperglikemia dapat terjadi ketika homeostasis glukosa terganggu. Secara normal, homeostasis glukosa diregulasi sel – sel pankreatik endokrin ketika kadar glukosa darah meningkat. Namun adanya pola hidup yang salah atau terkena paparan zat toksikan tertentu dapat menyebabkan kerusakan pada sel – sel beta pankreas sehingga mereduksi sekresi insulin (Damasceno *et al.*, 2014). Streptozotisin termasuk zat toksikan penginduksi hiperglikemia pada mencit dalam dosis 150 mg/kg BB (Sari dan Ridwan, 2016). Hiperglikemia ini terjadi akibat penghambatan aktivitas glikosida hidrolase *O-GlcNAc-selective N-acetyl-β-D-glucosaminidase* (*O-GlcNAcase*) secara selektif sehingga memicu glikosilasi protein intraseluler dan apoptosis sel – sel beta pankreas (Konrad *et al.*, 2001). Kondisi hiperglikemia secara kronis selanjutnya menimbulkan komplikasi sekunder diabetes seperti penyakit kardiovaskuler

(aterosklerosis), neuropati, retinopati dan nefropati diabetik (King *et al.*, 2016; Mansour *et al.*, 2014; Swaminathan dan Shah, 2008).

Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tumbuhan palma oriental yang umumnya tumbuh di negara – negara Asia Tenggara dan Selatan. Tumbuhan ini dimanfaatkan secara tradisional sebagai media pengobatan dari berbagai penyakit (Patel *et al.*, 2019).

Di Aceh, pinang tidak hanya digunakan sebagai obat herbal namun menjadi suatu kearifan lokal dan simbol dalam tradisi adat istiadat. Telah dilaporkan, senyawa flavonoid dalam biji pinang memiliki aktivitas hipoglikemia melalui penghambatan α -glukosidase (Amudhan dan Begum, 2008). Selain itu, senyawa arekolin terbukti mampu meningkatkan pengambilan 2-deoksiglukosa melalui peningkatan ekspresi GLUT4 dan jalur PI3K (*Phosphoinositide 3-kinase*) terkait persinyalan insulin (Prabhakar dan Doble, 2011).

Senyawa fenolik dan flavonoid dalam biji pinang juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan sitotoksitas selektif terhadap sel karsinoma skuamosa oral (HSC-2 dan HSC-3). Senyawa – senyawa ini terdeteksi mampu menginduksi apoptosis terhadap sel kanker tersebut melalui peningkatan aktivitas caspase-3 (Sari *et al.*, 2017; Sari *et al.*, 2019).

Dengan adanya skrining berdasarkan studi literatur terhadap kandungan fitokimia dalam pinang Aceh ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait potensial tumbuhan ini sebagai fitokonstituen yang memiliki aktivitas antihiperglikemia dan antikanker.

METODOLOGI

Sampel

Biji pinang (*Areca catechu* L.) yang digunakan adalah biji pinang muda yang telah dikeringkan dan diasapkan, disebut juga *pineung nyen* (dalam bahasa Aceh).

Ekstraksi dan Analisis Fitokimia

Sebanyak 500 g biji pinang yang telah kering dihaluskan, dimaserasi dalam pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Maserat

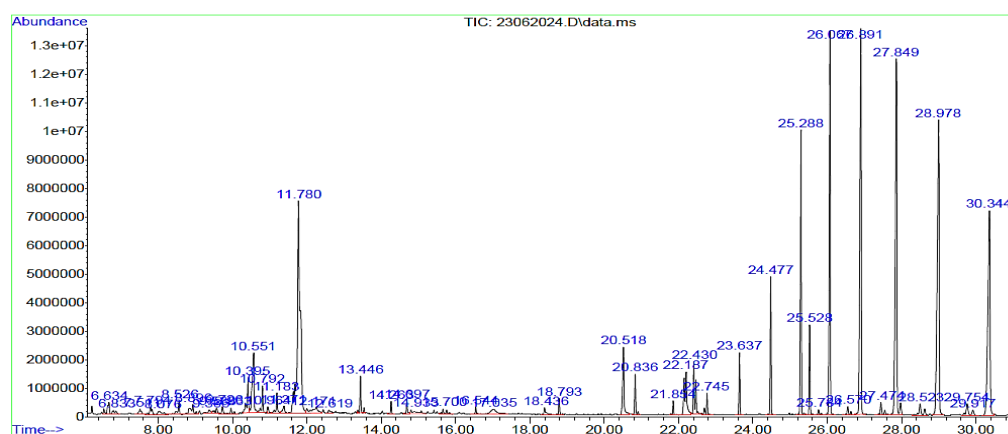
selanjutnya difiltrasi dan dievaporasi pada suhu 60°C dengan *rotary evaporator* hingga mengental kemudian dipanaskan di atas penangas air hingga mengering sempurna lalu digerus menjadi bubuk. Ekstrak kasar ini dilarutkan dalam etanol untuk uji analisis fitokimia menggunakan analisis GC-MS (*Gas chromatography – mass spectrometry*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) diidentifikasi menggunakan analisis GC-MS, diperoleh beberapa konstituen dengan kelimpahan yang tinggi selanjutnya ditabulasikan dalam Tabel 1 dan divisualisasi dalam Grafik 1.

Tabel 1. Konstituen Dominan dalam Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.)

No	RT (min)	Nama Senyawa	Formula Molekul	Berat Molekul (g/mol)	% Peak Area
1	10.397	Methyl nicotine	C ₇ H ₇ NO ₂	137.14	1.06
2	10.551	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	C ₆ H ₈ O ₄	144.12	2.36
3	11.780	Arecoline	C ₈ H ₁₃ NO ₂	155.19	12.90
4	20.518	Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	2.03
5	22.187	9,12-Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	2.20
6	22.430	9,12-Octadecanoic acid, ethyl ester	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	308.5	1.75
7	23.637	Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	226.44	1.10
8	24.477	Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	226.44	2.74
9	25.288	Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282.5	5.55
10	25.528	3-Nitrophthalic acid	C ₈ H ₅ NO ₆	211.13	1.77
11	26.067	Hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	366.7	8.46
12	26.891	Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	240.5	10.60
13	27.849	Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	240.5	11.96
14	28.978	Pentacosane	C ₂₅ H ₅₂	352.7	11.74
15	30.344	Pentacosane	C ₂₅ H ₅₂	352.7	9.60



Grafik 1. Kromatogram GC-MS dari Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.)

Berdasarkan Tabel 1 dan Grafik 1 dapat dilihat bahwa Ekstrak etanol biji pinang memiliki 15 nama senyawa kimia. Dari beberapa konstituen yang terdeteksi dalam kelimpahan yang tinggi, terdapat 12 senyawa yang memiliki aktivitas antihiperlikemia dan antiproliferatif berdasarkan studi literatur.

Methyl nicotine memiliki aktivitas sebagai Inhibitor komplikasi diabetik; vasodilatasi melalui pembentukan prostaglandin D₂ (PGD₂) untuk mikrosirkulasi (mencegah hipoksia) pada neuropati diabetik (Caselli *et al.*, 2003).

2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one memiliki potensi sebagai nefroprotektif dengan menekan stres oksidatif pada kondisi nefropati diabetik (Shukla *et al.*, 2018). Antiproliferatif terhadap sel kanker HepG2 (kanker hati) (Ahmad *et al.*, 2018).

Arecoline memiliki aktivitas sebagai antihiperlikemia; mengelevasi pengambilan 2-deoksiglukosa melalui peningkatan ekspresi GLUT4 (Prabhakar dan Doble, 2011).

Antiproliferatif; menurunkan produksi interleukin-6, menginduksi apoptosis dan menghentikan siklus sel pada karsinoma sel basal (Huang *et al.*, 2012).

Hexadecanoic acid memiliki aktivitas sebagai acid Inhibitor komplikasi diabetik; antioksidan dan anti apoptosis sel renal

Skrining Potensial Pinang Aceh (*Areca catechu* L.) Sebagai Elevator Transporter GLUT4 dan Fitokonstituen Antiproliferatif Sel Kanker

(nefroprotektif) pada kondisi nefropati diabetik (Shukla *et al.*, 2018). Antiproliferatif; menginduksi apoptosis dengan menghentikan siklus sel terkait aktivasi p53 dan penghambatan aktivitas Cdk2 dan cyclin A pada sel kanker HepG2 (Ahmad *et al.*, 2018).

9,12-Octadecanoic acid memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia; inhibitor aktivitas enzim aldose reduktase (Aleykutty dan Akhila, 2012).

9,12-Octadecanoic acid, ethyl ester memiliki aktivitas antihiperqlikemia; inhibitor aktivitas enzim aldose reduktase (Aleykutty dan Akhila, 2012).

Hexadecane memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia; inhibitor aktivitas enzim aldose reduktase (Aleykutty dan Akhila, 2012). Menekan viabilitas sel kanker payudara dan serviks (Mishra *et al.*, 2019).

Eicosane memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia; menghambat aktivitas α -amilase dan α -glukosidase (Rodrigues *et al.*, 2017). Sitotoksitas sel kanker ovarium (Xie *et al.*, 2007). Antiproliferatif; menginduksi apoptosis sel kanker glioma C-6 (Mishra *et al.*, 2019).

3-Nitrophthalic acid memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan sitotoksitas sel kanker payudara (Ko *et al.*, 2016).

Hexacosane memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia; inhibitor aktivitas enzim aldose reduktase (Aleykutty dan Akhila, 2012). Antiproliferatif; menginduksi apoptosis sel kanker glioma C-6 (Mishra *et al.*, 2019).

Heptadecane memiliki aktivitas dalam menekan viabilitas sel kanker payudara dan serviks (Mishra *et al.*, 2019).

Pentacosane memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia; menghambat aktivitas α -amilase dan α -glukosidase (Rodrigues *et al.*, 2017). Sitotoksitas terhadap sel - sel kanker (C-6, A549, CHOK1 dan THP-1) (Walia *et al.*, 2012). Antiproliferatif; menginduksi apoptosis sel kanker glioma C-6 (Mishra *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Proses skrining terhadap senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol biji pinang

yang diperoleh dari hasil uji analisis GC-MS, menunjukkan bahwa pinang Aceh memiliki aktivitas antihiperqlikemia yang dapat meningkatkan densitas GLUT4 melalui aktivasi jalur PI3K dan elevasi translokasi GLUT4. Pinang Aceh juga merupakan fitokonstituen yang memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap sel kanker melalui mekanisme aksi tertentu seperti fragmentasi DNA nuklear, penghambatan aktivasi NF-kB, penghambatan fosforilasi AMPK, dan peningkatan ROS intraseluler yang memicu siklus sel berhenti dan sel - sel kanker mengalami apoptosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, K., Hafeez, Z. B., Bhat, A. R., Rizvi, M. A., Thakur, S. C., Azam, A., & Athar, F. 2018. Antioxidant and apoptotic effects of *Callistemon lanceolatus* leaves and their compounds against human cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 106: 1195-1209.
- Aleykutty, N. A., & Akhila, S. 2012. Docking studies on identified constituents of *Helicteres isora* as antidiabetic agents. *International Journal of Computer Applications* 45(20): 8-13.
- Amudhan, M., & Begum, V. 2008. Alpha-glucosidase inhibitory and hypoglycemic activities of *Areca catechu* extract. *Pharmacognosy magazine* 4(15): 223-227.
- Caselli, A., Hanane, T., Jane, B., Carter, S., Khaodhiar, L., & Veves, A. 2003. Topical methyl nicotinate-induced skin vasodilation in diabetic neuropathy. *Journal of Diabetes and its Complications* 17(4): 205-210.
- Choi, S., & Myers, J. N. 2008. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *Journal of dental research* 87(1): 14-32.

- Damasceno, D. C., Netto, A. O., Iessi, I. L., Gallego, F. Q., Corvino, S. B., Dallaqua, B., Sinzato, Y. K., Bueno, A., Calderon, I. M. P., & Rudge, M. V. C. 2014. Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes. *BioMed Research International* 2014: 1-11.
- Dorsey, B. M., & Jones, M. A. 2017. Healthy components of coffee processing by-products. In: *Handbook of coffee processing by-products*. Academic Press, United State. pp. 27-62.
- Hiramoto, K., Nasuhara, A., Michikoshi, K., Kato, T., & Kikugawa, K. 1997. DNA strand-breaking activity and mutagenicity of 2, 3-dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (DDMP), a Maillard reaction product of glucose and glycine. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 395(1): 47-56.
- Huang, L. W., Hsieh, B. S., Cheng, H. L., Hu, Y. C., Chang, W. T., & Chang, K. L. 2012. Arecoline decreases interleukin-6 production and induces apoptosis and cell cycle arrest in human basal cell carcinoma cells. *Toxicology and applied pharmacology* 258(2): 199-207.
- International Agency for Research on Cancer. 2019. Indonesia - Global Cancer Observatory. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360indonesia-fact-sheets.pdf> [15 Maret 2010].
- International Diabetes Federation. 2019. IDF Diabetes Atlas 9th Edition 2019 : GlobalFactSheet. https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20191218_144459_2019_global_factsheet.pdf [15 Maret 2020].
- King, G. L., Park, K., & Li, Q. 2016. Selective insulin resistance and the development of cardiovascular diseases in diabetes: The 2015 Edwin Bierman award lecture. *Diabetes* 65(6): 1462-1471.
- Ko, G. A., Son, M., & Cho, S. K. 2016. Comparative evaluation of free radical scavenging activities and cytotoxicity of various solvent fractions of Sandong *Sageretia thea* (Osbeck) MC Johnst. branches. *Food science and biotechnology* 25(6): 1683-1691.
- Konrad, R. J., Mikolaenko, I., Tolar, J. F., Liu, K., & Kudlow, J. E. 2001. The potential mechanism of the diabetogenic action of streptozotocin: inhibition of pancreatic β -cell O-GlcNAc-selective N-acetyl- β -D-glucosaminidase. *Biochemical Journal* 356(1): 31-41.
- Mansour, M., Salam, R. F., Rashed, L., & Salam, H. 2014. Role of toll receptors in diabetic nephropathy. *Journal of Diabetes Mellitus* 4(1): 26-32.
- Mishra, S., Verma, S. S., Rai, V., Awasthee, N., Arya, J. S., Maiti, K. K., & Gupta, S. C. 2019. *Curcuma raktakanda* Induces Apoptosis and Suppresses Migration in Cancer Cells: Role of Reactive Oxygen Species. *Biomolecules* 9(4): 159.
- Patel, N., Patel, M., Patel, P., Suryawanshi, HP., & Chavan, GM. 2019. A review on *Areca catechu* plant. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research* 4(3): 19-22.
- Prabhakar, P. K., & Doble, M. 2011. Interaction of phytochemicals with hypoglycemic drugs on glucose uptake in L6 myotubes. *Phytomedicine* 18(4): 285-291.
- Rodrigues, M. J., Custódio, L., Lopes, A., Oliveira, M., Neng, N. R., Nogueira, J.

Skrining Potensial Pinang Aceh (*Areca catechu* L.) Sebagai Elevator Transporter GLUT4 dan Fitokonstituen Antiproliferatif Sel Kanker

- M., Martins, A., Rauter, A. P., Varela, P., & Barreira, L. 2017. Unlocking the in vitro anti-inflammatory and antidiabetic potential of *Polygonum maritimum*. *Pharmaceutical biology* 55(1): 1348-1357.
- Sari, L. M., Subita, G. P., & Auerkari, E. I. 2017. Potential antioxidant and cytotoxic activities of areca nut (*Areca catechu* Linn.) extract in human oral squamous cell carcinoma and keratinocyte cells. *Asian J Pharm Clin Res* 10(10): 286-291.
- Sari, L. M., Subita, G. P., & Auerkari E. I. 2019. Areca nut extract demonstrated apoptosis-inducing mechanism by increased caspase-3 activities on oral squamous cell carcinoma [version 5; peer review: 2 approved] *F1000Research* 7: 723.
- Sari, M. S., & Ridwan, A. 2016. Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang Terhadap Densitas GLUT4 pada Sel-Sel Otot Rangka Mencit yang Terinduksi Hiperqlikemia. *Jurnal Sumberdaya Hayati* 2(2): 52-58.
- Shukla, R., Banerjee, S., & Tripathi, Y. B. 2018. Antioxidant and Antiapoptotic effect of aqueous extract of *Pueraria tuberosa* (Roxb. Ex Willd.) DC. On streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *BMC complementary and alternative medicine* 18(1): 156.
- Swaminathan, S., & Shah, S. V. 2008. Novel approaches targeted toward oxidative stress for the treatment of chronic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 17(2): 143-148.
- Tamanna, N., & Mahmood, N. 2015. Food processing and maillard reaction products: effect on human health and nutrition. *International journal of food science* 2015: 1-6.
- Walia, M., Mann, T. S., Kumar, D., Agnihotri, V. K., & Singh, B. 2012. Chemical composition and in vitro cytotoxic activity of essential oil of leaves of *Malus domestica* growing in Western Himalaya (India). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012:1-6.
- World Health Organization. 2018. NoncommunicableDiseases. <https://www.who.int/en/newsroom/factsheets/detail/noncommunicable-diseases> [15 Maret 2020].
- Xie, C. Y., Zhu, H., Lin, L. P., Miao, Z. H., Geng, M. Y., Cai, Y. J., Chen, Y., Zhao, H. J., Luo, H. B., Zhang, X. W., Fan, L. M., Shen, Y. M., & Fan, L. M. 2007. MFTZ-1, an actinomycetes subspecies-derived antitumor macrolide, functions as a novel topoisomerase II poison. *Molecular cancer therapeutics* 6(11): 3059-3070.
- Ziech, D., Franco, R., Georgakilas, A. G., Georgakila, S., Malamou-Mitsi, V., Schoneveld, O., Pappa, A., & Panayiotidis, M. I. 2010. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-biological interactions* 188(2): 334-339.