

Senyawa Antikanker dari Dadap Ayam (*Erythrina variegata*)

TATI HERLINA

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran Bandung

ABSTRACT

Dadap ayam (Erythrina variegata) plant used tradisional plant of anticancer in Indonesia. The leaves of E. variegata used medicinal folk of anticancer, however haven't reported of bioactive compound. The search of active compound of E. variegata very important to use of herbal medicine of anticancer. The purpose of this research was assayed an anticancer compound in vitro toward breast cancer cell-lines T47D from E. variegata. The research was extracted of methanol and fractionation from the leaves and seed of E. variegata by using guide-assay in vitro Sulphorhodamine B (SRB) method. Furthermore, by using the anticancer activity to follow separation, the active fraction was separated by combination of column chromatography to yield six active compounds (1-3). The chemical structure of active compounds (1-3) were determined on the basis of spectroscopic evidences and comparison with those previously reported and identified as steroids (1-3) groups. The active compounds (1-3) showed anticancer activity against of breast cancer cell-lines T47D with IC₅₀ of 6.5, 5.3, and 3.2 µg/ml, respectively. These results strongly suggested that the leaves and stem bark of the E. variegata are promising sources for anticancer agents.

Keywords: anticancer, *Erythrina variegata*, breast cancer cell-lines T47D

ABSTRAK

Dadap ayam (*Erythrina variegata*) secara tradisional dikenal oleh masyarakat lokal sebagai obat antikanker. Bagian tumbuhan ini yang biasa digunakan sebagai pengobatan adalah daun, tetapi kandungan senyawa kimia aktif biologisnya belum banyak dilaporkan. Pencarian komponen aktif yang terdapat di dalam tumbuhan *E. variegata* sangat penting sebagai nilai tambah untuk bahan obat herbal antikanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa yang beraktivitas antikanker dari bagian daun dan kulit batang *E. variegata* secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D. Penelitian dilakukan dengan cara ekstraksi metanol dan fraksionasi dari daun serta kulit batang *E. variegata* yang dipandu dengan uji antikanker secara *in vitro* menggunakan metode Sulforhodamin B (SRB). Selanjutnya, fraksi aktif dipisahkan komponen-komponennya dengan kombinasi kolom kromatografi yang dipandu dengan uji antikanker secara *in vitro*, diperoleh tiga senyawa aktif (1-3). Struktur kimia senyawa aktif (1-3) ditetapkan berdasarkan data spektroskopi dan perbandingan data dari senyawa yang berhubungan dari penelitian sebelumnya, dan diidentifikasi sebagai turunan steroid (1-3). Senyawa (1-3) memperlihatkan aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap kanker payudara T47D dengan IC₅₀ masing-masing 6,5; 5,3; dan 3,2 µg/ml. Daun dan kulit batang *E. variegata* menunjukkan sumber bahan antikanker payudara.

Kata kunci: antikanker, *Erythrina variegata*, sel kanker payudara T47D

KORESPONDENSI:

DR. Tati Herlina,

Jurusan Kimia, Fakultas

Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam,

Universitas Padjadjaran,

Jatinangor 45363,

Sumedang, Indonesia

E-mail:

tatat_04her@yahoo.com

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan jaringan yang tidak normal. Akibat hilangnya mekanisme kontrol sel dan menjadi penyebab utama kematian di negara berkembang.¹ Data statistik menunjukkan bahwa kematian karena penyakit kanker menduduki tempat kedua setelah penyakit jantung. Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker

yang paling sering terdiagnosis, terutama untuk wanita, dan merupakan penyebab kematian kedua setelah kanker paru-paru.² Saat ini, usaha untuk mencegah penyebaran dari sel kanker ini masih terus dilakukan, di antaranya dengan metode kemoterapi ataupun dengan menggunakan obat sintesis. Walaupun pada umumnya terapi antikanker yang ada dirasakan cukup menunjang hasil yang bagus, akan tetapi memiliki efek samping yang sangat berbahaya dan memakan biaya yang cukup mahal.³ Obat kanker umumnya merupakan obat sintesis dengan harga relatif mahal dan memiliki efek samping yang cukup besar sehingga masyarakat banyak berpaling pada pengobatan tradisional yang sifatnya lebih aman dan ekonomis. Untuk mencegah semakin meningkatnya proliferasi sel kanker maka radikal bebas dalam tubuh dapat dinetralkan oleh senyawa bioaktif yang banyak diperoleh dalam tumbuhan berkhasiat obat.

Tumbuhan obat Indonesia yang telah banyak digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan antikanker secara tradisional adalah *E. variegata* (nama lokal "Dadap ayam") yang tergolong famili Leguminosae.^{4,5} Bagian tumbuhan *E. variegata* yang digunakan dalam pengobatan tradisional adalah bagian daun dan kulit batang yang dilaporkan mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid serta senyawa golongan isoflavonoid.^{6,7} Dalam penelitian berkelanjutan pencarian senyawa aktif antikanker dari tumbuhan *Erythrina* Indonesia, peneliti terdahulu telah melaporkan adanya aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D dari ekstrak metanol daun dan kulit batang.⁸ Hasil isolasi dari ekstrak metanol daun *E. variegata* diperoleh senyawa turunan steroid (1) yang menunjukkan adanya aktivitas antikanker terhadap sel payudara T47D.⁹ Pada makalah ini dipaparkan isolasi senyawa aktif antikanker secara *in vitro* terhadap sel payudara T47D dari kulit batang *E. variegata* (2,3) menggunakan metode Sulforhodamin B.¹⁰

METODE PENELITIAN

Umum

Penentuan titik leleh dilakukan pada alat Fischer-John *Melting point apparatus*. Spektrum UV dan IR diukur masing-masing dengan spektrofotometer UV/Vis Shimadzu series 1240 dan FTIR-Shimadzu series 8400. Spektrum ¹H dan ¹³C-NMR diukur menggunakan spectra JEOL JNM A-500, yang bekerja pada 500 MHz (¹H-NMR) dan 125 MHz (¹³C-NMR) dengan TMS sebagai standar internal. Kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan silika gel Merck 60 GF₂₅₄ dan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada plat berlapis silika gel Merck 60 GF₂₅₄.

Bahan Tumbuhan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah

bagian daun dan kulit batang *E. variegata* yang diperoleh dari hutan lindung di daerah Sumedang, Jawa Barat pada Februari 2007. Bahan ini dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Sekolah Tinggi Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kulit batang *E. variegata* (1,5 kg) diekstraksi dengan metanol dengan teknik maserasi, diperoleh ekstrak metanol pekat (44,1 g). Ekstrak metanol pekat selanjutnya antara *n*-heksana dan metanol, diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Fraksi metanol yang diperoleh dipartisi antara etil asetat dan air, diperoleh fraksi etil asetat (8,5 g). Selanjutnya, fraksi etil asetat dipisahkan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel G 60 dan eluen *n*-heksana : etil asetat : metanol bergradien, diperoleh enam fraksi (FA-F). Fraksi FB (40,4 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom oktadesilsilan dan eluen metanol : air (9,5 : 0,5), diperoleh senyawa 2 (18,3 mg). Selanjutnya, fraksi FC (80,8 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom silika gel G 60 dan eluen *n*-heksana : etil asetat bergradien, diperoleh senyawa 3 (14,5 mg).

Uji Hayati Antikanker

Metode uji hayati antikanker yang digunakan berdasarkan metode SRB (Sulforhodamin B). Sel yang telah siap uji sebanyak 190 µmL ditambah dengan sampel uji sebanyak 10 µmL, kemudian diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu 37°C. Setelah itu, sel difiksasi dengan TCA 50%. Pewarnaan menggunakan SRB 0,4% dalam asam asetat 1% selama 30 menit. Warna SRB yang tidak terikat dibilas dengan asam asetat 1%, sedangkan yang terikat diekstraksi dengan basa tris (pH 10). Intensitas warna yang dihasilkan diukur dengan menggunakan ELISA *plate reader* pada panjang gelombang 515 nm. Sedangkan IC₅₀ dihitung dengan cara analisis regresi nonlinear antara persen survival dan konsentrasi.¹⁰

HASIL PENELITIAN

Ekstrak metanol daun dan kulit batang *E. variegata* dipartisi antara *n*-heksana dan etil asetat, menghasilkan fraksi *n*-heksana dan etil asetat. Uji aktivitas antikanker secara *in vitro* dari ekstrak metanol daun dan kulit batang *E. variegata* terhadap sel kanker payudara T47D sebagai kontrol positif digunakan cisplatin. Fraksi etil asetat daun dan kulit batang menunjukkan aktivitas yang signifikan. Untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antikanker, selanjutnya fraksi etil asetat daun dan kulit batang yang aktif dipisahkan menggunakan kombinasi kromatografi kolom pada silika gel 60, menghasilkan satu senyawa aktif (1) dari daun dan dua senyawa aktif (2,3) dari kulit batang *E. variegata* yang

menunjukkan aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D (Tabel 1). Senyawa **3** menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa **1**, **2**, dan standar cisplatin.

Senyawa **1** merupakan turunan steroid yang diidentifikasi sebagai senyawa aktif β -sitosterol yang sebelumnya telah dilaporkan.⁹ Senyawa **2** yang diperoleh berupa padatan putih dan mempunyai titik leleh 153–155°C. Senyawa **3** yang diperoleh berupa padatan amorf tidak berwarna dengan titik leleh 175–178°C. Senyawa **2** dan **3** memberikan hasil yang positif dengan pereaksi Liebermann-Burchard yang menunjukkan golongan steroid.¹¹

Tabel 1: IC₅₀ isolat (1-3) terhadap sel kanker payudara T47D

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Senyawa 1	6,5
Senyawa 2	5,3
Senyawa 3	3,2
Cisplatin	3,3

PEMBAHASAN

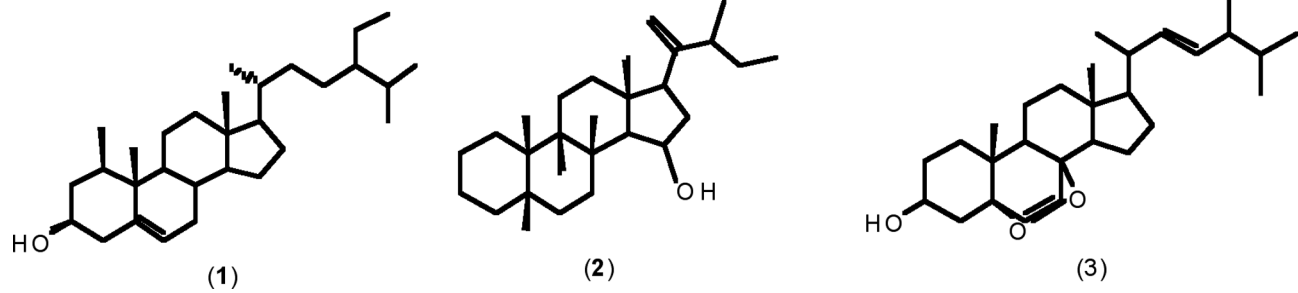
Ekstraksi metanol dari bagian daun dan kulit batang *E. variegata* bertujuan untuk mengekstrak semua komponen yang terdapat di dalam bagian tumbuhan tersebut. Uji pendahuluan antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D dari ekstrak metanol daun dan kulit batang untuk mengetahui khasiat farmakologi.⁸ Hal ini bertujuan untuk membenarkan pemakaian tumbuhan *E. variegata* yang selama ini sudah digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan tradisional.^{4,5}

Senyawa **2** menunjukkan rumus molekul C₂₈H₄₈O berdasarkan data ¹H- dan ¹³C-NMR. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif mempunyai lima ekivalensi ikatan rangkap. Spektrum inframerah menunjukkan adanya serapan yang kuat pada bilangan gelombang ν_{maks} 3386 cm⁻¹ dari regangan ulur gugus O-H, diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang ν_{maks} 1037 cm⁻¹ yang merupakan regang C-O untuk alkohol. Spektrum ¹³C-NMR DEPT 135° dalam CDCl₃, 125 MHz menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki dua puluh delapan karbon yang terdiri atas tujuh (CH₃), sebelas (CH₂), empat (CH), dan enam (Cq). Spektrum ¹H-NMR dalam CDCl₃, 500 MHz menunjukkan adanya empat puluh delapan hidrogen yang terdiri atas lima signal singlet dari gugus metil tersier pada geseran kimia δ_{H} 0,88 (3H-18); 0,82 (3H-19); 0,86 (3H-26); 0,98 (3H-27); 0,85 (3H-28) ppm; dan hidrogen yang terikat pada karbon yang mengikat atom oksigen pada δ_{H} 4,64 ppm (OH-15) dan hidrogen pada δ_{H} 3,12 ppm (H-15); hidrogen pada δ_{H} 4,56 dan 4,69 ppm (2H-21) menunjukkan adanya hidrogen yang terikat pada

karbon sp². Sedangkan hidrogen yang lainnya merupakan hidrogen yang terikat pada karbon sp³. Spektrum ¹H-¹H COSY menunjukkan adanya korelasi pada H-2 (δ_{H} 0,95) berkorelasi dengan H-3 (δ_{H} 1,28); proton pada H-15 (δ_{H} 3,12) berkorelasi dengan H-16 (δ_{H} 1,68); proton pada H-22 (δ_{H} 1,76) berkorelasi dengan H-23 (δ_{H} 1,41); dan proton pada H-23 (δ_{H} 1,41) berkorelasi dengan H-24 (δ_{H} 1,08). Spektrum HMBC menunjukkan adanya korelasi antara H-16 (δ_{H} 1,68) dengan C-20 (δ_{C} 152,0); proton pada H-14 (δ_{H} 0,76) berkorelasi dengan C-15 (δ_{C} 79,8). Berdasarkan data spektra di atas dan data spektra yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya^{12,13} serta pendekatan biogenetik tentang keberadaan senyawa golongan steroid, struktur isolat murni ditetapkan sebagai 5,8,9,10,13,22-heksametil-20-en-kolan-15-ol yang merupakan turunan senyawa steroid yang baru ditemukan pada marga *Erythrina*.

Senyawa aktif **3** menunjukkan rumus molekul C₂₈H₄₄O₃ berdasarkan data ¹H- dan ¹³C-NMR. Spektrum infra merah menunjukkan adanya serapan untuk gugus fungsi alkohol yang ditunjukkan oleh serapan dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang ν_{maks} 3521,8 cm⁻¹ yang merupakan regang ulur untuk gugus O-H pada alkohol dan serapan berupa pita lebar pada bilangan gelombang ν_{maks} 3317,3 cm⁻¹ yang menunjukkan serapan untuk ikatan hidrogen intermolekular pada gugus O-H. Spektrum ¹³C-NMR yang menunjukkan adanya sinyal untuk karbon sp² metin, yaitu δ_{C} 135,6 (C-22); 135,4 (C-6); 132,5 (C-23); dan 130,9 (C-7) ppm. Spektrum ¹H-NMR menunjukkan terdapatnya empat puluh empat proton, terdiri atas empat sinyal proton sp² yang diemban oleh atom karbon sp². Di antaranya terdapat dua sinyal doublet, yaitu pada daerah geseran kimia δ_{H} 6,50 (d; *J* = 8,5 Hz; 1H-6) dan 6,25 (d; *J* = 7,9 Hz; 1H-7) ppm yang menunjukkan ikatan rangkap pada sistem siklik. Sinyal doublet doublet pada daerah geseran kimia 5,19 (dd; *J* = 16,5 Hz; 2H; H-22; H-23) ppm menunjukkan ikatan rangkap dengan sistem konfigurasi *trans* pada rantai alifatik. Di antaranya dua sinyal singlet untuk karbon metil, yaitu pada δ_{H} 0,83 (H-18) dan 0,88 (H-19) ppm. Keempat sinyal metil lainnya yaitu pada δ_{H} 0,81 (t, H-28); 0,91 (d; 6,7 Hz; H-26); 1,00 (d; 6,1 Hz; H-27); dan 1,22 (d; 9,8 Hz; H-21) ppm. Senyawa **6** diidentifikasi sebagai (22E)-5 α , 8 α -epidioksiergosta-6,22-dien-3 β -ol.¹⁴

Senyawa **1-3** yang diperoleh merupakan turunan steroid. Hubungan struktur molekuler dan aktivitas antikanker dari senyawa **1-3** menunjukkan bahwa senyawa **3** dengan nilai IC₅₀ lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa **1** dan **2**. Hal ini menunjukkan bahwa adanya gugus diokso pada senyawa **3** dapat meningkatkan aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D. Bagian daun dan kulit batang *E. variegata* menunjukkan sumber bahan antikanker payudara yang dapat digunakan



sebagai pengobatan alternatif kanker payudara dari bahan alam.

KESIMPULAN

Bagian daun dan kulit batang *E. variegata* menunjukkan aktivitas antikanker payudara terhadap sel kanker payudara T47D secara *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa daun dan kulit batang *E. variegata* berpotensi sebagai bahan dasar obat herbal antikanker payudara.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dana yang diberikan melalui Hibah Penelitian Fundamental dan *Indonesian Managing Higher Education Relevance and Efficiency Project (I-MHERE)* Tahun Anggaran 2009. Terima kasih kepada staf peneliti Laboratorium Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bandung, atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan uji antikanker. ❖

DAFTAR PUSTAKA

- Hill RP, Tannock IF. *Cancer as a Cellular Disease*. The Basic Science of Oncology. New York: McGraw-Hill Inc; 1992.
- Wingo PA. Cancer incidence and mortality, 1973-1999: a report card for the US. *Cancer* 1998; 82:1197-1207.
- Siswandono, Soekardjo B. *Kimia Medisinal*. Surabaya: University Airlangga Press; 1995.
- Heyne K. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, terjemahan Badan Litbang Kehutanan, Jilid II. Cetakan kesatu. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kesehatan; 1987.
- Hanum F, Maesen LJG. *Plant Resources of South-East Asia*. PROSEA. Bogor, Indonesia; 1997.
- Herlina T, Muis A, Supratman U, dkk. Senyawa Bioaktif dari *Erythrina variegata* (Leguminosae). *Berkala Ilmiah MIPA* 2005; 15:21-26.
- Herlina T, Nasrudin, Supratman U, Subarnas A, Sutardjo S, Hayashi H. An isoflavonoid, warangalone from the stem bark of dadap ayam (*Erythrina variegata*). *Journal of Basic Sciences* 2008; 9:45-47.
- Herlina T, Nurlelasari, Supratman U. Aktivitas Antikanker Dari Tumbuhan Dadap Ayam (*Erythrina variegata*). Prosiding dari Seminar Nasional Ikatan Alumni Ahli Ilmu Faal Indonesia; Bandung; 26 – 28 Juli 2007.
- Herlina T, Nurlelasari, Maharani R, Supratman U, Zalinar, U, Subarnas A, Sutardjo S, Hayashi H. Potency of the leaves of *Erythrina variegata* (Leguminosae) as an anticancer. Prosiding dari the sixth Princess Chulabhorn International Sciences Congress: The Interface of Chemistry and Biology in The "Omics" Era: Environment & Health and Drug Discovery; Bangkok, Thailand; November 25 – 29, 2007. h. 125.
- Skehan PR, Storeng D, Scudiero A, Monks J, McMahon D, Vistica JT, Warren H, Boskesch S, Kenney, Boyd MR.. *Journal Natural Product* 1990; 82:13.
- Fransworth NR. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *J. of Pharm. Sci.* 1966; 55:3.
- Viviane SP, Takeda ATC, Gosmann G, Schenkel EP. Saponins and Sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. *J. Braz. Chem. Soc.* 2002; 13:135-139.
- Nahar L, Sarker SD, Turner AB.. Synthesis and spectroscopic data analyses of 5 β -cholane derivatives. *Acta Pharm* 2006; 56:369-374.
- Ponce AM, Ramirez JA, Galagovsky LR, Gross EG, Ella-Balsells R.. A new look into the reaction between ergosterol and singlet oxygen *in vitro*. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002; 1:749-756.