

SENYAWA TRITERPENOID 3 β -HIDROKSI-TIRUKAL-7-EN DARI EKSTRAK DAUN KAPI NANGO (*Dysoxylum arborescens*) DAN AKTIVITAS SITOTOKSIKNYA TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7

Tri Mayanti^{1*}, Lutfi Abdillah¹, Darwati¹, Tenny Putri Wikayani², Nurul Qomarilla², Deden Indra Dinata³

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang km 21 Jatinangor, Sumedang 45363

²Laboratorium Kultur Sel dan Jaringan, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Jl. Prof. Eyckman No. 38 Bandung 40161

³Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno Hatta No. 754 Bandung

*Alamat Korespondensi: t.mayanti@unpad.ac.id

Abstrak: Senyawa triterpenoid 3 β -hidroksi-tirukal-7-en (**1**) telah diisolasi dari ekstrak daun kapi nango (*Dysoxylum arborescens*). Struktur kimia senyawa ditentukan menggunakan data spektroskopi yang meliputi IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS dan perbandingan dengan senyawa yang telah dilaporkan sebelumnya. Aktivitas sitotoksik senyawa **1** terhadap sel kanker payudara MCF-7 menunjukkan nilai IC₅₀ 155,1 ppm.

Kata kunci: *Dysoxylum arborescens*, triterpenoid, tirukanan, MCF-7

Abstract: Triterpenoid compound, 3 β -hidroksi-tirukal-7-en (**1**) was isolated from the leaf of kapi nango (*Dysoxylum arborescens*). The chemical structure of compound was identified with spectroscopic data including IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS and by comparison with known related compound. Cytotoxic activity of compound **1** against breast cancer MCF-7 cells showed IC₅₀ values 155.1 ppm.

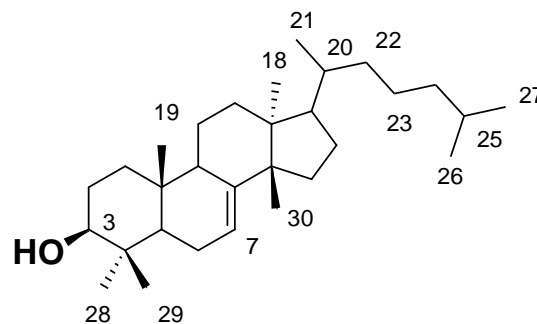
Keywords: *Dysoxylum arborescens*, triterpenoid, tirukanan, MCF-7

PENDAHULUAN

Famili Meliaceae dikenal sebagai sumber senyawa metabolit sekunder yang kaya akan struktur kompleksnya, mulai dari nortriterpenoid teroksigenasi hingga kelas limonoid. Salah satu genus dari famili Meliaceae adalah *Dysoxylum*, yang banyak menghasilkan produk senyawa yang tidak mudah terdegradasi, seperti apotirukanan, glabretal dan damaran, triterpenoid dan steroid ataupun limonoid (Yan *et al.* 2014). *Dysoxylum* juga mengandung banyak macam golongan senyawa diantaranya triterpenoid, saponin, seskuiterpenoid, limonoid, steroid serta alkaloid. Metabolit sekunder ini memiliki berbagai aktivitas biologis seperti limonoid sebagai depresan sistem syaraf pusat, anti-RSV, antimakan, dan antiinflamasi. Diterpenoid sebagai antitoksik dan antimakan, alkaloid sebagai antirematik, serta triterpenoid glikosida dan flavonoid sebagai antitumor (Hu *et al.* 2011).

D. arborescens atau biasa disebut kapi nango di Jawa Barat, cemaga atau bangkiring payo di Sumatera, merupakan suatu spesies yang terdistribusi mulai dari India dan Sri Lanka hingga Myanmar, Indonesia, China bagian selatan, Thailand, Malaysia hingga Australia dan Selandia Baru. Kapi nango biasa digunakan untuk bahan konstruksi, pembuatan perahu, pintu, desain interior dan bahan baku perabotan lainnya (Priyadi *et al.* 2010). Berdasarkan hasil skrining biologis yang dilakukan terhadap beberapa spesies yang dipercaya oleh masyarakat setempat sebagai obat-obatan tradisional di wilayah Manokwari, Provinsi Papua Barat, ekstrak kulit

batang kapi nango (*D. arborescens*) dilaporkan mengandung suatu alkaloid yang dimanfaatkan pada penderita malaria dan demam tinggi. Ekstrak ini memiliki aktivitas yang sangat baik sebagai antibakteri terhadap *Cryptococcus neoformans* (Lense 2011). Pada artikel ini akan dilaporkan suatu triterpenoid 3 β -hidroksi-tirukal-7-en (**1**) telah diisolasi dari ekstrak daun kapi nango (*D. arborescens*) serta aktivitas sitotoksik senyawa dievaluasi terhadap sel kanker payudara MCF-7.



BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kapi nango (*D. arborescens*) yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor, Jawa Barat pada bulan Juli 2014. Tumbuhan ini kemudian dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor, Jawa Barat.

Bahan kimia yang digunakan terdiri atas etil asetat, *n*-heksana, diklorometana dan metanol kualitas teknis serta aseton dan kloroform p.a (Merck). Pemisahan senyawa dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan silika G₆₀ (Merck, 70-230 mesh dan 230-400 mesh) dan ODS serta dipandu oleh kromatografi lapis tipis menggunakan pelat silika GF₂₅₄ (Merck, 0,25 mm). Untuk deteksi noda menggunakan reagen penampak noda asam sulfat 10% dalam etanol yang diikuti pemanasan.

Peralatan

Peralatan gelas yang umum digunakan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, mikropipet, *rotary evaporator* tipe R-215 Buchi yang dilengkapi dengan pompa vakum V-700, penangas air B-491, dan sirkulator pendingin F-100, alat distilasi, corong pisah dan peralatan kromatografi kolom terbuka, alat kromatografi lapis tipis (KLT) dengan lampu detektor UV Vilber Lourmat (~230 V, 50 Hz) λ 254 dan 365 nm. Untuk keperluan analisis dan karakterisasi isolat murni digunakan dengan pengukuran serapan inframerah (IR) menggunakan alat FTIR, spektra NMR menggunakan NMR JEOL JNM ECA-500, serta penentuan massa molekul menggunakan spektrometer massa Qtof ESI MS Acuity UPLC System.

Ekstraksi dan Isolasi

Daun kapi nango (*D. arborescens*) kering yang telah dihaluskan (0,35 kg) dimaserasi dengan metanol selama 24 jam secara berulang pada suhu ruang, maserat dipekatkan hingga diperoleh maserat pekat metanol sebanyak 50 g. Maserat pekat 50 g dilarutkan dengan akuades dan dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana dan etil asetat hingga diperoleh ekstrak *n*-heksana (8,1 g) dan ekstrak etil asetat (14,9 g). Ekstrak etil asetat difraksinasi dengan dengan kromatografi cair vakum (silika gel G₆₀) dengan fase gerak berupa campuran *n*-heksana, etil asetat dan metanol dengan peningkatan kepolaran yang bertahap hingga diperoleh lima fraksi (A-E). Fraksi B (3,4 g) merupakan fraksi gabungan hasil KVC dipisahkan dengan metode kromatografi kolom terbuka dengan pelarut *n*-heksana:etil asetat bergradien 1% hingga diperoleh enam fraksi (B₁-B₆). Fraksi B₆ (66,4 mg) kemudian dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom fase terbalik menggunakan fase diam ODS dengan pelarut air:metanol:aseton bergradien 0,5% hingga diperoleh isolat B₆₅ (senyawa **1**) berupa padatan putih sebanyak 5,5 mg.

Senyawa 1, padatan putih, IR (KBr) ν_{\max} : 3310 (OH), 2930 (C-H alifatik), 1631 (C=C), 1452 (C-H siklik), 1376 (gem dimetil), 1245 (C-O) cm^{-1} ; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) lihat Tabel 1; ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) lihat Tabel 1, ESI MS [M+H]⁺ m/z 429,2808 (perhitungan [M+H]⁺ untuk C₃₀H₅₂O 429,4026).

Uji Sitotoksik Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7

Sel MCF-7 dipanen dari flask yang sudah konvluen. Viabilitas sel dihitung hingga diperoleh jumlah sel yang hidup $5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$ sel/well. Sel ditanam ke dalam mikroplate 96 well sebanyak 50 μL untuk masing-masing well lalu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam. Ekstrak yang akan diujikan diencerkan pada konsentrasi tertentu lalu dimasukkan ke dalam masing-masing well sebanyak 50 μL , diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam. Sebanyak 10 μL kit WST-8 untuk MTT Assay ditambahkan ke dalam masing-masing well, diinkubasi selama 3 jam. Hasil dibaca segera dengan menggunakan alat ELISA reader lalu dibuat kurva kalibrasi dari absorbansi yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi serbuk kering daun (*D. arborescens*) (0,35 kg) menghasilkan 50 g ekstrak metanol pekat. Pemisahan dan pemurnian dengan menggunakan berbagai metode kromatografi terhadap ekstrak metanol lebih lanjut menghasilkan isolat murni B₆₅ (senyawa **1**) (5,5 mg) berbentuk padatan warna putih yang larut dalam kloroform. Rumus molekul ditetapkan sebagai C₃₀H₅₂O (perhitungan [M+H]⁺ untuk C₃₀H₅₂O 429,4026) berdasarkan data ESI MS dimana terdapat puncak ion molekul [M+H]⁺ pada m/z 429,2808. Spektrum IR senyawa **1** menunjukkan adanya serapan untuk gugus O-H (3310 cm^{-1}), C-O (1245 cm^{-1}), C-H siklik (1452 cm^{-1}), serta C=C (1631 cm^{-1}).

Spektrum ¹³C-NMR menunjukkan 30 sinyal karbon (Tabel 1), yang diperinci dengan pengukuran DEPT 135° memberikan delapan sinyal metil, sepuluh metilen *sp*³, sebuah metin teroksigenasi, lima metin *sp*³, sebuah metin *sp*², sebuah karbon kuartener *sp*² dan empat karbon kuartener *sp*³, sehingga dapat dihitung derajat ketidaktjenuhan adalah lima. Dari data tersebut dapat diduga bahwa senyawa **1** merupakan suatu triterpen tetrasiklik.

Spektrum ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) menunjukkan sinyal proton teroksigenasi yang memiliki hubungan antiperiplanar dengan proton tetangganya, sehingga proton tersebut berposisi ekuatorial dan atom O yang terikat pada karbon yang sama berposisi aksial dengan konfigurasi β (Supratman, 2010). Keberadaan gugus gem dimetil pada rantai samping ditunjukkan melalui sinyal proton pada δ_{H} 1,30 ppm (m, J = 5,2) yang terikat dengan karbon pada δ_{C} 23,5 ppm (C-26) serta proton pada δ_{H} 1,31 ppm (m, J = 5,2) yang terikat pada karbon δ_{C} 23,9 ppm (C-27), yang keduanya terikat pada karbon yang memiliki proton multiplet H-25 yang beresonansi pada δ_{H} 1,49.

Karakteristik sinyal-sinyal ¹³C-NMR dan ¹H-NMR kerangka dasar senyawa **1** bersesuaian dengan senyawa 3 β -hidroksi-tirukal-7,23,25-trien (Liu *et al.* 2001), rantai samping dibandingkan dengan rantai

samping kolest-5-en-3-ol format (Plouguerne *et al.* 2006) (Tabel 1).

Aktivitas sitotoksik senyawa **1** dievaluasi terhadap sel kanker payudara MCF-7. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT assay (Freshney 2005). Senyawa **1** menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 155,1 ppm. Menurut (Cho *et al.* 1998) nilai IC₅₀<5 µg/mL dikategorikan sangat aktif, nilai IC₅₀ 6-10 µg/mL dikategorikan aktif, nilai IC₅₀ 11-30 µg/mL dikategorikan sedang dan nilai IC₅₀>30 µg/mL dikategorikan lemah.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi suatu triterpenoid 3β-hidroksi-tirukal-7-en (**1**) dari ekstrak daun kapi nango (*D. arborescens*). Struktur senyawa ditetapkan berdasarkan data spektroskopi IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS serta perbandingan data sejenis dari senyawa analog yang telah dilaporkan. Aktivitas sitotoksik senyawa **1** terhadap sel kanker payudara MCF-7 menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 155,1 ppm. Penemuan senyawa **1** dari jenis *D. arborescens* beserta aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara MCF-7 adalah untuk yang pertama kali dilaporkan.

Tabel 1. Perbandingan data ¹³C-NMR dan ¹H-NMR senyawa **1** dengan analog triterpen tirukalan dari *D. variable** dan rantai samping kolest-5-en-3-ol format**.

Posisi C	Senyawa 1 (CDCl ₃ , 500 & 125 Mhz)		3β-hidroksi-tirukal-7,23,25-trien* (CDCl ₃ , 300 & 75 Mhz) (untuk C1-C20, C28-30); kolest-5-en-3-ol format** (CDCl ₃ , ¹³ C-NMR 150 MHz) (untuk C22-C27)	
	δ _C	δ _H (mult., J dalam Hz)	δ _C	δ _H (mult., J dalam Hz)
1	37,3	1,15 (m)	37,2*	1,15;1,68*
2	27,8	1,65 (m)	27,7*	1,65*
3	79,4	3,25 (dd, 3,9)	79,2*	3,26 (dd, 4,5)*
4	39,1	-	39,0*	-*
5	50,8	1,32 (m)	50,6*	1,33 (m)*
6	24,1	1,96 (m)	23,9*	1,97;2,10 (m)*
7	117,9	5,27 (d, 5,85)	117,0*	5,27*
8	146,0	-	145,7*	-*
9	49,1	2,21 (m)	48,9*	2,2 (m)*
10	35,1	-	34,9*	-*
11	18,2	1,51 (m)	18,2*	1,52(m)*
12	34,0	1,65 (m)	33,8*	1,65;1,84*
13	43,7	-	43,6*	-*
14	51,4	-	51,3*	-*
15	34,1	1,60 (m)	33,9*	1,60*
16	28,6	1,94 (m)	28,3*	1,28;1,94 (m)*
17	53,4	1,51 (m)	53,2*	1,50 (m)*
18	22,2	0,85 (s)	22,2*	0,86 (s)*
19	13,2	0,74 (s)	13,1*	0,76, (s)*
20	35,9	1,49 (m)	36,5*	1,50*
21	18,7	0,85 (d, 5,80)	19,0*	0,85 (d, 5,5)*
22	35,3	1,25 (m)	36,1**	-***
23	22,8	1,25 (m)	23,8**	-***
24	38,9	1,49 (m)	39,5**	-***
25	29,1	1,49 (m)	28,0**	-***
26	23,5	1,30 (d, 5,2)	22,5**	-***
27	23,9	1,31 (d, 5,2)	22,8**	-***
28	27,8	0,98 (s)	27,6*	0,98 (s)*
29	14,9	0,87 (s)	14,7*	0,87 (s)*
30	27,5	0,99 (s)	27,3*	1,00 (s)*

* (Liu *et al.* 2001), ** (Plouguerne *et al.* 2006), *** tidak ada data

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pihak Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi dan LPPM Universitas Padjadjaran atas bantuan Hibah Kompetensi Tahun 2016 dan dana PUPT tahun 2014-2015, Dr. Ahmad Darmawan dan Sofa Fajriah, M.Si., Pusat Riset Kimia LIPI untuk pengukuran NMR, Uji Pratomo, M.Si., Laboratorium Pusat Unpad untuk pengukuran HR-TOFMS dan pihak Laboratorium Kultur dan Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran untuk uji sitotoksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Cho, R.J., Racine, M.F., Wodicka, L., Feierbach, B., Stearns, T., Legrain, P., Lockhart & D.J., Davis, R.W. (1998). Parallel analysis of genetic selections using whole genome oligonucleotide arrays. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 95: 3752–3757.
- Freshney, R.I. (2005). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 5th ed. New York: Oxford University Press.
- Hu, J. Wang, X. & Shi, X. (2011). Triterpenoids and limonoids from *Dysoxylum lukii* with cytotoxic and antimicrobial activities. *European Journal Organic Chemistry*. 2011(35): 7215–7223.
- Lense, O. (2011). Biological screening of selected traditional medicinal plants species utilized by local people of Manokwari, West Papua Province. *Nusantara Bioscience*. 3(3): 145-150.
- Liu, H., Heilmann, J., Rali, T. & Sticher, O. (2001). New tirucallane-type triterpenes from *Dysoxylum variabile*. *Journal of Natural Products*. 64(2): 159-163.
- Plouguerne, E., Kikuchi, H., Oshima, Y., Deslandes, E. & Pouvreau, V.S. (2006). Isolation of cholest-5-en-3-ol formate from the red alga *Grateloupia turuturu* Yamada and its chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34(9): 714-717.
- Priyadi, H., Takao, G., Rahmawati, I., Supriyanto, B., Nursal, W.I. & Rahman, I. (2010). Five Hundred Plant Species in Gunung Halimun Salak National Park, West Java. Center for International Forestry Research. Bogor.
- Supratman, U. (2010). *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjadjaran.
- Yan, H-J., Wang, J-S., Kong, L-Y. (2014). Cytotoxic dammarane-type triterpenoids from the stem bark of *Dysoxylum binectiferum*. *Journal of Natural Product*. 77: 234–242.