

PENELUSURAN POTENSI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI KULIT BATANG TUMBUHAN FALOAK (*Sterculia quadrifida* R.Br)

Rollando¹⁾, Siswadi²⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung

²⁾ Balai Penelitian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Kupang

INTISARI

Penduduk Nusa Tenggara Timur memanfaatkan kulit batang tumbuhan Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br.) sebagai tumbuhan obat untuk mengobati penyakit liver, gastroenteritis, dan penambah stamina. Penelitian ini bertujuan menganalisis daya antikanker fraksi hasil pemisahan ekstrak etanol kulit Faloak.

Kulit batang tumbuhan faloak yang telah dihaluskan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif dengan fase gerak campuran yaitu, kloroform, n-butanol, etil asetat dengan perbandingan (3:4:1,5). Kromatogram dideteksi dengan sinar tampak, sinar UV₂₅₄, UV₃₆₆, dan pereaksi serum sulfat, kemudian ditandai. Fraksi yang diperoleh sebanyak lima fraksi. Uji sitotoksik fraksi terhadap sel T47D dan sel Vero dilakukan dengan metode MTT, sIC₅₀ dan *Selectivity Index* (SI) digunakan sebagai parameter efektivitas antikanker.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi 4 sebagai antikanker dengan kategori sedang dengan IC₅₀ sebesar 21,89 µg/mL pada sel kanker T47D.

Kata kunci: Kulit batang faloak, aktivitas antikanker, sel T47D

ABSTRACT

People on Timor island use Faloak (Sterculia quadrifida R.Br.) bark as herbal remedy to cure diseases such as liver diseases, gastroenteritis and as stamina booster. This study aims to analyze the ability of anticancer fraction of faloak bark ethanol extract.

The mashed bark of faloak plants extracted by maceration method using ethanol. The ethanol extract fractionated using preparative thin layer chromatography with mixture mobile phase which, chloroform, n-butanol, ethyl acetate with ratio (3: 4: 1,5). Chromatogram detected with visible light, UV₂₅₄, UV₃₆₆, and cerium sulfate reagent, then marked. Fraction obtained five fractions. Cytotoxic test against T47D cell and Vero cell conducted using MTT, IC₅₀ and selectivity index (SI) used as an anticancer efficacy parameter.

Fraction 4 showed moderate anticancer activity with IC₅₀ of 21.89 µg/mL in T47D cell line.

Keywords: Faloak bark, anticancer activity, T47D cell line

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu telah mengenal tumbuhan yang mempunyai khasiat obat atau menyembuhkan berbagai macam penyakit yang disebut tanaman obat tradisional (Thomas, 1993). Pemanfaatan jenis tumbuhan untuk obat tersebut didominasi oleh famili *Fabaceae* sebanyak 110 spesies, *Euphorbiaceae* 94 spesies dan *Lauraceae* 77 spesies. Spesies dari famili *Sterculiaceae* juga dikenal memiliki banyak manfaat, di mana yang telah dilaporkan mencapai sebanyak 21 species. Jika dilihat dari bagian yang digunakan, pemanfaatan tumbuhan terbesar adalah dari daun 33,50%, diikuti akar 14,89% dan kulit batang 10,47% (Zuhud, 2008).

Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) merupakan tumbuhan dari famili *Sterculiaceae*, dan dapat tumbuh hingga tinggi pohon >20 meter. Secara empiris, masyarakat di daerah Nusa Tenggara Timur (NTT) menggunakan tumbuhan faloak sebagai tanaman obat tradisional. Masyarakat Pulau Timor menggunakan air rebusan bagian kulit dari batang tumbuhan faloak untuk menyembuhkan penyakit hepatitis, gastroenteritis, diabetes dan rheumatoid arthritis (Siswadi *et al*, 2013).

Siswadi, *et al* (2013), melalui uji golongan senyawa kimia menyatakan bahwa ekstrak aseton, etil asetat, metanol, dan n-heksana dari kulit batang tumbuhan faloak memiliki senyawa flavonoid, fenolik dan terpenoid. Guna mengetahui potensi lain dari tumbuhan faloak ini, maka dilakukanlah penelitian ini yang bertujuan memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh ekstrak kulit batang faloak dengan melihat efek sitotoksik secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Kulit batang faloak, *Silica gel* 60 PF₂₅₄ untuk digunakan dalam KLT Preparatif. Pelarut ekstraksi (etanol), dan fase gerak untuk pemisahan dan pemurnian aquadest, metanol, n-heksana, kloroform dan etil asetat (E. Merck). Hidrogen peroksida, buffer fosfat, potasium ferrisianida, FeCl₃. Kultur sel T47D, kultur sel Vero, media kultur RPMI (Sigma), FBS 10% (Gibco), penisilin-streptomisin 1% (Gibco), fungizon 0,5% (Gibco), natrium bikarbonat (sigma),

herpes (Sigma), tripsin-EDTA 0,25% (Gibco), media M119, reagen MTT [3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide], *phosphate buffer saline* (PBS), reagen stopper (10% (w/v) sodium dodesil sulfat (SDS) dalam 0,1 N HCL, *Phosphate Buffer Saline* (PBS) PH 7,4,

Alat Penelitian

Plat kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif, chamber (sigma), neraca analitik (Sartorius), *vacuum rotary evaporator* (Junke & Kunkel), *sentrifuge*, *inverted microscope*, *elisa reader*, vortex (junke & kunkel), *waterbath* (labo-tech, Heraceus), lemari es, penangas air, hemositometer, *cell counter*, filter polietilensulfon, tabung ependorf, *tissue culture flask*, *tissue culture dish* diameter 6 cm dan 10 cm (Iwaki), cawan porselen, corong pisah, gelas ukur 10 mL, gelas ukur 100 mL, labu erlenmeyer, kertas saring, botol flakon, mikropipet ukuran 5µL-20µL, 20µL-200µL, 200µL-1000µL, *white tip*, *yellow tip*, dan *blue tip* (Brand), lampu UV 254 dan 366 nm, Hirayama Manufacturing Co., Japan), *Laminar Air flow* (LAF) (FARRco), autoklaf (AC-300AE, Tiyoda Manufacturing Co. Ltd.),

Jalan Penelitian

Ekstraksi

Kulit batang faloak sebanyak 3 Kg yang telah kering kemudian diserbuk menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh dan diperoleh serbuk kulit batang faloak sebanyak 1,70 kg. Langkah kedua adalah melakukan maserasi selama 48 jam dengan menggunakan pelarut etanol 96% (perbandingan serbuk dan etanol 96% (1:6)). Dilakukan pergantian pelarut etanol 96% sebanyak 3 kali. Filtrat diperoleh dengan cara disaring dengan corong Buchner. Seluruh filtrat yang diperoleh diuapkan penyaringnya hingga kental dengan evaporator. Bobot ekstrak yang diperoleh adalah 72,6 g atau rendemen yang diperoleh sebesar 3,74%.

Fraksinasi Ekstrak Etanol secara KLT Preparatif

Fase gerak yang digunakan adalah kloroform: n-butanol: etil asetat dengan perbandingan (3:4:1,5) dalam memisahkan senyawa aktif ekstrak etanol 96%. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 PF₂₅₄ khusus preparatif. Selanjutnya dilakukan

pemisahan senyawa aktif ekstrak etil asetat menggunakan KLT Preparatif. Kromatogram yang dihasilkan dideteksi dengan sinar tampak, sinar UV₂₅₄, UV₃₆₆, dan pereaksi semprot serum sulfat, kemudian ditandai. Bercak yang sudah ditandai masing-masing dikerok dan dikumpulkan, kemudian dilarutkan dengan larutan kloroform:metanol (1:1), disaring, dan dikeringkan.

Uji Sitotoksik

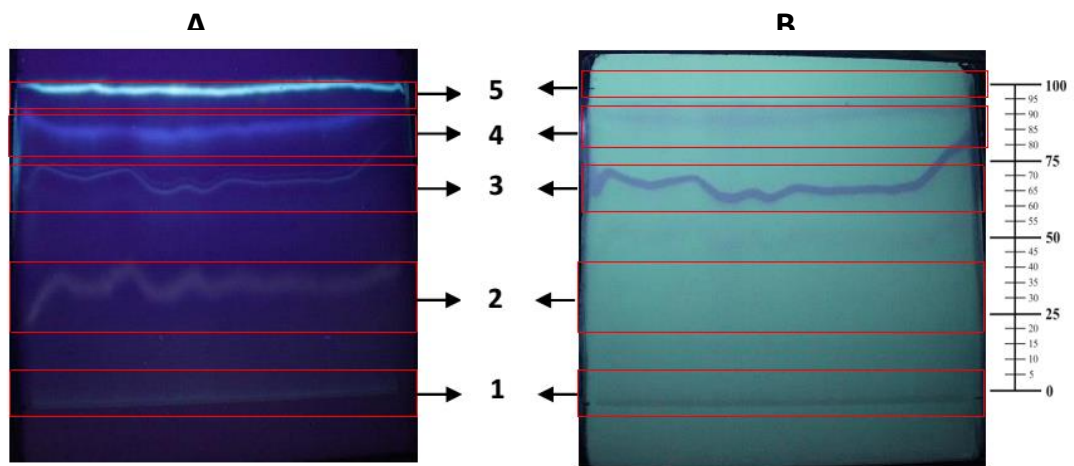
Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT. Sel kanker payudara T47D ditumbuhkan dengan media kultur RPMI, sel normal Vero dalam media kultur M199, masing-masing berisi FBS 10%, penisilin-streptomisin 1%, dan fungizon 0,5%. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 7,81 ; 15,62 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 µg/ml. Viabilitas sel ditentukan dengan absorbansi pada λ 595 nm menggunakan *plate reader*. Data absorbansi perlakuan dikonversi ke dalam persen viabilitas dan digunakan untuk menghitung IC₅₀. *Selectivity Index* (SI) merupakan hasil

bagi antara IC₅₀ sel Vero dan IC₅₀ sel T47D.

HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN

Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak etanol 96% menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), Kromatogram yang terdeteksi dibawah sinar UV₂₅₄ nm, UV₃₆₆ nm dan deteksi dengan pereaksi serum sulfat kemudian dikelompokkan menjadi 5 fraksi seperti yang terlihat pada Gambar 1. Penomoran fraksi dilakukan menurut bercak kemudian dipisahkan dengan cara dikerok dan serbuk silika disimpan sesuai penggolongan fraksi. Serbuk silika dilarutkan dengan kloroform : metanol (1:1) kemudian disaring dengan milipore dan diuapkan hingga kering. Fraksi ditimbang sehingga diperoleh rendemen fraksi dengan cara membandingkan bobot fraksi terhadap ekstrak etil asetat seperti pada Tabel I. Fraksi yang diperoleh kemudian diuji aktivitasnya terhadap bakteri uji



Gambar 1. Profil Kromatogram KLT Preparatif

Keterangan gambar:

Fase diam *silica gel* 60 PF254 dan fase gerak kloroform : n-butanol : etil asetat (3:4:1,5). Visualisasi pemisahan fraksi secara KLT preparatif, yakni (A) kromatogram di bawah UV₃₆₆, (B) UV₂₅₄ nm. (1) fraksi 1, (2) fraksi 2, (3) fraksi 3, (4) fraksi 4, dan (5) fraksi 5.

Uji Sitotoksik

Data pada tabel II menunjukkan parameter nilai IC₅₀, bahwa fraksi 4 mempunyai aktivitas sitotoksik lebih besar dari pada fraksi 1,2,3, dan 5 terhadap sel T47D. Nilai IC₅₀ yang didapatkan pada perlakuan fraksi 2, 3, dan 4 menunjukkan bahwa dapat dikembangkan sebagai sebagai agen

kemopreventif karena didapatkan nilai IC₅₀ yang lebih kecil dari 100 µg/mL (Tanaka *et al*, 1999).

Nilai selektivitas suatu senyawa bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal. Nilai *selectivity index* yang disyaratkan adalah > 3, yang

menandakan bahwa ekstrak atau fraksi mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker tapi dengan pengaruh minimal pada sel normal, dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemopreventif (Prayong *et al*, 2008). Fraksi 2, 3, dan 4 lebih selektif membunuh sel kanker payudara T47D

dibandingkan fraksi 1 dan 5. Hal tersebut terlihat dari nilai *Selectivity index* fraksi 2, 3, dan 4 dengan nilai > 3. Kuatnya aktivitas antikanker dikategorikan sebagai berikut: IC₅₀ = 5 µg/mL (sangat aktif); IC₅₀ = 5-10 µg/mL (aktif); IC₅₀ = 11-30 (sedang); IC₅₀ = 30 µg/mL (tidak aktif) (Chou *et al*, 1998).

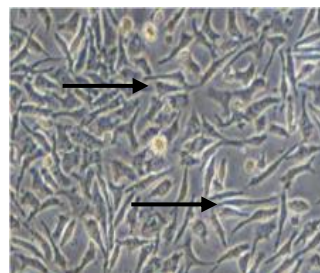
Tabel I. Rendemen dan hRf Fraksi

Fraksi	hRf	UV 254	UV 366	Serium Sulfat	Rendemen (% b/b)*
1	0	Meredam	Berpendar biru	Coklat	5,76
2	45	-	Berpendar biru	Coklat	15,60
3	74	Meredam	Berpendar biru	Coklat	20,57
4	80	-	Berpendar biru	Coklat	19,09
5	100	Meredam	Berpendar hijau	Coklat	10,53

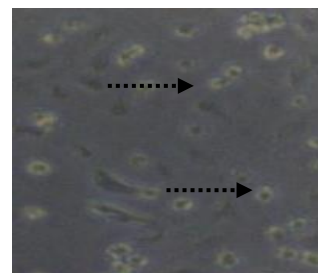
Keterangan: *Dihitung terhadap berat ekstrak etanol 96% = 20,1123

Tabel II. Hasil Uji Sitotoksik Fraksi

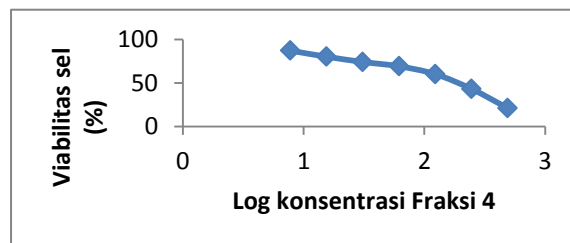
Fraksi	IC ₅₀ T47D (µg/ml)	IC ₅₀ Vero (µg/ml)	<i>Selectivity index</i> (SI)
1	121,76	313,45	2,57
2	78,98	291,87	3,69
3	53,34	278,65	5,22
4	21,89	213,12	9,73
5	132,67	366,67	2,76



(a)



(b)



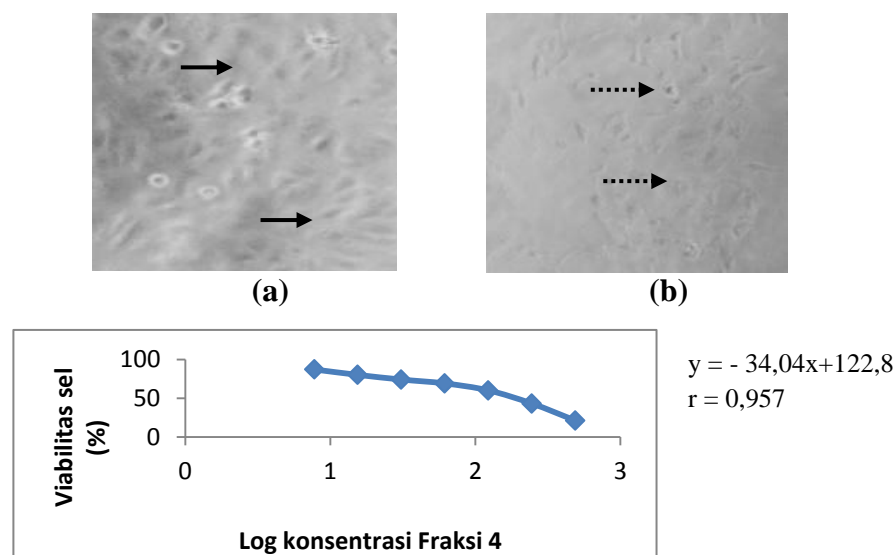
$$y = -37,97x + 110,6$$

$$r = 0,926$$

Gambar 2. Efek perlakuan fraksi dietil eter terhadap sel T47D. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 100x. (a) sel tanpa perlakuan; (b) Fraksi 4 dengan konsentrasi 25 µg/mL; Morfologi sel T47D yang hidup ditunjukkan dengan gambar panah (→) dan sel yang mengalami perubahan morfologi ditunjukkan dengan tanda panah putus (---▶).

Fraksi 4 memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil daripada fraksi lain, yang menunjukkan bahwa fraksi 4 merupakan fraksi yang lebih poten daripada fraksi lain terhadap sel T47D dan termasuk dalam fraksi dengan aktivitas antikanker kategori sedang. Profil morfologi sel akibat perlakuan fraksi 4 diamati. Perlakuan fraksi 4 menyebabkan sel T47D mengalami perubahan morfologi yaitu inti sel tampak mengerut, terlihat sel yang mengalami kematian, dan jumlah sel berkurang, sedangkan sel tanpa perlakuan menunjukkan morfologi yang normal (Gambar 2b).

Efek sitotoksik fraksi 4 terhadap sel Vero berdasarkan nilai IC_{50} dan profil morfologi sel menunjukkan efek yang lebih rendah jika dibandingkan dengan efeknya terhadap sel T47D. Perlakuan fraksi 4 juga menyebabkan sel Vero mengalami perubahan morfologi, yaitu sel mengecil dan membulat namun diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghasilkan efek yang sama terhadap sel T47D, sedangkan sel tanpa perlakuan menunjukkan morfologi yang normal (Gambar 3b).



Gambar 3. Efek perlakuan fraksi 4 terhadap sel Vero. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 100x. (a) sel tanpa perlakuan; (b) Fraksi 4 dengan konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$. Perubahan morfologi sel Vero ditunjukkan dengan gambar panah (\longrightarrow) dan sel yang mengalami perubahan morfologi ditunjukkan dengan tanda panah putus ($-\ -\ \blacktriangleright$).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi 4 sebagai antikanker dengan kategori sedang dengan IC_{50} 21,89 $\mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Chou, S. G., Valerie, H.L., Wu, X.H. Keng.Y.S.,Tan, B.H.K., Pereira J.T., Goh S.H., *Novel Cytotoxic Polyprenylated Xanthenes from Garcinia gaudichaudii*. Tetrahedron 1998;54:10915-24.
- Prayong, P., Barusrux, S., and Weerapreeyakul, N., 2008. Cytotoxic Activity Screening of Some Indigenous Thai Plants. *Fitoterapia*, **79**, 598-601.
- Siswadi., Rianawati,H., Saragih,G., dan Hadi, D., 2013. The Potency of Faloak's (*Sterculia quadrifida*

- R.Br) Active Compunds As Natural Remedy, Prosiding Seminar International, Kementrian Kehutanan bagian Penelitian dan Pengembangan Hutan, Bogor.
- Tanaka, M., Sukiman, H., Saito, M., Suto, K., Prana, M., dan Tomita, F., 1999, Isolation, Screening and Phylogene-tic Identification of Endophytes from Plants in Hokaido Japan and Java Indonesia. *Microbes and Environment*, **14**: 237–241.
- Thomas, 1993, *Tanaman Obat Tradisional I*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Zuhud, E. A. M., 2008, *Potensi Hutan Tropika Indonesia Sebagai Penyangga Bahan Obat Alam Untuk Kesehatan Bangsa*, Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor, Bogor.