

KARAKTERISASI SENYAWA STEROID DARI FRAKSI DIKLOROMETANA BUNGA NUSA INDAH (*Mussaenda erythtophylla*) DAN AKTIVITAS SITOTOKSIKNYA TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7

Devi Haryati^{1*}, Ari Widiyantoro¹, Puji Ardiningsih¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura

Jl. Prof. Dr. H Hadari Nawawi, Pontianak

*email: deviharyati48@gmail.com

ABSTRAK

Bunga Nusa Indah (Mussaenda erythrophylla) merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan digunakan oleh sebagian masyarakat sebagai diuretik, antipologis, antipiretik dan antiinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakter senyawa steroid dari fraksi diklorometana bunga nusa indah dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara MCF-7. Penelitian ini meliputi beberapa metode yaitu ekstraksi dan fraksinasi hingga dilakukan pemisahan dan pemurnian senyawa steroid. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa bunga nusa indah (Mussaenda erythrophylla) mengandung senyawa terpenoid, steroid, flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. Isolat FD1 yang diperoleh dilakukan analisis dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis dan IR, serta di lakukan uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan menggunakan metode MTT essay. Hasil analisis UV-Vis menunjukan bahwa isolat FD1 memiliki nilai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 276 nm, dan 224 nm. Spektrum IR isolat FD1 menunjukan serapan pada bilangan gelombang 3382; 2923-2850; dan 1461 cm⁻¹. Isolat FD1 memiliki aktivitas sitotoksik yang tergolong potensial karena memiliki nilai IC₅₀ sebesar 74,63 µg/mL.

Kata kunci: *Mussaenda erythrophylla*, steroid, sel kanker payudara MCF-7

PENDAHULUAN

Bunga nusa indah merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan tergolong dalam marga *Mussaenda*. Bunga nusa indah (*Mussaenda erythrophylla*) merupakan tanaman asli Afrika Barat dan dapat hidup di daerah tropis seperti Indonesia. Tanaman ini biasanya terlihat di kebun dan di taman sebagai tanaman hias. Masyarakat menggunakan daun bunga nusa indah sebagai obat tradisional antara lain antiinflamasi, bisul, demam, kusta, dan asma (Sambrekar *et al.*, 2014).

Steroid merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada hewan dan tumbuhan. Beberapa senyawa steroid khususnya glikosida steroid diketahui mempunyai aktivitas biologi sebagai antitumor dan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel tumor pada manusia. Di samping itu, beberapa senyawa steroid juga mempunyai aktivitas sebagai antitumor secara *in vitro* (Mimaki dan Sashida, 1996).

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit yang sering menyerang wanita. Kanker payudara di Indonesia merupakan kanker dengan prevalensi tertinggi ke - 2. Penderita kanker payudara di Indonesia sebanyak 12,10%, terbanyak kedua setelah kanker leher rahim (19,18%) (Tjindarbumi dan Mangunkusumo, 2002; Effendi dkk., 2012). Survei yang telah dilakukan oleh *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa 8-9% wanita mengalami kanker payudara. Angka kejadian minimal 20.000 kasus baru per tahun dan 50% ditemukan pada stadium lanjut, kasus kanker payudara di Indonesia pada tahun 2007 sebanyak 11.310 kasus (Anggorowati, 2013; Hawari, 2014). Pengobatan kanker payudara dilakukan dengan cara operasi dan kemoterapi. Penggunaan kemoterapi antikanker belum memberikan hasil yang optimal karena

bekerja tidak spesifik sehingga dapat merusak sel normal. Namun, selain pengobatan secara medis, masyarakat juga banyak mencoba kemungkinan penyembuhan dengan pengobatan alternatif menggunakan ramuan bahan alami (*natural medicine*) (Djajanegara dan Wahyudi, 2010).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Pitriyana (2017) menyebutkan bahwa, pada fraksi etil asetat terkandung senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D, dengan tingkat sitotoksik yaitu sitotoksik sedang. Sampai saat ini masih belum ada publikasi mengenai senyawa steroid dari bunga nusa indah yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan meliputi ekstraksi yang dilakukan dengan teknik maserasi, kromatografi vakum cair, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi kolom. Karakterisasi senyawa steroid yang diperoleh akan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan spektrometer inframerah, serta uji terhadap sel kanker payudara melalui uji sitoksisitas (*MTT essay*).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas kimia yang umum digunakan di Laboratorium Kimia, *conical tube*, corong pisah, *ELISA reader*, mikropipet 200 dan 1000 μL , neraca analitik, pengukur titik leleh, *rotary evaporator*, tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, *96-well place*, *yellow tip and blue tip*, seperangkat alat maserator, seperangkat alat kromatografi kolom, spektrofotometer ultraungu-sinar tampak (Shimadzu) dan spektrofotometer inframerah (Shimadzu).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades (H_2O), asam klorida (HCl), bunga nusa indah (*Mussaenda erythrophylla*), diklorometana (CH_2Cl_2), DMSO, etil asetat ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$), metanol (CH_3OH), natrium hidroksida (NaOH), natrium bikarbonat (NaHCO_3), *n*-heksana, reagen MTT, serbuk MTT, dan tripsin EDTA.

Prosedur Kerja

Bunga nusa indah dikeringkan di udara terbuka tanpa terkena cahaya matahari secara langsung kemudian dipotong kecil-kecil. Sampel yang sudah kering dihasilkan menggunakan blender. Serbuk bunga nusa indah dimaserasi menggunakan methanol hingga senyawa terekstraksi sempurna. Semua maserat ditampung, kemudian filtrate dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental methanol. Ekstrak kental methanol ini kemudian dilakukan uji fitokimia.

Pemisahan komponen pada ekstrak kental methanol diawali dengan partisi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana, dan etil asetat, sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan methanol. Keempat fraksi tersebut dilakukan uji fitokimia. Fraksi yang menunjukkan adanya kandungan steroid selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan dengan kromatografi kolom. Proses kromatografi kolom dihentikan setelah semua metabolit sekunder telah terelusi. Masing-masing eluat yang diperoleh kemudian dianalisa dengan KLT menggunakan eluen yang sesuai. Eluat yang menunjukkan pola noda sama digabungkan sehingga diperoleh beberapa kelompok fraksi. Fraksi dengan spot tunggal dilanjutkan untuk dilakukan uji kemurnian. Fraksi tersebut kemudian disebut sebagai isolat. Isolat tersebut selanjutnya dilakukan karakterisasi senyawa steroid menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan spektrofotometer inframerah, serta dilakukan uji sitotoksik menggunakan metode MTT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi serbuk kering bunga nusa indah dengan metanol diperoleh ekstrak kental metanol seberat 50,0267 gram. Ekstrak kental methanol ini kemudian dilakukan partisi dan hasilnya disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil partisi ekstrak kental metanol

Fraksi	Massa (gram)	Rendemen
Fraksi Metanol	6,4573	12,907 %
Fraksi N-heksana	10,4488	20,886 %
Fraksi Diklorometana	8,4446	16,880 %
Fraksi Etil Asetat	8,3777	16,746 %

Hasil uji fitokimia masing-masing hasil dari partisi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak kental metanol

No.	Jenis Senyawa	Ekstrak Metanol	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi Diklorometana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Metanol
1.	Terpenoid	+	+	+	+	+
2.	Flavonoid	+	-	+	+	+
3.	Steroid	+	+	+	+	+
4.	Alkaloid	+	-	+	-	-
5.	Tanin	+	-	-	+	+
6.	Saponin	+	-	+	+	+

Isolat yang diperoleh juga dilakukan uji sitotoksik dan hasilnya disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji sitotoksik

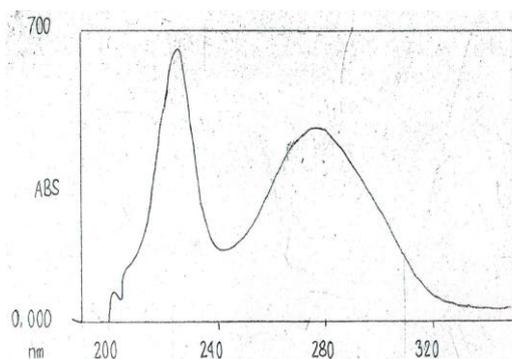
No.	Sampel	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
1.	Ekstrak metanol	133,78
2.	Fraksi <i>n</i> -heksana	196,944
3.	Fraksi diklorometana	100,45
4.	Fraksi etil asetat	196,01
5.	Fraksi metanol	150,31

Aktivitas sitotoksik yang paling besar berturut-turut yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi metanol, ekstrak metanol, dan fraksi diklorometana. Semakin besar nilai IC₅₀ maka aktivitas sitotoksik terhadap sel semakin rendah. Sitotoksitas dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu: (1) sitotoksik potensial jika nilai IC₅₀ < 100 µg/mL, (2) sitotoksik sedang jika nilai 100 µg/mL < IC₅₀ < 1000 µg/mL, dan tidak toksik jika nilai IC₅₀ > 1000 µg/mL (Prayong, 2008). Fraksi diklorometana dengan nilai IC₅₀ sebesar 100,45 µg/mL termasuk sitotoksik sedang.

Karakterisasi Isolat

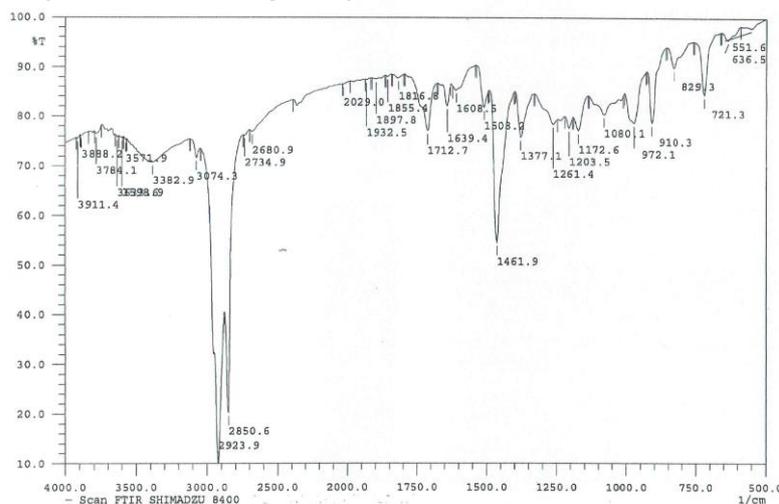
Berdasarkan spektrum UV isolat menunjukkan adanya beberapa absorbansi maksimum yaitu pada λ 276nm, dan 224 nm. Transisi elektronik yang berada pada rentang 250-400 nm adalah $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, dan $\pi \rightarrow \pi^*$. Pada panjang gelombang maksimum 276 nm menunjukkan transisi elektronik $n \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya kromofor C-OH dan C=C. Pada panjang gelombang maksimum 224 nm menunjukkan

transisi elektronik $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya kromofor C=C. Spektrum UV-Vis disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektra UV-Vis isolat FD1

Data spektrum IR memperlihatkan bahwa terdapat pola spektrum senyawa yang diperoleh menunjukkan serapan melebar pada daerah 3382 cm^{-1} yang diduga sebagai serapan ulur dari gugus OH. Pita serapan ini menunjukkan bahwa isolat mengandung gugus OH. Pita serapan pada bilangan gelombang $2923\text{-}2850 \text{ cm}^{-1}$ dengan bentuk pita tajam dan intensitas lemah merupakan uluran CH alifatik. Serapan pada bilangan gelombang 1461 cm^{-1} dengan bentuk pita tajam dan intensitas lemah menunjukkan adanya C=C alkena. Berdasarkan analisis tersebut, isolat diprediksi merupakan senyawa golongan steroid. Spektrum IR disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra IR isolat FD1

SIMPULAN

Berdasarkan spektrum UV-Vis didapat absorbansi maksimum pada panjang gelombang 276nm, dan 224 nm yang menunjukkan transisi elektronik $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, dan $\pi \rightarrow \pi^*$. Spektrum IR menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3382; 2923-2850; dan 1461 cm^{-1} yang menunjukkan gugus OH ulur; C-H alifatik ulur; dan alkena.

Nilai aktivitas sitotoksik (IC_{50}) terhadap sel Kanker payudara MCF-7 yang diperoleh untuk fraksi *n*-heksana, etil asetat, fraksi metanol, ekstrak metanol, dan diklorometana, berturut-turut adalah sebesar 196,944; 196,01; 150,31; 133,78; dan 100,45 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan untuk isolat FD1 nilai IC_{50} yang didapat sebesar 74,63 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori sitotoksik potensial.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorowati, L., 2013 Faktor Risiko Kanker Payudara Wanita Jurnal Kesehatan Masyarakat, Pemuda Sarjana Penggerak Pembangunan Pedesaan Kempenora RI, hlm 121-126.
- Departemen kesehatan RI., 2000 Buku Pedoman Distribusi Kapsul Minyak Beryodium, Jakarta.
- Eiswaraiah, M., Chinna, Elumalai, A., 2011 Isolation Of Phytoconstituents From The Stems Of *Mussaenda erythrophylla* *J. Der. Pharmacia Sinica*, 2(6), Hlm. 132-142.
- Fauziyah, B., 2012, Analisis Kualitatif Fenilalanin Secara Kromatografi Kertas dan Kromatografi Lapis Tipis, Prosiding Studi Awal Pengembangan Metode Deteksi Penyakit Phenylketonuria UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Friedal, M. N., Lauffen, 2005, *Zur Synthese des Diterpenoid Eleutherobin aus Weichkorallen der Gattung Elutherobia und Synthese der Amonisaure 2-Aminohohistidin*, Universitas Munchen, Munchen.
- Gunawan, I W. G., I G. A. Gede, Bawa, dan N. L. Sutrisnayanti, 2008, "Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri* Linn)" *J Kimia*, 4(2), hal.135-140.
- Handayani, Nestri, M.W Wartono, Riskha, K.M., 2012, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss), *J. Penelitian Kimia*, Vol. 8, No.1, hal 57-69.
- Hendayana, S., Asep K., Sumarna dan Asep., 1994, Kimia Analitik Instrumen, edisi pertama, IKIP-Press, Semarang.
- Heitzman, M.E.; Neto, C.C.; Winiarz, E.; Vaisberg, A.J.; Hammond, G.B., 2005, Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae) *J. Phytochemistry*, 66, 5–29.
- Hostettman, K., M. Hostettman, A. Marston. 1986. *Preparative Chromatography Techniques*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Inggris.
- Ikan, R., 1976, *Natural Product A Laboratory Guide*, Academic Press, London.
- Juliana, Vina A., Siti Aisyah, Iqbal M., 2010, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Turunan Terpenoid Dari Fraksi *n*-Heksana *Momordica charantia* L. *J. Sains Tek. Kim.* Vol.1, No.1, hlm.88-93.
- Johnson, E.L. dan Stevenson, R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. Hlm. 70, 119-121.
- Kristianingurum, S., 2008 Handout Spektroskopi Massa UI Press, Jakarta.
- Kusbandari, A., 2015, Analisis Kualitatif Kandungan Sakarida dalam Tepung dan Pati Umbi Ganyong (*Canna edulis* ker.) *J. Pharmacia*, Vol. 5, No.1, hlm. 35-42.
- Mosmann, T., 1983, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays *J. of Immunological Method*, 16;65 1-2, hlm. 55-63.
- Pangaribowo, D.A., 2014 *Molecular Docking*, Sintesis dan Uji Aktivitas Sitotoksik Senyawa 1-Benzoil-1,3-Dimetilurea, *J. Cakra Kimia*, Vol. 2, No. 1, hlm. 1-6.
- Pitriyana, 2017, Senyawa Fralovoin dari fraksi Etil Asetat Bunga Nusa Indah (*Mussaenda erythrophylla*) dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara T47D, *J. Kimia Khalutistiwa*, Vol 6.
- Poole, D., 2003. *Linear Algebra A Modern Indroduction*. Brooks/Cole Thompson Learning.
- Rao, G.B and Raju, N.J., 2011, Anthelmintic Activities Of Antigonon *Leptopus* Hook and *Mussaenda erythrophylla* Lam, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* Vol 3, hlm. 68-69.

- Rahmawati, E., Sukardiman, Annisa F.M., 2013, Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens Balsamina Linn*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *J. Media Farmasi*, Vol.10, No.2, hlm. 47-55.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., dan Makang, V.M.A., 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara, *J.Chem. Progress*, Vol.1, hal. 47-53.
- Saputra, D. Eko, Nestri H., M. Widyono Wartono, 2014, Isolasi dan Identifikasi Campuran Beta Sitosterol dan Stigmasterol dari Kulit Akar Slatri (*Caphyllum soullatri Burm. F*) *J.Penelitian Kimia*, Vol. 10 No.1, hlm 87-93.
- Sastrohamidjojo, H., 2005, Kromatografi Liberty, Yogyakarta.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C dan Morrill, 1986, Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik, edisi ke-4, Penerjemah: A.J., Hartomo dan Anny Victoria Purba, Erlangga, Jakarta.
- Sudjadi, 1985, Penentuan Struktur Senyawa Organik, Ghalia Indonesia, Jakarta.
- Yudissanta, A., Madu, R., 2012, Analisis Pemakaian Kemoterapi pada Kasus Kanker Payudara dengan Menggunakan Metode Regresi Logistik Multinomial (Studi Kasus Pasien di Rumah Sakit "X" Surabaya), *J. Sains dan Seni ITS*, Vol.1, No.1, hlm.112-117.