

SENYAWA SITOTOKSIK DARI FRAKSI DIKLOROMETANA KULIT TERONG UNGU (*Solanum melongena* L.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D

Banu Prasetya, Harlia, Ari Widiyantoro*
Program Studi Kimia, FMIPA Universitas Tanjungpura,
Jalan Prof.H. Hadari Nawawi PO BOX 7097, Pontianak, Indonesia 78124
*Korespondensi penulis: Email: ari.widiyantoro@chemistry.untan.ac.id

Diterima : 9 Maret 2021

Direvisi : 11 November 2021

Disetujui : 14 November 2021

Copyright © 2021 Universitas Pakuan



FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

ABSTRAK

Terong ungu (*Solanum melongena* L.) merupakan tanaman yang mengandung metabolit sekunder bersifat antioksidan dan berpotensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari kulit terong ungu yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D berdasarkan nilai IC_{50} . Isolasi senyawa dari kulit terong ungu dilakukan beberapa tahap yaitu maserasi, partisi, dan kromatografi. Uji sitotoksik terhadap isolat dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa fraksi diklorometana mempunyai nilai IC_{50} sebesar 160,79 $\mu\text{g/mL}$ dan isolat 3' mempunyai nilai IC_{50} sebesar 124,44 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} pada fraksi dan isolat diklorometana termasuk dalam sitotoksik moderat sehingga dapat dimanfaatkan untuk mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Hasil analisis isolat 3' dengan $^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 500 MHz) diperoleh pergeseran kimia (δ , ppm) 0,86 (1H, *m*); 1,44 (1H, *s*); 1,34 (2H, *brs*); 1,62 (1H, *m*); 3,31 (4H, *brs*); 3,73 (1H, *t*); dan 7,69 (1H, *m*). Berdasarkan pergeseran kimia isolat 3' memiliki kemiripan dengan senyawa pregnan yang merupakan golongan steroid.

Kata kunci: *Solanum melongena* L., Sitotoksik, Kanker Payudara, Sel T47D

CYTOTOXIC COMPOUND FROM DICHLOROMETHANE FRACTION OF EGGPLANT PEEL (*Solanum melongena* L.) AGAINST T47D BREAST CANCER CELL LINE

ABSTRACT

Eggplant (*Solanum melongena* L.) is a plant that contains antioxidant secondary metabolites and potentially as a anticancer. This study was conducted to identify the cytotoxic activity of secondary metabolite compound against T47D breast cancer cells based on the IC_{50} value. Isolation of compound from eggplant peel was carried out in several steps, such as maceration, partition, and chromatography. Cytotoxic test on isolate was carried out *in vitro* against breast cancer cells T47D. The results of cytotoxic test showed that the dichloromethane fraction obtained IC_{50} values of 160.79 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and the isolates 3' obtained IC_{50} values of 124.44 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The IC_{50} value obtained by the dichloromethane fraction and isolate was classified as moderate cytotoxic so that it could be used to prevent and inhibit the growth of cancer cells. The results showed $^1\text{H-NMR}$ analysis (DMSO, 500 MHz) isolate 3' obtained a chemical shift of (δ , ppm) 0.86 (1H, *m*); 1.44 (1H, *s*); 1.34 (2H, *brs*); 1.62 (1H, *m*); 3.31 (4H,

brs); 3.73 (1H, t), and 7.69 (1H, m). Based on the chemical shift the 3 'isolate to have similarities to the pregnane compound which is a steroid.

Keywords: *Solanum melongena L.*, Cytotoxic, Breast Cancer, T47D Cells

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit genetik dari sekelompok besar penyakit yang memiliki ciri-ciri terjadinya pertumbuhan sel jaringan tidak normal sehingga dapat merusak sel jaringan dan menyebar ke organ lainnya (Sulaiman *et al.*, 2019). Berdasarkan data GLOBOCAN (*Global Burden of Cancer*) tahun 2012, menunjukkan kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang memiliki prevalensi kasus baru tertinggi dari semua jenis kanker sebesar 43,3%. Kanker ini banyak di alami oleh wanita. Jumlah penderita kanker payudara berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2018 di perkirakan ada 2,1 juta kasus baru kanker payudara dan sebanyak 627.000 kematian di seluruh dunia (Yulianto *et al.*, 2020), sedangkan di Indonesia dari data GLOBOCAN tahun 2018, tercatat kasus kanker payudara sebanyak 137.514 dengan jumlah kematian sebanyak 18.279 kasus setiap tahunnya. Faktor-faktor seseorang dapat mengidap kanker payudara di antaranya riwayat keluarga dengan penderita kanker payudara (15,79%), *menarche* dini (8,77%), *nullipara* (7,02%) dan pemakaian pil yang mengandung estrogen dalam jangka panjang (42,11%) (Mulyawati, 2015).

Pengobatan kanker secara umum melalui proses kemoterapi, pembedahan, dan radioterapi. Namun proses pengobatan tersebut masih belum bisa memberikan hasil yang optimal dan memiliki efek samping terhadap penderita. Hal ini menimbulkan pemikiran pengobatan alternatif yang dianggap lebih efektif dalam menghambat dan mematikan sel kanker serta tidak memberikan efek samping terhadap penderita. Salah satu pengobatan tersebut dapat dilakukan dengan memanfaatkan bahan alam hayati yaitu tanaman obat.

Kandungan bahan aktif yang terdapat dalam beberapa jenis tanaman memiliki potensi sebagai agen antikanker. Tanaman yang berpotensi sebagai antikanker dapat dikelompokkan menjadi tanaman obat yang bersifat sitotoksik, tanaman obat yang bersifat imunostimulan, dan tanaman obat yang bersifat antioksidan (Sudarmawan *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan metabolit sekunder bersifat antioksidan yaitu tanaman terong ungu. Tanaman terong ungu memiliki antosianin yang bersifat antioksidan terutama pada bagian kulit. Antosianin yang terdapat dalam kulit terong ungu yaitu senyawa *Delphinidin-3-rutinoside* dengan kadar paling banyak yaitu sebesar 84% (Silitonga & Sitorus, 2014). Hasil penelitian Maha (2013), menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder dari kulit terong ungu memberikan efek sitotoksik terhadap kanker lambung, kanker kulit, kanker usus besar, kanker rahim, dan kanker hati.

Efek sitotoksik yang ditimbulkan oleh metabolit sekunder kulit terong ungu secara umum dapat dimanfaatkan sebagai agen antikanker. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari kulit terong ungu yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D. Saat ini belum ditemukan publikasi mengenai senyawa sitotoksik dari kulit terong ungu (*Solanum melongena L.*) terhadap sel T47D.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan *glass*, botol semprot, botol vial, *bulp*, blender, neraca analitik, *rotary evaporator* (Buchi), *chamber* KLT, corong pisah, lampu UV 254 nm dan

366 nm, seperangkat alat kolom, dan spektrometer ¹H-NMR (Agilent, 500 MHz).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah akuades, etanol (p.a E. Merck) dan teknis) etil asetat (p.a E. Merck dan teknis), metanol (p.a E. Merck dan teknis), *n*-heksana (p.a E. Merck dan teknis), diklorometana (p.a E. Merck dan teknis), pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Liebermann-Burchard*, pereaksi serium (IV) sulfat (E. Merck) 3% (b/v), pereaksi besi (III) klorida (E. Merck) 1 % (b/v), plat silika gel 60 F₂₅₄ (E. Merck), silika gel 60 (70-230 mesh; 230-400 mesh) (E. Merck), plat TLC silika gel PF₂₅₄ (E. Merck) dan buah terong ungu.

Preparasi Sampel Buah Terong Ungu

Sampel buah terong ungu (*Solanum melongena* L.) diperoleh dari petani Rasau Jaya, Kubu Raya, Kalimantan Barat. Sebanyak 20 kg buah terong ungu dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian dikupas untuk memisahkan kulitnya. Kulit buah terong ungu basah yang dihasilkan sebanyak 2,1 kg kemudian dikeringanginkan tidak langsung terkena sinar matahari. Setelah kering dengan kadar air kurang dari 10% kemudian dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk.

Ekstraksi dan Fraksinasi Kulit Terong Ungu

Serbuk kulit terong ungu sebanyak 177,6 g dimaserasi dengan pelarut metanol teknis (yang telah diredestilasi) selama 3x24 jam pada suhu kamar (setiap 24 jam diganti pelarutnya). Hasil maserasi setiap jangka waktu kemudian dikumpulkan di dalam botol gelap. Maserat dipisahkan menggunakan evaporator pada suhu 40°C hingga terbentuk ekstrak kental.

Ekstrak kental metanol kemudian difraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair. Partisi dilakukan secara bergradien menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana, dan etil asetat. Masing-

masing fraksi kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak metanol dan masing-masing fraksi hasil partisi dilakukan uji fitokimia dan uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol ditotolkan pada plat KLT, dan dielusi menggunakan eluen terbaik. Plat KLT kemudian disemprot menggunakan reagen spesifik masing-masing golongan metabolit sekunder. Reagen *dragendorff* digunakan untuk mendeteksi senyawa golongan alkaloid, reagen serium (IV) sulfat untuk mendeteksi senyawa golongan flavonoid, reagen *Liebermann-Burchard* digunakan untuk mendeteksi senyawa golongan terpenoid/steroid, reagen FeCl₃ 1% digunakan untuk identifikasi senyawa golongan fenolik. Plat yang sudah disemprot kemudian dipanaskan di atas *hot plate*. Sementara uji saponin dilakukan cara uji busa sebagai penanda adanya golongan saponin. Saponin diuji dengan cara sampel dilarutkan dalam akuades kemudian ditetesi HCl lalu dikocok. Keberadaan saponin diidentifikasi dengan terbentuknya busa selama 10 menit.

Pemisahan dan Pemurnian

Pemisahan dan pemurnian dilakukan terhadap fraksi diklorometana karena mewakili fraksi nonpolar dengan aktivitas sitotoksik tertinggi. Pemisahan senyawa metabolit sekunder dari fraksi diklorometana dilakukan menggunakan teknik kromatografi. Fraksi diklorometana dianalisis terlebih dahulu pola nodanya menggunakan teknik kromatografi lapis tipis untuk menentukan eluen terbaik yang akan digunakan pada saat kromatografi vakum cair (KVC).

Pemisahan senyawa menggunakan teknik KVC diawali dengan sampel fraksi diklorometana dilakukan impregnasi ke dalam sebagian kecil silika gel (230-400 mesh), Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan teknik KVC menggunakan fasa diam silika gel 60 (230-400 mesh) dan dielusi menggunakan eluen secara bergradien meliputi diklorometana, etil asetat, dan metanol. Fraksi yang diperoleh dari KVC kemudian dilakukan KLT untuk melihat pola noda yang sama. Fraksi gabungan yang memiliki pola noda yang sama kemudian dilakukan pemurnian menggunakan teknik KLT preparatif sehingga diperoleh isolat dengan noda tunggal. Isolat dengan pola noda tunggal dilakukan uji kemurnian dengan KLT satu dimensi dan dua dimensi. Setelah itu isolat dilakukan uji sitotoksik terhadap sel kanker T47D.

Uji Sitotoksik dan Karakterisasi Isolat

Aktivitas sitotoksik isolat terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT *assay* untuk menentukan nilai IC₅₀ yang dilakukan di Fakultas Kedokteran, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, dan karakterisasi isolat menggunakan spektrometer ¹H-NMR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, FMIPA Institut Teknologi Bandung.

Analisis Data

Berdasarkan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran pada MTT *assay*, maka dapat ditentukan persentase sel hidup dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{sel hidup} = \frac{X-Y}{Z-Y} \times 100\% \dots\dots\dots 1$$

Keterangan :

X= Absorbansi sel uji

Y= Absorbansi Blanko

Z= Absorbansi kontrol

Berdasarkan grafik hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan viabilitas sel

maka dapat dihitung nilai IC₅₀ larutan uji menggunakan persamaan regresi linier (Wahyuni *et al.*, 2013). Ekstrak dengan IC₅₀ yang kecil mempunyai efek antikanker yang lebih baik (Indrawati & Razimin, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel kulit terong ungu dilakukan pengeringan. Tujuan proses pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dari sampel agar terhindar dari pembusukan dan pertumbuhan jamur pada sampel yang dapat mengubah kandungan senyawa kimia pada sampel dan untuk mempermudah pada proses penyerbukan. Proses penjemuran tidak boleh di bawah sinar matahari langsung karena dapat mengakibatkan senyawa-senyawa kimia yang terkandung di dalamnya teroksidasi sehingga dikhawatirkan hanya tersisa berupa artefak (Sindora & Allimudin, 2017). Setelah kering diperoleh sampel sebanyak 177,6 gram kemudian sampel kulit terong ungu diserbukan menggunakan blender. Serbuk kulit terong ungu selanjutnya digunakan untuk proses ekstraksi secara maserasi.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Maserat kemudian diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 40°C sehingga membentuk ekstrak kental metanol dengan berat 28,033 gram. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dilanjutkan ke tahap fraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair.

Tujuan fraksinasi ialah untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder yang telah terekstrak pada ekstrak metanol berdasarkan tingkat kepolaran menggunakan pelarut bergradien (meningkat kepolarannya). Hasil partisi terhadap ekstrak metanol kulit terong ungu diperoleh fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

Identifikasi Senyawa	Reagen	Parameter	Pengamatan				
			E.M	F.n-H	F.D	F.EA	F.M
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	Oranye	+	+	+	+	+
Fenolik	FeCl ₃	Noda merah, ungu, biru atau hitam	+	-	+	+	+
Flavonoid	Serium sulfat (IV)	Kuning coklat	+	-	+	+	+
Terpenoid	<i>Lieberman-Burchard</i>	Noda hijau, biru	+	+	+	+	+
Steroid	<i>Lieberman-Burchard</i>	Merah	+	+	+	+	+
Saponin	HCl	Busa yang stabil	-	-	-	-	-

(E.M = ekstrak metanol; F.n-H = fraksi *n*-heksana; F.D = fraksi diklorometana; F.EA = fraksi etil asetat; F.M = fraksi metanol)

Uji Fitokimia

Skrining fitomia merupakan uji kualitatif untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam bagian tumbuhan terutama kandungan metabolit sekunder. Uji fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan metabolit sekunder yang terdistribusi dalam ekstrak dan fraksi .

Senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh tumbuhan berasal dari hasil mekanisme kemampuan pertahanan diri terhadap kondisi lingkungan ekstrim seperti suhu, iklim, maupun gangguan hama dan penyakit tanaman. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak metanol dan masing-masing fraksi disajikan pada Tabel 1.

Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Terhadap Sel Kanker T47D.

Ekstrak dan masing-masing fraksi kulit terong ungu diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT. Prinsip uji sitotoksik didasarkan pada *reagen tetrazolium* MTT yang akan diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi kristal formazan. Reaksi MTT dihentikan dengan menambahkan SDS untuk memecah kristal

formazan yang terbentuk berwarna ungu. Serapan dibaca dengan *microplate ELISA Reader* pada panjang gelombang 595 nm karena pada panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang maksimum untuk mengabsorpsi MTT (Nurshalati *et al.*, 2015). Hasil uji sitotoksik disajikan pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Terhadap Sel Kanker Payudar T47D

Nama Sampel	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak Metanol	254,84
Fraksi <i>n</i> -Heksana	245,19
Fraksi Diklorometana	160,79
Fraksi Etil Asetat	135,57
Fraksi Metanol	243,36

Berdasarkan hasil uji sitotoksik dapat diketahui aktivitas ekstrak dan fraksi terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ yang tergolong dalam sitotoksik moderat dan lemah. Perbedaan nilai IC₅₀ antar ekstrak dan masing-masing fraksi diprediksi karena perbedaan distribusi metabolit sekundernya yang terjadi karena perbedaan kepolaran ekstrak dan masing-masing fraksi. Kondisi ini memungkinkan terjadinya interaksi sinergis dan antagonis senyawa-senyawa

yang terkandung sehingga mempengaruhi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T47D. Menurut Damasuri *et al.*, 2020, kategori nilai sitotoksitas untuk ekstrak/fraksi/isolat dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok yaitu: sitotoksik potensial (antikanker) jika $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$, sitotoksik moderat jika $IC_{50} 21-200 \mu\text{g/mL}$, sitotoksik lemah jika $IC_{50} 201-500 \mu\text{g/mL}$ dan tidak toksik jika $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin toksik senyawa tersebut terhadap sel kanker.

Pemisahan dan Pemurnian

Fraksi yang dilanjutkan ke tahap pemisahan yaitu fraksi diklorometana. Pemisahan menggunakan metode kromatografi. Fraksi diklorometana dilakukan uji KLT untuk mencari eluen terbaik yang menunjukkan gambaran pemisahan senyawa dalam fraksi diklorometana. Hasil uji diperoleh eluen terbaik etil asetat: diklorometana (6,5:3,5). Pada perbandingan ini pemisahan senyawa pada fraksi diklorometana menunjukkan pemisahan yang paling baik sehingga dapat digunakan untuk tahap pemisahan KVC. Berikut hasil KLT untuk KVC yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji KLT untuk Pencarian Eluen KVC (fase gerak etil asetat : diklorometana = 6,5 : 3,5)

Prinsip kerja KVC ialah sampel tersebut bermigrasi berdasarkan perbedaan kepolaran pada dua fasa yaitu fasa diam (silika) dan fasa gerak (eluen) dengan cepat

karena menggunakan vakum (Mutmainnah *et al.*, 2017). Pada KVC ini digunakan sampel fraksi diklorometana sebanyak 2 gram. Fasa diam menggunakan silika 60 (230-400 mesh) sedangkan fasa gerak menggunakan eluen diklorometana 100%, etil asetat: diklorometana (6,5:3,5), dan metanol 100% dengan masing-masing tiap eluen sebanyak 400 mL. Penggunaan eluen bertingkat tujuannya untuk melarutkan senyawa pada fraksi diklorometana sesuai dengan kepolarannya. Hasil pemisahan KVC diperoleh 33 fraksi yaitu F₁ sampai F₃₃. Tiap fraksi dikeringkan dan dianalisis pola pemisahannya menggunakan KLT. Fraksi yang memiliki pola noda yang sama kemudian digabungkan dan ditimbang. Massa dari tiap fraksi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Massa Fraksi Hasil KVC

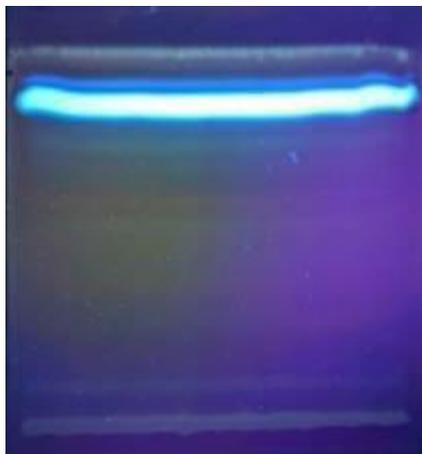
Hasil Gabungan	Fraksi	Berat (miligram)
F.D ₁	1-2	25
F.D ₂	3-6	14
F.D ₃ *	7-11	12
F.D ₄	12-13	65
F.D ₅	14-23	19,7
F.D ₆	24-33	46,69

Keterangan: *= Fraksi yang dilanjutkan

Berdasarkan hasil KLT fraksi gabungan dengan melihat pola noda dan pemisahannya maka dipilih F.D₃. Fraksi F.D₃ ini memiliki noda paling sedikit sehingga diprediksi lebih mudah dipisahkan walaupun secara kuantitas jumlahnya paling sedikit. Oleh karena itu pemisahan langsung menggunakan KLT preparatif.

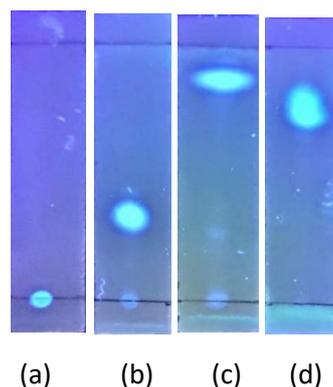
Pemisahan fraksi F.D₃ menggunakan teknik KLT preparatif. Kromatografi lapis tipis merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan sekelompok senyawa dalam jumlah sedikit. Plat KLT yang digunakan ialah lempeng kaca dengan permukaan lempeng lebih tebal dari plat KLT biasa, hal ini bertujuan agar senyawa yang terelusi dapat diambil dengan mudah. Teknik KLT preparatif untuk F.D₃

menggunakan perbandingan eluen terbaik yang telah dicari sebelumnya yaitu etil asetat: diklorometana (7:3). Hasil KLT preparatif dapat dilihat pada Gambar 2.

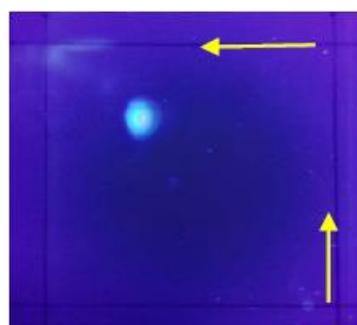


Gambar 2. Hasil Uji KLT Preparatif Fraksi F.D3 (fase gerak etil asetat : diklorometana = 7:3)

Berdasarkan karakteristik pendaran noda saat disinari UV 366 yang diprediksi suatu senyawa yang mengandung banyak kromofor maka dipilih noda ke-3 yang diberi label isolat 3'. Isolat 3' kemudian dikerok dan diekstraksi menggunakan metanol dan didekantasi untuk memisahkan filtrat dan silika gel. Filtrat yang diperoleh selanjutnya direkristalisasi untuk memperoleh isolat murni. Selanjutnya isolat dilakukan uji kemurnian menggunakan KLT satu dimensi, dua dimensi, dan *melting point*. Tujuan KLT satu dan dua dimensi ialah untuk melihat kemurnian isolat. Eluen yang digunakan untuk KLT satu dimensi yaitu *n*-heksana (100%), diklorometana (100%), etil asetat (100%) dan metanol (100%) sedangkan eluen untuk KLT dua dimensi menggunakan perbandingan eluen etil asetat: diklorometana (7:3) dan etil asetat: diklorometana (3:7). Hasil KLT satu dimensi dan 2 dimensi dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.



Gambar 3. Hasil Uji KLT Satu Dimensi dengan eluen *n*-heksana (a), diklorometana (b), etil asetat (c), dan metanol (d)

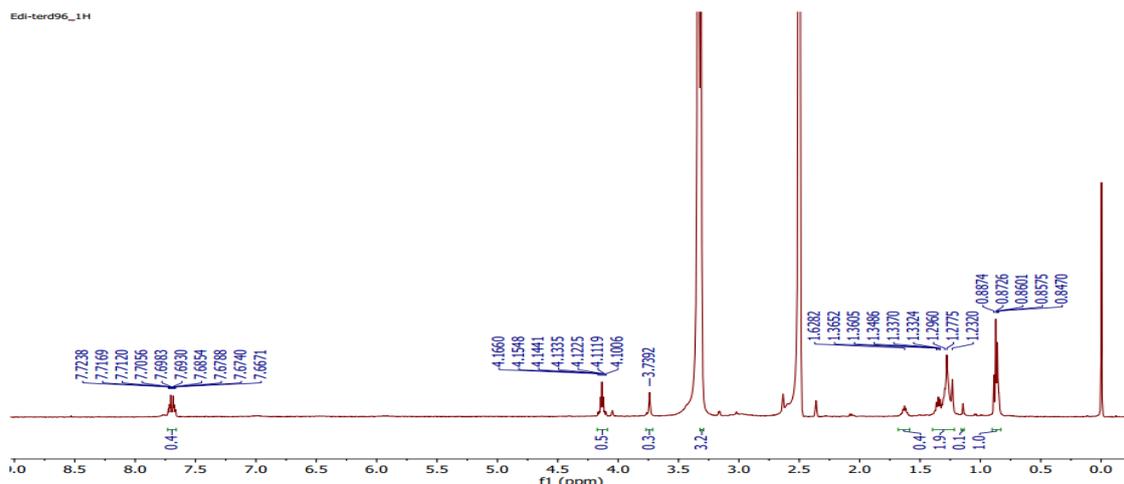


Gambar 4. Hasil Uji KLT dua dimensi dengan eluen etil asetat: diklorometana (7:3) arah ke atas dan etil asetat : diklorometana (3:7) arah ke kiri

Berdasarkan uji kemurnian menggunakan KLT satu dimensi dan dua dimensi terhadap isolat 3' menunjukkan isolat relatif murni dengan membentuk noda tunggal saat disinari UV 366. Sementara itu pada uji *melting point* isolat 3' terlihat belum murni karena memiliki selisih suhu lebih dari 2°C yaitu 233-238°C yang diduga isolat 3' masih mengandung pengotor. Jika dilihat dari KLT memang terlihat masih ada noda-noda tertinggal saat dielusi.

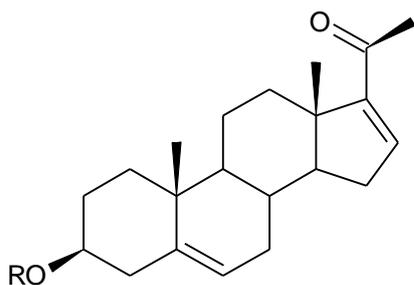
Karakterisasi dan Uji Sitotoksik Isolat 3'

Karakterisasi isolat 3' menggunakan ¹H-NMR (DMSO, 500MHz). Penggunaan frekuensi tinggi dari sinyal bertujuan agar diperoleh resolusi puncak yang semakin baik. Berikut spektrum ¹H-NMR isolat 3' disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum ¹H-NMR Isolat 3'

Berdasarkan sinyal proton menunjukkan isolat 3' memiliki pergeseran kimia (δ , ppm) 0,86 (1H, *m*); 1,44 (1H, *s*); 1,34 (2H, *brs*); 1,62 (1H, *m*); 3,31 (4H, *brs*); 3,73 (1H, *t*); dan 7,69 (1H, *m*) jika dibandingkan dengan literatur diprediksi merupakan senyawa pregnan yang merupakan golongan steroid. Hal ini karena terdapat kemiripan pergeseran kimianya dengan senyawa pregnan glikosida yang pernah ditemukan pada penelitian sebelumnya dari akar tanaman terong ungu (Shvest *et al.*, 2009). Berikut struktur senyawa pregnan glikosida.



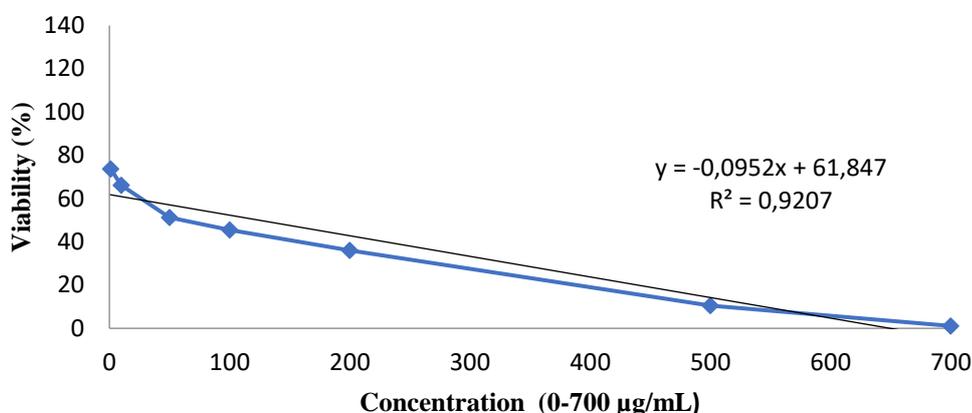
Gambar 6. Struktur Senyawa Pregnan Glikosida (Shvets *et al.*, 2009)

Hasil uji aktivitas sitotoksik isolat 3' menunjukkan nilai IC_{50} isolat sebesar 124,44 μ g/mL. Nilai IC_{50} isolat menunjukkan lebih baik dibandingkan nilai IC_{50} fraksi

diklorometana (sebesar 160,79 μ g/mL). Hal ini disebabkan isolat merupakan senyawa tunggal sedangkan fraksi merupakan gabungan senyawa sehingga diprediksi senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam fraksi diklorometana yang terdiri atas alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid dan steroid bersifat saling antagonis karena aktivitasnya lebih rendah dari senyawa tunggalnya.

Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh aktivitas sitotoksik senyawa isolat 3' terhadap sel kanker payudara T47D tergolong dalam sitotoksik moderat sehingga dapat dimanfaatkan sebagai kemoprevensi yang dapat mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Menurut Damasuri *et al.*, (2020), dengan nilai sitotoksitas 124,44 μ g/mL maka isolat 3' merupakan senyawa sitotoksik kelompok moderat. Hasil uji sitotoksik dapat dilihat pada Gambar 6.

Berdasarkan grafik menunjukkan bahwa kematian sel kanker T47D berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa isolat 3'. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka jumlah kematian sel kanker semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kematian sel kanker payudara T47D masih bergantung pada konsentrasi isolat.



Gambar 6. Persentase sel hidup T47D akibat perlakuan sampel isolat 3'

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa fraksi diklorometana merupakan fraksi nonpolar dengan aktivitas sitotoksik tertinggi sedangkan fraksi etil asetat merupakan fraksi polar dengan aktivitas tertinggi. Isolat 3' merupakan senyawa dari fraksi diklorometana yang menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 124,44 $\mu\text{g/mL}$ tergolong dalam sitotoksik moderat terhadap sel kanker payudara T47D. Analisis menggunakan spektrometer $^1\text{H-NMR}$ memprediksi bahwa isolat 3' merupakan senyawa pregnan yang termasuk golongan steroid.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada:

1. Kepala Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak atas bantuannya yang telah memberikan kesempatan untuk menggunakan laboratorium penelitian.
2. Fakultas Kedokteran, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta dan Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, ITB, Bandung atas bantuannya dalam uji sitotoksik sel kanker payudara T47D dan karakterisasi $^1\text{H-NMR}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Damasuri, A. R., Sholikhah, E. N., & Mustofa. (2020). Cytotoxicity of ((E)-1-(4-aminophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one)) on Hela Cell line. *Indonesian Journal of Pharmacology and Theraphy*. 1(2), 54-59
- Indrawati, N. L., & Razimin. (2013). Bawang Dayak Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit. *Jakarta: AgroMedia Pustaka*, 27
- Maha M.S. (2013). In Vitro and In Vivo Anticancer Activity of the Fruit Peels of *Solanum melongena* L. against Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*, 4(03):2-6. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.1000149>
- Mulyawati, I. (2015). Obesitas Sentral dan Kadar Kolesterol Darah Total, *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas* 11(1), 87-95.
- Mutmainnah, P. A., Hakim, A., & Savalas, L. R. T. (2017). Identifikasi Senyawa Turunan Hasil Fraksinasi Kayu Akar *Artocarpus odoratissimus*. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 3(2):26-32 <https://doi.org/10.29303/jppipa.v3i2.89>
- Nurshalati, T. Haeria, & Hamdana, (2015). Uji Aktivitas Penghambatan Fraksi

- Non Polar Ekstrak Klika Anak Dara (*Croton oblongusburn* F.) Terhadap Sel Kanker HELA, *Jurnal Farmasi* 3 (3): 129-133.
- Shvest, S., Nedova, I., Kintia, P., Bassarello, C., Pizza, C., & Piacente, S.(2009). Steroidal Glycosides from the Roots of *Solanum melongena* L. *Chemistry Journal of Moldova*, 4 (2):72-77. [https://doi.org/dx.doi.org/10.19261/cjm.2009.04\(2\).08](https://doi.org/dx.doi.org/10.19261/cjm.2009.04(2).08)
- Silitonga, P., & Sitorus, B. (2014). Enkapsulasi Pigmen Antosianin dari Kulit Terong Ungu. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(1), 44–49.
- Sindora, G., & Allimudin, A. H. (2017). Identifikasi Golongan Senyawa Antraquinon pada Fraksi Kloroform Akar Kayu Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(1), 37–41.
- Sudarmawan, I. H., Dlidir, D., Mudigdo, A., & Budiani, D. R. (2010). The Effect of Ethanolic and Petroleum Ether Fractions of Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Bulb Extract on Expression of p53 Mutant in Breast Cancer Cell line T47D. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 8(1), 17–26. <https://doi.org/10.13057/biofar/f080103>.
- Sulaiman, F. H., Yulianti, K., & Serviana, H. (2019). Model Matematika Terapi Kanker Menggunakan Kemoterapi, Imunoterapi dan Biochemotherapy . *Jurnal EurekaMatika*, 7(1), 1–10.
- Wahyuni, F. S., Firnando, E., & Elidahanum Husni. (2013). Kajian Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metoda Microtetrazolium (MTT). *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III*, 78–87.
- Yulianto, A. Y., Irawiraman, H., & Ompusunggu, P. M. T. M. (2020). Gambaran Usia dan Stadium Klinis Pasien Kanker Payudara yang Dilakukan Pemeriksaan Imunohistokimia di Rumah Sakit Abdul Wahab Sjahranie pada Tahun 2018. *Jurnal Kebidanan Mutiara Mahakam*, 8(2), 126–140. <https://doi.org/10.36998/jkmm.v8i2.106>.