



PAPER – OPEN ACCESS

Aktivitas Sitotoksik Fraksi Alkaloid Kulit Batang dan Buah Attarasa (*Litsea cubeba* Lour.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D

Author : Aminah Dalimunthe
DOI : 10.32734/tm.v1i3.261
Electronic ISSN : 2623-0542
Print ISSN : 2623-0550

Volume 1 Issue 3 – 2018 TALENTA Conference Series: Tropical Medicine (TM)



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NoDerivatives 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nd/4.0/).

Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara



Aktivitas Sitotoksik Fraksi Alkaloid Kulit Batang dan Buah Attarasa (*Litsea cubeba* Lour.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D

Aminah Dalimunthe^{a*}, Poppy Anjelisa Zaitun Hasibuan^b,

Jansen Silalahi^c, Denny Satria^d

^{ab}Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155

^cDepartemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155

^dDepartemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155

aminah@usu.ac.id

Abstrak

Kanker payudara adalah salah satu jenis dari kanker yang banyak menyerang wanita selain kanker mulut rahim. Tingginya angka kejadian dan resistensi agen kemoterapi menyebabkan perlu dilakukan pencarian bahan alam dengan aktivitas antikanker. Penggunaan bahan alam diharapkan dapat mengatasi resistensi dan efek samping yang terjadi ketika digunakan kemoterapi konvensional. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antikanker fraksi kloroform (alkaloid) kulit batang dan buah attarasa pada sel T47D. Ekstrak etanol diekstraksi dengan cara maserasi dan difraksinasi dengan n-heksana dan kloroform pada pH 3, 7, 9. Pengujian sitotoksik secara *in vitro* menggunakan metode MTT yang kemudian dianalisis menggunakan SPSS 21. Hasil uji sitotoksik (IC_{50}) yang diperoleh setelah pemberian fraksi alkaloid kulit batang dan buah attarasa pH 7 dan 9 adalah sebesar $46,60 \pm 0,19$; $123,01 \pm 14,63$ dan $35,89 \pm 1,04$; dan $98,31 \pm 2,51$ $\mu\text{g/mL}$. Fraksi alkaloid kulit batang dan buah attarasa bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.

Kata kunci: buah, kulit batang, *Litsea cubeba* Lour., fraksi alkaloid, sel T47D

Abstract

Breast cancer is one of the cancer which suffered by women after cervical cancer. The high incidence rate and the resistance of chemotherapeutic agents, there is a continuous need to search of natural products with anticancer activity. The use of natural products is expected to resolve resistance and side effect when used conventional chemotherapy. The aim of our research was to investigate the anticancer activity of chloroform fractions (alkaloid) of attarasa heartwood and fruits towards T47D cells. Ethanol extract were prepared by maceration and continued with liquid-liquid extraction with n-hexane, and chloroform at pH 3, 7, and 9. T47D cells were grown in culture medium RPMI then given by alkaloid fractions. Cytotoxic test *in vitro* was done by MTT method which is then analyzed using SPSS 21. The results of this research describe that the cytotoxic results (IC_{50}) after treatment with alkaloid fractions at pH 7 and 9 were 46.60 ± 0.19 ; 123.01 ± 14.63 dan 35.89 ± 1.04 ; 98.31 ± 2.51 $\mu\text{g/mL}$. Alkaloid fractions of heartwoods and fruits of attarasa have cytotoxic activity towards T47D breast cancer cells

Key words: fruits, heartwood, *Litsea cubeba* Lour., alkaloid fractions, T47D cell line.

1. Pendahuluan

Kanker dikategorikan sebagai suatu penyakit yang kompleks. Kanker menyumbang angka kematian kedua di dunia dan diperkirakan \pm 8 juta orang meninggal akibat penyakit ini [1]. Kanker masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Selain angka kejadian dan angka kematian yang tinggi, kanker juga menimbulkan masalah ekonomi. *American Cancer Society* memperkirakan bahwa sekitar 1.529.560 penderita baru dan 569.490 jumlah kematian yang terjadi akibat kanker yang terjadi pada tahun 2010 [2]. Jumlah penderita baru tersebut meningkat jika dibandingkan dengan jumlah penderita baru pada tahun 2009 yaitu 50.210. Jumlah biaya yang hilang akibat kematian oleh kanker yaitu sebesar 115,8 milyar dolar Amerika Serikat pada tahun 2000 dan akan mencapai 147,8 milyar pada tahun 2020 [3].

Attarasa (*Litsea cubeba* Lour.) merupakan tumbuhan dari keluarga Lauraceae yang kaya akan senyawa minyak atsiri. Secara tradisional, minyak atsiri dari attarasa digunakan untuk antidepresan, antiinflamasi, antioksidan, pestisida, antimikroba, antikanker dan neuro farmakologi [4]. Ekstrak metanol buah attarasa memiliki aktivitas terhadap sel HeLa yang menyebabkan apoptosis dengan cara mengaktivasi kaspase 3/7 [5]. Ekstrak etilasetat kulit batang attarasa memiliki aktivitas antioksidan dan memiliki kandungan fenol dan flavonoid total yang tinggi [6]. Tumbuhan dari marga *Litsea* kaya akan senyawa alkaloid golongan isokuinolin dan lebih dari 40 senyawa alkaloid isokuinolin telah diisolasi dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* [7]. Alkaloid isokuinolin merupakan senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas dalam penghambatan kanker melalui jalur P13K/Akt dan mTOR. Selain itu memiliki pengaruh terhadap asam amino dan beberapa protein termasuk telomerase, DNA topoisomerase I, p53, NF-KB, MMPs dan reseptor estrogen. Penghentian siklus sel dan meningkatkan apoptosis pada sel kanker selain itu alkaloid golongan ini memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antikanker dari fraksi alkaloid kulit batang dan buah attarasa terhadap sel T47D dalam upaya pengembangan bahan alam sebagai antikanker.

2. Bahan dan Metode

Kulit batang dan buah attarasa diperoleh dari Desa Parsoburan, Kabupaten Toba Samosir Sumatera Utara, Indonesia. etanol 96%, kloroform (Full Time), *n*-heksana (Full Time), natrium hidroksida (Merck), hepes (Sigma), dimetil sulfoksida (DMSO) (Sigma) Media RPMI-1640, FBS (Gibco), penicillin-streptomisin (Gibco), dan Fungizon (Amfoterisin B) 0,5%. Selain bahan-bahan di atas juga digunakan 0,25% tripsin – EDTA (Gibco), *Fetal Bovine Serum* (Gibco), PBS, [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida] (Sigma), natrium dodesil sulfat dalam HCl 0,1 N.

2.1. Pembuatan Ekstrak

Sejumlah 1 kg simplisia kering dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Prosedur ekstraksi mengikuti prosedur pada penelitian [8].

2.2. Fraksinasi Alkaloid Kasar dari Ekstrak Etanol Kulit Batang dan Buah Attarasa

Sebanyak 5 gram ekstrak etanol ditambahkan 10 mL etanol, di aduk sampai semua bagian ekstrak larut, ditambahkan 40 mL aquadest panas dan di aduk-aduk. Kemudian di saring, filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah 250 mL, kemudian ditambahkan 100 mL *n*-heksan dan dikocok dalam corong pisah, lalu diambil lapisan atas yang merupakan lapisan *n*-heksan dan ditampung dalam erlenmeyer, kemudian lapisan bawah tadi dimasukkan lagi ke dalam corong pisah dan ditambahkan 100 mL *n*-heksan dan dikocok kuat dalam corong pisah, kemudian diambil lapisan *n*-heksan dan dikumpulkan, dan diulang sampai 3 kali. Setelah 3 kali pengulangan dengan penambahan *n*-heksan, lapisan bawah dikumpulkan dalam gelas beker kemudian ditambahkan HCl 2N sampai didapat pH 3, kemudian dimasukkan lagi ke dalam corong pisah dan ditambahkan 100 mL kloroform kemudian diaduk dengan perlahan-lahan dan dipisahkan lapisan bawah yang merupakan lapisan kloroform dan ditampung dalam erlenmeyer, lalu perlakuan diulangi sampai 3 kali, kemudian lapisan bawah ditampung lagi di dalam gelas beker dan

ditambahkan dengan NaOH sampai di dapat pH 7 kemudian dimasukkan lagi ke dalam corong pisah dan ditambahkan 100 mL kloroform kemudian dikocok dalam corong pisah dan pisahkan lapisan atas dan lapisan bawah. Lapisan bawah dikumpulkan dalam erlenmeyer kemudian lapisan atas tadi ditambah 100 mL kloroform dan diulangi lagi sampai 3 kali kemudian ditampung lapisan bawah dan lapisan atas di kumpulkan dalam gelas beker, selanjutnya ditambah NaOH sampai didapat pH 9, lalu dimasukkan lagi kedalam corong pisah dan ditambahkan 100 mL kloroform kemudian dikocok dalam corong pisah dan dipisahkan kedua lapisan tersebut. Lapisan bawah ditampung dan lapisan atas ditambah kan lagi dengan kloroform dan diulangi dengan pengocokan seperti sebelumnya sampai 3 kali. Masing-masing lapisan bawah dari pH 3, 7 dan 9 yang telah ditampung tadi di uapkan di dalam vakum *rotary* sampai didapat ekstrak kasar (*crude isolat*) dari masing-masing fraksi. Perlakuan diulangi terus-menerus sampai total ekstrak etanol yang ditimbang untuk mendapatkan ekstrak kasar (*crude isolat*) sebesar 50 gram [9].

2.3. Uji Sitotoksik

Sel T47D ditumbuhkan dengan kepadatan 10.000 sel/sumuran pada *microplate 96* sumuran dan prosedur perlakuan uji ini mengikuti prosedur seperti yang tertera pada [10,11].

2.4. Analisis data

Data diolah secara statistik dengan menggunakan analisis descriptive dengan program SPSS 21.

3. Hasil Dan Pembahasan

Hasil pengujian sitotoksitas terhadap sel T47D menggunakan metode MTT. Aktivitas dehidrogenase mitokondria sel yang hidup akan mereduksi warna kuning MTT membentuk warna ungu. Warna gelap dan berserabut yang nampak pada pengamatan merupakan kristal formazan setelah pemberian MTT. Pada sel yang mati tidak ditemukan kristal ungu formazan, tetapi tetap kuning seperti medium. Nilai IC_{50} masing-masing perlakuan terhadap sel T47D dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC_{50} Fraksi Alkaloid Kulit Batang dan Buah Attarasa

Bahan Uji	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Fraksi Alkaloid pH 7 Kulit Batang	$46,60 \pm 0,19$
Fraksi Alkaloid pH 9 Kulit Batang	$123,01 \pm 14,63$
Fraksi Alkaloid pH 7 Buah	$35,89 \pm 1,04$
Fraksi Alkaloid pH 9 Buah	$98,31 \pm 2,51$

Berdasarkan tabel di atas, kemudian hasilnya dianalisis menggunakan SPSS 21. Untuk memperoleh nilai IC_{50} dengan tiga kali pengulangan sehingga didapatkan nilai IC_{50} terkecil dari fraksi alkaloid kulit batang dan buah pH 7 adalah $46,60 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ dan $35,89 \pm 1,04 \mu\text{g/mL}$ sedangkan fraksi alkaloid kulit batang dan buah pH 9 adalah $123,01 \pm 14,63 \mu\text{g/mL}$ dan $98,31 \pm 2,51 \mu\text{g/mL}$. Ekstrak dinyatakan aktif apabila memberikan nilai IC_{50} 10 – 100 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi alkaloid kulit batang dan buah pH 7 dan fraksi alkaloid pH 9 buah attarasa memiliki IC_{50} dibawah 100 $\mu\text{g/mL}$ [12]. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi nilai aktivitas sitotoksiknya. Maka dapat dikatakan bahwa EEBA mempunyai aktivitas sitotoksik yang poten terhadap sel kanker 4T1.

Alkaloid dari genus ini adalah golongan isoquinolin. Senyawa alkaloid isoquinolin dan quinolin memiliki efek antikanker. Berberin adalah contoh alkaloid isoquinolin. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa berberin memiliki potensi sebagai antikanker pada eksperimen *in-vitro* dan *in-vivo*. Berberin menghambat proliferasi sel kanker dengan menginduksi siklus sel istirahat pada fase G1 atau G2/M dan menginduksi apoptosis [13-15] dengan meregulasi CDK [13,16], Bcl-2, Bax, Bcl-XL [13,14,16], dan kaspase [14,16]. Berberin menginduksi *endoplasmic reticulum stress* dan *autophagy* dalam sel kanker [17]. Berberin juga diidentifikasi sebagai inhibitor telomerase [13].

4. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan diatas, dapat disimpulkan bahwa fraksi alkaloid kulit batang dan buah attarasa memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D.

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Sumatera Utara melalui “Hibah Penelitian Dasar TALENTA” tahun 2017 dalam pembiayaan penelitian ini, dengan nomor kontrak penelitian “No: 5338/UN5.1.R/PPM/2017”.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893-917.
2. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2010 Sep 1;60(5):277-300.
3. Bradley CJ, Yabroff KR, Dahman B, Feuer EJ, Mariotto A, Brown ML. Productivity costs of cancer mortality in the United States: 2000-2020. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2008 Dec 17;100(24):1763-70.
4. Trisonthi P, Sato A, Nishiwaki H, Tamura H. A new diterpene from *Litsea cubeba* fruits: structure elucidation and capability to induce apoptosis in HeLa cells. *Molecules*. 2014 May 23;19(5):6838-50.
5. Piyapat T, Kana M, Hirotooshi T. Induction of Apoptosis in HeLa cells by Methanolic Extract of *Litsea cubeba* Fruit Residue from Essential. *Journal of Life Sciences*. 2013 Sep;7(9):928-34.
6. Dalimunthe A, Achmad S, dan Satria D. Phenolic, flavonoid content and antioxidant activities of ethylacetate extract of *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. Barks. *Der Pharma Chemica*. 2016 8: 466-468.
7. Feng T, Zhang RT, Tan QG, Liu YP, Cai XH, Luo XD. Two new isoquinoline alkaloids from *Litsea cubeba*. *Zeitschrift für Naturforschung B*. 2009 Jul 1;64(7):871-4.
8. Satria D, Furqan M, Hadisahputra S. Rosidah. Combinational Effects Of Ethylacetate Extract Of *Picria Fel-terrae* Lour and Doxorubicin On T47d Breast Cancer Cells. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2015;7(7):73.
9. Atta-ur-Rahman, Atia-tul-Wahab, Zia Sultani S, Nawaz SA, Choudhary MI. Bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Cocculus pendulus*. *Natural product research*. 2009 Sep 20;23(14):1265-73
10. Satria D, Silalahi J, Haro G, Ilyas S, Hsb PA. Antioxidant and Antiproliferative Activities of an Ethylacetate Fraction of *Picria Fel-terrae* Lour. *Herbs. Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2017;18(2):399.
11. Adina AB, Goenadi FA, Handoko FF, Nawangsari DA, Hermawan A, Jenie RI, Meiyanto E. Combination of ethanolic extract of *Citrus aurantifolia* peels with doxorubicin modulate cell cycle and increase apoptosis induction on MCF-7 cells. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2014;13(3):919.
12. Weerapreeyakul N, Nonpunya A, Barusrux S, Thitimetharoch T, Sripanidkulchai B. Evaluation of the anticancer potential of six herbs against a hepatoma cell line. *Chinese medicine*. 2012 Dec;7(1):15.
13. Sun Y, Xun K, Wang Y, Chen X. A systematic review of the anticancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs. *Anti-cancer drugs*. 2009 Oct 1;20(9):757-69.
14. Eom KS, Kim HJ, So HS, Park R, Kim TY. Berberine-induced apoptosis in human glioblastoma T98G cells is mediated by endoplasmic reticulum stress accompanying reactive oxygen species and mitochondrial dysfunction. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2010 Oct 1;33(10):1644-9.
15. Burgeiro A, Gajate C, Dakir EH, Villa-Pulgarín JA, Oliveira PJ, Mollinedo F. Involvement of mitochondrial and B-RAF/ERK signaling pathways in berberine-induced apoptosis in human melanoma cells. *Anti-cancer drugs*. 2011 Jul 1;22(6):507-18.
16. Mantena SK, Sharma SD, Katiyar SK. Berberine, a natural product, induces G1-phase cell cycle arrest and caspase-3-dependent apoptosis in human prostate carcinoma cells. *Molecular cancer therapeutics*. 2006 Feb 1;5(2):296-308.
17. Wang N, Feng Y, Zhu M, Tsang CM, Man K, Tong Y, Tsao SW. Berberine induces autophagic cell death and mitochondrial apoptosis in liver cancer cells: the cellular mechanism. *Journal of cellular biochemistry*. 2010 Dec 15;111(6):1426-36.