



## Senyawa Sitotoksik dari Fraksi Diklorometana Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D

### *Cytotoxic Compound from Dichloromethane Fraction of Pandan Fragile Leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) againsts T47D Breast Cancer Cells Line*

Sharon Angelia<sup>1</sup>, Harlia<sup>1</sup>, Ari Widiyantoro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. Hadari Nawawi, Pontianak, Indonesia, 78124

#### ABSTRAK

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit mematikan di dunia pada wanita. Terapi dengan suatu agen kemoterapi belum memberikan penyembuhan yang optimal sehingga menyebabkan terjadi kerusakan jaringan sehat maka diperlukan pengobatan berbasis bahan alam dari tumbuhan yang berpotensi sebagai antikanker yaitu daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas sitotoksik dan mengetahui karakteristik isolat dari fraksi diklorometana. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan meliputi maserasi, partisi, dan kromatografi. Hasil penelitian menunjukkan isolat dari fraksi diklorometana mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 137,32 µg/mL. Isolat dari fraksi diklorometana dengan analisis <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 500 MHz) diprediksi merupakan golongan alkaloid kerangka pirolidin dengan pergeseran kimia menunjukkan adanya δH 8,08 ppm (1H, s), 7,68 ppm (5H, dd, J=3,6 Hz, 5,6 Hz), 4,22 ppm (6H, dd, J=3,6 Hz, 5,4 Hz), 3,57 ppm (9H, d, J= 9 Hz), 3,16 ppm (3H, s), 2,63 ppm (2H, s), 2,36 ppm (2H, s), 2,27 ppm (2H, s), 2,08 ppm (1H, s), 1,83 ppm (1H, s), 1,66 ppm (8H, m), 1,30 (28H, m) dan 0,81 (17H, m).

#### ABSTRACT

Breast cancer is one of the deadliest diseases in the world in women. Therapy with a chemotherapeutic agent has not provided optimal healing causing damage to healthy tissue so that natural ingredients-based treatment from plants that have the potential as anticancer are needed, namely fragrant pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). This research was conducted to determine the cytotoxic activity and to determine the characteristics of isolates from the dichloromethane fraction. This research was conducted in several stages including maceration, partitioning, and chromatography. The results showed that the isolate from the dichloromethane fraction had cytotoxic activity against T47D breast cancer cells with an IC<sub>50</sub> of 137.32 g/mL. The isolate from the dichloromethane fraction by <sup>1</sup>H-NMR analysis (DMSO, 500 MHz) was predicted to be an alkaloid group with a pyrrolidin framework with a chemical shift indicating the presence of <sup>1</sup>H 8.08 ppm (1H, s), 7.68 ppm (5H, dd, J=3.6 Hz, 5.6 Hz), 4.22 ppm (6H, dd, J=3.6 Hz, 5.4 Hz), 3.57 ppm (9H, d, J= 9 Hz), 3,16 ppm (3H, s), 2.63 ppm (2H, s), 2.36 ppm (2H, s), 2.27 ppm (2H, s), 2.08 ppm (1H, s), 1.83 ppm (1H, s), 1.66 ppm (8H, m), 1.30 (28H, m) and 0.81 (17H, m).

Kata kunci/keyword: Daun pandan wangi, fraksi diklorometana, kanker payudara, sel T47D, *breast cancer*, *dichloromethane fraction*, *fragrant pandan leaves*, *T47D cells*

#### INFO ARTIKEL

Received: 20 September 2022;

Revised: 17 May 2023;

Accepted: 25 May 2023

\* corresponding author: ari.widiyantoro@chemistry.untan.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.22437/jisic.v15i1.20687>

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang mematikan di dunia maupun di Indonesia. Di antara semua jenis kanker, jenis kanker yang paling umum ditemui di rumah sakit di Indonesia adalah kanker payudara (28,7%) dan kanker serviks (12,8%) (Widiyanto et al., 2020). Kanker payudara berkaitan dengan banyak faktor risiko salah satunya yang paling berperan adalah hormon estrogen (Hasnita et al., 2019). Faktor risiko lain yang berperan dengan dalam kanker payudara menurut (Paratiwi, 2021) seperti usia menarche, obesitas, lama penggunaan kontrasepsi hormonal, merokok dan riwayat menyusui. Salah satu jenis sel kanker payudara yaitu sel T47D. Selain itu, sel T47D dipengaruhi oleh keberadaan p53.

Selama ini dilakukan berbagai jenis pengobatan terhadap kanker payudara seperti metode operasi, penyinaran (radioterapi) dan obat penghambat sel kanker (sitostatika) (Padmaharish & Lakshmi, 2017). Metode pengobatan tersebut memiliki keterbatasan yaitu proses pengobatan tersebut belum memberikan penyembuhan yang optimal yang dapat menyebabkan terjadi kerusakan pada jaringan sehat atau normal sehingga diperlukan adanya pengobatan alternatif berbasis bahan alam untuk kanker payudara dari tumbuhan yang terdapat potensi sebagai anti kanker. Tumbuhan di Indonesia sangat beraneka ragam dan pemanfaatan pangan pada tumbuh-tumbuhan salah satunya adalah sebagai obat tradisional dalam mengatasi masalah kesehatan. Masyarakat pada umumnya menggunakan tumbuhan untuk pengobatan dan pencegahan berbagai penyakit salah satunya sebagai anti kanker. Hal ini mendorong para peneliti untuk

menggunakan bahan alam sebagai pengobatan alternatif penyakit kanker. Salah satu strategi yang dilakukan untuk mengatasi keadaan tersebut adalah dengan eksplorasi terhadap tumbuhan yang berpotensi sebagai antikanker (Hasnaeni & Emelda, 2020). Tumbuhan yang berpotensi digunakan sebagai pengobatan dan pencegahan antikanker payudara T47D salah satunya adalah daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Bakhtera et al., 2021) hasil skrining aktivitas sitotoksik daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) menunjukkan nilai LC50 fraksi heksana sebesar 50,35 µg/mL, fraksi etil asetat sebesar 37,1 µg/mL, dan fraksi air sebesar 1033 µg/mL sehingga daun pandan wangi memiliki aktivitas sitotoksik.

Daun pandan wangi memiliki kandungan metabolit sekunder berupa polifenol, flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid (Ridjal et al., 2019). Kandungan metabolit sekunder tersebut dapat dimanfaatkan sebagai senyawa yang bersifat sitotoksik terhadap kanker. Sejauh ini, penelitian tentang daun pandan wangi sudah pernah dilakukan baik isolasi senyawa maupun aktivitasnya. Namun, saat ini belum ditemukan publikasi mengenai uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dari daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan fraksi diklorometana sehingga pada penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa dari fraksi diklorometana daun pandan wangi, kemudian dari senyawa yang ditemukan akan diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara T47D.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.), diklorometana ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) (teknis), etil asetat ( $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ) (teknis), metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (teknis), *n*-heksana ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ) (teknis), reagen *dragendorff*, reagen  $\text{FeCl}_3$  1%, reagen *Liebermann-Buchard* (LB), reagen serium (IV) sulfat 3,3% ( $(\text{CeSO}_4)_2$ ) dan silika gel 60 (230-400 mesh) dan (70-230 mesh) (Merck).

### Peralatan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah beker gelas (*Iwaki*), blender (National Omega), botol vial, botol metro, cawan petri, chamber, corong, corong pisah (*Iwaki*), hotplate, kertas saring, lampu UV (254 nm dan 366 nm), neraca analitik (*U.S. Solid*), spektrometer NMR (*Agilent 500 MHz*), plat KLT (Merck), pipet mikro, pipet tetes, pipet ukur (*Iwaki*), rak tabung kecil, *rotary evaporator* (*Hahnshin Scientific CO.*), seperangkat alat kromatografi kolom, spatula, toples, tabung reaksi dan wrapping.

### Preparasi Sampel

Sampel daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yang digunakan dalam penelitian ini diambil di jalan Ahmad Yani, Bangka Belitung Laut, Kec. Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat. Sampel daun pandan wangi kemudian dilakukan determinasi di laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Setelah itu, sampel daun pandan wangi dicuci bersih dengan menggunakan air

mengalir, lalu dikeringkan anginkan. Daun pandan wangi yang kering kemudian dipotong kecil dan dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk daun pandan wangi.

### Ekstraksi dan fraksinasi

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Saputra *et al.*, 2018) serbuk daun pandan wangi sebanyak 1,85 kg dimaserasi menggunakan metanol selama 3x24 jam. Meserat yang diperoleh disaring dengan kertas saring. Ekstrak kental metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* (48°C, 20 rpm). Ekstrak metanol yang telah dipekatkan kemudian difraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair. Ekstrak metanol difraksinasi berturut-turut dengan pelarut *n*-heksana, diklorometana, etil asetat. Fraksinasi yang diperoleh kemudian dipekatkan kembali dengan *rotary evaporator* dan ditimbang setiap fraksi yang diperoleh. Fraksi tersebut digunakan untuk uji fitokimia dan uji sitotoksik terhadap sel kanker T47D.

### Uji Metabolit Sekunder

Uji metabolit sekunder 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 dan dipanaskan dengan hotplate. Reagen *dragendorff* digunakan untuk mendeteksi senyawa golongan alkaloid, reagen serium (IV) sulfat untuk mendeteksi senyawa golongan flavonoid,

reagen Liebermand-Burchard digunakan untuk mendeteksi senyawa golongan terpenoid/steroid, reagen  $\text{FeCl}_3$  1% digunakan untuk identifikasi senyawa golongan fenolik. Plat yang sudah disemprot kemudian dipanaskan diatas hot plate. Sementara uji saponin dilakukan cara uji busa sebagai penanda adanya golongan saponin. Saponin diuji dengan cara sampel dilarutkan dalam akuades yang telah dipanaskan. Keberadaan saponin diidentifikasi dengan terbentuknya busa selama 10 menit.

### **Pemisahan dan Pemurnian**

Pemisahan dan pemurnian dilakukan terhadap fraksi diklorometana karena menunjukkan 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 cair vakum (KCV). Pemisahan dan pemurnian ini dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi, yaitu kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi vakum cair (KCV) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG).

Pemisahan senyawa menggunakan teknik KCV diawali dengan sampel fraksi diklorometana dilakukan fraksinasi dengan fasa diam silika gel G<sub>60</sub> (230-400 mesh), selanjutnya kolom dielusi berturut-turut secara bergradien menggunakan fase gerak meliputi *n*-heksana, diklorometana, diklorometana : etil asetat (5:5), dan etil asetat. Fraksi yang diperoleh dari proses KCV dilanjutkan dengan analisis KLT menggunakan fase diam silika gel untuk melihat pola noda yang dapat digabungkan.

Fraksi yang dipilih selanjutnya dilakukan pemurnian kembali dengan KKG menggunakan fase diam silika gel G<sub>60</sub> (70-230 mesh) menggunakan fase gerak diklorometana : etil asetat (3:7). Fraksi yang diperoleh dari proses KKG dilanjutkan dengan analisis KLT menggunakan fase diam silika gel untuk melihat pola noda yang dapat digabungkan.

Fraksi gabungan KKG yang dipilih dilanjutkan pemisahannya menggunakan KLT preparatif agar diperoleh isolat dan diuji kemurniannya. Fraksi terbaik hasil KLT preparatif selanjutnya dianalisis uji kemurnian menggunakan KLT satu dan dua dimensi.

### **Uji Kemurnian**

Kemurnian isolat nomor 11 dapat diketahui dari analisis KLT satu dimensi menggunakan berbagai eluen yaitu metanol 100%: *n*-heksana 100%: diklorometana 100%: etil asetat 100%. Analisis KLT dua dimensi dilakukan menggunakan eluen diklorometana:etil asetat (3:7) dan diklorometana: etil asetat (7:3). Selanjutnya isolat murni kemudian dianalisis strukturnya dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara T47D.

### **Uji Sitotoksik Menggunakan Metode MTT Assay**

Uji aktivitas sitotoksik terhadap ekstrak, fraksi dan isolat terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT assay untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> yang dilakukan di Fakultas Kedokteran, Universitas Gajah Mada dan karakterisasi isolat menggunakan spektrometer <sup>1</sup>H-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 (Diba *et al.*, 2019):

$$\%viabilitas = \frac{A - B}{C - B} \times 100 \dots \dots (1)$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) segar. Lokasi pengambilan yaitu di jalan Ahmad Yani, Bangka Belitung Laut, Kec. Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat. Daun pandan wangi diambil sebanyak 11 kg. Daun pandan wangi selanjutnya dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir untuk membersihkan sampel dari kotoran yang melekat pada daun. Sampel dikeringkan-anginkan hingga kadar air didaun 10% sehingga proses pembusukan yang diakibatkan oleh mikroba dan aktivitas metabolisme enzim pendegradasi akan diminimalisir sehingga tumbuhan yang telah dipanen lebih awet dan dapat disimpan dalam jangka waktu relatif lama serta dapat menjaga senyawa bioaktif dalam simplisia (Wirasisya *et al.*, 2018). Berat daun pandan wangi yang telah kering sebanyak 1,85 kg. Daun pandan wangi yang kering kemudian dipotong dan dihaluskan untuk memperluas permukaan partikel simplisia sehingga semakin besar kontak permukaan partikel simplisia

Keterangan :

A= Absorbansi sel uji

B= Absorbansi blanko

C= Absorbansi kontrol

Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh melalui persamaan garis  $y=ax+b$  dengan perbandingan konsentrasi penghambat (sumbu x) dan persentase viabilitas (sumbu y).

dengan pelarut dan mempermudah penetrasi pelarut ke dalam simplisia sehingga dapat menarik senyawa-senyawa dari simplisia lebih banyak (Husni *et al.*, 2018). Daun pandan wangi yang telah halus digunakan pada proses ekstraksi dan fraksinasi.

### Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Meserasi dilakukan metanol selama 3x24 jam bertujuan untuk memaksimalkan dalam proses pengambilan senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada sampel daun. Meserat kemudian diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 48 °C sehingga membentuk ekstrak kental metanol dengan berat sebanyak 70,149 gram. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dilanjutkan ke tahap fraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair yang bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya terhadap pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda (Pratiwi *et al.*, 2019). Fraksi yang diperoleh diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 48 °C sehingga membentuk fraksi kental.

## Uji Metabolit Sekunder

Uji metabolit sekunder bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa-

senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak dan semua fraksi (Variyani *et al.*, 2021). Hasil uji metabolit sekunder ditunjukkan pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil uji metabolit sekunder daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

Jenis Senyawa	Reagen	Parameter	Pengamatan				
			E.M	F.n-H	F.D	F.EA	F.M
Alkaloid	<i>Dragendroff</i>	Kecokelatan	+++	+++	++	+	+
Flavonoid	Serium Sulfat	Kuning kecokelatan	++	++	+++	+	+
Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	Hijau kehitaman	++	++	+++	+	-
Terpenoid	<i>Lieberman-burchard</i>	Merah kecokelatan	++	++	+++	+	+
Steroid	<i>Lieberman-burchard</i>	Kehijauan	+	++	+++	+	-
Saponin	Akuades	Busa yang stabil	+++	-	-	-	++

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

Kategori : (+) rendah, (++) sedang, (+++) tinggi, (-) tidak ada senyawa

## Pemisahan dan Pemurnian

Fraksi yang dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu fraksi diklorometana. Pemisahan dan pemurnian pada penelitian ini dilakukan untuk memperoleh senyawa yang lebih sederhana dengan menggunakan teknik kromatografi. Kromatografi vakum cair (KCV) dimulai dengan mencari eluen terbaik sehingga diperoleh eluen terbaik yaitu diklorometana: etil asetat (5:5). Fraksi diklorometana sebanyak 11,838 gram. Fasa diam menggunakan silika G<sub>60</sub> (230-400 mesh) sedangkan fasa gerak menggunakan eluen *n*-heksana 100%, diklorometana 100%, diklorometana: etil asetat (5:5), etil asetat 100%. Kolom dielusikan menggunakan fasa gerak bergradien sehingga dapat memisahkan senyawa-senyawa yang memiliki polaritas berbeda. Hasil pemisahan KCV diperoleh 37 fraksi. 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 2.

**Tabel 2.** Fraksi gabungan hasil KCV

Hasil Gabungan	Fraksi	Massa (mg)
F.D1	1-9	28
F.D2	10-16	148
F.D3*	17-21	317
F.D4	22-29	2113
F.D5	30-37	647

Keterangan: \*=Fraksi yang dipilih untuk dilanjutkan

Berdasarkan hasil KLT fraksi gabungan dengan melihat pola noda dan pemisahannya maka dipilih F.D3. Fraksi F.D3 dianalisis KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan dalam proses KKG. Analisis KLT dilakukan dengan mengelusi sampel menggunakan eluen terbaik yaitu diklorometana : etil asetat (3:7). Fraksi F.D3 sebanyak 317 mg diimpregnasi menggunakan silika gel G<sub>60</sub> (70-230 mesh) proses persiapan fasa diam menggunakan metode basah dimana fasa diam ditambahkan dengan eluen diklorometana : etil asetat (3:7). Hasil pemisahan KKG diperoleh 85 fraksi. 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.

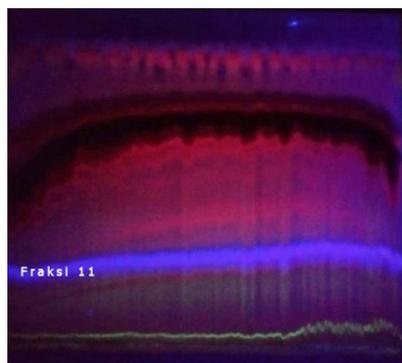
**Tabel 3.** Fraksi gabungan hasil KKG

Hasil Gabungan	Fraksi	Massa (mg)
F.D3 <sub>1</sub>	1-2	22,3
F.D3 <sub>2</sub>	3-4	129,3
F.D3 <sub>3</sub>	5-11	84,5
F.D3 <sub>4</sub> *	12-39	31,1
F.D3 <sub>5</sub>	40-69	30,2
F.D3 <sub>6</sub>	70-79	10
F.D3 <sub>7</sub>	80-85	34,5

Keterangan

\*=Fraksi yang dipilih untuk dilanjutkan

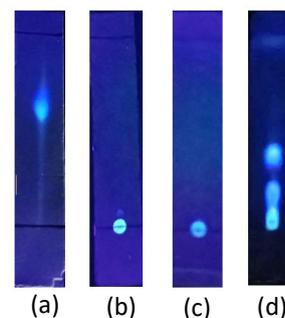
Berdasarkan hasil KLT fraksi gabungan dengan melihat pola noda dan pemisahannya maka dipilih F.D3<sub>4</sub>. F.D3<sub>4</sub> menggunakan perbandingan eluen terbaik yang telah dicari sebelumnya yaitu diklorometana : etil asetat (3:7). Plat KLT preparatif yang digunakan ialah lempeng kaca (ukuran 20x20 cm) hal ini bertujuan agar senyawa yang terelusi dapat diambil dengan mudah. Hasil KLT preparatif dapat dilihat pada Gambar 1.



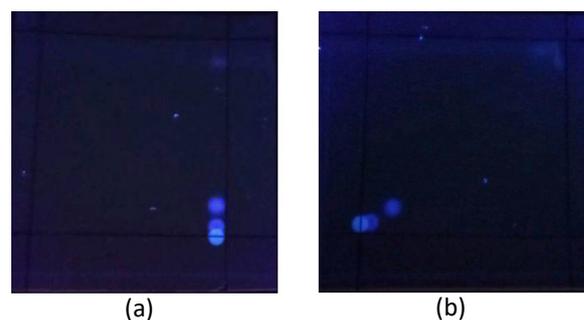
**Gambar 1.** KLT preparatif hasil elusi menggunakan eluen diklorometana: etil asetat (3:7) yang disinari dengan lampu UV 366 nm

Berdasarkan hasil penyinaran lampu UV 366 nm diperoleh 15 fraksi yang selanjutnya dikerok dan dimasukkan ke dalam botol vial yang kemudian di larutkan dengan pelarut metanol. Senyawa yang larut lalu dipisahkan melalui proses dekantasi, filtrat diambil untuk dilanjutkan analisis KLT sedangkan residu merupakan silika dari plat KLT preparatif. Pelarut yang terdapat pada filtrat diuapkan pada suhu

ruangan. Dipilih fraksi nomor 11 dengan noda berwarna biru dengan massa 2,3 mg. Selanjutnya fraksi 11 dilakukan uji kemurnian menggunakan KLT satu dimensi dan dua dimensi. 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%) dan KLT dua dimensi menggunakan eluen diklorometana:etil asetat (3:7) dan diklorometana : etil asetat (7:3). Hasil KLT satu dimensi dan dua dimensi dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



**Gambar 2.** KLT satu dimensi yang dielusi menggunakan eluen (a) metanol (b) *n*-heksana (c) diklorometana (d) etil asetat dengan lampu UV 366 nm



**Gambar 3.** KLT dua dimensi yang dielusi menggunakan (a) elusi pertama dengan eluen diklorometana : etil asetat (3:7) dan (b) elusi kedua dengan eluen diklorometana : etil asetat (7:3) dengan lampu UV 366 nm

Berdasarkan hasil analisis KLT dua dimensi menunjukkan bahwa senyawa

belum murni. Tahap selanjutnya dilakukan analisis dengan spektroskopi  $^1\text{H-NMR}$  dan uji juga sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.

### Uji Sitotoksik Senyawa pada Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D

Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D memberikan gambaran untuk mengetahui aktivitas sitotoksik yaitu nilai  $\text{IC}_{50}$  (*Inhibitory Concentration 50*) yaitu konsentrasi yang dapat menghambat sel kanker payudara sebesar 50% (Dirgantara *et al.*, 2018). Konsentrasi yang digunakan yaitu dari 0-700  $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas sitotoksik yang semakin kuat dapat ditunjukkan dari nilai  $\text{IC}_{50}$  yang semakin rendah. Berikut hasil uji sitotoksik pada ekstrak dan masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 4.

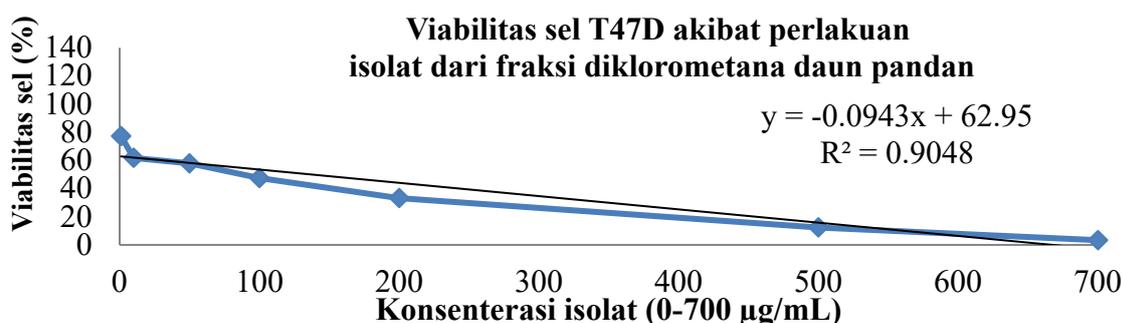
**Tabel 4.** Hasil pengujian sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D

Sampel	Nilai $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Ekstrak metanol	132,81
Fraksi <i>n</i> -heksana	149,16
Fraksi diklorometana	93,23
Fraksi etil asetat	126,29
Fraksi metanol	139,67

Berdasarkan hasil uji sitotoksik dapat diketahui aktivitas ekstrak dan fraksi

terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil penelitian menunjukkan nilai  $\text{IC}_{50}$  yang tergolong dalam sitotoksik moderat (Damasuri *et al.*, 2020). Menurut (Damasuri *et al.*, 2020) senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik tinggi jika  $\text{IC}_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ , sitotoksik moderat jika  $\text{IC}_{50}$  berkisar antara 21-200  $\mu\text{g/mL}$ , sitotoksik lemah jika  $\text{IC}_{50}$  berkisar antara 201-500  $\mu\text{g/mL}$  dan tidak ada aktivitas sitotoksik jika  $\text{IC}_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ . Aktivitas sitotoksik dari ekstrak dan fraksi terhadap sel kanker payudara T47D pada umumnya disebabkan adanya kandungan senyawa aktif. Kuantitas atau jumlah suatu senyawa aktif akan mempengaruhi sifat sitotoksik dari suatu ekstrak maupun fraksi.

Fraksi diklorometana memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  paling rendah yang menunjukkan aktivitas sitotoksiknya paling kuat dibandingkan yang lainnya hal ini diduga karena sinergisitas senyawa lebih baik sehingga fraksi diklorometana dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu pengujian sitotoksik terhadap aktivitas sitotoksik isolat 11 dari fraksi diklorometana terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil uji aktivitas sitotoksik isolat 11 dari fraksi diklorometana terhadap sel kanker payudara T47D dapat dilihat pada Gambar 4.



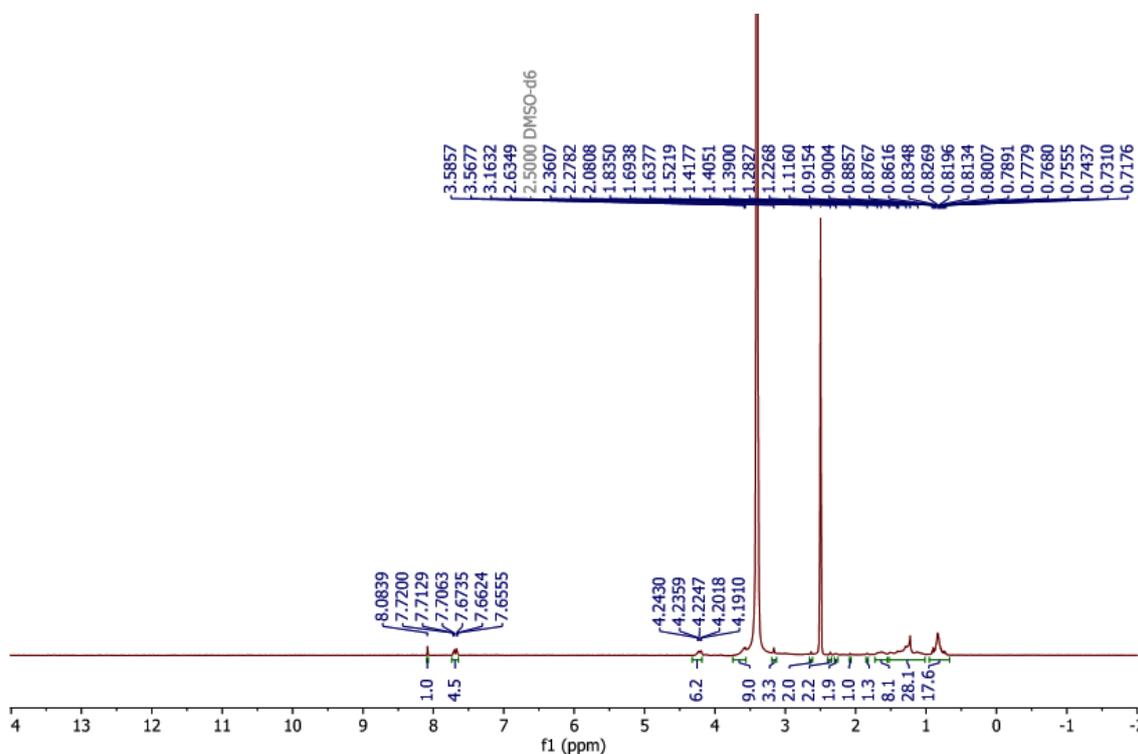
**Gambar 4.** Grafik hasil uji sitotoksik isolat terhadap sel kanker payudara T47D

Berdasarkan grafik hasil uji sitotoksik diatas, dapat diketahui hubungan antara viabilitas sel dan konsentrasi isolat 11. Viabilitas sel menunjukkan kemampuan sel bertahan hidup. Viabilitas sel akan terus menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi isolat 11. Hal ini menunjukkan bahwa kematian sel kanker payudara T47D masih bergantung pada konsentrasi isolat 11. Hasil pengolahan data menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  isolat yaitu sebesar 137,32  $\mu\text{g/mL}$  yang menunjukkan bahwa isolat tersebut tergolong dalam sitotoksik moderat terhadap sel kanker payudara

T47D (Damasuri *et al.*, 2020) sehingga dapat dimanfaatkan sebagai kemoprevensi yang dapat mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker.

### Karakterisasi Struktur Senyawa dari Isolat Fraksi Diklorometana

Karakterisasi isolat 11 sebanyak 0,1 mg dilakukan dengan analisis menggunakan  $^1\text{H-NMR}$ . Berikut gambar spektrum  $^1\text{H-NMR}$  isolat dalam DMSO. Berikut gambar dari spektrum  $^1\text{H-NMR}$  isolat 11.

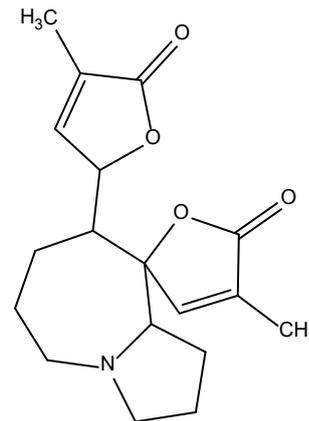


**Gambar 5.** Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  isolat 11 (DMSO, 500 MHz)

Berdasarkan gambar di atas, diinterpretasikan data  $^1\text{H-NMR}$  menghasilkan nilai-nilai geseran kimia  $\delta_{\text{H}}$  8,08 ppm (1H,*s*), 7,68 ppm (5H, *dd*,  $J=3,6$  Hz, 5,6 Hz), 4,22 ppm (6H, *dd*,  $J=3,6$  Hz, 5,4 Hz), 3,57 ppm (9H, *d*,  $J=9$  Hz), 3,16 ppm (3H, *s*), 2,63 ppm (2H, *s*), 2,36 ppm (2H,*s*), 2,27 ppm (2H, *s*), 2,08 ppm (1H, *s*), 1,83 ppm

(1H,*s*), 1,66 ppm (8H, *m*) dan 1,30 (28H,*m*) yang dihasilkan cenderung memiliki kemiripan dengan senyawa yang telah ditemukan oleh (Salim *et al.*, 2004) dari daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) yaitu golongan alkaloid dengan kerangka pirolidin atau 4-metil-8'-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-yl)-

1',2',3',4',6',7',8',9a'-oktahidro-5H-spiro [furan-2,9' pirolo[1,2- $\alpha$ ] azepin]5-one. Penamaan senyawa tersebut dengan bantuan interpretasi dari *software chemdraw*. Berikut struktur yang diprediksikan sebagai isolat 11 yang diperoleh dari (Salim *et al.*, 2004).



**Gambar 6.** Struktur golongan alkaloid dengan kerangka pirolidin

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa aktivitas sitotoksik isolat fraksi diklorometana daun pandan wangi termasuk dalam sitotoksik moderat terhadap sel kanker payudara T47D yang ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 137, 32  $\mu$ g/mL. Karakteristik isolat fraksi diklorometana

berdasarkan analisis data <sup>1</sup>H-NMR diprediksikan sebagai golongan alkaloid dengan kerangka pirolidin. Adapun saran pada penelitian ini perlu dilakukan analisis lebih lanjut terkait struktur isolat 11 seperti <sup>13</sup>C-NMR dan FTIR sehingga dapat memperkuat interpretasi data dari <sup>1</sup>H-NMR.

## 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 <sup>1</sup>H-NMR.

## DAFTAR RUJUKAN

Bakhtra, D. D. A., Fajrina, A., dan Prasetiadi, A. V. 2021. Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Farmasi Higea*. 13(1): 36–40.

Damasuri, A. R., Sholikhah, E. N., dan Mustofa. 2020. Cytotoxicity of ((E)-1-(4-aminophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one) on HeLa cell line. *Indonesian Journal of Pharmacology and Therapy*. Vol 1(2): 54–59.

- Diba, M. F., Salni, dan Subandrate. 2019. Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi *Dendrophloe pentandra* (L) Miq pada Sel T47D Masayu. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. 22(3): 73–78.
- Dirgantara, S., Tanjung, R. H. R., Maury, H. K., dan Meiyanto, E. 2018. Cytotoxic Activity and Phytochemical Analysis of *Breynia cernua* from Papua. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*. 1(1):31-36.
- Hasnaeni, dan Emelda, A. 2020. Sitotoksitas Ekstrak Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara*) pada Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal Sains Dan Informatika*. Vol 4(3): 193–197.
- Hasnita, Y., Harahap, W. A., dan Defrin. 2019. Penelitian Pengaruh Faktor Risiko Hormonal pada Pasien Kanker Payudara di RSUD. Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Vol 8(3): 522–528.
- Padmaharish, V. dan Lakshmi, T. 2017. Anticancer activities of medicinal plants –An update. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol 9(4): 432–440.
- Paratiwi, A. 2021. Faktor Risiko Yang Berhubungan Dengan Kejadian Kanker Payudara Wanita Di RSUD Dr. Achmad Mochtar Bukittinggi. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Mulawarman*. Vol 3(2): 93–104.
- Pratiwi, D. I., Syarif, R. A., Waris, R., dan Faradiba, F. 2019. Isolasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol 6(1): 340–346.
- Ridjal, A. T. M., Kasma, A. Y. dan M, R. 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) Terhadap Mortalitas Larva *Aedes* sp dan *Anopheles*. *Jurnal Vektor Penyakit*. Vol 13(2): 107–114.
- Salim, A. A., Garson, M. J. dan Craik, D. J. 2004. New Alkaloids from *Pandanus amaryllifolius*. *Journal of Natural Products*. Vol 67(1): 54–57.
- Saputra, T. R., Ngatin, A. dan Sarungu, Y. T. 2018. Penggunaan metode ekstraksi maserasi dan partisi pada tumbuhan cocor bebek (*kalanchoe pinnata*) dengan kepolaran berbeda. *Fullerene Journal of Chemistry*. Vol 3(1):1-4.
- Variani, Y. A., Setyaningrum, E., Handayani, K., Nukmal, N. dan Arifiyanto, A. 2021. Analisis Senyawa Bioaktif Ekstrak Metabolit Sekunder *Serratia marcescens* strain MBC1. *Indonesian Journal of Chemical Analysis*. Vol 4(2): 64–71.
- Widiyanto, R. M., Putri, J. A., Rahmi, Y., Proborini, W. D. dan Utomo, B. 2020. Antioxidant and Cytotoxic In Vitro Activities of Ananas comosus Methanol Extract in T-47D Breast Cancer Cell Line. *Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksitas In Vitro Ekstrak Metanol-Widiyanto, Dkk Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. Vol 8(2): 95–103.
- Wirasisya, D. G., Juliantoni, Y. dan Hajrin, W. 2018. Pengaruh Dua Metode Pengeringan Pada Aktivitas Antibakteri *Ashitaba* (*Angelica keiskei*) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*. Vol 4(1): 18–25.