

## AKTIVITAS ANTIKANKER SENYAWA PTEROKARPAN DARI KULIT BATANG AKA KALESI (*SPATHOLOBUS FERRUGINEUS*)

Ratih Dewi Saputri<sup>1</sup>, Muhammad Fajar Aldin<sup>2</sup>, Tjitjik Srie Tjahjandarie<sup>2</sup>, Eva Marlina<sup>3</sup> and Mulyadi Tanjung<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Kimia Organik, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Indonesia

<sup>3</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Indonesia

\*Corresponding Author: [mulyadi-t@fst.unair.ac.id](mailto:mulyadi-t@fst.unair.ac.id)

Submitted : 11 Juni 2020

Accepted : 23 Maret 2023

Publish : 25 Mei 2023

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa pterokarpan dari kulit batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll. & Moritzi) Benth dan menguji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7. Dua senyawa turunan pterokarpan, variabelin (**1**), and medikarpin (**2**) telah diisolasi dari kulit batang *S. ferrugineus*. Penentuan struktur kimia kedua senyawa pterokarpan ditetapkan berdasarkan analisis spektrum UV, IR, 1D dan 2D NMR. Uji aktivitas antikanker senyawa **1–2** terhadap sel MCF-7 memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> 2,73 dan 14,36 µg/mL.

**Kata kunci** : *Spatholobus ferrugineus*, pterokarpan, antikanker, sel MCF-7.

### ABSTRACT

This study aims to isolate pterocarpan compounds from the stem bark of *Spatholobus ferrugineus* (Zoll. & Moritzi) Benth and test its anticancer activity against breast cancer cells MCF-7. Two pterocarpan derivatives, variabelin (**1**), and medicarpin (**2**) were isolated from the stem bark of *S. ferrugineus*. The structures of both pterocarpan derivatives were determined based on UV, IR, 1D and 2D NMR spectroscopic analysis. Anticancer activity of compounds **1** and **2** against breast cancer cells MCF-7 showed IC<sub>50</sub> values of 2.73 and 14.36 µg /mL, respectively.

**Keywords** : *Spatholobus ferrugineus*, pterocarpan, anticancer, MCF-7 cells.



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

## PENDAHULUAN

*Spatholobus* merupakan salah satu genus dari famili Fabaceae yang banyak ditemukan di daerah tropis Asia Tenggara. *Spatholobus* menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti golongan 2-arilbenzofuran, flavonoid, isoflavonoid, pterokarpan dan steroid. Senyawa metabolit sekunder tersebut memperlihatkan aktivitas anticancer, antimikroba dan antiasetilkolesterase [1-4]. Senyawa pterokarpan merupakan senyawa dari siklisasi intramolekular senyawa golongan isoflavonoid. Senyawa metabolit sekunder *Spatholobus* memperlihatkan aktivitas biologis sebagai antimikroba [2], antikanker [1] dan antioksidan [5]. *Spatholobus ferrugineus* merupakan salah satu tumbuhan endemik Kepulauan Kalimantan. *S. ferrugineus* tumbuh dengan melilitkan batang ke tumbuhan yang lebih besar dan banyak ditemukan di daerah berair. Data fitokimia *S. ferrugineus* belum ada laporan publikasi ilmiahnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa pterokarpan yang terdapat dalam kulit batang *S. ferrugineus* serta aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7 juga akan dilaporkan.

## METODE PENELITIAN

### Prosedur umum

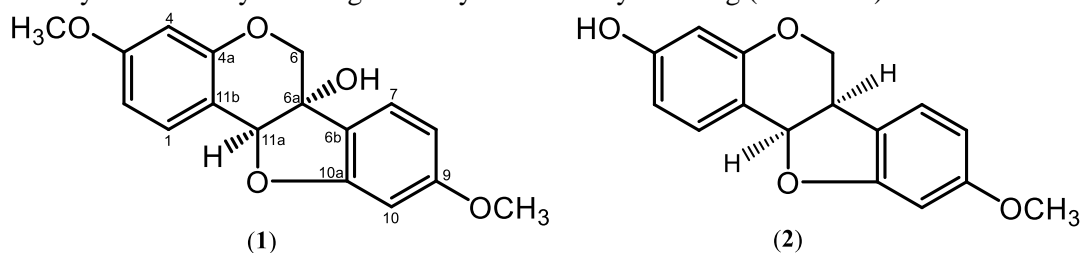
Pelat KLT Kieselgel 60 GF<sub>254</sub> 0.25 mm (Merck) bertujuan untuk menentukan pemisahan spot senyawa. Silika gel 60 digunakan sebagai fasa diam untuk kromatografi kolom gravitasi. Silika gel 60 PF<sub>254</sub> merupakan fasa diam untuk kromatografi radial. Serapan maksimum senyawa diukur dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800. Gugus fungsi senyawa ditetapkan dengan spektrofotometer IR Shimadzu. Analisis spektrum NMR menggunakan NMR JEOL ECA 400 yang beroperasi pada 400 MHz untuk <sup>1</sup>H-NMR) dan 100 MHz untuk <sup>13</sup>C-NMR. Uji aktivitas antikanker dilakukan terhadap sel kanker payudara MCF-7 menggunakan metode MTT.

### Sampel penelitian

Kulit batang *S. ferrugineus* diperoleh dari di sekitar Kawasan Hutan Lindung Samboja, Kalimantan Timur, Samarinda. Identifikasi *S. ferrugineus* ditetapkan di Herbarium Bogoriensis, LIPI Biologi, Cibinong, Bogor, Jawa Barat.

### Ekstraksi dan isolasi alkaloid furokuinolin

Ekstraksi senyawa pterokarpan pada serbuk kulit batang *S. ferrugineus* sebanyak 2,2 kg menggunakan metanol dengan cara maserasi pada suhu kamar selama tiga hari. Penguapan pelarut menggunakan alat penguap bertekanan rendah untuk menghasilkan ekstrak kental metanol. Pemisahan senyawa nonpolar yang terdapat dalam ekstrak metanol diekstraksi dengan *n*-heksana menggunakan cara partisi. Ekstrak metanol, selanjutnya ditambahkan air sebanyak 10% v/v dan dipartisi dengan etil asetat untuk menghasilkan ekstrak kental etil asetat sebanyak 14 gr. Fraksinasi ekstrak etil asetat (14 gr) dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan campuran *n*-heksana:etil asetat (9:1 sampai 1:1) menghasilkan empat fraksi utama yakni fraksi A-D. Pemisahan dan pemurnian fraksi D (1,2 g) dengan kromatografi radial dengan campuran *n*-heksana:CHCl<sub>3</sub> (1:1 dan 3:7) dan CHCl<sub>3</sub>:etil asetat (9:1) menghasilkan senyawa **1** sebanyak 18 mg dan senyawa **2** sebanyak 23 mg (Gambar 1).



Gambar 1 Senyawa pterokarpan *S. ferrugineus*

### Uji aktivitas antikanker

Uji aktivitas antikanker pterokarpan terhadap sel kanker payudara MCF-7 menggunakan metode MTT. Sel MCF-7 yang sebelumnya diinkubasi ditambahkan senyawa uji dalam berbagai konsentrasi (1; 10; 25; 50; 100 µg/mL). Jumlah sel yang hidup setelah penambahan senyawa uji ditentukan berdasarkan perubahan warna MTT (ungu) menjadi formazan (kuning) dengan menggunakan *micro plate reader* pada panjang gelombang  $\lambda$  570 nm. Nilai IC<sub>50</sub> senyawa ditetapkan berdasarkan analisis statistik menggunakan program SPSS [6-7].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa variabelin (**1**) berwujud padatan kuning dan memperlihatkan serapan maksimum dalam MeOH pada  $\lambda_{maks}$  (log  $\epsilon$ ) : 231 (4,40); 267 (3,89); 281sh (4,32); 286 nm (4,36) yang merupakan ciri khas senyawa turunan pterokarpan pada spektrum UV [8]. Spektrum IR senyawa **1** dalam pelet KBr memperlihatkan pita serapan pada

bilangan gelombang  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1601-1457 (vibrasi ulur C=C aromatik) dan 1129 (vibrasi ulur C-O-C eter). Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  senyawa **1** dalam  $\text{CDCl}_3$  terdiri dari sepasang sinyal proton aromatik sistem ABX, satu sinyal proton oksimetilen, satu sinyal proton oksimetin dan dua sinyal proton metoksi. Sinyal proton aromatik sistem ABX yakni sinyal proton pada  $\delta_{\text{H}}$  7,36 (1H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-1),  $\delta_{\text{H}}$  6,63 (1H, *dd*,  $J = 8,6; 2,5$  Hz, H-2) dan  $\delta_{\text{H}}$  6,41 (1H, *d*,  $J = 2,5$  Hz, H-4). Sinyal proton aromatik sistem ABX yang lain di cincin D terdiri dari sinyal proton pada  $\delta_{\text{H}}$  7,21 (1H, *d*,  $J = 8,3$  Hz, H-7),  $\delta_{\text{H}}$  6,48 (1H, *dd*,  $J = 8,3; 2,2$  Hz, H-8) dan  $\delta_{\text{H}}$  6,36 (1H, *d*,  $J = 2,2$  Hz, H-10) [9]. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  senyawa **1** juga memperlihatkan sinyal proton oksimetilen yang terpisah pada  $\delta_{\text{H}}$  3,99 (1H, *d*,  $J = 11,6$  Hz, H-6<sub>ax</sub>),  $\delta_{\text{H}}$  4,17 (1H, *d*,  $J = 11,6$  Hz, H-6<sub>eq</sub>), satu sinyal oksimetin pada  $\delta_{\text{H}}$  5,26 (1H, *s*, H-11a) dan dua sinyal proton metoksi pada  $\delta_{\text{H}}$  3,74 (3H, *s*, 3-OCH<sub>3</sub>) dan  $\delta_{\text{H}}$  3,73 (3H, *s*, 9-OCH<sub>3</sub>). Spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$  senyawa **1** memperlihatkan 17 sinyal karbon yang terpisah secara sempurna. Analisis spektrum HMBC. sinyal proton aromatik pada  $\delta_{\text{H}}$  7,36 (H-1) memperlihatkan korelasi dengan dua karbon oksiaril pada C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  160,8) dan C-4a ( $\delta_{\text{C}}$  155,7) serta satu oksimetin pada C-11a ( $\delta_{\text{C}}$  84,9). Sinyal proton metoksi pada  $\delta_{\text{H}}$  3,74 (3-OCH<sub>3</sub>) berkorelasi dengan C-3 yang menunjukkan adanya gugus metoksi di C-3. Sinyal proton oksimetilen pada  $\delta_{\text{H}}$  3,99 (H-6<sub>ax</sub>) dan  $\delta_{\text{H}}$  4,17 (H-6<sub>eq</sub>) memperlihatkan korelasi dengan C-4a, oksi karbon (C-6a,  $\delta_{\text{C}}$  76,9), karbon kuaterner pada C-6b ( $\delta_{\text{C}}$  120,2) dan C-11a. Korelasi ini menunjukkan adanya satu gugus alkohol tersier yang terikat pada kerangka pterokarpan. Sinyal proton aromatik pada  $\delta_{\text{H}}$  6,26 (H-10) berkorelasi dengan C-6b, karbon metin aromatik pada C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  107,6) dan karbon oksimetin C-10a ( $\delta_{\text{C}}$  161,0). Hasil korelasi ini menunjukkan gugus metoksi terikat di C-9. Berdasarkan analisis 1D dan 2D NMR (Tabel 1) maka sstruktur senyawa **1** adalah 6a-hidroksi-3,9-pterokarpan atau dikenal dengan nama variabelin [10]. Korelasi antara sinyal proton dengan karbon yang mendukung struktur senyawa variabelin pada spektrum HMBC dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2.

**Tabel 1.** Data spektrum NMR senyawa variabelin (1) dalam  $\text{CDCl}_3$ .

No.C	$\delta_{\text{H}}$ (mult, <i>J</i> dalam Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC
1	7,36 ( <i>d</i> , 8,6)	131,9	C-3, C-4a, C-11a
2	6,63 ( <i>dd</i> , 8,6; 2,5)	109,7	C-4, C-11b
3	-	160,8	-
4	6,41( <i>d</i> , 2,5)	101,6	C-2, C-11b
4a	-	155,7	-
6	3,99 ( <i>d</i> , 11,6) 4,17 ( <i>d</i> , 11,5)	69,7	C-4a, C-6a, C-6b, C-11a
6a	-	76,7	-
6b	-	120,2	-
7	7,21 ( <i>d</i> , 8,3)	123,9	C-6a, C-10a
8	6,48 ( <i>dd</i> , 8,3; 2,2)	107,6	C-6b, C-10
9	-	162,4	-
10	6,36 ( <i>d</i> , 2,2)	97,0	C-6b, C-8, C-10a
10a	-	161,0	-
11a	5,26 ( <i>s</i> )	84,9	C-1, C-4a, C-6a, C-11b
11b	-	112,4	-
3-OCH <sub>3</sub>	3,74 ( <i>s</i> )	55,4	C-3
9-OCH <sub>3</sub>	3,73 ( <i>s</i> )	55,5	C-9

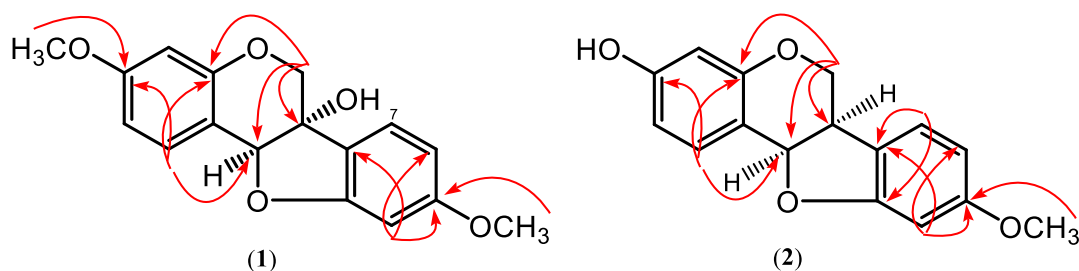
Senyawa medikarpin (**2**) berwujud padatan kuning kemerahan dan mempunyai titik leleh sebesar 128-129 °C. Spektrum UV (MeOH) memperlihatkan  $\lambda_{\text{maks}}$  ( $\log \epsilon$ ): 230 (4,06); 282 sh (4,00); dan 287 nm (4,03) yang mirip dengan senyawa 1. Spektrum IR dalam KBr memperlihatkan  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3392 (vibrasi ulur hidroksi), 1599-1545 (vibrasi ulur C=C aromatik) dan 1145 (vibrasi ulur C-O-C eter). Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  senyawa **2** dalam  $\text{CDCl}_3$  terdiri dari sepasang sinyal proton aromatik sistem ABX, satu sinyal proton oksimetilen, satu sinyal proton oksimetin, satu

sinyal proton metin dan satu sinyal proton metoksi. Analisis spektrum  $^1\text{H-NMR}$  memperlihatkan sinyal proton oksimetilen yang terpisah pada  $\delta_{\text{H}}$  3,63 (1H, *t*,  $J = 10,8$  Hz, H-6<sub>ax</sub>) dan  $\delta_{\text{H}}$  4,23 (1H, *dd*,  $J = 10,9$  dan 4,9 Hz, H-6<sub>eq</sub>), satu sinyal proton metin pada  $\delta_{\text{H}}$  3,52 (1H, *m*, H-6a) dan satu sinyal proton oksimetin pada  $\delta_{\text{H}}$  5,50 (1H,  $J = 6,8$  Hz, H-11a) yang merupakan ciri khas senyawa pterokarpan di H-6, H-6a dan H-11a [11]. Sinyal proton aromatik sistem ABX di cincin A terlihat pada  $\delta_{\text{H}}$  7,37 (1H, *d*,  $J = 8,4$  Hz, H-1);  $\delta_{\text{H}}$  6,54 (1H, *dd*,  $J = 8,4$  dan 2,4 Hz, H-2) dan  $\delta_{\text{H}}$  6,41 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz, H-4). Sinyal proton aromatik sistem ABX yang lain di cincin D terlihat pada  $\delta_{\text{H}}$  7,13 (1H, *d*,  $J = 8,8$  Hz, H-7);  $\delta_{\text{H}}$  6,46 (1H, *dd*,  $J = 8,8$  dan 2,4 Hz, H-8) dan  $\delta_{\text{H}}$  6,46 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz, H-10). Senyawa **2** memperlihatkan adanya satu gugus metoksi pada  $\delta_{\text{H}}$  3,77 (3H, *s*, 9-OCH<sub>3</sub>). Spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$  memperlihatkan 16 sinyal karbon yang terpisah sempurna.

**Tabel 2** Data spectrum NMR senyawa medikarpin (**2**) dalam CDCl<sub>3</sub>

No.C	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J$ dalam Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC
1	7,37 ( <i>d</i> , 8,4)	132,2	C-3, C-4a, C-11a
2	6,54 ( <i>dd</i> , 8,4; 2,4)	110,0	C-3; C-4; C-11b
3	-	157,2	-
4	7,37( <i>d</i> , 8,4)	132,2	C-2; C-4a
4a	-	156,5	-
6	4,23 ( <i>dd</i> , 10,9; 4,9) 3,63 ( <i>t</i> , 10,9)	66,5	C-4a; C-6a; C-11a
6a	3,52 ( <i>m</i> )	39,4	C-6; C-6b, C-10a
6b	-	119,2	-
7	7,13 ( <i>d</i> , 8,8)	124,9	C-6a; C-10a
8	6,47 ( <i>dd</i> , 8,8; 2,4)	106,6	C-6b; C-10
9	-	161,0	-
10	6,46 ( <i>d</i> , 2,4)	96,9	C-6b; C-8; C-9
10a	-	160,5	-
11a	5,50 ( <i>d</i> , 6,8)	78,7	C-1; C-4a. C-6; C-11b
11b	-	112,4	-
9-OCH <sub>3</sub>	3,77 ( <i>s</i> )	55,6	C-9

Sinyal karbon senyawa **2** terdiri dari satu karbon metil dari gugus metoksi ( $\delta_{\text{C}}$  55,6); delapan sinyal karbon metin [ $\delta_{\text{C}}$  132,2; 110,0; 103,7; 66,5; 124,9; 106,6; 96,9; dan 78,7], satu karbon metilen ( $\delta_{\text{C}}$  39,4), dan enam karbon kuarterner [ $\delta_{\text{C}}$  157,2; 156,5; 119,2; 161,0; 160,5; dan 112,4]. Kedudukan gugus hidroksi dan metoksi ditetapkan berdasarkan spektrum HMQC dan HMBC. Analisis spektrum HMBC, sinyal proton aromatik pada  $\delta_{\text{H}}$  7,37 (H-1) memperlihatkan korelasi dengan dua karbon oksiaril [C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  157,2) dan C-4a ( $\delta_{\text{C}}$  156,5) serta satu oksimetin pada C-11a ( $\delta_{\text{C}}$  78,7). Sinyal proton oksimetilen pada 3,63 (H-6<sub>ax</sub>) dan  $\delta_{\text{H}}$  4,23 (H-6<sub>eq</sub>) memperlihatkan korelasi dengan C-4a, karbon metin (C-6a,  $\delta_{\text{C}}$  39,4), dan C-11a. Korelasi ini menunjukkan adanya satu gugus alkohol tersier yang terikat pada kerangka pterokarpan. Sinyal proton aromatik pada  $\delta_{\text{H}}$  6,46 (H-10) berkorelasi dengan karbon kuarterner aromatik (C-6b,  $\delta_{\text{C}}$  119,2) karbon metin aromatik pada (C-8,  $\delta_{\text{C}}$  106,6) dan karbon oksiaril (C-9,  $\delta_{\text{C}}$  161,0). Sinyal proton metoksi pada  $\delta_{\text{H}}$  3,77 (9-OCH<sub>3</sub>) berkorelasi dengan C-9 yang menunjukkan adanya gugus metoksi di C-9. Berdasarkan spektrum 1D dan 2D NMR (Tabel 2) maka sstruktur senyawa **2** adalah 3,6a-dihidroksi-9-metoksi pterokarpan atau dikenal dengan nama medikarpin [11]. Korelasi antarsinyal proton dengan karbon yang mendukung struktur senyawa **2** pada spektrum HMBC dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.



**Gambar 2.** Spektrum HMBC yang penting pada senyawa **1-2**

Uji aktivitas senyawa variabelin (**1**) dan medikarpin (**2**) terhadap sel kanker payudara MCF-7 berdasarkan metode MTT memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 2.73 and 14.36 µg/mL. Senyawa variabelin (**1**) mempunyai aktivitas moderat sedangkan senyawa medikarpin (**2**) dikategorikan lemah [12]. Adanya dua gugus metoksi di C-3 dan C-9 dan satu gugus hidroksi di C-6a pada senyawa **1** meningkatkan aktivitas antikanker dibanding dua metoksi yang terikat di C-3 dan C-9 pada senyawa **2** [8].

## KESIMPULAN

Dua senyawa pterokarpan, variabelin (**1**) dan medikarpin (**2**) telah diisolasi dari kulit batang *S. ferrugineus*. Struktur kedua senyawa ditetapkan berdasarkan analisis UV, IR, 1D NMR dan 2D NMR. Uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7, senyawa variabelin (**1**) menunjukkan aktivitas antikanker moderat sedangkan medikarpin (**2**) dikategorikan lemah.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Peng F., Meng C-W., Zhou Q-M., Chen J-P., Xiong L., (2016), Cytotoxic evaluation against breast cancer of isoliquiritigenin analogues from *Spatholobus suberectus* and their synthetic derivatives, *J. Nat. Prod.* 79, 248-251.
- [2] Promchai T., Janhom P., Maneerat W., Rattanajak R., Kamchonwongpaisan S., Pyne S.G., Limtharakul T., (2020), Antibacterial and cytotoxic activities of phenolic constituents from the stem extracts of *Spatholobus parviflorus*, *Nat. Prod. Res.* 10, 1394-1398.
- [3] Ren-Neng T., Xiao-Bo Q., Shu-Hong G., Ping-Ping X., Yang-Yang S., De-An G., (2012), Chemical constituents of *Spatholobus suberectus*, *Chinese J. Nat. Med.* 10, 32-35
- [4] Sichaem J., Ruksilp T., Sawasdee P., Khumkratok S., Tip-pyang T., (2018). Chemical constituents of the stems of *Spatholobus parviflorus* and their cholinesterase inhibitory activity. *Chem Nat Compd.* 54,356-357.
- [5] Mohibbullah M., Lee Y.J., Park H-J., Kim S.K., Kang J-S., Kim A., Hong Y-K., Choi, J-S., (2017). The medicinal herb *Spatholobus suberectus* with promising in vitro antioxidant and anti-inflammatory potentials and its phytochemical characterization by RP-HPLC analysis. *J Fod Biochem.* 1-8.
- [6] Aldin M.F., Saputri R.D., Tjahjandarie T.S., Tanjung M., (2019), Aktivitas antikankersenyawa stilbenoid dari daun *Macaranga aleuritoides*, *Pharm. Med. J.* 2, 1-7.
- [7] Saputri R.D., Tjahjandarie T.S., Tanjung M., (2018). Meliglabrin, a new flavonol derivative from the leaves of *Melicope glabra* (Blume) T.G. Hartley. *Nat Prod Sci.* 24,155-158.
- [8] Tjahjandarie T.S., Tanjung M., (2015). Phenolic compounds from the stem bark of *Erythrina orientalis* and their cytotoxic and antioxidant activities, *Der. Pharm. Chem.* 7(1), 206-211.
- [9] Tanjung M., Tjahjandarie, T.S., (2014), Dihydroflavonols from the leaves of *Macaranga recurvata* and their cytotoxic and antioxidant activities,, *J Chem Pharm Res.* 6(7), 90-95.
- [10] Liu Y., Zhang S., Jung J.H., Xu T, (2006), Variabilin, a chemotaxonomic marker for the family Ircinidae, *Zeitschrift für Naturforschung*, 62(7), 473-476.
- [11] Abdel-Kader, M.S., (2004), Two isoflavonoid glucoside derivatives from *Ononis serrata* growing in Egypt, *Nat. Prod. Sci.*, 10(6), 321-324.
- [12] Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., Saputri, R.D., Nadar, P.B., Aldin, M.F., Marliana, E., and Permadi, A. (2019). Flavestins K, An isoprenylated stilbene from the leaves of *Macaranga recurvata* Gage, *Nat. Prod. Sci.* 25(3), 244-247.