

POTENSI TUMBUHAN MANGGIS HUTAN (*Garcinia bancana* Miq.) SEBAGAI SUMBER SENYAWA ANTIKANKER

Muharni^{1*}, Dachriyanus², Husein H. Bahti³, and Supriyatna⁴

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

³Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

⁴Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

*Corresponding author: tel: 0711-440911, email: muharnimyd@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi dua senyawa sitotoksik dari kulit batang tumbuhan manggis hutan (*Garcinia bancana*). Isolasi senyawa murni dilakukan dengan metode ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat dan dilanjutkan dengan metode kromatografi sehingga didapatkan senyawa murni. Untuk penentuan struktur molekul dari kedua senyawa hasil isolasi dilakukan analisis spektroskopi meliputi spektroskopi UV, IR dan NMR 1D dan 2D serta membandingkan dengan data yang pernah dilaporkan. Berdasarkan analisis spektroskopi senyawa hasil isolasi disimpulkan adalah 1,5-dihidroksi-3,6-dimetoksi-2,7-di-(3-metilbut-2-enil)-santon (1) dan isosantosimol (2). Aktivitas sitotoksik dari kedua senyawa ini juga telah ditentukan secara invitro dengan menggunakan metode SRB dengan sel kanker payudara manusia T47D. Hasil uji menunjukkan kedua senyawa termasuk aktif antikanker dengan IC_{50} masing-masing 10,1 dan 6,6 $\mu g/mL$. Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan manggis hutan potensial sebagai sumber senyawa antikanker.

Kata Kunci: *Garcinia bancana*, 1,5-dihidroksi-3,6-dimetoksi-2,7-di-(3-metilbut-2-enil)-santon isosantosimol, SRB, T47D

PENDAHULUAN

Tumbuhan merupakan sumber potensial untuk menemukan senyawa-senyawa bioaktif baru. Khususnya tumbuhan yang telah digunakan secara turun temurun sebagai obat tradisional perlu dikaji secara ilmiah khasiat dan kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut sehingga penggunaannya dapat dipertanggung jawabkan. Salah satu tumbuhan yang telah digunakan secara tradisional adalah tumbuhan manggis hutan (*Garcinia bancana*). Beberapa nama daerah di Indonesia untuk tumbuhan *G. bancana* ini diantaranya katuri, manggis rimbu, manggis

hutan (Sumatera Barat), kelabang (Bangka), dan selapan (Lampung) [1].

Dari penelusuran pustaka diketahui bahwa dari bagian daun *G. bancana* telah ditemukan dua senyawa golongan flavonoid yaitu kuercetin 3-O- α -L-ramnosida (1), kaemferol 3-O- α -L-ramnosida (2). Pada bagian ranting ditemukan enam senyawa yang terdiri dari garsinol (3) dan isogarsinol (4) 1,1'-bifenil-2-(3-metilbut-2-enil)-3-metoksi-4,4',5,6-tetraol (5), 8-hidroksi-6-metoksi-3-n-pentilisokumarin (6), lupeol (7), dan stigmasterol (8) [2]. Dari delapan senyawa yang dilaporkan dari bagian daun dan ranting *G. bancana* tiga diantaranya menunjukkan aktif antibakteri yaitu senyawa (3), (4), dan (5). Ketiga senyawa

ini diuji terhadap *Staphylococcus aureus* dan memberikan nilai konsentrasi inhibisi minimum (MIC) berturut-turut 32; 16; dan 64 µg/mL. Sementara itu belum ada laporan kandungan kimia dan aktivitas biologi dari bagian kulit batangnya.

Uji pendahuluan aktivitas sitotoksik, terhadap ekstrak metanol kulit batang *G. nigrolineata* dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), menunjukkan aktivitas sitotoksik. Berdasarkan studi pustaka dan uji pendahuluan yang telah dilakukan, terdapat peluang untuk ditemukannya senyawa yang bersifat sitotoksik dari kulit batang *G. bancana*.

PROSEDUR PERCOBAAN

Alat dan Bahan Penelitian

Di dalam penelitian ini dipergunakan berbagai alat gelas yang umum dipakai Laboratorium Kimia Organik serta alat penunjang lainnya seperti peralatan destilasi, *rotary evaporator*, lampu UV λ_{maks} 254, kolom kromatografi, *Fisher-John Melting Point Apparatus*, Spektrofotometer UV (Beckman DU-700), IR (Shimadzu FTIR 8400), ^{13}C NMR, ^1H NMR (JEOL JNMECA-500), Spektrometer Massa (Mariner Biospektrometry), dan peralatan uji sitotoksik.

Bahan penelitian berupa sampel tumbuhan *G. bancana* dikumpulkan dari Kebun Raya Bogor, Jawa Barat. Sampel telah diidentifikasi di Herbarium Bogoriensis Bogor, Jawa Barat dan telah disimpan di herbarium tersebut.

Bahan kimia yang dipergunakan terdiri atas berbagai pelarut organik antara lain: *n*-heksan, etil asetat, diklorometan, aseton, kloroform, metanol, silika gel Merck 60

GF₂₅₄ (230-400 mesh), 60 G₂₅₄ (70-230 mesh), plat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ 0,25 mm, dimetilsulfoksida (DMSO), sulforhodamin B (SRB), asam trikloroasetat (TCA), asam asetat, basa tris [tris-(hidroksimetil) aminometan, *phosphate-buffered saline* (PBS), tripsin-EDTA (etilendiamin tetraasetat), dan media Dubelcco's *modified eagle medium* (DMEM).

Persiapan sampel

Kulit batang *G. bancana* segar sebanyak 5 kg dibersihkan, kemudian dipotong-potong tipis. Selanjutnya dikeringkan pada suhu kamar diruangan terbuka yang tidak terkena langsung cahaya matahari sampai berat sampel konstan. Dari proses pengeringan didapatkan sampel kering kulit batang *G. bancana* (3 kg). Sampel kering tersebut selanjutnya digiling halus sampai kehalusan 100 mesh.

Ekstraksi kulit batang *G. bancana*

Sebanyak 3 kg serbuk kulit batang kering *G. bancana* diekstraksi secara maserasi berturut-turut dengan *n*-heksan, etil asetat dan metanol masing-masing diulangi sebanyak 3 x 5 L (@ 3 hari. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Masing-masing ekstrak diuji toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. dengan metoda *Brine Shrimps Lethality Test* (BSLT), selanjutnya ekstrak yang paling aktif dipisahkan dan dimurnikan dengan teknik kromatografi. Isolat murni yang diperoleh diuji sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara manusia T47D.

Pemisahan dan pemurnian Senyawa sitotoksik dari ekstrak MeOH kulit batang *G. Bancana*

Ekstrak MeOH (30 g), dianalisis dengan KLT menggunakan pelarut dengan berbagai eluen untuk mencari eluen yang tepat untuk kolom vakum cair (KVC). Sampel disiapkan secara preadsorpsi, dimasukkan ke dalam kolom (adsorben silika gel 230-400 Mesh), secara merata dan dilusi menggunakan eluen secara bergradien (*n*-heksan, campuran *n*-heksan-EtOAc = 9:1~6:4, dan EtOAc). Hasil kromatografi kolom ditampung dengan botol (volume kira-kira 200 mL) dan dianalisis dengan KLT dengan penampak noda lampu UV. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi, dipisahkan, dan diperoleh lima fraksi gabungan F1-F5. Fraksi dengan pola noda yang baik dan berfluorisensi selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan.

Pemisahan fraksi F2 dilanjutkan menggunakan kromatografi kolom terbuka (KKT) dengan fasa diam silika gel (70-230 Mesh), eluen bergradien (*n*-heksan, campuran *n*-heksan-EtOAc = 9:1~7:3, dan EtOAc). Hasil kromatografi ditampung dengan vial (volume kira-kira 10 mL) dan di KLT. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi, dan dari hasil penggabungan didapatkan empat fraksi F2.1-F2.4. Fraksi F2.2 dimurnikan dengan teknik KKG, didapatkan empat fraksi gabungan F2.2.1-F2.2.4. Dari F2.2.2 didapatkan senyawa **1** (18 mg). Fraksi F2.1 juga dimurnikan dengan teknik KKT, didapatkan tiga fraksi F2.1.1-F2.1.3 dan dari fraksi F2.1.2 didapatkan senyawa **2** (12 mg). Selanjutnya fraksi F5 juga dipisahkan menggunakan KKT dengan eluen

bergradien (*n*-heksan-EtOAc = 5:5~1:9, EtOAc dan EtOAc-MeOH = 9:1 dan 8:2), ditampung dengan vial, dan di KLT. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi dan didapatkan lima fraksi F5.1-F5.5. Fraksi F5.5 dimurnikan dengan teknik rekristalisasi menghasilkan senyawa **3** (15 mg).

Karakterisasi dan penentuan struktur senyawa hasil isolasi

Terhadap senyawa murni dilakukan penentuan sifat fisika meliputi titik leleh (t.l) dan putaran optik serta penentuan struktur molekul dengan metode spektroskopi meliputi UV, IR, NMR 1D (¹H NMR, ¹³C NMR, dan DEPT), dan NMR 2D (HMQC, HMBC, dan COSY), serta MS.

Uji aktivitas sitotoksik terhadap senyawa hasil isolasi

Terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan pengujian aktivitas sitotoksik menggunakan sel kanker payudara manusia T47D dengan metode SRB [3]. Sampel uji (2 mg) dilarutkan dalam 2 mL DMSO sehingga diperoleh larutan induk 1000 µg/mL. Sel kanker yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel kanker payudara manusia T47D yang dikultur dalam DMEM dengan penambahan PBS 10%, sel tersebut dikultur pada suhu 37°C dengan kelembaban 100% dan kandungan CO₂ 5% selama 3 hari sampai sel kultur tersebut mengalami konfluen 60 – 70%. Setelah itu media lama dibuang, diganti dengan media baru dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Sel kultur kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 1 - 2 kali dan disuspensikan menggunakan larutan tripsin-EDTA. Sel yang telah tersuspensi ditambah media baru.

Sel yang telah siap uji sebanyak 190 μL ditambah dengan sampel uji sebanyak 10 μL (variasi konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,15; 0,63; 0,31; dan 0,16 $\mu\text{g/mL}$). Selanjutnya diinkubasi selama 3 - 4 hari pada suhu 37°C. Setelah itu sel difiksasi dengan TCA 50%. Pewarnaan dilakukan menggunakan SRB 0,4% dalam asam asetat 1% selama 30 menit. Warna SRB yang tidak terikat dibilas dengan asam asetat 1% sedangkan yang terikat diekstraksi dengan basa tris (pH 10). Intensitas warna yang dihasilkan diukur dengan menggunakan ELISA *plate reader* pada λ_{maks} 515 nm. Nilai IC_{50} dihitung dengan cara analisis regresi linear antara persen viabilitas dan konsentrasi [4].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *Garcinia bancana* berhasil disolasi tiga senyawa. Senyawa 1 berupa kristal kuning dengan titik leleh (t.l) 207-209°C dan berdasarkan data spektroskopi diidentifikasi sebagai senyawa golongan santon: 1,5-dihidroksi-3,6-dimetoksi-2,7-di-(3-metilbut-2-enil)santon (**1**). Senyawa dan senyawa 2 berupa kristal putih dengan t.l. 240-242°C dan $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -68° (c 1,0, MeOH) dan diidentifikasi sebagai golongan flavonoid yaitu (-)-epikatekin (**2**). , senyawa 3 berupa padatan putih dengan titik leleh 242-243 °C dan $[\alpha]_{\text{D}}$ 183° (c 1,0, MeOH). Dan diidentifikasi sebagai senyawa golongan benzofenon yaitu: isosantosimol (**3**). . Ketiga senyawa ini juga telah diuji aktivitas sitotoksiknya dengan metode sulforhodamin B (SRB) menggunakan sel kanker payudara manusia T47D. Pengukuran aktivitas sitotoksik berdasarkan % viabilitas yaitu banyak sel yang dapat

bertahan melalui pengukuran absorbansi warna SRB yang mengikat sel pada λ_{maks} 512 nm dengan variasi konsentrasi senyawa uji dan standar (20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63, 0,31, dan 0,16 $\mu\text{g/mL}$) tertera pada Tabel 1. Penambahan senyawa uji yang bersifat sitotoksik akan menyebabkan pengurangan warna SRB yang mengikat sel, sehingga absorbansi akan berkurang.

Dari Tabel 1. Terlihat ketiga senyawa menunjukkan aktivitas sitotoksik dan aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh epikatekin (**2**) dengan IC_{50} 3,6 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan *Cis*- Pt memberikan nilai IC_{50} 0,3 $\mu\text{g/mL}$. Senyawa murni digolongkan sangat aktif apabila memiliki nilai IC_{50} < 5 $\mu\text{g/mL}$, aktif 5-10 $\mu\text{g/mL}$, sedang 11-30 $\mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif >30 $\mu\text{g/mL}$ [5].

Senyawa perbandingan yang digunakan disini adalah suatu senyawa kompleks platina yaitu *cis*-diklorodiamina platina II dikenal dengan nama *cis*-platina [6] yang memberikan nilai IC_{50} 0,3 $\mu\text{g/mL}$. *cis*-platina [$(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$ Pt] yaitu suatu senyawa yang telah dikenal sebagai senyawa antitumor. Mekanisme senyawa ini ialah terjadinya interaksi antara *cis*-platina dengan DNA melalui pengikatan dalam untai sehingga tidak terjadi ikatan silang kedua untai DNA pada rangkaian oligonuanin. Pengikatan senyawa *Cisplatin* pada untai DNA ini menyebabkan terbukanya pilinan untai ganda dan memendekkan molekul DNA, akibatnya replikasi dan transkripsi DNA terganggu [7]. Pencarian awal suatu senyawa antikanker biasanya dimulai dengan uji sitotoksik. Aktivitas sitotoksik dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksil, unit prenil dan gugus metoksil [8], Pengaruh gugus hidroksil

terhadap aktivitas sitotoksik untuk ketiga senyawa uji dapat dijelaskan bahwa dari ketiga senyawa hasil isolasi yang diuji aktivitas tertinggi diberikan oleh epikatekin yang mempunyai gugus hidroksil yang paling banyak. Berkaitan dengan gugus prenil, berkurangnya gugus prenil menyebabkan penurunan aktivitas secara signifikan. Hal ini dapat kita jelaskan untuk senyawa 1 dan 3. Senyawa 1 memiliki 2 unit gugus prenil, sedangkan senyawa 3 memiliki 5 unit gugus prenil. Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh terbukti bahwa aktivitas sitotoksik dari senyawa 1 (yang mempunyai 2 unit prenil) lebih tinggi dari senyawa 3 (yang mempunyai 5 unit gugus prenil. Berdasarkan data ini terbukti bahwa gugus prenil akan menurunkan nilai aktivitas. Untuk pengaruh gugus metoksi dapat dijelaskan dengan membandingkan senyawa 1 dan senyawa 2 yang hamper mirip strukturnya. Disini juga terlihat bahwa jumlah gugus metoksi diduga juga mempengaruhi nilai aktivitas. Senyawa 1 yang memiliki 2 unit gugus metoksi menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa 3 yang tidak memiliki gugus metoksil. Untuk seiyawa 2 kita tidak dapat membandingkan dengan senyawa lainnya untuk melihat gugus metoksi karena golongan senyawanya berbeda. Berdasarkan data ini terbukti bahwa gugus metoksil memberikan pengaruh terhadap aktivitas sitotoksik. Hasil ini sesuai dengan pernyataan, yang mengatakan bahwa jumlah gugus metoksil mempengaruhi aktivitas sitotoksik [8]

KESIMPULAN

Dari kulit batang *G. bancana* berhasil diisolasi 3 senyawa fenol yaitu 1,5-

dihidroksi-3,6-dimetoksi-2,7-di-(3-metilbut-2-enil)santon (1), (-)-epikatekin (2) dan: isosantosimol (3), Ketiga senyawa menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara manusia T47D dan memberikan IC_{50} berturut-turut 7,6; 3,6; dan 10,1 $\mu\text{g/mL}$. Besarnya nilai aktivitas sitotoksik dipengaruhi oleh gugus hidroksil, prenil dan gugus metoksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan pada kepala staf LIPI Serpong yang telah membantu pengukuran spektrum ini dan juga kepada staf herbarium Bogoriensis Bogor yang telah mengidentifikasi sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Whitmore, M. A.1973, Tree Flora of Malaya. , Malaysia. Longman: Forest Department, Ministry of Primary Industries, 218.
- [2] Rukachaisirikul, V., Naklue, W., Sukpondma, Y., and Phongpaichit, S., 2005, An Antibacterial Biphenyl Derivative from *Garcinia bancana* Miq, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53, 342-343.
- [3] Vieira, L.M.M., Kijjoa, A., Wilairat, R., Nascimento, M.S.J., Gales, L., Damas, A.M., Silva, A.M.S., Mondranondra, I.O., and Herz, W., 2004, Bioactive Friedolanostanes and 11 (10-8)-Abeolanostanes from The Bark of *Garcinia speciosa*. *Journal of Natural Products*, 67, 2043-2947.
- [4] Suksamram, S., Suwannapoch, N., Phakhodee, W., Thanuhiranlert, J., Ratanukul, P., Chimnoi, N., and Suksamram, A., 2003, Antimicrobial Activity of Prenylated Xanthenes from The Fruits of *Garcinia mangostana*,

- Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 51(7), 857-859.
- [5] Cao, S.G., Valerie, H.L., Wu, X.H., Sim, K.Y., Tan, B.H.K., Pereira, J.T., and Goh, S.H. 1998, Novel Cytotoxic Polyprenylated Xanthenes from *Garcinia gaudichaudii*. *Tetrahedron*, 54, 10915-10924.
- [6] Thoison, O., Fahy, J., Dumontet, V., Chiaroni, A., Riche, C., Tri, M.V., and Sevenet, T., 2000, Cytotoxic Prenylxanthenes from *Garcinia bracteata*. *Journal of Natural Product*,s 63, 441-446.
- [7] Nogrady, T H., 1992, Kimia Medisinal Pendekatan Secara Biokimia, Terbitan Kedua, Bandung. Penerbit ITB, 514-515
- [8] Ito, C., Itoigawa, M., Takakura, T., Ruangrunsi, N., Enjo, F., Tokuda, H., Nishino, H., and Furukawa, H., 2003, Chemical Constituents of *Garcinia fusca*: Structure Elucidation of Eight New Xanthenes and Their Cancer Chemopreventive Activity. *Journal of Natural Product*,s 66, 200-205.

LAMPIRAN

Tabel 1. Nilai IC₅₀ senyawa hasil isolasi dari kulit batang *G. bancana* dan standar (Cis-Pt) terhadap sel kanker payudara (*human breast cancer cell line*, T47D)

No	Senyawa Uji	IC ₅₀ (µg/mL)
1.	1,5-Dihidroksi-3,6-dimetoksi-2,7-di-(3-metilbut-2-enil)santon (1)	7,6
2.	(-)-epikatekin (2)	3,6
3.	Isosantosimol 3)	10,1
4.	Cis-Pt	0,3

