

SITOTOKSISITAS DAN SELEKTIVITAS FRAKSI EKSTRAK KULIT KAYU BATANG SIMPUR AIR (*Dillenia suffruticosa*) TERHADAP SEL KANKER

*Cytotoxicity and Selectivity of Simpur Air (*Dillenia suffruticosa*) Wood Bark Extract Fractions Against Cancer Cells*

Saparina Rahma¹⁾, Masriani^{1*)}, Rahmat Rasmawan¹⁾ Rini Muharini¹⁾ Rody Putra Sartika¹⁾

¹ Program Studi Pendidikan Kimia, Universitas Tanjungpura, Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Indonesia

*e-mail: masriani@fkip.untan.ac.id

ABSTRACT

Liver, colon, and cervical cancer are the top three types of cancer which rank in the top five worldwide in terms of incidence and mortality. Simpur air plant (*Dillenia suffruticosa*) has been traditionally used for the treatment of various diseases, one of which is cancer. This study aims to prove cytotoxic effect and selectivity of simpur air wood bark fractions against liver HepG2, colon WiDr, and cervical HeLa cancer cells. Simpur air wood bark is macerated using 96% methanol. The methanolic crude extract was fractionated with the liquid-liquid partition method using *n*-hexane and ethyl acetate. Cytotoxicity test using MTT assay method. The result showed that the methanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and methanol fraction in liver HepG2 cancer cells had IC_{50} values $179,32 \pm 13,55$; $85,14 \pm 8,58$; $140,08 \pm 22,63$; $\geq 500 \mu\text{g/mL}$ and in colon WiDr cancer cells had IC_{50} values $133,02 \pm 27,64$; $41,54 \pm 37,58$; $124,76 \pm 17,22$; $\geq 500 \mu\text{g/mL}$. Meanwhile, all fractions had IC_{50} values $\geq 500 \mu\text{g/mL}$ in HeLa cervical cancer cells. The Selectivity Index value shows that only the *n*-hexane fraction in WiDr cancer cells has a Selectivity Index value ≥ 3 , while the other extracts and fractions are ≤ 3 . Thus, the *n*-hexane fraction in WiDr cancer cells has the potential to be developed as a drug candidate anticancer.

Keywords: *Dillenia suffruticosa*, selectivity, cytotoxicity, cancer cells

ABSTRAK

Kanker merupakan penyakit penyebab kematian tertinggi kelima di seluruh dunia. Sementara itu, kanker hati, kolon, dan serviks merupakan tiga jenis kanker teratas yang menjadi penyebab insidensi dan tingkat kematian. Tumbuhan simpur air (*Dillenia suffruticosa*) secara tradisional dapat digunakan untuk tujuan pengobatan berbagai penyakit salah satunya kanker. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek sitotoksik dan selektivitas fraksi kayu batang simpur air terhadap sel kanker hati HepG2, kolon WiDr, dan serviks HeLa. Kulit kayu batang simpur air dimaserasi menggunakan metanol 96%. Ekstrak metanol difraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan *n*-heksan dan etil asetat. Uji sitotoksisitas menggunakan metode MTT assay. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol memiliki nilai IC_{50} berturut-turut pada sel kanker hati HepG2 adalah $179,32 \pm 13,55$; $85,14 \pm 8,58$; $140,08 \pm 22,63$; $\geq 500 \mu\text{g/mL}$ dan pada sel kanker kolon WiDr adalah $133,02 \pm 27,64$; $41,54 \pm 37,58$; $124,76 \pm 17,22$; $\geq 500 \mu\text{g/mL}$. Sementara, pada sel kanker serviks HeLa semua ekstrak dan fraksi memiliki nilai $IC_{50} \geq 500 \mu\text{g/mL}$. Nilai Indeks Selektivitas menunjukkan bahwa hanya fraksi *n*-heksan pada sel kanker WiDr yang memiliki nilai Indeks Selektivitas ≥ 3 , sedangkan ekstrak dan fraksi lainnya ≤ 3 . Dengan demikian, kulit kayu batang simpur air fraksi *n*-heksan pada sel kanker WiDr berpotensi dikembangkan sebagai kandidat obat antikanker.

Kata kunci: *Dillenia suffruticosa*, selektivitas, sitotoksisitas, sel kanker

Revised 04-12-2023

Accepted 07-12-2023

Publish 30-12-2023

PENDAHULUAN

Kanker adalah permasalahan kesehatan utama di dunia selain malaria, HIV, dan TBC dengan 8,8 juta jiwa yang mengalami kritis setiap tahunnya (Prager *et al.*, 2018). Pada tahun 2020, kanker hati, kolon, dan serviks menempati urutan lima besar dalam jumlah kasus baru dan tingkat kematian di dunia. Jumlah kasus baru di dunia pada kanker hati mencapai 905.677 kasus dengan tingkat kematian mencapai 830.180 jiwa, kanker kolon mencapai 1.931.590 kasus dengan tingkat kematian mencapai 935.173 jiwa, dan kanker serviks mencapai 604.127 kasus dengan tingkat kematian mencapai 341.831 jiwa (Sung *et al.*, 2021).

Kemoterapi merupakan metode yang umum digunakan untuk mengobati kanker, namun memiliki efek samping seperti rambut rontok, mual, muntah, dan penurunan kadar hemoglobin maupun trombosit yang menyebabkan menurunnya kualitas hidup pasien (Chui, 2019). Selain itu, kemoterapi belum mampu bekerja secara selektif akibat adanya efek sitotoksik terhadap sel normal dan resistensi obat baik yang bersifat monoterapi maupun multiterapi (Khorsandi *et al.*, 2017; Haruna *et al.*, 2018; Sebayang, 2021). Dengan demikian, perlunya pencarian bahan kemoterapi yang dapat menghambat dan mencegah berkembangnya sel kanker serta membantu pemulihan kondisi kesehatan pasien kanker.

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan kemoterapi kanker adalah simpur air (*Dillenia suffruticosa*) (Armania *et al.*, 2013a,b; Tor *et al.*, 2014; Foo *et al.*, 2014; Foo *et al.*, 2016). Bagian tumbuhan simpur air yang umumnya digunakan adalah bagian daunnya. Masyarakat Kalimantan Barat menggunakan daun simpur air untuk mengobati penyakit batuk atau berak darah (Gunadi *et al.*, 2017). Sementara, masyarakat di Bangka Belitung dan Sumatera menggunakan daun simpur air untuk mengobati diabetes melitus dan diare (Yuningtyas *et al.*, 2018; Syafriana *et al.*, 2021). Simpur air menunjukkan berbagai efek farmakologis antikanker seperti ekstrak metanol buah, akar, dan daun simpur air memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa, sel kanker usus besar HT-29, dan sel kanker payudara MDA-MB-231 (Armania *et al.*, 2013a,b). Ekstrak diklorometana dan etil asetat akar simpur air sitotoksik pada sel kanker payudara, MCF7 dan MDA-MB-231, sel kanker ovarium CaOV3, sel kanker paru-paru A549, dan sel kanker pada usus besar HT-29 (Armania *et al.*, 2013a,b; Tor *et al.*, 2014; Foo *et al.*, 2014; Foo *et al.*, 2016). Asupan oral ekstrak air akar simpur air mengurangi kanker payudara yang diinduksi pada tikus dan menghambat metastasis kanker ke jantung (Yazan *et al.*, 2015). Kandungan metabolit sekunder dari tumbuhan simpur air telah banyak dilaporkan. Isolasi akar tumbuhan simpur air ditemukan adanya dua flavonoid (kaempferide dan kaempferol), dua fenolat (asam protokatekuat dan asam galat), dan dua triterpenoid (asam 3-epimaslinat dan β -sitosterol-3-O- β -D-glukopiranosida) (Tor *et al.*, 2015). Isolasi daun simpur air ditemukan adanya triterpenoid berupa asam betulinat dan asam koetjapat dan flavonoid berupa vitexin, tilirosida, dan kaempferol (Abubakar *et al.*, 2019). Sementara, pada kulit kayu batang simpur air masih belum dilakukan isolasi lebih lanjut, hanya ada skrining fitokimianya untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder. Skrining fitokimia ekstrak kasar metanol dan etil asetat kulit kayu batang simpur air ditemukan adanya alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid, steroid, dan saponin (Muharini *et al.*, 2021; Putra *et al.*, 2019). Fraksi metanol dan fraksi kloroform kulit kayu batang simpur air memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan nilai IC₅₀ kurang dari 15,63 ppm dan 8,83 ppm (Muharini *et al.*, 2021). Antioksidan menghambat kerusakan sel oleh radikal bebas dan bekerja secara selektif

membunuh sel kanker (Burhan *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2019). Pada kulit kayu batang simpur air masih belum dilakukan isolasi lebih lanjut hanya ada skrining fitokimia saja.

Berbagai penelitian terkait efek sitotoksitas tumbuhan simpur air terhadap sel kanker telah dilakukan. Namun, penelitian terkait sitotoksitas dan selektivitas fraksi ekstrak kulit kayu batang simpur air terhadap sel kanker hati HepG2, kolon WiDr, dan serviks HeLa belum ditemukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sitotoksitas dan selektivitas ekstrak metanol, fraksi metanol, etil asetat, dan n-heksan kulit kayu batang simpur air terhadap sel kanker hati HepG2, kolon WiDr, dan serviks HeLa. Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi terhadap penanganan masalah kanker.

METODE

Penyiapan Sampel

Sampel kulit kayu batang simpur air yang diperoleh dari hutan sekitar Jalan Tanjung Raya 2, Kota Pontianak, Kalimantan Barat dibersihkan menggunakan air bersih yang mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam suhu ruangan. Sampel yang telah kering dijadikan serbuk dengan mesin penyerbuk. Sebanyak 500 g serbuk kulit kayu batang simpur air kering dimaserasi dengan metanol 96% selama 72 jam pada suhu ruangan dan pengadukan dilakukan setiap 1×24 jam. Rendemen ekstrak metanol difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Ekstrak dan fraksi diuapkan dengan *water bath* pada suhu 40°C menghasilkan fraksi metanol (15,078 g), fraksi etil asetat (1,544 g), dan fraksi n-heksan (0,290 g).

Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT

Uji sitotoksitas ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat terhadap sel kanker hati HepG2, sel kanker kolon WiDr, dan sel kanker serviks HeLa serta sel normal Vero menggunakan metode MTT (3,4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida) (Mosmann, 1983). Sel kanker dan sel normal diperoleh dari Laboratorium Parasitologi, Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta. Sebanyak 100 µL suspensi sel kepadatan 1×10^4 sel/sumuran ditempatkan ke dalam mikrolat 96 sumuran. Sel diinkubasi dengan inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, media sel dikeluarkan dan diganti menggunakan media baru berisi larutan sampel dengan rentang konsentrasi yaitu 31,25; 62,5; 125; dan 250 µg/mL sebanyak tiga kali ulangan. Setelah diinkubasi, sel dicuci. Sel diinkubasi kembali kemudian ditambahkan 100 µL media baru dan 10 µL larutan MTT konsentrasi 5 mg/mL. Inkubasi sel selama 4 jam kemudian ditambahkan 100 µL larutan stopper SDS 10% dalam HCl 0,01 N untuk melarutkan formazan. Sel dibiarkan di ruangan yang gelap pada suhu kamar selama semalam. *ELISA reader* dengan panjang gelombang 595 nm digunakan untuk mengukur absorbansi sel. Persen sel yang hidup ditentukan menggunakan rumus persen viabilitas sel berikut:

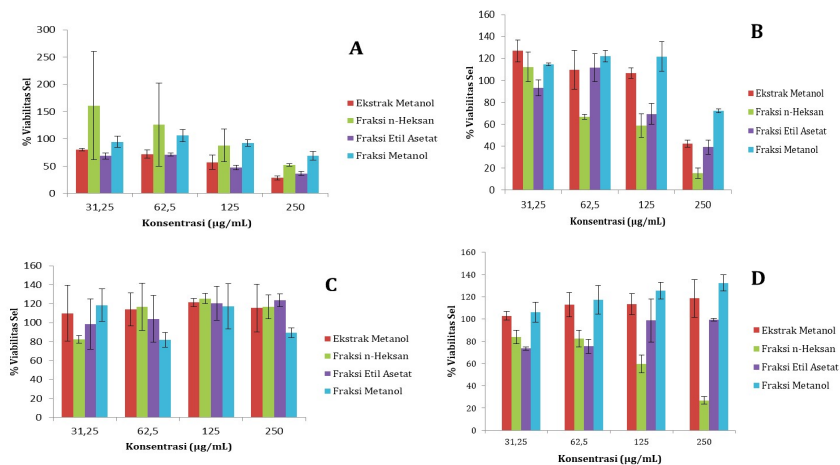
$$\%viabilitas\ sel = \frac{absorbansi\ perlakuan - absorbansi\ kontrol\ media}{absorbansi\ kontrol\ sel - absorbansi\ kontrol\ media} \times 100\%$$

Konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat 50% pertumbuhan sel kanker atau IC₅₀ dihitung menggunakan analisis Probit dengan bantuan program SPSS versi 25 dan *Microsoft Excel* 2010. Indeks selektivitas (IS) ditentukan menggunakan rumus berikut:

$$IS = \frac{IC_{50} \text{ sel normal}}{IC_{50} \text{ sel kanker}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian sitotoksitas dilakukan dengan menggunakan metode MTT yang merupakan metode pengujian dengan cara kolorimetri yang didasarkan atas reduksi garam MTT yang berwarna kuning menjadi formazan yang berwarna biru keunguan oleh enzim suksinat tetrazolium reduktase yang ada di dalam mitokondria sel hidup (Nurani *et al.*, 2015). Efek variasi konsentrasi ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol kulit kayu batang simpur air terhadap viabilitas sel kanker WiDr, HepG2, dan HeLa serta sel normal Vero ditunjukkan pada Gambar 1. Variasi konsentrasi yang digunakan mulai dari konsentrasi 31,25; 62,5; 125; dan 250 µg/mL sebanyak tiga kali ulangan. Hasil penelitian mengungkapkan bahwa secara umum semakin tinggi konsentrasi sampel, maka viabilitas sel semakin rendah. Hal ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka jumlah senyawa aktif yang terdapat di dalam sampel tersebut semakin tinggi sehingga kemampuannya dalam membunuh sel semakin besar. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, bahwa semakin besar jumlah senyawa aktif pada sampel, maka toksisitasnya akan semakin besar pula (Muharini *et al.*, 2021). Hal ini dapat dilihat dari rendahnya persentase viabilitas sel yang disajikan pada Gambar 1. Pada konsentrasi terendah fraksi etil asetat paling kuat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon WiDr, sel kanker hati HepG2, dan sel normal Vero dengan persentase viabilitas sel berturut-turut 68,80%, 93,21%, dan 73,55%. Diduga senyawa yang ada di fraksi etil asetat kulit kayu batang simpur air yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker adalah flavonoid. Sementara, fraksi n-heksan paling kuat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks HeLa dengan persentase viabilitas sel 82,52%. Diduga senyawa yang ada di fraksi n-heksan kulit kayu batang simpur air yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker adalah triterpenoid. Hal ini diperkuat berdasarkan penelitian Muharini *et al.*, (2021) bahwa terdapat senyawa flavonoid dan triterpenoid di dalam kulit kayu batang simpur air.



Gambar 1. Efek variasi konsentrasi ekstrak dan fraksi kulit kayu batang simpur air terhadap viabilitas (A) sel kanker WiDr; (B) sel kanker HepG2; (C) sel kanker HeLa; (D) sel normal Vero

Pada skrining aktivitas sitotoksik, parameter yang paling umum ditentukan adalah nilai *Inhibitory Concentration* (IC_{50}), yaitu nilai yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat pertumbuhan 50% sel hidup. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan efek sitotoksik,

artinya bahwa semakin kecil nilai IC_{50} , maka efek sitotoksik semakin kuat (Rollando & Prilianti, 2017). Mengacu pada *National Cancer Institute* menurut (Damasuri *et al.*, 2020), bahwa suatu senyawa yang memiliki nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$ (sangat toksik), $21-200 \mu\text{g/mL}$ (sitotoksik moderat), $201-500 \mu\text{g/mL}$ (lemah), dan $>500 \mu\text{g/mL}$ (tidak toksik). Berdasarkan nilai IC_{50} (Tabel 1), diketahui bahwa seluruh sampel uji yang digunakan tidak toksik terhadap sel kanker serviks HeLa. Sementara, pada sel kanker kolon WiDr dan kanker hati HepG2 hanya fraksi metanol saja yang tidak toksik. Hal ini dikarenakan sampel memiliki nilai memiliki nilai $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$. Pada sel kanker kolon WiDr dan kanker hati HepG2, fraksi yang paling aktif adalah fraksi n-heksan kemudian disusul oleh fraksi etil asetat dan ekstrak metanol. Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan ekstrak metanol tergolong sitotoksik moderat dengan nilai IC_{50} $21-200 \mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut memungkinkan bahwa kulit kayu batang simpur air berpotensi digunakan sebagai agen kemoprevensi. Sebagaimana yang dinyatakan Widyanto *et al.*, (2020) bahwa suatu bahan yang memiliki senyawa sitotoksik moderat dapat dijadikan agen kemoprevensi yang hanya dapat menghambat dan mencegah perkembangan sel kanker.

Tabel 1. Nilai IC_{50} pada sel kanker WiDr, HepG2, dan HeLa, serta sel normal Vero

Kultur Sel	$IC_{50} (\mu\text{g/mL}) \pm SD$			
	Ekstrak Metanol	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Metanol
WiDr	133,02±27,64	41,54±37,58	124,76±17,22	>500
HepG2	179,32±13,55	85,14±8,58	140,08±22,63	>500
HeLa	>500	>500	>500	>500
Vero	1,88±1,75	144,77±13,96	17,53±3,30	6,67±6,53

Keterangan tabel: metode MTT, dengan sel diinkubasi selama 24 jam (rata-rata \pm SD, n = 3). WiDr: sel kanker kolon; HepG2: sel kanker hati; HeLa: sel kanker serviks; Vero: sel normal; SD: standar deviasi.

Perbedaan aktivitas sitotoksik dipengaruhi oleh respons atau sensitivitas dari masing-masing sel kanker yang memiliki karakteristik berbeda (Sutedjo *et al.*, 2016). Pada sel kanker kolon WiDr dan kanker hati HepG2, fraksi n-heksan paling sensitif dengan nilai IC_{50} paling rendah diantara sampel uji lainnya. Hal ini disebabkan sel WiDr mengekspresikan siklooksigenase-2 (COX-2) yang banyak sehingga dapat memacu proliferasi sel itu sendiri (Palozza *et al.*, 2005). Sementara, sel kanker hati HepG2 memiliki morfologi berbentuk epitel yang mengandung 55 pasang kromosom. Sel kanker hati HepG2 dapat tumbuh cepat dan mengeluarkan banyak protein plasma yakni fibrinogen, transferin, plasminogen, albumin, alpha 2-macroglobulin, alpha 1-antitrypsin sehingga akan merespon rangsangan hormon pertumbuhan manusia (Moscato *et al.*, 2015). Pada sel kanker serviks HeLa semua sampel uji tidak toksik. Hal ini disebabkan sel kanker serviks HeLa mengekspresikan dua onkogen, yakni E6 dan E7 (Choudhari *et al.*, 2013). Terbentuknya sel kanker serviks HeLa diawali E6 terikat dengan E6-Associated Protein (E6-AP) untuk menghasilkan *ubiquitin ligase* (E3), akibatnya gen p53 mengalami degradasi. Gen p53 yang terdegradasi mengakibatkan apoptosis tidak dapat terjadi (Ruttkay-nedecky *et al.*, 2013).

Perbedaan aktivitas sitotoksik juga diprediksi karena terdapat perbedaan distribusi metabolit sekunder pada setiap ekstrak akibat adanya perbedaan kepolaran ekstrak dan masing-masing fraksi. Kondisi ini dapat mengakibatkan terjadinya interaksi sinergis dan antagonis senyawa-senyawa aktif di dalamnya, sehingga berpengaruh pada aktivitas sitotoksik berbagai sel kanker (Widiyantoro *et al.*, 2021). Hal tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa sifat sitotoksitas akan dipengaruhi kandungan fitokimia yang ada di dalam sampel yang diuji dan reaksinya terhadap sel kanker tersebut (Widyanto *et al.*, 2020).

Aktivitas sitotoksitas tumbuhan simpur air terhadap berbagai sel kanker telah dilakukan di antaranya ekstrak metanol buah, akar, dan daun simpur air memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa, sel kanker usus besar HT-29, dan sel kanker payudara MDA-MB-231 (Armania *et al.*, 2013a,b). Ekstrak diklorometana dan etil asetat akar simpur air sitotoksik pada sel kanker payudara, MCF7 dan MDA-MB-231, sel kanker ovarium CaOV3, sel kanker paru-paru A549, dan sel kanker pada usus besar HT-29 (Armania *et al.*, 2013a,b; Tor *et al.*, 2014; Foo *et al.*, 2014; Foo *et al.*, 2016). Hasil penelitian uji sitotoksitas yang dilakukan terhadap kulit kayu batang simpur air menunjukkan bahwa fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan ekstrak metanol juga memiliki aktivitas sitotoksik yang tergolong moderat terhadap sel kanker kolon WiDr dan hati HepG2.

Selektivitas antikanker adalah parameter penting dalam suatu pengujian sitotoksik. Diharapkan bahwa suatu agen kemoprevensi selektif terhadap sel kanker, dalam arti hanya membunuh sel kanker tetapi tidak membunuh sel normal. Hasil uji selektivitas ekstrak dan fraksi kulit kayu batang simpur air menunjukkan bahwa hanya fraksi n-heksan saja yang selektif membunuh sel kanker kolon WiDr. Sementara, ekstrak dan fraksi lainnya kurang selektif membunuh seluruh sel kanker (Tabel 2). Hal ini mengacu pada penelitian Masriani *et al.*, (2014), bahwa nilai $IS \geq 3$ menandakan suatu senyawa tergolong semakin selektif.

Tabel 2. Nilai indeks selektivitas pada sel kanker WiDr, HepG2, dan HeLa.

Kultur sel	IS			
	Ekstrak metanol	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi metanol
WiDr	0,01	3,48	0,14	0,01
HepG2	0,01	1,70	0,12	0,01
HeLa	nd	nd	nd	Nd

Keterangan tabel: IS adalah rasio nilai IC_{50} sel normal dengan nilai IC_{50} sel kanker. WiDr: sel kanker kolon; HepG2: sel kanker hati; HeLa: sel kanker serviks; Vero: sel normal; IS: indeks selektivitas; nd: *not determined*

Dengan adanya nilai selektivitas suatu senyawa berarti hanya sel kanker yang dibunuh, sementara sel normal tidak dibunuh. Mekanisme tersebut memiliki perbedaan dengan cara kemoterapi membunuh baik sel kanker maupun sel normal, sehingga timbul efek samping yang beragam (Khorsandi *et al.*, 2017; Haruna *et al.*, 2018). Agen kemoprevensi terhadap sel kanker dan sel normal memiliki cara kerja yaitu didasarkan atas kebutuhan ATP (*Adenosine Triphosphate*) sel. Sel kanker tumbuh lebih cepat secara tidak normal dan lebih aktif daripada sel normal sehingga sel kanker membutuhkan lebih banyak ATP. Hal tersebut akan terdeteksi agen kemoprevensi yang akan masuk ke dalam sel kanker dan menempel di dinding bagian dalam mitokondria agar menghentikan produksi ATP. Hal ini mengakibatkan suplai energi sel kanker terhenti sehingga sel kanker akan mati (Sutedjo *et al.*, 2016; Ko & Moon, 2015).

Meskipun isolasi senyawa kulit kayu batang simpur air belum pernah dilakukan, tetapi diprediksi senyawa yang berpotensi sebagai antikanker adalah senyawa asam betulinat dan vitexin yang ditemukan pada daun simpur air. Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa ditemukan adanya triterpenoid berupa asam betulinat dan asam koetjapat, sedangkan flavonoid berupa vitexin, tilirosida, dan kaempferol pada daun simpur air (Abubakar *et al.*, 2019). Pada dasarnya senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam tumbuhan berdistribusi ke seluruh bagian tumbuhan lainnya hanya konsentrasinya saja yang berbeda. Siwon *et al.*, (1981) menunjukkan bahwa distribusi senyawa alkaloid yang ada di akar, batang, dan daun tumbuhan *Pycnarrhena longifolia* ternyata ditemukan komposisi senyawa metabolit sekunder yang mirip namun konsentrasinya saja yang berbeda. Penelitian Ningrum *et al.*, (2017) menyatakan bahwa

senyawa metabolit sekunder yang mirip juga ditemukan pada seluruh bagian tumbuhan. Asam betulinat bersifat sitotoksik menginduksi apoptosis jalur mitrokondria, sedangkan vitexin dapat menginduksi caspase-9 dan caspase-3 serta meningkatkan protein pro apoptosis pada sel kanker kolon dan hati (Zeng *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019; Bhardwaj *et al.*, 2018; Scarpa *et al.*, 2018)

Suatu bahan yang memiliki senyawa sitotoksik moderat dapat dijadikan agen kemoprevensi yang hanya dapat menghambat dan mencegah perkembangan sel kanker. (Widyanto *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa hanya fraksi n-heksan pada sel kanker WiDr yang memiliki nilai sitotoksisitas dan indeks selektivitas yang tinggi. Dengan nilai IC_{50} $41,54 \pm 37,58$ dan $IS \geq 3$. Diduga fraksi n-heksan yang terdapat di kulit kayu batang simpur air yaitu senyawa triterpenoid berupa asam betulinat yang berfungsi sitotoksik menginduksi jalur mitokondria (Zeng *et al.*, 2019). Dengan demikian, fraksi n-heksan kulit kayu batang simpur air pada sel kanker kolon WiDr dapat dijadikan kandidat obat antikanker sebab selain dapat dijadikan agen kemoprevensi, fraksi n-heksan juga selektif membunuh sel kanker.

Sekitar 80% masyarakat di dunia mengandalkan tumbuhan sebagai sumber obat berbagai tujuan pengobatan dan pemeliharaan kesehatan termasuk menangani penyakit kanker (Greenwell & Rahman, 2015; Putri & Nasution, 2022). Pada penelitian ini dilakukan uji efek sitotoksisitas dari ekstrak dan fraksi kulit kayu batang simpur air menggunakan metode MTT terhadap sel kanker hati HepG2, kanker kolon WiDr, kanker serviks HeLa, serta sel normal Vero. Metode MTT adalah metode pengujian dengan cara kolorimetri yang didasarkan atas reduksi garam MTT yang berwarna kuning menjadi formazan yang berwarna biru keunguan oleh enzim suksinat tetrazolium reduktase yang ada di dalam mitokondria sel hidup. Perubahan warna menjadi parameter proliferasi sel. Mitokondria dapat menyerap MTT saat sel mengalami proliferasi, sehingga sel menjadi berwarna ungu karena kristal tetrazolium yang terbentuk (Nurani *et al.*, 2015). Semakin banyak kristal formazan yang terbentuk, semakin banyak sel kanker yang hidup. Absorbansi formazan dapat diukur dengan *microplate reader* yang panjang gelombangnya sebesar 595 nm (Aslantürk, 2018). Uji sitotoksisitas digunakan sebagai prediksi obat sitotoksik baru yang berasal dari bahan alam. Uji sitotoksisitas merupakan pengujian sel dengan cara *in vitro* memakai kultur sel untuk melihat pertumbuhan sel, reproduksi, serta adanya efek morfologis yang ditimbulkan obat (Li *et al.*, 2015; Arbiastutie *et al.*, 2022). Kelebihan uji sitotoksisitas yaitu cepat, mempunyai sensitivitas tinggi, dan dapat mengurangi penggunaan hewan coba (He & Shi, 2011; Kunzmann *et al.*, 2011).

KESIMPULAN

Seluruh sampel uji yang digunakan tidak toksik terhadap sel kanker serviks HeLa. Pada sel kanker kolon WiDr dan kanker hati HepG2 hanya fraksi metanol saja yang tidak toksik. Hal ini dikarenakan sampel memiliki nilai memiliki nilai $IC_{50} > 500$ $\mu\text{g/mL}$. Pada sel kanker kolon WiDr dan kanker hati HepG2, fraksi yang paling aktif adalah fraksi n-heksan kemudian disusul oleh fraksi etil asetat dan ekstrak metanol. Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan ekstrak metanol tergolong sitotoksik moderat dengan nilai IC_{50} 21-200 $\mu\text{g/mL}$. Hanya fraksi n-heksan pada sel kanker kolon WiDr dengan nilai IC_{50} $41,54 \pm 37,58$ $\mu\text{g/mL}$ tergolong sitotoksik moderat dan selektif dengan nilai indeks selektivitas lebih besar dari 3, sehingga dapat dijadikan kandidat agen kemoprevensi. Sementara, Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengkaji senyawa aktif dan mekanisme yang mendasari aktifitas antikanker

fraksi n-heksan pada sel kanker kolon WiDr. Penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan obat berbasis bahan alam sebagai obat antikanker yang aman, selektif, dan sensitif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Pendidikan Kimia, Universitas Tanjungpura Pontianak dan Laboratorium Parasitologi, Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang telah menyediakan tempat untuk peneliti melakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, S., Al-Mansoub, M. A., Murugaiyah, V., & Chan, K.-L. (2019). The phytochemical and anti-inflammatory studies of *Dillenia suffruticosa* leaves. *Phytotherapy Research*, 33(3), 660–675. <https://doi.org/10.1002/ptr.6255>
- Arbiastutie, Y., Diba, F., & Masriani, M. (2022). Cytotoxicity activity of several medicinal plants grow in mangrove forest against Human's Cervical (HeLa), Breast (T47D), and Colorectal (WiDr) cancer cell lines. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 12(2), 46–50. https://doi.org/10.4103/ijnpnd.ijnpnd_57_21
- Armania, N., Yazan, L. S., Ismail, I. S., Foo, J. B., Tor, Y. S., Ishak, N., ... Ismail, M. (2013). *Dillenia suffruticosa* extract inhibits proliferation of human breast cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231) via Induction of G2/M arrest and apoptosis. *Molecules*, 18(11), 13320–13339. <https://doi.org/10.3390/molecules181113320>
- Armania, N., Yazan, L. S., Musa, S. N., Ismail, I. S., Foo, J. B., Chan, K. W., ... Ismail, M. (2013). *Dillenia suffruticosa* exhibited antioxidant and cytotoxic activity through induction of apoptosis and G2/M cell cycle arrest. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(2), 525–535. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.01.017>
- Aslantürk, Ö. S. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. In *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World* (pp. 1–18). InTech London, UK. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Bhardwaj, M., Cho, H. J., Paul, S., Jakhar, R., Khan, I., Lee, S.-J., ... Kang, S. C. (2018). Vitexin induces apoptosis by suppressing autophagy in multi-drug resistant colorectal cancer cells. *Oncotarget*, 9(3), 3278–3291. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22890>
- Burhan, A., Aisyah, A. N., Awaluddin, A., Zulham, Z., Taebe, B., & Gafur, A. (2019). Uji aktivitas antioksidan dan antikanker ekstrak batang murbei (*Morus Alba* L.) terhadap sel kanker WiDr secara in vitro. *Kartika : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(1), 17–21. <https://doi.org/10.26874/kjif.v7i1.173>
- Chen, G. L., Fan, M. X., Wu, J. L., Li, N., & Guo, M. Q. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule. *Food Chemistry*, 277, 706–712. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.040>
- Choudhari, A. S., Suryavanshi, S. A., & Kaul-Ghanekar, R. (2013). The aqueous extract of ficus religiosa induces cell cycle arrest in human cervical cancer cell lines SiHa (HPV-16 Positive) and apoptosis in HeLa (HPV-18 Positive). *PLoS ONE*, 8(7), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070127>
- Chui, P. L. (2019). Cancer-and chemotherapy-related symptoms and the use of complementary and alternative medicine. *Asia-Pacific Journal of Oncology Nursing*, 6(1), 4–6. <https://doi.org/10.4103/apjon.apjon-51-18>
- 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 Therapy*, 1(2), 54–59. <https://doi.org/10.22146/ijpther.606>
- Foo, J. B., Saiful Yazan, L., Tor, Y. S., Wibowo, A., Ismail, N., Armania, N., ... Abdullah, R. (2016). *Dillenia suffruticosa* dichloromethane root extract induced apoptosis towards MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 187, 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.048>
- Foo, J. B., Yazan, L. S., Tor, Y. S., Armania, N., Ismail, N., Imam, M. U., ... Ismail, M. (2014). Induction of cell cycle arrest and apoptosis in caspase-3 deficient MCF-7 cells by *Dillenia suffruticosa* root extract via multiple signalling pathways. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-197>
- Greenwell, M., & Rahman, P. K. S. M. (2015). Medicinal plants: Their use in anticancer treatment. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(10), 4103–4112.

- [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6\(10\).4103-12](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(10).4103-12)
- Gunadi, D., Oramahi, H. A., & Tavita, G. E. (2017). Studi tumbuhan obat pada etnis dayak di Desa Gerantung Kecamatan Monterado Kabupaten Bengkayang. *Jurnal Hutan Lestari*, 5(2), 425-436. <https://doi.org/10.26418/jhl.v5i2.20089>
- Haruna, N., Hamzah, Z. A., Syakri, S., Ismail, I., & Hamzah, N. (2018). Efek ekstrak metanol dan partisi dari pulpit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica* Hoult. Merr.) terhadap pertumbuhan sel HeLa dan MCF-7. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 71-77. <https://doi.org/10.24252/djps.v1i2.11338>
- He, Q., & Shi, J. (2011). Mesoporous silica nanoparticle based nano drug delivery systems: synthesis, controlled drug release and delivery, pharmacokinetics and biocompatibility. *Journal of Materials Chemistry*, 21(16), 5845. <https://doi.org/10.1039/c0jm03851b>
- Khorsandi, L., Niazvand, F., Orazizadeh, M., & Abbaspour, M. (2017). Quercetin induces apoptosis and necroptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Bratislava Medica Journal*, 118(2), 123-128. https://doi.org/10.4149/BLL_2017_025
- Ko, E.-Y., & Moon, A. (2015). Natural products for chemoprevention of breast cancer. *Journal of Cancer Prevention*, 20(4), 223-231. <https://doi.org/10.15430/jcp.2015.20.4.223>
- Kunzmann, A., Andersson, B., Thurnherr, T., Krug, H., Scheynius, A., & Fadeel, B. (2011). Toxicology of engineered nanomaterials: Focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1810(3), 361-373. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.04.007>
- Li, W., Zhou, J., & Xu, Y. (2015). Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. *Biomedical Reports*, 3(5), 617-620. <https://doi.org/10.3892/br.2015.481>
- Masriani, Mustofa, Jumina, Sunarti, & Enawaty, E. (2014). Cytotoxic and pro-apoptotic activities of crude alkaloid from root of sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers) Diels) in human breast cancer T47D cell line. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 2(5), 336-340. Retrieved from www.saspublisher.com
- Moscato, S., Ronca, F., Campani, D., & Danti, S. (2015). Poly(vinyl alcohol)/gelatin hydrogels cultured with HepG2 cells as a 3D model of hepatocellular carcinoma: A morphological study. *Journal of Functional Biomaterials*, 6(1), 16-32. <https://doi.org/10.3390/jfb6010016>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Muharini, R., Lestari, I., & Masriani, M. (2021). Antioxidant-phenolic content correlation of phenolics rich fractions from *Dillenia suffruticosa* wood bark. *Pharmaciana*, 11(2), 283-292. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v11i2.20674>
- Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono, S. (2017). Alkaloid compound identification of *Rhodymyrtus tomentosa* stem as biology instructional material for senior high school X grade. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3), 231-236. <https://doi.org/10.22219/jpbi.v2i3.3863>
- Nurani, L. H., Widayari, S., & Mursyidi, A. (2015). Uji sitotoksik dan uji kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) dan doksorubisin pada sel limfosit. *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 3(2), 138-147. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v3i2.100>
- Palozza, P., Serini, S., Maggiano, N., Tringali, G., Navarra, P., Ranelletti, F. O., & Calviello, G. (2005). β -Carotene downregulates the steady-state and heregulin- α -induced COX-2 pathways in colon cancer cells. *The Journal of Nutrition*, 135(1), 129-136. <https://doi.org/10.1093/jn/135.1.129>
- Prager, G. W., Braga, S., Bystricky, B., Qvortrup, C., Criscitiello, C., Esin, E., ... Ilbawi, A. (2018). Global cancer control: responding to the growing burden, rising costs and inequalities in access. *ESMO Open*, 3(2), 1-10. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2017-000285>
- Putra, A. Y. T., Supriyadi, & Santoso, U. (2019). Skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun simpur (*Dillenia suffruticosa*). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 4(1), 36-40. <https://doi.org/10.33061/jitipari.v4i1.3017>
- Putri, A. P., & Nasution, M. P. (2022). Skrining fitokimia dan uji sitotoksitas ekstrak etanol daun tapak dara (*Catharanthus roseus* L.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal of Health and Medical Science*, 1(2), 203-2019. Retrieved from <https://pusdikra-publishing.com/index.php/jkes/home>
- Rollando, & Prilianti, K. R. (2017). Fraksi etil asetat kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) menginduksi apoptosis dan siklus sel pada sel kanker payudara T47D. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 14(1), 1-14. <https://doi.org/10.24071/jpsc.00557>
- Ruttkey-nedecky, B., Jimenez Jimenez, A. M., Nejdil, L., Chudobova, D., Gumulec, J., Masarik, M., ... Kizek, R. (2013). Relevance of infection with human papillomavirus: The role of the p53 tumor suppressor

- protein and E6/E7 zinc finger proteins (Review). *International Journal of Oncology*, 43(6), 1754–1762. <https://doi.org/10.3892/ijo.2013.2105>
- Scarpa, E. S., Antonini, E., Palma, F., Mari, M., & Ninfali, P. (2018). Antiproliferative activity of vitexin-2-O-xyloside and avenanthramides on CaCo-2 and HepG2 cancer cells occurs through apoptosis induction and reduction of pro-survival mechanisms. *European Journal of Nutrition*, 57(4), 1381–1395. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1418-y>
- Sebayang, A. N. O. (2021). Efek kardi toksik obat kemoterapi doxorubicin. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 7(1), 1–5. <https://doi.org/10.53366/jimki.v7i1.387>
- Siwon, J., Verpoorte, R., van Beek, T., Meerburg, H., & Svendsen, A. B. (1981). Alkaloids from *Pycnarrhena longifolia*. *Phytochemistry*, 20(2), 323–325. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85116-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85116-3)
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Sutedjo, I. R., Putri, H., & Meiyanto, E. (2016). Ethanolic leaves extract of awar-awar (*Ficus septica*) as selective chemopreventive agent on various cancer cells. *NurseLine Journal*, 1(2), 190–197. Retrieved from <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/NLJ/article/view/4897>
- Syafriana, V., Febriani, A., Suyatno, S., Nurfitri, N., & Hamida, F. (2021). Antimicrobial activity of ethanolic extract of sempur (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) leaves against pathogenic microorganisms. *Borneo Journal of Pharmacy*, 4(2), 135–144. <https://doi.org/10.33084/bjop.v4i2.1870>
- Tor, Y. S., Yazan, L. S., Foo, J. B., Armania, N., Cheah, Y. K., Abdullah, R., ... Ismail, M. (2014). Induction of apoptosis through oxidative stress-related pathways in MCF-7, human breast cancer cells, by ethyl acetate extract of *Dillenia suffruticosa*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-55>
- Tor, Y. S., Yazan, L. S., Foo, J. B., Wibowo, A., Ismail, N., Cheah, Y. K., ... Yeap, S. K. (2015). Induction of apoptosis in MCF-7 cells via oxidative stress generation, mitochondria-dependent and caspase-independent pathway by ethyl acetate extract of *Dillenia suffruticosa* and its chemical profile. *PLoS One*, 10(6), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127441>
- Wang, W., Wang, Y., Liu, M., Zhang, Y., Yang, T., Li, D., ... Shi, L. (2019). Betulinic acid induces apoptosis and suppresses metastasis in hepatocellular carcinoma cell lines in vitro and in vivo. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(1), 586–595. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13964>
- Widiyantoro, A., Harlia, H., & Prasetya, B. (2021). Senyawa sitotoksik dari fraksi diklorometana kulit terong ungu (*Solanum melongena* L.) terhadap sel kanker payudara T47D. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 11(2), 99–108. <https://doi.org/10.33751/jf.v11i2.3110>
- Widyanto, R. M., Putri, J. A., Rahmi, Y., Proborini, W. D., & Utomo, B. (2020). Aktivitas antioksidan dan sitotoksitas in vitro ekstrak metanol buah nanas (*Ananas comosus*) pada sel kanker payudara T-47D. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 8(2), 95–103. <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2020.008.02.5>
- Yakop, F., Hamid, M. H. S. A., Ahmad, N., Majid, M. A., Pillai, M. K., & Taha, H. (2020). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of extracts and fractions of *Dillenia suffruticosa* leaves. *Malaysian Applied Biology*, 49(1), 121–130. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v49i1.1663>
- Yazan, L. S., Ong, Y. S., Zaaba, N. E., Ali, R. M., Foo, J. B., & Tor, Y. S. (2015). Anti-breast cancer properties and toxicity of *Dillenia suffruticosa* root aqueous extract in BALB/c mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(12), 1018–1026. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.008>
- Yuningtyas, S., Roswiem, A. P., & Erfina, E. (2018). Aktivitas inhibisi α -glukosidase dari ekstrak air dan etanol daun simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli). *Pharmamedica Journal*, 3(1), 21–26. <https://doi.org/10.47219/ath.v3i1.23>
- Zeng, A., Hua, H., Liu, L., & Zhao, J. (2019). Betulinic acid induces apoptosis and inhibits metastasis of human colorectal cancer cells in vitro and in vivo. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 27(12), 2546–2552. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.03.033>