

KARAKTERISASI SENYAWA STEROID DARI FRAKSI DIKLOROMETANA BATANG TANAMAN ANDONG (*Cordyline fruticosa*) DAN AKTIVITAS SITOTOKSIKNYA TERHADAP SEL HeLa

Ardji^{1*}, Ari Widiyantoro¹, Lia Destiarti¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
email: ardjieji@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman andong (*Cordyline fruticosa*) merupakan tanaman obat yang banyak digunakan oleh masyarakat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik senyawa steroid dari fraksi diklorometana batang tanaman andong dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol kemudian difraksinasi dengan menggunakan beberapa pelarut sehingga diperoleh fraksi n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan fraksi metanol. Semua ekstrak dan fraksi diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa menggunakan metode MTT(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide). Nilai aktivitas sitotoksik (IC_{50}) yang diperoleh untuk ekstrak metanol, fraksi n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan fraksi metanol berturut-turut adalah sebesar 282; 280; 256; 161 dan 177 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi diklorometana selanjutnya dilakukan pemisahan dan pemurnian sehingga diperoleh isolat B_1 . Isolat menunjukkan nilai aktivitas sitotoksik IC_{50} sebesar 280 $\mu\text{g/mL}$. Hasil analisis spektrum ultraviolet-visible (UV-Vis) diperoleh absorbansi maksimum pada panjang gelombang 339,5 dan 220,5 nm yang menunjukkan adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Spektrum infra red (IR) menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 2954-2854; 1739; 1461 dan 1203-1172 cm^{-1} yang menunjukkan gugus C-H; C=O; C=C aromatik, dan C-O-C eter. Serapan pada bilangan gelombang 1272 cm^{-1} merupakan serapan yang khas untuk senyawa steroid (-CH-OH). Berdasarkan hasil spektrum UV-Vis dan IR menunjukkan adanya senyawa steroid dan pada isolat B_1 .

Kata Kunci: Andong (*Cordyline fruticosa*), steroid, sitotoksik, sel HeLa

PENDAHULUAN

Tanaman andong (*Cordyline fruticosa*) merupakan tanaman obat yang banyak tumbuh di berbagai jenis tanah. Tanaman andong biasanya dipelihara sebagai tanaman hias, tanaman pagar dan pembatas perkebunan teh karena warnanya yang mencolok (Wijayakusuma, 1992).

Berdasarkan beberapa penelitian diketahui bahwa ekstrak andong mengandung senyawa-senyawa golongan fenolik, flavonoid, steroid dan saponin. Menurut Putra, dkk., (2015) ekstrak daun tanaman andong mempunyai aktivitas antibakteri dan antioksidan. Dyary, dkk., (2014) menemukan bahwa daun tanaman andong bersifat sitotoksik terhadap sel vero dengan nilai IC_{50} sebesar 48,1 $\mu\text{g/mL}$. Isolasi dan identifikasi senyawa dari fraksi aktif sitotoksik daun andong terhadap larva

udang (*Artemia salina* Leach) juga telah dilakukan dan menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh adalah senyawa saponin steroid spirostan (Bogoriani, dkk., 2007).

Beberapa senyawa steroid khususnya glikosida steroid diketahui mempunyai aktivitas biologi sebagai antitumor dan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel tumor pada manusia. Di samping itu, ditemukan beberapa senyawa steroid yang mempunyai aktivitas sebagai antitumor secara *in vitro* (Mimaki dan Sashida, 1996). Dari beberapa penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa steroid bersifat sitotoksik dan dapat digunakan sebagai obat antikanker, salah satunya kanker leher rahim (*cervix*). Salah satu sel turunan dari kanker leher rahim adalah sel HeLa. Penelitian ini bertujuan untuk

mengidentifikasi struktur senyawa steroid dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas kimia, botol semprot, botol vial, corong kaca, corong pisah, gunting, neraca analitik, penggaris, pensil, pipa kapiler, pipet mikro, pipet tetes, plat KLT, *rotary evaporator*, statif dan klem, spektrofotometer UV-Vis (*Variant Cary 100 Conc.*) dan spektrometer inframerah *Shimadzu IRTracer-100*.

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah akuades, ammonia, asam asetat, asam klorida, asam sulfat, batang tanaman andong (*Cordyline fruticosa*), besi (III) klorida, etil asetat teknis dan p.a, diklorometana teknis dan p.a, kloroform, metanol teknis dan p.a, *n*-heksana teknis dan p.a, padatan magnesium, pelet kalium bromida, reagen Dragendorff, reagen Liebermann-Buchard, reagen Wagner, dan reagen Mayer.

Prosedur Kerja

Batang tanaman andong (*Cordyline fruticosa*) yang telah dihaluskan diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol berulang-ulang sampai terekstraksi sempurna. Ekstrak metanol dipekatkan kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana dan etil asetat. Diperoleh fraksi *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan fraksi metanol, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Semua fraksi dan ekstrak metanol dilakukan uji fitokimia. Fraksi diklorometana selanjutnya dilakukan proses pemisahan dan pemurnian lebih lanjut untuk mendapatkan isolat. Proses pemisahan dan pemurnian meliputi beberapa metode yaitu kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi vakum cair (KVC) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG).

Teknik KLT dilakukan untuk menentukan eluen yang memberikan pola pemisahan yang paling baik untuk pemisahan dan pemurnian lanjutan. Fase diam yang digunakan adalah silika dan fase geraknya berupa diklorometana:etil asetat

(9:1). Fraksi diklorometana kemudian dipisahkan dengan menggunakan eluen diklorometana:etil asetat (9:1) dengan metode kromatografi vakum cair (KVC). Hasil dari proses KVC ini kemudian dilakukan pemisahan kembali menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG). Dari proses KVC dan KKG diperoleh isolat B₁.

Semua fraksi dan isolat B₁ kemudian diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa menggunakan metode MTT (tetrazolium (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolium bromida). Pada isolat B₁ juga dilakukan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer inframerah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia ekstrak kental metanol menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam batang andong adalah senyawa golongan flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin, alkaloid dan saponin. Data uji fitokimia ekstrak kental methanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Uji Fitokimia Ekstrak Kental Metanol Batang Andong

No.	Golongan senyawa	Uji/pereaksi	Hasil pengamatan
1.	Flavonoid	HCl dan pita Mg	Positif
2.	Steroid/triterpenoid	Lieberman-Buchard	Positif
3.	Tanin	FeCl ₃	Positif
4.	Alkaloid	Mayer Wagner	Positif
5.	Saponin	Uji busa	Positif

Ekstrak kental metanol ini kemudian dilakukan proses partisi dengan menggunakan beberapa pelarut. Hasil partisi ini disebut dengan fraksi. Keempat fraksi yang diperoleh kemudian dilakukan uji fitokimia, dan data hasil uji fitokimianya disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol memiliki kandungan senyawa steroid/triterpenoid, sedangkan untuk fraksi *n*-heksana menunjukkan hasil yang negatif.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Fraksi *n*-heksana, Fraksi Diklorometana, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol

No.	Uji	Fraksi			
		Metanol	<i>n</i> -heksana	Diklorometana	Etil asetat
1.	Flavonoid	+	-	+	+
2.	Steroid/ Terpenoid	+	-	+	+
3.	Saponin	+	-	+	+
4.	Alkaloid	-	-	+	+
5.	Tanin	+	+	+	+

Pemisahan dan Pemurnian

Hasil maserasi 3 kg daun andong diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 315 gram dan berwarna hitam kecoklatan. Pemisahan dan pemurnian dari fraksi diklorometana dilakukan menggunakan metode KVC dan KKG. Pada proses KVC sampel yang digunakan sebanyak 15 gram dan dihasilkan 33 fraksi eluat dengan kepolaran yang berbeda. Semua eluat diuji dengan KLT untuk mengetahui pola distribusi senyawa sehingga dapat digabungkan senyawa dengan nilai Rf yang sama. Fraksi digabungkan menjadi 7 fraksi berdasarkan kemiripan pola distribusi pada plat KLT seperti yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Jumlah Setiap Fraksi Gabungan Hasil KVC

No	Botol	Kode fraksi gabungan	Jumlah (g)	Rendemen (%)
1.	1-2	A	0,60	4
2.	3-10	B	2,36	15,74
3.	11-15	C	1,47	9,8
4.	16-21	D	1,76	11,73
5.	22-25	E	1,18	7,87
6.	26-30	F	1,50	10
7.	31-33	G	0,90	6

Fraksi dengan massa terbanyak yaitu fraksi B (2,36 gram) diteruskan untuk pemisahan lebih lanjut menggunakan metode KKG. Proses KKG dilakukan menggunakan eluen bergradien dengan pelarut berturut-turut yaitu diklorometana:etil asetat (1:9), etil asetat 100% dan metanol 100%.

Berdasarkan hasil KLT vial dengan nomor 3-5 memiliki pola pemisahan yang sama. Vial-vial ini kemudian digabungkan dan diberi kode fraksi B₁ dan pelarutnya diuapkan. Massa yang diperoleh sebanyak 10,97 mg. Isolat B₁ kemudian diuji kemurniannya menggunakan beberapa

variasi eluen dengan KLT satu dan dua dimensi untuk menentukan noda yang terbentuk. Berdasarkan hasil KLT isolat B₁ dengan berbagai eluen pada satu dan dua dimensi menunjukkan bahwa isolat memiliki noda tunggal. Hal ini berarti bahwa isolat B₁ sudah relatif murni. Selanjutnya isolat ini dikarakterisasi menggunakan spektroskopi *ultra violet-visible* (UV-Vis) dan spektroskopi inframerah.

Uji Aktivitas Sitotoksik

Ekstrak dan fraksi-fraksi serta isolat B₁ yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa menggunakan metode MTT (tetrazolium (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5 difeniltetrazolium bromida). Nilai IC₅₀ yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai IC₅₀ Uji Aktivitas Sitotoksik

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak metanol	282,24
Fraksi <i>n</i> -heksana	280,18
Fraksi diklorometana	256,28
Fraksi etil asetat	160,82
Fraksi metanol	177,24
Isolat B ₁	279,56

Semakin rendah nilai IC₅₀, maka aktivitas sitotoksik yang ditimbulkan semakin kuat. Berdasarkan Tabel 4 sampel yang memiliki aktivitas sitotoksik yang paling tinggi adalah fraksi etil asetat. Menurut Prayong (2008), sitotoksitas dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu: (1) sitotoksik potensial jika nilai IC₅₀<100 µg/mL, (2) sitotoksik sedang jika nilai 100 µg/mL<IC₅₀<1000 µg/mL, dan tidak toksik jika nilai IC₅₀>1000 µg/mL. Fraksi diklorometana dengan nilai IC₅₀ sebesar 256,28 µg/mL termasuk sitotoksik moderat.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa isolat B₁ memiliki nilai IC₅₀ sebesar 279,56 µg/mL, sedangkan fraksi diklorometana memiliki nilai IC₅₀ sebesar 256,28 µg/mL. Dari nilai tersebut, dapat diketahui bahwa kemampuan sitotoksik isolat lebih rendah dibandingkan dengan fraksi diklorometana. Hal ini disebabkan karena pada fraksi diklorometana masih terdapat senyawa lainnya seperti terpenoid, tannin, flavonoid dan saponin yang dapat bersinergis sehingga memiliki kemampuan sitotoksik yang tinggi dibandingkan dengan kemampuan sitotoksik yang hanya terdapat pada senyawa steroid.

Karakterisasi Senyawa

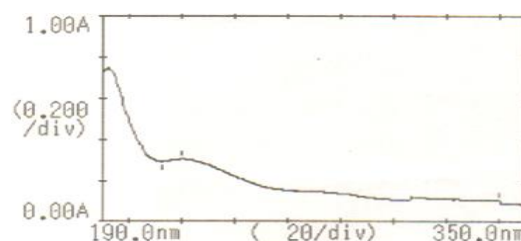
Hasil spektrum UV-Vis memperlihatkan bahwa isolat B₁ memberikan serapan pada panjang gelombang 339,5 dan 220,5 nm yang merupakan ciri khas transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Serapan pada panjang gelombang tersebut menunjukkan bahwa senyawa ini merupakan suatu senyawa aromatik. Transisi elektronik $n \rightarrow \pi^*$ terjadi dari gugus yang mempunyai pasangan elektron bebas, sedangkan transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ terjadi dari gugus yang mempunyai ikatan rangkap dua dari cincin senyawa steroid. Spektrum UV-Vis dari isolat B₁ dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil spektrum infra merah memperlihatkan bahwa isolat yang diperoleh menunjukkan serapan melebar

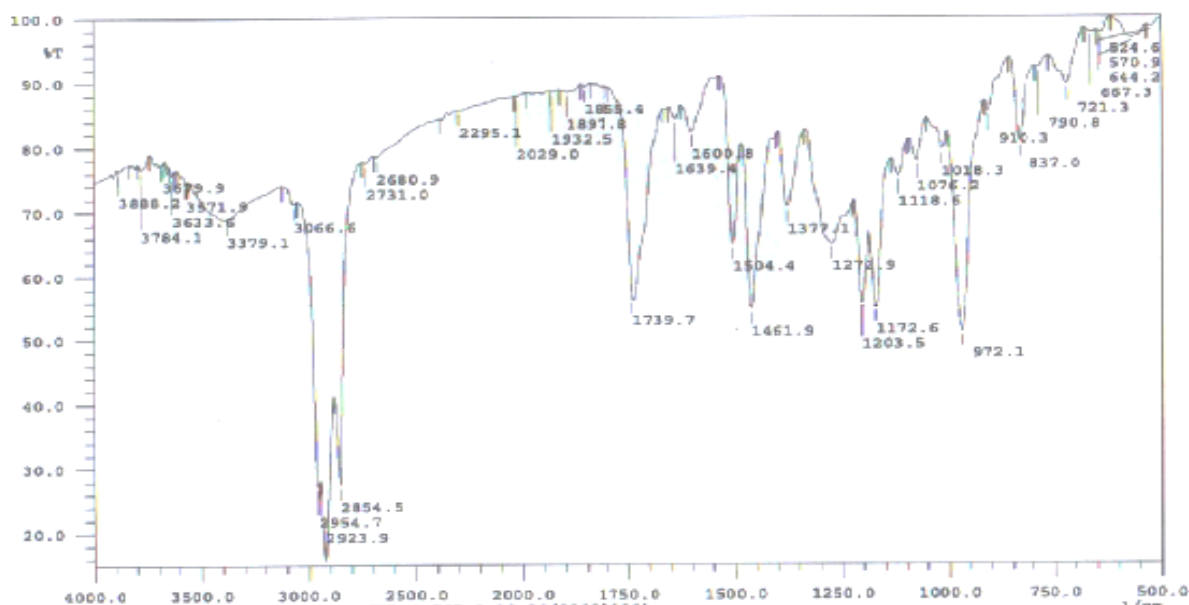
pada bilangan gelombang 2954-2854 cm⁻¹ dengan bentuk intensitas yang sangat kuat menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H alifatik. Serapan yang tajam dan kuat pada bilangan gelombang 1739,7 cm⁻¹ menunjukkan regangan dari gugus fungsi C=O karbonil. Pada bilangan gelombang 1461,9 cm⁻¹, pita serapan yang terbentuk adalah tajam dengan intensitas yang kuat menunjukkan ikatan C=C (sp²).

Serapan pada daerah bilangan gelombang 1272 cm⁻¹ dengan bentuk pita tajam dan intensitas sedang menunjukkan serapan alkohol sekunder (-CH-OH). Pada bilangan gelombang 1203-1172 cm⁻¹ dengan bentuk pita tajam dan intensitas kuat menunjukkan adanya ikatan C-O-C eter dari struktur.

Dari data ini dapat disimpulkan bahwa senyawa isolat B₁ mengandung gugus hidroksil (OH), alkil (CH₃ dan CH₂), alkohol sekunder (-CH-OH) dan ikatan C rangkap dua (C=C). Spektrum IR dari isolat B₁ dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Spektrum UV-Vis Isolat B₁



Gambar 2. Spektrum IR Isolat B₁

SIMPULAN

Berdasarkan spektrum UV-Vis dan spektrum IR menunjukkan adanya senyawa steroid pada fraksi B₁. Aktivitas sitotoksik yang ditimbulkan oleh isolat B₁ termasuk sitotoksik moderat.

DAFTAR PUSTAKA

- Bogoriani, N.W., Santi, S.R., & Asih, Sarsiti, I.A.R. 2007. Isolasi Senyawa Sitotoksik dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth). *J. Kim.* 1(1): 2-4.
- Dyary, H.O., Arifah, A.K., Sharma, R.S.K., & Rasedee, A. 2014. Antitrypanosomal and Cytotoxic Activities of Selected Medicinal Plants and Effect of *Cordyline terminalis* on Trypanosomal Nuclear and Kinetoplast Replication. *Pak Vet J.* 34(4): 444-445.
- Mimaki, Y., Kuroda, M., Takaashi, Y., dan Sashida, Y. 1996. Steroidal Saponin from the Leaves of *Cordyline stricta*. *Phytochemistry.* 47(1): 79-83.
- Putra, C.P., Kuspradini, H., & Wijaya, I. 2015. Antioxidant and Antibacterials of Leaves Extracts of *Cordyline fruticosa* Back. *Pure and Applied Chemistry International Conference.* 120-121.
- Prayong, P., Barusrux, S., Weerapreeyakul, N. 2008. Cytotoxic Activity Screening of Some Indigenous Thai Plants. *Fitoterapia,* 79(7):598-601.
- Wijayakusuma, H. 1992. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Jilid 2. Pustaka Kartini. Jakarta.