

Cytotoxic profiles of *Lithocarpus bancanus* Extract and Fractions Against a Lung Cancer Cell Line A549

(Profil Sitotoksik ekstrak *Lithocarpus bancanus* dan Fraksinya Terhadap Lini Sel Kanker Paru-Paru A549)

Artikel Penelitian

Hilwan Yuda Teruna^{1*}, Rudi Hendra¹, Retno Puji Lestari¹,
Muhammad Almurdani², Rizky Abdulah³

Abstract: *Lithocarpus bancanus* is a medicinal plant used by communities in Riau Province, Indonesia. This plant is a tree locally known in the province as *mempening*. In this study, the cytotoxic activity profiles of the methanolic extract, *n*-hexane fraction, dichloromethane fraction, and ethyl acetate fraction from *L. bancanus* leaves were evaluated against human lung cancer cells (A549 cell line) using the MTT assay. IC_{50} values were calculated from dose-response curves analyzed using the 4-parameter logistic (4PL) model. The results showed IC_{50} values of 455.1, 361.9, 132.9, and 304.7 $\mu\text{g/mL}$ for the methanolic extract, *n*-hexane fraction, dichloromethane fraction, and ethyl acetate fraction, respectively, with the dichloromethane fraction exhibiting relatively higher cytotoxic activity ($IC_{50} = 132.9 \mu\text{g/mL}$). Cisplatin was used as the positive control and showed an IC_{50} of 103.9 $\mu\text{g/mL}$. Meanwhile, the methanolic extract as well as the *n*-hexane and ethyl acetate fractions showed low cytotoxic activity, with IC_{50} values greater than 300 $\mu\text{g/mL}$. Therefore, the dichloromethane fraction can serve as a basis for further isolation to identify bioactive anticancer compounds.

Keywords: *Lithocarpus bancanus*, citotoxic, cell line A549, IC_{50}

- ¹ Jurusan Kimia FMIPA
Universitas Riau, Pekanbaru,
28293, Indonesia
- ² Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Riau, Pekanbaru 28293,
Indonesia
- ³ Departemen Farmakologi
dan Farmasi Klinik,
Universitas Padjadjaran,
Indonesia

Korespondensi:

Hilwan Yuda Teruna
hyteruna@lecturer.unri.ac.id

Abstrak: *Lithocarpus bancanus* merupakan tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat Provinsi Riau, Indonesia. Tumbuhan ini berupa pohon yang di provinsi ini dikenal dengan nama *mempening*. Dalam penelitian ini telah dikaji profil aktivitas sitotoksik ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi etil asetat dari daun *L. bancanus* terhadap sel kanker paru-paru (lini sel A549) dengan menggunakan metode MTT assay. Metode perhitungan IC_{50} menggunakan kurva dosis-respon yang dianalisis dengan model 4PL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas sitotoksik ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi etil asetat dengan aktivitas IC_{50} berturut-turut 455,1, 361,9, 132,9 dan 304,7 μL dengan fraksi diklorometana memiliki aktivitas sitotoksik yang relatif tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 132,9 μL . Senyawa obat untuk kontrol positif yang digunakan adalah cisplatin dengan IC_{50} 103,9 μL . Sementara itu ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik yang rendah dengan nilai IC_{50} besar dari 300 μL . Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa fraksi diklorometana dapat dijadikan dasar untuk pencarian senyawa bioaktif antikanker melalui proses isolasi lebih lanjut.

Kata kunci: *Lithocarpus bancanus*, sitotoksik, lini sel A549, IC_{50}

Pendahuluan

Pencarian senyawa bioaktif sebagai agen anti-kanker secara umum dapat diawali dari skrining ekstrak tumbuhan dan fraksi-fraksinya. Strategi ini didasarkan pada prinsip bahwa sebagian besar senyawa antikanker berasal dari metabolit sekunder tumbuhan yang beragam polaritasnya, sehingga fraksinasi bertahap membantu memusatkan sejumlah senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas biologis terhadap sel kanker. Dalam konteks penelitian terhadap *Lithocarpus bancanus*, ekstrak metanol dan fraksi-fraksinya telah digunakan sebagai titik awal skrining, dengan urutan pemisahan yang mengikuti gradasi kepolaran pelarut untuk meningkatkan peluang identifikasi senyawa bioaktif [1]. Fraksi yang dihasilkan adalah *n*-heksana, diklorometana, dan etil asetat yang mana ini mewakili rentang kepolaran yang luas dan secara praktis memungkinkan penyaringan aktivitas antikanker dari berbagai kelas senyawa fenolik, terpenoid, steroids, dan flavonoid yang umum ditemukan dalam tumbuhan [1, 2, 3].

Lithocarpus bancanus merupakan tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat daerah Riau yang dikenal dengan nama mampening dan termasuk kedalam family Fagaceae. Daun tumbuhan ini diketahui mengandung senyawa steroid, flavonoid, fenolik dan saponin serta ekstrak dan fraksinya memiliki aktivitas toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dimana fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas yang tinggi dengan nilai LC_{50} sebesar 3,15 ppm [4].

Hasil penelitian yang lain menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun *L. bancanus* memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH, dimana ekstrak metanol dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dengan nilai IC_{50} masing – masing sebesar $39,469 \pm 0,273$ dan $40,063 \pm 1,604$ ppm [5]

Penelitian aktivitas antikanker beberapa tumbuhan famili yang sama yaitu famili Fagaceae telah ada dilaporkan bahwa ekstrak kasar daun *L. polystachyus* yang mengandung senyawa flavonoid seperti *phloridzin*, *phloretin*, dan *quercetin* memiliki aktivitas antikanker terhadap

sel kanker payudara (MF-7) [6]. Namun aktivitas antikanker *L. bancanus* belum ada dilaporkan. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi *L. bancanus* terhadap lini sel kanker paru-paru (*cell line* A549). Ekstrak dan fraksi yang memiliki aktivitas sitotoksik dapat dijadikan dasar pencarian senyawa aktif anti kanker melalui proses isolasi senyawa murni.

Bahan dan Metode

Bahan

Daun mampening (*L. bancanus*) diperoleh dari Desa Kelayang, Kabupaten Indragiri Hulu. Lini sel kanker paru -paru (A549) merupakan koleksi kultur dari Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Universitas Padjadjaran.,

Metode

Ekstraksi

Sampel kering daun *L. bancanus* yang sudah dihaluskan dimaserasi menggunakan pelarut metanol pa (Merk), kemudian maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada temperature 40 °C hingga membentuk ekstrak kental metanol. Selanjutnya ekstraks methanol difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana pa. (Merck), diklorometana pa. (Merck) dan etil asetat pa. (Merck) secara berurutan hingga diperoleh fraksi *n*-heksana, diklorometana dan etil asetat. Pelarut yang terkandung pada fraksi-fraksi tersebut diuapkan hingga diperoleh fraksi kental.

Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker paru – paru (A549)

Lini sel kanker paru ditanam dalam medium Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM) yang mengandung 10% Fetal Bovine Serum dan 1% larutan *penicillin-streptomycin* (Gibco, Paisley, UK). Biakan dipertahankan pada suhu 37 °C dalam atmosfer 5% CO₂ di dalam 96-wells tissue culture plate. Sel dengan *confluency* 70-80% diremajakan dengan media baru bebas serum, selanjutnya diinkubasi selama 4 jam, dan kemudian diberi ekstrak dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 ppm. Setelah 24 jam inkubasi, reagen Cell Counting Kit-8 (Dojindo, Rockville-MD, USA) ditambahkan dan

campuran diinkubasi selama 2 jam. Absorbansi suspensi sel diukur menggunakan spektrofotometer Tecan Infinite (Tecan, Grodig, Austria) pada 450 nm dengan Cisplatin dengan (200; 100; 50; 25; 12,5 dan 6,25 ppm) sebagai kontrol positif diuji dengan metode yang sama dengan ekstrak [7].

Uji Statistika

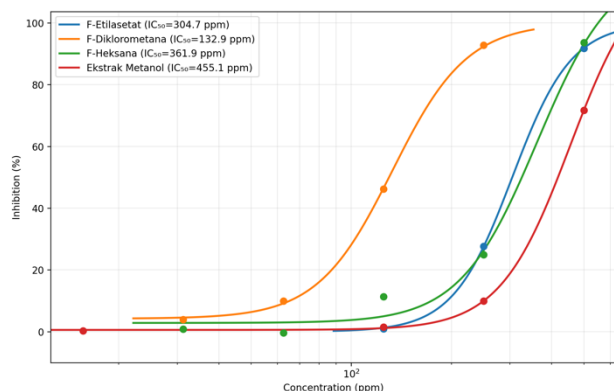
Data absorbansi yang diperoleh dikonversi ke dalam persen sel hidup. Persentase kematian dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Kematian sel} = \frac{\sum \text{Sel hidup Kontrol} - \sum \text{Sel hidup Perlakuan}}{\sum \text{Sel hidup Kontrol}} \times 100\%$$

Analisis akhir dilakukan dengan perhitungan nilai IC_{50} dengan kurva dosis-respon yang dianalisa dengan metode 4PL.

Hasil dan Diskusi

Gambar 1 adalah grafik perhitungan nilai IC_{50} dengan kurva dosis-respon yang dianalisa dengan metode 4PL



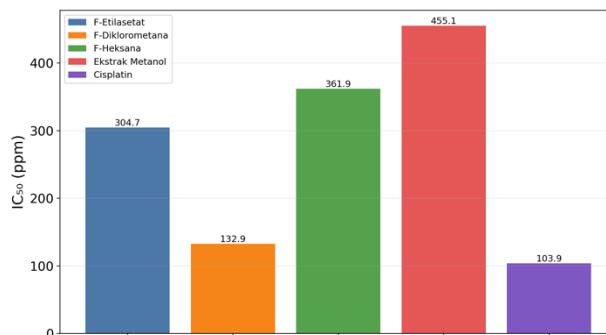
Gambar 1. Grafik perhitungan nilai IC_{50} dengan kurva dosis-respon (metode 4PL).

Hasil pengujian aktivitas sitotoksik dari masing-masing ekstrak dan fraksi daun *L. bancanus* terhadap lini sel kanker paru-paru (**Tabel 1**) menunjukkan bahwa fraksi diklorometana menunjukkan aktivitas yang cukup menjanjikan dengan nilai IC_{50} sebesar 132,9 μ L sedangkan aktivitas ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik yang rendah dengan nilai IC_{50} besar dari 300 μ L.

Tabel 1. Aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun *L. bancanus* terhadap lini sel kanker paru-paru (Cell line A549).

No	Ekstrak dan fraksi	IC_{50} (μ L)
1	Fraksi <i>n</i> -heksana	361,9
2	Fraksi diklorometana	132,9
3	Fraksi etil asetat	304,7
4	Ekstrak metanol	455,1
5	Cisplatin	103,9

Gambar 2 memperlihatkan perbandingan IC_{50} dalam bentuk diagram batang. Ekstrak atau fraksi dalam pelarut yang berbeda menunjukkan pola penghambatan berbeda terhadap aktivitas sitotoksiknya karena perbedaan polaritasnya [5]. Rendahnya aktivitas sitotoksik ekstrak metanol karena masih berbagai senyawa dengan kepolaran yang berbeda, sedangkan pada fraksi *n*-heksana dan etil asetat disebabkan kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak dan fraksi tersebut yang tidak mendukung aktivitas ini. Dari diagram ini terlihat bahwa perbedaan IC_{50} cisplatin dan fraksi diklorometan tidak terlalu signifikan.



Gambar 2. Diagram IC_{50} (μ L) ekstrak dan fraksi daun *L. bancanus* terhadap lini sel kanker paru-paru (cell line A549).

Fraksi diklorometana memiliki aktivitas sitotoksik yang cukup tinggi, hal ini dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang dikandung fraksi tersebut. Pada umumnya pelarut diklorometana mampu mengekstrak senyawa yang bersifat semi polar terutama golongan terpenoid dimana golongan senyawa ini banyak dilaporkan aktivitasnya sebagai

antikanker [8]. Berdasarkan uji fitokimia pada penelitian sebelumnya, ekstrak yang difraksi dengan kloroform diketahui mengandung senyawa terpenoid [4].

Kesimpulan

Fraksi diklorometana dari daun tumbuhan *L. bancanus* memiliki aktivitas sitoksisik yang kuat bila dibandingkan dengan ekstrak metanol, fraksi n-heksana dan etil asetat. Dengan demikian fraksi diklorometana ini dapat dijadikan dasar dalam pencarian senyawa bioaktif antikanker melalui proses isolasi senyawa murni.

Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Dekan FMIPA UNIVERSITAS RIAU atas pendanaan penelitian ini dengan Nomor Kontrak: 1563/UN19.5.1.1.3/AL.04/2024, Tanggal 14 Juni 2024.

Referensi

1. Almuradani, M., Zamri, A., Nugroho, T., Karim, J., Eryanti, Y., Hendra, R. & Teruna, H. (2020). Antioxidant and antidiabetic activities of mempening (*Lithocarpus bancanus*) leaves. *Pharmacognosy Journal*, 12(2), 328-334. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.52>
2. Mukavi, J., Mayeku, P., Nyaga, J., & Kituyi, S. (2020). *In vitro* anti-cancer efficacy and phyto-chemical screening of solvent extracts of *Kigelia africana* (Lam.) Benth. *Heliyon*, 6(7), e04481. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04481>
3. Al-Faifi, Z. (2019). *In vitro* anticancer, antioxidant and antimicrobial Activities of crude methanolic extract of *Euphorbia cactus* Ehrenb plant. *International Journal of Pharmacology*, 15(8), 907-915. <https://doi.org/10.3923/ijp.2019.907.915>
4. Lestari, R.P., Hendra, R., Teruna, H.Y. (2019) Analisis fitokimia dan toksisitas dari ekstrak daun tumbuhan mempening (*Lithocarpus*

bancanus (Scheff.) Rehd) menggunakan metode BSLT (*brine shrimp lethality test*). *Journal Pharm Sci*. 2 (2):29-33.

5. Wang, J., Chung, M.H., Xue, B., Ma, H., Ma, C., Hattori, M. (2010). Estrogenic and antiestrogenic activities of phloridzin. *Biol Pharm Bull*. 2010; 33 (4):592-7.
6. Lu, Z-H., Gu, X.J., Shi, K.Z., Li, X., Chen, D.D., Chen, L. (2017). Accessing anti-human lung tumor cell line (A549) potential of newer 3,5-disubstituted pyrazoline analogs. *Arab J Chem*. 10 (5):624-30.
7. Senapati, S., Mahanta, A.K., Kumar, S., Maiti, P. (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduct. Target. Ther*. 3: 1-19.
8. Faisal, M., Maungchanburee, S., Dokduang, S., Rattanburee, T., Tedasen, A., Graidist, A.P. (2021). Dichloromethane crude extract of *Gymnanthemum extensum* combined with low piperine fractional *Piper nigrum* extract induces apoptosis on human breast cancer cells. *Indian J Pharm Sci*. 83 (2):247-60.