

# PEMISAHAN SENYAWA-SENYAWA YANG BERSIFAT SITOTOKSIK TERHADAP SEL MURIN LEUKEMIA P388 DARI EKSTRAK METANOL KULIT BATANG *DIPTEROCARPUS CONFERTUS* SLOOT (DIPTEROCARPACEAE)

Muhtadi dan Peni Indrayudha

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Correspondence to: Muhtadi

Email: muhtadi@ums.ac.id

## ABSTRACT

Six compounds, KP-1 up to KP-6 were isolated from the methanol extract of the tree bark of *Dipterocarpus confertus* Sloot (Dipterocarpaceae). The cytotoxic activities of these compounds were evaluated against murine leukemia P388 cells. Result of these examination indicated that KP-2 compound and KP-1 were very active with each  $IC_{50}$  value of these compounds were 2.25 and 5.1  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. While the others were not active against murine leukemia P388 cells.

**Keywords:** *Dipterocarpaceae*, *Dipterocarpus confertus* Sloot, isolated compounds, cytotoxic, and murine leukemia P-388 cell

## PENDAHULUAN

Dipterocarpaceae atau yang lebih dikenal dengan nama daerah “meranti, keruing, atau kamfer” merupakan salah satu famili tumbuhan yang relatif besar yang terdiri dari 16 genus dan 600 spesies (Cronquist, 1981). Keberadaan tumbuhan ini sangat melimpah di wilayah Indonesia tengah khususnya di pulau Kalimantan dan Sumatera dan penyebarannya meliputi Indonesia bagian barat, Malaysia, Brunei dan Filipina, serta ke arah timur hingga Irian Jaya dan Papua Niugini (Newman *et al.*, 1999). Tiga genus utama dari famili ini adalah *Shorea* (“meranti”, 150 spesies), *Hopea* (“merawan” atau “tengkawang” atau “damar mata kucing”, 100 spesies) dan *Dipterocarpus* (“keruing”, 75 spesies) (Newman *et al.*, 1999; Soerianegara dan Lemmens, 1994).

Dipterocarpaceae merupakan tumbuhan penghasil kayu yang sangat unggul kualitasnya, karena memiliki batang lurus, berpenampang bundar, hanya sedikit sekali yang bercabang, memiliki kayu yang berat, keras, berserat kasar, dan kuat dengan diameter melintang diatas 50 cm, sehingga sangat baik untuk bahan bangunan dan industri kayu lapis (Sukhla *et al.*, 1990). Kayu meranti dan keruing misalnya, adalah jenis kayu

bangunan yang berkualitas tinggi karena tahan rayap atau serangga lainnya. Disamping itu, tumbuhan Dipterocarpaceae juga penghasil resin atau damar yang tinggi, yang digunakan untuk *varnish* atau cat. Sementara itu, biji tengkawang yang dihasilkan dari tumbuhan *Shorea* dan *Isoptera*, dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti bahan industri makanan, sabun, obat-obatan seperti obat sariawan dan kosmetika. Oleh karena itu, tumbuhan ini merupakan sumber devisa negara yang sangat potensial untuk komoditi ekspor (Heyne, 1987).

Berdasarkan penelusuran literatur, kandungan metabolit sekunder dari tumbuhan famili Dipterocarpaceae sangat beraneka ragam, yang meliputi golongan fenol, seperti oligostilbenoid (oligomer resveratrol), flavonoid, fenilpropanoid, dan turunan asam fenolat, serta golongan non-fenol, yaitu triterpenoid (Hegnauer, 1966; Sotheeswaran and Pasuphaty, 1993; Hakim, 2002).

Senyawa-senyawa oligomer resveratrol yang diperoleh dari hasil isolasi tumbuhan famili Dipterocarpaceae mempunyai aktivitas biologi yang potensial pada beberapa uji farmakologi, seperti anti-HIV (Dai *et al.*, 1998), antibakteri

(Sultanbawa *et al.*, 1987; Geewananda *et al.*, 1986; Zgoda-Pols *et al.*, 2002), antifungal (Pryce and Langcake, 1977; Bokel *et al.*, 1988), antioksidan (Tanaka *et al.*, 2000-b), antiinflamasi (Kitanaka *et al.*, 1990; Huang, 2001), sitotoksik (Dai *et al.*, 1998; Ito *et al.*, 2001-b) dan hepatoprotektif (Oshima *et al.*, 1993). Selain itu, beberapa senyawa oligomer resveratrol juga dilaporkan dapat menghambat enzim 5 $\alpha$ -reduktase (Hirano *et al.*, 2001) dan enzim asetilkolinesterase (Sung *et al.*, 2002).

Genus *Dipterocarpus* yang merupakan genus terbesar ketiga dalam famili Dipterocarpaceae, ternyata belum banyak dikaji aspek kandungan metabolit sekundernya khususnya dari golongan senyawa fenolik. Berdasarkan kajian literatur dari 75 spesies yang ada di dunia, 38 spesies diantaranya ada di Indonesia dan ternyata baru 5 (lima) spesies dari genus ini yang telah diteliti kandungan metabolit sekundernya. Satu spesies, *D. grandiflorus* diteliti oleh Ito *et al.* (2004) diperoleh empatbelas senyawa fenolik, dua diantaranya adalah senyawa baru yaitu grandifenol A dan B. Empat spesies yang lain, *D. retusus* Blume, *D. hasseltii* Blume, *D. intricatus* Dyer dan *D. elongatus* Korth telah dikerjakan oleh peneliti dalam kurun waktu 3 (tiga) tahun terakhir (Muhtadi, 2005; 2006a; 2006b; 2006c; 2006d, 2007).

Fakta fitokimia dari genus ini memperkuat informasi ilmiah sebelumnya, bahwa tumbuhan famili Dipterocarpaceae, memiliki kandungan utama senyawa-senyawa oligomer resveratrol yang memiliki efek farmakologis yang potensial dan menarik. Senyawa (-)-vatanol C yang diisolasi dari dua spesies *Dipterocarpus*, yakni dari *D. intricatus* dan *D. grandiflorus* telah dilaporkan memiliki aktivitas antikanker yang tinggi terhadap sepuluh sel panel kanker yang diujikan, sehingga telah dipromosikan sebagai obat antikanker oleh Ito *et al.* (2001-b). Adanya kecenderungan diperolehnya senyawa-senyawa tetramer resveratrol yang baru dari genus *Dipterocarpus*, memberikan peluang diperolehnya bahan obat alam yang baru dan berpotensi dalam aktivitasnya sebagai antikanker.

Dalam makalah ini akan disampaikan pemisahan enam senyawa KP-1 hingga KP-6 dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *D. confertus* Sloot dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel murin leukemia P-388. Pemisahan

senyawa-senyawa fenolik dari spesies *D. confertus* Sloot ini merupakan penelitian terbaru yang belum pernah dilaporkan sebelumnya.

Karakterisasi senyawa-senyawa hasil-hasil isolasi ditetapkan berdasarkan data spektroskopi UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR serta perbandingan dengan data sejenis yang telah dilaporkan. Sedangkan uji sitotoksitasnya ditentukan dengan menggunakan sel murin leukemia P-388 berdasarkan prosedur standar NCI (Hostettmann, 1991).

## METODE PENELITIAN

**Alat.** Spektrum UV dan IR ditetapkan dengan Cary Varian 100 Conc. dan Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spectrophotometers. Spektrum <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C-NMR ditentukan dengan spektrofotometer JEOL ECP400, yang beroperasi pada 400 MHz (<sup>1</sup>H) dan 100 MHz (<sup>13</sup>C). Kromatografi cair vakum menggunakan Silika 60 GF<sub>254</sub> (Merck), kromatografi radial menggunakan Silika 60 PF<sub>254</sub> (Merck), dan analisis KLT menggunakan plat KLT Kieselgel 60 GF<sub>254</sub> 0,25 mm (Merck).

**Bahan.** Bahan tumbuhan yang digunakan adalah kulit batang *D. confertus* Sloot, diperoleh dari Bukit Bengkirai Kalimantan Timur (Kaltim), pada bulan Oktober 2005. Tumbuhan tersebut telah diidentifikasi oleh staf Herbarium Bogoriensis dan spesimennya telah disimpan di laboratorium Herbarium Bogoriensis, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor. Sedangkan pelarut yang digunakan semuanya berkualitas teknis yang telah didestilasi.

## Ekstraksi dan isolasi

Serbuk kering kulit batang *D. confertus* Sloot sebanyak 4,3 kg diekstraksi dengan metanol (10 L) menggunakan teknik maserasi tiga kali berturut-turut @ 24 jam menghasilkan 480 g ekstrak metanol total. Ekstrak metanol tersebut, selanjutnya dilarutkan kembali dalam campuran MeOH-dietileter untuk pengendapan taninnya, sehingga menghasilkan fraksi terlarut MeOH-dietileter, berupa gum berwarna coklat gelap (284 g). Fraksi MeOH-dietileter sebanyak 50 g kemudian difraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) dalam 2 kali pengerjaan [adsorben Si-gel, eluen yang digunakan heksan-etilasetat (6:4-etilasetat 100%, etilasetat : metanol (76:3))] menghasilkan 9 fraksi utama A s.d I (masing-

masing tidak ditimbang (A); 0,30; 0,50; 1,40; 3,22; 0,40; 0,367; 2,0 dan 4,84 g). Fraksi C (berat 500 mg) dilakukan pemurnian terlebih dahulu, dengan metode kromatografi kolom tekan (KKT) diameter kolom 4 cm dan eluen yang digunakan n-heksana : etilasetat = 8 : 2. Setelah dilanjutkan dengan proses rekristalisasi diperoleh senyawa KP-2 (berat 113 mg). Sedangkan dari proses pemurnian dari fraksi C<sub>2</sub>, dengan cara rekristalisasi dan pencucian dengan pelarut metanol, diperoleh senyawa KP-3 (sebanyak 105 mg). Dari fraksi gabungan E dan F, dilakukan rekristalisasi dan pencucian dengan pelarut aseton dan metanol diperoleh senyawa KP-1 (sebanyak 190 mg). Dari fraksi H sebanyak 670 mg dilakukan pemurnian dengan metode KKT berulang-ulang, diperoleh senyawa KP-4 sebanyak 210 mg dan KP-6 sebanyak 5 mg. Sedangkan dari fraksi G (sebanyak 350 mg) dilakukan pemurnian dengan metode KKT dua tahap, diperoleh senyawa KP-5 (berat 23 mg).

#### **Pengujian aktivitas sitotoksik**

Aktivitas sitotoksik senyawa KP-1 s.d KP-5 dinyatakan sebagai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menginhibisi 50% sel murin leukemia P-388 melalui pewarnaan pereaksi MTT. Uji dilakukan dengan cara menambahkan berbagai konsentrasi ketiga senyawa tersebut ke dalam biakan sel murin leukemia P-388. Setelah diinkubasi selama 48 jam, ke dalam sampel ditambahkan pereaksi warna MTT dan diinkubasikan kembali selama 4 jam. Jumlah sel tumor P-388 yang terinhibisi oleh sampel diukur dari serapannya dengan menggunakan alat pembaca pelat mikro pada  $\lambda$  540 nm setelah penambahan larutan penghenti pertumbuhan. Nilai IC<sub>50</sub> dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan kontrol positif pada kurva serapan terhadap berbagai konsentrasi sampel menggunakan grafik semilogaritma.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Enam senyawa murni telah berhasil diisolasi dari kulit batang *D. confertus* Sloot. Berdasarkan analisis data spektroskopi yang sudah ada, menunjukkan bahwa KP-1 dan KP-3 mengindikasikan sebagai senyawa triterpenoid, senyawa KP-2, KP-5 dan KP-6 mengindikasikan sebagai flavonoid, sedangkan senyawa KP-4 adalah trimer resveratrol, yaitu  $\alpha$ -viniferin.

Senyawa KP-1, diperoleh sebagai serbuk putih, spektrum UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  203,5 nm, khas

untuk kromofor senyawa nonfenolik; sedangkan spektrum IR (pellet KBr) menunjukkan puncak-puncak serapan pada  $\nu_{\text{maks}}$  2943 dan 2869 cm<sup>-1</sup> (C-H alifatik), 1687 cm<sup>-1</sup> (C=C alifatik), 1234 dan 1191 cm<sup>-1</sup> (C-OH alifatik), memperkuat sebagai senyawa nonfenolik. Pengukuran H-NMR dan C-NMR sedang dikerjakan (di UKM). Berdasarkan data spektrum UV dan IR, senyawa KP-1 mengindikasikan sebagai senyawa triterpenoid.

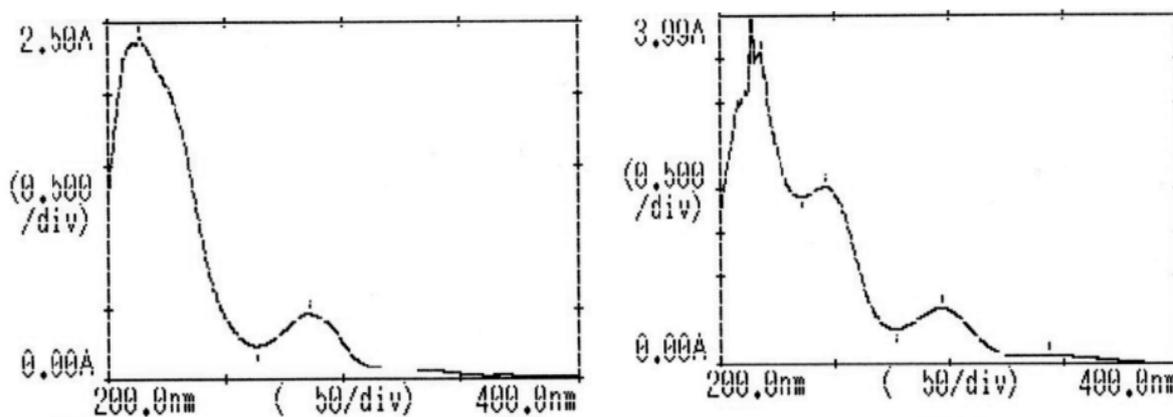
Senyawa KP-2, diperoleh sebagai serbuk kuning, spektrum UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  205, 229,5 dan 329,5 nm. Penambahan NaOH terjadi pergeseran batokromik sebesar 9 nm pada pita I. IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  3026 cm<sup>-1</sup> (-OH), 1651, 1573, dan 1448 cm<sup>-1</sup> (C=C benzena), 1342 dan 1193 cm<sup>-1</sup> (C-O oksiaril). Pengukuran H-NMR dan C-NMR sedang diproses (di UKM). Berdasarkan data spektrum UV dan IR, senyawa KP-2 mengindikasikan sebagai senyawa flavonoid.

Senyawa KP-3, diperoleh sebagai serbuk putih, spektrum UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  202,5 nm; spektrum IR senyawa senyawa KP-3 menunjukkan adanya serapan yang kuat pada bilangan gelombang  $\nu_{\text{maks}}$  3204 cm<sup>-1</sup> yang berasal dari regangan ulur gugus O-H, diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang  $\nu_{\text{maks}}$  1049 cm<sup>-1</sup> dari gugus C-O alkohol sekunder. Pada bilangan gelombang  $\nu_{\text{maks}}$  2900 dan 2850 cm<sup>-1</sup> terdapat serapan yang sangat kuat dari regangan ulur gugus C-H alifatik gugus CH<sub>2</sub> dan CH<sub>3</sub> diikuti dengan serapan pada  $\nu_{\text{maks}}$  1464 dan 1379 cm<sup>-1</sup> yang berasal dari tekukan C-H alifatik dari gugus CH<sub>2</sub> dan CH<sub>3</sub> yang khas untuk golongan terpenoid. Adanya serapan dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang  $\nu_{\text{maks}}$  1622 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya regangan ulur C=C dari gugus C-H rangkap dua (-C=C-H) siklik. Berdasarkan analisis database IR-nya, memiliki kemiripan dengan  $\beta$ -sitosterol sebesar 93%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa KP-3 adalah senyawa  $\beta$ -sitosterol.

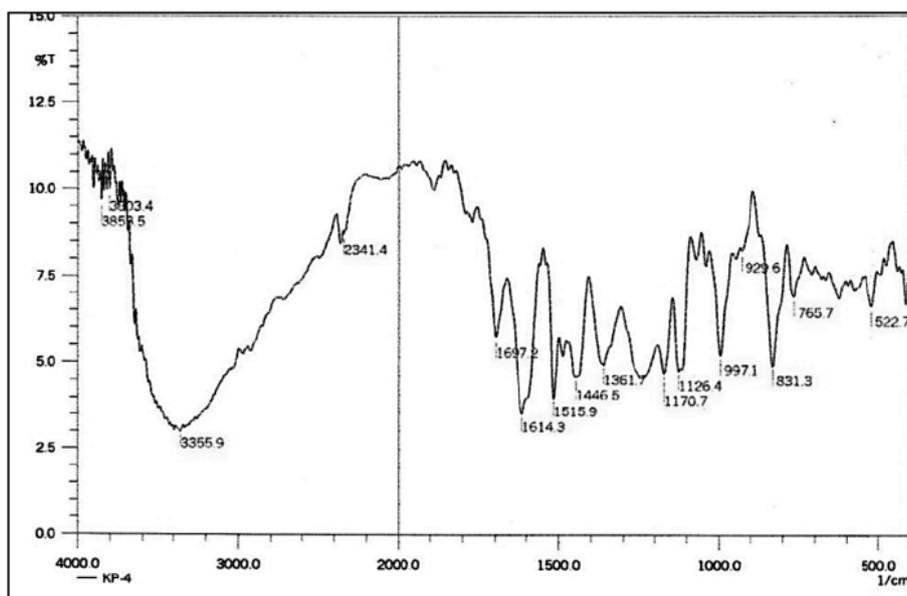
Senyawa KP-4, diperoleh sebagai serbuk putih kecoklatan, spektrum UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  213,5, 228 (bahu) dan 286 nm. Penambahan NaOH terjadi pergeseran batokromik sebesar 11 nm, yang khas untuk kromofor stilben (Ito *et al.*, 2001-a). Spektrum IR (pellet KBr) senyawa KP-4 memperlihatkan ciri-ciri yang sesuai untuk senyawa oligomer resveratrol dengan pita-pita serapan pada  $\nu_{\text{maks}}$  3355 cm<sup>-1</sup> (-OH),

1614, 1515, dan 1446  $\text{cm}^{-1}$  (C=C benzena), 1361 dan 1170  $\text{cm}^{-1}$  (C-O oksiaril) serta dan 831  $\text{cm}^{-1}$  (*p*-disubstitusibenzena). Berdasarkan tersubstitusi.

data spektrum UV dan IR, senyawa KP-4 mengindikasikan sebagai senyawa oligomer resveratrol dengan ikatan rangkap yang telah



Gambar 1. Spektrum UV KP-4 (MeOH) (kiri) dan KP-4 + NaOH (kanan)

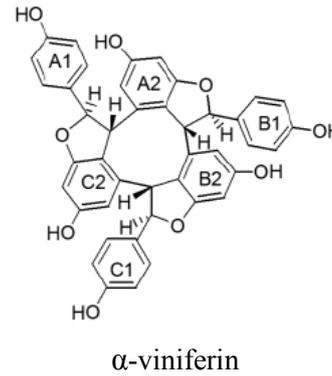


Gambar 2. Spektrum IR KP-4 (pellet KBr)

Data spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR (Tabel 1) menunjukkan adanya 35 sinyal yang mewakili 42 karbon, mengindikasikan bahwa senyawa KP-4 adalah suatu trimer resveratrol (3 X 14 karbon). Sinyal-sinyal karbon yang menjadi karakteristik dari senyawa KP-4 adalah adanya enam karbon alifatik pada  $\delta_{\text{C}}$  46,4–95,6 ppm, yang menunjukkan adanya tiga cincin dihidrobenzofuran, sembilan karbon kuarterner ( $\delta_{\text{C}}$  118,8 – 141,2 ppm); yang meliputi enam karbon kuarterner merupakan bagian dari kerangka dasar karbon siklononan dan tiga karbon kuarterner ( $\delta_{\text{C}}$  130,0–132,2 ppm)

untuk C-1a/b/c; sembilan karbon oksiaril ( $\delta_{\text{C}}$  157,9 – 161,8 ppm) yang mendukung sebagai trimer resveratrol, dan 18 karbon metin aromatik ( $\delta_{\text{C}}$  96,9 – 128,7 ppm). Sementara itu, spektrum  $^1\text{H}$  NMR (Tabel 1) menunjukkan sinyal-sinyal proton yang sesuai untuk tiga unit *p*-hidroksifenil pada  $\delta$  7,03; 6,72; 7,02; 6,78; 7,20 dan 6,76 ppm, adanya tiga unit 1,2,3,5-tetrasubstitusibenzena pada  $\delta$  6,24; 6,72; 6,23; 5,98; 6,20 dan 6,58 ppm, dan tiga unit 2,3-disubstitusi-2,3-dihidrobenzofuran pada  $\delta$  6,21; 3,95; 4,89; 4,60; 5,93 dan 4,68 ppm.

Karakteristik unit-unit struktur tersebut menyarankan bahwa senyawa KP-4 ini memiliki struktur molekul sama dengan (-)- $\alpha$ -viniferin yang telah dilaporkan oleh Pryce and Langcake (1977) yang diisolasi dari *Vitis vinifera* (Vitaceae). Perbandingan data  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR (Tabel 1) senyawa KP-4 dengan (-)- $\alpha$ -viniferin oleh Pryce and Langcake (1977) memperlihatkan kesesuaian yang tinggi. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa KP-4 adalah  $\alpha$ -viniferin.



Tabel 1. Data  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR (aseton- $d_6$ ) senyawa KP-4

No. C	$\delta_H$ (multiplisitas, J dalam Hz)		$\delta_C$	
	KP-4	$\alpha$ -viniferin	KP-4	$\alpha$ -viniferin
1a	-	-	132,0	132,0
2/6a	7,03 (d, J = 8,8)	7,03 (d, J = 8,5)	128,2	128,1
3/5a	6,72 (d, J = 8,8)	6,72 (d, J = 8,5)	115,7	115,7
4a	-	-	158,2	157,8
7a	6,21 (brs)	6,21 (brs)	86,4	86,4
8a	3,95 (brs)	3,98 (brs)	46,4	46,4
9a	-	-	141,2	141,2
10a	-	-	120,9	120,9
11a	-	-	160,6	161,6
12a	6,24 (d, J = 1,8)	6,25 (d, J = 1,8)	98,0	98,0
13a	-	-	159,3	159,3
14a	6,72 (d, J = 1,8)	6,72 (d, J = 1,8)	106,2	106,2
1b	-	-	132,5	132,5
2/6b	7,02 (d, J = 8,4)	7,08 (d, J = 8,5)	128,7	128,6
3/5b	6,78 (d, J = 8,4)	6,79 (d, J = 8,5)	116,1	116,1
4b	-	-	158,4	158,3
7b	4,89 (d, J = 6,2)	4,90 (d, J = 6,4)	95,6	95,6
8b	4,60 (d, J = 6,2)	4,61 (d, J = 6,4)	55,7	55,6
9b	-	-	141,2	141,2
10b	-	-	118,8	118,8
11b	-	-	161,6	161,6
12b	6,23 (d, J = 1,8)	6,22 (d, J = 1,8)	98,0	98,0
13b	-	-	159,3	159,3
14b	5,98 (d, J = 1,8)	5,99 (d, J = 1,8)	108,6	108,5
1c	-	-	132,0	132,0
2/6c	7,20 (d, J = 8,4)	7,22 (d, J = 8,5)	128,1	128,1
3/5c	6,76 (d, J = 8,4)	6,77 (d, J = 8,5)	116,1	116,2
4c	-	-	157,9	157,8
7c	5,93 (d, J = 9,9)	5,95 (d, J = 9,7)	90,0	90,0
8c	4,68 (d, J = 9,9)	4,71 (d, J = 9,7)	52,8	52,8
9c	-	-	138,7	138,7
10c	-	-	119,7	119,7
11c	-	-	161,7	161,7
12c	6,20 (d, J = 1,8)	6,15 (d, J = 2,0)	96,9	96,9
13c	-	-	160,7	160,8
14c	6,58 (d, J = 1,8)	6,46 (d, J = 2,0)	105,8	105,8

\*data diambil dari Pryce and Langcake (1977).

Senyawa KP-5, diperoleh sebagai serbuk putih kecoklatan, spektrum UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  205, 218, 260 dan 290 nm. Penambahan NaOH terjadi

pergeseran batokromik sebesar 6 nm, yang khas untuk kromofor fenolik sederhana. Spektrum IR (pellet KBr) senyawa KP-5 memperlihatkan pita-

pita serapan pada  $\nu_{\text{maks}}$  3485  $\text{cm}^{-1}$  (-OH), 1679  $\text{cm}^{-1}$  (C=O karbonil), 1598, 1521, dan 1433  $\text{cm}^{-1}$  (C=C benzena), 1299 dan 1207  $\text{cm}^{-1}$  (C-O oksiaril). Pengukuran H-NMR dan C-NMR sedang diproses (di UKM). Berdasarkan data spektrum UV dan IR, senyawa KP-5 mengindikasikan sebagai senyawa flavonoid.

Senyawa KP-6, diperoleh sebagai serbuk putih kecoklatan, spektrum UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  203, 217, 298 dan 325 nm. Penambahan NaOH terjadi pergeseran batokromik sebesar 49 nm, yang khas untuk kromofor fenolik sederhana. Spektrum IR (pellet KBr) senyawa KP-6 memperlihatkan pita-pita serapan pada  $\nu_{\text{maks}}$  2920 dan 2850  $\text{cm}^{-1}$  (C-H alifatik), 1697  $\text{cm}^{-1}$  (C=O karbonil), 1600, 1515, dan 1461  $\text{cm}^{-1}$  (C=C benzena), 1272 dan 1107  $\text{cm}^{-1}$  (C-O oksiaril). Pengukuran H-NMR dan C-NMR sedang diproses (di UKM). Berdasarkan data spektrum UV dan IR, senyawa KP-6 lebih mengindikasikan sebagai senyawa flavonoid.

#### Hasil uji sitotoksik

Hasil pengujian sitotoksitas terhadap sel murin leukemia P-388 memperlihatkan harga  $\text{IC}_{50}$  masing-masing: senyawa adalah : **KP-1** ( $\text{IC}_{50}$

= 5,1  $\mu\text{g/ml}$ ), **KP-2** ( $\text{IC}_{50}$  = 2,25  $\mu\text{g/ml}$ ), **KP-3** ( $\text{IC}_{50}$  tidak terukur), **KP-4** ( $\text{IC}_{50}$  = 71,0  $\mu\text{g/ml}$ ), **KP-5** ( $\text{IC}_{50}$  = 67,0  $\mu\text{g/ml}$ ) dan **KP-6** (tidak diukur, jumlah sangat sedikit).

Efek sitotoksik terhadap sel uji tumor (*malignant cell lines*) secara *in vitro* menurut Alley (1988) dikategorikan sangat aktif (++) untuk nilai  $\text{IC}_{50}$  <2  $\mu\text{g/ml}$ , aktif (+) 2-4  $\mu\text{g/ml}$ , dan tidak aktif bila  $\text{IC}_{50}$  >4  $\mu\text{g/ml}$ . Kategori berdasarkan satuan  $\mu\text{g/ml}$  memiliki kelemahan karena tidak memperhatikan ukuran (berat) molekul. Sedangkan menurut Ito *et al.* (2003), berdasarkan hasil kajian sitotoksik terhadap beberapa sel uji kanker dari senyawa-senyawa oligomer resveratrol, dinyatakan bahwa senyawa dikatakan sangat aktif (++) bila memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  <10  $\mu\text{M}$ , aktif (+) 10-20  $\mu\text{M}$ , dan tidak aktif jika nilai  $\text{IC}_{50}$  >20  $\mu\text{M}$ .

Hasil pengujian efek sitotoksik senyawa-senyawa hasil isolasi terhadap sel murin leukemia P388 [ex. HSRRB Lot Number: 113098 seed (JCRB0017)] yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia Institut Teknologi Bandung sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil pengujian efek sitotoksik senyawa-senyawa hasil isolasi terhadap sel murin leukemia P388

NO.	SENYAWA	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	KET.*	KET.**
	KP-1	5,1	Tidak aktif	Sangat aktif
	KP-2	2,25	Aktif	Sangat aktif
	KP-3	t.t	Tidak larut DMSO	Tidak larut DMSO
	KP-4	71,0	Tidak aktif	Tidak aktif
	KP-5	67,0	Tidak aktif	Tidak aktif
	KP-6	t.t	Tidak diukur	Tidak diukur

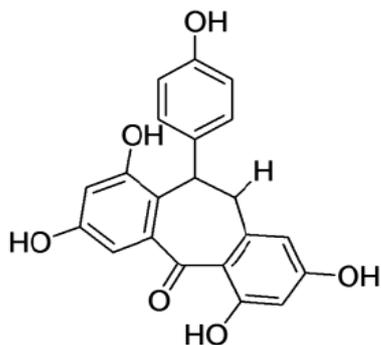
\*Berdasarkan pengkategorian oleh Alley (1998).

\*\* Berdasarkan pengkategorian oleh Ito *et al.* (2003).

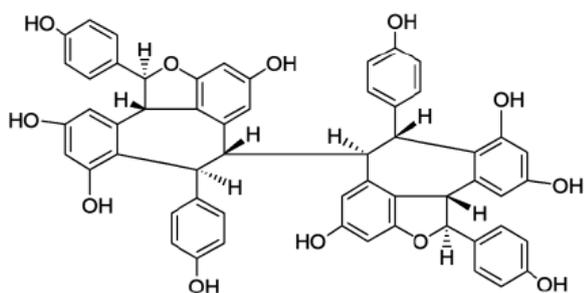
Senyawa KP-1 dan KP-2 memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat dibandingkan senyawa KP-4 dan KP-5. Senyawa KP-3 tidak terukur (t.t), karena tidak dapat larut dalam DMSO, sedangkan KP-6 karena jumlahnya sangat sedikit (5 mg) dan berdasarkan spektrum IR-nya, masih mengindikasikan adanya pengotor yang cukup signifikan, maka tidak dilakukan pengujian efek sitotoksiknya.

Senyawa KP-2, yang mengindikasikan sebagai senyawa flavonoid menunjukkan aktivitas sitotoksik yang paling kuat terhadap sel murin leukemia P388. Padahal berdasarkan laporan penelitian terdahulu, senyawa flavonoid yang diisolasi dari ekstrak kulit kayu *Dipterocarpus*

(keruing), tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel murin leukemia P388. Dilaporkan, senyawa 4'-O-metilgalokatecin yang telah diisolasi dari *D. elongatus* memiliki efek sitotoksik yang sangat lemah (tidak aktif) dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 70  $\mu\text{g/mL}$  (Muhtadi, 2007). Sedangkan senyawa-senyawa yang memiliki efek sitotoksik sangat kuat (aktif) dari ekstrak tumbuhan famili Dipterocarpaceae adalah hopeafenol ( $\text{IC}_{50}$  5,5  $\mu\text{M}$ ) dan diptoindonesin G ( $\text{IC}_{50}$  4,4  $\mu\text{M}$ ). Akan tetapi, berdasarkan data spektrum UV dan IR-nya, senyawa KP-2 tidak memiliki kemiripan sifat-sifat dengan senyawa hopeafenol maupun diptoindonesin G (Sahidin, 2006).



Diptoindonesin G ( $IC_{50}$  4,4  $\mu$ M)



Hopeafenol ( $IC_{50}$  5,5  $\mu$ M)

Oleh karena itu, penelitian lanjutan untuk menentukan struktur kimia senyawa KP-2 yang memiliki efek sitotoksik yang sangat kuat tersebut, dan melakukan uji farmakologi molekuler untuk mengetahui mekanisme penghambatan terhadap sel kanker sangat penting untuk dilakukan.

Pengujian efek toksisitas; akut dan subkronis juga penting untuk dilakukan, agar diperoleh data ilmiah yang kuat tentang potensi pemanfaatan ekstrak, isolat atau senyawa KP-2 sebagai antikanker. Hasil kajian farmakologi (khasiat) dan toksisitas (efek samping) ini, akan memberikan landasan ilmiah yang kuat tentang seberapa besar potensi pemanfaatan ekstrak atau isolat dari kulit kayu keruing Pungguh (*D. confertus* Sloot) sebagai agen fitofarmaka antikanker.

## SIMPULAN

Enam senyawa telah berhasil diisolasi dari ekstrak metanol kulit batang *D. confertus* Sloot, dua diantaranya (KP-2 dan KP-1) sangat aktif dalam pengujian efek sitotoksiknya terhadap sel murin leukemia P388, dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 2,25 dan 5,1 7,8  $\mu$ g/ml. Berdasarkan analisis spektroskopi yang telah

ada, KP-2 mengindikasikan sebagai senyawa flavonoid, sedangkan KP-1 mengindikasikan sebagai triterpenoid.

## Persantunan

Kami ucapkan terima kasih kepada Direktorat DP2M Dikti Depdiknas atas biaya Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2008, Bapak Dr. Edi K. dari Universitas Tanjungpura Pontianak atas bantuannya dalam menyediakan sampel tumbuhan, serta staf Herbarium Bogoriensis Bogor dalam determinasi tumbuhan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alley, M.C., Scudiero, D.A., Monks, A., Hursey, M.L., Czerwinski, M.J., Fine, D.L., Abbott, B.J., Mayo, J.G., Shoemaker, R.H., Boyd, M.R. (1988) : Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cells Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay, *Cancer Res.*, 48, 589-601.
- Bokel, M., M.N.C. Diyasena, A.A.L. Gunatilaka, W. Kraus, S. Sotheeswaran (1988), Caliculatol, an antifungal resveratrol trimer from *Stemonoporus canaliculatus*, *Phytochemistry*, 27, 377-380
- Cronquist, A. (1981), *An intergrated system of classification of flowering plant*, Columbia University Press, New York, 317-318
- Dai, J.R., Y.F. Hallock, J.H. Cardellina II, M.R., Boyd (1998), HIV-Inhibitory and cytotoxic oligostilbenes from the leaves of *Hopea malibato*, *J. Nat. Prod.*, 61, 351-353
- Geewananda, Y.A., P. Gunawardena, S. Sotheeswaran, M.U.S. Sultanbawa, S. Surendrakumar, P. Bladon (1986), Another antibacterial polyphenol, coppaliferol B, from *Vateria copallifera* (Dipterocarpaceae), *Phytochemistry*, 25, 1498-1500
- Hakim, E.H. (2002), Oligostilbenoid dari tumbuh-tumbuhan Dipterocarpaceae, *Bull. Soc. Nat. Prod. Chem.*, 2, 1-9
- Hegnauer, R. (1966), *Chemotaxonomie der pflanzen*, Band 4, Birkhauser Verlag Basel und Stuttgart, 31-40
- Heyne, K. (1987), *Tumbuhan berguna Indonesia*, Vol II, Balai Kehutanan Indonesia, Departemen Kehutanan, Jakarta, 1420
- Hirano, Y., R. Kondo, K. Sakai (2001), Compounds inhibitory to rat liver 5 $\alpha$ -reductase from tropical commercial wood species: resveratrol trimers from melapi (*Shorea sp.*) heartwood, *J. Wood. Sci.*, 47, 308-312

- Hostettmann, K. (1991): *Assays for Bioactivity. Method in Plant Biochemistry*, Series Editor P.M. Dey and J.B. Harborne, Vol. 6, Academic Press, London.
- Huang, K., Y. Wang, R. Li, M. Lin (2000), Five new stilbene dimers from the lianas of *Gnetum hainanense*, *J. Nat. Prod.*, 63, 86-89
- Ito, T., Akao, Y., Yi, H., Ohguchi, K., Matsumoto, K., Tanaka, T., Iinuma, M., Nozawa, Y. (2003) : Antitumor Effect of Resveratrol Oligomers Against Human Cancer Cell Lines and The Molecular Mechanism of Apoptosis Induced by Vaticanol C, *Carcinogenesis*, 24(9), 1489-1497.
- Ito, T., T. Tanaka, K. Nakaya, M. Iinuma, Y. Takashashi, H. Naganawa, M. Ohyama, Y. Nakanishi, K.F. Bastow, K. Lee (2001-a) : A Novel Bridged Stilbenoid Trimer and Four Highly Condensed Stilbenoid Oligomers in *Vatica rassak*, *Tetrahedron*, 53, 7309-7314.
- Ito, T., T. Tanaka, K. Nakaya, M. Iinuma, Y. Takashashi, H. Naganawa, M. Ohyama, Y. Nakanishi, K.F. Bastow, K. Lee (2001-b), A new resveratrol octamer, vateriaphenol A, in *Vateria indica*, *Tetrahedron letters*, 42, 5909-5912
- Ito, T., T. Tanaka, M. Iinuma, K. Nakaya, Y. Takashashi, R. Sawa, J. Murata, D. Darnaedi, (2004), Two new resveratrol (=5-[(1E)-2-(4-hydroxyphenyl)ethenyl]-benzene-1,3-diol) tetramer with a tetrahydrofuran ring from *Dipterocarpus grandiflorus*, *Helvetica Chimica Acta*. 87, 479-495
- Kitanaka, S., M. Takido, K. Mizoue, H. Kondo, S. Nakaike (1996), Oligomeric stilbenes from *Caragana chamlagu* Lamark root, *Chem. Pharm. Bull.*, 44, 565-567
- Muhtadi (2007), *Fitokimia Beberapa Spesies Dipterocarpaceae Indonesia dari Genus Dipterocarpus (Keruing)*, Disertasi, Dep. Kimia, Program Pasca Sarjana ITB, Bandung
- Muhtadi, Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Achmad, S.A., Said, I.M., Din, L.B. dan Latip, J. (2006-a) : Resveratrol Tetramers from *Dipterocarpus intricatus* and Cytotoxic Activity against Murine Leukemia P-388 Cells, *Collective Abstracts of the International Conference on Mathematics and Natural Sciences (ICMNS)*, ITB-Bandung, 29-30 November 2006.
- Muhtadi, Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Achmad, S.A. dan Latip, J. (2006-b) : Pemisahan dan Karakterisasi Senyawa Oligostilbenoid dari Kulit Batang *Dipterocarpus hasseltii* (Dipterocarpaceae), *Alchemy*, Vol. 5 (1), Maret 2006, 8-15.
- Muhtadi, Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Achmad, S.A. Latip, J., Ghisalberti, E.L. (2006-d) : Cytotoxic Resveratrol Oligomers from the Tree Bark of *Dipterocarpus hasseltii*, *Journal of Fitoterapia*, Vol. 77, Issues 7-8, December 2006, 550-555.
- Muhtadi, Hakim, E.H., Juliawaty, L.D., Din, L.B. dan Latip, J. (2006-c) : Lima Senyawa Oligostilbenoid dari Kulit Batang *Dipterocarpus hasseltii* dan Aktivitas Sitotoksiknya terhadap Sel Murin Leukemia P-388, *Bulletin of the Indonesian Society of Natural Products Chemistry*, Vol. 6 (1), January-June 2006, 19-26.
- Muhtadi, Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Makmur, L., Achmad, S.A., Din, L.B. dan Latip, J. (2005) : Tiga Senyawa Oligostilbenoid dari Kulit Batang *Dipterocarpus retusus* Blume (Dipterocarpaceae), *Jurnal Matematika & Sains*, Vol. 10 (4), Desember 2005, 135-141.
- Newman, M.F., P.F. Burges, T.C. Whitmore (1999), *Pedoman identifikasi Pohon Dipterocarpaceae Pulau Kalimantan*, Prosea Indonesia, Bogor
- Oshima, Y., Y. Ueno, K. Hisamichi, M. Takeshita (1993), Ampelopsin F and G, Novel bridged plant oligostilbenes from *Ampelopsis brevipedunculata* var. *hancei* roots (Vitaceae), *Tetrahedron*, 49, 5801-5804
- Pryce, R.J., P. Langcake (1977),  $\alpha$ -Viniferin: an antifungal resveratrol trimer from grapevines, *Phytochemistry*, 16, 1452-1454
- Sahidin (2006) : *Keanekaragaman Senyawa Oligomer Resveratrol dari Tumbuhan Hopea dan Tumbuhan Sejenis dari Famili Dipterocarpaceae Indonesia*, Disertasi Program Doktor, Institut Teknologi Bandung, 131-133.
- Soerianegara, I., R.H.M.J. Lemmens (1994), *Timber trees: Major commercial timbers*, PROSEA, Bogor Indonesia
- Sotheeswaran, S., M.N.C. Diyasena, A.A.L. Gunatilaka, M. Bokel, W. Kraus (1987), Further evidence for the structure of vaticaffinol and a revision of its stereochemistry, *Phytochemistry*, 26, 1505-1507
- Sotheeswaran, S., M.U.S. Sultanbawa, S. Surendrakumar, P. Bladon (1983), Polyphenol from *Dipterocarp* species copalliferol A and stemonoporol, *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 1, 4, 699-702

- Sotheeswaran, S., V. Pasupati (1993), Distribution of resveratrol oligomers in plants , *Phytochemistry*, 32,1083-1092
- Sukhla, R.N., Sharma, S.P., Srivastava, R.M. (1990) : On Chemical Composition of *Shorea robusta*, *Vijnana Parishad Anusandhan Patrika*, 33(4), 253-261.
- Sung, S.H., S.Y. Kang, K.Y. Lee, M.J. Park, J.H. Kim, J.H. Park, Y. Choong Kim, J. Kim, Y.C. Kim, J. Kim, Y.C. Kim (2002), (+)- $\alpha$ -Viniferin, a stilbene trimer from *Caragana chamlague*, inhibits acetylcholinesterase, *Biol. Pharm. Bull.*, 25, 125-127
- Tanaka, T., T. Ito, K. Nakaya, M. Iinuma, Y. Takashashi, H. Naganawa, N. Matsuura, M. Ubukata (2000-b), Vaticanol D, a novel resveratrol hexamer isolated from *Vatica rassak*, *Tetrahedron Letters*, 41, 7929-7932
- Zgoda-Pols, J.R., A.J. Freyer, L.B. Killmer, and J.R. Porter (2002), Antimicrobial resveratrol tetramers from the stem bark of *Vatica oblongifolia*, *J. Nat. Prod.*, 65, 1554-1559