

**SENYAWA AKTIF ANTIKANKER PAYUDARA DAN ANTIMALARIA DARI TUMBUHAN DADAP AYAM (*ERYTHRINA VARIEGATA*) SECARA IN VITRO (Anti Breast-cancer and anti-malarial Active Compounds of *Erithrina Variegata* by in Vitro Test)**

**Tati Herlina<sup>\*</sup>, Syafruddin<sup>\*\*</sup>, dan Zalinar Udin<sup>\*\*\*</sup>**

<sup>\*</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45363, Sumedang, Indonesia

<sup>\*\*</sup>Lembaga Biomolekular Eijkman, Jakarta

<sup>\*\*\*</sup>Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bandung 40135, Indonesia

\*E-mail: tatat\_04her@yahoo.com

Diterima: 3 Januari 2012

Disetujui: 2 Maret 2012

**Abstrak**

Tumbuhan *Erythrina variegata* (Leguminosae) secara tradisional dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai obat antikanker dan antimalaria. Bagian tumbuhan ini yang biasa digunakan sebagai bahan pengobatan adalah daun dan kulit batang, tapi kandungan senyawa kimia aktif biologisnya belum banyak dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengungkapkan senyawa aktif antikanker dan antimalaria secara *in vitro* yang terdapat di dalam daun dan kulit batang *E. variegata*. Penelitian dilakukan dengan cara ekstraksi metanol dan fraksionasi dari daun dan kulit batang *E. variegata* yang dipandu dengan uji antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode Sulforodamin B (SRB) dan uji antimalaria secara *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7 (sensitif klorokuin) dan K1 (resisten klorokuin) menggunakan metode laktatdehidrogenase (LDH). Selanjutnya dilakukan pemisahan fraksi etil asetat daun dan kulit batang *E. variegata* yang dipantau dengan uji antikanker dan antimalaria secara *in vitro* menggunakan kombinasi kolom kromatografi diperoleh tiga senyawa aktif (**1**, **2**, dan **3**). Struktur kimia senyawa aktif (**1**, **2**, dan **3**) ditetapkan berdasarkan data-data spektroskopi dan diidentifikasi sebagai turunan triterpenoid pentasiklik glikosida(**1**); flavonoid, eristagallin A (**2**); dan steroid, (22E)-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioksiergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol (**3**). Senyawa (**1**) menunjukkan aktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* strain 3D7 (sensitif klorokuin) dengan IC<sub>50</sub> 1,8  $\mu$ g/mL dan terhadap strain K1 (resisten klorokuin) dengan IC<sub>50</sub> 3,3  $\mu$ g/mL. Senyawa (**2**) dan (**3**) menunjukkan aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D dengan IC<sub>50</sub> masing-masing 3,0 dan 3,2  $\mu$ g/mL. Tumbuhan *E. variegata* mempunyai potensi sebagai bahan dasar obat herbal antikanker payudara dan antimalaria.

Kata-kata kunci: *Erythrina variegata*, Leguminosae, antikanker, antimalaria

**Abstract**

*Erythrina variegata* (Leguminosae) plant used traditionally as plant of anti-cancer and anti-malarial in Indonesia. The leaves and stem bark of *E. variegata* used as medicinal folk of anti-cancer and anti-malarial, however haven't reported yet of bioactive compounds. The purpose of this research was assayed an anti-cancer and anti-malarial compounds toward breast cancer cell-lines T47D and toward *Plasmodium falciparum* 3D7 (chloroquine sensitive) and K1 (chloroquine resistance) in vitro from *E. variegata*. The research was extraction of methanol and fractionation from the leaves and stem bark of *E. variegata* by using guide-assay in vitro Sulphorhodamine B (SRB) method and lactate dehydrogenase (LDH). Furthermore, by using the anti-cancer and anti-malarial activity to follow separation, the active fraction was separated by combination of column chromatography to yield three active compounds (**1-3**). The chemical structure of active compounds (**1-3**) were determined on the basis of spectroscopic evidences and comparison with those previously reported and identified as terpenoid pentacyclic glycoside (**1**), flavonoid, eristagallin A (**2**) and steroid, (22E)-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-diene-3 $\beta$ -ol (**3**). The compound (**1**) showed anti-malarial activity in vitro against *P. falciparum* strain 3D7 and K1 with IC<sub>50</sub> 1.8 and 3.3  $\mu$ g/mL, respectively. The compounds (**2-3**) showed anti-cancer activity against of

*breast cancer cell-lines T47D with  $IC_{50}$  of 3.03 and 3.2  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. This results strongly suggested that *E. variegata* is a promising sources of anti-cancer and anti-malarial agents.*

*Keywords: Anti-cancer, anti-malarial, Erythrina variegata, Leguminosae*

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang menempati peringkat kedua sebagai penyebab kematian. Hal ini menyebabkan pengembangan penelitian untuk menemukan obat-obat baru terus dikembangkan, bahkan dari bahan alam (Radji dkk, 2004). Kasus penyakit kanker di Indonesia dari tahun ke tahun terus meningkat dan kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian. Obat kanker umumnya merupakan obat sintesis dengan harga relatif mahal dan memiliki efek samping yang cukup besar sehingga masyarakat banyak berpaling pada pengobatan tradisional.

Begitu pula dengan malaria yang merupakan salah satu penyakit infeksi yang sampai kini masih menjadi masalah kesehatan yang serius di dunia yang disebabkan oleh empat spesies parasit protozoa dari jenis *Plasmodium*. Setiap tahunnya lebih dari satu juta juta manusia di dunia meninggal akibat terinfeksi malaria dan diperkirakan hampir setengah dari populasi dunia berisiko terinfeksi malaria, dengan laju kematian tertinggi antara lain terjadi pada anak-anak di bawah umur lima tahun (Saxena *et al.*, 2003). Saat ini analog artemisinin telah diperkenalkan dan menunjukkan aktivitas yang sangat efektif terutama pada *P. falciparum* yang resisten terhadap obat antimalaria yang lain. Akan tetapi, hasil pengamatan terhadap induksi obat dan hubungan antara dosis dengan neurotoksisitas dalam hewan, telah dikuatirkan tentang keamanan yang ditimbulkan oleh senyawa ini pada manusia (Bhattacharjer & Karle, 1999). Oleh karena itu dibutuhkan usaha yang serius untuk mencari obat antimalaria baru dan relatif tidak toksik terhadap manusia.

Tumbuhan *Erythrina variegata* dikenal dengan nama lokal “dadap ayam” famili Leguminosae merupakan tumbuhan obat Indonesia yang telah banyak digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan antikanker dan

antimalaria secara tradisional (Hanum & Maesen, 1987; Heyne, 1987; Mursito, 2002).

Bagian tumbuhan *E. variegata* yang digunakan dalam pengobatan tradisional adalah daun yang dilaporkan mengandung senyawa-senyawa alkaloid, dan isoflavonoid (Herlina *et al.*, 2005; Herlina *et al.*, 2007; Herlina *et al.*, 2008). Dalam penelitian lanjutan terhadap senyawa antimalaria dalam daun *E. variegata* telah diisolasi senyawa triterpenoid pentasiklik dari fraksi etil asetat daun dadap ayam yang beraktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* strain FCR-3/A dengan nilai  $IC_{50}$  0,24  $\mu\text{g/mL}$ . Selanjutnya dilaporkan adanya aktivitas antimalaria secara *in vitro* yang signifikan terhadap *P. falciparum* strain K1 yang resisten klorokuin dari ekstrak metanol daun dadap ayam dengan nilai  $IC_{50}$  6,80  $\mu\text{g/mL}$  (Herlina *et al.*, 2009). Peneliti terdahulu melaporkan adanya aktivitas antikanker dari daun *E. variegata* terhadap sel breast cancer T47D secara *in vitro*, hasil isolasi senyawa antikanker yang diperoleh merupakan campuran stigmasterol dan  $\beta$ -sitosterol yang menunjukkan nilai  $IC_{50}$  6,5  $\mu\text{g/mL}$  (Herlina, 2009). Pada makalah ini akan dipaparkan isolasi dan uji hayati antikanker terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode SRB (Skehan *et al.*, 1990; Likhitwitayawuid *et al.*, 1993) dan antimalaria terhadap *P. falciparum* menggunakan metode laktat dehidrogenase (LDH) (Najila *et al.*, 2002) secara *in vitro* dari daun dan kulit batang *E. variegata*.

## METODE PENELITIAN

### Umum

Penentuan titik leleh dilakukan pada alat Fischer-John Melting point apparatus. Spektrum UV dan IR diukur masing-masing dengan spektrofotometer UV/Vis Shimadzu series 1240 dan FTIR-Shimadzu series 8400. Spektrum  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ -NMR diukur menggunakan spectra JEOL JNM A-500,

yang bekerja pada 500 MHz ( $^1\text{H-NMR}$ ) dan 125 MHz ( $^{13}\text{C-NMR}$ ) dengan TMS sebagai standar internal. Kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan silika gel Merck 60 GF<sub>254</sub> dan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada plat berlapis silika gel Merck 60 GF<sub>254</sub>.

### Bahan Tumbuhan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dan kulit batang *E. variegata* yang diperoleh dari hutan lindung di daerah Sumedang, Jawa Barat pada bulan Pebruari 2009. Bahan ini dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Sekolah Tinggi Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung.

### Ekstraksi dan isolasi

Serbuk daun *E. variegata* (2 kg) diekstraksi dengan metanol dengan teknik maserasi, diperoleh ekstrak metanol pekat (244,2 g). Ekstrak metanol pekat selanjutnya dipartisi antara diklorometana dan air, diperoleh fraksi diklorometana dan fraksi air. Kemudian fraksi diklorometana dipartisi kembali antara *n*-heksana dan metanol, diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Fraksi metanol yang diperoleh dipartisi antara etil asetat:air, diperoleh fraksi etil asetat (10,5 g). Selanjutnya fraksi etil asetat dipisahkan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel G 60 dan eluen kloroform:etil asetat (1:1-1:5) secara bergradien, diperoleh sepuluh fraksi (FA-J). Selanjutnya fraksi FJ (623 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom silika gel G 60 dan eluen kloroform:metanol bergradien, diperoleh senyawa **1** (24,5 mg).

Serbuk kulit batang *E. variegata* (1,5 kg) diekstraksi dengan metanol dengan teknik maserasi, diperoleh ekstrak metanol pekat (44,1 g). Ekstrak metanol pekat selanjutnya antara *n*-heksana dan metanol, diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Fraksi metanol yang diperoleh dipartisi antara etil asetat:air, diperoleh fraksi etil asetat (8,5 g). Selanjutnya fraksi etil asetat dipisahkan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel G 60 dan eluen *n*-heksana:etil asetat:metanol bergradien, diperoleh enam fraksi (FA-F). Fraksi FB (40,4 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom

oktadesilsilan dan eluen metanol:air (9,5:0,5), diperoleh senyawa **2** (18,3 mg). Selanjutnya Fraksi FC (80,8 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom silika gel G 60 dan eluen *n*-heksana:etil asetat bergradien, diperoleh senyawa **3** (14,5 mg).

### Uji hayati antikanker

Metode uji hayati antikanker yang digunakan berdasarkan metode SRB (Sulforhodamin B). Sel yang telah siap uji sebanyak 190  $\mu\text{L}$  ditambah dengan sampel uji sebanyak 10  $\mu\text{L}$  kemudian diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu 37°C. Setelah itu sel difiksasi dengan TCA 50%. Pewarnaan menggunakan SRB 0,4% dalam asam asetat 1% selama 30 menit. Warna SRB yang tidak terikat dibilas dengan asam asetat 1% sedangkan yang terikat diekstraksi dengan basa tris (pH 10). Intensitas warna yang dihasilkan diukur dengan menggunakan ELISA plate reader pada panjang gelombang 515 nm. Sedangkan IC<sub>50</sub> dihitung dengan cara analisis regresi nonlinear antara persen survival dan konsentrasi (Skehan *et al.*, 1990; Likhitwitayawuid *et al.*, 1993).

### Uji hayati antimalaria

Pengujian dilakukan secara *in vitro* berdasarkan metode LDH yang telah termodifikasi. Kultur 3D7 yang sensitif klorokuin dan K1 yang resisten klorokuin ditambahkan suspensi kultur medium RPMI 1640 yang mengandung asam *N*-2-hidroksietilpiperazin-*N'*-2-etana-sulfonat (25 mM), natrium bikarbonat (0,2%), dan gentamycin (40  $\mu\text{g/mL}$ ) pada pH 7,4 dan sel darah merah dari golongan darah O. Untuk setiap uji LDH, digunakan suspensi darah yang mengandung parasitemia 1% dan haematokrit 2%. Kontrol pembacaan sel darah merah yang terparasit dan tidak terparasit dari ekstrak dan standar menggunakan metode *candle jar* yang diinkubasi selama 48 jam pada 37°C. Setelah 48 jam, ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  Malstat (Flow Inc., Portland, OR). Sebanyak 25  $\mu\text{L}$  suspensi darah dipindahkan ke dalam pelat yang mengandung campuran Malstat dan NBT. Pembacaan absorbans pada 630 nm menggunakan ELISA reader (*MRX Microplate Reader, Dynex Technologies, USA*).

Klorokuin dan artemisinin berfungsi sebagai kontrol positif (Najila *et al.*, 2002). Prosentase inhibisi parasit ditentukan dengan menghitung  $IC_{50}$  menggunakan analisis Grafit (Grafit v.4.09, *Erithacus Software Limited*).

## HASIL DAN DISKUSI

Tahap ekstraksi metanol dari daun *E. variegata* bertujuan untuk mengekstrak semua komponen yang terdapat di dalam bagian tumbuhan tersebut. Pengujian pendahuluan aktivitas antikanker dan antimalaria dilakukan secara *in vitro* dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, dan etil asetat daun *E. variegata* terhadap sel kanker payudara T47D dan terhadap *P. falciparum*. Uji pendahuluan antikanker dan antimalaria secara *in vitro* dari ekstrak metanol daun *E. variegata* dilakukan untuk mengetahui khasiat farmakologi dari ekstrak tersebut. Hal ini bertujuan untuk membenarkan pemakaian tumbuhan *E. variegata* yang selama ini sudah digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan antikanker dan antimalaria (Hanum & Maesen, 1987; Heyne, 1987; Mursito, 2002).

Hasil uji aktivitas antimalaria ekstrak metanol dan fraksi etil asetat daun *E. variegata* secara *in vitro* terhadap *P. Falciparum* dilakukan secara duplo menunjukkan nilai  $IC_{50}$  6,8  $\mu\text{g/mL}$  terhadap strain K1 dan 16,7  $\mu\text{g/mL}$  terhadap strain 3D7 (Tabel 1). Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa daun *E. variegata* tergolong ke dalam aktivitas antimalaria yang sedang-tinggi, sesuai dengan tabel *Thresholds for in vitro antiplasmodial activity of antimalarial extract* (Rasoanaivo *et al.*, 2004).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, dan etil asetat kulit batang *E. variegata* mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D dengan  $IC_{50}$  masing-masing 43,7; >100; dan 22,9  $\mu\text{g/mL}$  (Tabel 1), hal ini mengindikasikan bahwa fraksi *n*-heksan daun *E. variegata* tidak menunjukkan adanya aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D.

Selanjutnya dilakukan pemisahan dan pemurnian dari fraksi etil asetat diperoleh

senyawa (**1**, **2**, dan **3**). Senyawa **1** diperoleh dalam bentuk padatan putih dan dapat terdekomposisi pada suhu 241-243°C. Senyawa aktif **1** menunjukkan rumus molekul  $C_{36}H_{58}O_6$  berdasarkan data  $^1\text{H}$ -dan  $^{13}\text{C}$ -NMR. Dari spektrum HMBC pada H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5,08 ppm) dan H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  5,21 ppm) berkorelasi dengan C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  51, 8 ppm) dan C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  41,2 ppm), korelasi juga terjadi antara H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5,08 ppm) dengan C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  139, 2 ppm), dan terjadi korelasi yang sebaliknya yaitu antara H-7 dengan C-6, korelasi antara H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  1,55 ppm) dengan C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  122,3 ppm) dan C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  139,2 ppm). Korelasi antara H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  4,98 ppm) dan H-1' (5,09 ppm) berkorelasi dengan C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  79, 0 ppm), kemudian terdapat juga korelasi antara H-4' ( $\delta_{\text{H}}$  4,33 ppm) dengan C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  78,9 ppm), dan korelasi H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  2,49 dan 2, 77 ppm) dengan C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  79, 0 ppm). Proton pada posisi 1' dan 2' memiliki harga  $3 J = 7,95$  Hz sehingga dapat dipastikan proton 1' dan 2' berposisi aksial-aksial. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa **1** mengandung residu gula yang berposisi  $\beta$  (Nakanishi *et al.*, 1990).

Senyawa **2** diperoleh berupa kristal jarum tidak berwarna dengan titik leleh 150°-152°C. Senyawa aktif **2** menunjukkan rumus molekul  $C_{26}H_{30}O_5$  berdasarkan data  $^1\text{H}$ -dan  $^{13}\text{C}$ -NMR. Pada spektrum inframerah senyawa **2** menunjukkan adanya gugus fungsi hidroksil (-OH) terlihat pada bilangan gelombang 3375  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini diperkuat dengan adanya regang C-O pada daerah sidik jari yaitu pada daerah 1078  $\text{cm}^{-1}$ . Selain itu terdapat regang olifenik terjadi pada daerah bilangan gelombang 1620  $\text{cm}^{-1}$  yang mengindikasikan adanya ikatan C=C. Keberadaan cincin aromatik ditunjukkan dengan adanya serapan pada 1516 dan 1440  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan pada bilangan gelombang 1253 dan 1166  $\text{cm}^{-1}$  secara karakteristik menunjukkan adanya gugus eter. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR menunjukkan bahwa senyawa **2** memiliki dua puluh enam karbon yang terdiri atas sepuluh karbon  $\text{sp}^3$  pada  $\delta_{\text{C}}$ (ppm) 17,9 - 84,4 dan enam belas karbon  $\text{sp}^2$  pada  $\delta_{\text{C}}$ (ppm) 103,9 - 159,9. Pada  $\delta_{\text{C}}$ (ppm) 154,2 dan 158,6 menunjukkan adanya dua buah karbon aromatik teroksidasi yang merupakan ciri khas senyawa pterokarpan, yaitu C-4a dan C-10a. Dua buah karbon aromatik teroksidasi

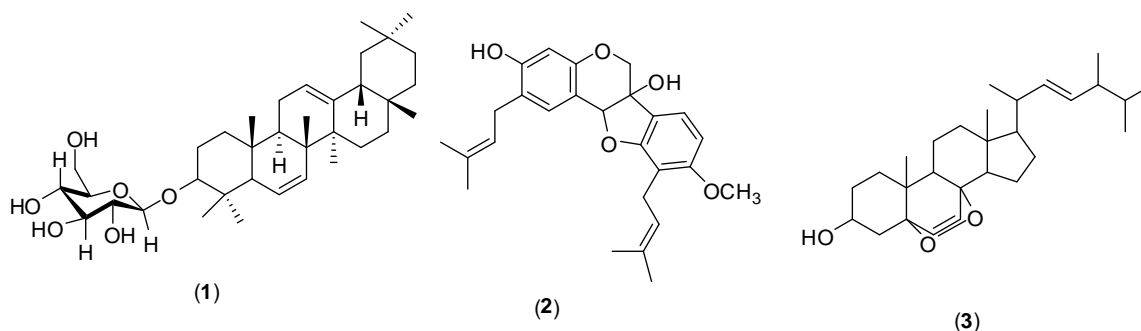
lainnya dapat dilihat pada  $\delta_c(\text{ppm})$  155,7 (C-3) yang mengikat gugus hidroksil dan pada  $\delta_c(\text{ppm})$  159,9 (C-9) yang mengikat gugus metoksi. Sedangkan karbon metoksinya dapat dilihat secara khas pada  $\delta_c(\text{ppm})$  56,1.

Dua buah gugus dimetilalil dapat ditemukan pada  $\delta_c(\text{ppm})$  18,0 dan 26,0 yang ditunjuk sebagai C-4' dan C-5', juga pada  $\delta_c(\text{ppm})$  17,9 dan 25,9 yang merupakan serapan dari C-4'' dan C-5''. Pada spektrum  $^1\text{H-NMR}$  menunjukkan adanya tiga proton pada  $\delta_H(\text{ppm})$  3,90 (1H, H-6eq),  $\delta_H(\text{ppm})$  4,20 (1H, H-6ax), dan  $\delta_H(\text{ppm})$  5,23 (1H, H-11a) yang merupakan karakteristik dari turunan pterokarpan (Tanaka *et al.*, 1998). Sinyal *singlet* pada  $\delta_H(\text{ppm})$  7,23 merupakan proton H-1 yang berkedudukan *para* pada aromatik terhadap sinyal *singlet* pada  $\delta_H(\text{ppm})$  6,38 yang merupakan proton H-4. Spektrum proton menunjukkan adanya dua buah proton aromatik yang berposisi *orto* satu sama lain pada  $\delta_H(\text{ppm})$  7,15 (1H, *d*, H-7) dan  $\delta_H(\text{ppm})$  6,49 (1H, *d*, H-8). Dua buah gugus dimetilalil ditunjukkan pada sinyal-sinyal  $\delta_H(\text{ppm})$  1,78; 1,78; 1,74; dan 1,64 (3H, *s*, Me-4', Me-5', Me-4'', dan Me-5''). Pada daerah serapan  $\delta_H(\text{ppm})$  3,30 terdapat proton *doublet* H-1' dan pada daerah serapan  $\delta_H(\text{ppm})$  3,20 menunjukkan adanya proton dan H-1''. Pada sinyal  $\delta_H(\text{ppm})$  5,31 juga terdapat proton H-2' dan pada 5,27 ppm terdapat proton H-2'', sehingga dapat diketahui adanya dua buah gugus isoprenil pada isolat tersebut. Puncak khas pada spektrum  $^1\text{H-NMR}$  ditunjukkan pada  $\delta_H(\text{ppm})$  3,80 (3H, *s*), yang menunjukkan adanya gugus metoksi (-OCH<sub>3</sub>). Spektrum  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$  menunjukkan bahwa H-1'  $\delta_H(\text{ppm})$  3,30 berkorelasi dengan H-2'  $\delta_H(\text{ppm})$  5,31 dan terdapat korelasi yang sebaliknya. Korelasi juga ditemukan antara H-1''  $\delta_H(\text{ppm})$  3,20 dengan H-2''  $\delta_H(\text{ppm})$  5,27. H-7  $\delta_H(\text{ppm})$  7,15 berkorelasi dengan H-8  $\delta_H(\text{ppm})$  6,49. Korelasi juga terjadi pada proton H-6eq  $\delta_H(\text{ppm})$  3,90 dengan H-6ax  $\delta_H(\text{ppm})$  4,2. Kemudian H-2'  $\delta_H(\text{ppm})$  5,31 berkorelasi dengan H-4'  $\delta_H(\text{ppm})$  1,78.

Begitu pula H-2''  $\delta_H(\text{ppm})$  5,27 dengan H-4''  $\delta_H(\text{ppm})$  1,74. Spektrum HMBC menunjukkan adanya korelasi antara H-1'  $\delta_H(\text{ppm})$  3,30 dengan C-1, C-2, C-3', dan C-3 ( $\delta_c(\text{ppm})$  132,2; 121,6; 135,2; dan 155,7). Begitu pula korelasi antara H-1''  $\delta_H(\text{ppm})$  3,20 dengan C-10, C-2'', dan C-3'' ( $\delta_c(\text{ppm})$  113,7; 122,1; dan 131,9).

Data  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  pada senyawa **2** dibandingkan dengan data NMR senyawa pterokarpan yang diduga memiliki kemiripan, yaitu pada eristagallin A yang berhasil diisolasi dari *E. crista-galli*. Hasil dari perbandingan tersebut senyawa **2** teridentifikasi sebagai senyawa eristagallin A (9-metoksi-2,10-bis(3-metilbut-2-enil)-6a,11a-dihidro-6H-benzofuro[3,2-c]kromen-3,6a-diol).

Senyawa aktif **3** menunjukkan rumus molekul C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub> berdasarkan data  $^1\text{H}$ -dan  $^{13}\text{C-NMR}$ . Spektrum infra merah menunjukkan adanya serapan untuk gugus fungsi alkohol yang ditunjukkan oleh serapan dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang  $\nu_{\text{maks}}$  3521,8 cm<sup>-1</sup> yang merupakan regang ulur untuk gugus O-H pada alkohol dan serapan berupa pita lebar pada bilangan gelombang  $\nu_{\text{maks}}$  3317,3 cm<sup>-1</sup> yang menunjukkan serapan untuk ikatan hidrogen intermolekular pada gugus O-H. Spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$  yang menunjukkan adanya sinyal untuk karbon *sp*<sup>2</sup> metin yaitu  $\delta_c$  135,6 (C-22); 135,4 (C-6); 132,5 (C-23); dan 130,9 (C-7) ppm. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  menunjukkan terdapatnya empat puluh empat proton terdiri atas empat sinyal proton *sp*<sup>2</sup> yang diimbangi oleh atom karbon *sp*<sup>2</sup>. Diantaranya terdapat dua sinyal *doublet* yaitu pada daerah geseran kimia  $\delta_H$  6,50 (d; *J* = 8,5 Hz; 1H-6) dan 6,25 (d; *J* = 7,9 Hz; 1H-7) ppm yang menunjukkan ikatan rangkap pada sistem siklik. Sinyal *doublet* *doublet* pada daerah geseran kimia 5,19 (dd; *J* = 16,5 Hz; 2H; H-22; H-23) ppm menunjukkan ikatan rangkap dengan sistem konfigurasi *trans* pada rantai alifatik.



Gambar 1. Struktur Senyawa (1, 2, dan 3)

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antikanker dan antimalaria ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan senyawa (1, 2, dan 3)

Sampel	Sel kanker payudara T47D ( $\mu\text{g/mL}$ )	<i>P. falciparum</i>	
		K1 ( $\mu\text{g/mL}$ )	3D7 ( $\mu\text{g/mL}$ )
Ekstrak metanol	43,7	6,8	> 60
Fraksi <i>n</i> -heksan	> 100	> 60	> 60
Fraksi etil asetat	22,9	26,5	16,7
Senyawa 1	-	3,3	1,8
Senyawa 2	3,0	-	-
Senyawa 3	3,2	-	-
Cisplatin	3,3	-	-
Artemisinin	-	0,01	0,01
Klorokuin	-	0,04	0,04

Diantaranya dua sinyal singlet untuk karbon metil yaitu pada  $\delta_{\text{H}}$  0,83 (H-18) dan 0,88 (H-19) ppm. Keempat sinyal metil lainnya yaitu pada  $\delta_{\text{H}}$  0,81 (t, H-28); 0,91 (d; 6,7 Hz; H-26); 1,00 (d; 6,1 Hz; H-27); dan 1,22 (d; 9,8 Hz; H-21) ppm. Senyawa 3 teridentifikasi sebagai (22*E*)-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioksiergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol (Ponce *et al.*, 2002).

Senyawa 1 menunjukkan aktivitas antimalaria dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  lebih rendah terhadap kedua strain *P. falciparum* dibandingkan dengan ekstrak metanol dan fraksi etil asetat *E. variegata*, namun masih lebih rendah dari pada aktivitas klorokuin dan artemisinin. Senyawa 2 dan 3 menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak metanol dan fraksi etil asetat *E. variegata*. Hal ini didukung oleh peneliti sebelumnya bahwa kulit batang *E. variegata* mengandung senyawa turunan steroid yang mempunyai

aktivitas antikanker terhadap kanker payudara T47D (Herlina, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik daun maupun kulit batang *E. variegata* merupakan bahan obat herbal antikanker dan antimalaria.

## KESIMPULAN

Senyawa turunan triterpenoid pentasiklik glikosida (1) diperoleh dari daun *E. variegata*, dan turunan isoflavonoid (2) dan steroid (3) diperoleh dari kulit batang *E. variegata*. Senyawa (1) menunjukkan aktivitas antimalaria terhadap kedua strain *P. falciparum* (3D7 dan K1) dan senyawa (2 dan 3) menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D secara *in vitro*. Tumbuhan *E. variegata* merupakan bahan obat herbal antikanker dan antimalaria.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dana yang diberikan melalui Hibah Penelitian Fundamental Tahun Anggaran 2010.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharjer, A.K. & Karle, J.M. 1999. Structure, biosynthesis and functions of artemisinin. *Chemistry of Research Toxicology* **12**, 422-428.
- Hanum, F & Maesen, L.J.G. 1987. Plant Resources of South East Asia, Auxiliary Plant, 11.
- Herlina, T., Muis, A., Supratman, U., Syafruddin, Subarnas, A., Sutardjo, S. & Hayashi, H. 2005. Senyawa Bioaktif dari *Erythrina variegata* (Leguminosae). *Berkala Ilmiah MIPA* **15**, **3**, 21-26.
- Herlina, T., Supratman, U., Subarnas, A., Sutardjo, S. & Abdullah N. R. 2007. Aktivitas antimalaria dari daun *Erythrina variegata*. *Jurnal Natur Indonesia*. **10**, **1**, 36-41.
- Herlina, T., Nasrudin, Supratman, U., Subarnas, A., Sutardjo, S. And Hayashi, H., 2008, An isoflavonoid, warangalone from the stem bark of dadap ayam (*Erythrina variegata*), *Jurnal Ilmu Dasar*, **9**, **1**: 45-47.
- Herlina, T. 2009. Senyawa Antikanker dari Dadap Ayam (*Erythrina variegata*). *Indonesian Journal of Cancer* **3**, **4**: 151-154.
- Herlina, T., Supratman, U., Soedjanaatmadja, MS U., Subarnas, A., Sutardjo, S., Abdullah N. R. and Hayashi H. 2009. Antimalarial Compound from The Stem Bark of *Erythrina variegata*, *Indonesian Journal of Chemistry* **9**, **2**: 308-311.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Balai Kehutanan Indonesia. Jakarta. 1029-1031.
- Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C.K., Cordell, G.A. & Pezzuto, J.M. 1993. Cytotoxic and Antimalarial Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from *Stephania erecta*. *Journal Natural Product* **56**, 30-38.
- Mursito, B. 2002. Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria. Cetakan Pertama. Penebar Swadaya. Jakarta. 40-41.
- Najila, M.J.S., Rain, N.A., Kamel, A.G.M., Zahir, S.I.S., Khozirah, S., Hakim, S.L., Zakiah, I. & Azizol, A.K. 2002. The screening of extract from *Goniothalamus scortechinii*, *Aralidium pinnatifidum* and *Andrographis paniculata* for anti-malarial activity using the lactate dehydrogenase assay. *Journal of Ethnopharmacology* **82**, 239-242.
- Nakanishi, K. 1990. One and Two-dimensional NMR Spectra by Modern Pulse techniques. Kodensha Tokyo
- Ponce AM, Ramirez JA, Galagovsky LR, Gross EG, Ella-Balsells R. 2002. A new look into the reaction between ergosterol and singlet oxygen *in vitro*. *Photochem. Photobiol. Sci.* **1**:749-756.
- Rasoanaivo, P., Deharo, E., Ratsimamanga-Urverg & Frappier, F. 2004. Guidelines for the nonclinical evaluation of the efficacy of traditional antimalarials. In : Traditional Medicinal Plants and Antimalaria. CRC Press, USA. 256-268.
- Radji, M., Sumiati, A.N. & Indani. 2004. Uji Mutagenisitas dan Antikanker Ekstrak Aseton dan *n*-Heksana Dari Kulit Batang Sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq.). Departemen Farmasi. FMIPA Universitas Indonesia.
- Saxena, S., Neerja Pant, Jain, D.C. & Bhakuni, R.S. 2003. Antimalarial agents from natural sources. *Current Science* **9**, 1314-1329.
- Skehan, P.R., Storeng, D., Scudiero, A., Monks, J., McMahon, D., Vistica, J.T., Warren, H., Boskesch, S., Kenney, & Boyd, M.R. 1990. *Journal Natural Product*. **82**, **13**.
- Tanaka, H., Etoh, H., Shimizu, H., Makita, T. & Tateishi, Y. 1998. Two new isoflavonoids from *Erythrina variegata*. *Planta Medica* **6**, 578-579.