

**EFEK SITOTOKSIK BEBERAPA AKAR BAJAKAH KALIMANTAN
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D****(CYTOTOXIC EFFECT OF KALIMANTAN BAJAKAH ROOTS
ON T47D BREAST CANCER CELLS)****Risa Umari Yuli Aliviyanti¹, Retno S. Sudibyo², Retno Murwanti^{3*}**¹. Mahasiswa Magister Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Indonesia²Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Indonesia

Jalan Sekip Utara, Senolowo, Sinduadi, Mlati, Sleman -

email: risaaliviyanti@mail.ugm.ac.id

Abstrak

Indonesia memiliki sekitar 200 jenis bajakah; empat di antaranya yaitu bajakah tampala, kalalawit, bajakah jari lima, dan longkur telah digunakan oleh suku Dayak untuk pengobatan kanker payudara. Studi ini menguji sitotoksisitas antikanker payudara ekstrak akar dari keempat bajakah tersebut. Ekstraksi menggunakan *sample grinding pestle* dengan pelarut air, air panas, etanol 96%, dan n-heksan. Uji sitotoksisitas ekstrak dilakukan secara *in vitro* terhadap sel T47D dengan pembanding tamoksifen. Nilai IC_{50} dari uji sitotoksik ekstrak etanol, air panas, air, dan n-heksan berturut-turut: 1136; 1871,5; 2294,25; dan 3975,5 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2 = 0,962; 0,943; 0,943; \text{ dan } 0,956$), tamoksifen 9 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2 = 0,9581$). Ekstrak etanol bajakah merupakan yang paling toksik dibandingkan dengan yang lainnya sehingga untuk perbaikan nilai IC_{50} dilakukan ekstraksi *reflux* menggunakan etanol 96% pada keempat akar bajakah. Hasil menunjukkan nilai IC_{50} bajakah kalalawit, tampala, longkur, dan jari lima yang membaik yaitu berturut-turut adalah 407; 708; 881; dan 1.096 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2 = 0,9717; 0,952; 0,9367; 0,9369$). Keempat ekstrak bajakah mengandung zat aktif antikanker payudara (mengingat nilai R^2 uji sitotoksisitas $> 0,93$).

Kata kunci: bajakah, Uncaria, Spatholobus, Schefflera, T47D

Abstract

There are 200 kinds of bajakah in Indonesia; which bajakah tampala, kalalawit, bajakah jari lima, and longkur which have been used as herbal medicine of anti-breast cancer by Dayak ethnic. This study was to find out the cytotoxicity of four bajakah extracts toward T47D cell lines with tamoxifen as a positive control. Bajakah extracts of aqua, hot aqua, ethanol 96%, and n-hexane were carried out using a sample-grinding pestle. The IC_{50} resulted were 1136; 1871.5; 2294.25; and 3975.5 $\mu\text{g/mL}$ ($R2 = 0.962; 0.943; 0.943; \text{ and } 0.956$) respectively for aqua, hot aqua, ethanol 96%, and n-hexane extracts; 9 $\mu\text{g/mL}$ ($R2 = 0.9581$) for tamoxifen. The ethanolic extract was the most toxic compared to other extracts. Therefore, to improve the IC_{50} , reflux extraction was conducted using ethanol 96% to four bajakahs. The improved IC_{50} were 407; 708; 881; and 1096 $\mu\text{g/mL}$ ($R2 = 0.9717; 0.952; 0.9367; 0.9369$) for respectively bajakah kalalawit, tampala, longkur, and jari lima. It is concluded that the extracts contained active breast-anticancer substances because all the $R2$ results were >0.93 .

Keywords: bajakah, Uncaria, Spatholobus, Schefflera, T47D

PENDAHULUAN

Prevalensi kanker tertinggi pada wanita di dunia adalah kanker payudara dengan 11,7% kasus (*The Global Cancer Observatory [GCO]*, 2021). Hal ini senada dengan yang terjadi di Indonesia. Kanker payudara merupakan prevalensi kanker tertinggi dengan presentase 16,7% yang menyerang 30,9% wanita Indonesia. Setiap tahunnya, penderita kanker payudara mengalami peningkatan (Siegel *et al.*, 2020). Terakhir tercatat terdapat 42,1 kasus per 100.000 penduduk dengan 17 kasus kematian per 100.000 penduduk (GCO, 2018). Mahalnya biaya dan efek samping yang serius mendorong para peneliti untuk mengembangkan obat antikanker berbasis herbal yang potensial.

Bajakah (sebutan oleh Suku Dayak) telah menjadi etnomedisin sebagai alternatif pengobatan kanker terutama kanker payudara (Heitzman *et al.*, 2005). Terdapat 200 jenis bajakah di Indonesia, khususnya di Kalimantan. Meskipun terdapat ratusan jenis bajakah di Indonesia, namun belum ada penelitian ilmiah terkait aktivitas sitotoksitas dari bajakah (Åkesson *et al.*, 2003; Batiha *et al.*, 2020; Cheng *et al.*, 2007; Stephenson, 1931; Syarifah *et al.*, 2019). Oleh karena itu, perlu adanya usaha eksplorasi bajakah Kalimantan utamanya efek sitotoksitasnya. Untuk itu dilakukan seleksi bajakah yang paling sering digunakan

secara turun-menurun sebagai antikanker payudara melalui penggalan informasi dari penjual dan pengguna bajakah, serta polisi hutan Kalimantan dan masyarakat Dayak sekitar. Pada penelitian ini, uji sitotoksitas digunakan pada ekstrak bajakah yang terseleksi.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah beberapa jenis bajakah yang didapatkan dari hutan di Kuala Kurun, Kabupaten Gunung Mas, Kalimantan Tengah dan Kabupaten Kapuas Hulu, Kalimantan Barat; Tamoksifen (RS. Sardjito UGM); Media RPMI (Gibco); 10% FBS (Gibco); 1,0% penisilin-streptomisin (Gibco); PBS; DMSO; MTT (Invitrogen); SDS; dan HCl.

Alat yang digunakan adalah *autoclave*, *biology safety cabinet*, inkubator CO₂, *inverted microscope*, *binocular microscope*, *hemocytometer*, *centrifuge*, *water bath*, *marker*, rak tabung, aluminium foil, mikro-pipet, *microplate reader*, *Micropestel grinder*, *tube*, neraca analitik, dan alat-alat gelas.

Bajakah dikumpulkan berdasarkan informasi dari penjual dan pengguna bajakah, serta polisi hutan Kalimantan dan masyarakat Dayak sekitar. Bajakah yang dikumpulkan adalah bajakah yang telah digunakan secara turun-temurun sebagai antikanker payudara.

Determinasi tanaman bajakah dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Proses determinasi menggunakan sampel berupa bagian daun lengkap dengan ranting dan akar bajakah.

Ekstraksi pertama dilakukan pada 4 tabung yang masing-masing berisi 1,5 g serbuk akar bajakah dan pelarut yang berbeda masing-masing: air (A); air panas (AP); etanol 96% (Et); dan n-heksan (nH) sebanyak 15 mL. Konsentrasi serbuk masing-masing ekstrak adalah $1,5 \text{ g}/15 \text{ mL} = 0,1 \text{ g/mL}$. Campuran dihancurkan menggunakan *micropastle grinder* dengan kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit. Ekstrak kasar (A, AP, Et dan nH) disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan pellet dan supernatan. Pelarut diuapkan dari supernatan untuk mendapatkan ekstrak kental, kemudian ekstrak disimpan untuk uji sitotoksitas dengan kontrol positif seri kadar tamoksifen. Ekstraksi kedua dilakukan dengan metode *reflux* selama 15 menit, menggunakan 10 g serbuk akar masing-masing keempat bajakah dan 60 mL pelarut etanol 96%. Konsentrasi serbuk masing-masing ekstrak-*reflux* adalah $10 \text{ g}/60 \text{ mL} = 0,17 \text{ g/mL}$. Pelarut diuapkan sebelum dilakukan uji sitotoksitas.

Sel T47D ditanam pada *96-well plate* dengan konsentrasi 10^4 sel/sumuran dalam

media RPMI. Setelah 24 jam, sel diberi perlakuan seri konsentrasi ekstrak A, AP, Et dan nH, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam. Setelah inkubasi, sel dicuci menggunakan PBS, kemudian ditambahkan larutan MTT (konsentrasi 0,5 mg/mL dalam MK) sebanyak 100 uL ke dalam tiap sumuran kemudian diinkubasi selama 4 jam. Setelah inkubasi, reaksi dihentikan dengan pemberian 100 uL 10% (w/v) SDS dalam 0,01 N HCl dan diinkubasi semalam pada ruang gelap. Viabilitas sel kemudian diukur menggunakan *ELISA reader* (Bio-rad) pada panjang gelombang 595 nm. Warna ungu yang semakin pekat menunjukkan tingginya viabilitas sel. Uji sitotoksitas ekstrak kedua dilakukan terhadap hasil ekstrak *reflux*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

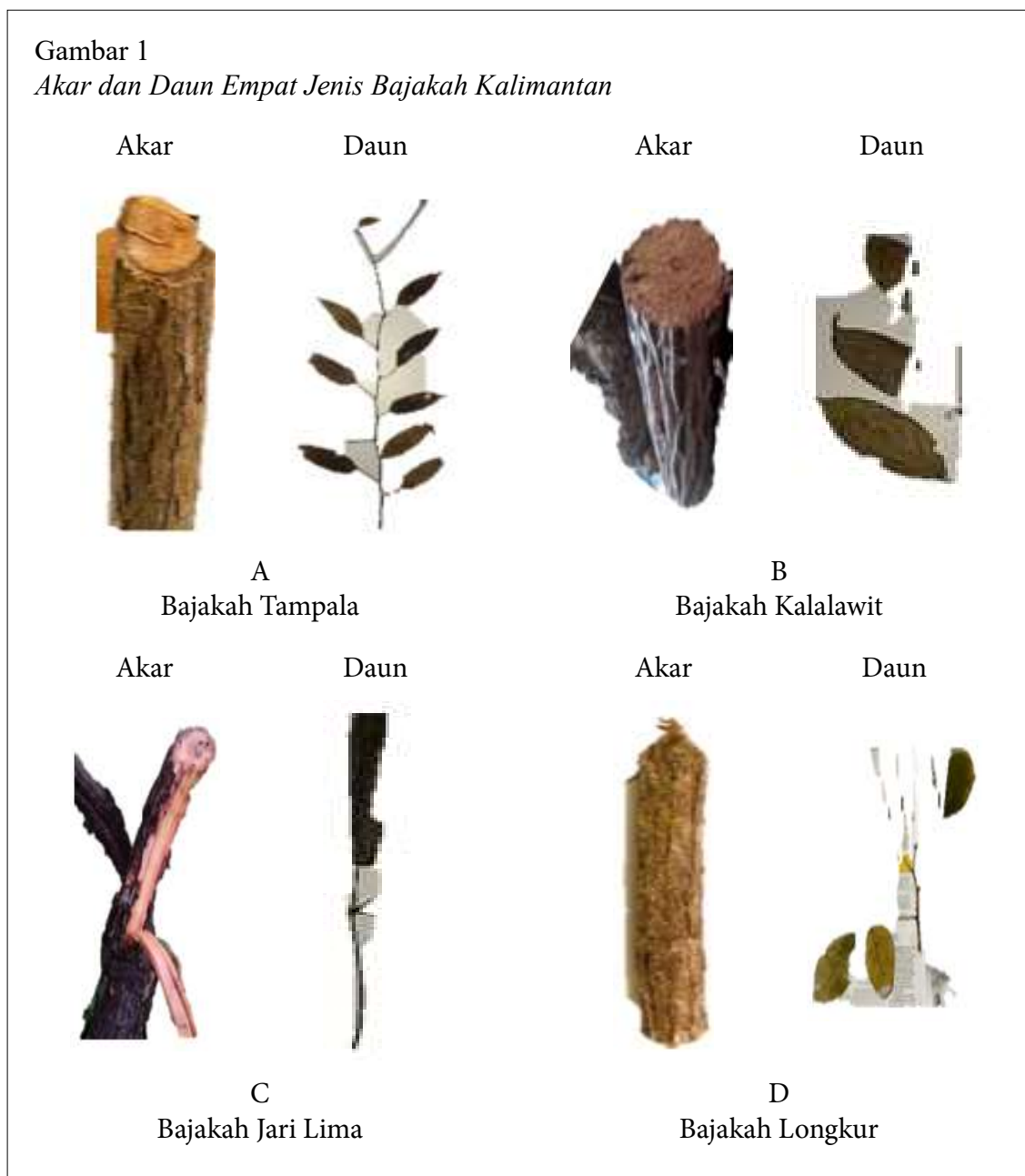
Terdapat empat jenis bajakah hasil seleksi dari bajakah Kalimantan yang sudah digunakan turun temurun sebagai antitumor payudara, yakni tampala, kalalawit, jari lima, dan longkur. Nama ilmiah dan tampilan dari keempat bajakah terseleksi tercantum pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Hasil uji sitotoksitas ekstrak air, air panas, etanol, dan n-heksan keempat bajakah Kalimantan terhadap sel T47D terdapat dalam Gambar 2 dan 3 serta Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan bahwa semua ekstrak etanol pada keempat jenis bajakah merupakan

Tabel 1
Hasil Determinasi Empat Jenis Bajakah Kalimantan

No.	Nama Daerah	Nama Ilmiah
1	Bajakah tampala	<i>Spatholobus littoralis</i> Hassk.
2	Bajakah kalalawit	<i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.
3	Bajakah jari lima	<i>Schefflera petiolosa</i> (Miq.) Harms
4	Bajakah longkur	<i>Spatholobus ferrugineus</i> (Zoll. & Moritzi) Benth.

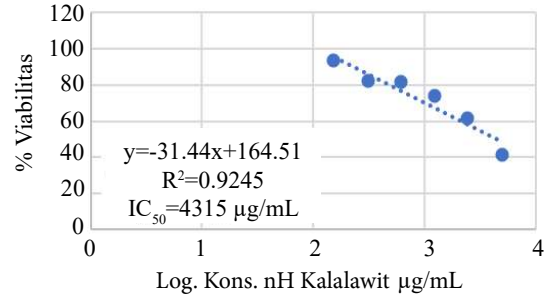
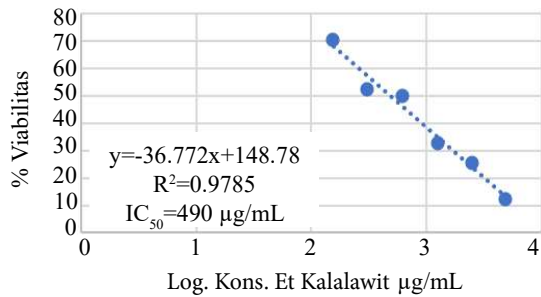
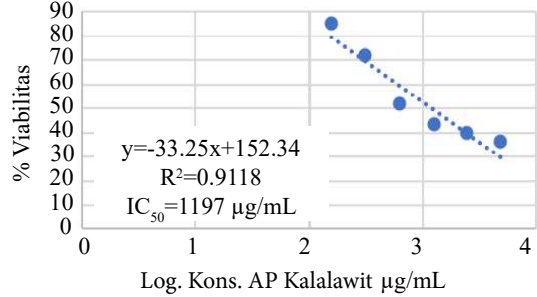
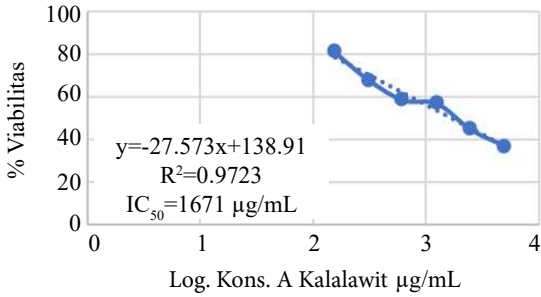
Gambar 1
Akar dan Daun Empat Jenis Bajakah Kalimantan



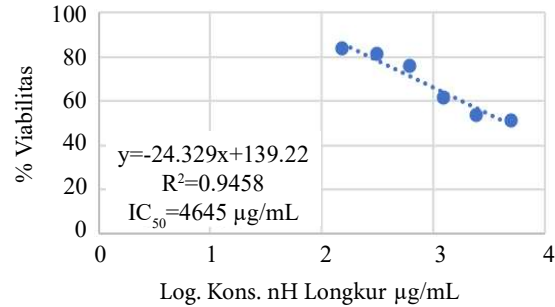
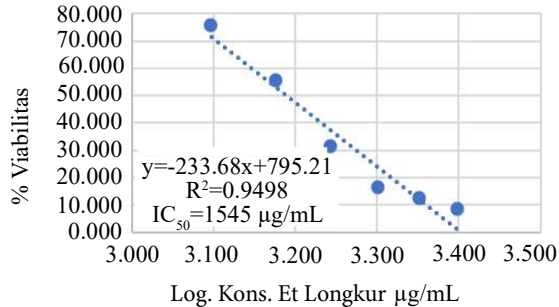
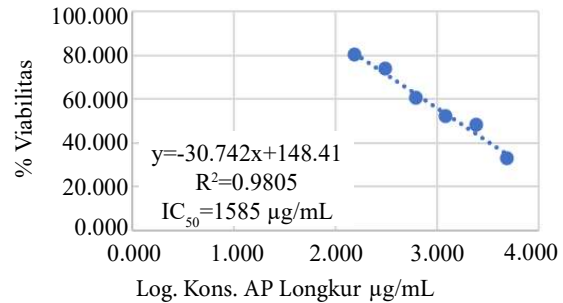
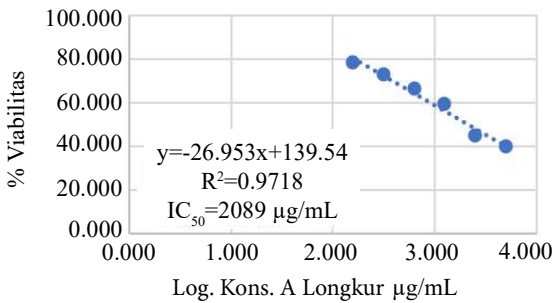
Gambar 2

Kurva Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Air (A), Air Panas (AP), Etanol (Et), dan N-Heksana (nH) Bajakah Kalalawit dan Longkur

A. Bajakah Kalalawit



B. Bajakah Longkur

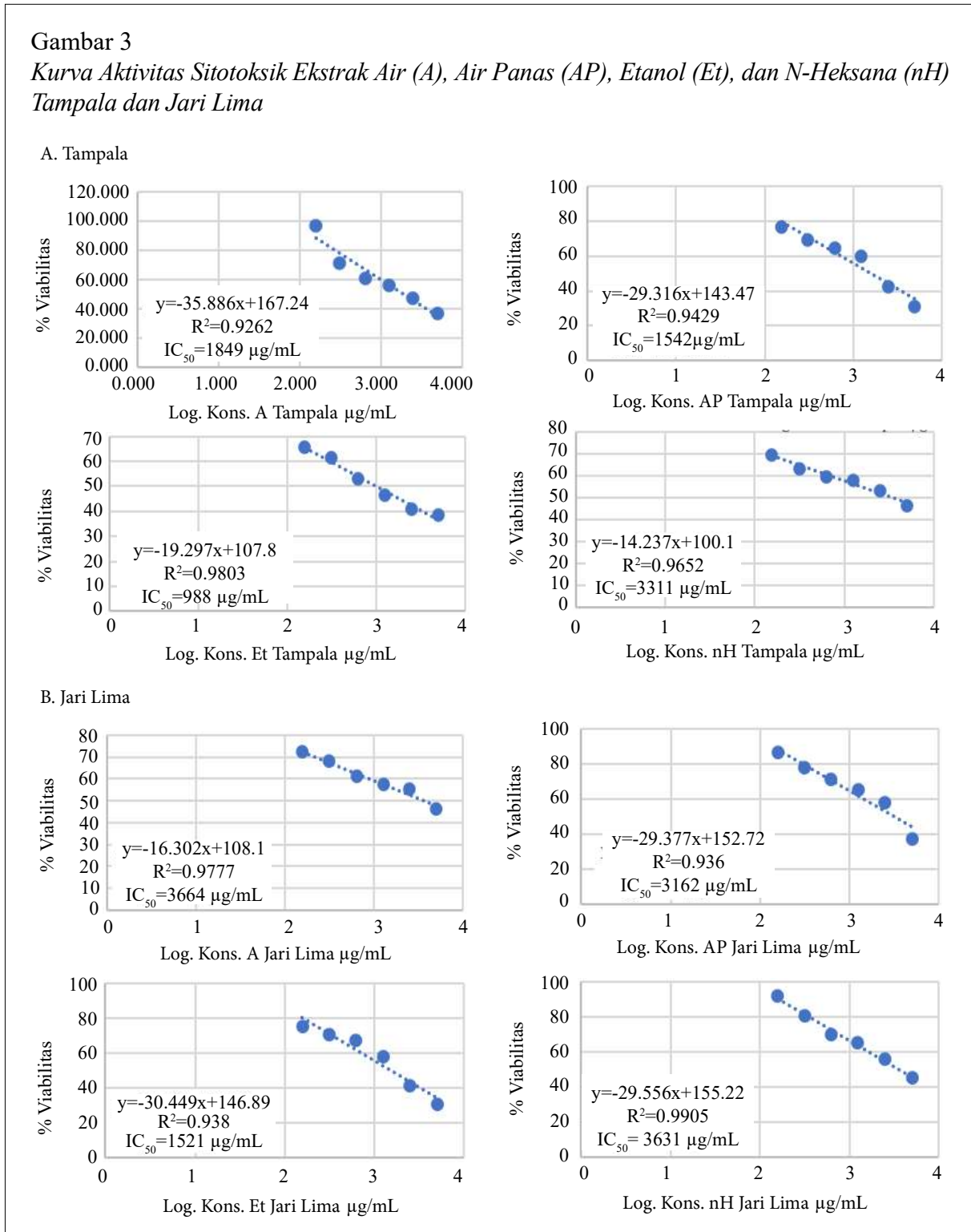


ekstrak dengan sitotoksisitas terkuat dibandingkan ekstrak yang lain terhadap sel T47D. Jadi etanol 96% merupakan pelarut

ekstrak terbaik dibanding air, air panas, dan n-heksan. Potensi sitotoksik terkuat terhadap sel T47D terdapat pada ekstrak etanol

Gambar 3

Kurva Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Air (A), Air Panas (AP), Etanol (Et), dan N-Heksana (nH) Tampala dan Jari Lima



bajakah tampala dengan nilai IC₅₀ 986 µg/mL. Meskipun demikian, potensi ini masih tergolong lemah.

Besaran IC₅₀ juga dipengaruhi oleh besaran kadar kandungan aktif yang terekstrak, karena nilai R² yang didapat

Tabel 2
Regresi, R^2 dan Nilai IC_{50} Empat Ekstrak Akar Bajakah Kalimantan pada Sel T47D

No	Ekstrak Akar Bajakah	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	R^2
1	Ekstrak B. Kalalawit (<i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.)	Air	1671 0,972
		Air panas	1197 0,912
		Etanol 96%	490 0,978
		n-Heksan	4315 0,924
2	Ekstrak B. Tampala (<i>Spatholobus littoralis</i> Hassk.)	Air	1849 0,926
		Air panas	1542 0,943
		Etanol 96%	988 0,980
		n-Heksan	3311 0,965
3	Ekstrak B. Longkur (PMBb) (<i>Spatholobus ferrugineus</i> (Zoll. & Moritzi) Benth.	Air	2089 0,972
		Air panas	1585 0,980
		Etanol 96%	1545 0,950
		n-Heksan	4645 0,946
4	Ekstrak B. Jari lima (<i>Schefflera petiolosa</i> (Miq.) Harms)	Air	3568 0,903
		Air panas	3162 0,936
		Etanol 96%	1521 0,938
		n-Heksan	3631 0,991

semuanya mendekati 1 (R^2 antara 0,9034-0,9905). Dengan demikian, pelarut ekstrak yang kurang cocok (air, air panas, dan n-heksan) tidak akan menyari kandungan aktif dengan baik, dan akibatnya nilai IC_{50} yang dihasilkan lemah. Pelarut terbaik kandungan aktif antikanker untuk ekstraksi dari keempat bajakah tersebut adalah berturut-turut etanol 96%, air panas, air, dan n-heksan; dengan rata-rata nilai $IC_{50} = 1136; 1871,5; 2294,25;$ dan $3975,5 \mu\text{g/mL}$ dan rata-rata $R^2 = 0,962; 0,943; 0,943;$ dan $0,956$. Walaupun demikian, pelarut air panas berbeda sedikit dengan etanol 96%. Kandungan aktif antikanker payudara kurang bersifat non polar karena

ekstrak n-heksan dari keempat bajakah hasil uji sitotoksisitasnya paling lemah, $IC_{50} > 3.000 \mu\text{g/mL}$.

Semua uji sitotoksisitas ekstrak bajakah memberikan nilai $R^2 > 0,90$ (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa uji sitotoksisitas sangat berhubungan dengan konsentrasi kandungan aktifnya. Artinya, bahwa perubahan sedikit kadar kandungan aktif yang diberikan akan berpengaruh terhadap viabilitas sel. Boleh dikatakan bahwa semua ekstrak mengandung zat yang mempunyai potensi sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D. Adapun IC_{50} yang tinggi (sitotoksisitas lemah) dapat dikarenakan kadar kandungan aktif

yang rendah. Kondisi ini perlu dibuktikan dengan melakukan penyarian akar bajakah dengan pelarut yang terbaik (etanol 96%) menggunakan metode ekstraksi *reflux*. Jika ekstrak hasil *reflux* lebih baik, bisa dikatakan bahwa semua ekstrak mengandung zat yang bersifat sitotoksik.

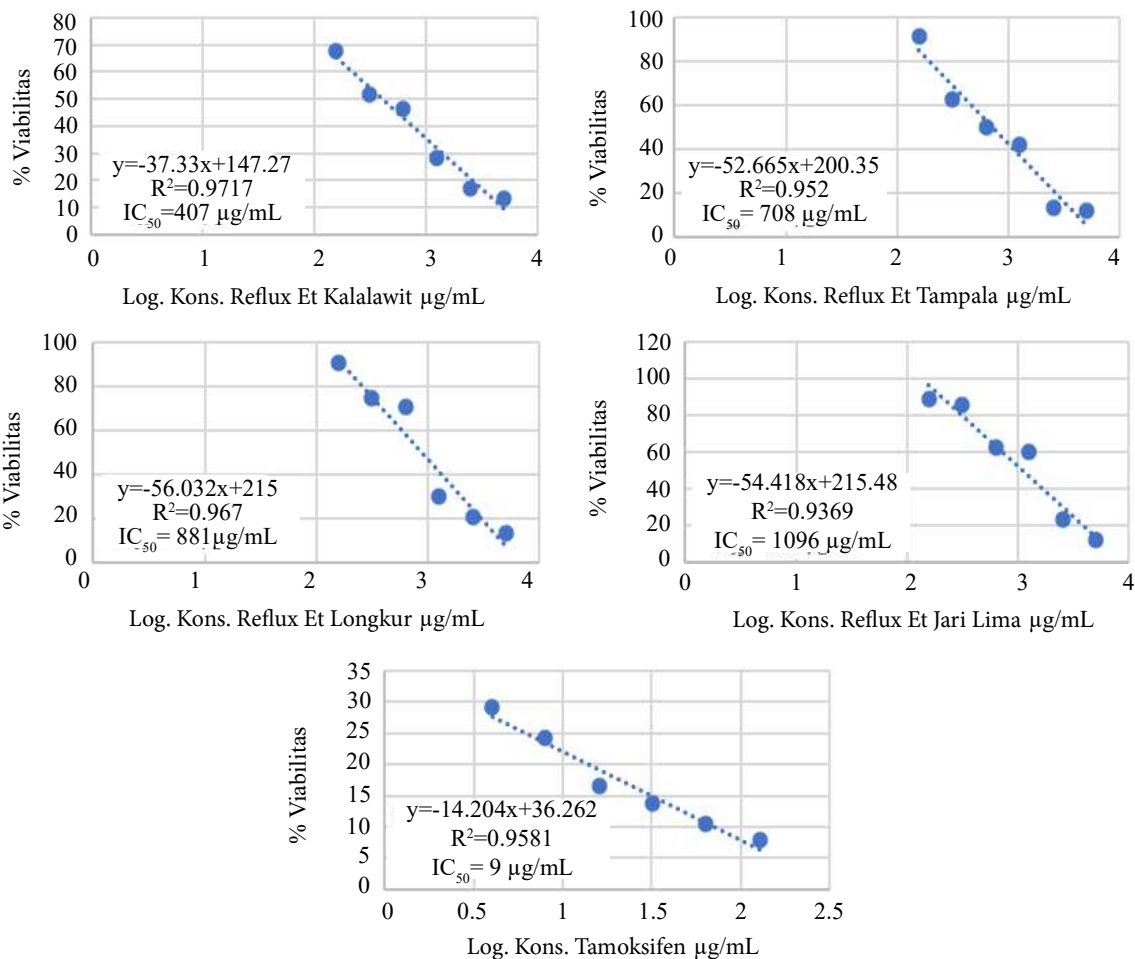
Mengingat pelarut terbaik dari keempat bajakah tersebut adalah etanol 96%, maka untuk memperbaiki nilai IC_{50} ekstrak perlu dilakukan ekstraksi *reflux* menggunakan

etanol 96%. Hasil uji sitotoksisitas ekstrak *reflux* keempat bajakah terdapat pada Gambar 4 dan Tabel 3.

Gambar 4 dan Tabel 3 menunjukkan bahwa dengan ekstrak *reflux* terjadi perbaikan nilai IC_{50} ; mulai dari yang terbaik berturut-turut adalah bajakah kalalawit, tampala, longkur, dan jari lima dengan nilai $IC_{50} = 407; 708; 881; \text{ dan } 1,096 \mu\text{g/mL}$; serta $R^2 = 0,972; 0,952; 0,937; \text{ dan } 0,937$. Semua nilai IC_{50} dari ekstrak *reflux* lebih baik daripada

Gambar 4

Kurva Aktivitas Sitotoksik Keempat Ekstrak-Reflux Et dan Tamoksifen



Tabel 3
Hasil Uji Sitotoksitas Empat Ekstrak Reflux Bajakah terhadap Sel T47D

No	Ekstrak Reflux Akar Bajakah dalam Etanol 96%	IC ₅₀ (ug/mL)	R ²
1	Bajakah Kalalawit (<i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.)	407	0,972
2	Bajakah Tampala (<i>Spatholobus littoralis</i> Hassk.)	708	0,952
3	Bajakah Longkur (<i>Spatholobus ferrugineus</i> (Zoll. & Moritzi) Benth.	881	0,937
4	Bajakah Jari lima (<i>Schefflera petiolosa</i> (Miq.) Harms)	1096	0,937

ekstrak *non-reflux*. Jadi dapat disimpulkan bahwa semua ekstrak bajakah mengandung senyawa aktif antikanker payudara, hanya metode ekstraksi menggunakan etanol 96% perlu dioptimalkan. Ekstraksi menggunakan soxhlet dengan waktu yang lebih lama (>15 menit) diprediksikan dapat meningkatkan kelarutan zat aktif dan memperbaiki nilai IC₅₀ ekstrak bajakah. Metode ekstraksi menggunakan etanol 96% untuk penelitian selanjutnya disarankan menggunakan soxhlet dengan waktu yang lebih lama.

SIMPULAN

Keempat ekstrak bajakah kalalawit, tampala, longkur, dan jari lima berpotensi sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D. Keempat ekstrak disimpulkan mengandung zat aktif antikanker payudara. Ekstrak-*reflux* etanol 96% bajakah kalalawit (*Uncaria gambir* [Hunter] Roxb) memiliki aktivitas sitotoksik yang paling baik (IC₅₀ = 407 ug/

mL; R² = 0,9717) jika dibandingkan dengan ekstrak lainnya, dengan aktivitas lemah terhadap sel kanker payudara T47D karena senyawa aktif antikanker yang terekstrak kadarnya kecil. Untuk meningkatkan nilai IC₅₀ ekstrak disarankan menggunakan metode ekstraksi soxhlet dengan etanol 96% dalam waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Åkesson, C., Lindgren, H., Pero, R. W., Leanderson, T., & Ivars, F. (2003). An extract of *Uncaria tomentosa* inhibiting cell division and NF-κB activity without inducing cell death. *International Immunopharmacology*, 3(13-14), 1889-1900. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2003.07.001>.
- Batiha, G. E-S., Beshbishy, A. M., Wasef, L., Elewa, Y. H. A., Abd El-Hack, M. E., Taha, A. E., Al-Sagheer, A. A., Devkota, H. P., & Tufarelli, V. (2020). *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC.: A review on chemical constituents and biological activities. *Applied Sciences*, 10(8), 2668. <https://doi.org/10.3390/app10082668>.

- Cheng, A-C., Jian, C-B., Huang, Y-T., Lai, C-S., Hsu, P-C., & Pan, M-H. (2007). Induction of apoptosis by *Uncaria tomentosa* through reactive oxygen species production, cytochrome c release, and caspases activation in human leukemia cells. *Food and Chemical Toxicology*, 45(11), 2206-2218. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.05.016>.
- Heitzman, M. E., Neto, C. C., Winiarz, E., Vaisberg, A. J., & Hammond, G. B. (2005). Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *ChemInform*, 36(17). <https://doi.org/10.1002/chin.200517286>.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2020). Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70(1), 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21590>.
- Stephenson, J. (1931). *The medical book of Malayan Medicine*. Translated by Inche' Ismail, Munshi, possibly in Penang, circa 1886, now edited with medical notes by J. D. Gimlette and determinations of the drugs by I. H. Burkill. *The Gardens' Bulletin*, Straits Settlements, Vol. VI, Part 3. 9½; × 6, pp. 152. Singapore: Botanic Gardens. 1930. *Journal of the Royal Asiatic Society of Great Britain & Ireland*, 63(2), 475-477. <https://doi.org/10.1017/S0035869X0011041X>.
- Syarifah, S., Widyawati, T., Anggraini, D. R., Wahyuni, A. S., & Sari, M. I. (2019). Anticancer activity of *uncaria gambir roxb* on T47D breast cancer cells. *Journal of Physics: Conference Series*, 1317, 012106. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1317/1/012106>.
- The Global Cancer Observatory (GCO)*. (2021, Mei). <http://tiny.cc/0hqytz>