

A STUDY OF ANTICANCER OF METHANOLIC EXTRACT FRACTIONS OF  
SUMATRAN *Ficus pruniformis*, *Ficus cunia*, *Ficus variegata*, and *Ficus lepicarpa*  
ON MICE BY BONE MARROW METHOD

Adek Z. Adnan<sup>1</sup>, M. Husni Muktar<sup>1</sup>, Ghina Husnul Nisa<sup>1</sup>, Irawati<sup>1</sup>

Key word : *Ficus* spp, Anticancer activity, Bone Marrow Method

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, Andalas University, Pos Box 143 Padang,  
Phone 0751 71682 , Fax. 0751-73118, E Mail : Adek\_Adnan@yahoo.com

Abstract

During a phytochemical survey along Anai river in Anai Valley, Padangparijang, West Sumatra, four trees locally known as "Loloi", "Buku", "First Ikan-ikan", Second Ikan-ikan" were found and their barks, leaves or fruits gave a (+) alkaloid or flavonoid test. Those plants were identified by Herbarium of Department of Biology, Andalas University as *Ficus cunia* Buch-Ham (Moraceae), *Ficus variegata* Bl, *Ficus lepicarpa* Bl, and *Ficus pruniformis* Bl. (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

The anticancer tests were conducted based on the formation of micronuclei cells induced by cyclophosphamide in bone marrow of mice hind leg. The tested compound were hexane, chloroform and ethyl acetate fraction from flavonoid extract and hexane, neutral chloroform, and basic chloroform fraction from alkaloid extract scheme. The tested compound were administered orally for 7 consecutive days with dose of 300 mg/kg body weight to white male mice. The experimental animals were then treated intraperitoneally with cyclophosphamide at a dose of 50 mg/kg body weight.

The results indicated that the number of micronuclei cells affected by the all tested compound in mice were smaller than of control group (55.55% ). The strong decreasing effect were showed by ethyl acetate fraction of flavonoid of fruit of *Ficus pruniformis* (22.89 %) and neutral chloroform fraction of alkaloid of leaves of *Ficus lepicarpa* Bl (25.44 %).

## 1. PENDAHULUAN

Tumbuhan *Ficus* sp telah lama digunakan masyarakat Indonesia dan Malay Peninsula sebagai obat tradisional. *Ficus ribes* digunakan sebagai obat malaria, *Ficus montana* untuk mengobati sifilis, *Ficus grossularioides* sebagai obat gangguan ginjal dan eksim,

*Ficus variegata* dan *Ficus septica* sebagai antidotum keracunan setelah makan ikan Tetrodon, *Ficus minahassae* dan *Ficus septica* sebagai obat rematik (Perry, 1980); Burkill, 1966).

Genus *Ficus* mengandung alkaloid fentroidolizidin dan flavonoid yang dilaporkan mempunyai aktifitas anti kanker. Tilopirin yang diisolasi dari *Tylophora* pada pengenceran 1 : 50.000 menunjukkan efek toksis terhadap *Paramecium caudatum*, sedangkan terhadap kodok menunjukkan LD 0,4 mg/kg.bb. Tiloserebrin memperlihatkan aktivitas antitumor terhadap system L-1210 limpositik leukemia (Cordel, 1981).

Pada penelitian sebelumnya penulis telah mengisolasi beberapa senyawa dari *Ficus* sp yang dikoleksi dari daerah aliran sungai (DAS) Batang Anai. Dari daun *Ficus grossularioides* yang dikenal dengan nama Silabuak telah berhasil diisolasi flavonoid tricine dan telah dipresentasikan pada 43<sup>rd</sup> Annual Congress on Medicinal Plant Research di Halle (Saale) Germany, 3-7 September 1995 (Adek Z. Adnan, P. Pachaly, Marlina, H. Mudahar, 1995). Dari *Ficus lepicarpa* yang dikenal dengan nama ikan-ikan juga telah berhasil diisolasi alkaloid FL-1 ( $C_{23}H_{25}NO_3$ ) dan Alkaloid FL-2 (Adek Z. Adnan, Suhatri, Erjon, 1995). Dari kulit batang *Ficus ribes* telah berhasil diisolasi alkaloid FR-1 ( $C_{21}H_{29}NO_5$ ) (Adek Z. Adnan, Suhatri, Jhon Herry, 1995), sedangkan dari daun segar *Ficus ribes* telah berhasil diisolasi alkaloid FR-2 ( $C_{24}H_{25}NO_3$ ) (Adek Z. Adnan, Armenia, Ahmadsyah 1995). Dari kulit batang *Ficus semicordata* kami juga telah berhasil mengisolasi alkaloid FS-1 ( $C_{23}H_{29}NO_4$ ).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapat fraksi sari methanol *Ficus* sp yang mengandung alkaloid atau flavonoid dan mempunyai aktivitas antikanker. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi dan fraksinasi alkaloid dan flavonoid dengan metoda konvensional, sedangkan uji antikanker dilakukan dengan *Bone Marrow Method* dengan hewan uji mencit jantan (*Mus musculus*).

## 2. PELAKSANAAN PENELITIAN

### 2.1. Alat dan Bahan

#### Alat

Destilasi vakum, Rotary evaporator (Buchi), desikator, corong pisah, lumpang dan stamfer, pinset, plat tetes, tabung reaksi, spatel, sentrifuse (Hettich EBA 20). Vortex (Fisons) syringe (Hamilton), gunting bedah, neraca analitik (Denver Instrument M-



220D), gunting bedah, kandang hewan, timbangan hewan, kaca objek, cover glass, jarum oral, spet suntik, mikroskop, fotomikroskop (Trinocular, Carton).

#### Bahan

Kortek *Ficus lepicarpa*, daun *Ficus lepicarpa*, buah *Ficus cunia*, daun *Ficus cunia*, buah *Ficus pruniformis*, kortel *Ficus variegata*, methanol, kloroform, pereaksi Mayer, pereaksi Liebermann-Burchard, etanol 95%, asam klorida pekat, besi(III) klorida, serbuk magnesium, heksana, asam asetat, ammonia, air suling, natrium sulfat eksikatus, siklofosfamida (Asta Medica), gom arab, dapar fosfat, *Calf Bovine Serum*, xylol, Pewarna May Gruenwald.

### 2.2. Pelaksanaan Penelitian:

#### a. Studi lapangan

Studi lapangan dilakukan didaerah aliran sungai (DAS) Batang Anai, Bukit Berbunga, Padang Panjang. Dilakukan pengumpulan bagian tumbuhan *Ficus* sp yang memberikan Reaksi positif terhadap pereaksi alkaloid (Mayer) dan Flavonoid (Serbuk Mg/HCl).

#### b. Identifikasi tumbuhan

Tumbuhan yang memberikan reaksi positif terhadap alkaloid dan flavonoid diidentifikasi di Herbarium Andalas, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas.

#### c. Maserasi dan fraksinasi alkaloid

Sampel segar bagian tumbuhan *Ficus* sp dirajang halus dimaserasi dengan methanol 3 kali selama 5 hari. Maserat disaring dengan kapas kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh sari bebas metanol. Sari bebas metanol ditambah 400 ml larutan asam asetat 5%, dibiarkan satu malam, kemudian didekantasi. Larutan induk dipartisi berturut-turut dengan heksana (3 x500 ml) dan kloroform (3x500 ml). Larutan induk dibasakan dengan  $\text{NH}_4\text{OH}$  sampai pH 9-10, kemudian dipartisi dengan kloroform (3x500 ml). Semua sari dikeringkan dengan natrium sulfat eksikatus, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator*, kemudian ditimbang.

#### **d. Maserasi dan fraksinasi flavonoid**

Sampel segar bagian tumbuhan *Ficus sp* dirajang halus dimaserasi dengan metanol 3 kali selama 5 hari. Maseret disaring dengan kapas kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh sari bebas metanol. Sari bebas metanol ditambah 400 ml larutan air suling dengan suhu 60°C, kemudian didekantasi. Larutan induk dipartisi berturut-turut dengan heksana (3 x500 ml) dan kloroform (3x500 ml) dan etil asetat (3x500 ml). Semua sari dikeringkan dengan natrium sulfat eksikatus, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator*, kemudian ditimbang.

#### **e. Uji antikanker dengan metoda Bone Marrow (Hostetman, 1991)**

##### **Pelaksanaan uji Bone Marrow**

Hewan uji *Mus musculus* jantan usia 3 bulan, diaklimasi selama 1 minggu, kemudian dibagi secara acak kedalam 11 kelompok, masing-masing sebanyak 3 ekor.

Kelompok 1 : Kelompok kontrol negatif, diberi larutan gom arab 0,5% peroral selama 7 hari berturut turut.

Kelompok 2 : Kelompok kontrol positif, diberi larutan gom arab 0,5% peroral selama 7 hari berturut-turut. Kemudian pada hari ketujuh diberi siklofosamid dengan dosis 50 mg/kgbb secara intraperitoneal.

Kelompok 3 : Kelompok senyawa uji, diberi suspensi fraksi etil asetat buah *Ficus cunia* peroral dengan dosis 300 mg/kg.bb selama 7 hari. Kemudian pada hari ketujuh diberi siklofosamid dengan dosis 50 mg/kg

Selanjutnya kelompok 4-10 : Diperlakukan sama dengan Kelompok 3, tetapi mereka menerima senyawa uji berbeda. Kelompok 4, fraksi etil asetat kortek *Ficus variegata*; Kelompok 5, fraksi etil asetat daun *Ficus lepicarpa*; Kelompok 6, fraksi etil asetat kortek *Ficus lepicarpa*; Kelompok 7, fraksi etil asetat buah *Ficus pruniformis*; Kelompok 8, fraksi kloroform daun *Ficus cunia*; Kelompok 9, fraksi kloroform daun *Ficus lepicarpa*; Kelompok 10, fraksi kloroform kulit batang *Ficus lepicarpa*.

Pada hari kedelapan hewan dibunuh dengan cara dislokasi leher, femur kaki belakang dipisahkan kemudian diambil sumsumnya. Sumsum ditambah dengan Calf Bovine serum dalam dapar fosfat (1:1 v/v) dikocok 5 menit, kemudian disentifus 5 menit. Bagian serum dibuang dan pellet disuspensikan dalam 0,5 campuran serum-dapar fosfat(1:1 v/v).



### Pembuatan preparat dan evaluasi

Sebanyak 5 µl suspensi pelet sumsum ditempatkan di kaca obyck, dikering anginkan, kemudian direndam dalam metanol selama 10 menit. Preparat direndam 3 menit dalam 50 ml pewarna May-Gruenwald kemudian direndam selama 2 menit dalam 100 ml campuran May-Gruenwald-dapar fosfat (1:1 v/v), kemudian dicuci dengan dapar fosfat. Preparat direndam dalam 70 ml campuran giemsa-dapar fosfat (1:1 v/v) selama 10 menit, kemudian dicuci dengan dapar fosfat dan air suling. Preparat dikeringkan dan dibersihkan dari sisa pewarna dengan merendam dalam etanol 95% selama 45 detik, kemudian direndam dalam larutan xylol selama 3 menit, kemudian dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x100 dengan bantuan minyak immersi. Pengamatan ditujukan terhadap jumlah sel mikronuklei dalam 100 sel normal. Sel normal terlihat bewarna biru terang dan sel mikronuklei bewarna biru tua.

### 3. HASIL PENELITIAN

Dari *field study* yang dilakukan tanggal 22 dan 28 Februari 2004 di DAS Batang Anai ditemukan 10 tumbuhan yang menyerupai Ficus, tetapi setelah dilakukan determinasi di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas ternyata hanya 5 tumbuhan yang merupakan Ficus sp. Hasil determinasi ditampilkan pada Tabel 1.

**Tabel 1. : Hasil Determinasi dan skrining fitokimia Ficus Sp yang dikoleksi dari DAS Batang Anai**

Species	Kortek		Daun		Buah	
	Alkaloid	Flavonoid	Alkaloid	Flavonoid	Alkaloid	Flavonoid
<i>F. cunia</i>	-	+	-	+	-	+
<i>F. variegata</i>	++	+				
<i>F. lepigarpa</i>	-	+	-	+	-	-
<i>F. pruniformis</i>	+	+	+	-	+	+

Keterangan : F : flavonoid

A : alkaloid

Bagian tumbuhan yang memberikan reaksi positif terhadap pereaksi alkaloid dan flavonoid dikumpulkan dalam jumlah yang banyak sesuai dengan ketersediaan dilokasi dan dengan tidak merusak tumbuhan. Pada Tabel 2 ditampilkan bagian tumbuhan Ficus spp yang berhasil dikumpulkan.

Bagian tumbuhan tersebut selanjutnya diisolasi terhadap alkaloid dan flavonoid. Bagian tumbuhan yang memberikan reaksi positif terhadap kedua metabolit sekunder, alkaloid dan flavonoid, dibagi 2 dan diisolasi terhadap fraksi alkaloid dan flavonoid.

**Tabel 2: Bagian tumbuhan *Ficus* spp yang dikumpulkan untuk fraksinasi alkaloid dan flavonoid.**

Species	Nama daerah	Berat sample segar		
		Kortek	Daun	Buah
<i>F cunia</i>	Loloi	3,55	3	3
<i>F variegata</i>	Buku-buku	4	-	-
<i>F lepicarpa</i>	Ikan-ikan-1	4,5	3	-
<i>F pruniformis</i>	Ikan-ikan-2	3,2	0,55	5,7

Hasil fraksinasi alkaloid dan flavonoid ditampilkan pada Tabel 3. Hasil fraksinasi yang mencukupi beratnya dilanjutkan untuk skrining antikanker dengan *Bone Marrow Method*. Untuk fraksinasi alkaloid ternyata berat ekstrak yang mencukupi adalah ekstrak kloroform netral.

**Tabel 3 : Berat ekstrak Fraksinasi alkaloid dan flavonoid *Ficus* sp**

	Berat ekstrak (mg)					
	Fraksinasi alkaloid			Fraksinasi flavonoid		
	Heksan	CHCl <sub>3</sub> -n	CHCl <sub>3</sub> -b	Heksan	CHCl <sub>3</sub>	Et. Ac
Kortek <i>F cunia</i>	113,1	367,8	130,4	116	373,1	130,6
Daun <i>F cunia</i>	22,8	556,3		90,3	350,5	
Buah <i>F cunia</i>	133,1	434,1	95,2	147,5	420,1	3712,7
Kortek <i>F variegata</i>	107,3	190,8	167,1	84,9	276,7	
Kortek <i>F lepicarpa</i>	-	-	-	95,5	1312,6	1938,4
Daun <i>F lepicarpa</i>	121,4	415,2	171	105,9	353,7	2577,8
Kortek <i>F pruniformis</i>	111,6	96,4	99,5	-	-	-
Daun <i>F pruniformis</i>	107,1	347,5		-	-	-
Buah <i>F pruniformis</i>	131	502	182,6	366	1465,4	1783,1

Keterangan : CHCl<sub>3</sub>-n = fraksi kloroform netral  
CHCl<sub>3</sub>-b = fraksi kloroform basa

Pada Tabel 4 ditampilkan hasil uji antikanker dengan *Bone Marrow Method* terhadap fraksi etil asetat *Ficus* spp yang diperkirakan mengandung flavonoid.



**Tabel 4 : Hasil uji pembentukan sel mikronuklei dengan *Bone Marrow Method* fraksi etil asetat *Ficus sp***

Kel.	Sampel	Selmikronuklei (%)
1	K-	18,22±5,19
2	K + (siklofosfamid 50 mg/Kg.bb)	55,55±3,56
3	Frak EtAc buah <i>F cunia</i>	24,67±2,83
4	Frak EtAc kortek <i>F variegata</i>	33,00±2,73
5	Frak EtAc daun <i>F lepicarpa</i>	28,55±9,26
6	Frak EtAc kortek <i>F lepicarpa</i>	35,22±3,03
7	Frak EtAc buah <i>F pruniformis</i>	22,89±3,01

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa semua kelompok uji fraksi etil asetat memperlihatkan persentase sel mikronuklei yang lebih kecil dibanding kontrol positif (55,55±3,56 %), akan tetapi lebih besar dibanding kontrol negatif (18,22±5,19 %). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kelompok uji mempunyai aktivitas antikanker dengan deretan potensi Frak EtAc buah *F pruniformis* > Frak EtAc buah *F cunia* > Frak EtAc daun *F lepicarpa* > Frak EtAc kortek *F variegata* > Frak EtAc kortek *F lepicarpa* dengan jumlah sel mironuklei berturut-turut 22,89±3,01; 24,67±2,83; 28,55±9,26; 33,00±2,73; 35,22±3,03; 55,55±3,56 %.

Pada Tabel 5 ditampilkan hasil uji antikanker dengan *Bone Marrow Method* terhadap fraksi khloroform netral *Ficus spp* yang diperkirakan mengandung flavonoid

**Tabel 5 : Hasil uji pembentukan sel mikronuklei dengan *Bone Marrow Method* fraksi kloroform netral *Ficus sp***

Kel.	Sampel	Selmikronuklei (%)
1	K-	18,22±5,19
2	K+ (Siklofosfamid 50 mg/kg bb)	55,55±3,56
3	Frak CHCl <sub>3</sub> daun <i>Ficus cunia</i>	29,22±4,35
4	Frak CHCl <sub>3</sub> daun <i>Ficus lepicarpa</i>	25,44±0,51
5	Frak CHCl <sub>3</sub> kortek <i>Ficus lepicarpa</i>	32,78±7,4

Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa semua kelompok uji fraksi kloroform netral memperlihatkan persentase sel mikronuklei yang lebih kecil dibanding kontrol positif (55,55±5,56 %), akan tetapi lebih besar dibanding kontrol negatif (18,22±5,19 %). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa semua kelompok uji mempunyai aktivitas antikanker dengan deretan potensi Frak CHCl<sub>3</sub> daun *Ficus lepicarpa* > Frak CHCl<sub>3</sub> daun

*Ficus cunia* > Frak CHCl<sub>3</sub> kortek *Ficus lepicarpa* dengan jumlah sel mikronuklei berturut-turut 25,44±0,51; 29,22±4,35; 32,78±7,4.

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan :

1. Fraksi etil asetat *F pruniformis* , buah *F cunia*, daun *F lepicarp*, kortek *F variegata*, kortek *F lepicarpa* dengan potensial sebagai antikanker dengan jumlah sel mironuklei berturut-turut 22,89±3,01; 24,67±2,83; 28,55±9,26; 33,00±2,73; 35,22±3,03; 55,55±3,56 %.
2. Fraksi kloroform daun *Ficus lepicarpa*, Frak CHCl<sub>3</sub> daun *Ficus cunia*, Frak CHCl<sub>3</sub> kortek *Ficus lepicarpa* potensial ebagai antikanker dengan jumlah sel mikronuklei berturut-turut 25,44±0,51; 29,22±4,35; 32,78±7,4.

Saran:

- 1 Dilakukan isolasi alkaloid dan flavonoid murni dari fraksi alkaloid dan flavonoid *Ficus spp* yang potensial sebagai atikanker.
- 2 Dilakukan uji antikanker terhadap alkaloid dan flavonoid murni.

#### 5. REFERENSI

- 1 Adnan, Adek Z, P. Pachaly, M.H. Mukhtar, Almahdy A., Rusdi, Sherley. F Dewi, A Study of Tinocrisposide carcinogenic effect on mice, 3<sup>rd</sup> International Congress on Phytomedicine, Munich, Germany, October 11-13, 2000.
- 2 Adnan, Adek Z., P. Pachaly, Marlina, H. Mudahar, Flavonoid glycosides from Sumatran *Ficus grossularioides*, 43<sup>rd</sup> Annual Congress on Medicinal Plant Research of The Society for Medicinal Plant Research, Halle (Saale) , Germany, September 3 – 7, 1995.
- 3 Adnan, Adek Z., Armenia, Ahmadsyah, Isolasi Alkaloida dari daun *Ficus ribes* Reinw.ex Bl., Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA Univ. Andalas, 1995.
- 4 Adnan, Adek Z., Suhatri, Jon Herry, Isolasi Alakaloida dari kulit batang "Lolei" *Ficus ribes* Reinw. ex Bl., Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA Univ. Andalas, 1995
- 5 Adnan, Adek Z., Helmi Arifin, Yulferiza, Aktivitas Antimikroba Alkaloida Hasil Isolasi dari daun *Ficus ribes* Reinw. Ex Bl. (Moraceae)., Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA Univ Andalas, 1995.
- 6 Adnan, Adek Z. Adnan, Erjon, Isolasi Alkaloida dari daun "Ikan-ikan" (*Ficus lepicarpa* Bl.), Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA Univ. Andalas, 1995.
- 7 Adnan, Adek Z., M. Husni Mukhtar, Yuharzi, Skrining Hippokratik Alkaloid kasar fraksi kloroform dari daun tumbuhan *Ficus lepicarpa* Bl, Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA Univ. Andalas, 1998.



- 8 Adnan, Adek Z., M. Husni Mukhtar, Boyke Abdillah, Isolasi alkaloid dari kulit batang *Ficus semicordata* B. Ham. Ex J.E.Sm, Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA Univ, Andalas, 1998.
- 9 Burkill, L.H., A dictionary of The Economic Products of The Malay Peninsula,, Governments of Malaysia and Singapore by The Ministry of Agriculture and Co-operatives, Kuala Lumpur, Malaysia, 1966.
- 10 Cordell, G.A., Introduction to Alkaloid, A Biogenetic Approach, A Wiley Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto (1981).
- 11 Hostetmann, K, Assay for Bioactivity, Methods in Plant Biochemistry, Series editors, P.M. Dey and J.B. Harborne, Academic Press, 1991
- 12 Perry, L.M., Medicinal Plants of East and Southeast Asia : Attributed Properties and Uses, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, and London, 1980.