

SENYAWA KIMIA STEROL DARI KULTUR JARINGAN KELADI TIKUS (*Typhonium divaricatum* Decne)

Submitted : 29 Juli 2019

Edited : 20 Desember 2019

Accepted : 30 Desember 2019

Lilik Sulastr¹, Partomuan Simanjuntak^{2,3}

¹Sekolah Tinggi Teknologi dan Farmasi (STTIF), Jalan Kumbang no 23 Bogor 16151;

²Puslit Bioteknologi-LIPI Jalan Raya Bogor Km 46 Cibinong 16911;

³Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jagakarsa Jakarta 12640

*Email : liliksulastr¹28@gmail.com

ABSTRACT

Keladi tikus (Typhonium divaricatum Decne) is one of Araceae family which a plant that's very popular in Indonesian society because it contains anti-cancer substances. Nowadays, keladi tikus plants have been cultivated in tissue culture widely. The simplicia used in this study was keladi tikus from tissue culture which was separated into the upper part (leaves and petioles) and the bottom (tubers) dried in the sun. Dry simplicia was extracted with methanol at a temperature of 60-70 °C and the methanol extract was partitioned with ethylacetate then with n-BuOH solvents, and all extracts were tested for cytotoxic tests using the Brine Shrimp Lethality test (BSLT) method. The active fraction of ethylacetate extract, which is the tuber parts was carried out by column chromatography (SiO₂; i). n-hexane: ethylacetate = 10: 1 ~ 1: 1; ethylacetate; MeOH; ii). n-hexane-ethylacetate = 5: 1) give one pure isolate. The results of identification based on Infrared (IR) spectra, and gas chromatography-mass spectra (GC-MS) are S-sitosterol which LC₅₀ is 76.2 ppm

Keywords : *Keladi tikus; Typhonium divaricatum Decne; Araceae; tissue culture; S-sitosterol*

PENDAHULUAN

Keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) adalah tanaman semak dari suku Araceae yang di Pulau Jawa sudah sering digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit kulit. Akhir-akhir ini, tanaman keladi tikus muncul sebagai tanaman yang dilaporkan dapat membantu penyembuhan berbagai penyakit kanker antara lain kanker rahim, paru-paru, lambung, ginjal, payudara dan biasanya digunakan untuk mengurangi efek samping dari kemoterapi seperti rambut rontok, mual-mual, tidak ada nafsu makan dan lain^(1,2,3).

Di Malaysia, ekstrak keladi tikus ini telah diproduksi dalam bentuk pil dan teh bubuk. Ekstrak tanaman ini bahkan dapat menyembuhkan kanker mulut rahim, sehingga

tanaman ini di media cetak dan di majalah Indonesia dijuluki sebagai "Tanaman ajaib". Karena tanaman keladi tikus sangat banyak manfaatnya dan telah dikomersialkan sebagai bahan baku pangan dan bahan baku obat tradisional⁽⁴⁾. Sehingga untuk memproduksi atau memperbanyak jumlah tanaman keladi tikus, hampir semua instansi penelitian telah melakukan kultur jaringan. Kultur jaringan didefinisikan sebagai teknik membudidayakan jaringan agar menjadi organisme yang utuh dan mempunyai sifat yang sama dengan induknya^(1,2). Kultur jaringan adalah salah satu cara perbanyakan tanaman secara vegetative yang mempunyai keuntungan seperti lebih hemat tempat, hemat waktu, dan tanaman yang diperbanyak, mempunyai sifat sama atau seragam dengan induknya dan mutu bibit lebih

terjamin. Ada beberapa senyawa kimia yang sudah diisolasi dari ekstrak keladi tikus antara lain Phenyltridecanoic acid, methyl 13 tridecanoate, dan beberapa senyawa alifatik lain⁽⁵⁾, -sitosterol, -daucosterol, 1-O- β -glucopyranosyl-2-(hydroxyloctadecanoyl)-amido-4,8-octadecadiene-1,3-diol⁽⁶⁾. Maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam umbi keladi tikus hasil kultur jaringan yang dipandu berdasarkan uji sitotoksik dengan metode BSLT.



Gambar 1. Tanaman keladi tikus (*T. divaricatum* Decne) hasil kultur jaringan

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) hasil kultur jaringan.

Pereaksi yang digunakan Pereaksi Lieberman-Burchard, air laut, larva udang *Artemia salina* Leach, metanol, *n*-heksan, Bismut nitrat, larutan penyemprot Dragendorff, *n*-butanol, etilasetat dan Silika gel GF60 (70-230 mesh).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat refluks, evaporator vakum, neraca analitik, botol kultur, lampu neon, corong pisah, spektrofotometer infra merah, spektrometer GC-MS dan perangkat gelas.

Ekstraksi dan partisi

Masing-masing tanaman kering (bagian bawah dan atas) sebanyak 100 gr direfluks dengan pelarut metanol sebanyak 6 kali pada suhu 60-70 °C, dipekatkan dengan Rotary vakum evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh ditambahkan air dan dipartisi dengan etilasetat dengan perbandingan 1 : 1, dipisahkan dan kemudian dilanjutkan dengan pelarut *n*-butanol. Sehingga diperoleh ekstrak etilasetat, *n*-BuOH dan air.

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dilakukan berdasarkan metode Farnsworth dan dimodifikasi oleh Gireesh, 2013⁽⁷⁾.

Pengujian toksisitas berdasarkan metode Brine Shrimp Lthality Test (BSLT)

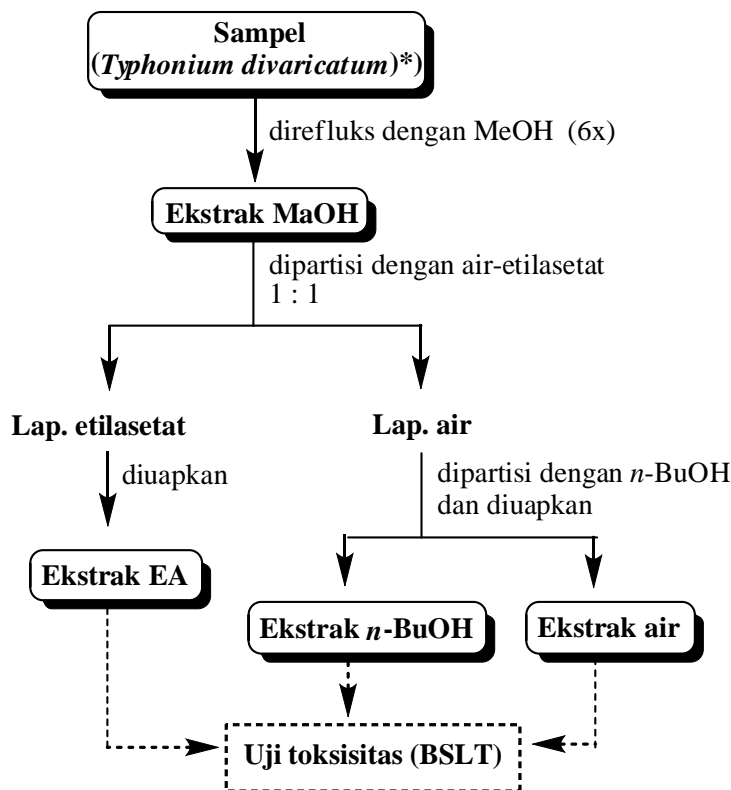
Pengujian sitotoksik terhadap ekstrak, fraksi dan senyawa murni dilakukan berdasarkan metode Meyer yang dimodifikasi⁽⁸⁾.

Isolasi dan pemurnian dengan kromatografi kolom

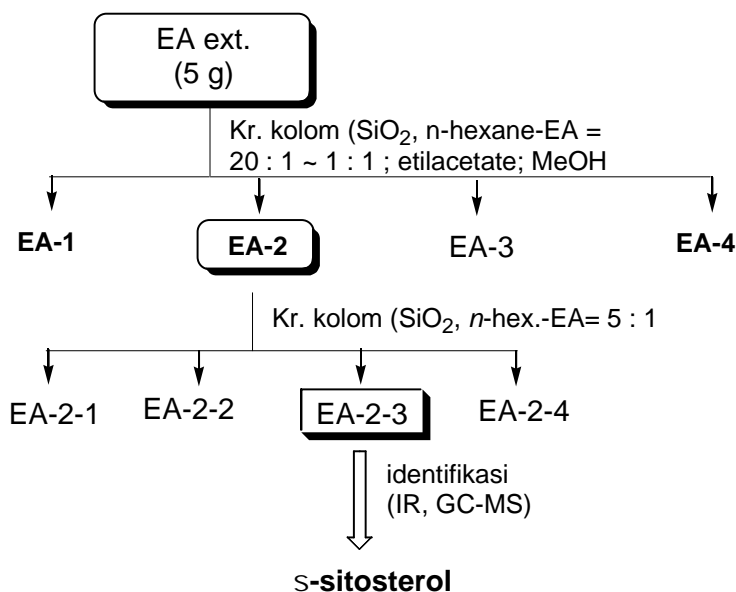
Ekstrak etilasetat 5 gr dilakukan kromatografi kolom (SiO₂: kloroform-metanol = 20 : 1 ~ 1 : 1) memberikan 4 fraksi. Kemudian fraksi EA-2 dilakukan kromatografi kolom kedua dengan sistem (SiO₂, *n*-heksan-etilasetat = 5 : 1) sehingga diperoleh senyawa murni yang memiliki daya sitotoksik yang baik.

Identifikasi isolat murni

Isolat murni adalah isolate yang memiliki daya sitotoksik terbaik. Identifikasi struktur kimia berdasarkan data spektrum Infra merah (FT-IR) dan GC-MS. Skema isolasi dan identifikasi dapat dilihat pada Gambar 2.



*) : Masing-masing bagian tanaman yang atas dan di bawah tanah direfluks secara terpisah



Gambar 2. Skema Isolasi dan identifikasi senyawa kimia keladi tikus

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan fitokimia untuk ekstrak MeOH keladi tikus

Dalam pengujian penapisan fitokimia, alkaloid tidak teridentifikasi

(negatif) di dalam ekstrak MeOH dengan tidak terbentuknya warna merah setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Pada pengujian flavonoid terbentuk warna merah pada lapisan amil alkohol, sehingga

flavonoid positif di dalam ekstrak MeOH. Keberadaan steroid dan triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan pada pengujian dengan larutan Liebermann-Buchard warna biru untuk steroid, hijau untuk triterpenoid. Pengujian saponin memberikan busa dengan air dan dikocok yang mengindikasikan adanya saponin dalam ekstrak MeOH. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia untuk ekstrak MeOH

No.	Jenis pengujian	Eksistensi
1	Alkaloid	Negatif
2	Flavonoid	Positif
3	Saponin	Positif
4	Steroid	Positif
5	Triterpenoid	Positif

Hasil uji sitotoksik dengan metode BSLT

Hasil pengujian BSLT untuk ekstrak keladi tikus bagian atas (Tabel 2) menunjukkan bahwa persentase kematian larva udang dalam seluruh ekstrak tidak ada yang mencapai 50%, sehingga tidak dilakukan perhitungan *probit analysis* guna memperoleh nilai LC_{50} . Ini membuktikan bahwa ekstrak methanol, etilasetat, *n*-butanol dan air dari bagian atas simplisia tidak memiliki daya toksik

Pada hasil pengujian untuk keladi tikus bagian bawah terdapat rata-rata persentase kematian mencapai lebih dari 50% yaitu ekstrak etilasetat. Data tersebut dilakukan analisis probit yang memberikan LC_{50} sebesar 73,93 ppm yang mengindikasikan konsentrasi ekstrak etilasetat keladi tikus yang dapat mematikan 50% larva udang yang terdapat di dalamnya. Hasil Uji toksisitas ekstrak keladi tikus bagian bawah dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil uji toksisitas untuk ekstrak keladi tikus bagian atas

No.	Jenis ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Jumlah Rata-rata	Persen Kematian (%)
			I	II	III		
1	Metanol	10	0	1	0	0,33	2,22
		100	0	0	1	0,33	2,22
		1000	1	3	1	1,67	11,11
2	Etilasetat	10	2	1	1	1,33	8,89
		100	2	1	1	1,33	8,89
		1000	2	2	4	2,67	17,78
3	<i>n</i> -butanol	10	2	0	0	0,67	4,44
		100	2	3	1	2,00	13,33
		1000	2	4	3	3,00	20,00
4	Air	10	0	0	1	0,33	2,22
		100	1	0	0	0,33	2,22
		1000	0	2	2	1,33	8,89

Tabel 3. Hasil uji toksisitas untuk ekstrak keladi tikus bagian bawah

No.	Jenis ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Jumlah Rata-rata	Persen Kematian (%)
			I	II	III		
1	Metanol (Me)	10	0	1	2	1,00	6,67
		100	3	4	6	4,33	28,89
		1000	5	5	7	5,67	37,78
2	Etilasetat (EA)	10	2	3	2	2,33	15,56
		100	8	9	8	8,33	55,56
		1000	12	15	14	13,66	91,11 (LC ₅₀ 73,93 ppm)
3	<i>n</i> -butanol (Bu)	10	0	4	1	1,66	11,11
		100	1	6	5	4,00	26,67
		1000	4	6	7	5,67	37,78
4	Air (Wa)	10	5	5	3	4,33	28,89
		100	6	5	3	4,66	31,11
		1000	8	5	4	5,66	37,78
5	EA-1	10	0	1	0	0,33	2,00
		100	1	0	0	0,66	4,40
		1000	2	2	1	1,67	11,13
	EA-2	10	6	5	6	5,66	37,77
		100	8	8	8	8	53,33
		1000	13	12	12	12,33	82,22 (LC ₅₀ 71,1 ppm)
	EA-3	10	3	4	6	4,33	28,89
		100	4	6	7	5,67	37,77
		1000	5	7	7	6,33	42,22
	EA-4	10	1	0	0	0,33	2,22
		100	2	3	4	2,66	17,77
		1000	7	8	8	7,66	51,11
6	EA-2-1	10	8	9	9	8,66	57,77
		100	10	9	9	9,33	62,22
		1000	12	11	11	11,33	75,55
	EA-2-2	10	2	1	2	1,66	11,11
		100	4	4	3	3,67	24,46
		1000	5	7	6	6	40
	EA-2-3	10	6	7	8	7	46,66
		100	10	11	11	10,66	71,11
		1000	11	11	12	11,32	75,55 (LC ₅₀ 67,2 ppm)
EA-2-4	10	2	1	2	1,66	11,06	
	100	4	3	2	3	20,00	
	1000	7	6	7	6,66	44,44	

Kromatografi kolom untuk ekstrak Etilasetat

Hasil pemurnian dengan kromatografi kolom untuk ekstrak etilasetat (SiO_2 ; (i). *n*-heksan-etilasetat = 10 : 1 ~ 1 : 1; Etilasetat; MeOH (ii). *n*-heksan-etilasetat = 5 : 1) memberikan satu isolat murni yang memberikan daya toksik sebesar 75,55 % ($\text{LC}_{50} = 67,2$ ppm)

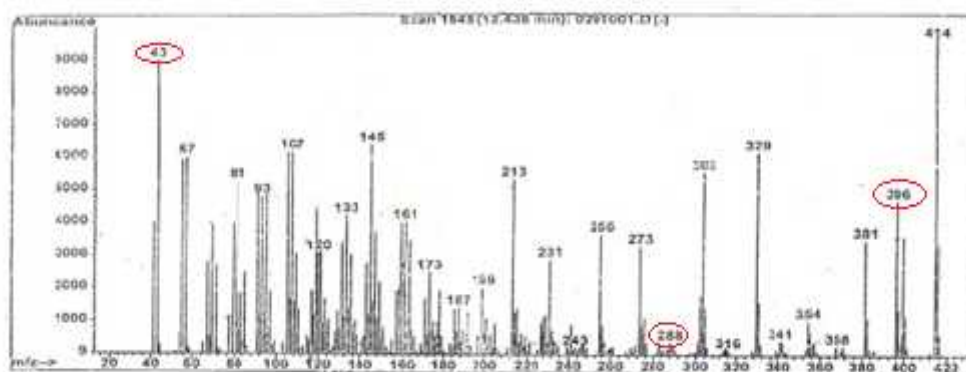
Identifikasi struktur kimia isolat murni berdasarkan analisa spektra IR

Hasil analisa infra merah untuk isolat murni menunjukkan bahwa terdapat gugus hidroksil (OH) pada bilangan gelombang 3400 cm^{-1} ; dan adanya gugus C-H (stretching) dari isopropil $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ yang juga ditunjukkan adanya gugus CH_3 pada bilangan gelombang 1450 cm^{-1} . Pada daerah bilangan gelombang $1600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ tidak terdapat gugus C=O, dikarenakan intensitasnya sedang lemah, yang cenderung menunjukkan adanya C=C dari siklik, sedangkan untuk gugus C=O adalah tajam^(9,10). Sehingga gugus yang terdapat dalam struktur kimia dapat dibandingkan

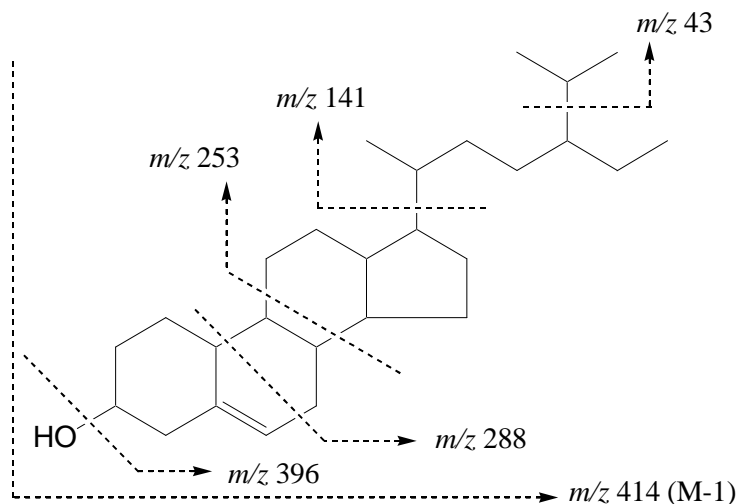
dengan spektrum -sitosterol yang mempunyai spektra yang sama⁽¹¹⁾.

Penetapan bobot molekul isolat dengan kromatografi gas-spektra massa (GC-MS) dan analisis fragmentasi

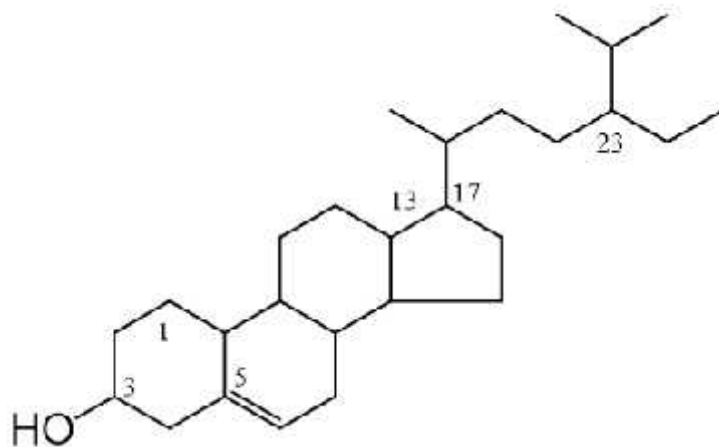
Hasil analisis kromatografi gas dengan GC-MS menghasilkan puncak kelimpahan (*abundance*) yang sangat tinggi pada menit ke 12,43 dibandingkan puncak pada menit lainnya, hal ini menunjukkan kemurnian yang tinggi dari senyawa tersebut. Data spektrum GCMS menyatakan bahwa peak paling kanan merupakan bobot molekul senyawa yaitu m/z 414, setelah ditelusuri berdasarkan library, senyawa yang memiliki m/z 414 (Gambar 2). Analisa spektrum spektrometri massa secara menyeluruh menunjukkan hasil positif dengan rumus molekul $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ pada m/z 414. Analisa fragmentasi dapat diprediksikan terjadinya fragmentasi dengan m/z 43; 145; 255; 288; dan 18 (M^+ 396) dan dapat dilihat pada Gambar 3. Sehingga berdasarkan hasil analisa spektra infra merah dan GC-MS dapat ditetapkan senyawa isolat dari tanaman keladi tikus bagian atas adalah senyawa -sitosterol (Gambar 5).



Gambar 2 . Spektrum massa untuk isolat murni



Gambar 4. Hasil analisa fragmentasi untuk senyawa kimia isolat murni



Gambar 5. Struktur kimia -sitosterol (stigma-5-en-3-ol)

SIMPULAN

Isolat murni dari fraksi EA-2-3 tanaman keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) memiliki nilai toksisitas dengan LC₅₀ sebesar 67,2 ppm. Hasil identifikasi berdasarkan spektrum FTIR dan GCMS, fraksi EA2-3 diperkirakan merupakan senyawa -sitosterol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Musir A, Farida Y, Martati T, Edward B, (2009), Penapisan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana dan Metanol Daun Keladi

Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne)

2. Farida Y, Martati T, Musir A, Edward B, (2010), Uji Aktivitas Sitotoksik dan Antioksidan dari Ekstrak Daun Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne), Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia (JifI). 8 (2) 118-124.

3. Djamil R, Anelia T, (2009) Penapisan Fitokimia, Uji BSLT dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae. 7(2), 65-71.

4. Adrianta AK, Udayani WN, Meriyani H, (2017), Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl), *Medicamento* 3 (1), 29-33.
5. Choo, CY, Chan, KL, Sam, TW, Hitotsuyanagi, Y., Takeya, K., 2001. The cytotoxicity and Chemical Constituent of hexane fraction of *Typhonium flagelliforme* (Araceae), *J. of Ethnopharmacology*, vol. 77, p. 129-131.
6. Huang P., Karaganis G., Waterman PG., 2004. Chemical Constituent from *Typhonium flagelliforme*, *J. of Chinese medicinal materials*, March 27(3):173-5
7. Gireesh, A., Harsha, H., Pramod, H., Kholkute, S.D. (2013). Pharmacognostic and Preliminary Phytochemical Analisis of *Sauropus androgynus* (L.) Merr. Leaf. *International Jurnal of Drug Development & Research*. 5(1): 321-125.
8. Menthor RH, Blagica J, Tatjana KP. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using brine shrimp (*Artemia salina*) model. *Macedonian Pharm. Bull.* 60 (1), 9-18
9. Mistry BD. (2009). A Handbook of spectroscopic data, chemistry (UV, IR, PNMR, CNMR and Mass Spektoscopy) B.K.M. Science College. Jaipur: Oxford Book Company India, hal.: 8, 15 & 21
10. Stuart, B.H. (2004). *Infra Red Spectroscopy Fundamentals and Applications*. Sydney: John Willey & Sons Ltd
11. Bulama JS, Dangogo SM, Mathias SN. 2015. Isolaion and identification of -sitosterol from ethylacetate extract of root *Terminalia glaucescens*, *Int. J. of Sciences and Research Publication* vol. 5 (3), p. 1-3