

**ISOLASI, IDENTIFIKASI SENYAWA ALKALOID TOTAL
DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* Linn) DAN UJI SITOTOKSIK
DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

Yazid Murtadlo, Dra. Dewi Kusriani, M.Si, Dra. Enny Fachriyah, M.Si

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275, Telepon (024) 7474754

Abstrak: Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dari suku asteraceae merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki beberapa golongan senyawa salah satunya alkaloid. Telah dilakukan isolasi senyawa golongan alkaloid terhadap ekstrak etanol daun tempuyung kering menggunakan ekstraksi dan KLT preparatif dengan eluen n-heksan : etil asetat : etanol (30:2:1). Analisa dilakukan terhadap isolat alkaloid murni menggunakan metode spektrofotometer UV-vis, FTIR dan LC-MS. Berdasarkan hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan LC-MS dapat diketahui suatu senyawa alkaloid yang terkandung dalam daun tempuyung termasuk alkaloid dengan kerangka dasar isokuinolin yang mempunyai serapan pada panjang gelombang 225 nm, 253 nm, dan 352 nm, memiliki gugus fungsi C=N, O-H, C-O, C=C terkonjugasi, C=O, CH₂, CH₃ dan berat molekul senyawa sebesar 444,84 g/mol. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan isolat alkaloid total mempunyai harga LC₅₀ masing-masing sebesar 61,410 ppm dan 523,634 ppm yang berarti bahwa ekstrak etanol bersifat sedikit toksik dan isolat alkaloid total bersifat tidak toksik

Kata Kunci : Tempuyung (*Sonchus arvensis*), alkaloid isokuinolin, uji aktivitas, BSLT

Abstract: Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) from asteraceae tribe is one of the plants that have some compounds, one of them is Alkaloid. There has been done isolation of alkaloid compound to ethanol extract of tempuyung dry leave using extraction and preparative TLC with eluen n-hexane: ethyl acetate: ethanol (30:2:1). Analysis carried out on pure alkaloid isolate using method of UV-vis spectrophotometer, FTIR and LC-MS. Based on the analysis using UV-Vis spectrophotometer, FTIR and LC-MS can be a compound known alkaloid contained in the leaves tempuyung including alkaloids with the basic framework isokuinolin having absorption at a wavelength of 225 nm, 253 nm, and 352 nm, has a functional group C=N, O-H, C-O, conjugated C=C, C=O, CH₂, CH₃ and molecular weight compounds at 444.84 g/mol. The result of activity test using method of BSLT generates rate of LC₅₀ from ethanol extract and total alkaloid isolate respectively 61.410 ppm and 523.634 ppm , it means the ethanol extract is less toxic and total alkaloid isolate is not toxic.

Keywords: Tempuyung (*Sonchus arvensis*), isoquinoline alkaloid, BSLT, LC₅₀

PENDAHULUAN

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) merupakan tanaman yang mengandung beberapa senyawa kimia antara lain senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin,

glikosida, antraknon, tanin, dan polifenol (Winarto 2004). Tempuyung banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati demam, peradangan, penghancur batu ginjal dan sirkulasi darah serta sebagai

aktifitas anti bakteri (Xia, Z., dkk., 2010). Berdasarkan banyaknya manfaat dan senyawa yang ditemukan pada tanaman tempuyung menyebabkan banyaknya penelitian pada tanaman ini. Senyawa kimia yang pernah dianalisis diantaranya golongan senyawa flavonoid yaitu 7,4-dihidroksi flavon (Sriningsih, dkk., 2004), sesquiterpen dari golongan terpenoid (Xia, Z., dkk., 2010), turunan asam kuinat yaitu 1,3,4,5-tetra-(p-hidroksifenilasetil) dan sesquiterpen (Xu, J.Y., dkk., 2008). Ekstrak etanol daun tempuyung mengandung alkaloid dan flavonoid (Wadekar, J., Sawant, R., dkk., 2012). Akar tempuyung mengandung senyawa alkaloid total sebanyak 0,5 % (Anonim, 2011).

BAHAN DAN ALAT

Bahan : daun tempuyung, etanol 96%, etil asetat, asam asetat, ammonium hidroksida, akuades, pereaksi Dragendorff dan pH meter.

Alat : satu set alat maserasi, erlenmeyer, corong pemisah, tabung reaksi, mikro pipet, pipet tetes, pipet gondok, botol vial, gelas beker, cawan porselin *rotary evaporator*, chamber, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR, dan spektrofotometer LC-MS.

CARA KERJA

Isolasi Alkaloid Total : Serbuk daun tempuyung kering 650 g dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam. Kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental dan ditambahkan asam asetat 10% hingga suasana menjadi asam. Ekstrak larutan asam ini selanjutnya diekstraksi dengan etil asetat sehingga diperoleh dua lapisan, lapisan etil asetat dan lapisan asam. Ke dalam lapisan asam kemudian ditambahkan ammonium hidroksida pekat sampai suasana basa, dilanjutkan ekstraksi dengan etil asetat kembali. Dari perlakuan ini diperoleh lapisan basa dan lapisan etil asetat. Lapisan etil asetat inilah yang mengandung senyawa alkaloid total.

Pemisahan Alkaloid Total : Isolat alkaloid diidentifikasi dengan pereaksi Dragendorff. Setelah itu dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis untuk mencari eluen yang cocok untuk mengisolasi alkaloid murni dengan KLT preparatif dan untuk mengetahui jumlah komponen yang ada pada isolat alkaloid total. Fase gerak KLT menggunakan eluen etil asetat : etanol : n-heksan (2:1:30), sedangkan fase diamnya menggunakan silika gel 60GF₂₅₄.

Uji Kemurnian Isolat Alkaloid : uji kemurnian menggunakan KLT dengan

berbagai eluen dan menggunakan KLT dua dimensi. Apabila hanya didapatkan satu noda, maka isolat alkaloid telah murni.

Karakterisasi Isolat Alkaloid : Untuk mengetahui struktur dari senyawa alkaloid murni yang didapatkan, maka isolat alkaloid dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR, dan Spektrofotometer LC-MS.

Uji Aktifitas : Telur *Artemia salina* direndam di dalam air garam selama 2 x 24 jam. Suhu penetasan adalah $\pm 25-30^{\circ}\text{C}$ dan $\text{pH} \pm 6-7$. Telur akan menetas setelah 18 - 24 jam dan larvanya disebut *nauplii*. *Nauplii* siap untuk uji BSLT. Sampel dari ekstrak etanol dan isolat alkaloid total diambil 50 mg, dibuat pengenceran dengan konsentrasi 10, 100, 1000 $\mu\text{g/ml}$. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* berumur 48 jam ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan ekstrak yang telah diencerkan dengan air garam. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dihitung dan dilakukan analisis probit untuk menentukan aktifitas LC_{50} (Meyer, 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

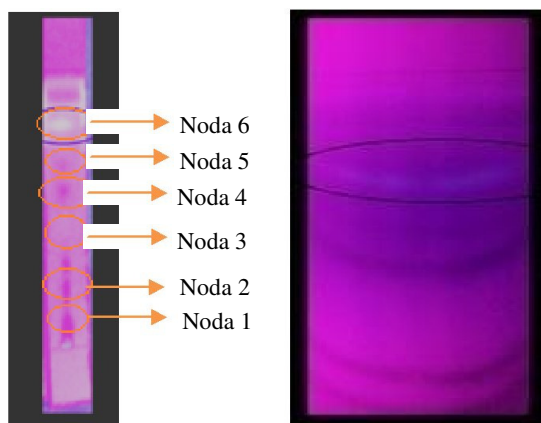
Daun tempuyung yang sudah kering di potong dan dihaluskan menggunakan blender untuk memperluas permukaan pada saat maserasi. Sehingga senyawa metabolit

sekunder yang terkandung pada daun dapat teisolasi dengan baik. Sebanyak 650 gram daun tempuyung yang sudah halus di maserasi menggunakan pelarut etanol. Isolat yang didapatkan kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 8 gram. Kemudian dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui senyawa yang terkandung pada ekstrak daun tempuyung. Hasil uji fitokimia memberikan uji positif terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan negatif terhadap senyawa saponin, fenolik, terpenoid dan steroid.

Isolasi senyawa alkaloid dilakukan dengan menambahkan asam asetat pada ekstrak etanol sampai suasana menjadi asam, sehingga alkaloid akan membentuk garam alkaloid. Garam alkaloid ini kemudian dipartisi menggunakan etil asetat, sehingga didapatkan dua lapisan. Lapisan atas adalah etil asetat dan lapisan bawah adalah lapisan asam dimana alkaloid terikat pada lapisan ini. Untuk membebaskan alkaloid dari bentuk garamnya, maka ditambahkan ammonium hidroksida sampai suasana menjadi basa, sehingga alkaloid akan terbentuk menjadi basa alkaloid kembali. Larutan ini kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat sehingga akan terbentuk dua lapisan, lapisan etil asetat

yang mengandung alkaloid dan lapisan basa yang mengandung air. Untuk mengetahui apakah pada isolat yang didapatkan mengandung alkaloid maka ditambahkan dragendorff, terbentuknya endapan merah bata berarti positif adanya alkaloid.

Isolat alkaloid total selanjutnya dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis untuk mengetahui jumlah komponennya. Setelah diketahui jumlah komponen senyawa yang terkandung dan mengetahui eluen yang tepat, langkah selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60GF₂₅₄ dan fasa gerak yang digunakan adalah campuran eluen n-heksan : etil asetat : etanol (30:2:1). Hasil KLT dan warna noda serta nilai Rf hasil KLT dapat dilihat pada tabel A sebagai berikut sebagai berikut:

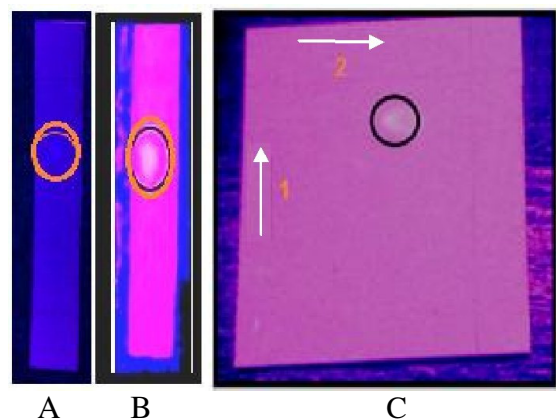


Gambar I. Hasil KLT dan KLT preparatif dengan eluen n-heksan:etil asetat: etanol (30:2:1)

Tabel A. Warna noda hasil KLT

Noda	Harga Rf	Warna noda di bawah lampu UV _{365 nm}
1	0,2	merah kecoklatan
2	0,34	merah kecoklatan
3	0,46	biru kehijauan
4	0,56	merah kecoklatan
5	0,68	merah kekuningan
6	0,77	biru terang

Warna noda nomor 6 selanjutnya dikerok dan maserasi menggunakan etil asetat untuk memisahkan isolat dengan silika gel. Selanjutnya isolat alkaloid dilakukan uji kemurnian menggunakan KLT menggunakan campuran eluen dan KLT dua dimensi. Apabila sudah terdapat satu noda berarti diduga isolat alkaloid telah murni. Hasil KLT uji kemurnian dapat dilihat pada gambar II di bawah ini:



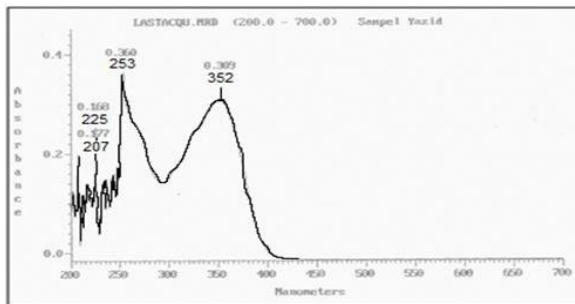
Gambar II. (A), (B) Hasil KLT dengan berbagai campuran eluen (C) KLT dua dimensi pada lampu UV $\lambda_{365 \text{ nm}}$

Pada gambar II menunjukkan isolat yang dihasilkan sudah murni. Hal ini dapat dilihat dari hasil KLT dengan berbagai campuran eluen (A) n-heksan : etil asetat :

etanol (30:2:1), (B) kloroform : aseton : methanol (20:3:2), dan KLT dua dimensi dengan eluen (1) n-heksan : etil asetat : etanol (30:2:1), (2) kloroform : aseton : methanol (20:3:2) pada lampu UV λ_{365} nm menghasilkan noda tunggal yang berwarna biru.

Isolat alkaloid murni kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, dan LC-MS. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan serapan pada panjang gelombang 225 nm, 253 nm, 352 nm merupakan serapan dari ikatan terkonjugasi dan merupakan serapan alkaloid yang mempunyai kerangka dasar isokuinolin, menurut cordrell (1981) alkaloid yang mengandung kerangka dasar isokuinolin mempunyai panjang gelombang pada daerah 230 nm, 266 nm, 351 nm.

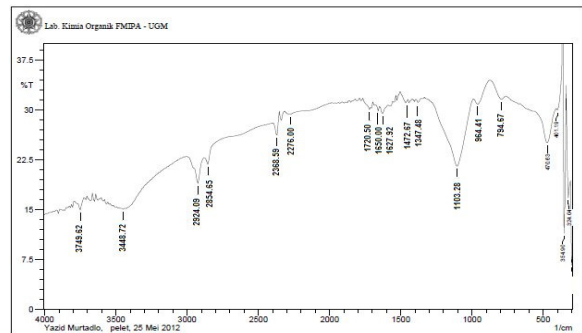
Hasil spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada gambar III sebagai berikut:



Gambar III Spektra UV-Vis isolat alkaloid daun tempuyung

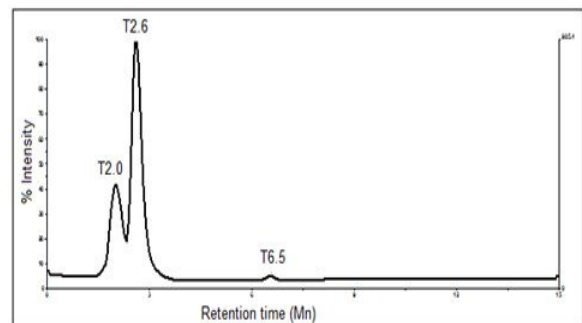
Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR memberikan bilangan gelombang sebesar $3448,72\text{ cm}^{-1}$ (vibrasi ulur OH), $1627,92\text{ cm}^{-1}$ (vibrasi ulur C=N) yang

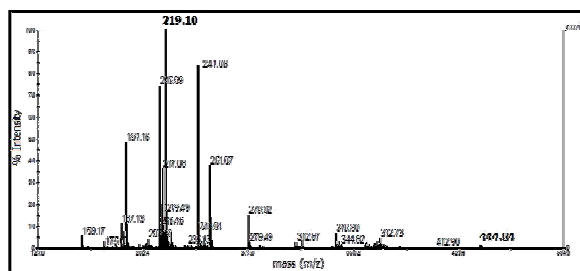
diperkuat dengan serapan $1103,28\text{ cm}^{-1}$ (vibrasi tekuk C-N yang simetri dengan vibrasi ulur C-O), $2924,09\text{ cm}^{-1}$ dan $2854,65\text{ cm}^{-1}$ (vibrasi ulur C-H alifatik), $1472,67\text{ cm}^{-1}$ dan $1347,4\text{ cm}^{-1}$ (gugus C-H), $1720,50\text{ cm}^{-1}$ (vibrasi ulur C=O), $1650,92\text{ cm}^{-1}$ (vibrasi ulur C=C terkonjugasi), $794,67\text{ cm}^{-1}$ (C-H alifatik keluar bidang). Hasil spektrofotometer FTIR dapat dilihat pada gambar IV.



Gambar IV. Spektogram FTIR isolat alkaloid daun tempuyung

Hasil analisis menggunakan LC-MS menunjukkan adanya tiga puncak, ini berarti isolat belum murni. Pada T 2,6 menghasilkan spektrogram MS alkaloid daun tempuyung dengan berat molekul sebesar 444 g/mol. Hasil spektrofotometer LC-MS dapat dilihat pada gambar V sebagai berikut:





Gambar V. Spektrogram LC-MS isolat alkaloid daun tempuyung

Berdasarkan hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan LC-MS dapat diketahui suatu senyawa alkaloid yang terkandung dalam daun tempuyung termasuk alkaloid dengan kerangka dasar isokuinolin yang mempunyai panjang gelombang 225nm, 253 nm, 352 nm, memiliki gugus fungsi C=N, O-H, C-O, C=C terkonjugasi, C=O, CH₂, CH₃ dan berat molekul senyawa sebesar 444,84 g/mol. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut

KESIMPULAN

Alkaloid yang terkandung dalam daun tempuyung mempunyai kerangka dasar isokuinolin dengan panjang gelombang 225 nm, 253 nm dan 352 nm yang mempunyai gugus fungsi C=N, O-H, C-O, C=C, C=O, CH₂, CH₃ dan mempunyai berat molekul sebesar 444,84 g/mol. Uji aktifitas sitotoksik menggunakan metode BSLT diketahui bahwa ekstrak etanol bersifat sedikit toksik dan isolat alkaloid total bersifat tidak toksik.

Daftar Pustaka

- Anonim, 2011, Sistem Informasi Tanaman Obat Fakultas Farmasi Unair, <http://ff.unair.ac.id/sito/?mode=aview&aid=4>, diunduh pada tanggal 14 Oktober 2012
- Cordell, A., 1981, *Introduction to Alkaloids a Biogenetic Approach*, John Willey and Sons, New York
- Harborne, J.B., (a.b Padmawinata K; Sudiro, I), 1987, *Metode Fitokimia*, Cetakan kedua, ITB, Bandung

untuk mengetahui bentuk struktur dari senyawa alkaloid ini.

Hasil uji aktifitas sitotoksik daun tempuyung menggunakan metode BSLT diperoleh harga LC₅₀ dari ekstrak etanol dan isolat alkaloid total masing-masing sebesar 61,410 ppm dan 523,634 ppm. Ini berarti bahwa ekstrak etanol bersifat sedikit toksik dan isolat alkaloid total bersifat tidak toksik.

Tabel 1. Hasil Uji Sitotoksik

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Σ larva yang diujikan	Σ larva yang mati	LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak	10	10	4	
Etanol	100	10	6	61,410
	1000	10	9	
Isolat alkaloid total	10	10	2	
	100	10	4	523,634
	1000	10	7	

- Lemna, W.K., dan Messersmith, C. G., 1990, *The biology of canadian weeds. 94. Sonchus arvensis L.* Can. J. Plant Sci. 70: 509-532. Crop and Iweed sciences Department, North Dakota state
- Meyer, B.N., Ferigni, N.R., Putnam, J.E., Ja Cobsen, L.B., Nichols, D.E., Melaughlin, J.L., 1982, *Brine Shrimp*, A Convonient General Bioassay for Activee Plant Constituent, Planta Medika
- Moshi, M.J., Innocent, E., Magadula, J.J., Otieno, D.F., dan Weisheit, A., 2010, *Brine shrimp toxicity of some plants used as traditional medicines in Kagera Region*, North Western Tanzania, *Tanzania journal of Health Research*, 12 (1): 1-6
- Silverstein, R.M., dan Bassler, G.C., (a.b A.J hartono), 1991, *Penyelidikan Spektrometrik Senyawa Organik*, Erlangga, Jakarta
- Sriningsih, 2004, *Analisa Golongan Senyawa Flavonoid Herba Tempuyung*, Pusat P2 Teknologi Farmasi dan Medika Deputi Bidang TAB BPPT, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
- Wadekar, J., Sawant, R., Naik, R., dan Bankar, A., 2012, *Anthelmintic and Antibacterial Potential of Sonchus arvensis Leaves*, Padmashri Dr. Vithalrao Vikhe Patil Foundation's College of Pharmacy, Post - MIDC, Vilad Ghat, Ahmednagar, India
- Winarto, W.P., 2004, *Tempuyung Tanaman Penghancur Batu Ginjal*, Argo Media Pustaka, Tangerang
- Xia, Z., Qu, W., dan Lu, H., 2010, *Sesquiterpene lactones from Sonchus arvensis L. and their antibacterial activity against Streptococcus mutans ATCC 25175*, An International Journal, Department of Natural Medicinal Chemistry China Pharmaceutical University, China
- Xu, J.Y., Sun, S.B., Sun, L.M., Qiu, dan D.F., 2008, *Quinic acid esters and sesquiterpenes from Sonchus arvensis*, State Key Laboratory of Applied Organic Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou University, Lanzhou, China

Menyetujui

Semarang, 26 Desember 2012

Pembimbing I

Pembimbing II

Dra. Dewi Kusriani, M.Si
NIP 1957 08 07 1987 03 2 001

Dra. Enny Fachriyah, M.Si
NIP 1961 10 24 1987 03 2 002