

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA TURUNAN *ACETOGENIN* DARI DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) SERTA UJI TOKSISITAS

Pulung Yudhariska Pradana, Suratmo*, Rurini Retnowati

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

Jl. Veteran Malang 65145

*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835

Email: ratmo_r@ub.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui turunan acetogenin yang diisolasi dari daun sirsak (*Annona muricata*) serta mempelajari toksisitasnya. Serbuk daun sirsak dimaserasi menggunakan pelarut etanol. Isolate yang diperoleh difraksinasi menggunakan methanol. Karakterisasi senyawa acetogenin dalam fraksi methanol menggunakan uji Kedde, spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer FTIR. Hasil uji Kedde menunjukkan perubahan warna noda menjadi merah muda. Data spektra UV-Vis menunjukkan serapan pada panjang gelombang 222 nm. Data spektra FTIR menunjukkan adanya gugus – gugus C=O, C-C(=O)-O dan O-C-C dengan adanya puncak pada bilangan gelombang 1741 cm^{-1} , 1164 cm^{-1} dan 1076 cm^{-1} . Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa dugaan senyawa turunan *acetogenin*. Hasil uji toksisitas fraksi metanol hasil isolasi dari daun sirsak mempunyai harga LC_{50} 35,51 ppm.

Kata kunci: *Acetogenin, daun sirsak, fraksi metanol, karakterisasi, Uji BSLT*

ABSTRACT

The research is aims to determine acetogenin derivative isolated from graviola leaf (*Annona muricata*) and study their toxicity activity. Graviola leaf powder was macerated using ethanol and its isolate were fractionated using methanol. Characterization acetogenin compound in methanol fraction using kedde test, UV-Vis and FTIR spectrophotometer. Kedde test result showed the presence of colour changing of dot to pink. UV-Vis data shows that absorption at 222 nm. FTIR spectra data showed the presence of cluster of C=O, C-C(=O)-O and O-C-C with the peak of the wave number at 1741 cm^{-1} , 1164 cm^{-1} and 1076 cm^{-1} . The identification result showed that methanol fraction is *acetogenin*. The results of toxicity tests methanol fraction from the leaves of the soursop has LC_{50} value of 35.51 ppm.

Keywords: *Acetogenin, graviola leaf, methanol fraction, characteritaton, BSLT test*

PENDAHULUAN

Tumbuhan Sirsak merupakan keluarga *annonaceae* yang sejak lama digunakan sebagai obat anti bakteri, anti cacing, demam dan disentri yang tersebar pada batang akar, biji dan daun yang mengandung *acetogenin*. *Acetogenin* adalah senyawa *polyketides* dengan struktur 30–32 rantai karbon tidak bercabang yang terikat pada gugus *5-methyl-2-furanone*. Rantai *furanone* dalam gugus *hydrofuranone* pada C23 memiliki aktivitas sitotoksik, dan derivat *acetogenin* yang berfungsi sitotoksik adalah *asimicin*, *bulatacin*, dan *squamocin*. Pada konsentrasi tinggi, senyawa *acetogenin* memiliki keistimewaan sebagai anti feedent. Dalam hal ini, serangga hama tidak lagi bergairah untuk mengkonsumsi bagian yang disukainya.

Sedangkan pada konsentrasi rendah, bersifat racun yang mengakibatkan serangga hama mati dengan cara daun *Annona* dihaluskan, kemudian dicampur dengan pelarut dan disemprotkan pada tanaman. Ekstrak daun sirsak dapat digunakan untuk mengendalikan belalang dan hama lainnya seperti wereng [1]. Ekstrak daun sirsak juga menghambat pertumbuhan dan perkembangan serta dapat mematikan *Nimfa R. Linearis* pada konsentrasi 4,0 %.

Untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaan *acetogenin* sebagai senyawa toksik dilakukan Uji toksisitas dan BSLT. Uji toksisitas dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik atau menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa. Pengukuran toksisitas dapat ditentukan secara kuantitatif yang menyatakan tingkat keamanan dan tingkat berbahaya zat tersebut. Untuk mengetahui tingkat toksik suatu senyawa dapat dilakukan dengan cara menggunakan metode Brine Shrimp Lethal Test (BSLT).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak yang diambil dari kecamatan Lowokwaru, Kota Malang - Jawa Timur, aquades, metanol, etanol 95%, diklorometana, n-heksana, es batu, aluminium foil, N₂ dan DMSO 1 %, gelas kimia 1 L, gelas kimia 600 mL, gelas ukur 100 mL, gelas ukur 250 mL, pipet tetes, pipet volum, tisu, neraca massa, botol semprot, kertas saring, glass wool, gelas pengaduk, gelas arloji, botol sampel, corong pisah, kuvet, kolom kromatografi, plat KLT, pipa kapiler, rotari evaporasi, seperangkat alat destilasi, spektrofotometer IR, Spektrofotometer UV-VIS, aquarium, penggaris, silet, alas kaca, lampu, airator, ayakan, mesing penggiling.

Preparasi Daun Sirsak

Daun sirsak tua (warna hijau pekat), dibersihkan dan dikeringkan selama 7 hari. Pengeringan dilakukan pada temperatur ruang dan diayak

Proses Isolasi *Acetogenin*

Serbuk Sirsak dimaserasi menggunakan pelarut etanol 95% selama 72 jam dengan mengganti pelarut setiap 24 jam, ekstrak etanol yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan rotari evaporator, selanjutnya difraksinasi dengan campuran diklorometana dan air (1:1). Fraksi dichlorometana difraksinasi menggunakan n-heksan dan metanol(1:1), Fraksi metanol dievaporasi dan dialiri gas N₂ untuk menghilangkan metanol.

Uji Kedde

Fraksi metanol dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan metanol dan diklorometana perbandingan 4,5:0,5. Noda yang terbentuk disemprot dengan reagen Kedde (3-5 dinitrobenzoat dan KOH dalam metanol)

Karakterisasi *Acetogenin* dengan IR

Alat infrared (IR) diatur pada kondisi yang diperlukan. Sampel dilarutkan pada metanol. Sampel di teteskan pada pellet KBr, kemudian di masukkan pada alat IR.

Uji Toksisitas

Penetasan Telur *A. Salina*

Telur *A. Salina* sebanyak 0,03 g direndam di dalam 1 L air laut. Setelah 48 jam perendaman, telur menetas dan menghasilkan larva yang dapat digunakan untuk pelaksanaan uji.

Penyiapan Larutan Uji

Sampel yang berupa hasil isolasi daun sirsak ditimbang sebesar 0,125 dan diencerkan dengan air laut yang mengandung DMSO 1% untuk membuat larutan dengan konsentrasi 500 ppm dalam labu takar 250 mL. Lalu dari larutan konsentrasi 500 ppm tersebut disiapkan seri konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 ppm larutan uji hasil isolasi. Larutan DMSO 1% dibuat dengan mengencerkan 2,5 mL larutan DMSO 100% dengan air laut ke dalam labu takar 250 mL.

Pengujian Toksisitas *acetogenin*

Sebanyak 5 mL larutan uji dimasukkan ke dalam botol sampel kemudian dimasukkan larva udang sebanyak 20 ekor. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dengan mencatat kematian larva udang. Uji dilakukan masing-masing 3 kali pengulangan pada setiap konsentrasi uji. Nilai LC_{50} diperoleh dari berbagai konsentrasi sampel yang diuji. Data yang diperoleh kemudian dibuat grafik dan ditentukan persamaan linear.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksi metanol dihasilkan sebesar 4,06%, berwarna coklat kehijauan, berbau menyengat, tidak larut polar, dan lengket.

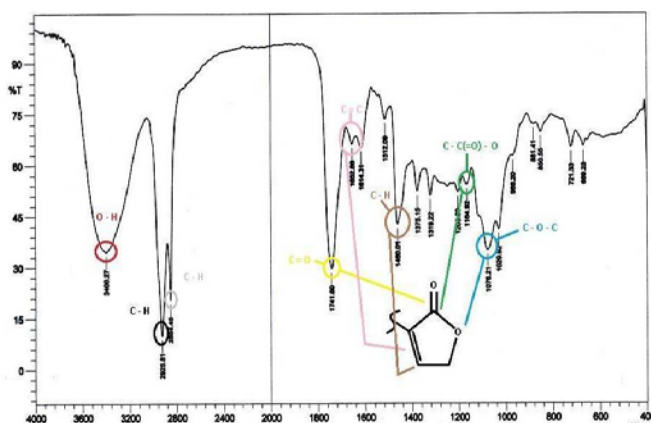
Uji Kedde

Pemisahan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan merupakan campuran diklorometana dan metanol dengan perbandingan 4,5 : 0,5. Salah satu noda pada plat KLT menunjukkan warna merah muda pucat setelah disemprotkan dengan reagen Kedde (3-5 dinitrobenzoat dan KOH dalam metanol)., hal ini menandakan bahwa fraksi metanol tersebut mengandung gugus lakton.

Karakterisasi Fraksi Metanol dari Daun Sirsak Menggunakan FTIR

Untuk mendeteksi *Acetogenin* lebih jauh, digunakan Spektrofotometer inframerah yang mengukur serapan radiasi inframerah pada bilangan gelombang 4000-500 cm^{-1} . Spektrofotometri inframerah dapat digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi senyawa dan menganalisis campuran [2]. Pada senyawa *Acetogenin* memiliki ciri khas berupa adanya gugus lakton pada salah satu ujungnya sehingga karakterisasi menggunakan spektrofotometri IR dapat membantu.

Pada hasil Spektrofotometri IR yang ditunjukkan oleh Gambar 1, serapan pada 3400cm^{-1} cukup lebar yang menunjukkan adanya gugus O-H alkohol, O-H alkohol memiliki ciri khas berupa bentuk serapan yang melebar pada $3600\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$. Serapan khas lainnya terdapat pada 2925 cm^{-1} yang menunjukkan adanya rantai C-H yang tidak simetris dan 2854 cm^{-1} yang menandakan adanya rantai menunjukkan adanya C-H simetris, kedua gugus yang berdekatan tersebut menunjukkan vibrasi adanya rantai C-H sp^3 . Vibrasi pada 1460 cm^{-1} merupakan vibrasi C-H bengkok berupa vibrasi gantungan.

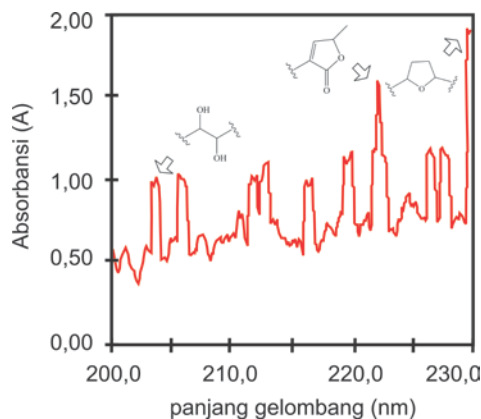


Gambar 1 Spektra FTIR Ekstrak Hasil Isolasi Daun Sirsak

Pada serapan 1741 cm^{-1} mengindikasikan serapan dari gugus lakton, serapan khas pada area tersebut berasal dari gugus C=O pada γ - butirolakton (cincin yang beranggotakan lima) yang dimungkinkan lakton dari *acetogenin*. Adanya gugus lakton ini berbeda dengan

ester yang memiliki serapan lebih panjang dibandingkan lakton. Hal ini di perkuat dengan adanya serapan pada 1076 cm^{-1} sebagai O-C-C dan 1164 cm^{-1} sebagai C-C(=O)-O yang menunjukkan keberadaan lakton. selain itu adanya gugus ikatan C=C di tunjukkan pada serapan 1652 cm^{-1} karena alkena memiliki daerah serapan $1680\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$.

Karakterisasi Fraksi Metanol dari Daun Sirsak Menggunakan UV-Vis



Gambar 2 UV-Vis crude *acetogenin*

Serapan pada panjang gelombang 222 nm dari Gambar 2 menunjukkan adanya gugus ketolakton yang berasal dari ikatan rangkap C=C, C=O, serta ikatan tunggal C-O, yang juga menunjukkan adanya transisi elektron pada orbital molekul $n \rightarrow \pi^*$. Serapan pada panjang gelombang 230 nm dari Gambar 2 menunjukkan adanya gugus tetrahidrofuran yang berasal dari ikatan C-O-C yang kemudian diikuti oleh alkil sebagai substituen yang membentuk struktur siklik seperti siklopentana. Serapan ini juga menunjukkan adanya transisi elektron pada orbital molekul $n \rightarrow \sigma^*$. Sedangkan pada panjang gelombang 204 nm dari Gambar 2 menunjukkan adanya 2 gugus substituen hidroksil yang terikat pada gugus alkana, yang juga menunjukkan adanya transisi elektron pada orbital molekul $\sigma \rightarrow \sigma^*$.

Dari hasil uji UV-Vis yang telah dipaparkan sebelumnya, terdeteksi absorbansi tinggi yaitu pada panjang gelombang 222, 230, dan 204 nm, yang mana menunjukkan adanya gugus ketolakton, tetrahidrofuran, dan hidroksil. Bila dilihat dari hasil tersebut, keberadaan gugus senyawa pada panjang gelombang tersebut dimiliki oleh *rollidecin*, *rollitacin* dan *rollinacin* [3].

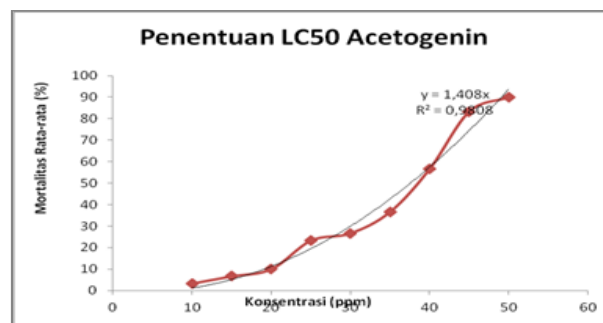
Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Persen kematian dari *A.salina* setelah 24 jam perlakuan dengan larutan uji dihitung larva *A.salina* yang hidup. Larva *A.salina* yang hidup ditandai dengan adanya pergerakan. Berdasarkan hasil Uji toksisitas menggunakan metode BSLT di dapatkan data yang disajikan

pada Tabel 1 perhitungan dengan kadar 35,51 ppm pada Gambar 3 memiliki LC₅₀ terbaik dan merupakan toksik yang kuat.

Tabel 1 Data Hasil Pengamatan Uji Toksisitas *acetogenin*

| Konsentrasi (ppm) | Jumlah Larva Hidup | | | Mortalitas (%) | | | Mortalitas rata-rata (%) |
|-------------------|--------------------|----|-----|----------------|----|-----|--------------------------|
| | I | II | III | I | II | III | |
| 0 | 10 | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 10 | 9 | 10 | 0 | 10 | 0 | 3.33 |
| 15 | 10 | 9 | 9 | 0 | 10 | 10 | 6.67 |
| 20 | 9 | 9 | 9 | 10 | 10 | 10 | 10.00 |
| 25 | 8 | 8 | 7 | 20 | 20 | 30 | 23.33 |
| 30 | 7 | 8 | 7 | 30 | 20 | 30 | 26.67 |
| 35 | 6 | 6 | 7 | 40 | 40 | 30 | 36.67 |
| 40 | 5 | 4 | 4 | 50 | 60 | 60 | 56.66 |
| 45 | 2 | 2 | 1 | 80 | 80 | 90 | 83.33 |
| 50 | 1 | 1 | 1 | 90 | 90 | 90 | 90.00 |



Gambar 3 : Grafik Penentuan LC₅₀ *Acetogenin*

Bila dilihat dari hal tersebut, senyawa hasil isolasi dari daun sirsak dapat di katagorikan sebagai senyawa antimikroba, meski tidak menutup kemungkinan bahwa *acetogenin* juga berpotensi sebagai senyawa anti kanker dilihat dari angka LC₅₀ tidak terpaut jauh dengan hasil penelitian sebelumnya [4].

Dalam ekstrak daun sirsak yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol hasil isolasi daun sirsak diduga senyawa turunan *Acetogenin* dengan nilai LC₅₀ hasil isolasi daun sirsak yang efektif ditunjukkan oleh kadar 35,51 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Drs. Suratmo, M.Sc. sebagai pembimbing I dan selaku Kepala Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang. Dr. Rurini Retnowati, M. Si sebagai pembimbing II, Staff Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia FMIPA, teman-teman angkatan 2007 dan Universitas Brawijaya, Malang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kardinan, A. 2005. Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasi. Penebar Swadaya. Jakarta
2. Day, R.A. dan A.L. Underwood, 1996, Analisis Kimia Kuantitatif: Edisi Keenam, Erlangga, Jakarta
3. Feras, Xiao Xi Liu, 1999, *Annonaceous acetogenins: Recent Progress*. Purdue University, Indiana. USA
4. Rahmawati, N, J., 2010, Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L*) sebagai Pestisida Nabati terhadap Pengendalian Hama Tanaman Sawi (*Brassica juncea L*), UMM, Malang