

## ISOLASI KOMPONEN UTAMA FRAKSI AKTIF "BRINE SHRIMP TEST" EKSTRAK METANOL AKAR *Ficus deltoideus* Blume

Lenny Anwar , Ferlinahayati, Elfita, Nelly Erlina  
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian isolasi komponen utama fraksi aktif "Brine Shrimp" ekstrak metanol akar *Ficus deltoideus* Blume. Sampel tumbuhan dikumpulkan dari desa Tabek, Alahan Panjang, Sumatera Barat. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dan dilanjutkan dengan fraksinasi cair-cair. Pemisahan dilakukan terhadap fraksi *n*-heksana ( $LC_{50} = 151,71$  ppm) dengan cara kromatografi kolom dan dihasilkan kristal jarum sebanyak 22 mg dengan titik leleh  $133-134^{\circ}C$  dan memberikan uji positif untuk steroid. Berdasarkan pada uji fitokimia dan analisa spektroskopi senyawa hasil isolasi adalah steroid (stigmast-7-en- $3\beta$ -ol).

Kata kunci : *Ficus deltoideus* Jack, Sitotoksik, Steroid

### ABSTRACT

The investigation of primary active compound to Brine Shrimp Test of metanol crude of the root of *Ficus deltoideus* Blume had been carried out. Sample of plant had been collected from Tabek village, in Alahan Panjang district, West Sumatera. The extraction had been done by using maceration method and continuing with liquid-liquid fractionation. Separation to *n*-Hexane fraction ( $LC_{50} = 151,71$  ppm) by column chromatography yields 22 mg needles crystal (mp :  $133-134^{\circ}C$ ) that positive to steroid. Base on phytochemistry and spectroscopic data were suggested to steroid (stigmast-7en- $3\beta$ -ol)

Key Words : *Ficus deltoideus* Jack, Cytotoxic, Steroid

### 1. PENDAHULUAN

**B**erbagai jenis tumbuhan telah dimanfaatkan secara tradisional sejak zaman

prasejarah seperti kayu dan hasil hutan komoditi ekonomi seperti rotan, damar, kulit binatang disamping untuk obat-obatan, rempah-rempah, bahan dasar kosmetik, zat

kimia dan lainnya. Menurut Arbain (1995) walaupun tidak semuanya, pengobatan tradisional atau penggunaan tumbuhan ini pasti terkait dengan kandungan kimia tumbuhan tersebut, terutama senyawa metabolit sekunder yang aktif biologis. Tanpa adanya kandungan aktif biologis ini, secara umum tumbuhan tersebut tidak akan bisa digunakan sebagai obat.

Pencarian senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis tertentu, dapat menggunakan beberapa pendekatan seperti skrining dari senyawa yang berasal dari bahan alam dan pendekatan berdasarkan bentuk reseptor kemudian baru disintesis. Cara skrining senyawa yang berasal dari keanekaragaman hayati jauh lebih murah dan cepat. Hutan tropika yang merupakan gudang dari senyawa organik terbesar di dunia sangat potensial untuk dimanfaatkan dalam mencari model dengan aktivitas biologis antibakteri, antijamur, antikanker dan lain-lain (Arbain, 1998).

Obat kanker ada kaitannya dengan senyawa yang bersifat sitotoksik. Salah satu metoda untuk menguji bahan alam yang bersifat sitotoksik adalah Metoda "Brine Shrimp". Metoda ini telah digunakan untuk

pengujian awal terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tanaman karena murah, cepat, mudah dan dapat dipercaya (Meyer dkk, 1982 dan Mc Laughin, 1991).

Tumbuhan *Ficus deltoideus* Blume yang dikenal dengan nama daerah Sari Rapet merupakan salah satu tumbuhan yang banyak tumbuh di hutan tropis. Tumbuhan ini merupakan obat tradisional yang telah digunakan masyarakat sebagai obat pelangsing. Di daerah Sumatera Barat khususnya Alahan Panjang, getahnya banyak digunakan untuk menghilangkan kutil. Telah diketahui pula bahwa getah tumbuhan ini dapat membunuh ikan (Burkill, 1966).

Penelitian kami terdahulu telah menguji aktivitas sitotoksik dari daun *Ficus deltoideus* dengan metoda "Brine Shrimp". Penelitian tersebut memberikan informasi bahwa ekstrak metanol dan fraksi etilasetatnya memberikan aktivitas sitotoksik yang cukup berarti dengan nilai  $LC_{50}$  288,5 dan, 88,46 ppm, hasil isolasi yang diperoleh adalah senyawa (2R,3R)9)-epiafzelekin (Lenny, 1999)

Berdasarkan kenyataan tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengetahui komponen utama fraksi aktif sitotoksik dari

akar *Ficus deltoideus* Blume. Metode yang digunakan pada penelitian ini meliputi ekstraksi dengan cara maserasi, fraksinasi cair-cair dengan berbagai pelarut yang ditingkatkan kepolarannya. Pemisahan dilakukan dengan kromatografi kolom. Karakterisasi dilakukan dengan penentuan titik leleh, dan analisa spektroskopi dengan pembuatan spektrum UV, IR dan GC-MS

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Mei sampai Oktober 2002. di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Unsri. Pembuatan spektrum ultraviolet dan inframerah dilakukan di Jurusan Kimia FMIPA ITB, sedangkan pembuatan spektrum GC-MS dilakukan di laboratorium BATAN Serpong

### Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, rotari evaporator, chamber, desikator, kolom kromatografi, lampu UV, pipet mikro, tempat pembenihan udang, mikro plat, peralatan titik leleh Fisher John, spektrofotometer UV-Vis

Howlett Packard, spektrofotometer FTIR Perkin Elmer, GC-MS dan peralatan gelas lainnya yang lazim digunakan di laboratorium kimia.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, n-heksana, diklorometana dan etil asetat berkualitas teknis yang telah didestilasi. Sebagai penampak noda digunakan larutan serium sulfat 1,5% dalam asam sulfat 2N. Silika gel 60 (230-400) Merck digunakan untuk kolom kromatografi dan plat KLT silika gel GF 254 (Merck) untuk KLT, sedangkan untuk uji hayati digunakan telur *Artemia salina* L, air laut dan dimetilsulfoksida.

### Pengambilan dan persiapan sampel

Sampel akar *Ficus deltoideus* Blume diambil di desa Tabek Kecamatan Alahan Panjang Kabupaten Solok, Sumatera Barat, kemudian dikeringanginkan dan ditumbuk halus. Spesies ini diidentifikasi di Herbarium Jurusan Biologi, Universitas Andalas, Padang.

### Ekstraksi dan isolasi

Akar *Ficus deltoideus* Blume yang telah digiling halus sebanyak 700 g menggunakan pelarut metanol, setelah

pelarutnya diuapkan pada tekanan rendah dihasilkan ekstrak pekat metanol sebanyak 20,85 g. Terhadap ekstrak pekat metanol ini dilakukan partisi cair-cair berturut-turut dengan n-heksana, diklorometana, dan etil asetat, setelah pelarutnya diuapkan pada tekanan rendah diperoleh fraksi tersebut berturut-turut 3,85; 3,63; dan 3,68 g serta 2,13 g fraksi metanol sisa. Terhadap setiap fraksi ini dilakukan uji aktivitas sitotoksik dengan metoda "Brine Shrimp". Fraksi yang memberikan aktivitas sitotoksik paling tinggi dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan kolom kromatografi dengan eluen yang ditingkatkan kepolarannya.

#### Uji aktivitas sitotoksik

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metoda Meyer yang dimodifikasi. Telur *Artemia salina* L dimasukkan kedalam air laut untuk ditetaskan, Kista dibiarkan menetas dan setelah 48 jam baru digunakan sebagai hewan uji. Konsentrasi ekstrak untuk pengujian adalah 1000, 500, 250 125, 62,5; 31,2 dan 15,6 dan 7,8 ppm. Kematian larva udang diamati setelah 24 jam dan data yang diperoleh dihitung  $LC_{50}$  dengan "Bliss Method"

#### Penentuan Struktur

Terhadap senyawa hasil isolasi yang telah murni ditentukan titik lelehnya dengan alat penentuan titik leleh fisher dan dilakukan pembuatan spektrum UV, IR dan GC-MS

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Ekstraksi, Isolasi dan Uji Aktivitas Sitotoksik

Maserasi yang dilakukan terhadap 700 g akar *Ficus deltoideus* Blume menghasilkan ekstrak pekat metanol sebanyak 20,83 g. Setelah dilakukan fraksinasi cair-cair dihasilkan fraksi n-heksana (3,85 g), fraksi diklorometana (3,63 g), fraksi etil asetat (3,68 g) dan fraksi metanol sisa (2,13 g). Setiap fraksi ini dilakukan uji aktivitas sitotoksik dan dihasilkan  $LC_{50}$  yang dapat dilihat pada tabel 1. Hasil uji aktivitas sitotoksik yang dilakukan menunjukkan bahwa fraksi n-heksana, diklorometana dan etilasetat dapat dikatakan bersifat sitotoksik karena mempunyai harga  $LC_{50} < 1000$  ppm (Meyer et. al., 1982).

Tabel 1. Nilai LC<sub>50</sub> Setiap Fraksi Akar *Ficus deltoideus*

Fraksi	LC <sub>50</sub> (ppm)
n-heksana	151,71
Diklorometana	274,56
Etilasetat	371,72
metanol sisa	3529,76

Terhadap fraksi yang paling bersifat sitotoksik yaitu n-heksana (3,85 g) dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom dengan eluen yang ditingkatkan kepolarannya dari n-heksana hingga metanol. Fraksi-fraksi yang diperoleh digabung berdasarkan pada harga Rf yang sama sehingga diperoleh 10 fraksi yaitu : F<sub>1</sub> (0,8 mg); F<sub>2</sub> (1474,8 mg); F<sub>3</sub> (364,2 mg); F<sub>4</sub> (565,6 mg); F<sub>5</sub> (264,3 mg); F<sub>6</sub> (200,3 mg); F<sub>7</sub> (120 mg); F<sub>8</sub> (8,3 mg); F<sub>9</sub> (474,6 mg) dan F<sub>10</sub> (0,6 mg). Terhadap fraksi F<sub>4</sub> (565,6 mg) dilakukan kromatografi kolom lebih lanjut menggunakan fasa diam silika gel dan eluen n-heksana yang ditingkatkan kepolarannya dengan etilasetat dan dihasilkan 7 fraksi. Fraksi F<sub>4.4</sub> diperoleh berupa endapan putih kehijauan sebanyak 172,0 mg, kemudian dicuci dengan n-heksana sehingga dihasilkan kristal jarum sebanyak 14 mg dan sisa cucian. Terhadap sisa cucian setelah dilakukan

kromatografi kolom diperoleh kembali kristal jarum sebanyak 8 mg.

Uji KLT menunjukkan bahwa kedua jenis kristal tersebut mempunyai nilai Rf yang sama dalam berbagai eluen yaitu metilenklorida : etilasetat (6:4), n-heksana : etilasetat (7 : 3) dan n-heksana : metilenklorida (9 : 1) dengan Rf berturut-turut 0,58; 0,5; dan 0,23. Kedua senyawa juga menunjukkan uji positif terhadap steroid menggunakan pereaksi Lieberman Burchard. Hasil uji titik leleh terhadap kristal hasil isolasi ini adalah 133-134°C. Berdasarkan pada uji KLT dengan berbagai kombinasi eluen yang selalu menghasilkan satu noda dan range titik leleh yang tajam mengindikasikan bahwa kristal jarum hasil isolasi ini murni.

#### Analisa Spektroskopi

Spektrum ultraviolet dari senyawa hasil isolasi dalam pelarut n-heksana memberikan serapan maksimum pada bilangan gelombang ( $\lambda_{maks}$  ; nm.) (Absorbansi): 264 (0,280) dan 280 (0,230) (lampiran 1). Spektrum inframerah dengan pelat KBr menghasilkan puncak serapan pada  $\nu_{maks}$  (cm<sup>-1</sup>) : 3428,5 (lebar); 2934,8; 2848,7;

1660,5; 1548,8; 1464,4; 1053,5 dan 961,2 (lampiran 2). Kromatogram GC memperlihatkan adanya satu senyawa dengan waktu retensi 5 menit 2 detik. Spektrum massa memperlihatkan  $M^+$  pada  $m/z$  414 dan ion fragmen diantaranya pada  $m/z$  : 396, 381, 329, 273 dan 255 (lampiran 3).

Pada spektrum ultraviolet, lazimnya serapan pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 264 dan 280 nm mengindikasikan adanya sistem ikatan rangkap terkonyugasi dari fenil (aromatis). Dugaan adanya sistem ikatan rangkap terkonyugasi (aromatis) ini, tidak didukung oleh spektrum massa karena tidak terdapatnya ion fragmen pada  $m/z$  77 yang merupakan ciri khas dari senyawa yang mempunyai cincin fenil. Uji fitokimia terhadap kristal jarum senyawa hasil isolasi menunjukkan uji positif terhadap steroid dengan peraksi Lieberman Burchard. Senyawa-senyawa steroid lazimnya tidak mempunyai cincin aromatis, sehingga dugaan awal adanya sistem aromatis dari senyawa hasil isolasi ini tidak didukung oleh spektrum IR, MS maupun oleh uji fitokimia. Spektrum ultraviolet dari senyawa steroid lazimnya memberikan puncak pada panjang gelombang < 200 nm yang merupakan serapan dari

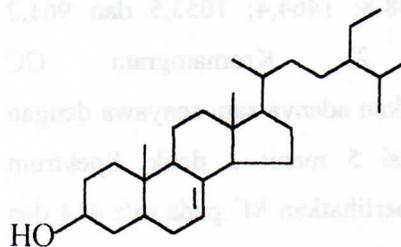
ikatan rangkap terisolasi. Jadi diduga serapan pada spektrum ultraviolet tersebut adalah serapan dari kuvet (Lampiran 1).

Spektrum inframerah mengindikasikan adanya vibrasi ulur dari gugus O-H pada bilangan gelombang 3428,5  $cm^{-1}$ , gugus -OH ini didukung dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 1053,5  $cm^{-1}$  yang merupakan vibrasi ulur dari C-O alkoksi. Ikatan rangkap terisolasi muncul pada bilangan gelombang 1660  $cm^{-1}$  yang didukung dengan munculnya puncak serapan pada 961,2  $cm^{-1}$  yang merupakan vibrasi tekuk C-H dari sistem olefinik. Vibrasi ulur C-H sistem alifatik muncul pada bilangan gelombang 2934,8 dan 2848,7  $cm^{-1}$ . Sistem gem-dimetil muncul pada bilangan gelombang 1548,8 dan 1464,4  $cm^{-1}$ . Jadi dari keseluruhan spektrum inframerah mengindikasikan adanya senyawa steroid (Lampiran 2).

Kromatogram GC (Lampiran 3) menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi ini cukup murni yang ditandai dengan munculnya 1 puncak pada waktu retensi 5:02 menit. Ion molekul pada spektrum MS muncul pada  $m/z$  414 yang sesuai untuk  $C_{29}H_{50}O$  dengan 5 buah "double bond

ekwivalent” (DBE ). Hal ini sesuai dengan senyawa steroid dengan kerangka stigmastan yang mempunyai 4 cincin dan 1 buah ikatan rangkap. Ion fragmen pada  $m/z$  396 muncul akibat hilangnya  $H_2O$  yang berasal dari gugus hidroksi yang memperkuat adanya gugus hidroksi pada spektrum inframerah. Munculnya ion fragmen pada  $m/z$  329 dan 273 berasal dari hilangnya fragmen  $C_6H_{11}$  dan  $C_{10}H_{21}$  yang terdapat pada rantai samping dari cincin siklopentanoperhidrofenantren. Hal ini mendukung bahwa senyawa hasil isolasi adalah steroid dengan kerangka stigmastan dengan satu ikatan rangkap yang terdapat pada cincin siklopentanoperhidrofenantren, sedangkan ion fragmen pada  $m/z$  255 muncul akibat hilangnya  $H_2O$  dan  $C_{10}H_{21}$ .

Pola spektrum massa dari senyawa hasil isolasi relatif mirip dengan senyawa stigmast-7-en-3 $\beta$ -ol (lampiran 3). Berdasarkan atas analisa spektrum IR, dan GC-MS dan kemiripan pola spektrum massa dari senyawa hasil isolasi tersebut dengan stigmast -7 en-3 $\beta$ -ol maka diduga bahwa senyawa hasil isolasi tersebut adalah stigmast -7 en-3 $\beta$ -ol dengan struktur sebagai berikut:



Stigmast-7-en-3 $\beta$ -ol

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi n-heksana, diklorometana, dan etilasetat dari akar *Ficus deltoideus* Blume aktif sitotoksik dengan  $LC_{50}$  berturut-turut adalah : 151,71; 272,56; dan 371,72 ppm.
2. Senyawa steroid hasil isolasi berupa kristal jarum dengan titik leleh 133-134 $^{\circ}C$  sebanyak 22 mg, dan berdasarkan pada analisa spektrum IR dan GC-MS diduga bahwa senyawa steroid hasil isolasi adalah stigmast-3-en-7 $\beta$ -ol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arbain, D., 1995, Penelitian Kimia Tumbuhan Rubiaceae Sumatera, Lokakarya isolasi Senyawa Berkhasiat, Proyek HEDS-USAID, Universitas Andalas, Padang.
- Arbain, D., 1998, Penelitian Kimia Tumbuhan Hutan Sumatera, Makalah Utama Workshop dan Isolasi Senyawa Bioaktif Tumbuhan Obat, HEDS-USAID, Universitas Andalas Padang,
- Burkill, I. H., 1966, A Dictionary of the Economic Product of the Malay Peninsula, Government of Malaysia and Singapore by the ministry of agriculture and Cooperative, Kualalumpur.
- Backer, C.A. and R.C. Bakhuizen van Den Brink, 1965, Flora of Java, Vo. II, NVP, Noordhooff, Groningen, the Netherlands.
- Cordell G.A. Recent Experimental and Clinical data Concening Antitumor and Cytotoxic Agents from Plants. Dalam: Katrin, EW., 1977, Bioaktifitas Sari Etanol Beberapa Tanaman Terhadap Sel Leukimia L1210, Cermin Dunia Kedokteran, No. 120:21.
- Lenny, A. S., 1999, Isolasi Komponen Utama Fraksi Aktif "Brine Shrimp Test" Ekstrak metanol *Ficus deltoideus* Blume, Skripsi Pascasarjana Universitas Andalas Padang.
- McLaughlin, J. L., 1991, Crown Gall Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality : Two simple Bioassay for Higher Plant Screening and Fractionation Methods in Plant, Biochemistry, vol. 6:8.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B. Nicols, D.E and McLaughlin, J.L., 1982, Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med.*, 45, 31-34.



