

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KOMPONEN UTAMA FRAKSI KOLOM AKTIF SITOTOKSIK DARI AKAR *Acanthus ilicifolius* Linn

Elfita, Muharni, Eliza, Afnidar Agusreni
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

Penelitian tentang komponen utama fraksi kolom aktif sitotoksik dari akar *Acanthus ilicifolius* Linn telah dilakukan. Fraksi kolom aktif berasal dari ekstrak heksan yang dipisahkan melalui tehnik-tehnik kromatografi yang memberikan nilai LC_{50} 15,2307 ppm. Usulan struktur komponen utama tersebut adalah stigmaterol dengan rumus molekul $C_{29}H_{48}O$, yang diperkuat oleh data fitokimia yang positif steroid, titik leleh $156-157^{\circ}C$, spektroskopi ultralembayung (UV) yang menunjukkan adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ dari $C=C$ terisolasi, inframerah (IR) yang menunjukkan adanya gugus OH ($\bar{\nu}$ 3438,8 cm^{-1}), C-H alifatik ($\bar{\nu}$ 2937,4 cm^{-1} – 2850,6 cm^{-1}), $C=C$ terisolasi ($\bar{\nu}$ 1629,7 cm^{-1}), rangka dasar siklopentana ($\bar{\nu}$ 1465,8 cm^{-1}), gugus isopropil ($\bar{\nu}$ 1382,9 cm^{-1}) dan C-O ($\bar{\nu}$ 1051,1 cm^{-1}), dan paduan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS) memberikan ion molekul pada m/e 412, puncak dasar pada m/e 55.

PENDAHULUAN

Hampir semua bagian tumbuhan *Acanthus ilicifolius* Linn dapat digunakan sebagai obat tradisional. Akar batang, daun dan bijinya digunakan sebagai obat kanker kandungan, kanker payudara, racun panah, nyeri perut, demam, merangsang ekskresi, kejang perut, kelumpuhan, asma, rematik, borok, bengkak,

pusing, pembersih darah, antelmintik, busung lapar dan penyakit kuning (Kassara dan Hemmi, 1995).

Obat-obat antikanker erat kaitannya dengan senyawa yang bersifat sitotoksik. Salah satu metoda yang menguji senyawa atau bahan yang bersifat sitotoksik adalah dengan uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* (metoda Brine shrimp lethality test = BSLT). Metoda ini telah digunakan untuk

pengujian awal terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tumbuhan karena murah, cepat, tidak memerlukan kondisi aseptis, dan dapat dipercaya (Meyer *et al.*, 1982). Metoda BSLT juga dapat digunakan untuk skrining awal senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antikanker, karena mempunyai korelasi yang positif dengan potensinya sebagai antikanker (McLaughlin, 1991). Penggunaan metode ini adalah sebagai alat penapisan terdepan (front-line screen); yang kemudian dapat didukung dengan uji hayati yang lebih khusus dengan prosedur yang lebih canggih.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengungkap kerasionalan penggunaan tumbuhan *Acanthus ilicifolius* Linn sebagai obat tradisional berdasarkan pengalaman turun-temurun. Tujuan lain mencari sumber senyawa baru yang berpotensi untuk mengobati penyakit kanker, tidak berbahaya, dan harganya murah, sehingga aman digunakan dan terjangkau oleh masyarakat yang membutuhkannya.

Berdasarkan uji pendahuluan diketahui fraksi heksan dari bagian akar tumbuhan *Acanthus ilicifolius* Linn yang memiliki aktifitas sitotoksik paling tinggi, sehingga

dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi komponen utama fraksi kolom aktif dari akar. Caranya menggunakan tehnik-tehnik kromatografi yang dipandu uji aktifitas serta diusulkan struktur molekulnya melalui penentuan titik leleh, uji fitokimia, spektroskopi UV, IR, dan GC-MS

BAHAN DAN METODE

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan mulai bulan Agustus sampai November 2000 di laboratorium penelitian jurusan kimia FMIPA UNSRI dan pengukuran spektroskopi yaitu UV, IR, dan GC-MS di laboratorium Kimia Organik Universitas Gajahmada, Yogyakarta.

1.2. Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : heksan teknis, etil asetat teknis, DMSO, media uji hayati, TLC silika gel G 60 F 254, Silika gel G 60 F 254 70-230 mesh, pereaksi fitokimia, dan larva udang *Artemia salina*.

Alat-alat yang digunakan terdiri dari : berbagai alat gelas yang biasa digunakan di

laboratorium Kimia Organik, seperangkat alat destilasi, neraca elektronik, pengisat gasing hampa R-114 Buchi yang dilengkapi dengan vacuum System Buchi B-169, kolom kromatografi grafitasi, Fisher John Melting Point, Spektrometer UV, FT-IR, dan paduan Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (GC-MS).

1.3. CARA KERJA

2.3.1. Uji toksisitas dengan metode “Brine Shrimp Lethality Test”

Sebanyak kurang lebih 15 mg telur *A. salina* ditaburkan ke dalam 500 ml media air laut dan dialirkan udara melalui arerator. Telur akan menetas menjadi larva setelah 24-36 jam aerasi. Kemudian larva dipisahkan dari telur yang tidak menetas dengan cara memindahkan ke media air yang baru dan siap digunakan sebagai organisme uji.

Langkah-langkah uji hayati toksisitas dilakukan dengan cara sebagai berikut: ekstrak atau fraksi yang akan diuji keaktifannya, dibuat dalam tiga kelompok variasi konsentrasi yaitu 10, 100, dan 1000 ppm. Setiap vial kelompok konsentrasi larutan uji disertai dengan satu vial blanko

sebagai pembanding. Pada vial blanko hanya berisi pelarut yang digunakan dalam membuat larutan uji. Pengisian vial blanko dengan pelarut, sama jumlahnya dengan pemipetan pada larutan uji yang hendak dibandingkan. Vial uji dan blanko diuapkan pelarutnya sampai habis dan ditambahkan masing-masing DMSO sebanyak 50 μ L, kemudian ke dalam vial uji dan blanko ditambahkan air laut lebih kurang 2 ml dan 10 ekor larva *A. salina*. Selanjutnya ditambahkan air laut pada setiap vial uji dan blanko sampai volume menjadi tepat 5 ml. Kemudian vial uji dan blanko ditempatkan di bawah sinar lampu neon 40 watt dengan jarak lebih kurang 20 cm. Pengamatan efek toksik dilakukan dengan cara menghitung jumlah larva *A. salina* yang mati dalam selang waktu 24 jam perlakuan. Data yang diperoleh dihitung LC_{50} dengan analisis probit.

2.3.2. Isolasi komponen utama dari fraksi kolom aktif dari akar tumbuhan *A. ilicifolius* Linn

Fraksi aktif heksan yang telah diperoleh pada penapisan awal diisolasi dengan teknik-teknik kromatografi. Sejumlah ekstrak aktif dilarutkan dalam eluen yang sesuai, kemudian dianalisis dengan

kromatografi lapis tipis untuk memilih eluen yang digunakan dalam kromatografi kolom. Setelah diperoleh eluen yang sesuai, ekstrak aktif dipisahkan dengan kromatografi kolom terbuka, menggunakan fase diam silika gel 60 70-230 mesh. Fraksi dengan faktor retensi sama digabungkan, diuapkan dan diuji hayati hingga diketahui fraksi kolom aktif.

2.3.3. Pemurnian dan karakterisasi komponen utama fraksi kolom aktif

Fraksi kolom aktif berupa kristal berwarna kuning selanjutnya dimurnikan dengan cara rekristalisasi hingga diperoleh senyawa murni yang merupakan komponen utama. Selanjutnya diidentifikasi dengan mengukur titik leleh, uji fitokimia, analisis spektroskopi UV-Vis, FT-IR, dan GC-MS, hingga diperoleh suatu usulan struktur.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktifitas sitotoksik pada setiap fraksi kolom ekstrak heksan akar *A. ilicifolius* Linn memperlihatkan bahwa fraksi kolom nomor 6 (enam) memberikan aktifitas yang tinggi dengan nilai LC_{50} 15,2307 ppm.

Fraksi kolom aktif direkristalisasi hingga diperoleh kristal putih yang merupakan komponen utama dengan nilai LC_{50} menurun yaitu 120,726 ppm. Uji fitokimia dengan pereaksi Leberman-Burchard menunjukkan positif steroid dengan titik leleh 156-157°C.

Spektrum UV memperlihatkan puncak tinggi pada panjang gelombang 226 nm yaitu transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan adanya ikatan rangkap terisolasi.

Pengukuran serapan dengan spektroskopi inframerah menunjukkan data sebagai tertera pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Taksiran spektrum inframerah komponen utama fraksi kolom aktif

Bilangan Gelombang ($\bar{\nu}$ cm ⁻¹)	Bentuk Pita	Intensitas	Gugus Terkait
3438,8	lebar	sedang	regang O-H
2937,4-2850,6	tajam	kuat	regang C-H alifatik
1629,7	lebar	lemah	ikatan rangkap terisolasi
1465,8	tajam	sedang	lentur C-H untuk siklopentana
1382,9	tajam	sedang	lentur C-H untuk isopropil
1051,1	tajam	sedang	regang C-O

Berdasarkan spektrum inframerah diduga terdapat gugus hidroksi dengan serapan regang pada bilangan gelombang ($\bar{\nu}$) 3438,8 cm⁻¹. Serapan pada $\bar{\nu}$ 2937,4 cm⁻¹ – 2850,6 cm⁻¹ menunjukkan adanya regang hidrokarbon alifatik dan serapan pada $\bar{\nu}$ 1629,7 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan rangkap yang terisolasi. Ciri khas adanya rangka dasar siklopentana terlihat dari munculnya serapan pada $\bar{\nu}$ 1465,8 cm⁻¹. Disamping itu ada ciri khas lain yaitu serapan pada $\bar{\nu}$ 1382,9 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus isopropil. Serapan pada $\bar{\nu}$ 1051,1 cm⁻¹ menunjukkan regang karbon-oksigen.

Hasil analisis dengan spektroskopi massa tertera pada tabel 2 berikut :

Tabel 2. Penggalan-penggalan dan intensitas relatif spektrum massa komponen utama fraksi kolom aktif

m/e	Intensitas relatif (%)	Penggalan
412	17,28 (M ⁺)	C ₂₉ H ₄₈ O
255	30,34	C ₁₉ H ₂₇
213	20,93	C ₁₆ H ₂₁
159	34,23	C ₁₂ H ₁₅
133	29,02	C ₁₀ H ₁₃
105	26,10	C ₈ H ₉
81	55,03	C ₆ H ₉
69	51,53	C ₅ H ₉
55	100(puncak dasar)	C ₄ H ₇

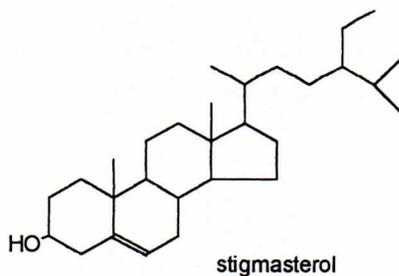
Spektrum massa memperlihatkan adanya puncak ion molekul (M^+) pada m/e 412 dengan intensitas relatif 17,28, ($M^+ + 1$) pada m/e 413 dengan intensitas relatif 5,61 dan puncak dasar pada m/e 55. Dari spektrum inframerah diketahui adanya daerah serapan untuk gugus hidroksi. Berdasarkan perhitungan dengan rumus:

$$\text{Jumlah C} = \frac{100}{1,1} \times \frac{\% \text{ intensitas } (M^+ + 1)}{\% \text{ intensitas } (M^+)}, \quad \text{didapatkan}$$

jumlah atom C sama dengan 29. Dengan demikian suatu rumus molekul yang mungkin adalah $C_{29}H_{48}O$. Penggalan-penggalan yang terdapat pada spektum massa menunjukkan

ciri khas dari steroid yaitu senyawa stigmasterol. Usulan ini diperkuat oleh data uji fitokimia yang positif steroid dan titik leleh yang sama dengan senyawa stigmasterol. Juga diperkuat oleh data inframerah yang menunjukkan ciri steroid pada $\bar{\nu}$ 1465,8 cm^{-1} dan $\bar{\nu}$ 1382,9 cm^{-1} .

Jadi berdasarkan semua data diatas diusulkanlah suatu struktur molekul untuk komponen utama fraksi kolom heksan ke-6 ini adalah stigmasterol dengan rumus molekul $C_{29}H_{48}O$. Struktur molekul senyawa hasil isolasi terdapat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur molekul senyawa hasil isolasi

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Komponen utama dari fraksi kolom aktif diusulkan struktur molekulnya sebagai kelompok senyawa steroid, yaitu stigmasterol dengan nilai LC_{50} menurun dibandingkan fraksi kolomnya yaitu dari 15,2307 ppm menjadi 120,726 ppm.

4.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang semua kandungan kimia yang terdapat pada fraksi kolom aktif tersebut.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Kassahara , S and Hemmi, S. (1995) Medicinal Herb Index In Indonesia, PT Eisai Indonesia, Tokyo, 361.
- McLaughlin, J.L. (1991) The Unesco Regional Workshop on The Bioassay of Natural Product with Special Emphasis on Anticancer Agents, Institute for Advanced Studies, University of Malaysia, 23.
- Meyer, B.N., N.R. Ferrigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobsen, D.E. Nicols and J.L. McLaughlin.(1982) Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Med.* 45 : 31-34.