

STUDI AKTIFITAS SITOTOKSIK DAN ISOLASI STEROID DARI TUMBUHAN JERUJU (*Acanthus illicifolius* Linn)

Elfita, Setiawati Yusuf, Hajnurisa Aini
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya

Penelitian tentang studi aktifitas sitotoksik dan isolasi steroid dari tumbuhan jeruju telah dilakukan dengan metode maserasi dengan kepolaran meningkat. Akar memiliki aktifitas sitotoksik tertinggi dibandingkan batang dan daun. Uji aktifitas terhadap fraksi-fraksi akar menunjukkan bahwa fraksi heksan yang memiliki aktifitas tertinggi dan untuk selanjutnya diisolasi senyawa steroid dari fraksi tersebut. Uji aktifitas sitotoksik selama penelusuran dilakukan dengan metode Brine Shrimp Lethality Tesh. Usulan struktur senyawa steroid adalah β -sitosterol yang diperkuat oleh data fitokimia, titik leleh, spektroskopi ultralembayung (UV), inframerah (IR), paduan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS).

1. PENDAHULUAN

Hampir semua bagian tumbuhan jeruju 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) (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).

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengungkapkan kerasionalan penggunaan tumbuhan jeruju sebagai obat tradisional berdasarkan pengalaman turun-temurun dan mencari sumber senyawa baru yang berpotensi untuk mengobati penyakit kanker, tidak berbahaya, dan harganya murah,

sehingga aman digunakan dan terjangkau oleh masyarakat yang membutuhkannya.

Tahap pertama penelitian ini adalah skrining aktifitas sitotoksik secara in vitro dari semua bagian tumbuhan meliputi akar, batang, dan daun menggunakan metode “Uji Kematian Larva Udang (Brine Shrimp Lethality Test)” yaitu untuk mengetahui bagian tumbuhan yang memiliki aktifitas paling tinggi, kemudian dilanjutkan dengan isolasi komponen utama dan pemurnian yang selalu dipandu dengan uji hayati. Isolasi komponen utama ini dimaksudkan untuk mengetahui senyawa tertentu yang berada dalam jumlah mayor yang kemungkinan ikut mendukung keaktifan pada fraksi aktif tersebut. Terhadap senyawa murni dilakukan karakterisasi yaitu dengan penentuan titik leleh, uji fitokimia, spektroskopi UV, IR, dan GC-MS, hingga diperoleh suatu usulan struktur.

2. 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.

2.2. Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : heksan teknis, etil asetat teknis, metanol 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).

2.3. CARA KERJA

2.3.1. Persiapan sampel dan tahap skrining aktifitas sitotoksik dari tumbuhan jeruju

Masing-masing sampel (akar, batang, dan daun) diambil 3 kg segar, dikeringkan pada suhu kamar sampai beratnya konstan,

kemudian digiling halus dan diekstraksi menggunakan metanol. Ekstraksi dihentikan setelah filtrat terakhir tidak meninggalkan noda pada plat KLT. Masing-masing filtrat yang diperoleh dipekatkan untuk mendapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia dan uji hayati pada semua sampel untuk mengetahui bagian tumbuhan mana yang menunjukkan aktifitas sitotoksik paling efektif. Bagian tumbuhan terpilih yaitu yang memiliki aktifitas sitotoksik paling tinggi tersebut difraksinasi menggunakan pelarut-pelarut dengan kepolaran meningkat yaitu dengan heksan, etil asetat dan metanol. Masing-masing fraksi dipekatkan dan diuji hayati dengan metode BSLT untuk mengetahui fraksi bagian tumbuhan terpilih yang memiliki aktifitas paling efektif.

2.3.2. Isolasi dan identifikasi senyawa steroid dari fraksi aktif heksan

Senyawa steroid dipisahkan dari fraksi aktif heksan dan dimurnikan secara rekristalisasi hingga diperoleh kristal bewarna putih. Selanjutnya diidentifikasi dengan mengukur titik leleh, uji fitokimia, analisis

spektroskopi UV, FT-IR, dan GC-MS, hingga diperoleh suatu usulan struktur.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Skrining Aktifitas Sitotoksik Bagian-Bagian Tumbuhan Jeruju

Sampel berupa bagian-bagian tumbuhan jeruju meliputi akar, batang dan daun masing-masing 3 kg segar, setelah dikeringkan pada suhu kamar sampai beratnya konstan diperoleh : akar 478 gr, batang 1050 gr, dan daun 840 gr. Masing-masing sampel kering bubuk 50 gr, setelah dimaserasi dengan metanol menghasilkan : akar 1,1 gr, batang 1,8 gr, dan daun 4,7 gr. Hasil uji fitokimia dan aktifitas sitotoksik tertera masing-masing pada tabel 3.1. dan 3.2. Bagian akar tumbuhan jeruju memperlihatkan keaktifan yang paling tinggi sehingga untuk perlakuan selanjutnya dipilih bagian akar.

Tabel 3.1. Hasil uji fitokimia dan aktifitas sitotoksik ekstrak metanol bagian-bagian tumbuhan jeruju

| Bagian tumbuhan jeruju | Uji fitokimia | | | | | LC 50 (ppm) |
|------------------------|---------------|-----------|---------|--------------|---------|-------------|
| | Alkaloid | Flavonoid | Steroid | Triterpenoid | Saponin | |
| Akar | ++ | - | +++ | +++ | ++ | 10,0134 |
| Batang | ++ | - | +++ | ++ | - | 19,3240 |
| Daun | +++ | - | +++ | ++ | ++ | 241,7748 |

Akar tumbuhan jeruju sebanyak 420 gr selanjutnya difraksinasi berturut-turut dengan pelarut yang kepolarannya meningkat, filtrat diuapkan dan ditimbang hasilnya sebagai berikut: fraksi kental heksan 1.15 gr, fraksi kental etil asetat 1,94 gr, dan fraksi kental metanol 6,02 gr. Uji aktifitas dilakukan terhadap masing-masing fraksi kental, memberikan hasil sebagai tertera pada tabel 3.3. Fraksi kental heksan menunjukkan aktifitas sitotoksik paling tinggi sehingga untuk perlakuan selanjutnya dipilih fraksi heksan.

Tabel 3.3. Hasil uji aktifitas sitotoksik fraksi-fraksi akar tumbuhan jeruju

| Fraksi kental bagian akar | LC ₅₀ |
|---------------------------|------------------|
| heksan | 7,2597 ppm |
| Etil asetat | 1116,8700 ppm |
| metanol | 992,6800 ppm |

3.2. Isolasi dan identifikasi senyawa steroid dari fraksi aktif heksan

Fraksi kental heksan sebanyak 1 gr dilarutkan dalam 20 ml heksan. Di dalam larutan tersebut terdapat endapan, kemudian dipisahkan dari filtratnya. Hasil uji aktifitas endapan (0,14 gr) dan filtrat tertera pada tabel 3.4. Endapan dan filtrat masing-masing menunjukkan aktifitas yang tinggi.

Tabel 3.4. Hasil uji aktifitas sitotoksik bagian fraksi heksan akar tumbuhan jeruju

| Fraksi heksan akar | LC ₅₀ |
|--------------------|------------------|
| endapan | 3,1896 ppm |
| filtrat | 7,2327 ppm |

Hasil uji fitokimia terhadap endapan fraksi heksan menunjukkan positif dengan pereaksi Leberman-Burchat yaitu bewarna hijau. Hal ini menunjukkan bahwa endapan

fraksi heksan termasuk kelompok senyawa steroid.

Endapan fraksi heksan berwarna coklat muda (0,14 gr) direkristalisasi hingga diperoleh kristal berwarna putih. Aktifitas sitotoksik steroid mempunyai nilai LC_{50} 210,0564 ppm. Uji fitokimia memberikan warna hijau dengan pereaksi Leberman-

Burchat, yang menunjukkan positif steroid. Titik leleh 139-141°C. Spektrum UV memperlihatkan adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ pada panjang gelombang 224 nm yang menunjukkan adanya ikatan rangkap terisolasi. Pengukuran serapan dengan spektroskopi inframerah menunjukkan data sebagai tertera pada tabel 3.5.

Tabel 3.5. Taksiran spektrum inframerah senyawa murni endapan fraksi heksan

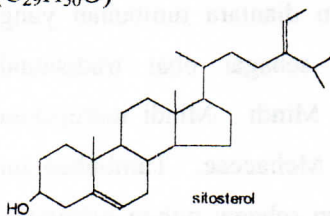
| Bilangan Gelombang ($\bar{\nu}$ cm ⁻¹) | Bentuk Pita | Intensitas | Gugus Terkait |
|---|-------------|------------|-------------------------------|
| 3448,5 | lebar | sedang | regang O-H |
| 2918,1-2850,6 | tajam | kuat | regang C-H alifatik |
| 1629,7 | lebar | lemah | ikatan rangkap terisolasi |
| 1465,8 | tajam | sedang | lentur C-H untuk siklopentana |

Berdasarkan spektrum inframerah diduga terdapat gugus hidroksi dengan serapan regang pada bilangan gelombang ($\bar{\nu}$) 3448,5 cm⁻¹. Serapan pada $\bar{\nu}$ 2918,1 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.

Spektrum massa memperlihatkan munculnya puncak ion molekul (M⁺) pada m/e 414. Puncak dasar senyawa murni adalah pada m/e 43. Pemenggalan terjadi pada m/e 414, 395, 143, 129, 105, 91, 71, 55, dan 43. Melihat pola pemenggalan dan puncak dasar

pada spektrum, terdapat kemiripan dengan pola pemenggalan senyawa β -sitosterol. Kemiripan ini didukung oleh data base pada MS, titik leleh yang sama, uji fitokimia yang positif steroid dan data spektrum inframerah yang menunjukkan adanya gugus OH, ikatan rangkap terisolasi, C-H alifatik rangka siklopentana. Berdasarkan seluruh data tersebut di atas maka diusulkanlah suatu struktur molekul untuk senyawa murni endapan fraksi heksan ini adalah β -sitosterol ($C_{29}H_{50}O$)



4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Bagian tumbuhan jeruju yang memiliki aktifitas sitotoksik paling tinggi adalah akar.

Fraksi akar yang memiliki aktifitas paling tinggi adalah fraksi heksan.

Endapan fraksi heksan setelah direkristalisasi menghasilkan senyawa murni kelompok steroid yaitu β -sitosterol.

4.2. Saran

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

1. 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.