

Toksisitas Senyawa β -sitosterol dan Ekstrak Kulit Batang *Aglaia odorata* L

Riky

STIKes Borneo Cendekia Medika Pankalan Bun

EMAIL : riky_rcd90@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pacar cina (*Aglaia odorata* Lour) adalah tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional karena bahan alami yang dikandungnya. Penelitian ini bertujuan dari ekstrak Pacar cina dan uji toksisitas masing-masing ekstrak dan senyawa yang diisolasi dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Metode yang digunakan dalam maserasi. Dalam penelitian ini, n-heksana, etil asetat, ekstrak metanol dan senyawa β -sitosterol menunjukkan efek toksik (LC₅₀ 261,17; 110; 266,75 dan 100 μ g / mL, masing-masing). Tingkat toksisitas di antara tiga ekstrak dan senyawa yang diisolasi adalah β -sitosterol > etil asetat > n-heksana > metanol.

Kata kunci: BSLT, *Aglaia odorata* L., maserasi

Toksisitas Senyawa β -sitosterol dan Ekstrak Kulit Batang *Aglaia odorata* L

ABSTRACT

Pacar cina (Aglaia odorata Lour) is a plant that is widely used as an traditional medicine because of natural materials they contain. The study aims to from Pacar cina extracts and toxicity test of each extract and isolated compound by BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. The method used in the maceration. In this study, the n-hexane, ethyl acetate, methanol extracts and β -sitosterol compound showed toxic effect (LC₅₀ 261,17; 110; 266,75 and 100 μ g/mL, respectively). The toxicity degree among the three extracts and isolated compound is β -sitosterol > ethyl acetate > n-hexane > methanol.

Keywords : BSLT, *Aglaia odorata* L., maceration

PENDAHULUAN

Pacar cina (*Aglaia odorata* L.) merupakan salah satu tanaman dari famili *Meliaceae*. Daerah penyebaran tumbuhan ini meliputi India, Cina bagian selatan, Laos, Asia Tenggara, Australia

bagian utara dan kepulauan di Samudra Pasifik. Di Indonesia tumbuhan ini dapat ditemui tumbuh di pulau Sumatera, Kalimantan, Jawa, Sulawesi, Bali dan Flores [1]. Pacar cina dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk demam,

kencing nanah, penyakit kulit, dan obat gatal^[2]. Dengan manfaat yang dikandung tersebut, tentunya pacar cina memiliki senyawa kimia yang berpotensi untuk dilakukan penelitian lebih lanjut.

Beberapa senyawa telah diisolasi dari tanaman *Aglaia odorata* yaitu 8-(7',8',9'-propanetriol-4' - metoksi-3'O-fenilpropanoid) - 7 - hidroksi - 6 - metoksi kumarin, A kleomiscosin, asam betulinat, asam alphutolat, 20S,24S-dihidroksidammar-25-en-3-one, Asam ursolat, cabraleahidrosilikton, asam xanthocerasat, 24,25-dihidroksidammar-20-en-3-one, dammar-20-ene-3b,24(R),25-triol, sideroksilin, 8-demetilsideroksilin, 2'-hidroksi-4',4'',6''-trimetoksi-calcon, (2R,3R)-(+)-4',5,7-trimetoksi dihidroflavonol, naringenin trimetil ether, 2,3-dihidro-5-hidroksi-4',7-dimetoksiflavan, odorin, odorinol, dan rokaglaol.^[3,4]

Untuk mengetahui suatu tanaman memiliki potensi sebagai antikanker, maka perlu dilakukan penelitian awal. Salah satu metode awal untuk uji sitotoksik adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metoda BSLT dipilih karena sederhana, cepat, murah, mudah dan dapat dipercaya^[5]. BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker yang berasal dari tanaman. Penggunaan metoda BSLT diharapkan dapat menentukan ekstrak mana yang paling toksik dan sekaligus menandakan ekstrak dengan kandungan senyawa metabolit sekunder paling aktif.

Pada studi literatur yang dilakukan, belum ada laporan tentang

uji BSLT pada ekstrak dan senyawa kulit batang *Aglaia odorata*, tetapi ekstrak pada daun sudah dilakukan dengan menunjukkan sifat toksik^[12]. Dari uraian tersebut, dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder kulit batang pacar cina (*Aglaia odorata* L) dan uji toksitas ekstrak dan senyawa isolasi dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

METODA PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan untuk proses isolasi yaitu mortar grinder, seperangkat alat distilasi, *rotary evaporator* (Heidolph Laborota 4000), lumpang dan alu, kolom kromatografi, plat KLT, neraca analitik, kertas saring, oven, alumunium foil, lampu UV (λ 254 dan 365 nm) sebagai pengungkap noda. Untuk mengukur titik leleh digunakan alat *Melting Point* (Stuart SMP10). Untuk karakterisasi senyawa digunakan spektrofotometer ultraviolet visible (Shimadzu PharmaSpec UV-1700),

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut teknis (Brataco) yaitu n-heksana, etil asetat dan methanol yang telah didestilasi. Silika gel 60 (0,063-0,200 mm/Merck). Pereaksi uji profil fitokimia, kloroform pa (Merck), asam klorida pa (Merck), serbuk magnesium (Merck) dan besi (III) klorida (Merck), asam sulfat 2 N (Merck), akuades, anhidrida asetat (Merck), plat kromatografi lapis tipis, kertas saring, kloroform (Merck), telur

udang *Artemia salina*, air laut, dan dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck).

Kulit batang *Aglaia odorata* L

Kulit batang segar *Aglaia odorata* L (8 kg) yang didapat didaerah Tanjung Puting, Kabupaten Kotawaringin Barat, Indonesia. Tanaman diidentifikasi jenisnya di Laboratorium Herbarium Universitas Jenderal Soedirman, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jenderal Soedirman Semarang, Indonesia. Tanaman tersebut dikeringkan selama 5 minggu. Setelah kering, digrinder dengan mortar grinder sampai berbentuk bubuk.

Preparasi Ekstrak Kulit batang *Aglaia odorata* L

Sebanyak 3 kg bubuk sampel kering dimaserasi selama 3-4 hari dengan 10 L n-heksana. Hasil maserasi disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan diperoleh ekstrak pekat n-heksana. Merasasi dilakukan sampai tujuh kali dan semua ekstrak pekat n-heksana digabung. Ampas maserasi dengan n-heksana dilanjutkan maserasi dengan etil asetat selama 3-4 hari dengan 8 L etil asetat dan dipekatkan. Merasasi dilakukan tujuh kali dan semua ekstrak digabung. Ampas dari maserasi dengan etil asetat dilanjutkan maserasi dengan methanol 8 L methanol dan dipekatkan. Merasasi dilakukan tiga kali dan semua ekstrak digabung.

Uji BS LT (Brine Shrimp Lethality Test)

Masing-masing ekstrak pekat n-heksana, etil asetat dan metanol yang

dihasilkan diuji menggunakan metoda *Brine Shrimps Lethality Test* yaitu dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L sebagai hewan uji. Disiapkan bejana untuk penetasan telur udang. Bejana pembiakan terdiri atas dua bagian yang saling terhubung, dimana terdapat bagian terang dan bagian gelap. Di dalam bejana tersebut diletakkan lampu untuk menghangatkan suhu dalam penetasan yang dilengkapi aerator. Bejana kemudian diisi dengan air laut dan telur udang sebanyak 100 mg yang akan ditetaskan ke dalam wadah bagian gelap. Waktu penetasan selama 48 jam [6] dan setelah menetas larva akan berenang menuju bagian terang wadah. [13]

Sebanyak 12 mg ekstrak dilarutkan dalam 12 ml pelarut (ekstrak n-heksana larut dalam pelarut n-heksana), sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Kemudian larutan tersebut diencerkan dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 µg/mL dari larutan induk yang masing-masingnya triplo. lalu dikeringkan. Selanjutnya kedalam setiap sampel uji ditambahkan 2 tetes larutan DMSO pada setiap konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 µg/mL . Kemudian ditambah 3 mL air laut pada masing-masing konsentrasi sampel sambil diaduk hingga larut. Lalu tambahkan sebanyak 10 ekor larva udang kedalam tiap konsentrasi. Kemudian cukupkan air laut pada sampel sampai volume 5 mL. Untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan sampel hanya menggunakan air laut sebanyak 5 mL. Larutan didiamkan

selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup.

Angka mati dan angka hidup dihitung dengan menjumlahkan larva yang mati dalam setiap konsentrasi yang sama (perlakuan triplo). Hasil pengamatan diolah untuk mendapatkan nilai LC_{50} . LC_{50} dihitung dengan hubungan nilai konsentrasi bahan toksik uji dan jumlah rata-rata hewan uji yang mati dengan fungsi linear $Y = a + bx$. Ekstrak yang paling aktif terhadap uji toksisitas dilanjutkan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekundernya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan proses isolasi dengan cara maserasi (perendaman) yang dilakukan berulang-ulang dan dipekatkan sehingga didapatkan hasil seperti pada tabel 1:

Tabel 1. Hasil maserasi ekstrak dari tingkatan pelarut yang digunakan dan banyak pengulangan yang dilakukan.

Ekstrak	Banyak perlakuan	Volume Pelarut	Hasil Ekstrak	Rendemen
n-heksana	7 kali	49 liter	18 gram	0,56 %
Etil asetat	7 kali	42 liter	28 gram	0,87 %
Metanol	3 kali	12 liter	3 gram	0,09 %

Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Pengujian toksisitas dilakukan untuk ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol, dan. Senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 2. Dari perhitungan nilai LC_{50} , ketiga ekstrak dan senyawa hasil isolasi aktif terhadap uji BSLT karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ mg/L. Hasil uji BSLT dianggap berpotensi jika ekstrak menyebabkan kematian 50% terhadap *Artemia salina* L pada konsentrasi kurang dari 1000 mg/L. Menurut Mc Laughlin dalam Novalien (2015), pengamatan bioaktivitas ini dilakukan berdasarkan nilai *Lethal Concentration 50%* (LC_{50}). Apabila $LC_{50} < 30$ ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif anti kanker. Meyer dalam Novalien (2015) menyebutkan tingkat toksisitas suatu ekstrak :

$LC_{50} \leq 30$ ppm = Sangat toksik

$31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq 1.000 \text{ ppm} = \text{Toksik}$

$LC_{50} > 1.000 \text{ ppm} = \text{Tidak toksik}$ [7,8,14]

Tabel 2. Hasil LC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol dan senyawa hasil isolasi

No	Ekstrak/Senya wa	Regresi	LC_{50} (mg/L)
1	n-heksana	$Y = 0,006 X + 3,433$	261,17
2	Etil asetat	$Y = 110$	

		0,01X
		+ 3,9
3	Metanol	Y = 266,7
		0,008 5
		X +
		2,866
4	Senyawa isolasi I	Y = 100
		0,014
		X +
		3,6

Dari hasil Tabel 2. menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki sifat toksik yang sangat tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksana dan methanol karena nilai LC₅₀ yang lebih kecil. jika nilai LC₅₀ semakin kecil maka semakin tinggi toksitasnya. Hal ini membuktikan bahwa pelarut etil asetat mampu mengekstrak kandungan kandungan metabolit sekunder dari kulit batang *Aglaia odorata* L yang memiliki toksitas yang tinggi. Sehingga dipilih ekstrak etil asetat untuk pengajaran isolasi senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan kromatografi kolom.

KESIMPULAN

Hasil uji toksitas BSLT terhadap ekstrak heksana, etil asetat dan methanol serta senyawa β-sitosterol menunjukkan baik ekstrak maupun senyawa hasil isolasi bersifat aktif dengan masing-masing nilai LC₅₀ : 261,17 µg/mL, 110 µg/mL, 266,75 µg/mL, 100 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

Setiawati Wiwin, dkk. 2008.
Tumbuhan Bahan Pestisida

- Nabati dan Cara Pembuatannya untuk Pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT).* Bandung : Balai Penelitian Tanaman Sayuran
- Sugijanto, N.E. Beatrice Yodianto, Made N. Kusumajaya, Noor C. Zaini. *Aktivitas Antimikroba Dan Analisis Klt-Densitometri Metabolit Fraksi –Fraksi Ekstrak Endofit Dari Aglaia odorata.* Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.3 No. 1 Juni 2014
- Zhang Heng, et. al 2012. *Chemical constituents from Aglaia odorata Lour.* Biochemical Systematics and Ecology. Elsivier
1. Hartanto Satrio, Nurul Hidajati. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpen dari Ekstrak Kulit Batang *Aglaia odorata* Lour (*Meliaceae*). UNESA Journal of Chemistry Vol. 1, No. 1. Surabaya.UNESA.
 2. Kurniawan H. 2012. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* H) Terhadap Larva *Artemia salina* LeachDenganMetode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).* Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura, Pontianak
 3. Tomayahu Rahma. dkk. 2014. *Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten. Steenis) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).* Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo.

- Novalien Fiergiyanti *et al*,2015. Analisis Fitokimia dan Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Ekstrak Serbuk Sari dari *Trigona Incisa*. Jurnal Kimia Mulawarman Volume 13 Nomor 1.
- McLaughlin. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. Drug Information Journal. Vol 32: 513-524.
- Simes, J. J. H., J. G. Tracey, L. J. webb, and W. J. Dunstan. (1995). *An Australian Phytochemical Survey*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.
- Santoni, A. 2009. *Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Kulit Batang Surian (Toona sinensis) Meliaceae dan Uji Aktivitas Insektisida*. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Dwi. D.D, Mai Efdi and Adlis Santoni (2015), Isolation and elucidation structure major compounds from the leaves of *Aglaia odorata* Lour, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015, 7(8):121-123
- Juniarti, Osmeli D., dan Yuhernita, (2009), Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.) Bagian Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas YARSI, Jakarta 10510, Indonesia
- Meyer, B. N, N.R. Ferrigni, J.E. Putman, L.B. Jacobsen, D.E. Nichol dan J.L. Melaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica* 45:31-34