

TOKSISITAS SENYAWA B-SITOSTEROL DAN EKSTRAK KULIT BATANG AGLAIA ODORATA L

Riky¹

¹ STIKes Borneo Cenndekia Medika

Email : Riky@gmail.com ¹

ABSTRAK

Pendahuluan 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 studi ini, n-heksana, etil asetat, ekstrak metanol dan senyawa β -sitosterol menunjukkan efek toksik (LC₅₀ 261,17; 110; 266,75 dan 100 μg / mL, masing-masing). Tingkat toksisitas di antara tiga ekstrak dan senyawa yang diisolasi adalah β -sitosterol > etil asetat > n-heksana > metanol. **Hasil** Pada penelitian ini dilakukan proses isolasi dengan cara maserasi (perendaman) yang dilakukan berulang-ulang dan dipekatkan **Kesimpulan** uji toksisitas 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 110 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 266,75 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

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

TOKSISITAS SENYAWA B-SITOSTEROL DAN EKSTRAK KULIT BATANG AGLAIA ODORATA L

ABSTRACT

Introduction Chinese girlfriend (*Aglaia odorata* Lour) is a plant that is widely used as traditional medicine because of the natural ingredients it contains. The aim of this study was to extract Chinese girlfriend and the toxicity test of each extract and compound isolated by the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. **The method** used in maceration. In this study, n-hexane, ethyl acetate, methanol extract and β -sitosterol compounds showed toxic effects (LC₅₀ 261.17; 110; 266.75 and 100 μg / mL, respectively). The level of toxicity among the three extracts and the compound isolated was β -sitosterol > ethyl acetate > n-hexane > methanol. **Results** In this study the isolation process was carried out by maceration (immersion) which was carried out repeatedly and concentrated **Conclusion** of the toxicity test of BSLT on hexane, ethyl acetate and methanol extracts and β -sitosterol compounds showed both extracts and isolated compounds were active with each LC₅₀ value: 261.17 μg / mL, 110 μg / mL, 266.75 μg / mL, 100 μg / mL.

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

PENDAHULUAN

Pacar cina (*Aglai 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 *Aglai 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-dihidroksi-dammar-25-en-3-one Asam ursolat, cabraleahidroksilakton, asam xanthocerasat, 24,25-dihidroksi-dammar-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). Metode 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 *Aglai 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 (*Aglai odorata* L) dan uji toksisitas ekstrak dan senyawa isolasi dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

BAHAN DAN METODE 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, neracaanalitik, kertas saring, oven, alumunium foil, lampu UV (• 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 diLaboratorium 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. Maserasi 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. Maserasi dilakukan tujuh kali dan semua ekstrak digabung. Ampas dari maserasi dengan etil asetat dilanjutkan maserasi dengan methanol 8 L methanol dan dipekatkan. Maserasi dilakukan tiga kali dan semua ekstrak digabung.

Uji BSLT (*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 LC₅₀. LC₅₀ 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	Rendeme
n-heksana	7 kali	49 ltr	18 gr	0,56 %
Etil asetat	7 kali	42 ltr	28 gr	0,87 %
Metanol	3 kali	12 ltr	3 gr	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 LC₅₀, ketiga ekstrak dan senyawa hasil isolasi aktif terhadap uji BSLT karena memiliki nilai LC₅₀ < 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% (LC₅₀). Apabila LC₅₀ < 30 ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif anti kanker. Meyer dalam Novalien (2015) menyebutkan tingkat toksisitas suatu ekstrak :

LC₅₀ ≤ 30 ppm = Sangat toksik
 31 ppm ≤ LC₅₀ ≤ 1.000 ppm = Toksik
 LC₅₀ > 1.000 ppm = Tidak toksik [7,8,14]

Tabel 2 Hasil LC₅₀ ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol dan senyawa hasil isolasi

No	Ekstrak/senyawa	Regresi	LC ₅₀ (mg/L)
1	n-heksana	Y=0,006 X+3,433	261,17
2	Etil Asetat	Y=0,01X+3,9	110
3	Metanol	Y=0,008X+2,866	266,75
4	Senyawa insulasi I	Y=0,014X+3,6	100

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 toksisitasnya. Hal ini membuktikan bahwa pelarut etil asetat mampu mengekstrak kandungan kandungan metabolit sekunder dari kulit batang *Aglaia odorata* L yang memiliki toksisitas yang tinggi. Sehingga dipilih ekstrak etil asetat untuk pengerjaan isolasi senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan kromatografi kolom.

SIMPULAN

Hasil uji toksisitas 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.

KEPUSTAKAAN

Setiawati Wiwin, dkk. 2008. *Tumbuhan Bahan Pestisida Nabati dan CaraPembuatannya 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*. Elsevier

- 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.
- Kurniawan H. 2012. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* H) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura, Pontianak
- 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 Vonvenient General Bioassay for Avtive Plant Constituents. *Planta Medica* 45:31-34