ISOLASI SENYAWA KIMIA STIGMASTAN-3,5-DIENA YANG MEMPUNYAI DAYA TOKSIK DARI DAUN EKALIPTUS (*Eucalyptus deglupta* Blume.)

ISOLATION AND TOXICITY TEST OF STIGMASTAN-3,5-DIEN FROM *Eucalyptus deglupta* Blume.

Sari Setianingsih^{*1}, Rudi Kartika¹, Partomuan Simanjuntak^{2,3}

¹ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Samarinda

² Puslit Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Jalan Raya Bogor KM 46, Cibinong 16911;

³ Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jagakarsa, Jakarta 12640

*Corresponding Author : sarisetianingsih10@gmail.com

Submit : 06 Oktober 2017 Accepted : 06 November 2017

ABSTRACT

This study was started by extraction of *Eucalyptus deglupta* Blume. Using organic solvent (n-hexane, ethyl acetate, ethanol and water) followed by phytochemical screening and toxicity test using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. Isolation and identification of chemical compounds contained in the fraction were done by column chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, steroids and phenolics in the extract. Toxicity test results showed that the ethyl acetate extract was potentially active with LC₅₀ value of 617.95 ppm. The extract was continued to isolation stage and gave fraction EKEA-3.1 with LC₅₀ value of 2759.93 ppm. Identification of chemical compounds in EKEA-3.1 with KG-MS analysis showed that EKEA-3.1 was suspected to be Stigmastan-3,5-diene.

Keywords: *Eucalyptus deglupta* Blume.; *Myrtaceae*; *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*; *stigmastan-3,5-diene*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara terbesar yang terkenal dengan kekayaan alamnya khususnya pada keanekaragaman hayati. Salah satu adalah tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat yang sudah digunakan oleh masyarakat Indonesia. Tumbuhan obat tersebut digunakan sebagai obat tradisional karena proses pembuatannya secara sederhana.

Masyarakat di pulau Kalimantan, khususnya yang tinggal di pedalaman masih menggunakan tumbuhan obat secara tradisional karena sangat mudah dijangkau dan masih kurangnya pelayanan kesehatan. Mereka menggunakan obat tradisional secara turun menurun dan sudah dipercaya dapat menyembuhkan penyakit. Salah satu adalah tumbuhan obat tanaman ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume).

Ekaliptus merupakan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat selain digunakan sebagai bahan industri, ekaliptus juga dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tumbuhan ekaliptus juga memiliki keunikan yaitu dia dapat

berkembang atau tumbuh secara cepat setelah kebakaran. Secara umum, tumbuhan ekaliptus dikenal sebagai tumbuhan kayu putih [1].

Menurut Chevallier [2], ekaliptus digunakan sebagai tumbuhan obat untuk menyembuhkan penyakit infeksi, demam dan rematik selain itu juga sebagai antiseptik untuk penyakit flu dan sakit tenggorokan.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ragasa *et al.*, [3], ekaliptus umumnya memiliki kandungan senyawa kimia flavonoid, terpenoid dan tanin.

Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun ekaliptus yang mempunyai daya toksik terhadap larva udang (*Artemia salina*).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah pelarut *n*-heksana, pelarut etil asetat, pelarut etanol, pelarut air, *celite*, lempeng KLT, silika, air laut, telur udang *Artemia*, sampel daun ekaliptus, serum

sulfat 10 %, larutan HCl 10 %, reagen Dragendorff, reagen Liebermann-Bouchard, FeCl₃ 1 %, pita Mg, HCl_(p) dan DMSO.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV, kromatografi KG-MS.

Prosedur Penelitian

Simplisia daun ekaliptus sebanyak 500 gram diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol sebanyak 6 kali pengulangan sedangkan dengan pelarut air dengan cara direfluks sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian filtratnya dipisahkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan dilanjutkan dengan uji skrining fitokimia, uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), kromatografi kolom dan KLT preparatif. Identifikasi senyawa kimia dilakukan dengan pengambilan data spektra Kromatografi Gas-Spektra Massa (KG-SM) untuk mengetahui berat molekul dari senyawa kimia tersebut dan untuk mengetahui ion-ion fragmen yang terbentuk dari senyawa tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi

Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di *Herbarium Bogoriense* Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong, menyatakan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah Ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume.) dari suku *Myrtaceae*.

Hasil Ekstraksi

Nilai persen rendemen dari masing-masing ekstrak daun ekaliptus dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil persen rendemen masing-masing ekstrak daun ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume.)

No.	Ekstrak	Bobot (gram)			Rendemen (%)
		Botol Kosong	Botol + Ekstrak Sampel	Ekstrak Sampel	
1.	<i>n</i> -heksana	129,4991	124,5138	4,9853	0,99
2.	Etil asetat	152,5723	124,8220	27,7503	5,55
3.	Etanol	152,9797	124,6009	28,3788	5,67
4.	Air	147,6328	125,5517	22,0811	4,42

Berdasarkan hasil persen rendemen tersebut dapat dilihat bahwa pada ekstrak etanol memiliki nilai persen rendemen paling banyak yaitu sebesar

5,67 %. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang terbanyak pada sampel tersebut merupakan senyawa polar.

Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kasar dari tumbuhan [4].

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia pada masing-masing ekstrak daun ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia sampel daun ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume.) terhadap masing-masing ekstrak.

No.	Uji Fitokimia	<i>N</i> -heksana	Etil Asetat	Etanol	Air
1.	Alkaloid	-	+	+	-
2.	Flavonoid	+	+	+	+
3.	Triterpenoid/Steroid	+/-	+/-	+/-	+/-
4.	Fenolik	-	+	+	+
5.	Saponin	-	-	-	-

Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak *n*-heksana positif flavonoid dan triterpenoid; ekstrak etil asetat positif alkaloid, flavonoid, steroid dan fenolik; ekstrak etanol positif alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan fenolik; dan ekstrak air positif flavonoid dan fenolik. Senyawa tersebut dikatakan positif karena dilihat dari perubahan warna yang terbentuk akibat dari adanya reaksi yang terjadi pada sampel ketika ditambahkan dengan pereaksi yang digunakan pada uji tersebut.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Uji toksisitas dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* ini dapat ditentukan dari jumlah kematian *Artemia salina* Leach akibat pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam dengan konsentrasi tertentu yang dinyatakan dalam LC₅₀ merupakan angka konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50% dari jumlah hewan uji. Hasil uji dinyatakan toksik terhadap *Artemia salina* Leach apabila ekstrak tumbuhan tersebut memiliki LC₅₀ < 1000 µg/mL [5].

Berdasarkan perhitungan nilai LC₅₀ menggunakan analisis SPSS terhadap ekstrak *n*-heksana, etil asetat, etanol dan air pada daun ekaliptus, maka diperoleh nilai LC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai LC_{50} pada masing-masing ekstrak daun ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume).

No.	Ekstrak Sampel Daun Ekaliptus	Nilai LC_{50} ppm
1.	Ekstrak <i>n</i> -heksana	958,05
2.	Ekstrak etil asetat	617,95
3.	Ekstrak etanol	867,00
4.	Ekstrak air	2250,85

Berdasarkan hasil uji toksisitas tersebut di atas dapat diketahui bahwa ekstrak sampel daun ekaliptus yang mampu membunuh populasi larva udang sampai 50% adalah pada ekstrak etil asetat dengan LC_{50} paling kecil. Sehingga ekstrak tersebut yang dilanjutkan ke tahap pemisahan menggunakan kromatografi kolom.

Pemisahan dengan Kromatografi Kolom untuk Ekstrak Etil Asetat

Hasil kromatografi kolom ekstrak etil asetat (SiO_2 ; *n*-heksana-etil asetat = 10:1 ~ 1:1, dan etil asetat) menghasilkan 7 fraksi (EKEA-1 ~ EKEA-7) dengan nilai LC_{50} toksisitas (BSLT) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai LC_{50} fraksi etil asetat daun ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume) dari hasil kromatografi kolom I

No.	Fraksi	Berat (gram)
1.	I	0,12
2.	II	0,09
3.	III	0,10
4.	IV	0,11
5.	V	0,08
6.	VI	0,28
7.	VII	0,13

Berdasarkan hasil uji toksisitas pada tujuh fraksi hasil kolom I dapat dilihat bahwa fraksi EKEA-3 memiliki nilai LC_{50} yang paling kecil yaitu sebesar 950,90 ppm dibandingkan fraksi yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa pada fraksi EKEA-3 mengandung senyawa kimia berpotensi

aktif sehingga menyebabkan kematian organisme mencapai 50%. Kemudian fraksi EKEA-3 ini dilanjutkan untuk pemisahan dengan kromatografi kolom tahap 2.

Kromatografi Kolom untuk Fraksi EKEA-3

Hasil kromatografi kolom untuk fraksi EKEA-3 (SiO_2 ; *n*-heksana-etil asetat = 20:1 ~ 10:1) menghasilkan 2 fraksi yaitu EKEA-3.1 dan EKEA-3.2. Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai LC_{50} fraksi etil asetat daun ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume.) dari hasil kromatografi kolom tahap 2

No.	Fraksi	Nilai LC_{50} ppm
1.	EKEA-3.1	2759,93
2.	EKEA-3.2	1430,67

Identifikasi Fraksi EKEA-3.1 dengan Metode Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-MS)

Berdasarkan analisis KG-MS pada isolat EKEA-3.1 diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa isolat tersebut masih mengandung beberapa senyawa kimia yang dapat dilihat dari puncak kromatogram yang terbentuk. Menurut *database W8N08.L* senyawa kimia yang terdapat dalam isolat EKEA-3.1 adalah campuran dari 4 senyawa yaitu: senyawa 1-docosene, senyawa (4,5-dimethoxy-2-methyl-1-naphthyl)-6,8-dimethoxy-1,2,3-trimethyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, senyawa stigmastan-3,5-diene dan senyawa cholest-4-en-3-one,26-hydroxy yang memiliki tingkat kemiripan antara 47 sampai 90 %.

Hasil penelusuran pustaka menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam fraksi EKEA-3.1 diduga senyawa stigmastan-3,5-diene dengan tingkat kemiripan 64 % dan berat molekul 396. Karena senyawa kimia tersebut banyak terdapat dalam tanaman sebagai metabolit sekunder dan senyawa tersebut termasuk dalam golongan senyawa steroid. Hasil fragmentasi senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 1 dan struktur kimia pada Gambar 2.

Gambar 1. Hasil analisis fragmentasi senyawa stigmasteran-3,5-diena dengan analisis KG-MS

Gambar 2. Struktur kimia stigmasteran-3,5-diena

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang mempunyai daya toksik terhadap larva udang diperkirakan adalah senyawa stigmasteran-3,5-diena yang diperoleh dari isolat fraksi EKEA-3.1 dan termasuk golongan senyawa steroid.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chevallier, A. 2000. *Encyclopedia Of Herbal Medicine 2nd American Edition*. New York: Dorling Kindersley Ltd.
- [2] Chevallier, A. 2000. *Encyclopedia Of Herbal Medicine 2nd American Edition*. New York: Dorling Kindersley Ltd.
- [3] Ragasa, C. Y., Jr, V. D. E., Reyes, M. M. D. L., & Shen, C. 2015. *Terpenoids from Eucalyptus deglupta*, 7(1), 224–229. Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- [4] Meyer, B.N., Ferrigni N. R., Putnam J. E., Jacobsen L. B., Nichols D. E., dan McLaughlin J. L. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Journal Planta Medica* 45: 31–34