

**ISOLASI SENYAWA AKTIF DARI BELALUQ LESOOQ (*CLOTARIA PALLIDA AITON*)
TUMBUHAN OBAT ASLI KALIMANTAN TIMUR DAN KALIMANTAN UTARA SEBAGAI
BAHAN KOSMETIK**

ISOLATION OF ACTIVE COMPOUNDS FROM BELALUQ LESOOQ (*CLOTARIA PALLIDA AITON*) A MEDICINAL PLANT NATIVE OF EAST KALIMANTAN AND NORTH KALIMANTAN AS A COSMETIC INGREDIENT

Ritson Purba^{1,2,*}, Anissa Tsunami²

¹Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Samarinda, Kalimantan timur, Indonesia

²Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Samarinda, Kalimantan timur, Indonesia

Corresponding author: ritsonpurba@fmipa.unmul.ac.id

Diterbitkan: 31 Oktober 2024

ABSTRACT

Isolation of active compounds from medicinal plants native to East and North Kalimantan, namely Belalauq Lesooq (*Crotalaria pallida*), was carried out to obtain isolates from this plant. This research aims to determine the anti-bacterial and antioxidant activity of the plant. Isolation is carried out by fractionation or isolation methods using a chromatography column with a solvent gradient system. Starting from n hexane followed by a more polar solvent. where the crude plant extract is directly fractionated using a solvent of the lowest polarity, namely n-hexane, followed by adding a more polar solvent. The extract previously used was an extract obtained from the extraction of dry powder from the young leaves of the Belalauq Lesooq (*Crotalaria pallida*) plant.

Isolation was carried out on this plant with an isolation yield for Belalauq Lesooq (*Crotalaria pallida*) of 90.64%. The isolates that were tested for their antioxidant activity and anti-bacterial *P. acne* (anti-acne) were the best isolates (BS18). The BS18 isolate was obtained at 0.2310 grams. The antioxidant activity test was found to be 32.82 mg/L using the DPPH reduction method (IC50) with the antibacterial *P. acne* inhibitory power being 13.33 mm. Where BS18 is a pure isolate obtained from n-hexane: ethyl acetate 6:4 fractionation.

Keywords: isolation, antioxidant, *P.acne* bacteria, cosmetics.

PENDAHULUAN

Kosmetik adalah sebuah bahan atau produk yang digunakan oleh manusia untuk merawat dan membersihkan kulit manusia sehingga kulit manusia semakin sehat dan cantik. Kosmetik memiliki empat fungsi utama yaitu sebagai penjaga kondisi kesehatan, sebagai perawatan kecantikan (kosmetik sebenarnya), sebagai penambah tenaga (toniks) dan juga sebagai pelindung (Riswan et al., 2002). Menurut laporan penelitian (Roosita et al., 2008) ada lebih dari 1300 spesies tumbuhan obat yang digunakan sebagai obat-obat tradisional di Indonesia yang sering kita kenal dengan nama jamu dan herbal (Komariah, 2013) Menurut Rosita jamu juga termasuk kosmetika karena jamu memiliki fungsi juga sebagai penjaga kondisi kesehatan, sebagai perawatan kecantikan (kosmetik sebenarnya), sebagai penambah tenaga (toniks) dan juga sebagai pelindung (Riswan et al., 2002). Penggunaan obat-obatan tradisional jauh lebih dikenal, berfungsi untuk perawatan kecantikan atau kosmetik. Indonesia sebagai negara kepulauan terkenal memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, baik dari segi jumlah demikian kualitas, baik di darat demikian juga di air. Menurut perkiraan ada 17.000 spesies tumbuhan yang belum diketahui yang termasuk lumbung hayati yang luas sehingga perlu diketahui untuk dapat dimanfaatkan kesejahteraan manusia (Amasa et al., 2012).

Pada tahun 2009 pemerintah Indonesia telah menggagas untuk pengobatan di Indonesia menggunakan bahan baku Indonesia termasuk jamu dapat menjadi tuan rumah di negeri sendiri oleh Presiden Susilo Bambang Yudhoyono. Tetapi pada

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



kenyataannya kosmetik dan bahan jamu di Indonesia masih di dominasi bahan alam atau tumbuhan dari luar negeri, hal ini juga diakibatkan:

1. Uji klinis dan praktek penggunaan obat tradisional di masyarakat masih rendah.
2. Kurangnya promosi penggunaan obat-obat dari tumbuhan alami dan kurang dipercayanya atau kurang meyakinkannya obat-obat alami baik herbal, jamu atau bahan obat olahan lainnya.
3. Industri Kimia dan Farmasi yang belum mengutamakan produk alami dalam negeri
4. Kurangnya informasi data dan budidaya tumbuhan obat di Indonesia.

Dari penelitian (Arung T et al., 2017) telah diteliti melalui riset terpadu dan riset ethnomedicine terkhusus bagi etnis Dayak, Paser dan Kutai dibagian Kalimantan Timur dan etnis Dayak, Tidung dan Bulungan di Kalimantan Utara. Didapatkan bahwa empat tumbuhan asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara yaitu Selekop (*Lepisanthes amoena*) (Hassk) Leenh., *Blumea* atau daun kokang, Kelepapaaq (*Vitex pinnata* L.) atau daun laban, Belaluq lesooq (*Crotalaria pallida* Aiton) atau daun orok-orok dan Singkil (*Premna corymbosa*) (Burm.f.) Rottler.&Wild. atau daun buas-buas memiliki kandungan bioaktif yang bersifat anti jerawat dan antioksidan (Kusuma dkk, 2010).

Di Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara terdapat 38 jenis tumbuhan asli yang biasa digunakan oleh masyarakat Dayak sebagai kosmetik dan untuk merawat kulit. Dari 38 tumbuhan itu telah diteliti empat jenis tumbuhan yang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri (*propionibacterium acnes*). Ekstrak etanol tumbuhan ini juga memiliki daya hambat yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol positifnya cholorampenicol. Secara berurutan *L. amoena*, *V. pinatta*, *C. pallida* dan *P. corymbosa* 9,33; 16,44; 13,78 dan 11,00 mm sedangkan cholorampenicol 29,44 mm ($\mu\text{g/mL}$) (Nora, 2011)

METODOLOGI PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Sampel diambil dari beberapa tempat seperti Melak di Kutai Barat di samboja kota Timur dan Kebun Raya Unmul Samarinda di Kalimantan Timur dan Berau Tanjung Palas Kalimantan Utara.

Prosedur Penelitian

Alat

Alat yang digunakan ialah pipet tetes, pisau (sabit), blender, gelas beaker, shaker, gunting, gelas ukur, kertas saring, Erlenmeyer, aluminium foil, plastik wrap, labu evaporasi, vas elin, tabung reaksi, seperangkat alat evaporator, spatula, botol vial, timbangan analitik, oven, cup, kuvet, plat KLT, mikropipet, statif, lem, corong pisah, kulkas, penjepit, pinset, chamber, UV lem, kamera, kromatografi kolom, Spektrofotometer IR, GC/MS.

Bahan

Bahan Tumbuhan

Bahan-bahan tumbuhan berupa Belaluq Lesooq yang telah dikoleksi dan dikumpulkan sebelumnya dari beberapa lokasi di Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara oleh tim peneliti di Universitas Mulawarman.

Bahan-bahan (spesimen) atau simplisia tumbuhan ini telah diidentifikasi di laboratorium Dendrologi Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman serta dikoleksi di Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman di Laboratorium Kimia Hasil Hutan. Bakteri yang dipakai adalah bakteri (*Propionibacterium Acnes*) yang diperoleh dari Korea Selatan (*Korean Culture Center of Microorganism*, KCM). Uji antioksidan menggunakan DPPH

Reagen (pelarut)

Adapun pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, aseton, dimetil sulfoksida (DMSO), nutrient agar, nutrient broth, 2,3,5-trifenil tetra zolium klorida (TTC), kloramfenikol, larutan Dragendroff, HCL, H₂SO₄ Pb asetat, N-heksan, DPPH, metanol, NaOH, asam asetat, etil asetat, metanol, larutan Lieberman Butchard, sillika gel dan bahan-bahan lainnya adalah dalam kemurnian tinggi (pa).

Alur Penelitian

Ekstraksi Maserasi

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 1000 gram, dimaserasi menggunakan pelarut etanol selama 3 x 24 jam pada temperatur ruangan dengan menggunakan shaker, selanjutnya disaring. Kemudian hasil ekstraksi dipekatkan/diuapkan dengan menggunakan alat rotary vacuum evaporator pada suhu 30-40°C dan diuapkan di dalam oven vakum hingga diperoleh ekstrak kasar.

Isolasi Senyawa atau fraksinasi

Isolasi merupakan metode untuk memisahkan suatu senyawa dari tumbuhan. Metode pemisahan yang dilakukan meliputi kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom.

Kromatografi lapis tipis

Melarutkan ekstrak etanol daun belalauq lasooq (*Crotalaria pallida*) dengan aseton secukupnya hingga larut secara sempurna. Menyiapkan plat KLT dan diberi jarak 0,5 cm pada plat bagian atas dan bagian bawah 1 cm dan 0,5 cm sebagai jarak spot satu dengan spot lainnya. Kemudian dilakukan penotolan ekstrak yang telah dilarutkan dengan aseton dan dimasukkan ke dalam chamber yang telah berisi eluen tertentu (normal heksan etil asetat), dibiarkan hingga titik spot naik pada batas yang telah ditentukan. Dilihat KLT dengan menggunakan sinar UV dan batas pemisahan ditandai dengan pensil.

Kromatografi kolom ekstrak etanol

Sampel seberat 2 g dicampur dengan silika gel untuk sampel 2 g dan silika gel untuk kolom 20 g, kemudian dilarutkan dengan kloroform. Silika gel ditambahkan sedikit demi sedikit hingga larutan mengering dan berbentuk butiran pasir halus. Tabung kolom disiapkan dengan kapas yang dibasahi kloroform untuk menghasilkan laju tetesan ideal, kemudian kloroform ditambahkan dan bilasan dilakukan 3 kali. Silika gel dicampur kloroform dimasukkan ke dalam tabung kolom hingga mencapai 3/4 tinggi tabung sambil dipadatkan. Ekstrak yang telah dilarutkan kloroform dimasukkan perlahan ke dalam tabung kolom, dibilas sekali dengan kloroform murni, lalu eluen dengan perbandingan n-heksan etil asetat (10:0 hingga 0:10) ditambahkan sampai pemisahan pita warna senyawa sempurna. Hasil kolom ditampung dalam tabung reaksi 20 ml erlenmeyer. Fraksi-fraksi yang terpisah dengan eluen etil asetat: metanol menggunakan sistem gradien pelarut, kemudian dikelompokkan berdasarkan profil kromatografi lapis tipis (KLT).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari Kromatografi Kolom

Eluat ditampung dalam tabung dan ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 0,5 cm di atas, 1 cm di bawah, dan 0,5 cm antar spot. Plat KLT dimasukkan ke dalam chamber berisi larutan eluen yang sesuai, dibiarkan hingga elusi mencapai batas yang ditentukan. Plat KLT kemudian diamati dengan sinar UV untuk melihat spot yang naik pada tiap eluat, dan spot yang sama pada beberapa eluat digabungkan.

Uji Antioksidan

Pengujian dilakukan menggunakan UV-Vis Spektrofotometer pada temperatur ruangan 25°C dengan panjang gelombang 514 nm. Disiapkan tube dan cuvet, kemudian ekstrak tumbuhan sebanyak 4,5 mg dilarutkan dalam DMSO sebanyak 200 ml. Larutan stok sampel dimasukkan ke dalam tube sebanyak 33 µl. 467 µl etanol dan ditambahkan 500 µl DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) larutan pencampuran dicukupkan apabila volume sampel telah sampai 1000 µl. Selanjutnya sampel diinkubasi selama 20 menit dalam ruangan yang minim cahaya dan pada suhu ruangan.

Uji Anti Jerawat

Penyiapan Media Tumbuhan

Media pertumbuhan bakteri menggunakan Nutrient Agar (NA) yang terdiri dari 4 g Nutrient Broth (pH 7,2) dan 7,5 g bubuk agar dicampur dengan 500 ml aquades. Media ini dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer, disumbat dengan kapas, dan ditutup aluminium foil. Untuk sterilisasi, media di-autoclave selama 21 menit pada tekanan 0,1 MPa dan suhu 121°C. Peralatan dan bahan untuk pengujian juga disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 21 menit.

Penyiapan Kultur P.acne

Sebanyak 5 ml aquades steril dimasukkan kedalam agar miring yang berisi kultur P.acnes, lalu digoreskan ke permukaan agar miring dengan menggunakan spatula steril. Selanjutnya suspensi spora tersebut dimasukkan ke dalam botol sampel kemudian dihitung nilai % transmitansi dengan menggunakan WMS Spektrofotometer 530 nm.

Pengujian anti P.acne (metode sumuran)

Uji anti P.acne secara in vitro dengan metode difusi dimulai dengan mensterilkan petri dish yang berisi NA dengan menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 21 menit. Setelah itu pada keadaan aseptik (didalam laminar flow) biarkan media mengeras, lalu tambahkan 100 ml suspensi P.acnes dan diratakan dengan menggunakan kaca perata karena menggunakan metode sumuran, beri lubang pada media yang masing-masing berisi 20 ml sampel. Dengan susunan aseto sebagai kontrol negatif, choloramphenicol sebagai kontrol positif, untuk kultur bakteri yaitu P.acne dan ekstrak dalam beberapa konsentrasi

Pengukuran penghambatan ekstrak terhadap bakteri P.acne

Setelah inkubasi selama 24 jam, hambatan ekstrak terhadap P. acnes diukur menggunakan penggaris dengan 3 kali ulangan untuk setiap sumur. Daya hambat minimum (MICs dan MBCs) ditentukan menggunakan metode Broth Microdilution dalam 96 well plates sesuai dengan Lunga et al. (2014) dengan sedikit modifikasi. Setiap well diisi 100 µl Nutrient Broth untuk P. acnes. Sampel (fraksi) dan kloramfenikol sebagai kontrol positif disiapkan dengan konsentrasi akhir 1250, 625, 312,5, dan 156,25 ppm. Stok sampel dan fraksi sebanyak 55 µl ditambahkan ke 96 well plates bersama 100 µl Nutrient Broth dan 50 µl suspensi bakteri. Setelah inkubasi 24 jam pada 37°C, 50 µl larutan 2,35 triphenyl tetrazolium chloride (TTC) ditambahkan satu jam sebelum inkubasi berakhir. Warna merah menunjukkan bakteri hidup, sedangkan area terang menunjukkan bakteri terhambat. Daerah terang diukur dengan tes MBCs dengan menambahkan 50 µl dari suspensi daerah terang ke 96 well plates yang mengandung 100 µl Nutrient Broth untuk mendapatkan duplikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan Belauq Lesooq (*Crotalaria pallida*) adalah tumbuhan perdu yang banyak tumbuh liar di tepi hutan atau semak-semak dan belum dimanfaatkan oleh masyarakat. Sampel diambil dari Desa Pejalín, Kecamatan Tanjung Palas, Kalimantan Utara, dan Desa Gempar, Kabupaten Kutai Barat. Belauq Lesooq tumbuh di areal dengan topografi rata hingga kemiringan rendah pada tanah yang subur, berpasir, dan sedikit liat.

Sampel tumbuhan dibersihkan, dikeringkan, dan dihaluskan menjadi serbuk. Serbuk kemudian dimaserasi dengan etanol selama tiga hari dan disaring. Ekstrak dipekatkan dengan rotary evaporator, menghasilkan ekstrak kering daun Belauq Lesooq seberat 6,25 gram. Ekstrak kasar disimpan dalam desikator dan diuji aktivitas antioksidan dan antibakterinya terhadap P. acne.

Uji fitokimia menunjukkan Belauq Lesooq mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid, tetapi tidak mengandung tanin dan saponin. Aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan MIC sebesar 312,50 µg/mL dan MBC 312,5 µg/mL.

Crotalaria pallida diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Sebelum isolasi, dilakukan KLT terhadap sampel *Crotalaria pallida* untuk menentukan pelarut terbaik. KLT menunjukkan pemisahan baik dengan n-heksan asetat pada perbandingan 8:2 dan 7:3. Pelarut ini digunakan untuk mengisolasi daun *Crotalaria pallida* menggunakan kromatografi kolom. Kolom kromatografi dilakukan dengan mencampur 10 gram ekstrak daun *Crotalaria pallida* dengan 37,5 gram silika, dan memasukkannya ke kolom yang telah dijenuhkan dengan 132,28 gram silika gel. Isolasi dilakukan dengan elusi n-heksan 100%, kemudian polaritas pelarut dinaikkan bertahap menggunakan campuran n-heksan asetat dan akhirnya etil asetat hingga semua fraksi terelusi. Fraksi diuji dengan KLT dan yang memiliki harga Rf sama digabungkan. Rendemen isolasi Belauq Lesooq adalah 78,77%.

Isolat dengan rendemen terbaik adalah BS7, diikuti BS4 dan BS5. Dua puluh delapan fraksi Belauq Lesooq diuji antioksidannya menggunakan mekanisme peredaman radikal bebas DPPH dengan kontrol positif vitamin C. Hasilnya, isolat BS18 memiliki IC50 sebesar 133,56 mg/L, sementara

vitamin C memiliki IC50 2,93 mg/L, menunjukkan aktivitas antioksidan sedang untuk BS18 dan sangat kuat untuk vitamin C.

Penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan isolat BS18 berkurang dibandingkan ekstrak kasar, kemungkinan karena isolat hanya mengandung satu senyawa, sedangkan ekstrak kasar mengandung beberapa komponen kimia yang bersinergi. Isolat BS18 dipilih untuk pemurnian dan penentuan struktur senyawanya karena memiliki aktivitas antioksidan dan anti jerawat yang baik dengan IC50 32,82 mg/L dan aktivitas antibakteri terhadap P.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Isolasi senyawa aktif dari ekstrak tumbuhan obat asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara dapat dilakukan dengan baik menggunakan kromatografi kolom dan 30 isolat Belalauq Lesooq (*Crotalaria pallida*) dan rendemen Belalauq Lesooq, 90,64%.
2. Isolat-isolat dari tumbuhan obat asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara memiliki aktivitas antioksidan yang kurang baik karena tidak semua isolate memiliki sifat antioksidan dan sifat antioksidan yang terbaik adalah isolat BS18 yang berada pada kategori sangat kuat.
3. Isolat-isolat tumbuhan Belalauq Lesooq dari sifat senyawa yang dikandung oleh isolat-isolat maka isolat yang terbaik digunakan adalah BS18, karena memiliki anti oksidan (IC50 32,82 mg/L) dan anti jerawat (P.acne = 156,25 µg/well) sehingga memiliki daya hambat yang baik

DAFTAR PUSTAKA

- Amasa W, Santiago D, Mekonen S, Ambelu A. (2012). Are Cosmetics Used In Developing Countries Safe? Use and Dermal Irritation of Body Care Products in Jimma Town, Southwestern Ethiopia, *J Toxicol*/ 2012: 1-8.
- Arung, E. T; Kusuma, I. W; Christy, E. O; Shimizu, K; & Kondo R. (2009). Evaluation of medicinal plants from Central Kalimantan for antimelanogenesis. *Journal of natural Medicines*, 63(4), 473-480.
- Komariah, Nurul. (2013). Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan Dari Ekstrak Etil Asetat Herba kemangi (*Ocimum Americanum* L.). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Kusuma IW, Arung ET, Rosamah E, Purwatiningsih S, Kuspradini H, Syafrizal, Astuti J, Kim YU, Shimizu K. (2010). Antidermatophyte and antimelanogenesis compound from *Eleutherine americana* grown in Indonesia. *J Nat Med* 64: 223-226.
- Nora, 1. (2011). Free Radical Scavenging Activity and Phenolic Content of *Ficus deltoidea* Accessions MFD4 and MFD6 Leaves. *Journal Tropical Agriculture and Food Science* 39(1):1-8.
- Riswan, Soedarsono; Roemantyo, Harini S. (2002). *Jamu as traditional medicine in java, indonesia*. South Pacific Study Vol. 23, No. 1. Diunduh: 16 Januari 2012.
- Roosita K, Kusharto, Sekiyama CM, Fachrurozi M, Othsuka Y. (2008). Medicinal Plants Used by the Villagers of a Sundanese Community in West Java, Indonesia. *J Ethnopharmacol* 115:72-81.