

TOKSISITAS EKSTRAK KULIT BATANG TUMBUHAN NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* LINN) TERHADAP *Artemia salina* Leach

Tarso Rudiana¹, Valentina Adimurti K², Ade Kanianingsih², Iis Inayati³

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Farmasi – Universitas Mathla’ul Anwar Banten.

²Jurusan Kimia, Fakultas MIPA – Universitas Jenderal Achmad Yani – Cimahi

³Program Studi Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran – Universitas Jenderal Achmad Yani – Cimahi
e-mail¹ : tarso.rudiana@gmail.com

ABSTRAK

Calophyllum adalah suatu genus tumbuhan yang besar, yang tersebar di seluruh daerah tropis Asia, Afrika, Australia dan Amerika yang mengandung berbagai senyawa kimia dengan beberapa bioaktivitas. Salah satu spesies yang tumbuh di Indonesia adalah *Calophyllum inophyllum* LINN, yang dikenal dengan Nyamplung. Penelitian yang telah dilakukan terhadap tumbuhan ini telah dilaporkan 36 senyawa yang didominasi berupa kumarin, santon dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari kulit batang tumbuhan *C. inophyllum*. Penelitian ini meliputi beberapa tahapan. Tahap pertama meliputi pengumpulan sampel dari Kebun Raya Bogor dan identifikasi di LIPI Bogorienses. Sampel yang telah dihaluskan dan dikeringkan (3 kg) kemudian maserasi dengan metanol dan dipekatkan (623,2 g). Terhadap ekstrak metanol kemudian diuji fitokimia. Ekstrak metanol yang dihasilkan kemudian dipartisi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda (*n*-heksana, etil asetat, metilen klorida dan metanol). Terhadap ekstrak *n*-heksana dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan metoda kromatografi vakum cair dan didapatkan isolat berbentuk kristal jarum. Kristal tersebut kemudian diuji menggunakan spektrofotometri IR. Hasil dari pengujian spektroskopi IR mengindikasikan adanya gugus C-H alifatik, C=C atau C≡C dan senyawa turunan karbonil C=O.

Kata Kunci: *Calophyllum inophyllum*, Brine Shirmp Lethality Test, Toksisitas

ABSTRACT

Calophyllum is a large plant species, which are spread throughout the tropical regions of Asia, Africa, Australia and the United States that contain various chemical compounds with some bioactivity. One species that grows in Indonesia is *Calophyllum inophyllum* LINN, known as Nyamplung. Research has been done on this plant has reported 36 predominantly in the form of coumarin compounds, xanthenes and steroids compounds. This study aims to determine the content of secondary metabolites from plant stem bark of *C. inophyllum*. This study includes several stages. The first stage involves collecting a sample of the Bogor Botanical Gardens and identification at LIPI Bogorienses. Samples were crushed and dried (3 kg) and then macerated with methanol and methanol extract (623.2 g). Against the methanol extract is then tested phytochemical. The methanol extract is then partitioned using solvents with different polarity level (*n*-hexane, ethyl acetate and methanol). *n*-hexane to extract further separation using chromatography and isolates obtained needle-shaped crystals. The crystals are then tested using IR spectrophotometry. Results from the testing of IR spectroscopy indicates aliphatic CH, C = C or C≡C and derivatives carbonyl C = O.

Keyword: *Calophyllum inophyllum*, Brine Shirmp Lethality Test, toxicity

PENDAHULUAN

Calophyllum adalah suatu genus tumbuhan yang besar, yang tersebar di seluruh daerah tropis Asia, Afrika, Australia dan Amerika yang mengandung berbagai senyawa kimia dengan beberapa bioaktivitas (Heyne, 1987). Salah satu spesies yang tumbuh di Indonesia adalah *Calophyllum inophyllum* LINN, yang dikenal dengan Nyamplung (Heyne, 1987). Dari penelitian

yang telah dilakukan terhadap tumbuhan ini, lebih dari 159 senyawa telah dilaporkan dari *Calophyllum* dan dari spesies *C. inophyllum* sendiri telah dilaporkan 36 senyawa yang didominasi berupa kumarin, santon dan steroid (Lisnawati, dkk., 2001) (Purnama, 2003). Akhir-akhir ini, jenis *Calophyllum* menjadi populer karena ditemukan senyawa aktif yang mempunyai aktivitas sebagai anti HIV (Kashman *et al.*, 1992). Kegunaan lain

dari tumbuhan ini adalah dapat mengobati wasir, fertigo, migren dan rematik (Lisnawati, dkk., 2001). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari kulit batang tumbuhan.

METODE

Bahan: kulit batang *C. inophyllum*, erbagai pelarut organik baik teknik maupun *p.a.* (*n*-heksana, etilasetat, metilenklorida, kloroform, aseton, metanol). Plat KLT, Silika Gel Merck 60 GF₂₅₄, Silika Gel Merck Kiesegel 60 ukuran 35-70 mesh, serta berbagai bahan untuk uji fitokimia (asam sulfat, etanol, kalium iodida, merkuri klorida, asam asetat anhidrida, serbuk magnesium, besi (III) klorida, amoniak, dan amoniak kloroform).

Alat: Seperangkat alat gelas laboratorium, evaporator (Heidolp) dan Spektrofotometer FTIR (Prestige 21 Shimadzu Japan).

Metode: Sampel kulit batang tumbuhan *C. inophyllum* dikumpulkan dari Kebun Raya Bogor. Identitas biologi tumbuhan *C. inophyllum* ditentukan oleh staf Herbarium Bogorienses, Kebun Raya Bogor. Kulit dari batang kayu *C. inophyllum* kemudian dikuliti, dipotong, dikeringkan kemudian digiling sampai halus. Serbuk kering kulit batang tumbuhan *C. inophyllum* dimaserasi dengan menggunakan metanol (3 x 24 jam). Ekstrak cair metanol kemudian digabungkan dan dipekatkan dengan menggunakan evaporator. Terhadap ekstrak metanol dilakukan uji fitokimia dan sebagian dari ekstrak metanol tersebut dipartisi dengan beberapa pelarut yang berbeda kepolarannya (*n*-heksana dan EtOAc) dengan menggunakan metode ekstraksi. Terhadap ketiga ekstrak *n*-heksana, EtOAc dan metanol diuji toksisitasnya dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Meyer, 1982). Ekstrak *n*-heksana (10 g) dikromatografi vakum cair (KVC) dengan menggunakan diameter kolom 7 cm dan Silika yang bertindak sebagai fasa diam menggunakan Silika Gel Merck 60 GF₂₅₄ sebanyak 100 g dan untuk silika impreg (Silika Gel Merck Kiesegel 60 dengan ukuran 35-70 mesh) sebanyak 20 g. Eluen yang digunakan pada KVC yaitu *n*-heksana : MTC (10:0 sampai dengan 0:10) dan metanol sebagai pencucian.

Dari hasil KVC didapatkan fraksi-fraksi. Terhadap masing-masing fraksi tersebut kemudian dikromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui profil senyawa yang terkandung dari masing-masing fraksi dengan menggunakan eluen *n*-heksana : MTC (3:7), sehingga didapat 6 fraksi gabungan. Kenema fraksi tersebut diuji toksisitasnya dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Meyer, 1982). Pada fraksi 2 didapatkan kristal jarum (38 mg) dan disebut isolat A. Terhadap isolat A dilakukan uji

spektroskopi IR dan diuji toksisitasnya dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Meyer, 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit batang *C. inophyllum* dikeringkan dengan cara dijemur di angin-angin pada suhu ruang hingga kering. Proses pengeringan ini bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung dalam sampel sehingga sampel dapat bertahan lama, karena jika dalam sampel masih terkandung air, maka kemungkinan jamur akan mudah tumbuh pada sampel dan akan terjadi pembusukan. Setelah kering sampel dihaluskan dengan cara digiling sampai menjadi serbuk. Proses ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga akan memudahkan senyawa metabolit sekunder terdistribusi pada pelarut.

Uji fitokimia ekstrak metanol kulit batang *C. inophyllum*

Berikut tersaji dalam tabel di bawah ini

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

Golongan	Hasil
Tanin	++
Saponin	++
Steroid	-
Terpenoid	-
Kumarin	+
Alkaloid	-
Flavonoid	++

Keterangan :

++ = sangat jelas

+ = jelas

- = tidak terdeteksi

Ekstrak pekat metanol yang didapatkan kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, kemudian dipekatkan sehingga didapat ekstraksi *n*-heksana (35,73 g), ekstrak etil asetat (9,74 g) dan ekstrak metanol (49,56 g).

Terhadap masing-masing ekstrak uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang bertujuan untuk mengetahui efek toksik terhadap larva udang *A. salina*. Tabel 4.2 berikut ini adalah hasil uji toksisitas terhadap masing-masing ekstrak.

Ekstrak pekat metanol yang didapatkan kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, kemudian dipekatkan sehingga didapat ekstraksi *n*-

heksana (35,73 g), ekstrak etil asetat (9,74 g) dan ekstrak metanol (49,56 g).

Terhadap masing-masing ekstrak uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang bertujuan untuk mengetahui efek toksik terhadap larva udang *A. salina*. Tabel 2 adalah hasil uji toksisitas terhadap masing-masing ekstrak.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas

Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
<i>n</i> -heksana	2,107
EtOAc	52,21
MeOH	6,44

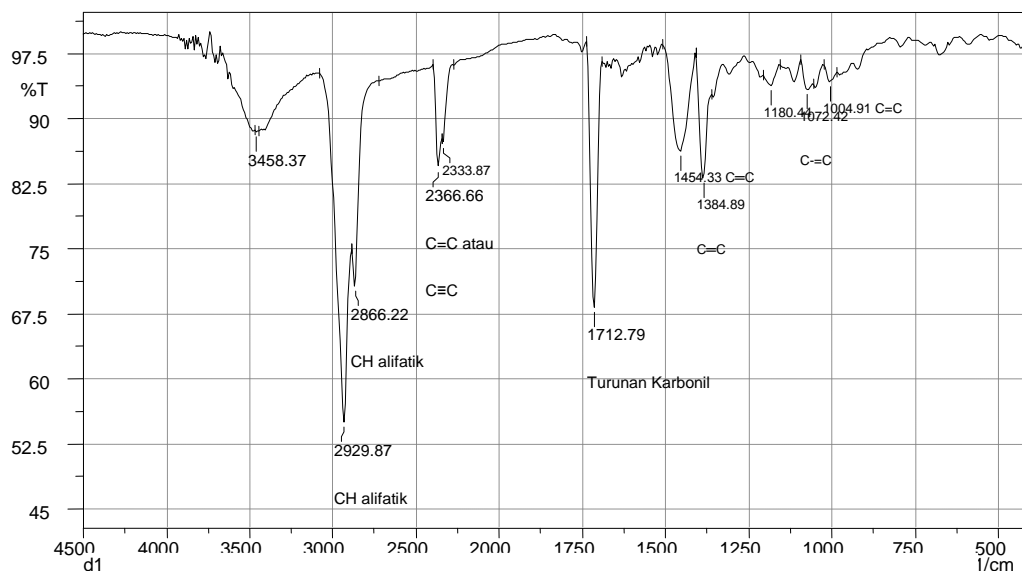
Berdasarkan hasil uji toksisitas, ekstrak *n*-heksana menunjukkan nilai LC₅₀ yang terkecil sehingga ekstrak *n*-heksana memiliki efek toksik terhadap larva udang *A. salina*. Ekstrak *n*-heksana kemudian dipisahkan lebih lanjut dengan menggunakan metode Kromatografi Vakum Cair (KVC). Proses KVC ini menghasilkan 6 fraksi utama, yaitu AB₁ (0,106 g), C₁ (1,783 g), D₁ (0,166 g) E₁ (0,941 g), F-I₁ (0,33 g) dan J-M₁ (8,788 g).

Tabel 3 Hasil Uji Toksisitas KVC

Fraksi	LC ₅₀
AB ₁	30,56
C ₁	30,14
D ₁	3,24
E ₁	46.778,98
F-I ₁	6,67
J-M ₁	7,38

Keenam fraksi tersebut kemudian diuji toksisitasnya dengan menggunakan metode BSLT. Berikut ini adalah hasil uji toksisitas terhadap fraksi hasil KVC I. Berdasarkan hasil uji toksisitas, fraksi D₁ memperlihatkan efek toksik terhadap larva udang *A. salina* yang ditandai dengan nilai LC₅₀ yang terendah. Fraksi D₁ menghasikan kristal berbentuk bulat, berwarna putih sebanyak 0,022 g.

Gambar 1 adalah hasil pengukuran dengan spektrum infra merah, didapatkan spektrum IR. Bilangan gelombang 2929.87 cm⁻¹ dan 2866.22 cm⁻¹ mengindikasikan gugus -C-H alifatik. Bilangan gelombang 2366.66 cm⁻¹ dan 2333.87 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus -C≡C atau -C=C, pada bilangan gelombang 1712.79 cm⁻¹ mengindikasikan senyawa turunan karbonil C=O. Pada bilangan gelombang 1454.33 cm⁻¹ dan 1384,89 cm⁻¹ menunjukkan gugus C=C atau C≡C.



Gambar 1. Spektrum FTIR Fraksi D₁

PENUTUP

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap kulit batang tumbuhan *C. inophyllum* dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Hasil uji fitokimia kulit batang tumbuhan *C. inophyllum* mengandung metabolit sekunder golongan tanin, saponin, kumarin dan flavonoid.
2. Hasil uji toksistas dengan menggunakan metode *BSLT* menunjukkan ekstrak yang paling toksik adalah ekstrak n-heksana dengan nilai LC_{50} sebesar 2,107 ppm dan fraksi D_1 dari ekstrak n-heksana dengan nilai LC_{50} sebesar 3,24 ppm,
3. Berdasarkan hasil analisis spektrofotometri IR, terhadap kristal memiliki gugus C-H alifatik, C=C atau C≡C dan senyawa turunan karbonil C=O.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Kebun Raya Bogor dan LIPI Kebun Raya Bogor dan Bogoriense atas sampel dan identifikasi taksonomi sampel, serta Labortorium Kimia ITB yang telah membantu dalam analisis FTIR.

DAFTAR PUSTAKA

- Heyne, K., Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid III, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, 1987, 1375-1378.
- Kashman, Y., Gustafson, K.R., Fuller, R.W., Cardellina, J.H., II, McMahon, J.B., Currens, M.J., Buckheit, R.W., Hughes, S.H., Cragg, G.M., and Boyd, M.R., "The Calanolides, a Novel HIV-Inhibition Class of Coumarin Derivatives from The Tropical Rainforest Tree, *Calophyllum lanigerum*", J. Med. Chem., 1992, 35, 2735-2743.
- Lisnawati, Y., Manjang, Y. dan Ibrahim, S., "Isolasi Kumarin dari Kulit Batang Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*)" Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 2001, 2(6), 92-96.
- Meyer, B.N., "Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents" Plant Research Medical, 1982, (45), 31-34.
- Purnawan, A., "Identifikasi Senyawa Kimia Pada Tumbuhan Obat (*Calophyllum spectabile WILD*)", Jurnal Alchemy, 2003, 2(2), 1-5.