JURNAL FARMASI SAINS DAN KOMUNITAS, November 2012, hlm. 66-70 Vol. 9 No. 2
ISSN : 1693-5683

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ALKALOID BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis DAN IR SERTA UJI TOKSISITAS AKUT TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach

CHRISTINA ASTUTININGSIH, FRIDA NUZULIA, AGUS SUPRIJONO

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Pharmasi" Semarang

***Abstract**: Fruit Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl) contains alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, terpenoid dan lignin. The aim of this study was to elucidate compound from Mahkota Dewa based on the analyses on spectrophotometry UV-Vis, IR and to evaluate the compound in the Brine Shrimp Lethality Test. On IR spectra revealed the presence of alkaloid amin primer. The isolated alkaloid compound was found to be toxic to brine shrimp with LC_{50} 33.8932 μg/ml.*

***Keywords:** alkaloid, Mahkota Dewa, toxicity, Artemia salina Leach*

1. Pendahuluan

Beberapa jenis tanaman mengandung bahan-bahan yang berkhasiat obat, sekaligus racun. Namun hingga kini pemanfaatan tanaman yang mengandung racun dan obat tidak ada batasan yang jelas, sehingga pemanfaatan tanaman obat perlu ekstra hati-hati agar tidak berakibat fatal bagi yang menggunakan (Kardinan dan Taryono, 2004).

Senyawa aktif dalam tanaman yang bersifat racun bagi manusia tetapi dapat digunakan sebagai obat adalah alkaloid, sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan, dengan alkaloid dapat digunakan sebagai pengatur tumbuh, atau penghalau atau penarik serangga (Harborne, 1987). Alkaloid yang tersebar luas di dunia tumbuhan terdapat dalam tumbuhan sebagai garam organik. Alkaloid diperoleh dengan mengekstraksi bahan tumbuhan memakai air yang diasamkan, alkaloid dilarutkan sebagai garam atau bahan tumbuhan dapat dibasakan dengan natrium karbonat atau amonia, dan basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik sepeti kloroform, eter, dan lain sebagainya (Robinson, 1995).

Salah satu tanaman yang mengandung alkaloid adalah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). Alkaloid dapat diisolasi dan diidentifikasi dengan cara fraksinasi untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain. Kromatografi kolom dan KLT merupakan metode pilihan untuk memisahkan campuran alkaloid, sedangkan untuk pemurnian dapat digunakan metode KLTP (Harborne, 1987).

Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) merupakan salah satu obat tradisional yang dipercaya dapat menyembuhkan beberapa penyakit berat seperti liver, kanker, jantung, asam urat, rematik, ginjal, tekanan darah tinggi dan penyakit ringan seperti eksim, jerawat, luka gigitan serangga, dan kencing nanah, tetapi belum diketahui dosis efektif yang aman dan bermanfaat, sehingga pemakaiannya harus hati-hati (Harmanto, 2001).

Kandungan senyawa aktif buah Mahkota Dewa berupa alkaloid yang berfungsi sebagai detoksifikasi yang dapat menetralisir racun di dalam tubuh. Selain alkaloid terdapat juga kandungan tannin, saponin, flavonoid, terpenoid dan lignan (golongan polifenol yang merupakan senyawa toksik terdapat dalam buah Mahkota Dewa yang memiliki aktivitas antikanker) (http://id.wikipedia, 2007).

Uji ketoksikan akut bertujuan untuk menentukan efek toksis suatu senyawa yang akan terjadi dalam waktu yang singkat

setelah pemejanan atau pemberiannya dengan takaran tertentu, biasanya dalam waktu 24 jam (Donatus, 2001).

Metode yang digunakan sebagai hasil uji pendahuluan untuk menentukan potensi ketoksikan senyawa atau ekstrak tumbuhan adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Potensi ketoksikan senyawa dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian hewan uji.

Penggunaan BSLT juga dilakukan untuk mengetahui batas keamanan penggunaan suatu zat tumbuhan untuk terapi pengobatan. Hasil uji dinyatakan toksik terhadap *Artemia salina* Leach, bila isolat alkaloid dari buah Mahkota Dewa mempunyai LC_{50} kurang dari 1000 µg/ml (Meyer dkk, 1982).

Dari latar belakang masalah di atas peneliti tertarik untuk melakukan isolasi dan identifikasi salah satu kandungan kimia pada buah Mahkota Dewa yaitu alkaloid, dengan menggunakan metode kromatografi kolom, dan kromatografi lapis tipis, untuk mengetahui gugus-gugus parsial alkaloid buah mahkota dewa menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis dan IR serta dilakukan uji ketoksikannya dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2. Bahan dan Metode

Bahan utama: buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl).* yang diperoleh dari daerah Lamper Tengah, Semarang dan dipetik saat buah sudah bewarna merah tua.

Bahan untuk penyarian: asam klorida (HCl) 2 N, ammonia, eter, kloroform, natrium sulfat anhidrat, aquadest. Bahan untuk reaksi pengendapan alkaloid: asam fosfomolibdat LP, Bouchardat LP, Meyer LP, Hager LP. Bahan untuk reaksi warna alkaloid: asam nitrat pekat dan asam sulfat pekat. Bahan untuk penyarian: petroleum eter, etanol 95%. Bahan untuk fraksinasi: etil asetat, asam tartrat, ammonia Bahan untuk kromatografi: silica gel 60 GF_{254}, silica gel GF_{254}, etil asetat p.a, metanol p.a, Dragendrof LP.

Bahan untuk uji BSLT: telur *Artemia salina* Leach., metanol p.a, air laut, fermipan.

Alat penelitian yang digunakan adalah: Alat soxhlet, kolom kromatografi, corong pisah, gelas piala, *rotary evaporator*, labu takar, dan bejana untuk KLT, spektrofotometer Shimadzu Uv-Vis 1240, spektrofotometer FT-IR Shimadzu *origin laboratory.*

2.1. Tata Cara Penelitian

2.1.1. Isolasi dan Identifikasi Alkaloid Buah Mahkota Dewa

Serbuk kering buah Mahkota Dewa dilakukan penyarian dengan metode soxhlet menggunakan petroleum eter. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Ekstrak etanol yang diperoleh dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol dilakukan uji pendahuluan dan penegasan terhadap kandungan alkaloid, dilakukan fraksinasi, hasil fraksinasi dilakukan KLT dan KLTP. Fraksi yang mengandung alkaloid terbanyak dilakukan kromatografi kolom. Isolat yang didapat diidentifikasi untuk mengetahui kandungan isolat alkaloid kemudian dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan IR untuk mengetahui gugus-gugus parsialnya serta dilakukan uji toksisitas akut terhadap *Artemia salina* Leach.

2.1.2. Uji BSLT

Sampel uji isolat alkaloid dibuat dengan melarutkan 52,1 mg isolat alkaloid dalam 25 ml pelarut metanol (larutan stok A). Larutan ini dibuat suatu seri larutan uji dengan konsentrasi 10 µg/ml; 18 µg/ml; 32,4 µg/ml; dan 58,32 µg/ml. Larutan uji dengan berbagai konsentrasi dimasukkan dalam vial. Kontrol positif adalah 5 ml metanol dimasukkan ke dalam vial. Dibuat replikasi sebanyak lima kali. Kemudian pelarut dalam vial diuapkan di atas penangas air sampai habis, lalu ditambahkan 1 ml air laut dan dihomogenkan. Tiap-tiap vial ditambahkan 10 ekor *Artemia salina* Leach. yang berumur

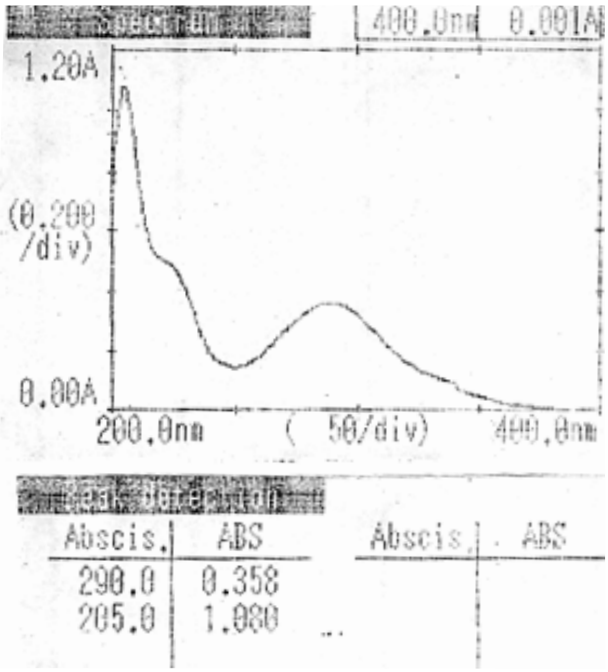
48 jam dan dicukupkan dengan menambahkan air laut sampai tanda 5 ml, kemudian ditambahkan 1 tetes suspensi fermipan, vial diletakkan di bawah penerangan dan setelah 24 jam dihitung larva yang mati.

3. Hasil dan Pembahasan

Serbuk kering dalam etanol 95% dilakukan uji pendahuluan kandungan alkaloid. Untuk uji pendahuluan kandungan alkaloid dilakukan dengan penambahan HCl 2N dalam ekstrak etanol, bertujuan untuk menarik garam alkaloid yang berada dalam ekstrak etanol sehingga garam alkaloid yang terbentuk dapat larut dalam air, fase air asam ditambah ammonia yang bertujuan untuk melarutkan alkaloid basa. Dari hasil uji pendahuluan, penegasan dan uji warna terhadap buah mahkota dewa menunjukkan reaksi positif terhadap dua pereaksi yang ditambahkan yaitu Bauchardat LP dan hager LP sehingga buah mahkota dewa mengandung alkaloid golongan II dan golongan IV.

Dari hasil identifikasi ke tiga fraksi (fraksi etil asetat I, fraksi etil asetat II, dan fraksi basa) positif mengandung alkaloid karena setelah disemprot dengan pereaksi Dragendrof LP memberikan noda berwarna orange sampai cokelat. Hasil uji KLTP terhadap fraksi etil asetat I, etil asetat II dan fraksi basa, dilakukan isolasi secara kromatografi kolom pada fraksi basa yang mempunyai kandungan alkaloid terbanyak pada buah mahkota dewa. Isolasi menggunakan fase diam silica gel 60 GF_{254} dan fase gerak etil asetat-metanol (90:10), isolate-isolat yang didapat di tamping, diidentifikasi secara KLT untuk mengetahui adanya kandungan isolat alkaloid. Dari hasil uji isolate alkaloid secara KLT sudah didapatkan satu noda, ini berarti isolate yang didapat sudah dalam keadaan murni.

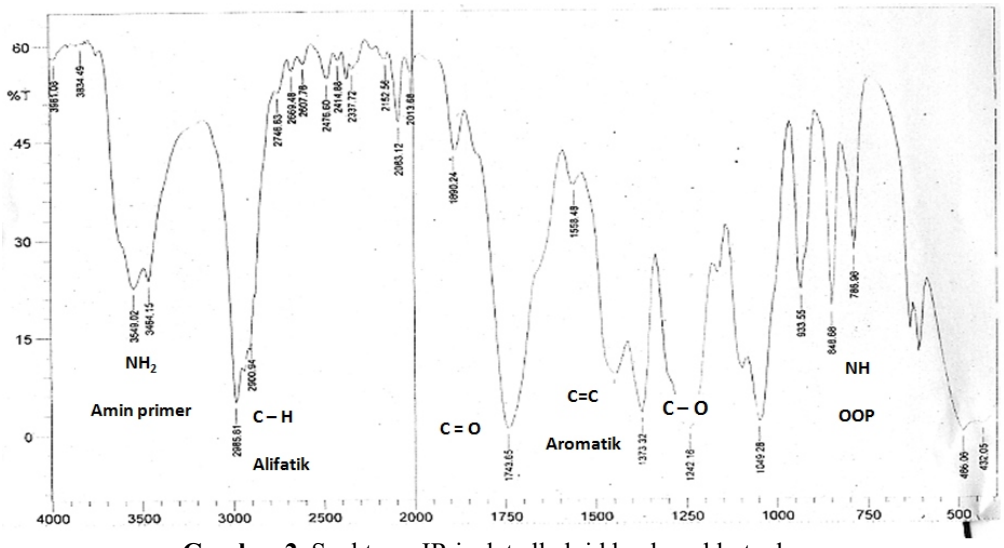
Isolat kemudian dilakukan identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dilarutkan dengan etanol p.a, dipilih etanol p.a, karena etanol p.a merupakan pelarut yang cocok untuk analisa dengan spektrofotometer UV-Vis, selain itu etanol p.a tidak memberikan serapan panjang gelombang diatas 200 nm. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis bertujuan untuk mengetahui adanya gugus yang dapat mengabsorbsi sinar UV-Vis. Hasil dari spektrum isolat alkaloid dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum Uv-Vis Isolat Alkaloid Buah Mahkota Dewa

Hasil dari spektrofotometer UV-Vis untuk isolat alkaloid didapat dua puncak serapan maksimal yaitu pada panjang gelombang 205 nm dan 290 nm. Pada panjang gelombang 205 nm memberikan puncak serapan yang kuat, ini menunjukkan adanya serapan benzene hal ini dikarenakan adanya transisi $n - \sigma^*$ yang menunjukkan adanya molekul organik jenuh yang mempunyai satu atau lebih atom dengan pasangan elektron sunyi, sedang pada panjang gelombang 290 nm memberikan puncak serapan yang lemah ini menunjukkan adanya kromofor benzene yang diperpanjang, hal ini dikarenakan adanya transisi $n - \pi^*$.

Dari hasil spektrofotometer infra merah isolat alkaloid (gambar 2) dinterpretasikan



Gambar 2. Spektrum IR isolat alkaloid buah mahkota dewa

Tabel 1. Analisis Spektrum IR Isolat Alkaloid buah Mahkota **Dewa**

Daerah Serapan	Puncak Serapan	Gugus
1900 – 1640 cm^{-1}	1743,65 cm^{-1}	C = O
3750 - 3000 cm^{-1}	3549,02 dan 3464,15 cm^{-1}	N – H primer
1300 – 1000 cm^{-1}	1242,16 cm^{-1}	C – O ester
1680 – 1640 cm^{-1}	1450,47 dan 1373,32 cm^{-1}	C =C aromatik
Sebelah kanan 3000 cm^{-1}	2985,81 dan 2900,94 cm^{-1}	C – H alifatik
Dekat 800 cm^{-1}	848,68 dan 786, 96 cm^{-1}	N – H out of plane

sebagai berikut. Terdapat pita kembar dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang 3549,02 cm^{-1} dan 3464,15 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus N – H primer. Pita kuat berintensitas tajam pada bilangan gelombang 2985,81 cm^{-1} dan 2900,94 menunjukkan adanya gugus C – H alifatik karena letaknya kurang dari 3000 cm^{-1}. Pita tajam pada bilangan gelombang 1743,65 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil (C = O) ulur. Terdapat dua gugus aromatis pada bilangan gelombang 1450,47 dan 1373,32 cm^{-1} menunjukkan adanya C = C aromatik. Bilangan gelombang 1242,16 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil ester (C–O) yang berintensitas sedang. Gugus N–H di luar bidang terdapat pada bilangan gelombang 848,68 dan 786,96 cm^{-1} (Tabel 1).

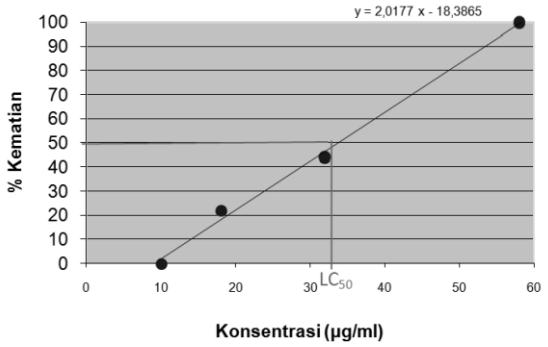
Penelitian uji toksisitas buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Larva *Artemia salina* Leach yang digunakan untuk uji adalah larva yang berumur 48 jam setelah menetas. Uji BSLT dilakukan terhadap isolat alkaloid buah mahkota dewa yang didapat dari pemisahan secara kromatografi kolom, kemudian dibandingkan harga LC_{50} nya. Isolat yang digunakan dibuat dalam deret konsentrasi dengan faktor pengali 1,8. Uji BSLT isolat alkaloid menggunakan 4 peringkat konsentrasi yaitu 10 µg/ml; 18 µg/ml; 32,4 µg/ml; dan 58,32 µg/ml. Persamaan garis lurus dari ekstrak etanol yaitu Y= 2,017X - 18,3865 dengan harga LC_{50} sebesar 33,8932 µg/ml (Tabel 2).

Harga LC_{50} diperoleh dengan cara memplotkan hubungan regresi linier antara konsentrasi (X) dengan % kematian (Y) (gambar 3), penggunaan persamaan ini bertujuan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa isolat alkaloid buah mahkota dewa dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji. Pada hasil percobaan,

Tabel 2. Persamaan LC50Isolat Alkaloid Buah Mahkota Dewa

Konsentrasi (µg/ml)	Persen (%) kematian	Persamaan garis lurus (konsentrasi vs % kematian)	LC_{50} (µg/ml)
10,0000	0 %	Y = 2,0177 X – 18,3865	
18,0000	22 %	50 = 2,0177 X – 18,3865	33,8932 µg/ml
32,4000	44 %	X = 33,8932 µg/ml	
58,3200	100 %	r = 0,9974	

konsentrasi zat uji dengan respon %kematian berbanding lurus artinya, semakin besar konsentrasi zat uji semakin besar pula pengaruhnya terhadap kematian hewan uji. Berdasarkan perhitungan, konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% hewan uji adalah pada konsentrasi 33,8932 µg/ml. Semakin besar harga LC_{50} berarti toksisitasnya semakin kecil dan sebaliknya semakin kecil harga LC_{50} maka toksisitasnya semakin besar. Jika harga LC_{50} yang diperoleh lebih kecil dari 1000 µg/ml maka senyawa uji dikatakan toksik (Meyer, 1982).



Gambar 3. Grafik regresi linier pada perlakuan isolat alkaloid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl)

Berdasarkan data di atas, hasil LC_{50} dari isolat buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) mempunyai efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan senyawa yang diisolasi dari buah mahkota dewa adalah golongan senyawa alkaloid, yang mempunyai fek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 33,8932 µg/ml.

Daftar Pustaka

Dhalimarta, Setiawan. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Jakarta : Puspa Swara

Donatus, I.A. 2001. *Toksikologi Dasar*. 124-159, 200-209. Yogyakarta : Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Farmasi UGM.

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K., dan Soediro, I. Bandung : ITB

Harmanto, Ning. 2004. *Menggempur Penyakit Hewan Kesayangan dengan Mahkota Dewa*. Jakarta : Penebar Swadaya

Hendrawati, L. Veronika. 2006. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Akar Senggugu (Clerodendron serratum Spreng) Beserta Fraksi n-Butanol dan Fraksi Air Sisanya terhadap Larva Artemia salina Leach. Skripsi.* Semarang : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi.

http://id.wikipedia.org/wiki/Mahkota_Dewa

Kardinan, A.dan Taryono.2004. *Tanaman obat Penggempur Kanker.* Jakarta: Agromedia Pustaka.

Meyer, B. N.,Ferigni, N.R., Putman, J. E.,Jacobsen, L. B., Nicholas, D. E., and Mc Laughin, J.L., 1982, Brine shrimps : A Convenients General Bioassay for Active Plant Constituents, *Journal of Planta Medica*. Vol. 45.

Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.* Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Bandung : ITB

Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi.* Yogyakarta : Liberty

Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam.* Yogyakarta : Gadjah Mada University Press