

SKRINING ANTIKANKER MELALUI PENDEKATAN UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach) SERTA IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIF PADA BUAH PLUM (*Prunus domestica* L.)

Ni Made Susita Pratiwi, I Made Dira Swantara, dan Ni Luh Rustini

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

Email : susitapратиwi@gmail.com

ABSTRAK

Isolasi dan identifikasi senyawa toksik pada ekstrak etanol *Prunus domestica* L. telah dilakukan. Ekstraksi 1000 gram buah plum menghasilkan ekstrak pekat etanol (128,75 g). Uji toksisitas ekstrak etanol terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 100 ppm. Partisi ekstrak etanol menghasilkan ekstrak kloroform (10,52 g), n-heksan (26,58 g) dan air (52,57 g). Uji toksisitas menunjukkan ekstrak kloroform bersifat paling toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 31,97 ppm. Ekstrak kloroform dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel sebagai fase diam dan kloroform : etanol : air (5:4:1) sebagai fase gerak masing-masing diperoleh tiga fraksi. Uji toksisitas menunjukkan fraksi II bersifat paling toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 364,74 ppm. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi II (isolat aktif) termasuk golongan senyawa terpenoid. Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan 3 puncak pada panjang gelombang 241 nm, 409 nm, dan 668 nm kemungkinan disebabkan berturut-turut dari gugus fungsi C-H alifatik, C-O alkohol dan C=O.

Kata kunci : toksisitas, isolasi, identifikasi, *Prunus domestica* L.

ABSTRACT

Isolation and identification of toxic compounds from ethanol extract of *Prunus domestica* L. have been conducted. Extraction of 1000 gr of plum fruit produced 128,75 g concentrated ethanol extract. The results of toxicity tests of the extract using *Artemia salina* L. larvae showed the LC₅₀ value of 100 ppm. Partition of ethanol extract yielded chloroform (10,52 g), n-hexane (26,58 g), and water (52,57 g) extracts. The toxicity test showed the chloroform extract to be the most toxic with LC₅₀ of 31,97 ppm. Chloroform extract was separated by column chromatography using silica gel as stationary phase and chloroform : ethanol : water (5:4:1) as mobile phase giving three fractions. The toxicity test showed that fraction II was the most toxic with LC₅₀ of 364,74 ppm. The phytochemical test result showed that fraction II (the active isolate) belonged to terpene groups. Analysis using UV-Vis spectrophotometer showed three peaks at 241, 409, and 668 nm, showing the possibility of the presence of functional groups of C-H aliphatic, C-O alcoholic and C=O, respectively.

Keywords : toxicity, isolation, identification, *Prunus domestica* L.

PENDAHULUAN

Kanker menurut definisi *American Cancer Society* merupakan kelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel abnormal yang tidak terkendali (pembelahan sel melebihi batas normal). Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian di negara

berkembang. Pengobatan kanker umumnya dapat dilakukan secara medis dan secara tradisional. Pengobatan secara medis dapat dilakukan dengan operasi, radiasi dan kemoterapi. Pengobatan penyakit kanker secara medis tersebut dapat menimbulkan beberapa efek samping, diantaranya rambut rontok, diare, dan gangguan sistem syaraf (Sukardiman, 2006). Berdasarkan hal tersebut,

diperlukan obat alternatif dari bahan alam yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serta menyembuhkan penyakit kanker secara selektif, efektif dan tidak menimbulkan efek samping.

Pencarian sumber-sumber baru untuk menghasilkan senyawa antikanker terus dilakukan di antaranya dari tanaman obat. Contoh tanaman yang dapat digunakan sebagai obat antikanker dari bahan alam yaitu tumbuhan plum (*Prunus domestica* Linn).

Plum atau Arukam (India), Pruno (Spanyol) ini merupakan tumbuhan yang tumbuh di daerah dataran tinggi dan banyak dibudidayakan di negara Jepang, Eropa, Amerika, Australia, dan Cina. Di dunia terdapat dua jenis utama tanaman plum yaitu Plum Eropa dan Plum Jepang (Prajapati *et al.*, 2012).

Buah plum umumnya dikonsumsi dalam bentuk buah segar sebagai penghilang dahaga karena kandungan air yang tinggi dan rasa yang manis. Kandungan kimia dalam buah plum di antaranya steroid, flavonoid, dan terpenoid (Rop *et al.*, 2009; Fujii *et al.*, 2006).

Buah plum memiliki beberapa khasiat, di antaranya digunakan sebagai pencakar (*laxative*), antibakteria, antivirus dan diuretika (Bwon, 1995). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan kandungan kimia dari biji tanaman plum memiliki aktivitas sebagai antijamur, antioksidan, antivirus, dan antitumor (Ahmed *et al.*, 2007).

Penelitian yang telah dilakukan terhadap genus *Prunus* diantaranya ekstrak etanol dari kacang almond (*Prunus dulcis*) memiliki aktivitas antikanker terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) dengan nilai LC_{50} sebesar 46,66 ppm (Chitmanat *et al.*, 2005), ekstrak dari buah persik (*Prunus persica*) memiliki aktivitas antikanker terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) dengan nilai LC_{50} sebesar 560 ppm (Pomper *et al.*, 2009) dan ekstrak etil asetat dari black cerry (*Prunus padus*) terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) memiliki aktivitas antikanker dengan nilai LC_{50} sebesar 5,41 ppm (Islam *et al.*, 2003).

Pendekatan secara kemotaksonomi menyatakan bahwa tumbuhan dari genus atau famili yang sama umumnya memiliki senyawa yang sama. Oleh karena itu, dilakukan skrining awal aktivitas antikanker dengan menguji toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina*

Leach. Suatu ekstrak dapat dikatakan toksik atau berpotensi sebagai antikanker apabila memiliki nilai LC_{50} (konsentrasi yang mampu membunuh 50% larva udang) kurang dari 1000 ppm setelah waktu kontak 24 jam (Meyer, *et al.*, 1982).

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, ekstrak etanol dari buah plum bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 100 ppm, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa yang bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach pada buah plum (*Prunus domestica* Linn) yang mungkin dikembangkan menjadi obat antikanker.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah plum (*Prunus domestica* Linn) yang sebelumnya sudah di determinasi di UPT LIPI Kebun Raya Eka Karya Bedugul, Tabanan, Bali pada bulan Desember 2013. Sebagai hewan uji untuk toksisitas digunakan larva udang (*Artemia salina* Leach).

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain akuades, etanol (C_2H_5OH) p.a, n-heksana ($CH_3(CH_2)_4CH_3$) p.a, kloroform (CH_3Cl) p.a, metanol (CH_3OH), etil asetat ($CH_3COOC_2H_5$), Tween 80, plat KLT silika gel GF254, silika gel 60, asam klorida (HCl) pekat, Ferri klorida ($FeCl_3$) 1 %, karbon tetraklorida (CCl_4), asam sulfat (H_2SO_4), natrium hidroksida (NaOH) 10 %. Pereaksi Bate Smith-Metcalf, pereaksi Wilsatter, pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer, pereaksi Wagner dan pereaksi Liebermann-Burchard.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: pisau, blender, bak kaca (akuarium), batang pengaduk, neraca analitik, kertas saring, aluminium foil, plastik berwarna hitam, penguap putar vakum (BUCHI Vacuum Pump V-700), pipet tetes, pipet ukur, pipet mikro, statif, corong pisah, botol vial, seperangkat alat kromatografi lapis tipis (KLT) dan seperangkat alat kromatografi kolom, lampu UV 254 nm dan 366 nm, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis (double beam Shimadzu/

UV 1800) dan spektrofotometer Inframerah (Shimadzu/IR Prestige-21).

Cara Kerja

Buah plum (*Prunus domestica* Linn) sebanyak 1000 gram dimaserasi dengan 4000 mL pelarut etanol 96% sampai semua metabolit terekstraksi. Ekstrak etanol disaring dan diuapkan dengan *rotary vacum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol. Ekstrak kental etanol yang diperoleh, kemudian dilarutkan dalam 100 mL larutan air : etanol (3 : 7) dan pelarut etanolnya diuapkan menggunakan *rotary vacum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak air. Ekstrak air tersebut dipartisi berturut-turut dengan n-heksana dan kloroform. Ekstrak n-heksana, kloroform dan air selanjutnya dievaporasi lalu ditimbang.

Ekstrak kloroform dipisahkan dan dimurnikan dengan metode kromatografi kolom menggunakan eluen kloroform : etanol : air (5:4:1). Fraksi hasil pemisahan dengan kromatografi kolom kemudian diuji kemurniannya dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan

diuji toksisitasnya menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach). Fraksi yang paling aktif selanjutnya diidentifikasi dengan pereaksi fitokimia, analisis spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer Inframerah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari maserasi 1000 gram daging buah plum menggunakan 4000 mL pelarut etanol menghasilkan sekitar 128,75 gram ekstrak kental etanol yang berwarna coklat kekuningan. Uji toksisitas ekstrak kental etanol bersifat toksik terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) dengan nilai LC₅₀ sebesar 100 ppm dan dapat dilihat pada Tabel 1.

Ekstrak kental etanol dilarutkan dalam campuran air dan dipartisi berturut - turut dengan n-heksana (4x50 mL) dan kloroform (5x50 mL), kemudian diperoleh ekstrak kental n-heksana (26,58 gram), kloroform (10,52 gram), dan air (52,57 gram).

Tabel 1. Hasil uji toksisitas ekstrak kental etanol

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati			Mortalitas (%)	LC ₅₀ (ppm)
		1	2	3		
Etanol	0	0	0	0	0	100
	10	5	5	4	32,11	
	100	5	5	6	59,68	
	1000	6	5	3	84,39	

Tabel 2. Hasil uji toksisitas dari hasil partisi ekstrak total buah plum

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati			Mortalitas (%)	LC ₅₀ (ppm)
		1	2	3		
n-heksan	0	0	0	0	0	127,90
	10	6	5	4	23,75	
	100	5	5	4	49,16	
	1000	4	7	6	77,61	
Kloroform	0	0	0	0	0	31,97
	10	7	6	4	32,11	
	100	6	6	5	59,68	
	1000	5	8	7	84,39	
Air	0	0	0	0	0	206,90
	10	6	7	6	19,65	
	100	5	6	4	50	
	1000	4	3	4	80,34	

Hasil uji ekstrak n-heksana, kloroform, dan air yang diperoleh pada proses partisi menunjukkan bahwa ekstrak kloroform memiliki harga LC₅₀ paling rendah yaitu 31,97 ppm dan dapat dilihat pada Tabel 2.

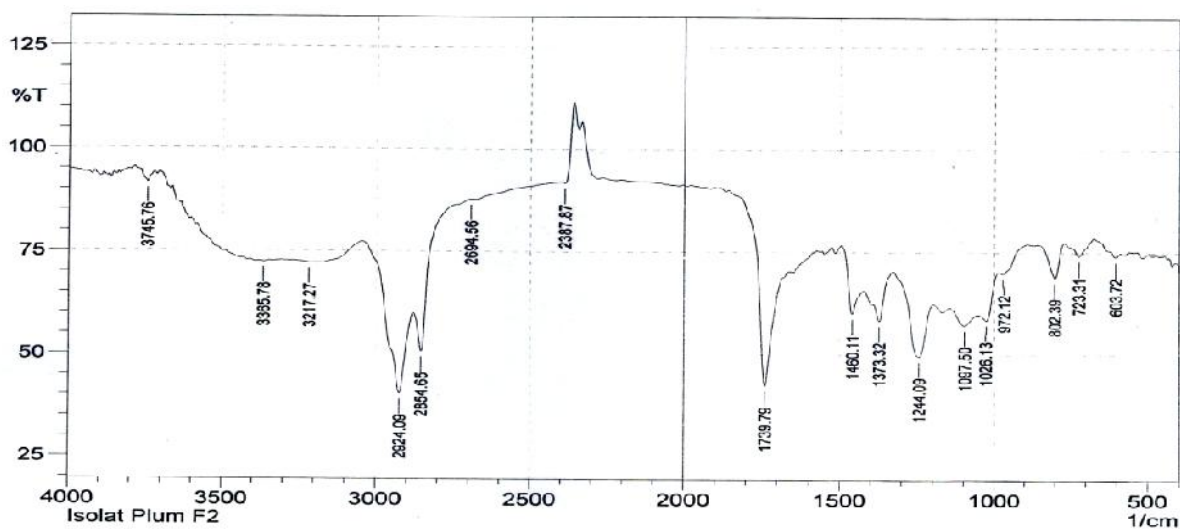
Pemisahan 1,0 gram ekstrak kental kloroform dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 sebanyak 80 gram dan eluen kloroform: etanol : air (5:4:1) menghasilkan 3 fraksi. Fraksi II yang berwarna

hijau kekuningan dengan noda tunggal bersifat paling toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 364,74 ppm. Hasil uji toksisitas fraksi II terhadap larva udang *Artemia salina* L. ditampilkan pada Tabel 3.

Identifikasi isolat yang relatif murni secara KLT dengan uji fitokimia menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, H₂SO₄ pekat, dan H₂SO₄ 50% menunjukkan bahwa fraksi II positif golongan terpenoid. Spektrum Inframerah isolat aktif (fraksi II) dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 3. Hasil uji toksisitas 3 fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom

Ekstrak	Berat (gram)	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati			Mortalitas (%)	LC ₅₀ (ppm)
			1	2	3		
Fraksi I (1-23)	0,24	0	0	0	0	0	602,55
		10	2	2	5	14,52	
		100	4	4	6	41,84	
		1000	3	5	6	69,83	
Fraksi II (24 -55)	0,42	0	0	0	0	0	364,74
		10	2	4	5	18,04	
		100	4	5	4	43,62	
		1000	5	6	5	74,05	
Fraksi III (56-76)	0,16	0	0	0	0	0	1659,58
		10	3	2	3	12,13	
		100	3	2	4	32,09	
		1000	5	4	6	68,09	



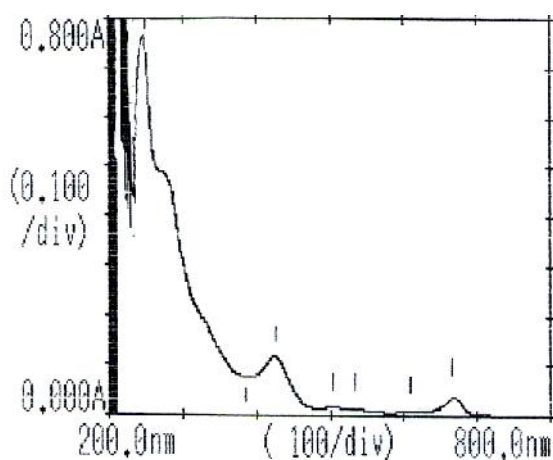
Gambar 1. Spektrum inframerah isolat fraksi II

Berdasarkan hasil analisis isolat aktif (Fraksi II) dengan spektrofotometer inframerah menunjukkan pita lebar pada bilangan gelombang $3365,78\text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas lemah diduga adanya gugus hidroksil (O-H terikat) (Fessenden & Fessenden, 1997). Adanya gugus hidroksil ini diperkuat oleh adanya pita serapan yang kuat pada bilangan gelombang $1244,09\text{ cm}^{-1}$ yang dihasilkan oleh uluran -C-O alkohol (Hardjono, 1991).

Serapan dengan intensitas kuat dan tajam pada bilangan gelombang $2924,09\text{ cm}^{-1}$ dihasilkan oleh gugus C-H alifatik *stretching* dari gugus $-\text{CH}_3$ dan diperkuat oleh adanya pita serapan pada bilangan gelombang $1373,32\text{ cm}^{-1}$ yang dihasilkan oleh $-\text{CH}_3$ *bending* dengan intensitas sedang. Serapan dengan intensitas kuat dan tajam pada bilangan gelombang $2854,65\text{ cm}^{-1}$ dihasilkan oleh gugus C-H alifatik *stretching* dari gugus $-\text{CH}_2-$ dan diperkuat dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang $1460,11\text{ cm}^{-1}$ yang dihasilkan oleh tekukan $-\text{CH}_2-$ *bending* dengan intensitas sedang (Fessenden, 1997).

Kedudukan serapan pada daerah bilangan gelombang di bawah 900 cm^{-1} menunjukkan adanya pita serapan -CH keluar bidang dari senyawa aromatik. Serapan pada daerah bilangan gelombang $1739,79\text{ cm}^{-1}$ diduga adanya uluran gugus C=O yang biasanya muncul pada daerah panjang gelombang $1820 - 1640\text{ cm}^{-1}$ (Fessenden, 1997).

Spektrum UV-Vis isolat fraksi II ditunjukkan pada Gambar 2. dan data spektrum dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 2. Spektrum UV-Vis Isolat fraksi II

Tabel 4. Data spektrum UV-Vis isolat aktif toksik

No	(nm)	Absorbansi
1.	241,0	0,8886
2.	409,0	0,1798
3.	668,0	0,0481

Hasil analisis isolat fraksi II dalam kloroform menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan tiga pita serapan maksimum yaitu pada panjang gelombang 241,0 nm, 409,0 nm dan 668,0 nm. Serapan pada panjang gelombang 241,0 nm diduga karena adanya transisi $\sigma \rightarrow \sigma^*$ oleh suatu auksokrom C-H alifatik yang muncul dengan intensitas yang tajam dan kuat pada bilangan gelombang $2924,09\text{ cm}^{-1}$ dan $2854,65\text{ cm}^{-1}$ pada spektra Inframerah.

Serapan pada panjang gelombang 409,0 nm diduga karena adanya transisi $n \rightarrow \sigma^*$ oleh suatu auksokrom -C-O alkohol yang muncul dengan intensitas yang sedang dan melebar pada bilangan gelombang $1244,09\text{ cm}^{-1}$ pada spektra Inframerah.

Serapan pada panjang gelombang 668,0 nm diduga karena adanya transisi $n \rightarrow \pi^*$ oleh suatu kromofor C=O yang muncul dengan intensitas yang sedang dan melebar pada bilangan gelombang $1739,79\text{ cm}^{-1}$ pada spektra Inframerah. Hasil analisis spektrofotometer IR dan UV-Vis, diduga isolat buah plum merupakan senyawa golongan terpenoid dengan gugus fungsi O-H, -C-H alifatik, C=O, dan C-O alkohol.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa isolat buah plum (*Prunus domestica* L.) bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 364,74 ppm.
2. Hasil uji fitokimia, identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer Inframerah dapat disimpulkan bahwa isolat aktif (fraksi II) diduga merupakan golongan senyawa terpenoid yang memberikan serapan pada panjang gelombang 241 nm oleh suatu gugus fungsi C-H alifatik, serapan pada panjang gelombang 409 nm oleh suatu gugus fungsi -C-O alkohol dan serapan pada panjang

gelombang 668 nm oleh suatu gugus fungsi C=O.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode analisis GC-MS dan Spektroskopi NMR untuk menentukan struktur molekul dari isolat aktif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dan membantu sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, R., A. Mahmood, F. Rashid, Z. Ahmad, Z. Naseer, S. Kosar, and M. Nadir, 2007, *Journal of Tropical Medicinal Plants*, 8, 248
- Bown, D., 1995, *Encyclopaedia of Herbs and their Uses*, Dorling Kindersley, New York
- Chitmanat, Chanagun, Kitiwan Tongdonmuan, and Wichan Nunsong, 2005, The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Fingerlings Songklanakarini J. Sci. Technol.*, 27 (1) : 359-364
- Fessenden & Fessenden, 1997, *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid I*, a.b. Aloysius Handyana Pudjaatmaka, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Fujii T., Ikami T., Xu J., and Ikeda, K., 2006, Prune extract (*Prunus domestica* L.) suppresses the proliferation and induces apoptosis of human colon carcinoma, *Caco-2. J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 52 : 389-391
- Hardjono, S., 1991, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta
- Islam ME, Haque ME, and Mosaddik MA, 2003, Cytotoxicity and antibacterial activity of *Sida rhombifolia* (Malvaceae) grown in Bangladesh, *PubMed ID, Phytotherapy research : PTR*, 17 (8) : 973-975
- Pomper, Kirk W., Jeremiah D. Lowe, Sheri B. Crabtree, and William Keller, 2009, Identification of Annonaceous Acetogenins in the Ripe Fruit of the North American Pawpaw (*Asimina triloba*), *J. Agric. Food Chem.*, 57 : 8339-8343
- Prajapati PM., Solanki AS., and Sen DJ., 2012, Nutrition Value of Plum Tree for Health, *International Research Journal of Pharmacy*, 3 (5) : 54-56
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nicholas, D.E., & Mc Laughlin, J.L., 1982, Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituent, *Planta Medica*, 45 : 31-4
- Rop, O., Jurikova, T., Mlcek, J., Kramarova, D., and Sengee, Z. , 2009, *Antioxidant Activity And Selected Nutritional Values of Plums (Prunus domestica L.) typical of the White Carpathian Mountains*, 122 (4) : 545-49
- Sukardiman, IGP Santa, and Rahmadany, 2006, Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (*Dendrothoe petandra*), *Cermin Dunia Kedokteran* :122 (artikel)