

**PENELUSURAN SENYAWA SITOTOKSIK  
PADA KULIT BIJI NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* L.)  
DAN KEMUNGKINAN KORELASINYA SEBAGAI ANTIKANKER**

**Sri Rahayu Santi**

*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

**ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi golongan senyawa aktif toksik dari kulit biji nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L). Ekstraksi sekitar 1 Kg serbuk kering kulit biji nyamplung dengan menggunakan pelarut methanol diperoleh  $\pm$  12,43 g ekstrak kental. Sebanyak  $\pm$  12,43 g ekstrak metanol tersebut setelah dilarutkan ke dalam campuran metanol-air (7:3) selanjutnya dipartisi berturut-turut dengan pelarut n-heksana dan kloroform. Uji toksisitas terhadap ekstrak hasil partisi menunjukkan bahwa ekstrak kental kloroform yang paling toksik dengan  $LC_{50} = 239,88$  ppm.

Hasil pemisahan dengan KLT preparatif terhadap ekstrak kloroform diperoleh isolat aktif toksik (F<sub>5</sub>) yang berwarna putih kekuningan sebanyak 52 mg dengan  $LC_{50} = 151,36$  ppm. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat merupakan senyawa golongan triterpenoid aldehid dengan kemungkinan memiliki gugus fungsi -OH (3429  $cm^{-1}$ ), -CH aldehid (2922,9 dan 2852,9  $cm^{-1}$ ), -C $\equiv$ C- (2360  $cm^{-1}$ ), -C=O (1742,7  $cm^{-1}$ ), -C=C- alkena (1637,0  $cm^{-1}$ ), -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub> (1542,9, 1480,7, 1401,9  $cm^{-1}$ ), -C-O- (1090  $cm^{-1}$ ), serta menyerap radiasi pada  $\lambda$ (nm) (CHCl<sub>3</sub>): 254, 282, dan 342,7 berupa serapan bahu.

Kata Kunci: *Calophyllum inophyllum* L., toksisitas, isolasi, identifikasi

**ABSTRACT**

Isolation and identification of active toxic compounds from nyamplung skin bean (*Calophyllum inophyllum* L) has been carried out. As much as 12,43 g of concentrated methanol extract was resulted from 1.0 kg dry powder nyamplung skin bean that was macerated using methanol. This extract was dissolved into methanol-water (7:3) and then partitioned with n-hexane and chloroform respectively. The result of toxicity test to both extract showed that chloroform extract was the most active toxic with  $LC_{50} = 239,88$  ppm

Separation of chloroform extract using preparative thin layer chromatography (TLC) resulted in F<sub>5</sub> fractions that was white yellowish as much as 52 mg and  $LC_{50} = 151,36$  ppm. Infra red and UV-vis spectroscopy were employed in order to identify the F<sub>5</sub> fraction. The result of identification showed that isolate was aldehyde triterpenoide compounds which had functional group like -OH (3429  $cm^{-1}$ ), -CH aldehyde (2922,9 and 2852,9  $cm^{-1}$ ), -C $\equiv$ C- (2360  $cm^{-1}$ ), -C=O (1742,7  $cm^{-1}$ ), -C=C- alkene (1637,0  $cm^{-1}$ ), -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub> (1542,9, 1480,7, 1401,9  $cm^{-1}$ ), -C-O- (1090  $cm^{-1}$ ). It showed absorbed at broad peaks at  $\lambda$ (nm) (CHCl<sub>3</sub>): 254, 282, and 342,7.

Keywords : *Calophyllum inophyllum* L., toxicity, isolation, identification

**PENDAHULUAN**

Sumber daya alam hayati dapat berasal dari flora, fauna, dan mikroorganisme. Salah satu sumbangan yang penting dari keanekaragaman flora Indonesia

adalah sebagai sumber diperolehnya berbagai senyawa bioaktif. Penelusuran senyawa-senyawa bioaktif dari tumbuhan dapat dilakukan dengan pendekatan fitofarmakologi (*Phytopharmacologic*

*approaches*). Salah satu pendekatan fitofarmakologi dapat bersumber dari etnobotani, yaitu penelusuran senyawa aktif tumbuhan yang didasarkan pada penggunaannya sebagai obat tradisional oleh masyarakat tertentu (Farnsworth, 1966).

Tumbuhan nyamplung (*Callophyllum inophyllum* L.), di Bali dikenal dengan nama punga atau camplong digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional serta mempunyai potensi komersial (Heyne, 1997; Forestry Departement, 2007). Sebagai obat tradisional kulit batangnya secara eksternal dapat digunakan untuk mengobati pembengkakan kelenjar sedangkan secara internal dapat digunakan untuk memperlancar buang air kecil (*diuretic*). Ekstrak daun digunakan sebagai pencuci radang mata dan di Kamboja ekstrak daun nyamplung digunakan dalam pernafasan untuk mengobati vertigo dan migrain. Getahnya yang beracun sering digunakan oleh orang Samoan untuk melumuri anak panah sebagai panah beracun serta dapat digunakan untuk mengobati pembengkakan dan penyakit tumor (Tempesta and Michael, 1993). Minyak biji yang bersifat racun (toksik) cukup kuat (Kriswiyanti dan Narayani, 2000; Anonimous, 2000; Hyene, 1997) dapat digunakan untuk memulihkan rambut rontok (Veronika, 2003), sebagai antiparasit (Tempesta and Michael, 1993), dan dapat digunakan sebagai bahan bakar lampu dengan kandungan minyak 70-73% berat biji kering (Anonimous, 2006). Bagian bunga tumbuhan ini berbau harum sehingga sering dipergunakan sebagai pengharum lemari pakaian. Di daerah Jawa Tengah bagian benang sari yang berwarna kuning dipergunakan sebagai jamu bagi wanita habis melahirkan. Bagian biji mengandung zat seperti damar yang beracun dan diketahui mengandung senyawa inofilum A-E, kalofiloid, asam kalofinat, dan polimer proantosianidin (Tempesta and Michael, 1993), golongan kumarin yaitu senyawa brasimarin A-C sebagai *cancer chemopreventive agents* (Chihiro *et al.*, 2003), karotenoid, lakton, minyak atsiri, minyak/lemak, sitosterol, takahama, tanin, dan tokoferol. Daunnya diketahui mengandung saponin, dan triterpenoid (Kriswiyanti dan

Narayani, 2000; Anonimous, 2000; Hyene, 1997).

Hasil uji toksisitas pendahuluan dari daging biji dan kulit biji nyamplung terhadap larva udang *Artemia salina* L., menunjukkan bahwa bagian kulit biji lebih toksik ( $LC_{50} = 39.31$  ppm) dibandingkan dengan bagian daging biji ( $LC_{50} = 154,8$  ppm). Berdasarkan pemanfaatannya secara tradisional yang salah satunya untuk mengobati pembengkakan dan tumor serta hasil uji toksisitas pendahuluan pada biji nyamplung yang menunjukkan bahwa kulit biji nyamplung lebih toksik daripada daging biji, maka dalam penelitian ini akan dilakukan penelusuran senyawa aktif toksik terhadap *Artemia salina* L. pada bagian kulit biji tumbuhan nyamplung sebagai skrining awal uji aktivitas antikanker.

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kulit biji tumbuhan nyamplung (*Callophyllum inophyllum* L.) yang diperoleh dari daerah pantai Semawang Denpasar. Identifikasi tentang taksonomi tumbuhan dilakukan di LIPI-UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya "Eka Karya" Bali. Bahan kimia yang digunakan adalah metanol, kloroform, etilasetat, aseton, asam kolrida, natrium hidroksida, serbuk magnesium, asam sulfat, kalium bromida, akuades, DMSO, larva udang *Artemia salina* L., silika gel 60, silika gel GF<sub>254</sub>, serta pereaksi-pereaksi seperti: Mayer, Wagner, Dragendorf, Wilstater, dan Lieberman-Burchard yang berderajat pro analisis (p.a) dan teknis.

### Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi: seperangkat alat gelas, neraca analitik, blender, pisau, penguap putar vakum, lampu UV, seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kolom, desikator, tabung reaksi, plat tetes, bak kaca/akuarium, plastik hitam, pipet tetes, pipet ukur dengan berbagai ukuran, spektrofotometer UV-Vis Secoman S 1000 PC dan spektrofotometer Jasco FTIR-5300.

### Cara Kerja

Sekitar 1 kg serbuk kering kulit biji nyamplung dimaserasi berulang kali dengan 4500 mL MeOH sampai semua komponen terekstraksi. Ekstrak MeOH disaring dan dipisahkan dengan penguap putar vakum sampai diperoleh ekstrak kental MeOH. Ekstrak kental MeOH disuspensikan kedalam campuran pelarut MeOH-H<sub>2</sub>O (7:3) kemudian dipartisi dengan *n*-heksana. Ekstrak *n*-heksana yang diperoleh diuapkan sampai kental, sedangkan bagian MeOH-H<sub>2</sub>O diuapkan sampai semua MeOH habis menguap. Bagian ekstrak air yang tersisa dipartisi dengan kloroform (CHCl<sub>3</sub>) sehingga didapat ekstrak air dan ekstrak kloroform yang selanjutnya masing-masing ekstrak tersebut diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental air dan ekstrak kental kloroform. Masing-masing ekstrak kental yang diperoleh dilakukan uji hayati toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* L. Ekstrak yang paling toksik dilanjutkan untuk dipisahkan dan dimurnikan dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif menggunakan silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform. Tiap fraksi hasil pemisahan KLT preparatif diuji toksisitasnya dan fraksi yang paling toksik diidentifikasi golongan senyawanya menggunakan uji fitokimia dan analisis fisikokimia menggunakan alat spektrofotometer UV-vis dan Inframerah.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penelusuran dan Isolasi Senyawa Toksik dari Kulit Biji Nyamplung

Hasil maserasi dari 1,0 Kg serbuk kering kulit biji nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) menggunakan 4500 mL pelarut metanol diperoleh sekitar 12,43 g ekstrak kental metanol yang berwarna merah. Ekstrak kental metanol yang

diperoleh selanjutnya disuspensikan kedalam campuran metanol-air (7:3). Proses ekstraksi selanjutnya menggunakan teknik partisi yaitu mengekstraksi suspensi ekstrak metanol-air dengan pelarut *n*-heksana menggunakan corong pisah. Partisi dilakukan berulang kali sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana dan setelah diuapkan pelarutnya diperoleh ekstrak kental yang berwarna kuning sebanyak 1,07 g. Sisa ekstrak metanol-air yang berwarna merah setelah diuapkan airnya kemudian dipartisi berulang kali dengan menggunakan pelarut kloroform. Hasil partisi kloroform ini setelah diuapkan pelarutnya diperoleh ekstrak kental kloroform yang berwarna kuning sebanyak 0,42g, sedangkan ekstrak air yang tersisa setelah diuapkan diperoleh ekstrak kental air berwarna merah sebanyak 1,97 g.

Hasil uji toksisitas ketiga ekstrak kental yang diperoleh terhadap larva udang *Artemia salina* L menunjukkan bahwa ekstrak kloroform mempunyai LC<sub>50</sub> yang paling kecil yaitu sebesar 239,88 ppm dibandingkan ekstrak kental *n*-heksana dan ekstrak kental air seperti yang dipaparkan pada Tabel 1.

Oleh karena jumlah ekstrak kental kloroform hanya sebanyak 0,42 g, maka pemisahan komponen senyawa yang terdapat pada ekstrak kloroform dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif dengan fase gerak kloroform dan fase diam silika gel GF<sub>254</sub>. Hasil pemisahan dengan KLT preparatif menghasilkan 8 fraksi dengan berat masing-masing fraksi dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil uji toksisitas ketiga ekstrak hasil partisi dengan larva udang (*Artemia salina* L)

Ekstrak Uji	Ulangan	Jumlah larva udang yang mati pada konsentrasi (ppm)				LC <sub>50</sub> (ppm)
		0	10	100	1000	
Kloroform	1	0	4	6	7	239,88
	2	0	2	2	6	
	3	0	1	4	5	
<i>n</i> -heksana	1	0	2	3	6	316,23
	2	0	4	4	4	
	3	0	4	3	3	
Air	1	0	0	1	2	1412,54
	2	0	1	2	2	
	3	0	3	3	3	

Tabel 2. Perolehan berat masing-masing fraksi hasil KLT preparatif dari ekstrak kental kloroform

Fraksi	Berat fraksi (g)	Fraksi	Berat fraksi (g)
F <sub>1</sub>	0,0155	F <sub>5</sub>	0,0520
F <sub>2</sub>	0,0371	F <sub>6</sub>	0,0214
F <sub>3</sub>	0,0351	F <sub>7</sub>	0,0258
F <sub>4</sub>	0,0102	F <sub>8</sub>	0,0227

Penelusuran aktivitas toksik tiap fraksi hasil pemisahan KLT preparatif tidak dapat dilakukan oleh karena jumlah tiap fraksi yang diperoleh sangat sedikit. Dengan pertimbangan berat fraksi yang paling banyak adalah fraksi F<sub>5</sub> yaitu 0,0520 g, maka hanya fraksi F<sub>5</sub> yang diuji toksisitasnya dan dianalisis lebih lanjut. Uji toksisitas fraksi F<sub>5</sub> dilakukan hanya pada konsentrasi 10, 100, dan 150 ppm oleh karena jumlah isolat yang tersisa hanya 0,001g. Hasil uji toksisitas fraksi F<sub>5</sub> dipaparkan pada Tabel 3

Tabel 3. Hasil uji toksisitas fraksi F<sub>5</sub> terhadap larva udang (*Artemia salina* L.)

Sampel	Ulangan	Jumlah larva udang yang mati pada konsentrasi (ppm)				LC <sub>50</sub> (ppm)
		0	10	100	150	
Fraksi F <sub>5</sub>	1	0	1	4	5	151,36
	2	0	2	4	5	
	3	0	4	5	6	

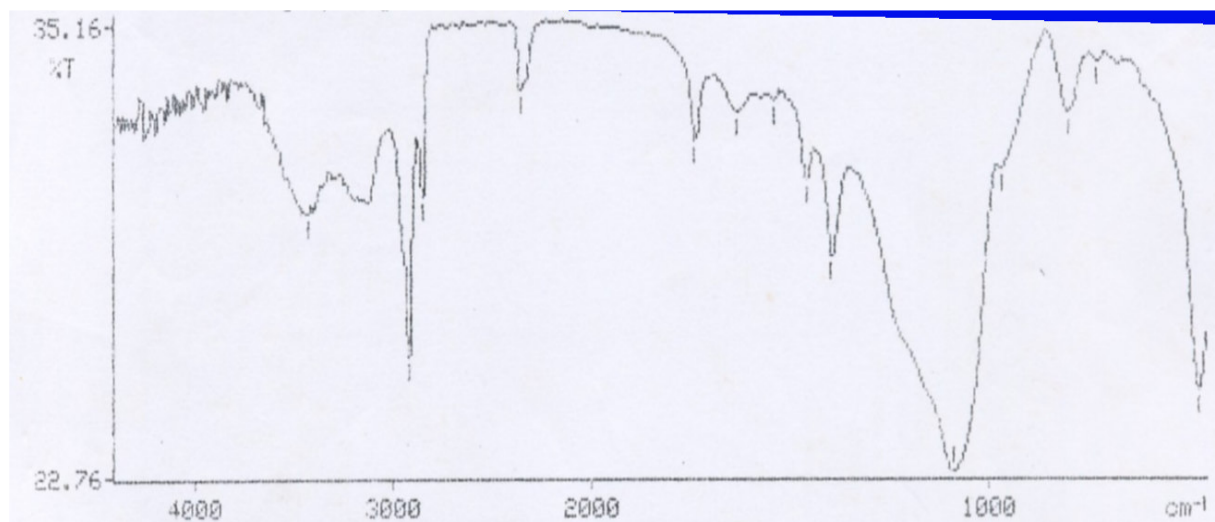
Hasil uji toksisitas menunjukkan fraksi F<sub>5</sub> bersifat toksik pada konsentrasi 151,36 ppm konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian larva udang *Artemia salina* L. Harga LC<sub>50</sub> sebesar 151,36 ppm ini dikategorikan cukup toksik dan berkorelasi positif sebagai bahan antikanker, oleh karena harga LC<sub>50</sub> lebih kecil dari 1000 ppm.

Fraksi F<sub>5</sub> ini relatif murni secara KLT dengan tetap memberikan satu noda pada berbagai fase gerak yang digunakan seperti: kloroform : etilasetat (1:1); kloroform : n-heksana (1: 2); n-heksana : kloroform (3 : 7); etilasetat : n-heksana (7 : 3); dan metanol : etilasetat (7 : 3).

#### Identifikasi Isolat (Fraksi F<sub>5</sub>)

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa isolat merupakan senyawa golongan triterpenoid

yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna isolat dari tidak berwarna menjadi ungu muda. Hasil spektrum inframerah menunjukkan bahwa isolat kemungkinan mengandung beberapa gugus fungsi seperti -OH (3429 cm<sup>-1</sup>) yang didukung juga oleh munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang 1100-1025 cm<sup>-1</sup> untuk ikatan C-O alkohol. Gugus C-H alifatik dengan serapan tajam yang muncul pada daerah bilangan gelombang 2822,9 dan 2852,9 cm<sup>-1</sup> dan diperkuat dengan munculnya serapan tajam pada daerah bilangan gelombang 1542,9 1480, dan 1401 cm<sup>-1</sup>. Gugus dari ikatan C=C alkena ditunjukkan dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang 1637 cm<sup>-1</sup>, serta gugus C=O dengan serapan tajam pada daerah bilangan gelombang 1742,7 cm<sup>-1</sup>. Spektrum inframerah dari isolat dipaparkan pada Gambar 1 dan analisisnya pada Tabel 4.



Gambar 1. Spektrum inframerah isolat dengan pelet KBr

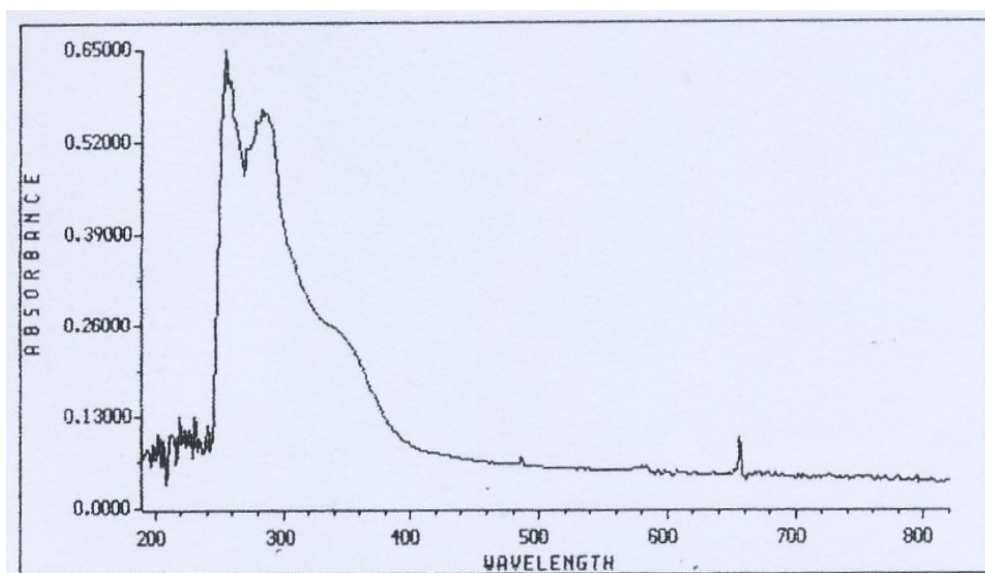
Tabel 4. Analisis spektrum inframerah senyawa hasil isolasi (isolat

No	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )		Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka		
1	3429	3600-3200	Melebar	-OH
2	2822,9; 2852,9	3000-2800	Tajam	-CH alifatik
3	2360	2000-2400	Tajam	-C≡C-
4	1742,7	1850-1730	Tajam	-C=O-
5	1637,0	1650-1550	Melebar	-C=C- alifatik
6	1542			
	1480	1550-1200	Tajam	-CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> bending
	1401			
7	1090	1100-1025	Tajam	-C-O alkohol

Acuan Pustaka : Sastrohamidjojo, 1997; Lambert *et al.*, 1976

Hasil analisis menggunakan spektrofotometri UV-vis isolat memberikan serapan pada panjang gelombang 254 nm, 283

nm, dan 342,7 nm. Spektrum UV-vis dan data tabulasi isolat dipaparkan pada Gambar 2 dan Tabel 5.



Gambar 2. Spektrum spektrofotometri UV-vis isolat (UV Hewlett packard 8452 A)

Tabel 5. Data panjang gelombang dan absorbansi isolat

No	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
1	254	0,64873
2	282	0,56529
3	342,7	0,25298

Tiga serapan yang dihasilkan isolat pada panjang gelombang 342,7 282, dan 254 kemungkinan akibat terjadinya transisi berturut-turut dari  $n-\pi^*$ ,  $n-\sigma^*$ , dan  $\pi-\pi^*$ . Dugaan ini diperkuat dengan munculnya gugus C=O pada data inframerah (IR).

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Isolat aktif toksik /fraksi F<sub>5</sub> (LC<sub>50</sub>= 151,36 ppm) relatif murni yang diperoleh dari KLT preparatif ekstrak kental kloroform, berupa padatan berwarna putih kekuningan sebanyak 52 mg berpotensi dan berkorelasi sebagai bahan antikanker.
2. Hasil uji fitokimia dan analisis spektrofotometri diduga isolat merupakan senyawa golongan triterpenoid dengan kemungkinan mengandung gugus fungsi: OH, CH dan C=C alifatik, C≡C dan C=O serta menyerap radiasi UV pada panjang gelombang 254, 282, dan 342,7 nm akibat dari terjadinya transisi elektronik berturut-turut dari  $\pi-\pi^*$ ,  $n-\sigma^*$ , dan  $n-\pi^*$ .

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi isolat aktif dengan menggunakan analisis NMR, dan GC-MS sehingga dapat ditetapkan suatu struktur usulan dari isolat aktif tersebut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Drs. I Made Sukadana, M.Si. dan Ni Luh Nyoman Merry Parwati, S.Si. serta kepada semua pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 2000, Pengenalan Family: Guttiferae, dalam <http://www.prn2.usm.my/main/site/plant/calophyllum.html>, 23 Nopember 2006
- Anonimous, 2006, Kandungan Minyak dalam Biji Nyamplung, dalam Energy Research and Development Group-ITB, 23 April 2007
- Chihiro Ito., Masataka Huigawa, Yoshitaka Mishina, Valdir Cechinel Filho, Fumio Enjo, Hrukuni Tokuda, Hoyoku Nishino and Hiroshi Furukawa, 2003, Chemical Constituents of Calophyllum brasiliense. 2-Structure of Three New Coumarins and Cancer Chemopreventive Activity of 4-substituted Coumarins, *J. Nat. Prod.*, 66 (3) : 368-371
- Farnsworth, N.R., 1996, Biological and Phytochemical Screening of Plant, *J. Pharm. Science*, 55 (3) : 225-276
- Forestry Departement, 2007, Non Wood Forest Products in 15 Countries of Tropical Asia: An Overview, *FAO Corporate Document Repository*, 23 April 2007
- Geissman, T. A., 1962, *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, Pergamon Press, Inc., New York
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia* 2<sup>nd</sup> ed., a.b. Padmawinata, K., Soediro, J., ITB, Bandung
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia II*, a.b. Anonimous, Yayasan Sarana Warna Jaya, Jakarta
- Hamburger, M. O., Cordell, G. A., 1987, Traditional Medicinal Plants of Thailand, VIII. Isoflavonoids of *Dalbergia candenatensis*, *J. Nat.Prod.*, 50 (4) : 696-699

- Kriswiyanti, E., dan Narayani, I, 2000, Inventarisasi Jenis dan Manfaat Tumbuhan di Monkey Forest Desa Adat Padang Tegal Ubud, *Jurnal Biologi*, 4 (1) : 9-20
- Lambert, J.B., Shurvel, H.F., Verbit, L., Cooks, R.G., Stout, G.H., 1976, *Organic Structural Analysis*, New York, Mac Milan
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, a.b. Padmawinata, K., ITB, Bandung
- Sastrohamidjojo, H., 1997, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta
- Soetarno, S., 1990, *Terpenoid*, ITB, Bandung
- Tempesta, Michael, S., 1993, Proanthocyanidin Polymers Having Antiviral Activity and Methods of Obtaining Same, <http://www.freepatentsonline.com/5211944.html>, 23 April 2007
- Tjitrosoepomo, G. O., 1989, *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, Gadjahmada University Press, Yogyakarta
- Veronika, S., 2003, Sepuluh Tanaman Berkhasiat Memulihkan Rambut Rontok, [http://www.Calophyllum/\[MDLI\]/memulihkan/rambut/rontok.htm](http://www.Calophyllum/[MDLI]/memulihkan/rambut/rontok.htm), 19 April 2007