

Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Monoterpen Dari Fraksi Etilasetat Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus* (L.) Blume) Yang Mempunyai Daya Sitotoksik

Lilik Sulastr^{1*}, Ristanti Mega Lestari¹, Partomuan Simanjuntak^{2,3}

¹Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi (STTIF), Bogor

²Puslit Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong, Tangerang Selatan

³Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta

Article info	Abstract
History Submission: 23-10-2020 Review: 07-12-2020 Accepted: 19-01-2021	<i>Isolation and identification one of chemical compound mono-terpene from Keji beling plant (local name) (Strobilanthes crispus) has been done. Extraction was carried out by maceration of the keji beling leaf powder with ethanol 96%, then partitioned with water-ethyl acetate. Ethylacetate extract was isolated and purified by a cytotoxic guide fractionation system with Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) on column chromatography (SiO₂; n-hexane - ethylacetate = 20 : 1); and preparative Thin Layer Chromatography (TLC) (SiO₂; n-hexane - ethylacetate = 10 : 1) which gave one compound in oily form. Based on identification by infra red spectra and gas chromatography-mass spectra (GC-MS), the compound is a monoterpene D-limonene which has a cytotoxic power of 73,11 ppm.</i>
*Email: liliksulastr28@gmail.com	
DOI: 10.33096/jffi.v8i1.721	
Keywords: D-limonene; monoterpene; keji Beling; <i>Strobilanthes crispus</i> (L.) Blume; cytotoxic	

I. Pendahuluan

Keji beling dengan nama Latin *Strobilanthes crispus* (L.) Blume atau *Sericocalyx crispus* (L.) dapat tumbuh di tanah yang memiliki ketinggian 1-1000 m di atas permukaan laut. (Setyawan *et al.*, 2016).

Secara tradisional tanaman ini banyak dimanfaatkan dalam pengobatan berbagai penyakit. Sebuah survei obat herbal di melayu pemukiman Gemenchek bagian negeri Sembilan, Malaysia mengungkapkan penerapan *S. crispus* digunakan untuk mengobati batu ginjal dengan cara daun dipanaskan lalu diletakan di pinggul. Keji beling ini secara tradisional juga digunakan sebagai antidiabetes, *laxative* dan agen *diuretic* (Nurrahmana and Norfarizan-Hanoon, 2013).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan bahwa ekstrak etanol daun keji beling dapat meluruhkan batu ginjal karena memiliki aktivitas sebagai diuretik kuat. Selain itu juga daun keji beling juga memiliki manfaat sebagai antidiabetes, antikanker, antioksidan, diuretik dan *laxative* (Rahmat *et al.*, 2006; Dali *et al.*, 2017; Koh *et al.*, 2017).

Aktivitas sitotoksik dalam suatu senyawa dapat diuji baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Beberapa di antara uji *in vitro* untuk mengetahui aktivitas sitotoksik adalah uji secara selular menggunakan sel kanker manusia yang diinduksi pada sel hewan. Cara tersebut cukup sulit dilakukan karena membutuhkan tempat dan peralatan tertentu

serta perlu dilakukan oleh orang yang cukup terlatih (Meyer, Ferrigni and Putnam, 1982)(Clarkson *et al.*, 2004). Karena itu, diperlukan uji awal yang lebih mudah dan sederhana yaitu dengan uji toksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina* (R. Hamidi, Jovanova and Kadifkova Panovska, 2014).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan dan antikanker adalah tanaman keji beling (*Strobilanthes crispus*). Penelitian (Adibi *et al.*, 2017) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun keji beling memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 102,85 ppm. Sehingga untuk itu perlu dilakukan pengujian toksisitas secara *in vitro* (metode BSLT) sebelum dilakukan terhadap sel kanker manusia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kimia dalam ekstrak etilasetat yang mempunyai daya toksisitas berdasarkan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT).

II. Metode Pendahuluan

II.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *Rotary vacuum evaporator* (Stuart RE3022C), *hotplate* (*Thermo Scientific CIMAREC*), *water bath* (Memmert), *thermometer*, *ultrasonic cleaner* (Branson® 1510), *spektrofotometer UV-VIS* (Hitachi U-3900H), *oven* (Elos), *desikator*, *cawan porselin*, *lempeng silika gel GF₂₅₄*, *bejana kromatografi*, *kromatografi kolom*, *statif*, *lampu TL*, *aerator*, *spektrofotometer Fourier Transform Infra Red*, *GC-MS*, dan seperangkat alat gelas.



Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun keji beling (*Strobilanthes crispus* (L.) Blume) yang dikoleksi dari daerah Bogor, etanol 96%, akuades, air laut, kertas saring, HCl pekat, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, metanol p.a, etil asetat pro analisis, magnesium, FeCl₃, metanol, *n*-heksana, etil asetat, serum sulfat, larva *Artemia salina*, *cellite*, KBr, silika gel 60 (70-230 Mesh), aluminium foil.

II.2 Prosedur penelitian

II.2.1 Determinasi Sampel

Daun keji beling yang diteliti terlebih dahulu dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi - LIPI Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong untuk memastikan kebenaran dan keaslian dari tanaman yang digunakan.

II.2.2 Pembuatan Simplisia

Sebanyak ± 4 kg sampel disortasi basah dicuci dengan air mengalir, ditiadakan, dan sampel dirajang tipis-tipis, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tidak di bawah sinar matahari langsung). Setelah kering sampel dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan saringan berukuran 40 mesh.

II.2.3 Penentuan Kadar Air (AOAC, 2006)

Penentuan kadar air dilakukan menurut metode *Association of Official Analytical Chemist* (Flowers *et al.*, 2006).

II.2.4 Ekstraksi

Simplisia daun keji beling sebanyak 400 gram dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam, terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, dan dilakukan 6 kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental etanol dan dihitung % rendemennya.

II.2.5 Partisi Ekstrak Etanol 96%

Ekstrak etanol 96% dilarutkan dengan 100 ml air dan dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian tambahkan etil asetat sebanyak 100 ml dipartisi, kocok dan diamkan sampai terjadi pemisahan antara lapisan etil asetat dan lapisan air, kemudian lapisan etil asetat ditampung. Hal ini dilakukan sampai lapisan etil asetat tidak berwarna (3 kali pengulangan). Lapisan air yang terbentuk ditampung dan dipekatkan di atas penangas air hingga kental (fraksi air). Lapisan etil asetat yang sudah ditampung kemudian diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga kental (fraksi etil asetat).

II.2.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia untuk golongan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin,

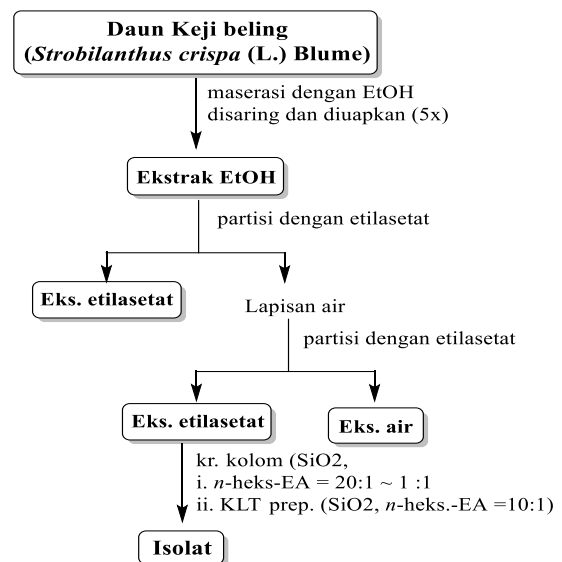
terpenoid, steroid, tannin dan fenolik dilakukan berdasarkan metode metode (Buckley, 1966).

II.2.7 Uji Aktivitas Sitotoksik Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji aktivitas sitotoksik menggunakan menggunakan larva udang (*Artemia salina*) berdasarkan metode (Meyer, Ferrigni and Putnam, 1982) yang telah dimodifikasi.

II.2.8 Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom

Faksi etilasetat (10 gr) dimurnikan dengan menggunakan kromatografi Kolom (SiO₂; *n*-heksan-etilasetat = 20 : 1 ~ 1 : 1), dan kromatografi KLT preparative (SiO₂; *n*-heksan-etilasetat = 10 : 1) dan menghasilkan isolat murni yang berbentuk cairan minyak. Skema kerja ekstraksi, isolasi senyawa kimia dari ekstrak etilasetat daun keji beling dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema kerja ekstraksi, isolasi senyawa monoterpen dari ekstrak etil asetat keji beling (*Strobilanthes crispus*)

III. Hasil dan Pembahasan

III.1 Pembuatan Simplisia

Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air pada simplisia. Kadar air yang berlebih pada simplisia dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba, jamur, reaksi enzimatik atau proses hidrolisis yang dapat menyebabkan perubahan kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain yang mungkin tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa aslinya. Prosentasi penyusutan diperoleh 23,58 dan kadar air keji beling 4 % (Tabel 1). Hasil kadar air ini memenuhi yang dipersyaratkan pada simplisia yaitu ≤ 10%.

Tabel 1. Peyusutan dan kadar air keji beling

Sampel	Berat Simplisia Basah (Kg)	Berat Simplisia Kering (g)	Penyusutan (%)	Kadar Air (%)
Daun Keji Beling	3,9	920	23,58	4

III.2 Pembuatan Ekstrak

Rendemen ekstrak hasil ekstraksi dengan etilasetat keji beling diperoleh 1,42 % (Tabel 2). Ditinjau dari segi waktu pada metode maserasi,

untuk memperoleh zat aktif yang lebih banyak dibutuhkan waktu dan proses yang lama karena ekstraksi ini tidak menggunakan bantuan panas (Wijaya, Novitasari and Jubaidah, 2018).

Tabel 2. Rendemen ekstrak etilasetat keji beling

Sampel	Berat Ekstrak EtOH 95% (g)	Rendemen (%)	Berat ekstrak Etilasetat (g)	Rendemen (%)
Daun Keji Beling	41,27	10,31	5,71	1,42

Keterangan: Dihitung dari 400 gram berat kering simplisia

III.3 Skrining Fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia untuk ekstrak etilasetat keji beling dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia

No.	Pengujian	Perubahan warna	Eks. Etilasetat
1.	Alkaloid		
	a. Wagner	Endapan coklat kemerahan	+
	b. Mayer	Endapan putih/kuning	+
	c. Dragendorff	Endapan jingga coklat	+
2.	Flavonoid	Endapan merah kuning, jingga	+
3.	Saponin	Busa 1 – 10 cm	+
4.	Tanin	Hijau, hitam, merah ungu	+
5.	Terpenoid & steroid	Cincin kecoklatan	+

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kelompok senyawa kimia dalam tumbuhan yang mungkin dapat diperkirakan sebagai senyawa bioaktif. Pendekatan secara skrining fitokimia pada hakikatnya adalah analisis secara kualitatif dari kandungan kimia yang terdapat di dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar,

batang, daun, bunga, dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, antrakuinon, flavonoid, glikosida jantung, kumarin, saponin, tanin, polifenol dan minyak atsiri (Ghasemzadeh, Jaafar and Rahmat, 2015) (Koay *et al.*, 2013).

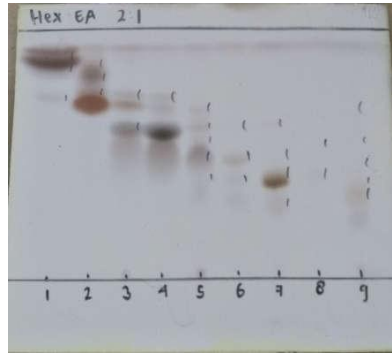
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi Etil Asetat Daun Keji Beling

No	Konsentrasi (ppm)	Log [C] (ppm)	% Mortalitas	Probit	LC ₅₀ (ppm)
1	0 (kontrol)	-	-	-	
2	10	1	22,2	4,23	73,11
3	100	2	37,73	5,61	
4	1000	3	66,66	5,41	

Pada pengujian aktivitas sitotoksik untuk fraksi etil asetat daun keji beling diperoleh LC₅₀ 73,11 ppm (Tabel 4). Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun keji beling mempunyai aktivitas sitotoksik yang sangat toksik karena hasil tersebut masuk dalam range 0-100 ppm (Clarkson *et al.*, 2004).

III.4 Fraksinasi Kromatografi Kolom

Sebanyak 5,71 gram fraksi etil asetat daun keji beling difraksinasi dengan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 mesh (0,063 mm- 0,200 mm) dengan fase gerak *n*-heksan – etil asetat secara gradien mulai dari 20:1 sampai 1:1. Fraksi dengan pola kromatogram yang sama digabung sehingga diperoleh 9 fraksi dan kromatogram KLT dapat dilihat pada Gambar 2.

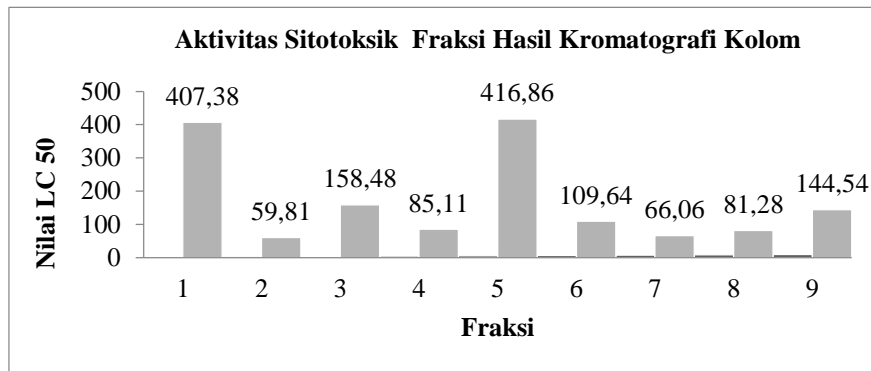


Gambar 2. Kromatogram KLT hasil kr. Kolom (Fr.1 ~ fr. 9)
Eluen : *n*-heksan-etilasetat = 2 : 1; *spray* : CeSO₄/H₂SO₄

III.5 Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi Hasil Kromatografi Kolom

Hasil uji aktivitas sitotoksik menunjukkan bahwa fraksi-2, 4, 7, dan 8 memiliki nilai LC₅₀ 39,81 ppm, 85,11 ppm, 66,06 ppm, 81,28 ppm

(Gambar 3). Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut mempunyai aktivitas sitotoksik yang sangat toksik karena hasil tersebut masuk dalam range 0-100 ppm (Clarkson *et al.*, 2004).



Gambar 3. Diagram batang hasil uji aktivitas sitotoksi fraksi etilasetat (fr.1 ~ fr. 9)

Hasil uji aktivitas sitotoksik yang dipilih adalah fraksi 7 (66,06 ppm) untuk dilakukan isolasi dan diidentifikasi kandungan senyawa kimia karena, fraksi 7 memiliki pola kromatogram yang baik untuk dilakukan isolasi, disamping fraksi-2 (59,81 ppm) yang jumlahnya sedikit. Pemurnian senyawa fraksi 7 dilakukan dengan KLT preparatif (SiO₂; *n*-heksan-etilasetat = 10 : 1, memberikan isolat murni X yang berbentuk minyak.

III.6 Identifikasi Senyawa

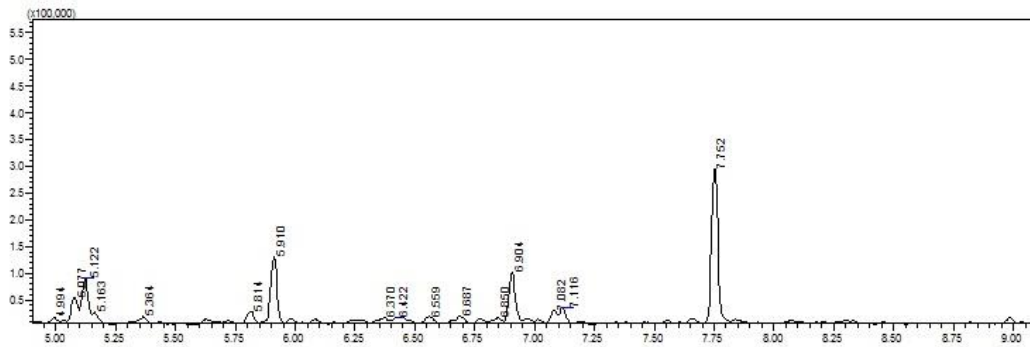
III.6.1 Spektrofotometer FTIR

Hasil analisis spektrofotometer FTIR menunjukkan bahwa senyawa X memiliki gugus alkana (CH) pada bilangan gelombang 2926, 798 cm⁻¹, gugus alkena (C=C) pada 1641 cm⁻¹.

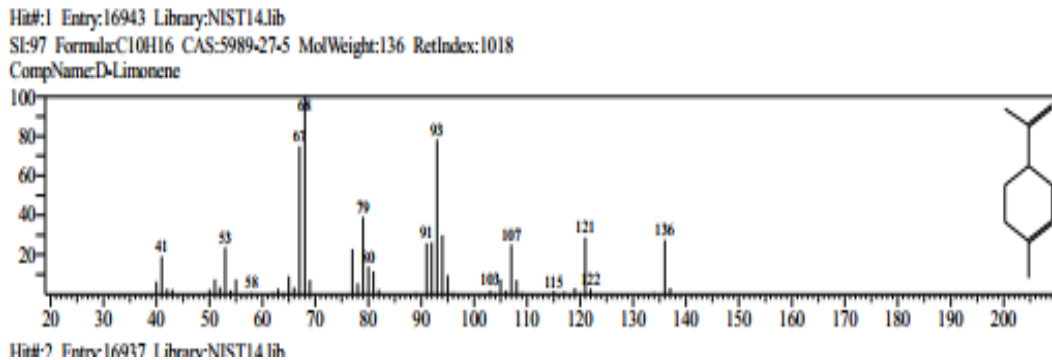
III.6.2 Analisis Gas Chromatography-Mass Spectra (GC-MS)

Pada kromatogram isolat X masih mempunyai senyawa *impurities*, yang disebabkan karena masih belum murni sehingga pada kromatogram terdeteksi beberapa *peak* (puncak)

senyawa kimia dengan ketinggian yang berbeda-beda. Hasil analisa kromatogram GC-MS pada Gambar 4 memberikan *peak* yang tinggi dan terdapat pada waktu retensi (Rt 7,75 menit) mempunyai kuantitas atau kadar yang paling besar yang diduga merupakan senyawa kimia utama yang terdapat di dalam isolat X dengan persen kemiripan (*Qual*) menurut *database library* sebesar 97% (Gambar 5), dan diprediksi sebagai senyawa D-limonen (Gambar 6).

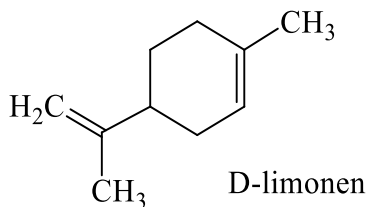


Gambar 4. Kromatogram kromatografi gas untuk isolat X



Gambar 5. Analisis fragmentasi untuk senyawa D-limonen pada GC-MS

Jadi berdasarkan hasil analisis GC-MS dan data spektra IR bahwa senyawa X yang memiliki aktivitas sitotoksik dalam fraksi etil asetat daun keji beling adalah minyak atsiri golongan monoterpen D-limonen (Gambar 6).



Gambar 6. Struktur kimia D-limonen

IV. Kesimpulan

Salah satu senyawa kimia mono-terpen D-limonen telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari daun keji beling [(*Strobilanthes crispus* (L.) Blume)] yang mempunyai daya toksik sebesar 73,11 ppm.

Daftar Pustaka

- Adibi, S. *et al.* (2017) 'Induksi Tunas Keji Beling (*Strobilanthes crispus* L) Dengan Penambahan Kombinasi Naphtalen Acetic Acid (NAA) Dan 6-benzyl Amino Purin (BAP) Dalam Medium Cair'.
- Buckley, J. P. (1966) 'Pharmaceutical sciences (Np)', *Science*, 151(3712), pp. 874–875. doi: 10.1126/science.151.3712.874.
- Clarkson, C. *et al.* (2004) 'In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa', *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2–3), pp. 177–191. doi: 10.1016/j.jep.2004.02.011.
- Dali, A. *et al.* (2017) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pecah Beling (*Strobilanthes crispus*)', *Al-Kimia*, 5(2), pp. 145–153.
- Flowers, R. *et al.* (2006) 'Best Practices in Microbiological Methodology.', *Aoac International*, 12, p. 201.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E. and Rahmat, A. (2015) 'Phytochemical constituents and biological activities of different extracts of *Strobilanthes crispus* (L.) Bremek leaves grown in different locations of Malaysia', *BMC Complementary and Alternative Medicine*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/s12906-015-0873-3.
- Koay, Y. C. *et al.* (2013) 'Chemical constituents and biological activities of *strobilanthes crispus* L', *Records of Natural Products*, 7(1), pp. 59–64.
- Koh, R. Y. *et al.* (2017) 'Anticancer mechanisms of *Strobilanthes crispus* Blume hexane extract on liver and breast cancer cell lines', *Oncology Letters*, 14(4), pp. 4957–4964. doi: 10.3892/ol.2017.6821.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R. and Putnam, J. E. (1982) 'Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents', *Planta Medica*, 45(1), pp. 31–34. doi: 10.1055/s-2007-971236.
- Nurraihana, H. and Norfarizan-Hanoon, N. A. (2013) 'Phytochemistry, pharmacology

- and toxicology properties of *Strobilanthes crispus*', *International Food Research Journal*, 20(5), pp. 2045–2056.
- R. Hamidi, M., Jovanova, B. and Kadifkova Panovska, T. (2014) 'Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model', *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(01), pp. 9–18. doi: 10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002.
- Rahmat, A. *et al.* (2006) 'Anticarcinogenic Properties of *Strobilanthes crispus* Extracts and its Compounds in vitro', pp. 47–49.
- Setyawan, B. *et al.* (2016) 'Pembuktian Ekstrak Daun Kejibeling Dalam Meningkatkan Sistem Imun Info Artikel Verification Of Kejibeling Leaf Extract In Improving The Immune System', *Kesehatan Masyarakat*, 11(2).
- Wijaya, H., Novitasari and Jubaidah, S. (2018) 'Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambut Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl)', *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), pp. 79–83.