

**IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI HASIL ISOLASI  
EKSTRAK DIKLOROMETANA KULIT BATANG JUWET (*Syzygium cumini*) DAN  
UJI TOKSISITAS**

**IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES FROM ISOLATED  
DICHLOROMETHANE EXTRACT OF JUWET (*Syzygium cumini*) STEM BARK AND  
TOXICITY BIOASSAY**

**Fahmi Noer Muhammad dan Nurul Hidajati\***

Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences  
State University of Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761

\*Corresponding author, email : [nurulhidajati@unesa.ac.id](mailto:nurulhidajati@unesa.ac.id)

**Abstrak.** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui struktur molekul senyawa yang paling dominan dari hasil isolasi ekstrak diklorometana kulit batang juwet (*Syzygium cumini*) dan tingkat toksisitasnya. dalam penelitian ini, ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, pemisahan dilakukan dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) dan monitoring dengan kromatografi lapis tipis (KLT), serta pemurnian dilakukan dengan metode rekristalisasi. uji kualitatif dilakukan dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan struktur molekul senyawa hasil isolasi ditentukan dengan metode spektroskopi (UV-Vis, FTIR dan GC-MS). Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT. Dari hasil penelitian diperoleh isolat berwujud serbuk putih dengan titik leleh 239-240°C. Hasil uji kualitatif senyawa hasil isolasi dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan warna biru kehijauan yang menandakan bahwa isolat merupakan senyawa steroid. Berdasarkan data spektroskopi, isolat mengandung senyawa  $\beta$ -sitosterol sebagai senyawa yang paling dominan. Berdasarkan hasil uji BSLT, senyawa hasil isolasi menunjukkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 119,183  $\mu$ g/ml dan tergolong sangat toksik.

**Kata Kunci :** toksisitas, juwet (*Syzygium cumini*), steroid, BSLT

**Abstract.** The purpose of this study was to determine the molecular structure of the most dominant compounds from the isolation of juwet stem dichloromethane extract (*Syzygium cumini*) and its toxicity level. in this study, extraction was done by maceration method, separation was carried out by vacuum liquid chromatography (VLC) and monitoring by thin layer chromatography (TLC), and purification was done by recrystallization method. Qualitative tests were carried out with Liebermann-Burchard reagent and the molecular structure of the isolated compounds was determined by spectroscopic methods (UV-Vis, FTIR and GC-MS). Toxicity tests were carried out using the BSLT method. From the results of the study obtained isolates in the form of white powder with a melting point of 239-240°C. The qualitative test results of the isolated compounds with the Liebermann-Burchard reagent showed a greenish blue color indicating that the isolates were steroid compounds. Based on spectroscopic data, isolates contain  $\beta$ -sitosterol compounds as the most dominant compounds. Based on the results of the BSLT test, the isolated compound showed an  $LC_{50}$  value of 119.183  $\mu$ g / ml and was classified as very toxic compound.

**Keywords:** toxicity, juwet (*Syzygium cumini*), steroids, BSLT

## PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan suatu hal yang sangat vital bagi kehidupan manusia, dimana tanpa adanya tingkat kesehatan yang baik maka kegiatan sehari-hari manusia dapat terganggu. Tingkat kesehatan manusia dapat dikatakan baik, jika manusia tersebut tidak terserang oleh suatu penyakit atau gangguan kesehatan lainnya. Penyakit merupakan sebuah keadaan dimana terjadi kesalahan fungsi pada bagian tubuh tertentu yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor dan dapat menyebabkan kematian pada kondisi tertentu. Penyakit yang paling mudah menyebabkan kematian adalah penyakit kanker.

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang abnormal. Ketika sel mengalami mutasi, sel-sel berkembang biak membentuk massa yang kita sebut tumor dan sel-sel tersebut menjadi ganas dan menyerang jaringan lain sebagai hasil metastatis[1]. Kanker merupakan penyebab kematian ketiga pada negara – negara berkembang setelah penyakit kardiovaskuler dan infeksi[2]. Indonesia merupakan negara berkembang dengan jumlah penderita kanker yang cenderung meningkat setiap tahunnya. Berdasarkan fakta tersebut, beberapa peneliti berusaha menemukan cara penanganan atau pengobatan yang dapat mengatasi sel kanker.

*Syzygium cumini* (Famili Myrtaceae) atau dikenal dengan sebutan juwet atau duwet di Indonesia, merupakan tumbuhan yang tumbuh di daerah Afrika Timur dan di beberapa tempat di benua Amerika. Selain itu, *Syzygium cumini* juga tumbuh di daerah tropis benua Asia termasuk India dan Indonesia. Buah dari *Syzygium cumini* umumnya dikenal dengan sebutan kalojum (Bangladesh), jamun (India), java plum, black plum dan Indian blackberry [3]. Juwet telah digunakan sebagai obat oleh masyarakat karena memiliki beberapa khasiat di berbagai bagian pohonnya. Meskipun memiliki beberapa khasiat obat, juwet hanya digunakan sebagai buah makan oleh sebagian besar penduduk Indonesia.

Kulit batang juwet memiliki beberapa bioaktivitas yakni sebagai astringent (pengerut selaput lendir), refrigerant (penyerap panas), karminatif (obat untuk mencegah perut kembung), diuretik (melancarkan urinasi), antihelminthic (anti cacing), febrifuge (penurun demam), konstipasi (pelancar BAB), stomasik (obat penyakit mulut) dan aktivitas antibakteri[4]. Beberapa khasiat obat tersebut dapat terjadi karena dalam kulit batang juwet terkandung beberapa jenis senyawa bioaktif.

Ekstrak aquades dan metanol kulit batang tumbuhan juwet mengandung senyawaan fenolik, terpenoid, tannin, saponin, fitosterol dan flavonoid. Pada penelitian lain disebutkan bahwa kulit batang juwet mengandung asam betulinat,  $\beta$ -sitosterol, friedelin, dan epifriedelanol [5]. Senyawa seperti  $\beta$ -sitosterol diketahui memiliki toksisitas tinggi terhadap larva udang *Artemia salina*. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa terdapat beberapa jenis metabolit sekunder fenolik maupun non-fenolik yang terkandung dalam kulit batang tumbuhan juwet[6].

Penggunaan metode *Brine Shrimp Lethality test* (BSLT) untuk pengujian toksisitas dilakukan karena metode tersebut merupakan metode yang cepat, tepat dan memiliki akurasi tinggi[7].

Berdasarkan hal tersebut, peneliti memiliki ketertarikan untuk melakukan isolasi dari senyawa metabolit sekunder dari kulit batang juwet dan melakukan uji toksisitasnya sebagai pendahuluan aktivitasnya sebagai antikanker.

## METODE PENELITIAN

### a. Alat

Set alat ekstraksi (Maserasi), set alat kromatografi cair vakum, set alat penyaring Buchner, *rotary vacuum evaporator*, set alat kromatografi lapis tipis, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Pharma Spec. UV-1700), FTIR, GC-MS.

### b. Bahan

Diklorometana teknis, kloroform p.a, etil asetat teknis, *n*-heksana teknis, metanol teknis, asam sulfat pekat p.a, Pereaksi

Liebermann – Burchard, silika gel Merck G-60 (60-200  $\mu\text{m}$ ), kiesegel 60 GF-254, pelat KLT silika gel F-254 (20 ; 20 ; 0,25 mm), dan larva udang *Artemia salina*.

## PROSEDUR PENELITIAN.

### a. Ekstraksi dan Isolasi

Sampel berupa serbuk halus kulit batang tumbuhan juwet sebanyak 4 kg diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut diklorometana sampai sampel terendam  $\pm 1$  cm terhadap pelarut. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi diklorometana disaring menggunakan corong buchner dengan bantuan pompa vakum, sehingga diperoleh ekstrak diklorometana dan residu. Ekstrak tersebut kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan didapatkan ekstrak pekat diklorometana.

Ekstrak pekat yang didapatkan, kemudian dilakukan pemisahan komponen – komponen yang terkandung menggunakan metode KCV serta menggunakan fasa diam silika gel GF-254 dengan eluen yang sesuai dan sistem gradien perbandingan kepolaran meningkat. Hasil dari proses pemisahan tersebut kemudian dimonitor KLT menggunakan plat silika gel F-254 dengan perbandingan eluen yang sesuai. Apabila telah menunjukkan satu noda, maka dilakukan proses lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG). Fasa diam yang digunakan adalah Merck silika gel 60 (63 – 200  $\mu\text{m}$ ) dan fasa gerak yang sesuai dengan perbandingan hasil KCV yang menunjukkan adanya satu noda. Fraksi – fraksi yang memiliki nilai  $R_f$  seragam dan menunjukkan adanya satu noda pada plat KLT digabung. Pemurnian isolat dilakukan dengan metode rekristalisasi dan dilakukan pengujian titik leleh..

### b. Penentuan Struktur Molekul

Hasil isolasi yang telah dimurnikan dengan metode rekristalisasi kemudian diidentifikasi dengan metode spektroskopi (UV-Vis, IR dan GC- MS)

### c. Uji Toksisitas Senyawa Hasil Isolasi

Sebanyak 5 mg isolat ditambahkan dengan 1 ml larutan kloroform di dalam botol vial. Kemudian dibuat larutan induk dari isolat tersebut dengan konsentrasi 5000  $\mu\text{g/mL}$ . Selanjutnya, dari larutan induk tersebut diambil mikropipet masing – masing 10, 25, 50, 70 dan 100  $\mu\text{L}$  dan dimasukkan ke dalam masing – masing vial. Pada masing – masing vial tersebut dibiarkan hingga pelarut menguap. Setelah pelarut menguap, isolat ditambahkan dengan DMSO kemudian diisi dengan air laut sampai volumenya 5 mL. Kemudian, ke dalam larutan tersebut ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam baru dihitung jumlah larva udang yang mati. Hasil yang didapatkan kemudian dilakukan analisis probit dengan program SPSS sebagai sarana penentuan nilai  $LC_{50}$  senyawa hasil isolat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### a. Ekstraksi dan Isolasi

Sebanyak 4 kg serbuk kulit batang juwet dilakukan maserasi dengan diklorometana. penyaringan dilakukan dengan menggunakan corong buchner sehingga didapatkan ekstrak cair diklorometana. Ekstrak cair tersebut kemudian dipekatkan dengan menggunakan alat *Rotary vacuum Evaporator* dengan suhu 40°C dan didapatkan ekstrak pekat dengan massa 12,123 gram.

Dilakukan kromatografi cair vakum (KCV) untuk memisahkan komponen – komponen dalam ekstrak tersebut dan didapatkan 116 fraksi. Jenis eluen yang digunakan adalah *n*-heksana dan etil asetat dan digunakan derajat kepolaran meningkat. Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk memonitor hasil pemisahan menggunakan eluen *n*-heksana dan etil asetat (4 : 1). Fraksi – fraksi dengan  $r_f$  sama kemudian digabung yakni fraksi 45 -54 dan didapatkan 2,847 gram. Kemudian dilakukan rekristalisasi dengan menggunakan metanol dan *n*-heksana panas. Proses rekristalisasi tersebut menghasilkan kristal putih dengan berat 1,209 gram. Kemudian dilakukan

pengujian titik leleh menggunakan *Fisher John melting apparatus* dan didapatkan titik leleh sebesar 239-240°C. Uji kualitatif dilakukan dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan didapatkan perubahan warna menjadi biru yang mengindikasikan bahwa isolat yang terkandung tersebut merupakan senyawa steroid.

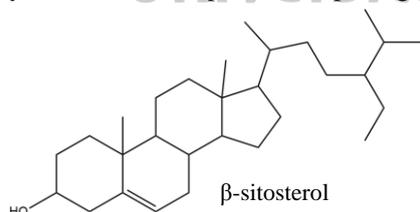
#### b. Penentuan Struktur Molekul

Hasil pengukuran isolat menggunakan Spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa terdapat puncakserapan maksimum pada panjang gelombang 249 nm. Hal tersebut menandakan bahwa terdapatnya gugus kromofor terkonjugasi yang memiliki transisi  $n \rightarrow \pi^*$  dalam isolat. Hal tersebut menyebabkan terjadinya ikatan rangkap  $C = C$ .

Berdasarkan data spektrum FTIR, senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya tekuk C-H alkil ( $1465,41 \text{ cm}^{-1}$ ) dan regang C-H alkil ( $2935,90$  dan  $2858,41 \text{ cm}^{-1}$ ). Regang C-O ( $961,98 \text{ cm}^{-1}$ ) dan regang O-H ( $3431,25 \text{ cm}^{-1}$ ) yang mendukung adanya senyawa steroid dikarenakan adanya gugus hidroksil.

Selanjutnya dilakukan pengujian dengan menggunakan GC-MS dan menghasilkan *peak* dengan waktu retensi 48,961 menit. Senyawa tersebut memiliki massa molekul 414. Senyawa tersebut memiliki fragmentasi ion pada  $m/z$  414 ( $M^+$ ), 396, 381, 371, 354, 341, 329, 315, 303, 288, 273, 255, 246, 231, 213, 199, 185, 173, 159, 145, 133, 119, 107, 95, 81, 57, 43 dan 41.

Berdasarkan hasil analisis spektrometri (UV-Vis, FTIR dan GC-MS) dapat ditentukan bahwa senyawa yang terkandung dalam isolat tersebut adalah dan  $\beta$ -sitosterol. Struktur senyawa tersebut dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Struktur senyawa hasil isolasi

#### c. Uji Toksisitas Senyawa Hasil Isolasi

Uji BSLT atau *brine shrimp lethaly test* digunakan sebagai uji toksisitas senyawa hasil isolasi terhadap hewan uji, yakni *Artemia salina* L. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm. Pada penelitian ini, konsentrasi 0 ppm digunakan sebagai kontrol untuk mengindikasikan bahwa apakah benar *Artemia salina* mengalami kematian akibat larutan uji atau kehabisan bahan makanan. Hasil dari pengujian tersebut didapatkan setelah 24 jam masa inkubasi. Kemudian dilakukan perhitungan kematian larva *Artemia salina*. Data kematian *Artemia salina* L. ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Data Kematian *Artemia salina*

Konsentrasi isolat (ppm)	Kematian <i>Artemia salina</i>			Jumlah <i>Artemia salina</i>	Rata – Rata Kematian <i>Artemia salina</i>	Persen rata – rata Kematian <i>Artemia salina</i> (%)
	1	2	3			
0	0	0	0	10	0	0
10	0	0	1	10	0,333	3,33
25	1	2	1	10	1,333	13,3
50	2	2	3	10	2,333	23,3
75	2	3	3	10	2,667	26,7
100	4	3	3	10	3,333	33,3

Berdasarkan data tersebut, pada konsentrasi isolat 0 ppm tidak terlihat kematian larva *Artemia salina*. Hal tersebut menunjukkan bahwa kematian *Artemia salina* pada konsentrasi 10 – 100 ppm merupakan efek penambahan isolat juwet. Setelah didapatkan data tersebut, maka nilai  $LC_{50}$  dari isolat juwet tersebut dapat ditentukan. Hasil olah data menggunakan SPSS menunjukkan bahwa nilai  $LC_{50}$  dari isolat juwet sebesar 119,183  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil tersebut menunjukkan bahwa tingkat toksisitas dari isolat juwet tergolong sangat toksik.

## PENUTUP

### Simpulan

Pada hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Senyawa hasil isolasi ekstrak diklorometana kulit batang juwet (*Syzygium cumini*) merupakan senyawa  $\beta$ -sitosterol yang berupa serbuk putih dengan titik leleh sebesar 239-240°C.
2. Toksisitas senyawa hasil isolasi ekstrak diklorometana kulit batang juwet (*Syzygium cumini*) tergolong sangat toksik karena memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 119,183  $\mu$ g/ml.

### Saran

Melakukan proses isolasi lebih lanjut dengan pelarut maupun eluen berbeda terhadap kulit batang juwet (*Syzygium cumini*) untuk dapat menemukan senyawa lain yang terkandung di dalamnya. Serta melakukan pengujian toksisitas lebih lanjut senyawa hasil isolasi terhadap sel kanker secara *in vitro* maupun *in vivo*. Serta melakukan penentuan struktur molekul dengan spektroskopi NMR (<sup>1</sup>H-NMR maupun <sup>13</sup>C-NMR) untuk lebih mengetahui dengan jelas senyawa hasil isolasi.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Preedy, V. 2014. *Cancer : Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. London: Academic Press.
2. Sukmarianti, N. W. 2013. "Identifikasi dan uji aktivitas antikanker ekstrak spons *ianthella basta* terhadap larva *Artemia salina* L". *Cakra Kimia*, 14-19
3. Alam, M. R., Rahman, A. B., Moniruzzaman, M., Kadir, M. F., Haque, M. A., Alvi, M. Razi.-U.-H., & Ratan, M. 2012. "Evaluation of antidiabetic phytochemicals in *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Family : Myrtaceae)". *Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 2* (10), 094-098.
4. Goyal, P. K., Verma, P., Sharma, P., Parmar, J., & Agarwal, A. 2010. "Evaluation of anti-cancer and anti-oxidative potential of *Syzygium cumini* against benzo[a]pyrene (BaP) induced gastric carcinogenesis in mice". *Asia Pacific Journal of Cancer Prevention*, 753-758.
5. Saravanan, G., & Pari, L. 2008. "Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Syzygium cumini* bark in streptozotocin-induced diabetic rats". *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 001-010.
6. Hartini, R. S., & Suyatno. 2016. "Identifikasi dan Uji Pendahuluan Aktivitas Antikanker Senyawa Non Fenolik dari Ekstrak Diklorometana Batang Tumbuhan *Ashitaba (Angelica keiskei)*". *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya*, C81-C86.
7. Hidajati, N., & Qodriyah. 2018. "Toxicity Test of Dichloromethane Fraction from White Frangipani Leaves (*Plumeria alba*)". *Proceeding of National Seminar of Chemistry*, 61-62.
8. Kuncha, J., Ayyachamy, M., & Mariappan, M. 2012. "In-vitro evaluation of nitric oxide scavenging activity of methanolic and aqueous extract of *Syzygium cumini* Linn. Bark (Myrtaceae)". *Int. J Pharm Sci Res.*, 615-619.