

## UJI TOKSISITAS HASIL FRAKSINASI KOLOM KROMATOGRAFI EKSTRAK METANOL BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl)

(Result of Toxicity Test Chromatography Column Fracination of Methanol Extract Fruit Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl))

Atep Dian Supardan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Analisis Kimia, Sekolah Vokasi Institut Pertanian Bogor, Jl Kumbang No 14 Bogor

**E-mail : adsnadsn@gmail.com**

Diterima : 2 Maret 2022/Disetujui 9 Juni 2022

### ABSTRAK

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas hasil fraksinasi kolom kromatografi ekstrak metanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach sebagai uji pendahuluan terhadap anti kanker. Ekstrak metanol buah mahkota dewa memiliki rendemen sebesar 9.51% dengan kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan tanin. Hasil fraksinasi ekstrak metanol dengan kromatografi kolom menghasilkan 3 fraksi dengan nilai  $LC_{50}$  masing-masing 761, 53, dan 91 ppm. Ke-3 Fraksi tersebut kemudian dipisahkan lagi menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif, menghasilkan 7 spot pada fraksi 1 dan 3 sedangkan fraksi 2 menghasilkan 6 spot. Hasil pemurnian menggunakan KLTP menunjukkan toksisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan fraksi kasarnya yaitu yang berasal dari fraksi 1 (F1) yaitu F17 ( $LC_{50} = 325$  ppm). Identifikasi spektrofotometer ultra violet dan infra merah menunjukkan bahwa F1, F2, dan F3 BMKD diduga memiliki gugus fungsi amina yang merupakan ciri khas dari alkaloid.

**Kata kunci : antikanker, ekstrak metanol buah mahkota dewa, fraksinasi kolom kromatografi**

### ABSTRACT

Fruit of mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) is one of the herbal medicines used against cancer in society. The aim of the research was to investigate the toxic effect of metanol extract mahkota dewa fruit fractionation against *Artemia salina* Leach, as the primary step test to identify an anticancer activity. Metanol extract from mahkota dewa fruit content 9.51% which secondary metabolit compound were alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, and tanin. The result showed the output metanol extract fractionation from mahkota dewa fruit produced 3 fraction which were F1, F2, and F3 and the  $LC_{50}$  were 761, 53, and 91 ppm. The fractions were separated by using preparative thin layer chromathography. Fraction 1 and 2 produced 7 spots, while fraction 2 produced 6 spots. The most active fraction was F17 ( $LC_{50} = 325$  ppm) from F1. The identification of ultra violet and infra red Spectrophotometer showed spectrum of

*F1, F2, and F3 BMKD have nitrogen atom in their molecule and suggested that F1, F2, and F3 BMKD contained alkaloids.*

**Keyword: anticancer, mahkota dewa fruit metanol extract, chromatography column fractionation**

## PENDAHULUAN

Dunia saat ini menghadapi permasalahan kesehatan masyarakat dengan adanya transisi epidemiologi, yaitu bergesernya masalah kesehatan dari penyakit menular yang disebabkan oleh virus, bakteri, jamur, dan mikroorganisme lainnya menjadi penyakit tidak menular. Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular yang menjadi beban kesehatan diseluruh dunia. Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya sel yang abnormal yang bisa berkembang tanpa terkendali dan memiliki kemampuan untuk menyerang dan berpindah antar sel dan jaringan tubuh (Dong & Jiang 2011). *World Health Organization* menyebutkan kanker sebagai salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia dan jumlah kasus serta kematian akibat kanker sampai dengan tahun 2018 sebesar 18,1 juta kasus dan 9,6 juta kematian. Kematian akibat kanker diperkirakan akan terus meningkat hingga lebih dari 13,1 juta pada tahun 2030 (Infodatin 2019). Sampai sekarang, terapi konvensional untuk pengobatan kanker seperti kemoterapi, radioterapi, dan pembedahan belum sepenuhnya efektif karena masih terbatas dan biayanya sangat mahal. Usaha lain untuk mengobati penyakit kanker adalah dengan menggunakan bahan alam terutama dari tumbuh-tumbuhan karena lebih murah dan mudah didapat (Astriyai *et al* 2017).

Salah satu tanaman yang sampai saat ini masih digunakan adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). Khasiat tanaman mahkota dewa antara lain untuk mengobati kanker, impotensi, hipoglikemia, hipotensi, antirematik, gangguan hati dan ginjal, penyakit kulit (Hendra 2012). Buah mahkota dewa telah banyak diteliti kegunaannya sebagai antikanker. Pengujian buah mahkota dewa sebagai antikanker lebih banyak menggunakan ekstrak kasar dengan menggunakan pelarut seperti heksana, etil asetat, air panas, metanol, dan etanol (Sunardi *et al* 2006). Berbagai penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang terekstrak dalam masing-masing pelarut yang digunakan memiliki potensi sebagai antikanker (Iswantini *et al* 2006). Namun sampai saat ini sedikit sekali penelitian lanjutan yang melakukan fraksinasi terhadap ekstrak kasar buah mahkota dewa. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan pemisahan terhadap ekstrak metanol buah mahkota dewa yang telah diketahui memiliki sifat anti kanker (Kintoko dan Pihie 2009). Hasil fraksinasi ekstrak metanol buah mahkota dewa kemudian diuji sifat toksisitasnya menggunakan uji *brine shrimp lethality test* (BSLT). Uji mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach merupakan metode yang sederhana, cepat, mudah, dan dapat dipercaya untuk pengujian awal aktifitas biologis suatu senyawa bioaktif dari bahan alam. Metode ini dapat digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antikanker, dengan kata lain uji larva udang mempunyai korelasi yang positif dengan fungsinya sebagai antikanker

(Iswantini *et al* 2006). Sifat suatu senyawa dalam suatu proses metabolisme dapat saling menguatkan (sinergis) atau saling berlawanan satu sama lain (antagonis). Penelitian ini dilakukan untuk melakukan fraksinasi ekstrak metanol buah mahkota dewa menggunakan kolom kromatografi sehingga dapat diketahui apakah hasil pemisahannya memiliki sifat sinergis atau antagonis ketika diuji sifat toksisitasnya menggunakan uji *brine shrimp lethality test*.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang digunakan ialah simplisia buah mahkota dewa, air suling, air laut, telur udang laut *Artemia salina* Leach, metanol merck, etanol merck, kloroform merck, etil asetat merck, silika gel merck, glass wool, plat kromatografi lapis tipis merck, dan plat kromatografi lapis tipis preparatif merck.

### Alat

Alat yang digunakan ialah peralatan gelas, alat refluks, oven Memmert, kolom kromatografi, timbangan analitik sartorius, rotary evaporator Buchi, spektrofotometer ultra violet Hitachi U2800, spektrofotometer infra merah tensor 37 Bruker, dan lampu UV Buchi.

### Tahapan Penelitian

Penelitian ini mengikuti tahapan proses ekstraksi simplisia buah mahkota dewa, dilanjutkan dengan uji fitokimia, pemisahan ekstrak metanol buah mahkota dewa dengan KLT, fraksinasi menggunakan kolom kromatografi uji lanjutan dengan KLT dan pencirian menggunakan spektrofotometer ultraviolet dan inframerah.

### Ekstraksi Metanol Buah Mahkota Dewa

Simplisia buah mahkota dewa yang telah sebanyak 50 gram direfluks selama 8 jam dengan metanol sebanyak 500mL, kemudian disaring dan dipisahkan dengan rotary evaporator pada tekanan 1 atm dan suhu penangas air 40° sehingga didapatkan ekstrak metanol buah mahkota dewa. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

### Uji Fitokimia Ekstrak metanol Buah Mahkota Dewa (Iswantini *et al* 2006)

Ekstrak metanol buah mahkota dewa yang telah diperoleh diuji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekundernya. Uji fitokimia yang dilakukan antara lain **Identifikasi Flavonoid**, Sebanyak 50 mg serbuk sampel buah mahkota dewa ditambah air panas, dididihkan selama lima menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 5mL ditambah serbuk Mg, 1mL HCl pekat, dan 1mL amil alkohol kemudian dikocok dengan kuat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol. **Identifikasi Alkaloid**. Sebanyak 50 mg serbuk sampel buah mahkota dewa ditambah 10 mL kloroform-amoniak, kemudian disaring dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi kemudian dikocok dengan 10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M kemudian lapisan asamnya dipisahkan dalam tabung reaksi lain.

Sampel diteteskan pada spot plat dan ditambahkan tiga tetes pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Wagner. Uji positif untuk alkaloid jika terbentuk endapan berwarna merah-jingga, putih, dan coklat. **Identifikasi Saponin.** Sebanyak 50 mg serbuk sampel buah mahkota dewa ditambah dietil eter. Residu yang tidak larut dalam dietil eter diambil, dipisahkan, dan ditambah 5 mL air kemudian dikocok sampai timbul busa yang stabil. **Identifikasi Steroid-Triterpenoid (Uji Lieberman-Buchard).** Fraksi yang larut dalam dietil eter pada uji saponin dipisahkan, dalam campuran tersebut ditambahkan anhidrida asam asetat dan asam sulfat pekat (3:1). Apabila terbentuk warna merah atau ungu menunjukkan kandungan steroid atau triterpenoid. **Identifikasi Tanin.** Sebanyak 50 mg serbuk sampel buah mahkota dewa dilarutkan dalam 5 ml etanol ditambah dengan beberapa tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru, atau ungu.

### **Pemisahan Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa dengan Kromatografi Lapis Tipis**

Ekstrak metanol buah mahkota dewa kemudian dipisahkan dengan pelat KLT menggunakan eluen kloroform:etil asetat (9:1). Disiapkan plat KLT ukuran 2 x 10cm kemudian diberi garis pada kedua ujungnya masing-masing 1 cm. ekstrak metanol buah mahkota dewa kemudian ditotolkan dengan bantuan pipa kapiler pada bagian bawah plat KLT tepat ditengah garis. Eluen disiapkan kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan ditutup rapat. Setelah jenuh, plat KLT dimasukan sehingga bagian bawah totalan ektak pada plat KLT langsung berinteraksi dengan eluen. Setelah eluen mendekati garis akhir. Plat KLT dilkeluarkan dan dibiarkan mengering untuk selanjutnya diidentifikasi hasil pemisahannya menggunakan lampu UV.

### **Fraksinasi Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa Menggunakan Kolom Kromatografi**

Ekstrak metanol buah mahkota dewa dilarutkan dalam metanol, kemudian disiapkan kolom kromatografi dengan panjang 50cm dengan diameter 2,5cm. Fase diam berupa silica gel kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dipadatkan. Setelah ketinggian fase diam dalam kolom stabil maka ekstrak metanol buah mahkota dewa dimasukkan lewat bagian atas kolom dengan bantuan pipet tetes dan eluen ditambahkan seiring dengan keran kolom kromatografi dibuka dengan kecepatan yang konstan. Hasil fraksinasi ditampung menggunakan tabung reaksi dengan ketinggian tampungan yang sama dan diberi nomor. Pengujian lebih lanjut dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis preparative terhadap hasil fraksinasi yang terdapat dalam tabung reaksi. Tabung reaksi yang menghasilkan pola pemisahan yang sama kemudian digabungkan untuk lebih lanjut diuji sifat toksisitasnya menggunakan metode Uji Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* Leach.

### **Pengujian Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) Terhadap Hasil Fraksinasi Kolom**

Plat KLTP dengan ukuran 10 x 20cm diberi garis dikedua ujungnya. Garis pada bagian bawah dengan jarak setiap 1 cm diberi nomor sesuai nomor tabung reaksi. Hasil fraksinasi dalam tabung reaksi ditotolkan pada plat KLTP. Eluen berupa kloroform:etil asetat (9:1) dijenuhkan dalam chamber kromatografi kemudian plat KLT dimasukan dan dibiarkan hingga eluen mencapai garis. Plat KLTP dikeluarkan dan dibiarkan mengering untuk selanjutnya diidentifikasi hasil pemisahannya menggunakan lampu UV. Hasil pemisahan menggunakan plat KLTP yang memiliki pola yang sama akan digabungkan dengan cara menggabungkan hasil fraksinasi dalam tabung reaksi dalam wadah yang sama. Hasil penggabungan kemudian diuji sifat toksisitasnya menggunakan metode Uji Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* Leach.

### **Uji Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* Leach**

Hasil fraksinasi kolom kemudian diuji mortalitasnya dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Telur larva udang (*Artemia salina* Leach) ditetaskan pada wadah yang berisi air laut yang dilengkapi *aerator*. Setelah 48 jam telur tersebut telah menjadi larva udang dan siap digunakan. Sampel yang digunakan untuk BSLT adalah hasil fraksinasi ekstrak metanol buah mahkota dewa. Sampel dilarutkan dalam air laut dan jika sampel tidak larut ditambahkan Tween 80. Larutan sampel dipipet ke dalam ruang uji, kemudian ditambah air laut dan larva udang sebanyak sepuluh ekor sehingga volumenya menjadi 2mL. Konsentrasi sampel untuk masing-masing uji adalah 1000, 500, 100, 10 µg/mL (ppm). Pengamatan dilakukan 24 jam kemudian untuk menghitung jumlah larva udang yang masih hidup. Data yang diperoleh dianalisis dengan metode statistik SPSS untuk menentukan nilai LC<sub>50</sub> dengan selang kepercayaan 95%. Setiap fraksi diuji dengan tiga kali ulangan serta dilakukan pengujian blanko dan kontrol. Blanko dikerjakan seperti sampel tapi tanpa penambahan ekstrak. Kontrol berisi larva udang, pelarut, Tween 80, dan air laut.

### **Karakterisasi Fraksi Aktif dengan Spektrofotometer UV dan FT-IR**

Fraksi yang aktif kemudian dikarakterisasi lebih lanjut dengan alat spektrofotometer ultraviolet (UV) pada kisaran panjang gelombang 200-350nm dan spektrofotometer FTIR pada kisaran bilangan gelombang 4000-400cm<sup>-1</sup>.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian dilakukan terhadap buah mahkota dewa yang telah masak karena buah yang masak secara umum menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang tinggi sehingga pengujian aktifitas terhadap senyawa metabolit sekunder tanaman mahkota dewa dapat terwakili (Soeksmanto *et al* 2007). Ekstraksi dilakukan secara refluks mengikuti cara tradisional dalam mengkonsumsi buah mahkota dewa yaitu dengan cara merebusnya. Ekstraksi dilakukan dengan cara refluks menggunakan metanol karena menurut Hendra (2012), buah mahkota dewa lebih banyak mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dibandingkan yang non polar. Berdasarkan hasil ekstraksi buah mahkota dewa dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen

sebesar 9,51%. Metanol merupakan salah satu pelarut polar sehingga kandungan senyawa polar yang didapat dari simplisia buah mahkota dewa kurang lebih sepersepuluh bobot simplisia awal (Lim *et al* 2019).

Suatu tanaman akan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda dengan tanaman lain. Begitupun tanaman yang sama tapi ditanam di tempat yang berbeda juga akan menghasilkan jenis senyawa metabolit sekunder yang berbeda. Buah mahkota dewa juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berkaitan dengan kebutuhan proses metabolisme (Lee *et al* 2022). Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol buah mahkota dewa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil uji fitokimia ekstrak metanol buah mahkota dewa

Parameter	Intensitas Warna				Kandungan Senyawa
	Tidak ada	lemah	sedang	Kuat	
Alkaloid			√		Ada
Flavonoid				√	Ada
Steroid			√		Ada
Triterpenoid	√				Tidak ada
Saponin			√		Ada
Tanin				√	Ada

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol buah mahkota dewa, menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah mahkota memiliki kandungan flavonoid dan tanin yang tinggi dibandingkan alkaloid, steroid, dan saponin. Sedangkan triterpenoid tidak ditemukan keberadaannya dalam ekstrak metanol buah mahkota dewa. Hasil ini berbeda dengan yang diteliti oleh Maharani *et al* (2021) yang menyebutkan bahwa ekstrak metanol buah mahkota dewa mengandung semua senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid, saponin dan tanin. Hal ini dipahami bahwa kandungan metabolit sekunder suatu tanaman juga dipengaruhi oleh lokasi penanaman dan umur tanaman, sehingga hasil uji fitokimia yang berbeda sangat dimungkinkan (melo *et al* 2022).

Hasil pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) terhadap ekstrak metanol buah mahkota dewa dengan eluen etil asetat:kloroform (9:1) didapatkan hasil berupa 7 spot yang terpisah. Adapun penggunaan eluen lain yang telah dilakukan masih menghasilkan spot yang mengekor dan pada beberapa kasus tidak terpisah satu sama lain. Pada saat penelitian tidak dilakukan perekaman data sehingga foto hasil KLT tidak dapat ditampilkan. Ekstrak metanol kemudian dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel dan fase geraknya etil asetat-kloroform (9:1). Fraksinasi kromatografi kolom ekstrak metanol buah mahkota dewa menghasilkan 3 fraksi (Tabel 2).

Tabel 2 Hasil fraksinasi kromatografi kolom ekstrak metanol buah mahkota dewa dan uji mortalitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Fraksi	Bentuk & warna	Rendemen (%)	LC <sub>50</sub> (ppm)
F1	Pasta kuning	3,64	761

---

F2	Pasta putih kekuningan	1,19	53
F3	Pasta Putih kekuningan	2,67	91

---

Fraksinasi kromatografi kolom terhadap ekstrak metanol buah mahkota dewa menghasilkan 3 buah fraksi yang berbentuk pasta. Fraksi F2 dan F3 berwarna putih kekuningan yang berbeda dengan fraksi F1 yang berwarna kuning. Kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu tanaman akan berkaitan erat dengan sifat toksisitasnya (Kintoko dan Pihie 2009). Fraksi 1 memiliki rendemen dan nilai  $LC_{50}$  yang paling tinggi masing-masing sebesar 3,64% dan 761 ppm, fraksi 2 memiliki rendemen dan nilai  $LC_{50}$  yang paling kecil, masing-masing 1,19% dan 53 ppm dan fraksi tiga berada diantara keduanya. Urutan nilai rendemen dan  $LC_{50}$  adalah  $F1 > F3 > F2$ . Berdasarkan Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa ketiga fraksi bersifat toksik karena dapat mematikan 50% populasi larva udang pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm (Maharani *et al* 2021), dengan demikian F2 lebih bersifat toksik dibandingkan F3 dan F1 ( $F2 > F3 > F1$ ). Apabila dilihat lebih lanjut maka terdapat korelasi positif antara rendemen fraksi dengan tingkat toksisitas yang berarti semakin kecil rendemen hasil fraksinasi kolom akan menghasilkan nilai toksisitas yang kecil. Artinya untuk F2 akan membutuhkan konsentrasi yang sedikit saja untuk membunuh 50% populasi larva udang dibandingkan dengan F1 dan F3. Cara kerja senyawa dapat bersifat sinergis ataupun antagonis sehingga hasil fraksinasi kolom kromatografi ekstrak metanol buah mahkota dewa jika dipisahkan lebih lanjut dapat menghasilkan kedua mekanisme tersebut (Pallikonda & Turajlic 2022).

Pemisahan lebih lanjut dilakukan terhadap ketiga fraksi hasil kolom kromatografi menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dengan tujuan agar hasil pemisahan dapat menunjukkan efek sinergis atau antagonis sehingga diperoleh fraksi yang lebih aktif setelah pemisahan dengan KLTP. Selain itu pemisahan dengan KLTP dilakukan untuk melihat tingkat kemurnian fraksi jika fraksi tersebut telah murni maka tidak akan terpisah lagi jika diuji dengan KLTP. Namun apabila terpisah lagi setelah di pisahkan dengan KLTP maka diharapkan hasil pemisahannya tetap bersifat toksik (nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000ppm). Hasil pemisahan ke-3 fraksi dengan KLTP, menghasilkan 7 spot pada fraksi 1 dan 3 sedangkan fraksi 2 menghasilkan 6 spot. Uji BSLT memerlukan konsentrasi minimal agar dapat dilarutkan untuk dibuat larutan dan dikuantifikasi konsentrasinya (Hanh *et al* 2022). Supaya konsentrasinya cukup untuk uji BSLT maka dilakukan penggabungan hasil fraksi KLTP. Berdasarkan hal ini maka beberapa fraksi yang memiliki pola pemisahan yang sama digabungkan sehingga diperoleh tiga fraksi.

Fraksi gabungan yang digunakan untuk uji BSLT yaitu F1-56 (gabungan hasil KLTP fraksi 5 dan 6 yang berasal dari F1), F17 (hasil KLTP fraksi 7 yang berasal dari F1), dan F2-234 (gabungan hasil KLTP fraksi 2, 3, dan 4 yang berasal dari F2). Fraksi yang lain tidak dapat diuji BSLT karena massanya tidak mencukupi untuk dibuat larutan sekalipun telah digabung dengan fraksi lainnya yang sejenis. Pemurnian F1 menghasilkan fraksi yang lebih toksik, hal ini terlihat dari nilai  $LC_{50}$  F17 (325 ppm) yang lebih kecil dari pada F1 (761 ppm). Dua fraksi lainnya, F1-56 dan F2-234 tidak toksik sama sekali karena nilai  $LC_{50}$  yang sangat

besar (>1000 ppm). Pada umumnya hasil pemurnian F1, F2, dan F3 menunjukkan hasil yang kurang toksik, sehingga pemurnian senyawa untuk memperoleh senyawa toksik tidak diperoleh hasil. Dengan demikian senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol buah mahkota dewa bersifat sinergis, yaitu akan menghasilkan efek toksisitas yang tinggi ( $LC_{50} < 1000$  ppm) apabila tetap tergabung dalam komposisi awal. Nilai toksisitasnya kan menurun ( $LC_{50} > 1000$  ppm) apabila dipisahkan atau berbeda dengan komposisi awal. Oleh karena itu perlu dilakukan pemilihan sistem pelarut yang dapat menghasilkan fraksi yang lebih aktif. Hasil KLTP Fraksinasi kromatografi kolom ekstrak metanol buah mahkota dewa dan uji mortalitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dapat di lihat pada Tabel 3.

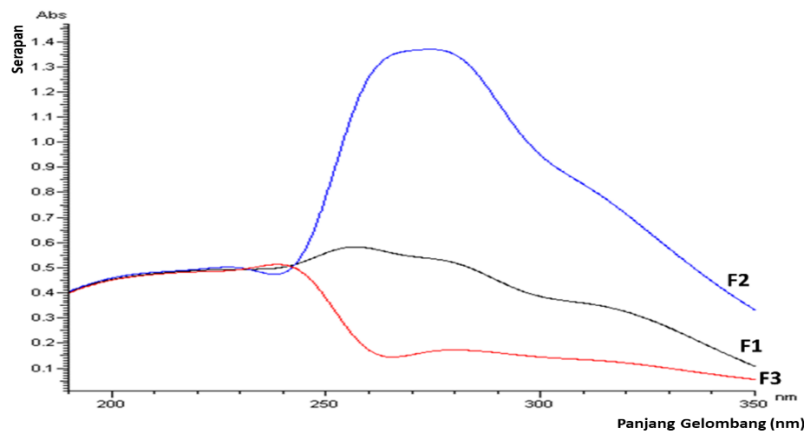
Tabel 3 Hasil KLTP Fraksinasi kromatografi kolom ekstrak metanol buah mahkota dewa dan uji mortalitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach

Fraksi sebelum KLTP	Fraksi Hasil KLTP	Massa (g)	Penggabungan Fraksi	Massa (g)	LC 50 (ppm)	
					Massa Tidak Cukup	Massa Cukup
F1	F11	0,0017	F1-12	0,0037	√	
	F12	0,0020				
	F13	0,0025	F1-34	0,0056	√	
	F14	0,0031				
	F15	0,0133	F1-56	0,0207		
	F16	0,0074				
	F17	0,0403	F17	0,0403		
	F21	0,0051	F21	0,0051	√	
F2	F22	0,0094	F2-234	0,0318		
	F23	0,0144				
	F24	0,0080				
	F25	0,0006	F2-56	0,0149	√	
	F26	0,0143				
	F31	0,0066	F31	0,0066	√	
	F3	F32	0,0043	F4-33	0,0113	√
F33		0,0070				
F34		0,0032	F3-456	0,0125	√	
F35		0,0039				
F36		0,0054				
F37	0,0056	F37	0,0056	√		

Karakterisasi hasil fraksinasi kolom ekstrak metanol buah mahkota dewa dilakukan menggunakan spektrofotometer ultraviolet (UV) untuk melihat pola serapan dan transisi elektronik yang terjadi saat menyerap sinar pada daerah ultraviolet. Sedangkan spektrofotometer Fourier Transform infra merah (FTIR) digunakan untuk melihat jenis gugus fungsi yang terdapat dalam sampel. Karakterisasi dilakukan terhadap Fraksi yang aktif, yaitu F1, F2, dan F3

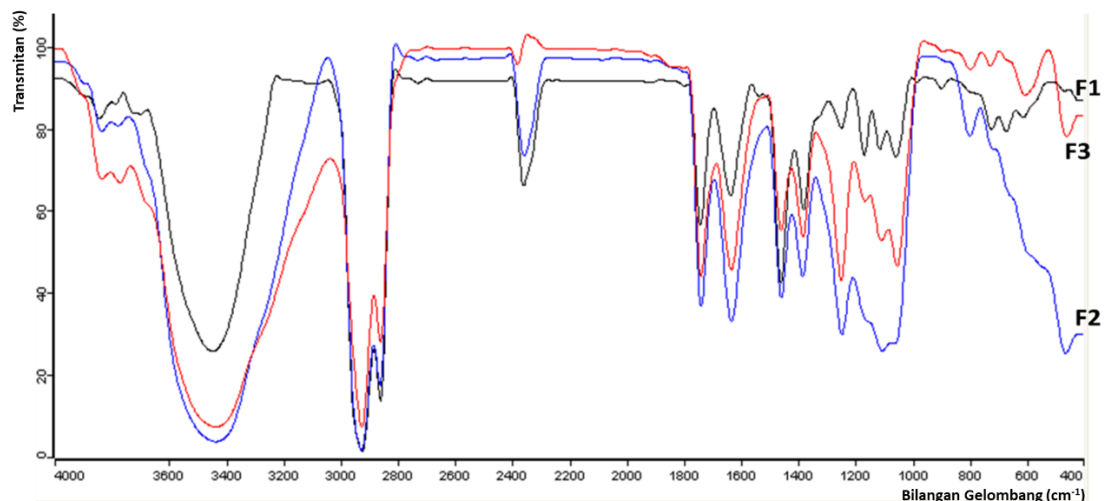


sedangkan Fraksi F1-56, F17, dan F2-234 tidak dapat dikarakterisasi karena ekstraknya tidak mencukupi untuk kebutuhan karakterisasi.



Gambar 1 Spektrum serapan F1, F2, dan F3 ekstrak metanol buah mahkota dewa

Fraksi F1, F2, dan F3 menunjukkan serapan pada daerah panjang gelombang 190-350 nm. Fraksi F3 memiliki energi yang lebih besar dibandingkan Fraksi F1 dan F2. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh berturut-turut adalah 243,6 (F3); 253,0 (F1); dan 274,6nm (F3) (Gambar 1). Ke-3 fraksi mengalami transisi energi  $n - \sigma^*$ ,  $\pi - \pi^*$ , dan  $n - \pi^*$ . Senyawa yang terdapat dalam ke-3 fraksi tersebut diduga memiliki kromofor yang mempunyai pasangan elektron sunyi dan orbital  $\pi$  atau mempunyai pasangan elektron sunyi terkonjugasi dengan atom lain yang mempunyai orbital  $\pi$ .



Gambar 2 Spektrum FTIR F1, F2, dan F3 ekstrak metanol buah mahkota dewa

Karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR dilakukan untuk melihat gugus fungsi yang terdapat dalam fraksi F1, F2, dan F3. Gambar 2 memperlihatkan adanya serapan C-N, dan N-H. Berdasarkan data tersebut, ke-3 fraksi diduga mengandung senyawa alkaloid, hal ini diperkuat dengan hasil uji fitokimia yang menunjukkan terbentuknya endapan kuning dengan pereaksi Dragendorff, yaitu terbentuknya senyawa adisi dengan alkaloid yang tidak larut.

Alkaloid merupakan senyawa yang selalu memiliki unsur nitrogen. Pada Gambar 2 terdapat serapan pada bilangan gelombang  $3600-3100\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan serapan gugus fungsi amina dan alkohol yang bertumpang tindih (Maharani *et al*/ 2021),  $3000\text{cm}^{-1}$  serapan alkil,  $2300\text{cm}^{-1}$  serapan gugus  $\text{C}\equiv\text{N}$ ,  $1700\text{cm}^{-1}$  serapan gugus  $\text{C}=\text{O}$ ,  $1600\text{cm}^{-1}$  serapan gugus  $\text{C}-\text{N}$ . dan  $1200\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya serapan  $\text{C}-\text{O}$  (Hendra 2012).

## SIMPULAN

Ekstrak metanol buah mahkota dewa memiliki rendemen sebesar 9,51% dengan kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan tanin. Hasil fraksinasi ekstrak metanol dengan kromatografi kolom menghasilkan 3 fraksi dengan nilai  $\text{LC}_{50}$  masing-masing 761, 53, dan 91 ppm. Ke-3 Fraksi tersebut kemudian dipisahkan lagi menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif, menghasilkan 7 spot pada fraksi 1 dan 3 sedangkan fraksi 2 menghasilkan 6 spot. Hasil pemurnian menggunakan KLTP menunjukkan toksisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan fraksi kasarnya. Identifikasi spektrofotometer ultra violet dan infra merah menunjukkan bahwa hasil fraksinasi kolom kromatografi terhadap ekstrak metanol buah mahkota dewa diduga memiliki gugus fungsi amina yang merupakan ciri khas dari alkaloid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Astriyai W, P Surjowardojo, TE Susilorini. 2017. Daya Hambat Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* L.) Dengan Pelarut Ethanol Dan Aquades Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *Journal of Tropical Animal Production*. 18(2): 8-13.
- Dong F dan Jiang R W. 2011. Research Progress of the Natural Products against Prostate Cancer. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 9 (2) : 0081-0089.
- Hahn WC, JS Bader, TP Braun, A Califano, PA Clemons, BJ Druker, AJ Ewald, H Fu, S Jagu, CJ Kemp, W Kim, CJ Kuo, MT McManus, GB Mills, X Mo, N Sahni, SL Schreiber, JA Talamas, P Tamayo, JW Tyner, BK Wagner, WA Weiss, DS Gerhard, the Cancer Target Discovery and Development Network. 2022. Perspective: An Expanded Universe of Cancer Targets. *Cell* 184 : 1142-1155.
- Hendra P. 2012. Review: Peluang Mahkota Dewa Sebagai Antikanker. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta*. 9 (2) : 104-107.
- Infodatin. 2019. Beban Kanker di Indonesia. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 1-16.
- Iswantini D, Syahbirin G, Salim. Daya Inhibisi Ekstrak Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) Terhadap Aktivitas Enzim Tirosin Kinase Secara Invitro. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Tradisional XXIX; 2006, Solo, Indonesia.

- Kintoko, Pihie AHL. Efek Antiproliferasi Ekstrak Etanol dari *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Pada Titisan Sel Kanker Manusia, Seminar Ilmiah Nasional, 2009, Yogyakarta, Indonesia.
- Lee H, SM Woo, H Jang, M Kang, SY Kim. 2022. Cancer Depends on Fatty Acids for ATP Production : A Possible Link Between Cancer and Obesity. *Seminars in Cancer Biology*. 1-11.
- Lim YP, SF Pang, MM Yusoff, SK Abdul Mudalip, J Gim bun, 2019. Correlation Between the Extraction Yield of Mangiferin to the Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid Content of *Phaleria macrocarpa* Fruits. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 14: 1-11.
- Maharani M, L Lajuna, C Yuniwati, O Sabrida, S Sutrisno, 2021. Phytochemical Characteristics from *Phaleria macrocarpa* and Its Inhibitory Activity on the Peritoneal Damage of Endometriosis. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* 12: 229-233.
- Melo LMN, NP Lesner, M Sabatier, JM Ubellacker, A Tasdogan. 2022. Emerging Metabolomic Tools to Study Cancer Metastasis. 1-14
- Pallikonda HA, Turajlic S. 2022. Predicting Cancer Evolution for Patient Benefit : Renal cell carcinoma paradigm. *BBA - Reviews on Cancer* 18 : 77-88.
- Soeksmanto A, Y Hapsari, P Simanjuntak. 2007. Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae). *Biodiversitas*. 8(2): 92-95
- Sunardi C, Moelyono MW, Agustina. Runutan Fraksi Toksik Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.)Boerl) dengan Metode BST. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Tradisional XXIX; 2006, Solo, Indonesia.