

SCREENING OF PHYTOCHEMICALS AND BIOACTIVITY TEST OF THE LEAVES BREADFRUIT (*Artocarpus altilis*)

Skrining Fitokimia dan Uji Bioaktivitas Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Rosmawaty¹, Hellna Tehubijuluw²

^{1,2}Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Pattimura University, Kampus Poka, Jl. Ir. M. Putuhena, Ambon 97134

Received: Juni 2013 Published: July 2013

ABSTRACT

Screening phytochemical and bioactivity test of breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*) have been done. The samples were used in the study extracted by maceration method with some solvent polarity enhanced, there are: n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and methanol. The bioactivity test use BST (Brine Shrimp Lethality test). The activity assay use brine shrimp *A. salina* Leach. Content of the secondary metabolites in four crude extract of leaves of breadfruit (*A. altilis*) are alkaloids, steroids, terpenoids, and flavonoids. Whereas only phenolic compounds contained in the crude extract of chloroform and methanol. The saponins content only in the crude extract methanol. The fourth test of bioactivity of the crude extract of leaves of breadfruit there are: n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and methanol had LC₅₀: > 1000 mg / mL; 387.436 mg / mL; 415.623 mg / mL; and 392.826 mg / mL respectively. The crude extract of chloroform, ethyl acetate, and methanol classified active in the BST test to brine shrimp *A. salina*, while the crude extract n-hexane classified as inactive. The Leaves of breadfruit (*A. altilis*) has potential to be used as medicine.

Keywords : BST, screening, phytochemical, breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*), bioactivity.

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia dapat dimanfaatkan dalam semua aspek kehidupan manusia, diantaranya sebagai senyawa obat, pewarna, pestisida, pewangi, dan bahan kosmetik. Serangkaian penelitian dilakukan dengan dasar pertimbangan bahwa tumbuhan merupakan tempat terjadinya sintesis senyawa organik yang kompleks menghasilkan sederet golongan senyawa dengan berbagai macam struktur.

Moraceae terdiri atas tiga genus utama yaitu *Ficus*, *Morus*, dan *Artocarpus*. Genus *Artocarpus* dikenal sebagai tumbuhan nangka-nangkaan yang terdiri dari 60 spesies yang tersebar di Asia Tenggara dan Asia Selatan, sekitar 80% dari jumlah tersebut terdapat di Indonesia (Jarret, 1960 dalam Ersam, 2001). Beberapa spesies dari genus *Artocarpus* yang sangat populer dan sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia antara lain *Artocarpus heterophyllus* (nangka), *Artocarpus champeden* (cempedak), dan *Artocarpus altilis* (sukun).

Artocarpus altilis tergolong tanaman tropik sejati, tumbuh paling baik di dataran rendah yang panas. Tanaman ini tumbuh baik di daerah basah, tetapi juga dapat tumbuh di daerah yang sangat kering asalkan ada air tanah dan aerasi tanah yang cukup. *A. altilis* bahkan dapat tumbuh baik di pulau karang dan di pantai. Di musim kering, disaat tanaman lain tidak dapat atau menurun produksinya, justru *A. altilis* dapat tumbuh dan berbuah dengan lebat. Tidak heran, jika *A. altilis* dijadikan sebagai salah satu cadangan pangan nasional (Koswara, 2006). Selain itu tumbuhan ini digunakan antara lain sebagai bahan bangunan dan bahan ramuan obat tradisional untuk pengobatan malaria, disentri, dan penyakit kulit. Daun sukun efektif mengobati penyakit seperti liver, hepatitis, sakit gigi, gatal-gatal, pembesaran limpa, jantung, dan ginjal (Heyne, 1987). Kemampuan daun *A. altilis* dalam menyembuhkan penyakit tidak lepas dari adanya senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada daun tersebut.

Lima senyawa geranil dihidrocalkon yaitu 1-(2,4-dihidroksifenil)-3-{4 hidroksi-6,6,9-trimetil-

6a,7,8,10a-tetrahidro-6H-dibenzo[*b,d*]piran-5-il]-1-propanon; 1-(2,4-dihidroksifenil)-3-[3,4dihidro-3,8-dihidroksi-2-metil-2-(4-metil-3-pentenil)-2H-1 benzopiran-5-il]-1-propanon; 1-(2,4dihidroksifenil)-3-[8-hidroksi-2-metill-2-(3,4-epoksi-4-metill-1-pentenil)-2H-1-benzopiran-5-il]-1-propanon; 1-(2,4dihidroksifenil)-3-[8-hidroksi-2-metil-2-(4-hidroksi-4-metill-2-pentenil)-2H-1-benzopiran-5-il]-1-propanon, dan 2-[6-hidroksi-3,7-dimetilokta-2(*E*),7-dienil]-2,3,4,4-tetrahidroksidihidroalkon, serta empat senyawa geranil flavonoids telah diisolasi dari daun *A. altilis*. Tiga di antara lima senyawa geranil dihidroalkon tersebut bersifat sitotoksik terhadap SPC-A-1, SW-480, dan sel kanker SMMC-7721 (Yu dkk., 2007).

Penelitian mengenai *A. altilis* di Indonesia telah dilaporkan sebelumnya. Hasil penelitian tersebut menunjukkan berbagai senyawa turunan flavonoid telah diisolasi dari hampir seluruh bagian tanaman tersebut. Pada ekstrak benzen kulit akar diperoleh sikloartobilosanton (1) dan artonol B (2); pada bagian kayu akar terdapat sikloartokarpin (3) dan artoindonesianin F (4). Pada bagian kulit batang *A. altilis* diisolasi senyawa morusin (5) dan artonin E (6) dari ekstrak etilasetat; dari ekstrak kayu batang fraksi n-heksan diperoleh artokarpin (7), caplasin (8) dan artoindonesianin B (9). Dari ekstrak etilasetat daun telah diidentifikasi suatu dihidroalkon yaitu 2-geranil-2',4',3,4-tetrahidroksi dihidroalkon (10), serta dua turunan fenolik yang belum teridentifikasi (Ersam dkk., 1999; Ersam dkk., 2000; Erwin dkk., 2001; Bachtiar, 2004).

Sejumlah senyawa tersebut memperlihatkan aktivitas yang menarik seperti antiinflamasi, sitotoksik, dan inhibitor enzim. Banyak metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas suatu senyawa. Salah satunya adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) dengan menggunakan benur udang *Artemia salina* untuk menentukan toksisitas suatu senyawa. Metode BST merupakan metode yang sederhana dan memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antikanker (Mayer dkk., 1982).

Penelitian mengenai *A. altilis* yang telah dilaporkan sebelumnya namun terkonsentrasi pada kawasan barat Indonesia, karena semua

sampel yang diteliti berasal dari Sumatera Barat dan Jawa Barat. Adapun isolasi senyawa dari daun *A. altilis* yang berasal dari wilayah timur Indonesia khususnya Maluku belum pernah dilaporkan.

METODE PENELITIAN

A. Pengumpulan bahan tumbuhan

Daun sukun (*Artocarpus altilis*) diperoleh dari Desa Tengah-Tengah Kecamatan Salahutu Kabupaten Maluku Tengah, Maluku.

B. Ekstraksi

Pada penelitian ini daun sukun dalam bentuk serbuk sebanyak 50 g diekstrak dengan menggunakan pelarut n-heksan dengan cara maserasi selama 24 jam, kemudian residu dari hasil maserasi dengan pelarut n-heksan dimaserasi lagi menggunakan pelarut kloroform selama 24 jam. Selanjutnya dimaserasi kembali residu dari hasil maserasi pelarut kloroform dengan menggunakan pelarut etil asetat selama 24 jam. Langkah terakhir yaitu maserasi residu etil asetat selama 24 jam dengan pelarut metanol. Selanjutnya maserat atau ekstrak dari ke empat pelarut tersebut dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kasar. Kemudian terhadap keempat ekstrak tersebut dilakukan uji fitokimia dan uji bioaktivitas dengan menggunakan udang *Artemia salina* (*Brine Shrimp Lethality Test*).

C. Uji fitokimia

1. Senyawa alkaloid

Uji senyawa alkaloid menggunakan pereaksi Mayer. Pereaksi Mayer dibuat dengan melarutkan 0,2 gram HgCl₂ dengan 6 mL akuades dan sebanyak 0,5 gram KI dilarutkan dalam 1 mL akuades. Kedua larutan tersebut dicampur. Cara kerja uji alkaloid, yaitu: sampel dilarutkan dengan asam klorida 0,1 N kemudian dimaserasi selama 2 jam. Hasil maserasi tersebut ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer. Adanya warna kuning menandakan positif alkaloid.

2. Senyawa terpenoid, steroid, fenolik dan flavonoid

Sampel dikocok kuat dengan kloroform lalu ditambahkan akuades, biarkan sampai terbentuk dua lapisan.

a. Lapisan kloroform

Diteteskan pada plat tetes dan biarkan kering, tambahkan beberapa tetes asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann Burchard). Terbentuknya warna merah atau jingga menandakan positif untuk senyawa terpenoid dan terbentuknya warna biru atau hijau positif untuk steroid.

b. Lapisan air

1. Beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi ditambahkan besi (III) klorida, jika timbul warna hijau sampai ungu menandakan positif fenolik.
2. Beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi, ditambahkan asam klorida pekat dan serbuk magnesium, jika timbul warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

3. Senyawa saponin/ uji Froth

Sedikit ekstrak kasar diekstraksi dengan dietil eter tiga kali dan fraksi yang larut dalam dietil eter dipisahkan. Sisa residu yang tidak larut dalam dietil eter ditambahkan 5 ml air lalu dikocok, Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil kira-kira 15 menit (Simes dkk., 1959 dalam Sutisna, 2000).

4. Uji bioaktivitas terhadap benur udang *Artemia salina* Leach

Uji bioaktivitas yang digunakan adalah BST yang dilakukan terhadap benur udang *A. salina*. Uji ini mempunyai korelasi positif dengan uji-uji sekunder yang lain, seperti sebagai anti-tumor sel murni leukemia P-388 maupun anti-kanker (Mayer dkk., 1982). Prosedur uji aktivitas sebagai berikut: 1 mg sampel dalam tabung ependorf dilarutkan dengan DMSO sebanyak 100 ~ L kemudian diencerkan dengan 150 ~ L akuabides. Dari pengenceran tersebut diambil 200 ~ L diencerkan kembali dengan 600 ~ L akuabides. Selanjutnya pengenceran dilakukan dalam mikroplate dengan variasi konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6; dan 7,8 ~ g/mL

untuk tiap lubang pada mikroplate dan dilakukan secara triplo. Benur udang *A. salina* yang berumur 48 jam dipipet sebanyak 100 ~ L dengan jumlah benur 7-15 ekor lalu dimasukkan pada tiap lubang pada mikroplate yang berisi sampel, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Perlakuan ini juga dilakukan pada kontrol sebagai kontrol negatif. Setelah 24 jam jumlah benur udang yang mati dan yang hidup pada tiap lubang dihitung. Data jumlah rata-rata udang yang mati dan jumlah total udang pada tiap variasi konsentrasi sampel kemudian dimasukkan dalam program komputer "Bliss method" untuk menentukan nilai LC_{50} , pengeceran tambahan mungkin diperlukan untuk zat yang sangat aktif (Mayer dkk., 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Uji Fitokimia

Pada penelitian ini sampel daun sukun yang telah dihaluskan, diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut n-heksan selama 24 jam. Kemudian residu dari hasil maserasi dengan pelarut n-heksan dimaserasi lagi menggunakan pelarut kloroform selama 24 jam. Selanjutnya dimaserasi kembali residu dari hasil maserasi pelarut kloroform dengan menggunakan pelarut etil asetat selama 24 jam. Langkah terakhir yaitu maserasi residu etil asetat selama 24 jam dengan pelarut metanol. Selanjutnya maserat atau ekstrak dari keempat pelarut tersebut dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak kasar yang diperoleh dari keempat pelarut tersebut yaitu: n-heksan 2,10 g; koroform 0,54 g; etil asetat 1,17 g; dan metanol 1,72 g.

Hasil uji fitokimia daun sukun dari keempat ekstrak kasarnya yaitu: n-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol, dapat dilihat pada Tabel 3. Tabel 3 menunjukkan bahwa keempat ekstrak kasar daun sukun mengandung sebagian besar golongan senyawa berdasarkan uji fitokimia yaitu alkaloid, terpenoid, steroid, fenolik, flavonoid, dan saponin. Steroid menurut Simes dkk. (1959) dalam Sutisna (2000) memberikan hasil yang positif apabila ekstrak kasar sampel ditambah pereaksi Liebermann-Burchard memberikan warna biru atau hijau. Sedangkan terbentuknya warna merah hingga jingga dengan

penambahan pereaksi Libermann-Burchard manandakan positif adanya terpenoid. Warna biru kehijau-hijauan dan merah hingga jingga yang ditimbulkan pada penambahan pereaksi Libermann-Burchard pada keempat ekstrak kasar daun sukun dimungkinkan adanya steroid dan terpenoid. Menurut Chozin (1996) dalam Sutisna (2000), flavonoid memberikan hasil yang positif apabila ekstrak kasar sampel ditambah serbuk Mg dan HCl pekat memberikan warna merah, sedangkan positif fenolik apabila ekstrak kasar sampel berwarna hijau setelah ditambahkan pereaksi FeCl₃. Warna merah yang

dari senyawa terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk mengetahui ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas. Uji bioaktivitas primer yang lazim dilakukan pada ekstrak maupun senyawa-senyawa bahan alam adalah *Brine Shrimp Lethality Test*. Uji bioaktivitas ini dilakukan terhadap benur udang *Artemia salina* Leach (Mayer, dkk., 1982).

Uji bioaktivitas dari keempat ekstrak kasar daun sukun yaitu: n-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol terhadap *A. salina* dapat dilihat pada Tabel 4. Keempat ekstrak kasar dari daun sukun (*A. altilis*) yaitu: n-heksan,

Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar daun sukun dari pelarut n-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol

No.	Ekstrak kasar	Golongan senyawa					
		Alkaloid	Terpen	Steroid	Fenolik	Flavonoid	Saponin
1.	n-heksan	+	+	+	-	+	-
2.	Kloroform	+	+	+	-	+	-
3.	Etil asetat	+	+	+	+	+	-
4.	Metanol	+	+	+	+	+	+

ditimbulkan pada penambahan serbuk Mg dan HCl pekat pada keempat ekstrak kasar daun sukun dimungkinkan adanya flavonoid.

Warna hijau pada ekstrak kasar etil asetat dan metanol yang ditimbulkan pada penambahan pereaksi FeCl₃ dimungkinkan adanya fenolik, sedangkan pada ekstrak kasar n-heksan dan kloroform tidak terbentuk warna hijau. Saponin menurut Simes dkk. (1959) dalam Sutisna (2000) memberikan hasil yang positif apabila ekstrak kasar sampel ditambah air lalu dikocok menimbulkan busa yang stabil kira-kira 15 menit. Busa yang stabil kira-kira 15 menit yang ditimbulkan pada ekstrak kasar metanol daun sukun dimungkinkan adanya saponin, sedangkan ketiga ekstrak kasar lainnya dari daun sukun larut sempurna dalam pelarut dietil eter. Terbentuknya warna kuning dengan penambahan pereaksi Mayer menandakan positif adanya alkaloid. Warna kuning yang terbentuk dengan penambahan pereaksi Mayer pada keempat ekstrak kasar daun sukun tersebut, dimungkinkan adanya alkaloid.

4.2 Uji Bioaktivitas terhadap benur udang *Artemia salina* Leach

Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi. Oleh karena itu daya bunuh *in vivo*

kloroform, etil asetat, dan metanol, diuji bioaktivitasnya dengan menggunakan metode BST (*Brine Shrimp Lethality Test*) sesuai dengan cara yang diuraikan oleh Mayer. Menurut Mayer dkk. (1982), suatu ekstrak dikatakan berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antikanker apabila ekstrak tersebut mampu menyebabkan kematian 50% larva udang *A. salina* pada kadar lebih kecil atau sama dengan 1000 µg/mL.

Tabel 4. Nilai LC₅₀ dari uji bioaktivitas keempat ekstrak kasar daun sukun (*A. altilis*)

No.	Ekstrak Kasar	LC ₅₀ (µg/mL)
1.	n-heksan	>1000
2.	Kloroform	387,436
3.	Etil asetat	415,623
4.	Metanol	392,826

Hasil uji menunjukkan adanya bioaktivitas yang cukup tinggi pada ekstrak kasar kloroform, etil asetat, dan metanol. Nilai LC₅₀ dari ketiga ekstrak kasar tersebut di bawah 1000 µg/mL. Dimana ekstrak kasar kloroform merupakan ekstrak daun sukun yang paling aktif, kemudian diikuti dengan ekstrak kasar metanol dan etil asetat. Sedangkan ekstrak kasar n-heksan tergolong tidak aktif karena memiliki nilai LC₅₀ di atas 1000 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa

daun sukun (*A. altilis*) memiliki potensi untuk dijadikan obat.

KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam keempat ekstrak kasar daun sukun (*A. altilis*) adalah alkaloid, steroid, terpenoid, dan flavonoid. Sedangkan senyawa fenolik hanya terkandung dalam ekstrak kasar kloroform dan metanol. Saponin hanya terkandung dalam ekstrak kasar metanol.
2. Uji bioaktivitas keempat ekstrak kasar daun sukun yaitu: n-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol memiliki nilai LC_{50} berturut-turut: $> 1000 \mu\text{g/mL}$; $387,436 \mu\text{g/mL}$; $415,623 \mu\text{g/mL}$; dan $392,826 \mu\text{g/mL}$. Ekstrak kasar kloroform, etil asetat, dan metanol tergolong aktif dalam uji BST terhadap benur udang *A. salina*, sedangkan ekstrak kasar n-heksan tergolong tidak aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Bachtiar, E., 2004, *Flavonoid dari Daun Artocarpus altilis*, Tesis, Jurusan Kimia ITB, Bandung.
- Ersam, T., Achmad, S. A., Ghisalberty, E. L., Hakim, E. H., Tamin, R., 1999, Dua Senyawa Isoprenilflavon dari Kulit Akar *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, *Seminar Nasional Kimia Bahan Alam '99*, Universitas Indonesia, Depok.
- Ersam, T., Achmad, S. A., Ghisalberty, E. L., Hakim, E. H., Tamin, R., 2000, Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari *Artocarpus altilis*, *Seminar Kimia Bersama ITB-UKM IV*, 259-266.
- Erwin, Hakim E.H., Achmad S.A., Syah, Y.M., Aimi N., Kitajima M., Makmur L., Mujahidin D., Takayama H., 2001, Artoindosianin-B Suatu Senyawa yang Bersifat Sitotoksik terhadap Sel Tumor P-338 dari Tumbuhan *Artocarpus altilis*, *Bull. Soc. Nat. Prod. Chem.*, **1**, 20-23.
- Ersam, T., 2001, *Senyawa Kimia Makromolekul Beberapa Tumbuhan Artocarpus Hutan Tropika Sumatera Barat*, Disertasi, Jurusan Kimia ITB, Bandung.
- Koswara, S., 2006, *Sukun Sebagai Cadangan Pangan Alternatif*, online, ebookpangan.com, diakses tanggal 08 Juli 2011.
- Mayer, N., Ferriginii, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, D. E., Nichols, D., E., McLaughlin, J. L., 1982, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med.*, **45**, 31.
- Sutisna, I., 2000, *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Triterpenoid Lanostana dari Kulit Kayu Danglo (Macaranga javanica Muell Arg)*, Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- Yu, W., Kedi, X., Lin, L., Yuanjiang, P., dan Xiaoxiang, Z., 2007, Geranyl Flavonoids from The Leaves of *Artocarpus altilis*, *Research Article*.