

Isolasi dan Identifikasi *Jatrophe* dari Akar Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia*) serta Evaluasi Sifat Toksik dan Sitotoksiknya

(Isolation and Identification of Jatrophe from the Root of *Jatropha gossypifolia* and Evaluation of Its Toxicity and Cytotoxicity)

SAHIDIN^{1*}, ARDIANSYAH², MUHAMAD TAHER³

¹Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Haluoleo, Kendari Sulawesi Tenggara.

²Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Haluoleo Kendari, Sul. Teng.

³Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, International Islamic University Malaysia, Jalan Istana, Bandar Mahkota 25200 Kuantan, Pahang, Malaysia.

Diterima 7 September 2009, Disetujui 10 Maret 2010

Abstrak: Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari akar jarak merah (*Jatropha gossypifolia*), serta uji sifat toksik terhadap mikroba dan sitotoksiknya terhadap sel tumor telah dilakukan. Isolasi senyawa dikerjakan dengan menggunakan kromatografi kolom vakum (adsorben: silika gel, eluen: campuran n-heksan, etilasetat, kloroform, dan metanol). Identifikasi struktur dilakukan menggunakan teknik spektroskopi (FTIR, NMR-1D, 13C/DEPT, NMR-2D) dan membandingkan data tersebut dengan data sejenis yang telah dilaporkan. Sifat toksik dievaluasi terhadap bakteri *Acetobacter* sp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus* sp., jamur *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. (grey), *Penicillium* sp. (white) dan *Rhizopus* sp., serta sitotoksik pada sel murine leukemia P-388. Isolat yang diperoleh berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih dan teridentifikasi sebagai *jatrophe*. *Jatrophe* paling kuat menghambat pertumbuhan bakteri *Acetobacter* sp. dengan zona hambat 3,6 cm dan paling aktif terhadap fungsi *A. niger* dengan zona hambat 4,4 cm. Sementara itu, sifat sitotoksiknya terhadap sel murine leukemia P-388 memperlihatkan sifat kurang aktif dengan nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

Kata kunci: *jatrophe*, *Jatropha gossypifolia*, antibakteri, antijamur, sitotoksik.

Abstract: Isolation and identification of secondary metabolites from root of *Jatropha gossypifolia*, and also its biological activity test toward microbes and tumor cells have been conducted. Isolation was carried out by using vacuum liquid chromatography (VLC) method (adsorbent: silica gel, eluent: mixture of n-hexane, ethylacetate, chloroform, and methanol). The isolate molecular structure was determined by spectroscopic technique i.e. FTIR, NMR-1D, 13C-DEPT, NMR-2D, comparing the data obtained with related data from literatures. Its biological activity was evaluated against bacteria (*Acetobacter* sp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus* sp.), fungi (*Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. [grey], *Penicillium* sp. [white] and *Rhizopus* sp.), and murine leukemia P-388 cells. The results showed that the isolate is a white needle crystal which is identified as *jatrophe*. *Jatrophe* is very active toward *Acetobacter* sp. (bacteria) and *A. niger* (fungi) with growth inhibition zone of 3.6 cm and 4.4 cm, respectively. Meanwhile, *jatrophe* has low activity against murine leukemia P-388 cells with $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

Keywords: *jatrophe*, *Jatropha gossypifolia*, antibacteria, antifungal, cytotoxic.

* Penulis korespondensi, Hp. 081341888268
e-mail: Sahidin02@yahoo.com

PENDAHULUAN

JARAK merah (*Jatropha gossypifolia*, Euphorbiaceae) dikenal memiliki manfaat beragam dalam bidang pengobatan⁽¹⁾. Secara etnobotani, biji tanaman ini dimanfaatkan sebagai obat pencahar⁽²⁾, kulit dan akar digunakan sebagai antibiotik, *anti-fertility agent* dan bahan pembersih darah⁽³⁾. Masyarakat di Indonesia memanfaatkan getah jarak merah sebagai obat kumur pada gusi berdarah, sementara daunnya digunakan pada pengobatan pembengkakan mata kuda yang disebabkan oleh lalat kuda⁽⁴⁾.

Kajian bioaktivitas ekstrak jaringan tanaman *J. gossypifolia* juga memperlihatkan berbagai sifat biologis. Ekstrak berbagai jaringan tanaman ini mempengaruhi sistem imun⁽⁵⁾, toksik terhadap telur *Lymnaea luteola* yang merupakan inang *intermediate* dari beberapa mikroba penyebab penyakit di India seperti *Schistosoma incognitum*, *S. nasale*, *Orientobilharzia dattae*, *Fasciola hepatica*, *F. gigantica*⁽⁶⁾. Selain itu, ekstrak tanaman jarak merah juga merupakan antimikroba terhadap *E. coli*, *S. typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus aureus*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus vulgaris*, dan *Candida albicans*⁽⁷⁾. Kulit akar dan akar *J. gossypifolia* aktif terhadap bakteri (*Acetobacter* sp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus* sp.), dan jamur (*Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. (abu-abu), *Penicillium* sp. (putih) dan *Rhizopus* sp.⁽⁸⁾. Keragaman aktivitas tersebut tentunya tidak terlepas dari kandungannya kimia.

Beragamnya aktivitas biologis yang ditunjukkan oleh tanaman jarak merah dan belum adanya kajian aktivitas metabolit sekunder dari tanaman ini terhadap bakteri (*E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus* sp. dan *Acetobacter* sp.), jamur (*A. niger*, *Penicillium* sp. [abu-abu], *Penicillium* sp. [putih] dan *Rhizopus* sp.), serta sifat sitotoksiknya, mendorong peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang metabolit sekunder dan bioaktivitasnya, khususnya dari jaringan akar.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan Penelitian. Bahan yang digunakan adalah kulit akar *J. gossypifolia*, diperoleh dari Pusat Koleksi dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Sulawesi Tenggara “Arboretum Prof. Mahmud Hamundu”, Universitas Haluoleo. Tanaman tersebut diidentifikasi oleh Staf Herbarium Bogoriense, Bogor.

Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan meliputi Si-gel 60 GF254 (Merck) untuk kromatografi kolom vakum (KKV), plat KLT Kieselgel 60 F254 0,25 mm (Merck), dan pelarut yang digunakan semuanya berkualitas teknis yang didestilasi.

Alat. Seperangkat alat isolasi terbuat dari gelas, termasuk perangkat KKV dan *vacuum rotary evaporator*. Spektrum IR: Varian 1000, dikerjakan di Laboratorium kimia FMIPA Universitas Haluoleo. Spektrum 1H dan 13C NMR: ECP 500 yang beroprasi pada 500 MHz (1H) dan 125 MHz (13C), dikerjakan di Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong.

METODE. Serbuk kulit akar *J. gossypifolia* (1,0 kg) dimerasi dengan metanol 3 x 3 L selama 3 x 24 jam. Ekstrak metanol dipekatkan pada tekanan rendah dan diperoleh gum berwarna coklat gelap (100 g). Sebanyak 50 g ekstrak metanol difraksinasi dengan KKV menggunakan kolom Φ 10 cm, adsorben: Si-gel (150 g) dan eluen gradien etilasetat-n-heksan (40:60) sampai (100:0) dalam 10 menit dilanjutkan dengan etilasetat-metanol (100:0) sampai (0:100) dalam 10 menit, menghasilkan 4 fraksi, yaitu F1–F4, masing-masing F1 (5,1 g), F2 (18,0 g), F3 (14,3 g) dan F4 (21,6 g). Seluruh F2 difraksinasi lagi dengan KKV menggunakan kolom Φ 5 cm, adsorben: Si-gel (70 g) dan eluen gradien etilasetat-n-heksan (30:70) sampai (100:0) dalam 10 menit, dilanjutkan dengan etilasetat-metanol (100:0) sampai (0:100) dalam 10 menit, menghasilkan 5 fraksi, F1 (1,2 g), F2 (3,0 g), F3 (4,8 g), F4 (2,2 g) dan F5 (5,1 g). Selanjutnya F3 difraksinasi kembali dengan KKV menggunakan kolom Φ 2 cm, adsorben: Si-gel (20 g) dan eluen campuran gradien kloroform-n-heksan (30:70) sampai (100:0) dalam 10 menit, dilanjutkan dengan etilasetat-metanol (100:0) sampai (0:100) dalam 10 menit, menghasilkan 4 fraksi, yaitu F1–F4, masing-masing F1 (0,4 g), F2 (1,1 g, kristal), F3 (1,3 g) dan F4 (1,6 g). Fraksi F2 selanjutnya direkristalisasi menghasilkan senyawa murni sebanyak 0,3 g.

Senyawa murni tersebut selanjutnya ditentukan strukturnya menggunakan teknik spektroskopi, yaitu FTIR, NMR 1-D (1H dan 13C) dan NMR 2-D (HMQC, HMBC dan H-H COSY), dan data yang diperoleh dibandingkan dengan data NMR dari pustaka.

Uji aktivitas biologis. Uji antibakteri. Sampel disiapkan dengan konsentrasi 10.000 ppm menggunakan pelarut kloroform dan disterilkan dengan penyinaran UV selama 30 menit. Kertas saring berdiameter 6 mm dimasukkan ke dalam larutan sampel lalu dimasukkan ke dalam 4 cawan Petri, masing-masing berisi biakan *Streptococcus* sp., *Acetobacter* sp., *E. coli*, dan *S. aureus*. Masing-masing kultur bakteri yang telah disuspensi dalam larutan fisiologis NaCl 0,85 % steril disebarlu di atas media NA dalam cawan Petri steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Kepekatan bakteri (cfu/mL) diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm. *Optical Density* (OD) yang diharapkan sekitar 0,08 (1×10^8 cfu). Sebagai standar antibiotik digunakan tetracyclin dalam kloroform. Zona

bening yang terbentuk diukur sebagai zona inhibisi setelah masa inkubasi selesai⁽⁹⁾.

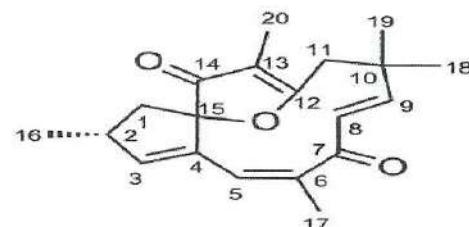
Uji antijamur. Sampel disiapkan dengan konsentrasi 10.000 ppm menggunakan pelarut kloroform dan disterilkan dengan penyinaran UV selama 30 menit. Kertas saring berdiameter 6 mm dimasukkan ke dalam larutan sampel lalu dimasukkan ke dalam 4 cawan Petri, masing-masing berisi biakan *A. niger*, *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp. putih, dan *Penicillium* sp. abu-abu. Masing-masing kultur jamur yang telah disuspensi dalam larutan fisiologis NaCl 0,85 % steril disebarluaskan di atas media NA dalam cawan Petri steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3x24 jam. Sebagai standar antibiotik digunakan tetracyclin dalam kloroform. Zona bening yang terbentuk diukur sebagai zona inhibisi setelah masa inkubasi selesai⁽⁹⁾. Uji antibakteri dan antijamur dilakukan di Lab. Mikrobiologi Universitas Haluoleo.

Uji Sitotoksik. Uji sitotoksik dilakukan terhadap sel murine leukemia P-388 menggunakan metode Alley, dan tingkat sitotoksiknya dinyatakan dalam IC₅₀⁽¹⁰⁾. Setelah subkultur, larutan sel protokol uji disiapkan sekitar 3x10³ sel/mL, ke dalam larutan sel ditambahkan sampel dengan konsentrasi 20 mg/mL, kemudian disimpan dalam inkubator CO₂ selama 48 jam. Selanjutnya ditambahkan pereaksi MTT [3-(4,5-dimetilthiazolo-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromida], dan larutan disimpan kembali dalam inkubator CO₂. Setelah 4 jam penyimpanan, ke dalam larutan ditambahkan stop solution, kemudian disimpan lagi dalam inkubator selama 24 jam. Dari eksperimen ini akan diperoleh data optical density (OD) yang diukur dengan micro plate reader. Nilai IC₅₀ diperoleh melalui pengolahan data OD menggunakan program Cricket. Uji ini dilakukan di Lab. Kimia Organik Bahan Alam ITB.

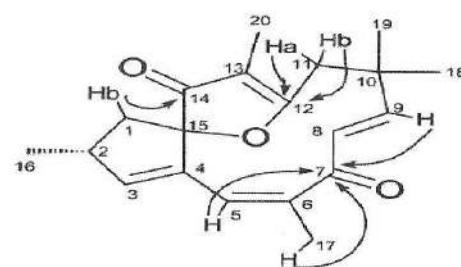
HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa isolat diperoleh sebagai kristal putih dengan t.p. 152–153°C. Spektrum FTIR mengindikasikan bahwa senyawa isolat mengandung gugus hidroksil (ν_{maks} 3283 cm⁻¹), ikatan Csp³-H (ν_{maks} 2961 dan 2929 cm⁻¹), dua buah karbonil (IR ν_{maks} 1690 dan 1654 cm⁻¹), sistem alkena (1619 cm⁻¹) dan eter (1292 cm⁻¹).

Keberadaan gugus fungsi di atas didukung oleh analisis spektroskopi NMR 1-D (¹H dan ¹³C-NMR). Spektrum ¹³C NMR (DEPT) memperlihatkan 20 sinyal karbon yang terdiri dari 5 C-metil (CH₃) (δ C masing-masing 6,0; 19,7; 20,9; 27,2; dan 30,5 ppm), 2 C-metilen (CH₂) (δ C 42,0 dan 43,4 ppm), 5 C-metil (δ C 39,7, 124,5, 129,4, 148,3 dan 162,4 ppm), serta 8 C-kuartener meliputi 2 C-karbonil (204,1 dan 206,3 ppm) dan 6 C-non karbonil (38,0; 101,5; 113,9; 138,8; 143,9; dan 187,0 ppm). Sementara itu, spektrum ¹H NMR



Gambar 1. Perkiraan struktur.



Gambar 2. Struktur HMBC.

menunjukkan 16 sinyal yang mewakili 24 proton (Tabel 1 pada Lampiran). Berdasarkan data tersebut, senyawa isolat memiliki rumus molekul C₂₀H₂₄O₃ dengan nilai DBE (Double Bond Equivalence) 9, dan diduga adalah *jatrophone* dengan struktur pada Gambar 1.

Pembuktian lebih lanjut struktur di atas dilakukan dengan analisis data spektroskopi menggunakan NMR-2D (HMBC). Struktur HMBC ditampilkan pada Gambar 2. Posisi karbonil (C-14) pada cincin furan didukung oleh adanya korelasi antara C-14 dengan H-1b. Sementara itu, letak karbonil (C-7) mengacu pada korelasi proton-proton (H-5, H-9 dan H-17) terhadap C-7. Selanjutnya, keberadaan dan posisi atom karbon pada gugus eter siklik tak jenuh (C-12), diperlihatkan oleh geseran kimia 8C 187,0 ppm dan korelasi antara C-12 dengan H-1b, H-11a dan H-11b.

Kepastian isolat yang diperoleh adalah *jatrophone*, didasarkan pada perbandingan data spektroskopi isolat dengan data spektroskopi dari pustaka^(11, 12), yang menunjukkan kesamaan parameter yang sangat tinggi, yang tertuang pada Tabel 1 (Lampiran).

Aktivitas *jatrophone* terhadap bakteri, jamur dan sel murine leukemia P-388 dapat dilihat pada Tabel 2 (Lampiran). *Jatrophone* umumnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Senyawa tersebut paling tinggi menghambat pertumbuhan bakteri *Acetobacter* sp. dan jamur *Rhizopus* sp. Akan tetapi sifat sitotoksik *jatrophone* terlihat kurang aktif terhadap sel murine leukemia P-388. Dengan demikian, *jatrophone* dapat dikembangkan sebagai antibiotik.

SIMPULAN

Satu senyawa golongan diterpen telah berhasil diisolasi dari kulit batang jarak merah (*J. gossypifolia*). Berdasarkan data spektroskopi, senyawa tersebut adalah *jatrophone*. Aktivitas biologis senyawa tersebut terhadap bakteri, jamur dan sel tumor memperlihatkan potensi yang menarik. *Jatrophone* paling tinggi menghambat pertumbuhan bakteri *Acetobacter* sp. dan jamur *Rhizopus* sp. Sementara itu, aktivitas *jatrophone* terhadap sel murine leukemia P-388 termasuk kategori kurang aktif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Proyek Hibah Kompetitif Penelitian sesuai Prioritas Nasional Batch II tahun 2009 atas bantuan dana penelitian, dan pengelola Divisi Tanaman Obat Tradisional UPT Biological Garden Universitas Haluoleo atas bantuan sampel penelitian. Terima kasih kami sampaikan pula kepada Herbarium Bogoriensis atas bantuan identifikasi tanaman, Lab. Kimia Organik Bahan Alam ITB dan Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong untuk spektroskopi dan uji sitotoksik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tarigan J. Ester Asam Lemak, F-MIPA Universitas Sumatera Utara, Medan. 2002.
2. Parsons WT, dan Cuthbertson EG. Noxious Weeds of Australia. Melbourne: Inkata Press;1992. 187.
3. Ogbobe O, Akano V. The physico-chemical properties of the seed and seed oil of *Jatropha gossypifolia*. Plant Foods for Human Nutrition 1993.(43):197-200.
4. Heyne, K. Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid III, Jakarta: Badan Litbang Kehutanan; 1987.
5. Lans C, Harper T, Georges K, Bridgewater E. Medicinal and ethnoveterinary remedies of hunters in Trinidad. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2001. (1): 1-10.

6. Sukumaran D, Parashar BD, Gupta AK, Jeevaratnam K, Prakash S. Molluscicidal Effect of Nicotinanilide and Its Intermediate Compounds against a Freshwater Snail *Lymnaea luteola* the Vector of Animal Schistosomiasis. Mem Inst Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 2004. 99(2): 205-10.
7. Dabur R, Gupta A, Mandal TK, Singh DD, Bajpai V, Gurav AM, et al. Antimicrobial Activity Of Some Indian Medicinal Plants. Afr J Trad CAM. 2007. 4(3): 313-18.
8. Sahidin I, Ruslin, Zaeni A, Raharjo S. Inventarisasi, relokasi, dan kajian ilmiah tanaman obat tradisional masyarakat Sulawesi Tenggara. Laporan Penelitian Universitas Haluoleo. Kendari. 2008. 28-32.
9. Thakurta P, Bhowmik P, Mukherjee S, Hajra TK, Patra A, Bag PK. Antibacterial, Antisecretory and Antihemorrhagic Activity of *Azadirachta indica* Used to Treat Cholera and Diarrhea in India. J Ethnopharmacol. 2007. 111: 607-12.
10. Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbott BJ, Mayo JG, Shoemaker RH, dan Boyd MR. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculturetetrazolium assay. Cancer Research. 1988. 48: 589-601.
11. Pertino M, Hirschmann GS, Santos LS, Rodriguez JA, Theoduloz C. Biotransformation of *Jatrophone* by *Aspergillus niger* ATCC 16404. Z. Naturforsch 62b. 2007. 275-79.
12. Goulart MOF, Sant'Ana AEG, Lima RA, Cavalcante SH. Fitoconstiuitentes Quimicos Isolados De *Jatropha elliptica*. Atribuicao Dos Deslocamentos Quimicos Dos Atomos De Carbon E Hydrogenio Dos Diterpenos Jatrofolonas A E . Laboratorio de Pesquisa em Recursos Naturais. Departamento de Quimica. Universade Federal de Alagoas. 1992. 185-6.

LAMPIRAN**Tabel 1. Data sinyal ¹H dan ¹³C-NMR *Jatrophone***

No.C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	No. H	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
1	43,4	42,4	41,9	1a	2,20 (1H, dd, 7,95; 5,82)	2,17 (1H, dd, 13,7; 5,9)	2,15 (1H, dd, 13,5; 5,7)
				1b	1,79 (1H, dd, 7,95; 7,92)	1,88 (1H, dd, 13,7; 7,8)	1,79 (1H, dd, 13,5; 4,9)
2	39,7	38,3	37,8	2	2,98 (1H, bm, 2,45; 2,15)	3,00 (1H, ddq, 7,8; 7,0; 5,9)	3,00 (1H, m)
3	124,5	123,7	123,1	3	5,76 (1H, d, 1,2)	5,83 (1H, br s)	5,77 (1H, m)
4	138,8	137,0	137,8	-	-	-	-
5	148,3	147,0	146,4	5	5,77 (1H, d, 1,2)	5,84 (1H, br s)	5,77 (1H, m)
6	143,9	141,7	141,4	-	-	-	-
7	204,1	201,9	201,2	-	-	-	-
8	129,4	128,7	128,1	8	5,98 (1H, d, 15,9)	6,02 (1H, d, 16,4)	5,98 (1H, d, 16,6)
9	162,4	159,0	158,7	9	6,60 (1H, d, 16,5)	6,47 (1H, d, 16,4)	6,48 (1H, d, 16,6)
10	38,0	36,6	36,2	-	-	-	-
11	42,0	41,2	40,7	11a	3,04 (1H, d, 15,3)	2,89 (1H, d, 14,7)	2,91 (1H, d, 14,8)
				11b	2,50 (1H, d, 15,3)	2,43 (1H, d, 14,7)	2,44 (1H, d, 14,8)
12	187,0	183,2	182,9	-	-	-	-
13	113,9	112,4	111,9	-	-	-	-
14	206,3	203,8	203,2	-	-	-	-
15	101,5	99,7	99,1	-	-	-	-
16	19,7	18,9	18,6	16	1,10 (3H, d, 6,75)	1,10 (3H, d, 7,0)	1,09 (3H, d, 7,0)
17	20,9	20,7	20,6	17	1,86 (3H, d, 1,25)	1,90 (3H, s)	1,87 (3H, s)
18	30,5	30,4	29,9	18	1,26 (3H, s)	1,27 (3H, s)	1,26 (3H, s)
19	27,2	26,9	26,4	19	1,37 (3H, s)	1,39 (3H, s)	1,37 (3H, s)
20	6,0	6,0	5,6	20	1,72 (3H, s)	1,77 (3H, s)	1,74 (3H, s)

Sumber : * [11]; b[12]

Tabel 2. Hasil uji aktivitas senyawa isolat terhadap mikroba.

No.	Jenis Mikroba	Zona Inhibisi (cm)	Kontrol Tetrasiklin (cm)
1.	Bakteri <i>E. coli</i>	3,2	1,7
2.	Bakteri <i>S. aureus</i>	2,4	1,5
3.	Bakteri <i>Streptococcus</i> sp.	2,2	1,4
4.	Bakteri <i>Acetobacter</i> sp.	3,6	1,9
5.	Jamur <i>Rhizopus</i> sp.	4,4	0
6.	Jamur <i>Penicillium</i> sp. (putih)	1,4	0
7.	Jamur <i>Penicillium</i> sp. (abu-abu)	1,8	0
8.	Kapang <i>A. niger</i>	1,1	0
Sel murine leukemia P-388		$IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$	