

## ISOLASI DAN UJI SITOTOKSIK SENYAWA LIMONEN DARI KULIT BATANG KASTURI (*Mangifera casturi*)

**Kholifatu Rosyidah**

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat  
Jl. A. Yani Km 35,8 Banjarbaru, Kalimantan Selatan  
e-mail : kholifatu@yahoo.co.id

### ABSTRACT

The air-stem barks of *M.casturi* were extracted with Methylene Chloride (MTC). The MTC extract's had treatment with Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) than analyzed with probit and resulted  $LC_{50} = 47,31 \text{ ppm}$ . MTC extract's was fractionated by Vacuum Liquid Chromatography and recrystallization obtained pure compounds. The compounds was analyzed with GC-MS (Gas chromatography-Mass Spectroscopy) and cytotoxic test with cancer cell Leukemia P388. This compound is limonene and have  $IC_{50} = 70 \text{ ppm}$ .

*Key words* : *Mangifera casturi*, limonene, cytotoxic

### PENDAHULUAN

Tumbuhan kasturi tersebar di daerah Kalimantan Selatan seperti Banjarbaru, Martapura, Kandangan, dan Tanjung. Selain itu tersebar juga di daerah Kalimantan Tengah dan Kalimantan Timur seperti Kutai dan Tenggarong Sebrang. Dilihat dari ekologiannya tumbuhan ini hidup di daerah rawa. Buahnya menyerupai mangga kecil dan agak padat, baunya tajam dan rasanya khas. Kulitnya tipis, licin, hijau mengkilat dengan noda gelap (Kosterman, 1993). Kasturi dikenal sebagai mangga kalimantan. Tumbuhan kasturi juga merupakan maskot flora Kalimantan Selatan yang saat ini sudah langka.

Kasturi termasuk tumbuhan dari genus *Mangifera* (mangga-mangga) dan merupakan bagian dari famili Anacardiaceae. Famili Anacardiaceae terdiri dari 82 genus dan banyak mengandung senyawa terpen, saponin dan fenolat. Famili ini juga mempunyai beberapa aktivitas yang menarik diantaranya ekstrak kulit batang *Mangifera indica* menunjukkan aktivitas melindungi sel T dari AICD secara in vitro (Hernandez *et al*, 2007), bersifat antioksidan, antiinflamasi, mempunyai efek imunomodulator dengan sifat racun yang rendah sampai 2000mg/kg (Gonzalez *et al*, 2007), berkhasiat sebagai obat cacing

(Depkes, 2007), *Lithraea molleoides* juga aktif anti cacing (Valcic *et al*, 2002) dan bersifat sitotoksik (López *et al.*, 2005). Penelitian mengenai daya sitotoksik dan senyawa hasil isolasi dari ekstrak MTC (metilen klorida) kulit batang kasturi belum pernah dilakukan.

## METODE

### Alat dan bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel batang kasturi, metanol, *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat, aseton kloroform, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CeSO<sub>4</sub>, silika gel GF<sub>254</sub>, plat KLT menggunakan plat aluminium berlapis silika gel Merck Kieselgel 60 F<sub>254</sub> setebal 0,25 mm silika gel 60 dan aluminium foil serta serum sulfat 1,5% dalam asam sulfat 2N untuk pereaksi penampak noda KLT, telur *artemia salina* dan Tween-80.

Peralatan penelitian meliputi: alat gelas laboratorium, lampu UV, corong pisah, berbagai jenis kolom kromatografi, rotary evaporator, alat distilasi, chamber, pipet mikro, neraca analitik (OHAUS), oven (Carbolite), dan botol-botol kaca dengan berbagai ukuran, spektrofotometer GCMS-

QP2010S SHIMADZU, Kolom Rastek RXi-5MS.

### Prosedur Penelitian

Serbuk kulit batang kasturi dimaserasi dengan MTC (metilen klorida) selama 3 hari kemudian disaring dan diuapkan dengan alat penguap putar bertekanan (*rotary evaporator*) hingga diperoleh ekstrak MTC kering. Ekstrak MTC diuji daya sitotoksiknya dengan larva udang (*Brine Shrimp Lethality Test*). Sebanyak 25,0 g ekstrak MTC kering difraksinasi menggunakan Kromatografi Vakum Cair (KVC) dengan eluen etil asetat:heksana 7,5% (6x), 15% (6x), 25% (6x), 40% (3x), etil asetat 100% (2x) dan terakhir metanol 100% (2x). Pemisahan dengan KVC ini diperoleh 24 fraksi. Fraksi no 6 dimurnikan dengan metode rekristalisasi dengan metanol. Senyawa hasil isolasi diuji kemurniannya dengan KLT (kromatografi lapis tipis), dianalisis dengan GC-MS (gas kromatografi-spektroskopi massa), dan diuji daya sitotoksiknya dengan sel murin Leukimia P388.

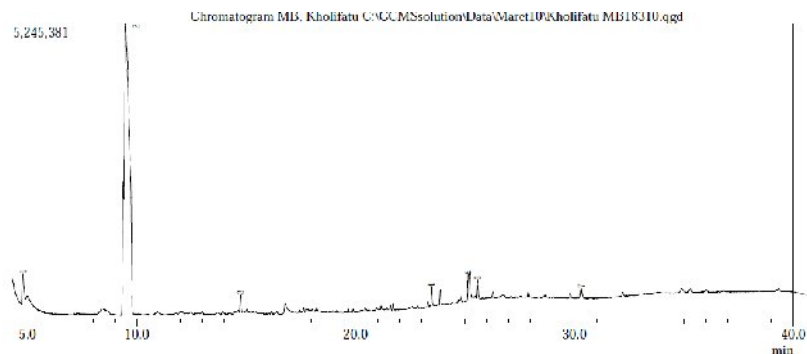
### Uji hayati dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Telur udang ditetaskan dalam gelas piala berisi air laut dan dilengkapi dengan aerator. Setelah 24 jam telur udang akan menetas menjadi larva udang. Sebanyak 2 mg ekstrak MTC dilarutkan dalam 1 ml air laut. Dari larutan setiap fraksi tersebut dipipet 500, 50, dan 5  $\mu$ l ke vial dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 1 ml, sehingga konsentrasi larutan menjadi 1000, 100, dan 10 ppm. Kemudian ditambahkan sebanyak 10 ekor larva udang pada setiap vial. Larva udang yang digunakan berusia 24 jam (1 hari). Setelah 24 jam jumlah yang mati dihitung dan dianalisis menggunakan Program Analisis

Probit Finney untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$ .

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 2,8 Kg serbuk kulit batang kasturi dimaserasi dengan MTC selama 3 hari kemudian disaring dan diuapkan dengan alat penguap putar bertekanan (*rotary evaporator*) hingga diperoleh ekstrak MTC kering sebanyak 37,0 g. Ekstrak MTC diuji daya sitotoksiknya dengan larva udang (*Brine Shrimp Lethality Test*). Ekstrak MTC bersifat aktif sitotoksik terhadap BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan  $LC_{50}=47,31$  ppm. Karena fraksi MTC aktif maka dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan KVC dan diperoleh 132,7 mg senyawa hasil isolasi.



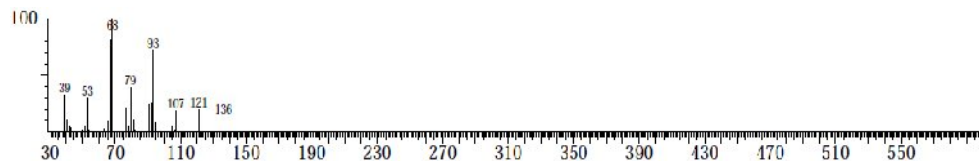
Gambar 1. Kromatogram GC senyawa hasil isolasi

Senyawa hasil isolasi berupa kristal berwarna putih. Uji kemurnian menggunakan KLT dengan eluen metanol:kloroform 5% menunjukkan

noda tunggal pada  $R_f$  0,5. KLT senyawa murni dengan eluen MTC:heksana 95% menunjukkan noda tunggal pada  $R_f$  0,2 dan dengan

eluen etil asetat:heksana pada Rf 0,5. Ketiga kromatogram hasil KLT menunjukkan noda tunggal, artinya senyawa hasil isolasi sudah murni. Berdasarkan kromatogram GC ternyata senyawa hasil isolasi masih terdapat beberapa senyawa dengan komponen utama pada waktu retensi 9,497 menit dengan kelimpahan

sebesar 80,53% dapat dilihat pada gambar 1. Sedangkan spektrum MS dari komponen utama mempunyai berat molekul 136 dengan puncak dasar  $m/z=68$  seperti terlihat pada gambar 2. Perbandingan pola fragmentasi komponen utama memperlihatkan kesesuaian yang tinggi dengan senyawa limonen.



Gambar 2. Spektrum MS senyawa hasil isolasi

Senyawa limonen banyak ditemukan dalam genus *Mangifera* bersama-sama dengan senyawa terpen yang lain baik monoterpen, diterpen, triterpen, dan steroid. Limonen adalah senyawa golongan monoterpen yang bersifat antitumor, antibiotik dan antiprotozoa. Limonen membunuh promastigotes dan amastigotes dari *Leishmania amazonensis* dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing  $252.0 \pm 49.0$  dan  $147.0 \pm 46.0 \mu M$ . Limonen juga efektif membasmi promastigotes dari *Leishmania major*, *Leishmania braziliensis* dan *Leishmania chagasi*. Limonen konsentrasi  $300 \mu M$  juga mampu mereduksi 78% ukuran lesi mencit yang diinfeksi *L. amazonensis*

(Arruda *et al.*, 2009). Limonen juga potensial sebagai penghambat sel kanker (Salminen *et al.*, 2008). Dari penelitian Moraes *et al.* (2009) menunjukkan bahwa limonen bersama-sama dengan *Citrus aurantium* sebagai pemberi rasa yang sempurna dan juga sebagai pelindung lambung sehingga sangat baik sebagai pembangun obat baru untuk mencegah kerusakan lambung.

## KESIMPULAN

Ekstrak MTC bersifat aktif sitotoksik terhadap BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan  $LC_{50}=47,31$  ppm. Senyawa hasil isolasi ekstrak MTC adalah limonen,

bersifat kurang aktif sitotoksik terhadap sel kanker Leukimia P388 dengan nilai IC<sub>50</sub>=70 ppm.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arruda, D.C, Miguel, D.C., Yokoyama-Yasunaka, J.K.U., Katzin, A.M. and Uliana, S.R.B. 2009. Inhibitory activity of limonene against *Leishmania* parasites *in vitro* and *in vivo*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **63**:643-649
- Cardoso MP, David JM, David JP. 2005. A new alkyl phenol from *Schinopsis brasiliensis*. *Nat Prod Res*. **19**:431-433
- Depkes. 2007. *Mangifera indica* L. [http://www.warintek.ristek.go.id/pangan\\_kesehatan/tanamanobat/depkes](http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanamanobat/depkes) (diakses tanggal 20 Juli 2007)
- González, J.E., Rodriguez, M.D., Rodeiro, I., Morffi, J., Guerra, E., Leal, F., Garcia, H., Goicochea, E., Guerrero, S., Garrido, G. 2007. Lack of *in vivo* embryotoxic and genotoxic activities of orally administered stem bark aqueous extract of *Mangifera indica* L. (Vimang®). *Food and Chemical Toxicology*. in press.
- Hernandez, P., Rodriguez, P.C., Delgado, R., and Walczak, H. 2007. Protective effect of *Mangifera indica* L. polyphenols on human T lymphocytes against activation-induced cell death. *Pharmacological Research*. **55**:167-173
- Jose F. Rivero-Cruz, Daniel Chavez, Blanca Hernandez Bautista, Ana L. Anaya and Rachel Matat. 1997. Separation and characterization of *Metopium brownei* urushiol components. *Phytochemistry*. **45**:1003-1008
- Kosar, M., Bozan, B., Temelli, F. and Baser, K.H.C. 2007. Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts. *Food Chemistry*. **103**:952-959
- Kosterman, A.J.G.H & J.M. Bompard. 1993. *The Mangoes. Their Botany, Nomenclature, Horticulture and Utilization*. London:Academic Press
- Harcourt Brace & Company.
- López P, Ruffa MJ, Cavallaro L, Campos R, Martino V, Ferraro G. 2005. 1,3-dihydroxy-5-(tridec-4',7'-dienyl)benzene: a new cytotoxic compound from *Lithraea molleoides*. *Phytomedicine*. **12**:108-111
- Moraes, T.M., Kushima, H., Moleiro, FC., Santos, R.C., Rocha, L.R.M., Marques, M.O., Vilegas, W., and Hiruma-Lima, C.A. 2009. Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chemico-Biological Interactions*. **180**:499-505
- Salminen, Lehtonen, M., Suuronen, T., Kaarniranta, K., and Huuskonen, J. 2008. Review Terpenoids: natural inhibitors of NF- B signaling with anti-inflammatory and anticancer potential. *Cell. Mol. Life Sci*. **65**:2979-2999
- Valcic S, Wächter GA, Eppler CM, Timmermann BN. 2002. Nematicidal alkylene resorcinols from *Lithraea molleoides*. *J Nat Prod*. **65**:1270-1273