

SENYAWA STEROID DARI TUMBUHAN *Peperomia pellucida* DAN UJI AKTIVITAS FRAKSI TERHADAP *Plasmodium falciparum*

(*Steroid Compound from Peperomia pellucida and Fraction Activity Test on Plasmodium falciparum*)

Nurhayati Bialangi¹, Moh. Adam Mustapa², Yuszda K. Salimi¹, dan Ari Widiantoro³

¹Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

²Fakultas Olah Raga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo

³Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Tanjung Pura, Pontianak

E-mail: Nurhayatibi.alangi@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penyakit infeksi dan parasit merupakan salah satu penyakit yang menjadi pusat perhatian. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2011, penyakit infeksi dan parasit menjadi penyebab kematian terbesar nomor tiga di dunia. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antimalaria adalah suruhan (*Peperomia pellucida*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan karakterisasi senyawa serta menguji aktivitas antimalaria senyawa hasil isolasi terhadap *Plasmodium falciparum*. Isolasi senyawa dilakukan dengan metode kromatografi. Karakterisasi isolat murni menggunakan spektroskopi UV, IR dan NMR. Uji aktivitas antimalaria dengan metode Desjardin. Hasil karakterisasi menunjukkan senyawa hasil isolasi merupakan senyawa steroid. Hasil uji aktivitas antimalaria fraksi n-heksana, etil asetat, dan air menunjukkan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 12,80 µg/mL, 2,90 µg/mL, dan 10,74 µg/mL. Isolasi senyawa steroid merupakan yang pertama kali dilaporkan dari tumbuhan *Peperomia pellucida* asal Indonesia.

Kata kunci: *Peperomia pellucida*, suruhan, antimalaria

ABSTRACT

*Infectious diseases and parasites are one of the major diseases. According to World Health Organization (WHO) data in 2011, infectious diseases and parasites are the third leading cause of death in the world. One of the plants that has the potential as an antimalarial is suruhan (*Peperomia pellucida*). The purpose of this study was to isolate and characterize the compounds and test the antimalarial activity of the isolated compounds on *Plasmodium falciparum*. Isolation of the compound was carried out by chromatography method. Characterization of pure isolate using UV, IR, and NMR spectroscopy. Antimalarial activity test by Desjardin method. The results of the characterization*

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

showed that the isolated compound was a steroid compound. The results of antimalarial activity of n-hexane, ethyl acetate, and water fractions showed IC50 values of 12.80 µg/mL, 2.90 µg/mL, and 10.74 µg/mL, respectively. Isolation of steroid compounds was first reported from Peperomia pellucida plants from Indonesia.

Key words: *Peperomia pellucida, suruhan, antimalarial*

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi dan parasit merupakan salah satu penyakit yang menjadi pusat perhatian. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2011, penyakit infeksi dan parasit menjadi penyebab kematian terbesar nomor tiga di dunia (Singh & Pandeya, 2012). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai pengobatan adalah tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*). Genus *Peperomia* merupakan genus yang terbesar kedua pada family *Piperaceae* dan terdiri lebih dari 600 spesies yang terdistribusi secara luas di Indonesia (Susilawati, 2015).

Secara tradisional herba suruhan (*Peperomia pellucida*) digunakan sebagai obat abses, bisul jerawat, penyakit kulit, sakit kepala, mengurangi nyeri pada rematik dan rematik gout. Hasil analisis proksimat menunjukkan kadar abu, kandungan serat kasar yang tinggi, sementara kandungan karbohidrat diamati menjadi yang tertinggi. Hasil skrining fitokimia mengungkapkan adanya alkaloid, kardenolid, steroid, saponin dan tannin (Yunarto, 2013). Tumbuhan suruhan biasanya tumbuh di celah-celah batuan basah yang ditemukan dari timur laut ke tenggara Indonesia. Hasil isolasi metabolit sekunder dari genus *Peperomia* telah banyak dilaporkan namun dari spesies *pellucida* asal Indonesia masih sedikit yang telah dilaporkan yaitu senyawa *pyran* yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga perlu dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan suruhan asal Gorontalo dan menguji aktivitas senyawa hasil isolasi terhadap *Plasmodium falcipartum* secara *in vitro*.

2. METODE PENELITIAN

Bahan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) yang berasal dari daerah timur Indonesia yaitu Gorontalo. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metanol 96%, akuades, etanol 70%, metanol p.a, darah, eritrosit, dan kloroquinon.

Peralatan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis, *laminar air flow*, lampu bunsen, autoklaf HVE-50 Hirayama, mikroskop, pipet mikro, desikator, evaporator, dan *nuclear magnetic resonance* (NMR).

Ekstraksi dan isolasi

Sampel tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) dihaluskan dengan *blender* sebanyak masing-masing 1 kg. Selanjutnya sampel diekstraksi selama 2 x 24 jam dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol 96% pada *maserator*. Ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali rotasi. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring *millipore* dan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak pekat metanol yang diperoleh dari hasil maserasi sebanyak 20 g.

Isolasi ekstrak dilakukan dengan metode kromatografi. Pemisahan dan pemurnian menggunakan kromatografi kolom, analisis senyawa hasil kolom dilakukan dengan kromatografi lapis tipis yang dipandu dengan UV λ 254 nm dan 365 nm serta penampak noda H_2SO_4 dalam etanol. Penggunaan eluen dengan kombinasi pelarut n-heksana/etil asetat pada fasa normal dan metanol/air pada fasa terbalik.

Uji aktivitas antimalaria

Uji aktivitas antimalaria dilakukan dengan menggunakan metode Desjardins (1979). Uji aktivitas antimalaria ditentukan dengan parasitemia. Uji ini dilakukan

dengan menggunakan kultur *P. falciparum* galur 3D7. Kultur *P. falciparum* ditempatkan ke dalam lempeng sumur 24 masing-masing berisi 1 mL kultur dengan parasitemia ±1% dalam medium RPHS. Medium RPHS diganti dengan medium RPHS yang mengandung sampel uji berbagai konsentrasi. Kultur diinkubasi selama 48 jam, setelah inkubasi parasit dipanen dan dibuat sediaan apusan darah tipis yang diberi pewarnaan Giemsa. Selanjutnya dihitung persen parasitemia *P. falciparum* dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi terhadap 500 eritrosit. Perhitungan parasitemia dan penghambatan pertumbuhan parasit dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 500 eritrosit di bawah mikroskop sebagai berikut:

$$\% \text{ Parasetimia} = \frac{\sum \text{eritrosityang terinfeksi}}{500 \text{eritrosit}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Pertumbuhan} = \frac{\% \text{ parasitemia uji}}{\% \text{ parasitemia kontrol}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\% \text{ parasetimia kontrol} - \% \text{ parasetimia uji}}{\text{parasetimia kontrol}} \times 100\%$$

Persentase penghambatan tiap konsentrasi digabungkan dan dianalisis menggunakan analisa probit dengan program SPSS untuk menentukan IC₅₀. Hasil perhitungan dalam bentuk konsentrasi µg/mL (ppm).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi senyawa

Hasil pemurnian senyawa diperoleh senyawa 1 dengan massa 15 mg. Hasil TLC menunjukkan pola noda berwarna cokelat dengan nilai Rf 2,3. Senyawa yang diperoleh larut sempurna dalam kloroform. Selanjutnya senyawa murni dikarakterisasi dengan UV, IR, dan NMR.

Karakterisasi senyawa

Hasil pengukuran spektrum UV menggunakan pelarut metanol menunjukkan puncak pada λ 203 nm. Hal ini mengindikasikan pada isolat murni tidak terdapat ikatan C terkonjugasi. Hasil pengukuran spektrum IR dalam lempeng KBr menunjukkan serapan pada 3400 cm^{-1} . Serapan gugus O-H (3400 cm^{-1}) diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang $1040,84\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan regangan ulur dari gugus C-OH. Pada bilangan gelombang $1687,79\text{ cm}^{-1}$ terdapat regang C=O (karbonil). Pada bilangan gelombang $2987,10\text{ cm}^{-1}$ terdapat serangan yang sangat kuat dari regangan ulur gugus C-H alifatik diikuti dengan serapan pada $1456,32\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan tekukan C-H dan pada $1374,23\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan regang gem dimetil. Rendahnya serapan lentur C=O ($1687,79\text{ cm}^{-1}$) disebabkan pendelokalisasi elektron gugus C=O yang mengurangi sifat C=C sp^2 ke atom O, konjugasi lebih lanjut akan menurunkan serapan atau panjang gelombang yang lebih panjang (Uddin *et al.*, 2011; Vazquez *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 1997).

^1H NMR (500 MHz, CDCL₃) menunjukkan pergeseran proton sp^2 pada geseran kimia 5.36 (H-24) dan 5.19 (H-28). Proton teroksigenasi pada geseran 3.53 (H-3). Proton metil sebanyak enam buah pada geseran 1.58 (H-21), 1.02 (H-19), 1.01 (H-21), 1.00 (H-27), 0.98 (H-26) dan 0.70 (H-18). Adanya proton teroksigenasi pada geseran 3.53 ppm mengindikasikan ciri yang khas untuk senyawa golongan steroid dan triterpen.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCL₃): 140.9 (C-24), 138.5 (C-5), 121.9 (C-6), 129.4 (C-28), 71.9 (C-3), 56.9 (C-14), 56.0 (C-17), 50.2 (C-9), 42.4 (C-13), 42.2 (C-4), 39.8 (C-12), 37.4 (C-1), 36.6 (C-10), 37.4 (C-20), 32.0 (C-22), 32.1 (C-25), 31.8 (C-7,8), 31.6 (C-2), 28.4 (C-16), 25.5 (C-23), 24.4 (C-15), 21.4 (C-26), 21.3 (C-27), 21.2 (C-11), 19.5 (C-19), 19.1 (C-21), 12.4 (C-29), 12.0 (C-18). Setelah dilakukan analisis terhadap spektrum ^1H NMR, karbon ^{13}C NMR, HMQC, DEPT 135°, ^1H - ^1H COSY dan spektrum HMBC isolat murni maka diperoleh data lengkap pergeseran kimianya yang ditunjukkan pada Tabel 1 berikut:

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Tabel 1. Data NMR isolat 1 (500 MHz untuk $^1\text{H-NMR}$ dan 125 MHz untuk $^{13}\text{C-NMR}$, CDCl_3)

Posisi C	$^{13}\text{C-NMR}$ δ_{C} (ppm)	DEPT 135°	$^1\text{H -NMR}$ δ_{H} (Int., mult., J=Hz)
1	37.4	CH_2	0,97 (1H; m); 1,55 (1H; m)
2	31.6	CH_2	1,52 (2H; m)
3	71.9	CH	3,17 (1H; dt,11,0; 3,9)
4	42.2	CH_2	1,4 (2H;m)
5	138.5	Cq	-
6	121.9	CH	1,9 (1H; m)
7	31.8	CH_2	1,33 (2H; t , 3,6)
8	31.8	CH	1,73 (1H; m)
9	50.2	CH	1,53 (1H; m)
10	36.6	Cq	-
11	21.2	CH_2	1,13 (2H; m)
12	39.8	CH_2	1,21 (2H; t, 3,9)
13	42.4	Cq	-
14	56.9	CH	1,83 (1H; m)
15	24.4	CH_2	1,50 (2H; m)
16	28.4	CH_2	1.53 (1H; m); 1.92 (1H;m)
17	56.0	CH	1,73 (1H; m)
18	12.0	CH_3	1,10 (3H;s)
19	19.5	CH	2,07 (2H; m)
20	37.4	CH	-
21	19.1	CH_3	1,10 (3H; s)
22	32.0	CH_2	1,30 (2H; m)
23	25.5	CH_2	1,2 (2H; m)
24	140.9	Cq	-
25	32.1	CH	1,77 (1H; m)
26	21.4	CH_3	0,84 (3H; s)
27	21.3	CH_3	1,17 (3H; s)
28	129.4	CH	1,7 (1H; m)
29	12.4	CH_3	0,98 (3H; s)

Spektrum 2 dimensi ditentukan oleh analisis data 2D NMR serta dibandingkan dengan literatur. Spektrum HMBC menjelaskan posisi proton karbon. Proton H-1 (δ_{H} 0.97 ppm) berkorelasi dengan C-3 dan C-10. Proton H-2 (δ_{H} 1,2 ppm) berkorelasi dengan C-4. Proton H-3 (δ_{H} 2,5 ppm) berkorelasi

dengan C-1. Ini menegaskan struktur senyawa, yang diidentifikasi sebagai senyawa golongan steroid (Hwang *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013).

Uji antimalaria

Perhitungan parasitemia dan penghambatan pertumbuhan parasit pada sampel dilakukan dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi pada setiap 500 eritrosit di bawah mikroskop, ditunjukkan pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Perhitungan jumlah parasetimia dan % hambatan fraksi etil asetat

Dosis ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	R	% Parasitemia		% Pertumbuhan	% Hambatan	% Hambatan rata-rata
		0 jam	48 jam			
Kontrol (-)	1	1.15	4.78	3.57	-	-
	2	1.15	4.73	3.60	-	-
100	1	1.15	1.45	0.12	90.67	91.16
	2	1.15	1.39	0.11	91.60	
10	1	1.15	1.97	0.84	69.78	70.30
	2	1.15	1.99	0.82	70.81	
1	1	1.15	2.98	1.82	44.90	45.89
	2	1.15	2.91	1.79	46.89	
0,1	1	1.15	3.89	2.89	20.21	20.76
	2	1.15	3.92	2.85	21.30	
0,01	1	1.15	4.21	3.33	10.10	
	2	1.15	4.24	3.35	9.10	9.60

Kontrol positif yang digunakan pada pengujian ini adalah klorokuinon. Pembanding yang digunakan adalah artemisin dengan konsentrasi 10^{-3} M. Setelah didapat nilai % parasitemia dan nilai % pertumbuhan maka selanjutnya dilakukan perhitungan terhadap % hambatan. Untuk mengetahui nilai IC₅₀ maka data tersebut dimasukkan dalam kurva regresi liner untuk memperoleh persamaan regresi liniernya. Hasil uji aktivitas antimalaria menunjukkan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 12,80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2,90 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 10,74 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

4. KESIMPULAN

Hasil karakterisasi menunjukkan senyawa hasil isolasi merupakan senyawa steroid. Hasil uji aktivitas antimalaria fraksi n-heksana, etil asetat dan air menunjukkan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 12,80 µg/mL, 2,90 µg/mL, dan 10,74 µg/mL. Isolasi senyawa steroid merupakan yang pertama kali dilaporkan dari tumbuhan *Peperomia pellucida* asal Indonesia.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia (RISTEKDIKTI) atas dana penelitian melalui hibah penelitian 2016 dan kepada lembaga penelitian LIPI atas bantuan pengukuran spektrum NMR isolat.

DAFTAR PUSTAKA

- Hwang SH, Jang JM, & Lim SS. 2012. Isolation of Fucosterol from *Pelvetia siliquosa* by High-speed Countercurrent Chromatography. *Fish aquat Sciences*. 15 (3). 191-195.
- Overgaard H, Siriscopa P, Mikolo B, & Malterud K. 2014. Insecticidal Activities of Bark, Leaf, and Seed Extracts of *Zanthoxylum heitzii* against the African Malaria Vector *Anopheles gambiae*. *Molecules* (19): 21276-21290.
- Singh GS, & Pandeya SN. 2011. Natural product in discovery of potential and safer antibacterial agent. *Natural product in medicinal chemistry* 63-101: 978-81-308-0448-4.
- Susilawati Y, Nugraha R, Muhtadi A, Soetardjo S, & Supratman U. 2015. (S)-2-Methyl-2-(4-methylpent-3-enyl)-6-(propan-2-ylidene)-3,4,6,7-tetrahydropyrano[4,3-g]chromen-9(2H)-one. *Molbank* 1422-8955.
- Uddin GW, Siddiqui BS, Alam S, Sadat A, Ahmad A, & Uddin A. 2011. Chemical constituen and phytoxicity of solvent extracted fraction of steam bark of *Grewia optiva*. *Middle-Eas J.Sci. Res.* 8(1): 85-91. 1990-2333.

- Vazquez LH, Palazon J, & Ocana AN. 2012. The pentacyclic triterpene α , β Amyrin. *Phytochemicals* 978: 953-51-0296-0.
- Wang SP, Lai JS, & Huang KF. 1993. Studies on the constituents of the leaves of *Alyxia insularis kanehira & sasaki*. *China Pharmacology Journal* 45(4): 329-336.
- Wang XY, Tang GH, Yuan CM, Zhang Y, Zou T, Yu C, & Qing Z. 2013. Aphagrandinoids A-D, Cycloartane Triterpenoids with Antibacterial Activities from *Aphanamixis grandifolia*. *Fitoterapia* 85: 64-68.
- Wang XY, Tang GH, Yuan CM, Zhang Y, Zou T, Yu C, & Qing Z. 2012. Two New Tirucallane Triterpenoids from *Aphanamixis grandifolia*. *Natural Product Bioprospect* 2: 222-226.
- Yuniarto N. 2013. Efek Ekstrak Air dan Heksana Herba Suruhan *Peperomia pellucidia* Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Serum Darah Ayam Kampung Jantan. *Media Litbagas* 23 (1) 8-14.
- Zaridah MS, Azah MA, & Rohani A. 2006. Mosquitocidal Activities of Malaysian Plants. *Journal of Tropical Forest Science* 18(1): 74—80.