

UJI TOKSISITAS AKUT SENYAWA ETIL *p*-METOKSISINAMAT YANG DIISOLASI DARI RIMPANG KENCUR (*Kaempferia galanga L*)

Sara Nurmala

Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor

E-mail: sara.nurmala@gmail.com

ABSTRAK

Pada rimpang tanaman kecur (*Kaempferia galanga L.*) terdapat senyawa etil *p*-metoksisinamat yang memiliki aktivitas-aktivitas farmakologis diantaranya sebagai analgesik dan antiinflamasi serta berpotensi sebagai tabir surya. Etil *p*-metoksisinamat dapat diisolasi dengan mudah dengan hasil rendemen yang relatif tinggi sehingga sangat berpotensi dijadikan sumber bahan obat alami. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji toksisitas akut senyawa etil *p*-metoksisinamat yang diisolasi dari rimpang kecur. Serbuk rimpang kecur diekstrak menggunakan pelarut *n*-heksan sebanyak 4 kali. Etil *p*-metoksisinamat diidentifikasi dan diisolasi dari ekstrak dengan metode uji jarak lebur dan analisis KLT. Dari hasil uji didapatkan nilai jarak lebur *p*-metoksisinamat adalah 48–48,5°C dan dari hasil analisis KLT dengan fase gerak metanol : aseton (2:1) didapatkan bahwa etil *p*-metoksisinamat memiliki nilai *R_f* : 0,68. Hasil analisis spektrofotometri UV-VIS senyawa etil *p*-metoksisinamat dalam pelarut metanol memberikan spektrum dengan serapan maksimum masing-masing pada 307,0 nm dan 226,0 nm. Uji toksisitas akut dilakukan dengan menghitung nilai kisara *median lethal dose* (LD50) senyawa etil *p*-metoksisinamat yang diberikan secara oral terhadap kelompok-kelompok tikus uji dengan variasi dosis 50, 100, 500, 1000 dan 2.000 mg/Kg BB. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai median LD50 dicapai pada pemberian dosis 3.652 mg/Kg BB. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa etil *p*-metoksisinamat termasuk senyawa obat baru dengan kategori toksik sedang.

Kata Kunci: Kencur, etil *p*-metoksisinamat, toksisitas akut, LD50

ACUTE TOXICITY OF ETHYL *P*-METHOXYCINNAMATE COMPOUND ISOLATED FROM *KAEMPFERIA GALANGA L*

ABSTRACT

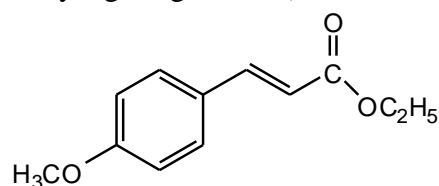
The main content found in the rhizome *Kaempferia galanga L.* is the ethyl *p*-methoxycinnamaten which has been proved to have many pharmacological activities such as an analgesic and anti-inflammatory, and has a potent as a sunscreen agent. The ethyl *p*-methoxycinnamate can be isolated easily and the yield a relatively large number of compound so that became the very potential source of a natural medicine. The extraction of *Kaempferia galanga* was using *n*-hexane solvent, followed by identification and isolation of ethyl *p*-methoxycinnamate using the melting range test and the TLC analysis methods. The melting value of ethyl *p*-methoxycinnamate was 48-48,5°C and the *R_f* value obtained from TLC analysis using mobile phase methanol:acetone (2:1) was 0.68. The results of UV-VIS spectrophotometric analysis in methanol solvent shows that the maximum absorption value ethyl *p*-methoxycinnamate compound occur at 307.0 nm and 226.0 nm respectively. The acute toxicity was determined by calculating the median lethal dose (LD50) value of ethyl *p*-methoxycinnamate on a several groups of mice administered with different dose of ethyl *p*-methoxycinnamate (50, 100, 500, 1000 and 2,000 mg / Kg). The value obtained median lethal dose (LD50) obtained was 3,652 mg/Kg animal weight.

It can be concluded that ethyl p-methoxycinnamate is the natural compound with moderate toxicity category.

Keywords: *Kaempferia galanga L.*, acute toxicity, ethyl p-methoxycinnamate, LD50

PENDAHULUAN

Penelitian-penelitian terhadap kandungan dari rimpang kencur telah banyak dilakukan antara lain penelitian-penelitian terhadap senyawa etil p-metoksisinamat yang merupakan turunan dari sinamat (Darwis dkk., 1991). Senyawa ini yang diduga memiliki khasiat diduga memiliki khasiat sebagai analgesik dan antiinflamasi juga dapat bersifat sebagai agen tabir surya (Mulyadi T., 2009). dengan memodifikasi perpanjangan rantai karbon. Senyawa etil p-metoksisinamat adalah turunan sinamat yang berasal dari jalur biosintesis asam shikimat dan memiliki kerangka karbon C6 – C3, terdiri dari cincin benzen (C6) yang terikat pada ujung rantai karbon (C3) disebut dengan senyawa fenolik alam dari golongan fenilpropanoid (DepKes RI., 1995). Di alam turunan sinamat terdapat dalam bentuk ester atau glikosidanya. Etil p-metoksisinamat terdapat di alam dalam bentuk ester berwujud padatan kristal berwarna putih kekuningan dan mempunyai bau khas aromatis yang sangat kuat (Fahmi, 1991).



(*E*)-ethyl 3-(4-methoxyphenyl)acrylate
(Etil p-metoksisinamat)

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut yang bertujuan untuk menentukan toksisitas suatu zat atau senyawa tertentu terhadap hewan uji. Uji toksisitas akut diperlukan untuk mengetahui derajat efek toksik sesuatu zat atau senyawa yang terjadi dalam

waktu singkat setelah pemberian dalam dosis tunggal zat atau senyawa tersebut terhadap hewan uji. Batasan waktu singkat disini ialah rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian senyawa.

Parameter yang digunakan untuk mengetahui toksisitas akut suatu zat atau senyawa adalah nilai *median lethal dose* atau LD50. Nilai LD50 didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat atau senyawa yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan uji. Senyawa etil p-metoksisinamat pada penelitian ini diisolasi dari ekstrak n-heksan rimpang kencur. Kemurniannya diuji menggunakan metode uji jarak lebur, kemudian diidentifikasi dan diisolasi menggunakan KLT dan Spektrofotometri Uv-Vis.

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kencur, yang diambil dari perkebunan daerah Leuwiliang, Kabupaten Bogor.

Pembuatan Ekstrak n-heksan Kencur

Sebanyak masing-masing 0,5 kg serbuk kering Kencur (*Kaempferia galanga L.*) murni diperkolasi dengan 1 L n-heksan dalam tabung perkolator selama 24 jam. Selama perendaman dilakukan pengocokan setiap 6 jam sekali selama 15 menit. Setelah 1 hari rendaman disaring, filtrat diambil dan masukan ke alat *rotary evaporator* sampai menghasilkan ekstrak kental yang selanjutnya didinginkan sehingga menjadi serbuk kristal etil p-metoksisinamat dan digunakan untuk uji toksisitas akut.

Nilai rendemen ekstrak dihitung dengan membandingkan berat awal

simplisia dan berat akhir ekstrak yang dihasilkan. Rendemen merupakan parameter standar mutu ekstrak serta penentuan efisiensi ekstraksi. Nilai persentase rendemen etil p-metoksisinamat dihitung terhadap serbuk rimpang kencur kering dengan larutan n-heksan adalah 1.19 %.

Analisis Karakteristik Serbuk Kristal etil p-metoksisinamat

Kromatografi Lapis Tipis

Untuk uji kromatografi lapis tipis, dibuat eluen/fase gerak metanol dan aseton dengan perbandingan 2:1 dan untuk fase diam digunakan Silika gel GF 254. Sebanyak 10 mL sampel 1 % disiapkan dengan mengencerkan ekstrak menggunakan aquadem. Standar baku pembanding etil p-metoksisinamat 1% juga disiapkan dengan pengencer aquadem. *Chamber* untuk meletakkan kromatogram dijenuhkan dengan eluen yang akan digunakan. Larutan sampel dan larutan standar ditotolkan pada lempeng, dibiarkan kering kemudian di elusi pada *chamber* yang telah disiapkan. Lempeng KLT yang telah dielusi dideteksi menggunakan sinar UV 254. Nilai Rf kemudian dihitung dari jarak spot yang terbentuk berbanding jarak akhir. Hasil analisis KLT dengan fase gerak metanol:aseton (2:1) menunjukkan bahwa senyawa etil p-metoksisinamat memiliki nilai Rf 0,68.

Uji Jarak Lebur

Sampel yang diperiksa harus kering dan digerus jadi serbuk, kemudian dimasukkan ke dalam pipa kapiler yang tertutup sebelah ujungnya, berdinding setebal 0,10 - 0,15 mm. Panjang kapiler secukupnya agar ujung yang terbuka berada di atas permukaan cairan dalam alat tile dengan diameter sebelah dalam 0,9 - 1,1 mm.

Lekatkan pipa kapiler tersebut pada termometer, dimana isinya diusahakan sedekat mungkin pada tengah-tengah pencadangan raksa. Letakkan pencadangan

di tengah tabung yang vertikal di tile. Panasi pipa samping tile dengan api kecil sampai kurang lebih 15°C dibawah titik lebur diduga, kemudian dipanasi pelan-pelan dan teratur dengan kecepatan kurang lebih 2°C per menit. Bagian-bagian yang melekat pada dinding kapiler meleleh terlebih dahulu, temperatur dimana bahan di tengah pipa kapiler itu melebur semuanya dicatat sebagai temperatur titik leburnya. Hasil analisis titik lebur senyawa etil p-metoksisinamat adalah 48,5 °C.

Spektrofotometri UV-VIS

Pengujian kadar etil p-metoksisinamat dilakukan menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS dengan pelarut metanol. Hasil analisis spektrofotometri senyawa standar etil p-metoksisinamat dalam pelarut metanol memberikan spektrum dengan serapan maksimum masing-masing pada 307,0 nm dan 226.0 nm (Masida, 2009).

Pembuatan Sediaan Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut mengacu pada pedoman dari *The Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) 425 yaitu *Up and Down Procedure* (Lu F.C., 1995). Sebelum pemberian senyawa uji, mencit dipuasakan satu malam tetapi tetap diberi minum. Senyawa uji disuspensikan dengan larutan Na-CMC 0,5%.

Limit Test

Mencit telah dipuasakan ditimbang dan diberikan sediaan senyawa uji peroral pada dosis tunggal 2000 mg/kg BB. Volume Administrasi Obat (VAO) dihitung sesuai dengan bobot mencit, yaitu 60 mg/0,2 mL. Setelah pemberian sediaan uji, pada 6 jam pertama dilakukan pengamatan selama 30 menit, dilanjutkan dengan pengamatan setiap 12 jam selama 48 jam. Tanda-tanda toksisitas yang diamati meliputi kondisi kulit dan bulu, mata, konvulsi, tremor, diare, dan

kematian. Apabila setelah 48 jam mencit pertama masih hidup dan tidak menunjukkan tanda-tanda toksisitas ataupun kematian, maka pengujian dilanjutkan pada 4 mencit lainnya. Apabila terdapat 3 hewan coba yang mati, maka uji dilanjutkan dengan *main test*.

Uji Toksisitas Akut Oral etil p-metoksisinamat

Efek toksisitas akut oral etil p-metoksisinamat dievaluasi terhadap kelompok mencit dengan variasi pemberian dosis 50, 100, 500, 1000 dan 2.000 mg/Kg BB secara oral. Perilaku dan kondisi hewan coba diamati sampai 48 jam setelah perlakuan. Penghitungan LD50 dari sediaan uji dihitung dengan rumus:

$$\text{Log } M = \text{Log } D + d (f + 1)$$

dimana :

M : Harga LD₅₀

D : Dosis terkecil yang digunakan

d : Log R (Log dari kelipatan dosis)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tahap uji didapat jumlah kematian 0, 1, 3, 5, 5 dengan dosis terkecil 50 mg/20 g BB. Berdasarkan rumus, maka didapat nilai LD50 senyawa etil p-metoksisinamat adalah 3,6523 (3,1715-4,2060)g/kg BB. Nilai yang didapatkan menunjukkan bahwa senyawa etil p-metoksisinamat termasuk senyawa obat baru dengan kategori toksik sedang. Parameter toksisitas baru terlihat berubah pada mencit yang diberi perlakuan dosis 1000 dan 2000 mg/Kg BB yaitu mencit mengalami tanda diare dan tremor.

SIMPULAN

1. Senyawa etil p-metoksisinamat dapat diisolasi dari rimpang kencur dengan pelarut n-heksan dengan rendemen 68% dihitung terhadap rimpang kencur.
2. Senyawa etil p-metoksisinamat dapat identifikasi menggunakan KLT,

spektrofotometri UV-Vis dan jarak lebur.

3. Penetapan nilai LD50 senyawa etil p-metoksisinamat adalah 3,6523 (3,1715-4,2060) g/Kg BB, senyawa merupakan senyawa dengan kategori toksik sedang.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek analgesik/efek antiinflamasi dari senyawa etil p-metoksisinamat secara *in-vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Darwis, S.N, A.B.D Modjo, dan Hasiyah S. 1991. Tumbuhan obat familia zingiberaceae. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri
- DepKes RI. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Fahmi R. 1991. Isolasi dan Karakteristik struktur konstituen kimia utama kencur (*Kaempferia galanga* Linn) Skripsi. Padang: Pusat Pendidikan Universitas Negeri Padang. Padang.
- Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar Asas, Organ Sasaran, dan Penelitian
- Resiko. Ed 2. Diterjemahkan oleh Edi Nugroho. UI Press. Jakarta.
- Masida M. 2009. Penetapan kadar etil p-metoksisinamat dari tiga varietas rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L) secara KLT-Densitometri. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. Jakarta.
- Mulyadi T. 2009. Senyawa tabir surya yang efektif dengan bahan baku senyawa aktif dari rimpang kencur (*Kaempferia Galanga* L.).