

## UJI KELARUTAN KALSIUM DALAM FRAKSI AIR DAN ETIL ASETAT MAKUTODEWO (*Phaleria macrosarpa*) DENGAN PENGAKTIVAN NEUTRON

Zainul Kamal, M. Yazid dan Sunardi

P3TM – BATAN

### ABSTRAK

UJI KELARUTAN KALSIUM DALAM FRAKSI AIR DAN ETIL ASETAT MAKUTODEWO (*Phaleria macrosarpa*) DENGAN PENGAKTIVAN NEUTRON. Penyakit batu ginjal selama ini diatasi dengan berbagai cara antara lain dengan operasi, penyinaran dan obat modern maupun tradisional, antara lain daun Makuto Dewo tetapi belum banyak bukti ilmiah yang mendukungnya. Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk menguji kelarutan batu ginjal kalsium dalam fraksi air dan fraksi etil asetat daging buah Makuto Dewo (*Phaleria macrocarpa*) secara *in vitro* dengan pengaktifan neutron cepat. Fraksi air dan etil asetat dalam daging buah Makuto Dewo dengan kadar masing masing 20%, 40%,60% dan 80% ditambah 100,0 mg batu ginjal kalsium, diinkubasi 4 jam pada suhu 37C , disaring , hasil saringan diambil 5,0 ml , kadar kalsium yang larut ditentukan dengan pengaktifan neuron cepat. Uji adanya flavonoid dilakukan dengan kromatografi lapisan tipis, jenis batu ginjal dilakukan dengan spektroskopi infra merah. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa batu ginjal yang digunakan adalah batu ginjal kalsium, di dalam fraksi air terdapat flavonoid. Fraksi air dalam semua kadar dapat melarutkan batu ginjal kalsium, terbesar pada kadar 60% sedangkan fraksi etil asetat tidak dapat melarutkan batu ginjal kalsium

### ABSTRACT

Kidneystone disease during in this time overcome variously for example with the operation, traditional and modern drug and irradiation, for example leaf of Makuto Dewo but not much in scientific proven. This research was done to examined solubility of calcium kidney stone in fraction of water and ethyl acetate from leaf of Makuto Dewo ( *Phaleria Macrocarpa*) *in vitro* by activation of fast neutron. Fraction of water and ethyl acetate from leaf of Makutodewo with the concentration 20%, 40%,60% and 80% was added 100,0 mg of calcium kidneystone incubeted 4 hours at temperature of 37C , filtered , result of filter was taken 5,0 ml,dissolve calcium was determined by activation of fast neutron . Test of flavonoid was done by Thin Layer Chromatography, type of calcium kidneystone was determined by Spectroscopy of Red Infra . Result obtained indicate that the type of kidney is calcium kidneystone , flavonoid was found in water fraction and all concentration of water fraction can dissolve the calcium kidneystone, biggest at concentration of 60% while fraction of ethyl acetate cannot dissolved it.

### PENDAHULUAN

Perkembangan obat tradisional tidak secepat perkembangan obat modern karena obat tradisional mempunyai komposisi lebih dari satu simplisia sehingga belum dapat diketahui senyawa manakah yang sebenarnya bertanggung jawab terhadap penyembuhan suatu penyakit<sup>(1)</sup>.Demikian pula pengobatan terhadap penyakit batu ginjal, karena tergolong membahayakan kesehatan maka berbagai upaya untuk mencegah, menghindari, mengatasinya selalu diupayakan antara lain dengan mengatur jenis makanan yang dikonsumsi, banyak minum air putih dan olahraga teratur, tetapi apabila

sudah terbentuk batu maka dilakukan tindakan operasi maupun dengan menggunakan obat modern maupun tradisional antara lain daun Makuto Dewo Saat ini penggunaan obat tradisional semakin meningkat karena selain harganya murah, efek samping yang ditimbulkan lebih ringan<sup>(1)</sup>

Tanaman Makuto Dewo merupakan tanaman yang selama ini dikenal dan digunakan masyarakat untuk menyembuhkan penyakit batu ginjal<sup>(2)</sup>dapat menurunkan kadar gula darah<sup>(1)</sup>, di dalamnya terdapat zat aktif yang disebut flavonoid<sup>(1)</sup> dan flavonoid yang terdapat di dalamnya dapat melarutkan batu ginjal kalsium

Penelitian yang berkaitan dengan penggunaan daun Makuto Dewo untuk pengobatan batu ginjal belum banyak dilakukan terlebih ,lagi tentang zat aktif yang berperan serta sifat sifat yang dimilikinya dan berdasar hal tersebut maka dalam penelitian ini dilakukan kepolariansan daun Makuto Dewo dengan pelarut air maupun etil asetat dan selanjutnya dilakukan uji kelarutannya terhadap batu ginjal kalsium

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat yang digunakan

Spektroskopi Infra Merah (untuk identifikasi jenis batu ginjal) evaporator( untuk memekatkan fraksi etil asetat dan air dengan penguapan ), soklet( untuk menghilangkan pengotor misalnya khloropil yang terdapat di dalam fraksi air dan etil asetat) kromatografi lapisan tipis ( untuk menentukan kemurnian hasil ekstraksi dengan menggunakan fase gerak dan fase diam ), pengayak ( untuk mengayak serbuk sampel sehingga diperoleh ukuran tertentu ) dan generator neutron tipe J-125 150 keV buatan SAMES Perancis( sumber neutron untuk membuat kalsium nonradioaktif menjadi kalsium radioaktif), perangkat spektrometri gamma dengan detektor HPGe(High Purity Germanium) untuk menentukan radioaktivitas kalsium

### Bahan yang digunakan

Daging buah Makuto Dewo yang digunakan sebagai sampel ,batuginjal sebagai sumber kalsium ,petroleum eter teknis untuk menghilangkan khloropil dengan cara sokletasi ,etil asetat p.a(E.Merck) untuk membuat fraksi etil asetat, asetat p.a (E Merck)sebagai fase gerak pada kromatografi lapisan tipis, etanol p.a (E Merck)sebagai pelarut bercak, silikagel GF 254 sebagai fase diam pada kromatografi lapisan tipis, asam asetat p,a( E.Meck)dan butanol p.a(E Merck) sebagai fase gerak pada kromatografi lapisan tipis

### Jalannya Penelitian

Daging buah Makuto Dewo dikeringkan,diserbuk, seberat lebih kurang 30,0 g diekstraksi dengan 150 ml petroleum eter sehingga diperoleh ekstrak kental, ditambah 50 ml etanol 30%, diaduk dan disaring, hasil saringan dipekatkan difraksinasi dengan air maupun etil asetat, masing masing fraksi diuapkan hingga 2 ml, ditambah 2ml twen 80 dan ditambah dengan air suling sampai 50 ml ( sebagai larutan induk), selanjutnya dibuat kadar 20%, 40%, 60% dan 80%. Masing masing kadar

diambil 20 ml, ditambah 100,0 mg serbuk batu ginjal, diinkubasi 4 jam pada suhu 37C, disaring, hasil saringan diambil 5,0 ml,dimasukkan ke dalam tabung polietilen,diaktivasi dalam generator neutron selama 30 menit, dicatat waktu tunda dan dicacah radioaktivitasnya dengan spektrometri gamma

Sebelum spektrometri gamma digunakan untuk pencacahan maka terlebih dahulu dilakukan kalibrasi baik kalibrasi energi gamma maupun efisiensi detektor<sup>(3,4)</sup>. Kadar kalsium yang terlarut dihitung dengan membandingkan radioaktivitas kalsium dalam sampel dengan radioaktivitas kalsium dalam standar<sup>(5)</sup>

Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil 7,5 ml larutan induk dari air maupun etil asetat, diuapkan sampai tersisa 2 ml, ditambah 10,0 ml etanol 75%, disaring, hasil saringan ditetaskan pada lempeng KLT dengan Silika Gel GF 254 sebagai fase diam dan butanol:asam asetat:air ( 4:1:5 v/v)sebagai fase gerak,. penampakan bercak dilakukan dengan menggunakan UV pada panjang gelombang 366 nm dengan pereaksi warna uap amoniak<sup>(6,7)</sup> . Jenis batu ginjal ditentukan dengan mengamati tablet serbuk batu ginjal yang dibuat dengan menimbang 1,0 g serbuk batu ginjal, dicampur dengan 300,0 mg serbuk KBr menggunakan Spektroskopi Infra Merah<sup>(8)</sup>

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kalibrasi Spektrometri gamma

#### Kalibrasi energi

Kalibrasi yang dilakukan untuk menentukan ketepatan antara nomor salur dengan besarnya energi gamma sehingga pada saat dilakukan pencacahan sampel diperoleh kelinieran antara nomor salur dengan energi gamma isotop kalsium dalam sampel . Hasil kalibrasi disajikan dalam Tabel 1

**Tabel 1. Hasil kalibrasi energi gamma dengan sumber Cs 137 dan Co 60**

Sumber standar	Energi gamma (keV)	Nomor salur
Cs 137	661,628	399
Co 60	1173,208	820
	1332,464	937

Kalibrasi energi dilakukan dengan fasilitas Greval yang tersedia dalam program Accuspec dan diperoleh Slope =1,22374 offset = 170,62720, sehingga persamaan regresi linier untuk kalibrasi energi gamma adalah  $Y=1,22374 X + 170,62720$

**Kalibrasi efisiensi**

Kalibrasi yang dilakukan untuk mencari efisiensi deteksi spektrometer dan hasil yang diperoleh disajikan dalam Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil kalibrasi efisiensi dengan sumber standar Eu 152**

Energi gamma (keV)	Laju cacah (cps)	Yield	Efisiensi
250,244	136,48	0,0738	0,0366
347,206	372,90	0,2640	0,0279
413,608	26,26	0,0221	0,0235
445,616	24,99	0,0308	0,0160
778,148	60,88	0,1300	0,0093
963,420	49,56	0,1448	0,0068
1085,696	38,11	0,1014	0,0074
1111,942	32,64	0,1355	0,0048
1407,943	50,24	0,2070	0,0048

Hasil-hasil efisiensi kemudian dituangkan dalam plot efisiensi versus energi-gamma yang disebut kurva kalibrasi efisiensi. Dengan menggunakan fasilitas program excel dengan tipe regresi logaritmik, diperoleh persamaan :

$$Y = -0,015 \ln(X) + 0,1112$$

dengan

Y = efisiensi

X = Energi gamma

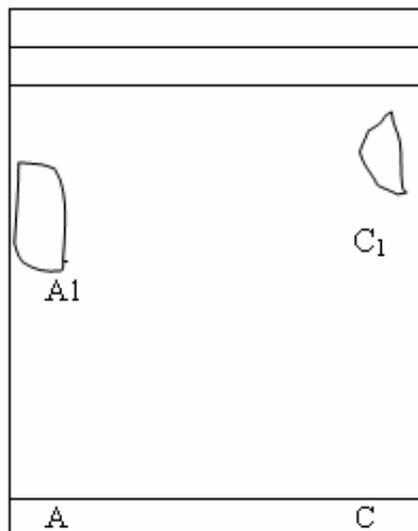
Setelah diketahui persamaan regresi untuk kalibrasi efisiensi maka efisiensi pada energi gamma yang telah ditentukan dalam analisis kualitatif dapat diketahui.

**Uji kromatografi lapis tipis**

Untuk mengetahui adanya senyawa flavonoida dalam fraksi air maupun etil asetat dari daging buah Makuto Dewo yang diduga sebagai zat aktif yang berperan dalam melarutkan kalsium maka dilakukan uji kromatografi lapis tipis. Sebagai pembanding flavonoid digunakan rutin, karena di dalam rutin terdapat flavonoid.

Fase diam yang digunakan adalah Silika gel dan fase gerak yang digunakan adalah : butanol : asam asetat : air ( 4:1:5 v/v), sedangkan

pembandingnya digunakan larutan rutin dengan jarak pengembangan 8 cm. Kromatogram yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1



**Gambar 1. Kromatogram fraksi air dan etil asetat buah Makuto Dewo Nilai Rf : A<sub>1</sub> = 0,67 C<sub>1</sub> = 0,80 Keterangan, A fraksi air, C=fraksi etil asetat, R<sub>f</sub>= Retentionfactor**

Bercak yang terjadi selanjutnya dideteksi dengan sinar UV 366 nm dan terlihat warna yang khas, karena struktur flavonoida mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi. Pemberian uap amonia menyebabkan gugus hidroksi flavonoida terionisasi, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang yang diserap dan mengakibatkan perubahan warna. dan dengan menggunakan pereaksi AlCl<sub>3</sub> memberikan warna kuning, karena logam alumunium membentuk kompleks dengan gugus hidroksi pada posisi ortho, gugus hidroksi karbonil dan gugus hidroksil dan atau gugus orthoglikosil yang hasilnya dapat dilihat dalam Tabel 3.

Dari hasil tersebut maka bercak-bercak yang ditemukan kemungkinan adalah flavonoid.

**Tabel 3. Data kromatografi lapisan tipis fraksi air dan etil asetat**

Sampel	Harga Rf	Warga bercak		
		Visual	NH <sub>3</sub> / UV 366 nm	FeCl <sub>3</sub>
Rutin	0,66	kuning	kuning	kuning
Fraksi air	0,98	Kuning	kuning	flouresensi kuning
Fraksi Etil asetat	-----	---	-----	-----

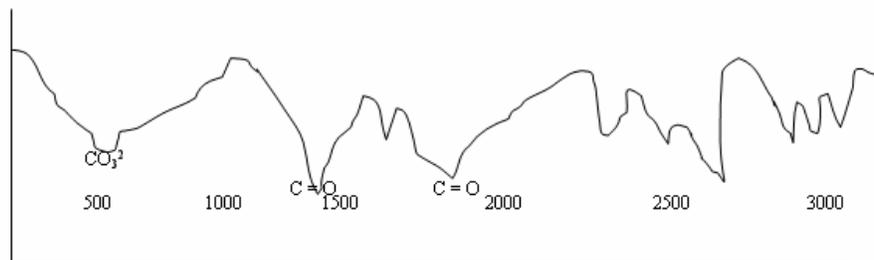
### Analisis kualitatif batu ginjal

Hasil analisis kualitatif batu ginjal dengan spektrofotometer infra merah, menunjukkan spektrogram dengan puncak-puncak yang khas untuk masing-masing batu ginjal. Dengan membandingkan spektrogram yang didapat dengan spektrogram standart dari 'Analyse des

Calculus par Spectrophotometrie Infrarouge, Advantages et Limites de la Methode' <sup>(9)</sup>, maka komposisi batu ginjal bisa diketahui Spektrogram hasil beserta spektrogram baku dapat dilihat pada Gambar 2a dan 2b serta Tabel 4.



Gambar 2a. Spektrogram batu ginjal uji



Gambar 2b. Spektrogram Batu Ginjal Standar yang sesuai

Tabel 4. Interpretasi spektrum batu ginjal

Ikatan yang bervibrasi	Tipe vibrasi	Posisi bilangan gelombang (cm) <sup>-1</sup>		Keterangan
		Daerah Umum	Daerah Khusus	
O-H	Tekuk		1675; 1625	Struvit
	Tekuk (osilan)		1647 875; 760; 690	Brushite Struvit
N-H	Ulur	3330 – 2800		Struvit, urate, D' ammonium
NH <sub>3</sub>	Ulur	3130 – 3030		Cystine
	Tekuk	1660 – 1610	1620	Cystine
CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup>	Ulur (asim)	1200 – 950	1435 – 1415	Calcite
			1465; 1415	Carbapatite
	Ulur (asim)	640 – 550	1095	Struvite
			1000, 985, 965	Apatite
Tekuk		600	Apatite	
P-OH	Alur		870	Brushite

Dari hasil analisis komposisi dan kandungan batu ginjal dapat disimpulkan bahwa batu ginjal uji termasuk jenis *whewellite*, *weddllite*, *brushite*, *apatite* yang mengandung unsur kalsium, maka batu ginjal ini dapat dipakai dalam penelitian.

### Pengukuran kadar kalsium terlarut

Batu ginjal kalsium yang terlarut dalam fraksi air maupun etil asetat dari daging Makuto

Dewo dianalisis dengan pengaktifan neutron cepat. Penggunaan analisis pengaktifan neutron cepat (APNC) sebagai metode untuk mengukur kadar kalsium batu ginjal terlarut karena neutron tidak bermutan, sehingga tidak dapat mengionisasi medium dan mampu menembus inti atom kalsium batu ginjal yang terlarut tanpa dipengaruhi oleh gaya-gaya Coulomb yang ada. Dengan pengaktifan neutron cepat, inti atom

kalsium akan mengalami eksitasi, inti terganggu dan akan menjadi radioaktif, untuk kembali ke keadaan dasar inti akan mengalami peluruhan dengan memancarkan radiasi. Radiasi yang dipancarkan dari inti yang tereksitasi dapat berupa pancaran radiasi sinar *alpha*, *beta* atau *gamma*.

Di alam kalsium berada dalam bentuk 6 isotop dengan nomor massa 40, 42, 43, 44, 46 dan 68. Isotop yang mempunyai kelimpahan terbesar adalah isotop dengan nomor massa 40,

yaitu 96,64% energinya 511 ke-V, dan isotop bernomor massa 44 kelimpahannya 2,08% dengan energi 1156,82 ke-V. sehingga dimungkinkan kalsium yang terkandung dalam batu ginjal adalah isotop  $Ca^{40}$  dan  $Ca^{44}$ .

Kalsium batu ginjal yang terlarut dalam fraksi air daging buah Makuto Dewo setelah diaktivasi menggunakan neutron cepat 14,5 MeV menunjukkan energi *gamma* di daerah energi 511 KeV. Hasil yang diperoleh disajikan dalam Tabel 5.

**Tabel 5. Cacah kalsium dan energi dari kalsium batu ginjal terlarut**

Sampel	Cacah kalsium (cps)	Unsur	Energi (keV)	T $\frac{1}{2}$ (menit)
Lar. $CaCl_2$ 10 %	0,92	Ca	1455,10	12,36
Fa 20%	0,77	Ca	1458,66	12,36
Fa 40%	0,98	Ca	1454,79	12,36
Fa 60%	1,38	Ca	1455,23	12,36
Fa 80%	1,22	Ca	1453,05	12,36
Fea 20%	-----	---	-----	-----
Fea 40%	-----	-----	-----	-----
Fea 60%	-----	-----	-----	-----
Fea 80%	-----	-----	-----	--

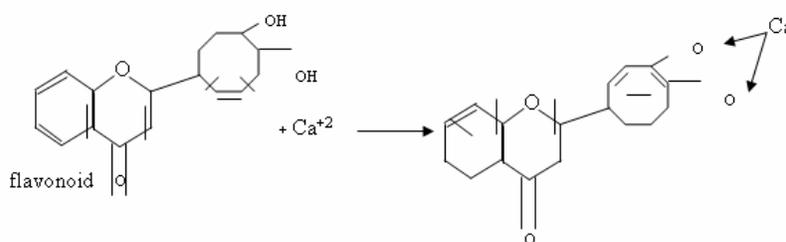
Keterangan : Fa = Fraksi air ; Fea = Fraksi etil asetat ; ----- = tidak terdeteksi

**Tabel 6. Kadar kalsium dalam fraksi air dan fraksi etil asetat**

Sampel	Kadar fraksi (%)	Kadar Ca (ug/ml)
Fraksi air	20	0,84
	40	1,06
	60	1,50
	80	1,22
Fraksi etil asetat	20	--
	40	--
	60	--
	80	--

Data data yang disajikan dalam Tabel 5 menunjukkan bahwa dengan berdasar pemilihan dan perbandingan dengan energi standar (1455,10 KeV) secara kualitatif di dalam fraksi air terdapat kalsium dan secara kuantitatif dengan membandingkan cacah kalsium dalam standar dengan cacah kalsium dalam sampel maka kadar kalsium dalam sampel dapat ditentukan yang hasilnya disajikan dalam Tabel 6.

Mekanisme reaksi batu ginjal kalsium dengan fraksi air dari daging buah Makuto Dewo kemungkinan terjadi melalui pembentukan kompleks antara flavonoida yang terdapat di dalam fraksi air dengan kalsium yang terdapat didalam batu ginjal dengan reaksi berikut:



Kadar fraksi air dari daging buah Makuto Dewo yang berbeda beda( 20% , , 40%, 60% dan 80% v/v) , akan mempengaruhi kadar kalsium batu ginjal yang terlarut. Pada fraksi air dengan kadar 20% , 40% dan 60% kadar kalsium terlarut menunjukkan kenaikan dan pada 80% terjadi penurunan , hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya hambatan kerja flavonoida dalam melarutkan batu ginjal kalsium. Kelarutan batu ginjal kalsium paling tinggi pada kadar 60% yaitu sebesar 1,50 ug/ml

Berdasarkan dari hasil yang telah diperoleh, bahwa fraksi air dari daging buah Makuto Dewo dapat melarutkan batu ginjal kalsium , maka diharapkan daging buah Makuto Dewo dapat digunakan sebagai alternatif lain untuk pengobatan peluruh batu ginjal

#### KESIMPULAN

- 1 Batu ginjal yang digunakan adalah batu ginjal kalsium
- 2 Di dalam fraksi air terdapat flavonoid
- 3 Fraksi air dapat melarutkan kalsium dan kadar kalsium yang terlarut tertinggi terdapat di dalam fraksi air 60%

#### DAFTAR PUSTAKA

1. ANONIM, Pemanfaatan Tanaman Obat, edisi II Departemen Kesehatan RI Jakarta (1983)
2. HARMANTO; Mahkota Dewa Obat Pusaka Para Dewa; Jakarta (2000).
3. DARSONO, Pengenalan dan Aplikasi Akselerator, Pusat Pendidikan dan Pelatihan BATAN, Yogyakarta(1998)
4. PUDJORAHDJO,SD, Petunjuk Praktikum Aktivasi Neutron Cepat,Fisika Nuklir dan Atom,PPNYBATAN, Yogyakarta. (1994)
5. ELIN, DARSONO dan SUNARDI, Pengukuran daya larut batu ginjal kalsium dalam fraksi air dan etil asetat daun mindi;

Prosiding P3TM BATAN Yogyakarta (2002).

- 6 GRITTER, R.J. Pengantar Kromatografi., Edisi II, 107, 108, 109, 125 ITB Press Bandung (1991)
- 7 MARKHAM, Cara Identifikasi Flanonoid,ITB Bandung (1988)
- 8 SASTROAMIDJOYO dan ANWAR , Spektrometri Infra Merah, LAKFIP UGM Yogyakarta (1984)
- 9 DAUDON et.al , Analyse des Calcus par Spectrophotometrie, Advantage et Limites de la Methode, vol. 36, 475-489, Ann.Biol. Clin, France (1978).

---

#### TANYA JAWAB

NN.

- Apa yang menjadi latar belakang penelitian Saudara?

#### Zainul Kamal

- Sebagai salah satu upaya untuk membuktikan secara ilmiah bahwa daun makutodewo berkhasiat sebagai peluruh batu ginjal, mengingat selama ini daun tersebut digunakan secara turun temurun tanpa memahami kandungan zat aktif yang berperan.

NN.

- Sebutkan alasan penggunaan fraksi air dan etil asetat?

#### Zainul Kamal

- Diharapkan dua fraksi tersebut merupakan fraksi yang polar untuk air dan fraksi non polar untuk etil asetat, sehingga bahan aktif dapat tersari sesempurna mungkin, yang tidak terlarut dalam air dapat larut dalam fraksi etil asetat.