

*J. Akad. Kim.* 3(3): 165-172, August 2014

ISSN 2302-6030

## UJI KUALITATIF SENYAWA METABOLIT SEKUNDER PADA DAUN PALADO (*Agave angustifolia*) YANG DIEKSTRAKSI DENGAN PELARUT AIR DAN ETANOL

### Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol

**\*Ergina, Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Pursitasari**

Pendidikan Kimia/FKIP - Universitas Tadulako, Palu - Indonesia 94118

Received 25 July 2014, Revised 27 August 2014, Accepted 28 August 2014

#### Abstract

*Study on qualitative test of secondary metabolites compounds has been done on Palado leaves (*Agave angustifolia*) extracted in water and ethanol by maceration technique. The aim of this research was to determine the chemical content of Palado leaves. The method used was phytochemical screening (qualitative test) using test tube to determine type of the active compounds contained in the plant. Chemicals tested in this study were alkaloids, terpenoids, steroids, flavonoids, and tannins. Components of Palado leaves extracted in water and ethanol were analysed by colour test using several reagents to determine alkaloids, terpenoids, steroids, flavonoids, and tannins. Specific reagents used in this study interacted with the sample based on the principle of 'like dissolve like'. The results showed that the water and ethanol extracts of Palado leaves contained alkaloids, flavonoids and tannins.*

Keywords : Qualitative Test, Secondary Metabolites, Palado leaves.

#### Pendahuluan

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia (setelah Brazil dan Zaire). Keanekaragaman hayati merupakan basis berbagai pengobatan dan penemuan industri farmasi dimasa mendatang. Jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat pewarna, penambah aroma makanan, parfum, insektisida dan obat. Ada 150.000 metabolit sekunder yang sudah diidentifikasi dan ada 4000 metabolit sekunder "baru" setiap tahun (Yuhernita & Juniarti, 2011)

Menurut catatan World Health Organization (WHO) pemanfaatan keanekaragaman hayati (bioprospecting) sangat besar sekali, sekitar 80% umat manusia terutama di negara-negara sedang berkembang masih menggantungkan dirinya pada tumbuh-tumbuhan (ekstrak dan bahan bioaktif) sebagai bahan obat untuk menjaga kesehatannya. Akhir-akhir ini di

dunia termasuk Indonesia ada kecenderungan untuk kembali kepada cara-cara pengobatan yang menerapkan konsep "back to nature" atau kembali ke alam, yakni memanfaatkan atau mendaya gunakan bahan-bahan alami secara optimal baik tumbuhan maupun hewan untuk menjaga kesehatan dan pengobatan. Kecenderungan ini menjadi semakin nyata, khususnya di Indonesia, terutama setelah dipicu oleh krisis multi dimensi yang berkepanjangan, terutama di bidang ekonomi yang berdampak melonjaknya harga obat non-tradisional secara drastis karena lebih dari 90% bahan baku dan teknologi tergantung impor (Chairu dkk, 2003)

Makhluk hidup dapat menghasilkan bahan organik sekunder (metabolit sekunder) atau bahan alami melalui reaksi sekunder dari bahan organik primer (karbohidrat, lemak, protein). Bahan organik sekunder (metabolit sekunder) ini umumnya merupakan hasil akhir dari suatu proses metabolisme. Bahan ini berperan juga pada proses fisiologi. Bahan organik sekunder itu dapat dibagi menjadi tiga kelompok besar yaitu : fenolik, alkaloid dan terpenoid, tetapi pigmen dan porfirin juga termasuk di dalamnya

\*Korespondensi:

Ergina

Program Studi Pendidikan kimia, Fakultas Keguruan dan

Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako

email: [ergina.salsabilla@yahoo.com](mailto:ergina.salsabilla@yahoo.com)

© 2014 - Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Tadulako

(Purwantini, 2002). Salah satu tanaman yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder yaitu tanaman temulawak dimana senyawa yang terkandung yaitu alkaloid, terpenoid dan steroid (Mangunwardoyo dkk, 2012).

Metabolit sekunder berupa molekul-molekul kecil, bersifat spesifik (tidak semua organisme mengandung senyawa sejenis), mempunyai struktur yang bervariasi, setiap senyawa memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri atau untuk mempertahankan eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai lead compounds dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru (Atun, 2008). Senyawa metabolit sekunder yang umum terdapat pada tanaman adalah : alkaloid, flavanoid, steroid, saponin, terpenoid dan tannin (Harborne, 1987).

Pemanfaatan dari zat metabolit sekunder sangat banyak. Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi (Mustarichie dkk., 2013), diantaranya sebagai antioksidan, antibiotik, antikanker, antikoagulan darah, menghambat efek karsinogenik, selain itu metabolit sekunder juga dapat dimanfaatkan sebagai antiagen pengendali hama yang ramah lingkungan (Samsudin & Khoiruddin, 2008). Beberapa senyawa metabolit sekunder adalah alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid dan lain-lain. Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari berbagai tumbuhan diketahui mempunyai aktivitas biologi yang menarik, seperti bersifat toksik terhadap sel kanker, menghambat pelepasan histamin, anti jamur dan anti bakteri (Mulyani dkk, 2013). Sedangkan senyawa terpenoid dapat dijadikan sebagai antimikroba yang ramah lingkungan (Saxena & Kalra, 2011).

Metabolit sekunder dihasilkan melalui reaksi sekunder dari metabolit primer (bahan organik primer) seperti karbohidrat, lemak, dan protein (Purwantini, 2002). Tumbuh-tumbuhan yang mengandung bahan organik primer kemungkinan besar mengandung bahan organik sekunder. Enzim merupakan suatu kelompok protein (Fessenden & Fessenden, 1986). Sehingga, kemungkinan besar di dalam daun palado terkandung bahan organik sekunder (metabolit sekunder) yang dihasilkan dari bahan organik primer seperti protein.

Tanaman palado merupakan tanaman

sukulen yang dapat tumbuh sampai ukuran yang sangat besar. Species palado di Mexico banyak ditanam sebagai pagar karena daunnya memiliki duri sehingga sulit dilalui manusia maupun hewan. Selain itu, daun palado tersusun dari serat yang kuat sehingga dapat dibuat menjadi tali atau anyaman (Dewi & Rahmawati, 2012). Jenis tanaman palado seperti pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Tanaman Palado (*Agave angustifolia*)

Tanaman palado memiliki banyak jenis dan manfaat. Tanaman ini digunakan untuk membuat mezcal dan juga sebagai tanaman hias, khususnya 'marginata' kultivar. Beberapa jenis palado (agave) yang menghasilkan serat alam dan diusahakan secara komersial di dunia adalah *Agave fourcroydes* atau sering disebut Henequen; *A. angustifolia*; *A. kewensis*; *A. tequilana*; *A. atfenuata*; *A. sisalana*; dan *A. cantala*. Karena sifatnya yang ramah lingkungan (biodegradable) maka serat masih banyak dipakai dalam industri kertas, karpet, bahkan sebagai penguat pada bahan composite industri otomotif (Santoso, 2009). Industri lain di dalam negeri yang menyerap serat agave adalah industri kuas, pembungkus kabel, kerajinan rumah tangga, pulp, campuran karpet, karung, geotekstil dan jala ikan, namun informasi mengenai kuantitasnya tidak ada (Santoso, 2009). Selain itu, kandungan enzim protease dalam tanaman palado dapat dimanfaatkan dalam pembuatan virgin coconut oil (VCO) (Male, 2013).

## Metode

### *Alat dan Bahan*

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, blender, corong, batang pengaduk, shaker orbital, Cimarec stirring and Hotplate, kertas saring,

neraca analitik “Adam”, wadah, aluminium foil, dan tissue, pipet tetes, gunting, spatula. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu Aquadest, etanol 96%, logam magnesium, padatan KI (Kalium Iodida), padatan  $\text{FeCl}_3$  (Besi(III) Klorida),  $\text{HCl}$ pa (Asam Klorida),  $\text{H}_2\text{SO}_4$ pa (Asam Sulfat), padatan  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  (Bismut(III) Nitrat),  $\text{HNO}_3$ pa (Asam Nitrat), padatan  $\text{HgCl}_2$  (Merkurri(II) Klorida), sampel daun palado yang diperoleh dari daerah Tondo (area kampus Universitas Tadulako).

#### *Prosedur Penelitian*

Daun palado yang segar dibersihkan lalu dipotong kecil-kecil. Selanjutnya dikeringkandaun palado yang telah dipotong-potong tersebut selama 7 hari (1 minggu). Setelah kering, kemudian dihaluskan sampel daun palado tersebut dengan menggunakan blender sampai halus. Setelah itu, daun palado yang halus tersebut siap untuk diekstraksi. Pembuatan ekstrak daun palado dimulai dengan menimbang 10 gram serbuk daun palado. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan 100 mL quades. Kemudian ditutup erlenmeyer tersebut menggunakan aluminium foil dan direndam selama 3 x 24 jam (48 jam) sambil dikocok menggunakan sheker orbital. Setelah 72 jam ekstrak disaring menggunakan saring dan filtrat yang didapatkan digunakan dalam pengujian metabolit sekunder. Langkah yang sama untuk perlakuan ekstraksi dengan pelarut etanol.

#### *Uji Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Daun Palado Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol*

##### *Uji Alkaloid*

Pengajuan dilakukan dengan mengambil masing-masing 2 mL sampel daun palado yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol ke dalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambah dengan 5 tetes reagen Dragendroff. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid. Selanjutnya untuk pengujian Alkaoid dengan menggunakan reagen mayer dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun palado yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol ke dalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambah 3 tetes asam klorida pekat dan 5 tetes reagen Mayer. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan putih

maka sampel positif mengandung alkaloid (Mustikasari & Ariyani, 2010)

##### *Uji Flavonoid*

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun palado yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing-masing dutambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid (Mustikasari & Ariyani, 2010)

##### *Uji Terpenoid*

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun palado yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. Setelah itu masing-masing ekstrak, ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna merah atau ungu maka positif mengandung terpenoid (Septianingsih, 2013)

##### *Uji Steroid*

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun palado yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna hijau maka positif mengandung steroid (Septianingsih, 2013)

##### *Uji Tanin*

Pengujian dilakukan dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun palado yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing-masing ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika masing-masing larutan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin (Marlinda dkk, 2012).

#### **Hasil dan Pembahasan**

Hasil penelitian yang telah dilakukan dalam pengujian metabolit sekunder pada ekstrak air dan etanol daun palado terdapat pada Tabel 1.

Data tersebut merupakan data kualitatif yang menunjukkan kandungan kimia dari daun palado secara umum.

**Tabel 1.** Hasil pengujian ekstrak air dan etanol daun palado

Metabolit Sekunder	Metode Pengujian	Hasil Pengujian	
		Ekstrak Air Daun Palado	Ekstrak Etanol Daun Palado
Alkaloid	Reagen Mayer	Positif (+++)	Positif (++)
	Reagen Dragendorff	Positif (+++)	Positif (++)
Flavonoid	Logam Mg + HCl pekat	Positif (++)	Positif (+)
	Libermann-Burchard	Negatif (-)	Negatif (-)
Steroid	Libermann-Burchard	Negatif (-)	Negatif (-)
	FeCl <sub>3</sub> 1%	Positif (++)	Positif (++)

**Keterangan :** (+++) = banyak; (++) = sedang; (+) = kurang; (-) = tidak ada

Komponen yang terdapat dalam ekstrak air dan etanol daun palado dianalisis golongan senyawanya dengan tes uji warna dengan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid dan tanin. Pereaksi-pereaksi spesifik yang digunakan kebanyakan bersifat polar sehingga bisa berinteraksi dengan sampel berdasarkan prinsip 'like dissolve like'. Berdasarkan Tabel 1 kandungan senyawa metabolit sekunder daun palado yakni alkaloid, flavonoid, dan tanin.

### Uji Alkaloid

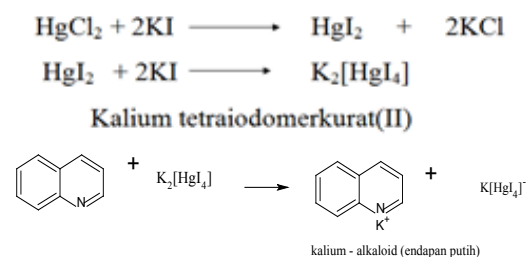
Pengujian alkaloid dilakukan dengan menggunakan dua jenis reagen/pereaksi yaitu pereaksi mayer dan dragendorff dimana hasil positif yang dihasilkan yaitu endapan putih untuk pereaksi mayer dan endapan jingga untuk pereaksi dragendorff. Langkah awal dalam pengujian alkaloid yaitu mengambil sebanyak 2 mL masing-masing ekstrak etanol dan ekstrak air daun palado dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian menambahkan pada masing-masing sampel larutan asam klorida pekat, dimana fungsi larutan ini untuk meningkatkan kelarutan alkaloid, karena senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida dan akan membentuk garam yang mudah larut dalam air selain itu tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1987).

Setelah itu, masing-masing ekstrak diuji dengan menambahkan pereaksi spesifik untuk alkaloid yaitu reagen mayer dan reagen dragendorff. Dan hasil yang didapatkan dalam pengujian ini yaitu ekstrak air dan etanol daun palado positif mengandung senyawa alkaloid dengan terbentuknya endapan putih dan endapan jingga pada masing-masing ekstrak air dan etanol.

Prinsip dari metode analisis ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo

dalam pereaksi-pereaksi. Pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismutat(III)). Sedangkan pereaksi Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida (kalium tetraiodomercurat(II)). Namun metode ini memiliki kelemahan yaitu pereaksi-pereaksi tersebut tidak saja dapat mengendapkan alkaloid tetapi juga dapat mengendapkan beberapa jenis senyawa antara lain, protein, kumarin,  $\alpha$ -piron, hidroksi flavon, dan tanin. Reaksi tersebut dikenal dengan istilah "falsepositive". Alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan berupa antihipertensi dan antidiabetes melitus (Sangi dkk, 2008).

Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan mercury(II) klorida ditambah kalium iodida akan membentuk endapan merah mercury mercury(II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomercurat(II) (Svehla, 1985). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Sangi dkk., 2008). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K<sup>+</sup> dari kalium tetraiodomercurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Reaksi uji mayer (Marliana dkk, 2005)

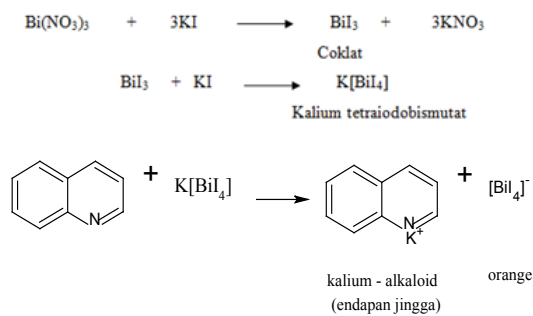
Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (jingga). Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO<sup>+</sup>),

yang reaksinya ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Reaksi Hidrolisis Bismut

Agar ion  $\text{Bi}_{3+}$  tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion  $\text{Bi}_{3+}$  dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut(III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1985). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $\text{K}^+$  yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4.



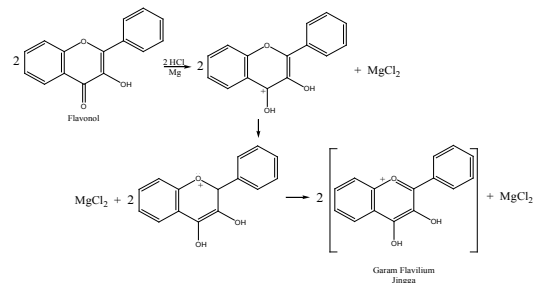
**Gambar 4.** Reaksi Uji Dragendorff

#### Uji Flavonoid

Langkah awal dalam pengujian senyawa flavonoid pada ekstrak air dan etanol daun palado yaitu mengambil masing-masing ekstrak sebanyak 2 mL dan kemudian dilakukan pemanasan selama kurang lebih 5 menit pada masing-masing ekstrak. Setelah pemanasan dilakukan, selanjutnya menambahkan 0,1 gram serbuk logam magnesium pada masing-masing ekstrak dan kemudian menambahkan tetes demi tetes larutan HCl pekat. Hasil yang didapatkan pada ekstrak air yaitu terbentuknya larutan berwarna kuning yang menandakan adanya senyawa flavonoid. Sedangkan pada ekstrak etanol terbentuk warna hijau kekuningan hal ini menandakan adanya senyawa flavonoid pada sampel daun palado. Pemanasan dilakukan karena sebagian besar golongan flavonoid dapat larut dalam air panas.

Tujuan penambahan logam Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid

sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Tetapi, jika dibandingkan intensitas warna dari kedua ekstrak, warna yang terbentuk lebih dominan pada ekstrak air dari pada ekstrak etanol daun palado. Hal ini kemungkinan besar senyawa flavonoid pada sampel daun palado memiliki persentasi yang kecil. Perbedaan warna yang dihasilkan antara ekstrak air dan ekstrak etanol daun palado diakibatkan senyawa flavonoid lebih terekstrak sempurna ada pelarut air dibandingkan pelarut etanol, karena perbedaan sifat dari kedua pelarut tersebut. Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar, sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar (Robinson, 1995). Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan logam Mg terlihat pada Gambar 5.



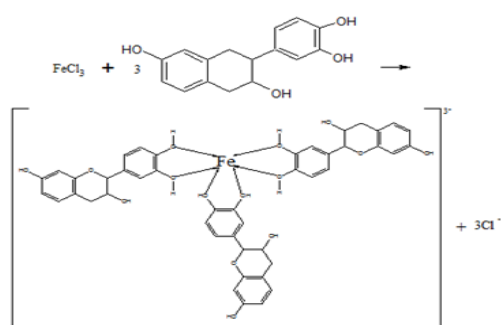
**Gambar 5.** Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl (Septyangsih, 2010)

#### Uji Tanin

Langkah awal dalam pengujian senyawa tanin pada ekstrak air dan etanol daun palado yaitu mengambil 2 ml masing-masing ekstrak dan kemudian dipanaskan selama kurang lebih 5 menit. Setelah itu, masing-masing ekstrak ditambahkan tetes demi tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1 %. Dan hasil yang didapatkan pada ekstrak air daun palado terbentuk warna hijau kebiruan sama halnya dengan ekstrak etanol daun palado terbentuk warna larutan yaitu hijau kebiruan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan  $\text{Fe}^{3+}$  yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat.

Uji fitokimia dengan menggunakan  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$ , sehingga apabila uji fitokimia dengan

$\text{FeCl}_3$  memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hal ini diperkuat oleh (Harborne, 1987) cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana yaitu menambahkan ekstrak dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  1 % dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$  karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ , seperti yang terlihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Reaksi antara Tanin dan  $\text{FeCl}_3$  (Sa'adah, 2010)

Hasil uji fitokimia ekstrak air dan etanol daun palado dengan  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan suatu warna hijau kecoklatan, karena reaksi antara tanin dan  $\text{FeCl}_3$  membentuk senyawa kompleks. Berdasarkan hal tersebut dapat diduga di dalam ekstrak air dan etanol daun palado mengandung senyawa polifenol yang diduga adalah senyawa tanin. Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan  $\text{FeCl}_3$  karena adanya ion  $\text{Fe}^{3+}$  sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligan. Ion  $\text{Fe}^{3+}$  pada reaksi di atas mengikat tiga tanin yang memiliki 2 atom donor yaitu atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi, sehingga ada enam pasangan elektron bebas yang bisa dikoordinasikan ke atom pusat. Atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi memiliki energi paling rendah dalam pembentukan senyawa kompleks, sehingga memungkinkan menjadi sebuah ligan (Sa'adah, 2010).

### Uji Terpenoid dan steroid

Langkah awal dalam pengujian senyawa terpenoid dan steroid pada ekstrak air dan etanol daun palado yaitu dengan mengambil 2 ml masing-masing ekstrak dan kemudian menambahkan reagen Liebermann-Burchard yaitu campuran antara HCl pekat dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa terpenoid dan steroid membentuk warna oleh  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dalam pelarut asam klorida. Hasil positif diberikan pada sampel yang membentuk warna merah jingga untuk analisis triterpenoid dan biru untuk analisis steroid (Sangi dkk., 2008).

Hasil dari pengujian senyawa terpenoid dan senyawa steroid pada masing-masing ekstrak yaitu pada ekstrak air dan etanol daun palado tidak terdapat senyawa terpenoid dan steroid dengan ditandai dengan tidak adanya perubahan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak. Hasil yang diperoleh disebabkan karena penggunaan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi merupakan pelarut yang bersifat polar dan semi polar. Karena senyawa terpenoid dan steroid merupakan senyawa yang bersifat non polar sehingga senyawa-senyawa ini tidak dapat terekstrak dengan sempurna pada pelarut tersebut. Selain itu, Pereaksi-pereaksi spesifik yang digunakan kebanyakan bersifat polar sehingga bisa berinteraksi dengan sampel berdasarkan prinsip 'like dissolve like', sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar yang dapat terikat dalam pelarut seperti alkaloid, flavonoid dan tanin. Senyawa steroid cenderung bersifat nonpolar sehingga dapat terekstrak oleh pelarut nonpolar. Hasil di atas (Tabel 1) menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif pada ekstrak polar lebih banyak dari pada ekstrak nonpolar, maka pelarut yang sesuai digunakan untuk proses ekstraksi senyawa aktif pada daun palado adalah pelarut polar (akuades, metanol dan etanol).

### Kesimpulan

Daun palado yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut air dan etanol mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, dan tanin. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut air juga bisa digunakan untuk mengekstrak senyawa

metabolit sekunder pada tumbuhan, khususnya daun palado.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada laboran Laboratorium Agroteknologi FAPERTA Universitas Tadulako yang banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

### Referensi

- Hagerman, A. E. (2002). Tannin. Miami University. Diunduh kembali dari <https://journals.uair.arizona.edu/index.php/jrm/article/viewFile/8684/8296>
- Halliwel, B., Aeschbach, R., Lolinger, J., & Auroma, O. (1995). Toxicology. *J Food Chem*, 33, 60.
- Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia penentuan cara modern menganalisis tumbuhan. Bandung: ITB.
- Hariyatimi. (2004). Kemampuan vitamin e sebagai antioksidan terhadap radikal bebas pada lanjut usia. *Jurnal MIPA*, 14, 52-60.
- Hermiati, Rusli, Manalu, N. Y., & Sinaga, M. S. (2013). Ekstrak daun sirih hijau dan merah sebagai antioksidan pada minyak kelapa. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sumatera Utara, 2(1).
- Hertiani, T., Pramono, S., & A.M, S. (2000). Uji daya antioksidan senyawa flavonoid daun (*Plantago major* L.). *Majalah Farmasi Indonesia*, 11(4), 234.
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. (2011). Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros Kaki Thunb.*) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157-164.
- Liberty, M. P., Meiske, S., Sangia, & Jessy, J. E. P. (2012). Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 1(1), 5-10.
- Middleton, E., Kandaswami, & Theoharides, T. (1998). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Rachmawati, S. I., & Ciptati. (2011). Isolasi senyawa antioksidan dari daun sirih merah (*Piper crocatum*). 327-333.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Belian*, 9(2), 196-202.
- Rohyami, Y. (2008). Penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* scheff boerl). *Jurnal LOGIKA (ISSN)*, 5(1), 1-8.
- Sa'adah, L. (2010). Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Septyaningsih, D. (2010). Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (*Pandanus conoideus* lamk). Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Sharon, N., Anam, S., & Yuliet. (2013). Formulasi krim antioksidan ekstrak etanol bawang hutan (*Eleutherine palmifolia* L. Merr). *Natural Science*, 2(3), 112-122.
- Sudewo, B. (2005). Basmi penyakit dengan sirih merah. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sumarwoto, Susilowati, & Adhityanti, Y. (2008). Uji sirih merah (*Piper crocatum* ruiz and pav) pada berbagai intnsitas sinar matahari dan media tanam. *Jurnal Pertanian Mapeta*, II(1), 1-8.
- Talapessy, S., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2013). Uji aktivitas antioksidan dari ampas hasil pengolahan sagu (*Metroxylon sagu* rottb). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(3), 40-44.
- Robinson, T. (1995). Kandungan organik

- tumbuhan tinggi. Bandung: ITB Press.
- Wardani K.R, Tjahjaningsih, W., & Rahardja, S. B. (2012). Uji efektivitas ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocatum*) terhadap bakteri *aeromonas hydrophila* secara in vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4(1), 1-12.
- Wijaya, A. (1996). Radikal bebas dan parameter status antioksidan. *Forum Diagnosticum Prodia Diagnostic Educational Services*.1, 1-12.
- Yu Liangli Scott H, Jonathan P, Mary H., John W., & Qian, M. (2002). Free radicals scavenging properties of wheat extracts. *J.Agric Food Chem. Colorado*.