View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia dan Pendidikan Kimia

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak *n*-Heksana Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* Houtt Merr.)

Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound n-Hexane Extract of Kayu Jawa Leaves (*Lannea coromandelica* Houtt Merr.)

[1)]Andi Surya Rahayu AM, [2)]Pince Salempa, [3)]Mohammad Wijaya
[1,2,3)] Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg Tata Raya Makassar, Makassar 90224
Email : rahayu.andisurya@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini adalah penelitian eksplorasi yang bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak *n*-heksana Daun *Lannea coromandelica* Houtt Merr. yang berasal dari kecamatan Cina, kabupaten Bone, Sulawesi Selatan. Isolasi dilakukan dengan beberapa tahap yaitu maserasi, partisi dengan *n*-heksana, fraksinasi, pemurnian dan identifikasi. Hasil penelitian diperoleh isolat murni berupa kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 140,2^{0}C. Hasil uji dengan pereaksi Meyer menghasilkan endapan putih dan Wagner menghasilkan endapan coklat menunjukkan positif alkaloid. Identifikasi dengan spektroskopi infra merah memberikan serapan pada bilangan gelombang (cm^{-1}) : 3502,73 ; 2954,99 ; 2868,15 ; 1687,71; 1463,97; 1382,96; 1330,88; dan 1037,70 yang menunjukkan adanya gugus fungsi -N-H, -C-H alifatik (CH_2 dan CH_3), -C=O, -C=C, dan -C-N.

Kata kunci : *Daun L.coromandelica Houtt Merr., Isolasi, Alkaloid.*

ABSTRACT

This study is exploratory research that aims to isolate the secondary metabolite compound contained in n-hexane extract of Lannea coromandelica Houtt Merr. leaves from Cina district, Bone Regency, South Sulawesi. The isolation was done through several stages, maceration, partitioning with n-hexane, fractionation, purification and identification. The results was obtained in pure needle crystal shape with a melting point 140,2°C. The test result with the Meyer reagent showed the formation of a white precipitated and the Wagner test showed the formation of a brown precipitated, there for it can be categorized as positive alkaloid. Identification with an infrared spectroscopy giving absorbance at the wave number (cm-1): 3502,73 ; 2954,99 ; 2868,15 ; 1687,71; 1463,97; 1382,96; 1330,88; and 1037,70 refers of function groups -N-H, -C-H aliphatic (CH2 and CH3), -C=O, -C=C, and -C-N.

Keywords : *L.coromandelica Houtt Merr., Leaves, Isolation, Alkaloid.*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah suatu negara yang kaya akan sumber daya alam yang melimpah. Seperti yang telah di ketahui, Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki hutan terbesar di dunia dengan berbagai macam flora dan fauna. Di Indonesia juga banyak terdapat berbagai jenis tanaman yang mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai tanaman industri, tanaman buah-buahan , tanaman rempah-rempah dan tanaman obat-obatan (Sembiring., et al., 2012).

Tumbuhan tropis mampu merekayasa beranekaragam senyawa kimia yang memiliki berbagai bioaktivitas yang menarik. Tumbuhan menggunakan senyawa kimia tersebut sebagai mekanisme pertahanan diri baik terhadap kondisi lingkungan maupun terhadap serangan herbivora dan hama penyakit.

Kayu Jawa mempunyai nama ilmiah *Lannea coromandelica* Houtt Merr. yang merupakan salah satu dari tanaman tingkat tinggi famili anacardiceae yang terdiri dari 82 genus dan sekitar 800 spesies (Wahid, 2008).

L. coromandelica Houtt Merr. merupakan pohon gugur berukuran sedang dari famili anacardiaceae yang banyak ditemukan di Bangladesh karena kemampuannya beradaptasi dengan iklim di daerah tersebut (Khandkar., et al. 2013). Selain itu tanaman ini juga dapat digunakan secara tradisional oleh berbagai suku yang mendiami hutan di India. Tanaman ini memiliki nama lokal tergantung pada daerah distribusinya (Reddy., et al., 2011). L. coromandelica Houtt Merr. belum banyak diteliti di Indonesia, kebanyakan penelitian terhadap tanaman ini dilakukan di daerah India.

L. coromandelica Houtt Merr. memiliki beberapa khasiat antara lain: menyembuhkan keseleo, memar, penyakit jantung, disentri, sariawan. Rebusan kulit kayu mengobati sakit gigi, impotensi. Kulit dikunyah 2-3 hari untuk menyembuhkan glosittis. Daun direbus untuk pembengkakan, bisul, asam urat, sakit mata dan nyeri (Rao., et al. 2014) selain itu tanaman ini juga digunakan untuk mengobati penyakit kulit. Kulit batang tanaman ini digunakan oleh suku-suku Garo di Madhapur wilayah porest Bangladesh untuk mengobati lemah mani dan mani berlebihan (Majumder., et al. 2013). Khususnya pada daerah Sulawesi Selatan dinamakan tanaman tammate yang digunakan sebagai obat luka, obat batuk, obat maag dan penambah nafsu makan (Rahayu, et al. 2006).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Joseph et al. (2013), melaporkan bahwa hasil penapisan fitokimia ekstrak kloroform Kayu Jawa menemukan adanya phytocontituents seperti glikosida, saponin, flavanoid, tannin, dan steroid sertastudi sitotoksik in-vitro menemukan bahwa kulit Lannea coromandelica memiliki efek sitotoksik. Ekstrak etanol dan kombinasi air-alkohol daun Kayu Jawa juga dilaporkan adanya potensi hepatoprotektif dan aktivitas antioksidan yang menunjukkan adanya senyawa golongan fenolik, terpenoid, dan alkaloid (Rao., et al., 2014). Ekstrak metanol kulit batang L. coromandelica Houtt Merr. dilaporkan memiliki aktivitas anti diare dan efek antibakteri

yang kuat terhadap beberapa bakteri patogen dan aktivitas tertinggi ditemukan terhadap Escherichia coli (Majumder., et al, 2013).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti menganggap perlu diadakan suatu penelitian lebih lanjut untuk mengkaji kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak n-Heksana daun Kayu Jawa (L. coromandelica Houtt Merr.) Penelitian ini diharapkan dapat menemukan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun Kayu Jawa.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya mesin penggiling, ember, wadah maserasi, corong Buchner, gelas kimia dan gelas ukur berbagai ukuran, corong biasa, corong pisah 500 mL, gunting, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, labu Erlenmeyer 1000 mL, botol vial, chamber sebagai wadah KLT, pipa kapiler, pinset, gunting, hot plate, alat kromatografi cair vakum dan kolom flash, oven, lampu UV 254 nm, neraca analitik, statif dan klem, hot plate, evaporator, alat penentuan titik leleh (Melting Point A. Kruss Optronic), spektrofotometer FTIR SHIMADZU Prestige-21.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya aquadest, beberapa pelarut organik teknis seperti metanol (CH_3OH), *n*-heksana (C_6H_{14}), etil asetat ($CH_3COCH_2CH_3$), kloroform ($CHCl_3$), aseton , reagen penampak bercak noda Liebermann-Buchard, untuk uji kualitatif terpenoid dan steroid, Wagner dan Mayer untuk uji kualitatif alkaloid, besi (III) klorida ($FeCl_3$) 1% untuk uji kualitatif fenolik/flavanoid. Bahan-bahan lain yang digunakan yaitu serium sulfat ($CeSO_4$) 10% dalam asam sulfat 2 N sebagai reagen penampak noda , selain itu juga kertas saring Whatman No.41, aluminium foil, silika gel G 60 H untuk impregnasi sampel, silika gel G 60 (70-230 mesh) untuk kromatografi cair vakum (KKCV), silika gel G (230-400 mesh) untuk kromatografi kolom flash (KKF), pelat KLT aluminium berlapis silika gel G 60 GF_{254}, aluminium foil, dan tissue.

B. Prosedur Kerja

1. Persiapan Sampel

Daun Kayu Jawa dicuci kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun yang kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang 4,7 kilogram serbuk halus.

2. Isolasi Sampel

Sebanyak 4,7 kilogram daun Kayu Jawa yang halus dimaserasi dengan metanol sebanyak 28 L. Maserasi dilakukan 3 x 24 jam. Kemudian disaring dengan corong Buchner yang dilapisi kertas saring Whatman. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator dan diperoleh ekstrak kental methanol. Ekstrak kental tersebut yang dipartisi dengan pelarut *n*-heksana, kemudian diuji dengan beberapa pereaksi dan dianalisis dengan KLT. Setelah itu difraksinasi dengan metode KKCV dan fraksi yang diperoleh dilanjutkan dengan KLT. Fraksi hasil KLT yang memiliki kromatogram yang sama digabung lalu diuapkan pada suhu ruang. Selanjutnya

difraksinasi menggunakan KKT dan fraksi yang membentuk kristal direkristalisasi kemudian diuji kemurniannya dengan melakukan KLT sistem tiga eluen dan uji titik leleh.

Senyawa murni diidentifikasi dengan menggunakan beberapa pereaksi uji fitokimia dan identifikasi dengan metode Spektroskopi Infra Merah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Uji Golongan

Ekstrak n-heksana yang diperoleh dilakukan uji golongan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak n-heksana yang dintujukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Golongan Ekstrak *n*-Heksana

Pereaksi	Pengamatan Setelah Penambahan	Keterangan
$FeCl_3$	Kuning Kehijauan	+ Flavanoid
Liebermann-burchard	Hijau	+ Steroid
Mayer	Terbentuk endapan cokelat	- Alkaloid
Wagner	Hijau Kekuningan	+ Alkaloid

2. Fraksinasi

Ekstrak *n*-heksana sebanyak 8,0274 gram diKLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan pada proses fraksinasi. Hasil KLT perbandingan 9:1 (*n*-heksana:etil asetat) memberikan pola pemisahan yang baik dan jelas. Fraksinasi awal dilakukan dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KKCV) menggunakan silika gel G 60 sebagai fasa diam dan fase geraknya menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, aseton dan metanol yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien. Hasil KKCV diperoleh 41 fraksi. Fraksi 1-41 yang diperoleh diKLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat perbandingan (7:3). Fraksi-fraksi yang menunjukkan pola kromatogram yang sama digabung, sehingga diperoleh 7 fraksi gabungan. Fraksi gabungan D dilanjutkan untuk mendapatkan senyawa murni.

Fraksi D difraksinasi dengan Kromatografi Kolom Tekan (KKT) dan terlebih dahulu di KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan pada KKT. Hasil KLT diperoleh eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) memberikan pola pemisahan noda yang baik. Fraksi D difraksinasi dengan menggunakan silika gel G 60 (230-400 mesh) sebagai fasa diam, sedangkan fasa geraknya menggunakan eluen *n*-heksana, etil asetat, metanol dan aseton yang ditingkatkan kepolarannya. Eluat ditampung dalam vial-vial diperoleh sebanyak 12 fraksi. Fraksi-fraksi hasil KKT di KLT untuk mengetahui komponen senyawa kimia yang terdapat pada fraksi. Fraksi-fraksi diuapkan pada suhu ruang, fraksi D_7 membentuk kristal jarum berwarna hijau.

3. Pemurnian dan Identifikasi

Proses rekristalisasi dilakukan untuk memisahkan isolat dari

pengotornya. Fraksi D_7 direkristalisasi dengan *n*-heksana dan aseton menghasilkan isolat berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih dengan berat 0,0142 gram. Analisis KLT menunjukkan satu noda pada tiga macam eluen yaitu eluen *n*-heksana:kloroform (8:2), *n*-heksana:etil asetat (8:2) dan etil asetat:kloroform (3:7).

Isolat dari fraksi D_7 dinyatakan murni secara KLT dan selanjutnya diidentifikasi dengan pengujian titik leleh menggunakan Melting Point A. Kruss Optronic diperoleh titik leleh isolat pada suhu 140,2℃.

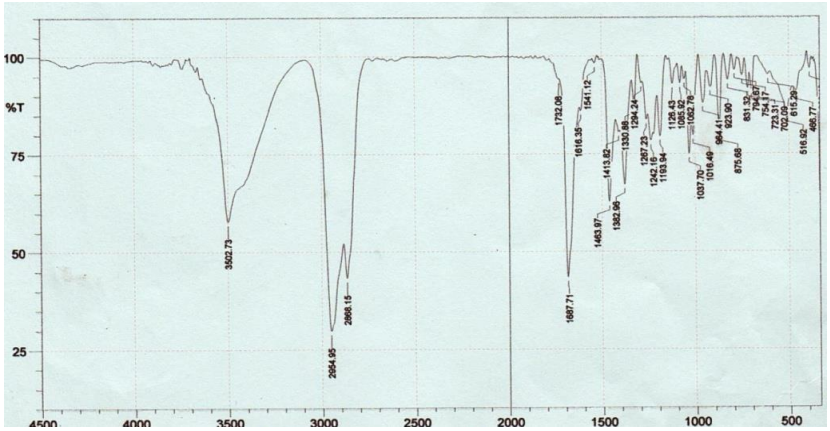
Isolat yang diperoleh diuji dengan beberapa pereaksi untuk mengetahui jenis golongan senyawanya. Adapun data dan gambar masing-masing dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan spektrometer FTIR yang bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi dari senyawa yang diperoleh. Spektrum inframerah dari Isolat D_7 ditunjukkan pada Gambar 2.

Tabel 2. Hasil Uji Golongan Isolat D_7

Pereaksi	Pengamatan Setelah Penambahan	Keterangan
Liebermann-Burchard	Warna Coklat	(-) Steroid
Meyer	Endapan Putih	(+) Alkaloid
$FeCl_3$	Warna Kuning	(-) Flavonoid
Wagner	Endapan Coklat	(+) Alkaloid

Gambar 1. Hasil Uji Golongan Isolat D_7



Gambar 2. Spektrum Inframerah dari Isolat D_7

B. Pembahasan

Isolat D_7 yang diperoleh berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih. Hanya isolat tersebut yang berbentuk kristal setelah proses KKT dari 12 fraksi isolat D. Isolat D_7 diduga senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid (Tabel 2). Hasil yang diperoleh didukung oleh data uji golongan dan uji spekstroskopi (Gambar 2).

Uji golongan memberikan reaksi positif alkaloid terhadap pereaksi Wagner yang ditandai dengan perubahan warna dari tak berwarna menjadi endapan coklat (Gambar 1). Endapan tersebut diduga adalah hasil reaksi antara ion logam K^+ yang membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana *et al*., 2005) dan pereaksi Meyer ditandai dengan perubahan warna dari tak berwarna menjadi endapan putih (Gambar 1) karena pereaksi meyer bersifat elektrofilik (Hg^{2+}), mengadisi atom C no.2, dimana terlebih dahulu K_2HgI_4 terlarut dalam air secara reversibel dengan mensorvasi asam iodide + KI + HgO, Hg^{2+} dan HgO membentuk kompleks dengan dua molekul kolid sebagai endapan putih.

Isolat diuji kemurniannya dengan KLT menggunakan tiga macam eluen dengan perbandingan yang berbeda. Hal ini dilakukan untuk memastikan kemurnian dari suatu isolat yang ditunjukkan dengan munculnya satu noda pada tiap KLT. Analisis KLT menunjukkan satu noda pada tiga macam eluen yaitu *n*-heksana:kloroform (8:2), *n*-heksana:etil asetat (8:2) dan etil asetat:kloroform (3:7). Deteksi dengan lampu UV 254 dan UV 366 menunjukkan adanya noda yang berpendar, ini menunjukkan bahwa struktur kimia isolat memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Noda hasil elusi yang tidak tampak di bawah lampu UV disemprot dengan reagen penampak noda $CeSO_4$ 2% dan dipanaskan di atas *hotplate* sehingga diperoleh noda yang berwarna ungu kemerahan. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa isolat fraksi D_7 relatif murni secara KLT. Uji titik leleh menunjukkan bahwa isolat D_7 meleleh pada suhu 140,2^{o}C.

Uji spekstroskopi dilakukan menggunakan spektrometer FTIR untuk menentukan gugus fungsional dari suatu senyawa Gambar 2). Proses analisisnya dengan metode pellet KBr. Analisis spektroskopi inframerah Isolat D_7 menunjukkan adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 3502,73 cm^{-1} yang ditandai dengan pita yang tajam dengan intensitas kuat yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur N-H terlihat pada daerah 3550-3250cm^{-1} (Mohrig, dkk. 2006). Vibrasi ikatan ini diduga merupakan vibrasi dari gugus N-H, diperkuat dengan adanya C-N pada daerah 1037,70 cm^{-1} (1300-800 cm^{-1}) (Mohrig, dkk.2006). Serapan tajam dengan intensitas sedang pada daerah bilangan gelombang ν1463,97 cm^{-1} (1625-1440 cm^{-1}) mengidikasikan adanya vibrasi regang C=C aromatic (Mohrig, dkk. 2006).

Sifat khas $–CH_3$ dan $–CH_2–$ ditandai dengan adanya serapan pada daerah ν 3000–2800 cm^{-1}, di mana untuk$–CH_3$ vibrasi ulur (ν 2954,95 cm^{-1}), sedangkan $–CH_2–$ vibrasi ulur (ν 2868,15 cm^{-1}). Hal ini memberi

petunjuk bahwa struktur senyawa isolat mengandung gugus metil dan metilena. Keberadaan gugus metal dan metilena diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk C-H alifatik pada daerah ν 1382,96 cm^{-1} dan 1330,88 cm^{-1} (1480-1320 cm^{-1}) (Noerdin, 1985) yang mengidentifikasikan adanya gugus dimetil $–CH(CH_3)_2$. Adanya serapan tajam dengan intensitas sedang pada daerah ν 1687,71 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur C=O (1700-1630 cm^{-1}) (Mohrig, dkk. 2006) termasuk golongan karbonil.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada ekstrak n-heksana daun Kayu Jawa (Lannea coromandelica Houtt Merr.) diperoleh senyawa metabolit sekunder berupa kristal putih berbentuk jarum dengan titik leleh 140,2℃ yang merupakan senyawa golongan alkaloid. Dugaan ini diperkuat dengan uji golongan terhadap pereaksi Mayer dan Wagner yang memberikan hasil positif alkaloid serta analisis dengan spektrofotometer FTIR yang menunjukkan bahwa isolat merupakan senyawa alkaloid dengan gugus fungsi -N-H, -C-H alifatik (CH2 dan CH3), -C=O, -C=C,dan -C-N.

B. Saran

Adapun hal-hal yang disarankan berkaitan dengan penyempurnaan penelitian ini adalah untuk mengetahui lebih lanjut struktur golongan alkaloid tersebut perlu dilakukan analisis lebih lanjut dengan UV-Vis, NMR dan GC-MS serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif dalam tumbuhan tersebut untuk dijadikan sebagai bahan baku dalam pembuatan obat.

DAFTAR PUSTAKA

Joseph., *et al.* 2013. *An Investigation of The Phytochemistry And In-Vitro Cytotoxic Effect of The Aqueous Extract of Lannea Coromandelica Bark.* An International Journal Of Pharmaceutical Sciences Vol.4, Issue 4, Supl 1. ISSN : 0976-7908.

Khandkar., *et al.* 2013. *The Potential For Using Stem And Branch of Bhadi (Lannea coromandelica) As a Lignocellulosic Raw Material For Particleboard.* International Research Journal Of Biological Science, Vol. 2(4), 8-12. ISSN : 2278-3202.

. Majumder, R., *et al*. 2013. *Antidiarrheal Activity of Lannea coromandelica Linn. Bark Extract.* American-Eurasian Journal Ofscientific Research 8(3): 128-134. ISSN : 1818-6785.

Marliana, S.D., Suryanti, V., & Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis KLT Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3(1): 26-31.

Mohrig, Jerry R. *et al*. 2006. *Techniques in Organik Chemistry*. Second Edition. Standard Taper Miniscale 14/10 Standard Taper Microscale Williamson Microsale.

Noerdin, Dasli. 1985. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Angkasa.

Rahayu, M., *et al*. 2006. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat Secara Tradisional Oleh Masyarakat Lokal di Pulau Wawoni, Sulawesi Tenggara*. Biodiversity Vol.7, No.3 :245-250. ISSN : 1412-033.

Rao, V.S., *et al*. 2014. *Hepatoprotecctive And Antioxidant Activity Of Lannea coromandelica* Linn. *On Thioacetamide Induced Hepatotoxicity In Rats.* International Letters Of Natural Science Vol.3 : 30-43. ISSN : 2300-9675.

Reddy, A.K., *et al.* 2011. *Lannea coromandelica : The Researcher's Tree.* Journal of Pharmacy researh, 4(3), 577-579. ISSN :0974-6943.

Sembiring, U., *et al*. 2012. *Keanekaragaman Vegetasi Tanaman Obat di Hutan Pendidikan Universitas Sumatra Utara Kawasan Hutan Raya Tongkoh Kabupaten Kasoh Sumatra Utara*. Botani Vol. 4. No. 2. November, 2009 : 105 – 114.