

Telaah Fitokimia Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) yang Berasal dari Dua Lokasi Tumbuh

*Siti Kusmardiyani, Ferlin Wandasari, Komar Ruslan Wirasutisna
Kelompok Keilmuan Biologi Farmasi, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung,
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

Abstrak

Daun srikaya (*Annona squamosa* L., Annonaceae) digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai penurun kadar gula darah. Simplisia yang berasal dari dua lokasi tumbuh dibandingkan kandungan kimianya. Penapisan fitokimia kedua simplisia, karakteristik simplisia, dan pola kromatogram ekstrak menunjukkan hasil yang mirip. Simplisia diekstraksi secara refluks menggunakan pelarut dengan kepolaran meningkat, yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Ekstrak n-heksana salah satu simplisia disaponifikasi, difraksinasi secara kromatografi cair vakum, dilanjutkan dengan kromatografi kolom. Fraksi dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dan isolat dikarakterisasi menggunakan spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak dan spektrofotometri inframerah serta penampak bercak Liebermann-Burchard. Isolat merupakan triterpenoid dengan gugus fungsi O-H, CH, dan C=C serta tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.

Kata Kunci: *Annona squamosa* L., daun Srikaya, triterpenoid

Abstract

Sugar apple (*Annona squamosa* L., Annonaceae) leaf has been traditionally used to treat high blood glucose level. Crude drugs obtained from plants growing at two different locations were studied to evaluate whether there were differences in their phytochemical constituents. Phytochemical screening of those two crude drugs, the quality, and extract chromatographic pattern showed similar results. Crude drugs were extracted by reflux using n-hexane, ethyl acetate, and methanol. N-hexane extract from one of the crude drugs was saponified, followed by fractionation using vacuum liquid chromatography and column chromatography. The fractions were separated using preparative thin layer chromatography and one isolate was characterized using Liebermann-Burchard reagent, ultraviolet-visible and infrared spectrophotometry. The isolate was a triterpenoid with O-H, C-H, and C=C groups and did not have any conjugated double bond.

Keywords: *Annona squamosa* L., sugar apple leaf, triterpenoid

Pendahuluan

Srikaya atau *Annona squamosa* L. terkenal memiliki buah yang manis dan kandungan gizi yang cukup tinggi. Berbagai organ dari tanaman srikaya ini sudah sering digunakan oleh masyarakat. Ekstrak daun atau bijinya yang ditumbuk halus dapat menghilangkan kutu-kutu yang merugikan pada tubuh hewan peliharaan (Heyne 1987). Minyak yang dihasilkan dari biji srikaya dapat digunakan sebagai pengganti minyak kacang tanah pada pembuatan sabun (Watt dan Brandwijk 1962). Ekstrak air daun srikaya memiliki efek antidiabetes pada tikus yang diinduksi oleh streptozotocin-nikotinamid (diabetes tipe dua) (Shirwaikar *et al.* 2004). Perbedaan lokasi tumbuh dapat mempengaruhi kandungan kimia dari suatu tanaman, maka dalam penelitian ini akan dibandingkan kandungan kimia dan karakteristik simplisia daun srikaya dari dua lokasi tumbuh yang berbeda, yaitu Banyuwangi dan Indramayu. Selain itu akan dilakukan pula isolasi dan karakterisasi senyawa yang terkandung dalam daun srikaya ini.

Percobaan

Bahan

Serbuk daun srikaya, aqua destilata, etanol 95%, n-heksana, etil asetat, metanol, toluena, aseton, eter, kloroform, amonia, bismut (III) nitrat, asam nitrat, kalium iodida, raksa (II) klorida, asam hidroklorida, natrium hidroksida, besi (III) klorida, formaldehid, asam klorida pekat, asam asetat anhidrida, asam sulfat, kloroform, amil alkohol, serbuk magnesium, gelatin, silika gel GF254, silika gel H, silika gel 60 H, kertas Whatman No. 1, kloral hidrat, kertas saring, kertas saring bebas abu, asam asetat glasial, dan kalium hidroksida.

Alat

Penggiling simplisia, mikroskop, kaca obyek, kaca penutup, krus porselen, krustang, kompor listrik, seperangkat alat penentuan kadar air, desikator, botol timbang dangkal bertutup, cawan datar dasar rata, mortar, stamper, tabung reaksi, rak tabung, corong pisah, corong, batang pengaduk, satu set alat refluks, bejana kromatografi, botol penyemprot pereaksi, sinar

*Penulis korespondensi. E-mail: kusmardiyani@fa.itb.ac.id

ultraviolet 254 nm dan 366 nm (Desaga Sarsedt-Gruppe), seperangkat alat kromatografi cair vakum, penguap hampa udara berputar (Buchi R-124), kolom kromatografi, labu Erlenmeyer, kaca arloji, labu ukur, pelat tetes, spektrofotometer ultraviolet-sinar tampak (Hewlett Packard AP 8452), dan spektrofotometer inframerah (FT/IR-4200 type A).

Prosedur

Penyiapan bahan

Penyiapan bahan meliputi pengumpulan bahan, determinasi tanaman, dan pengolahan bahan menjadi simplisia. Pengumpulan bahan dilakukan pada bulan Desember 2006 dari daerah Banyuwangi, Jawa Timur (simplisia 1) dan Indramayu, Jawa Barat (simplisia 2). Tanaman yang sudah dikumpulkan kemudian dideterminasi di "Herbarium Bandungense", Program Studi Biologi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Selanjutnya dilakukan pengolahan yang meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penggilingan menjadi serbuk simplisia.

Uji mutu simplisia

Pemeriksaan parameter mutu simplisia ini meliputi parameter karakteristik mikroskopik dan makroskopik, kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, serta susut pengeringan.

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan steroid/triterpenoid.

Ekstraksi dan pemantauan ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan cara panas, yaitu refluks. Pelarut yang digunakan dimulai dari n-heksana (non polar), kemudian etil asetat (semi polar), dan terakhir menggunakan metanol (polar). Kemudian masing-masing ekstrak ini dipekatkan dengan menggunakan penguap hampa udara berputar.

Ketiga ekstrak pekat kemudian dipantau dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksana – etil asetat (7:3). Ekstrak etil asetat dan metanol juga dipantau menggunakan kromatografi kertas dengan fase gerak BAA (butanol – asam asetat - air = 4:1:5).

Saponifikasi, fraksinasi dan pemantauan fraksi

Saponifikasi dilakukan dengan cara refluks terhadap ekstrak kental n-heksana simplisia 2, dengan pelarut kalium hidroksida 7% dalam metanol selama 4 jam. Selanjutnya ekstrak dipekatkan menggunakan alat penguap hampa udara berputar, dan ditambahkan air. Residu kemudian diekstraksi dengan eter. Sisa

penguapan fraksi eter selanjutnya disebut fraksi yang tidak tersaponifikasi (Ikan 1991).

Fraksi yang tidak tersaponifikasi kemudian dipantau dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pengembang n-heksana – etil asetat (7:3). Fraksinasi dilakukan dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 H untuk KCV dengan fase gerak campuran n-heksana – etil asetat – metanol dan diperoleh 16 fraksi. Fraksi ke-4 dipisahkan kembali menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel H dan fase gerak campuran n-heksana – etil asetat (9:1). Pemisahan dengan kromatografi kolom menghasilkan 30 subfraksi yang dipantau dengan KLT fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak yang sama dengan eluen untuk kromatografi kolom, serta penampak bercak asam sulfat 10% dalam metanol.

Pemurnian dan uji kemurnian

Pemurnian

Pemisahan subfraksi 13 dilakukan secara KLT preparatif dengan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksana – etil asetat (9:1). Pita yang diinginkan dikerok dan diekstraksi dengan pelarut etil asetat, disaring, dan dipekatkan.

Uji Kemurnian

Uji kemurnian isolat dilakukan menggunakan KLT dengan fase diam silika GF₂₅₄ dan 3 macam fase gerak yang berbeda yaitu n-heksana – etil asetat (9:1), toluena – aseton (95:5), dan kloroform – metanol (9:1). Pengujian dilanjutkan menggunakan KLT dua dimensi dengan fase diam silika GF₂₅₄ serta fase gerak pertama toluena – aseton (95 :5) dan fase gerak kedua n-heksana – etil asetat (9:1). Kromatogram selanjutnya disemprot menggunakan penampak bercak asam sulfat 10% dalam metanol.

Karakterisasi Isolat

Isolat dikarakterisasi menggunakan penampak bercak spesifik yaitu Liebermann-Burchard. Karakterisasi juga dilakukan menggunakan spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak dan spektrofotometri inframerah.

Hasil Percobaan dan Pembahasan

Hasil Karakterisasi Bahan

Pada awal penelitian dilakukan determinasi tanaman untuk mengetahui kebenaran identitas botani tanaman yang digunakan. Hasil determinasi menyatakan bahwa kedua tanaman yang diperoleh dari dua tempat tumbuh (Banyuwangi dan Indramayu) adalah *Annona squamosa* L. Selanjutnya bahan diolah menjadi

simplicia. Bentuk dan bau dari Simplicia 1 (Banyuwangi) dan 2 (Indramayu) serupa, namun simplicia 1 berwarna lebih gelap daripada simplicia 2. Pada Tabel 1, dapat dilihat pemeriksaan karakter atau mutu lainnya terhadap kedua simplicia. Hasil pemeriksaan tersebut menunjukkan bahwa kadar air kedua simplicia memenuhi syarat, yaitu di bawah 10%. Kadar air dari suatu simplicia tidak boleh terlalu tinggi agar tidak terjadi reaksi enzimatik dan mencegah pertumbuhan mikroba sehingga simplicia tidak akan mengalami pembusukan (WHO 1998). Pemeriksaan terhadap kadar sari dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang dapat tersari dalam pelarut tertentu. Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa baik simplicia 1 maupun simplicia 2 mengandung lebih banyak zat yang tersari dalam air daripada yang tersari dalam etanol.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Mutu Simplicia

Pemeriksaan	Simplicia 1 (%) b/b	Simplicia 2 (%) b/b	Selisih (%)
Kadar air (v/b)	9,50	8,75	0,75
Kadar abu total	10,74	9,31	1,43
Kadar abu larut air	93,56	94,07	0,51
Kadar abu tidak larut asam	2,06	1,07	0,99
Kadar sari larut air	17,04	19,04	2,00
Kadar sari larut etanol	6,09	7,34	1,25
Susut Pengeringan	9,96	9,22	0,74

Hasil penapisan fitokimia kedua simplicia dapat dilihat pada Tabel 2. Penapisan fitokimia kedua simplicia menunjukkan hasil yang sama.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan	Simplicia 1	Simplicia 2
	Hasil	Hasil
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Kuinon	-	-
Steroid/triterpenoid	+	+
Saponin	-	-

Keterangan :

+ = simplicia bereaksi positif terhadap pereaksi yang diujikan,

- = simplicia bereaksi negatif terhadap pereaksi yang diujikan

Ekstraksi, Fraksinasi, Pemurnian dan Uji Kemurnian

Ekstraksi dilakukan dengan cara panas yaitu secara refluks dengan pelarut kepolaran meningkat. Cara panas dipilih karena penggunaan daun srikaya secara tradisional umumnya melalui tahap pemanasan. Awalnya simplicia diekstraksi dengan pelarut n-heksana, kemudian ampasnya diekstraksi dengan etil asetat, dan selanjutnya diekstraksi dengan metanol. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dipekatkan dan ditimbang. Diharapkan rendemen ekstrak n-heksana 3,64%, ekstrak etil asetat 4,09%, dan ekstrak metanol 6,99%. Hasil pemantauan ekstrak simplicia 1 dan simplicia 2 dengan KLT menghasilkan pola kromatogram yang mirip, sehingga dapat disimpulkan bahwa kandungan kedua simplicia sama.

Dari keenam ekstrak yang ada, dipilih ekstrak n-heksana dari simplicia 2 yang dilanjutkan untuk fraksinasi, karena dari hasil pemantauan ekstrak dengan KLT, ekstrak ini memiliki bercak dominan yang terpisah dengan baik.

Selain dilakukan pemantauan secara KLT, dilakukan pula pemantauan terhadap ekstrak metanol menggunakan kromatografi kertas (Kkt) dengan pengembang BAA (4:1:5). Dari kromatogram Kkt, diketahui bahwa daun srikaya ini juga mengandung flavonoid dalam jumlah yang cukup besar.

Saponifikasi, Fraksinasi dan Pemantauan Fraksi

Ekstrak n-heksana simplicia 2 selanjutnya disaponifikasi secara refluks. Saponifikasi ini dilakukan untuk menghilangkan lemak, karena ekstrak yang digunakan adalah ekstrak n-heksana yang mungkin mengandung banyak lemak. Selain hilangnya gangguan lemak, saponifikasi ini juga memberikan keuntungan, karena dapat menghilangkan gangguan klorofil yang sebelumnya menutupi bercak senyawa lain dalam kromatogram. Untuk melihat perubahan yang terjadi setelah proses saponifikasi, maka fraksi tidak tersaponifikasi dipantau menggunakan KLT. Setelah saponifikasi, pola kromatogram tidak lagi mengandung klorofil.

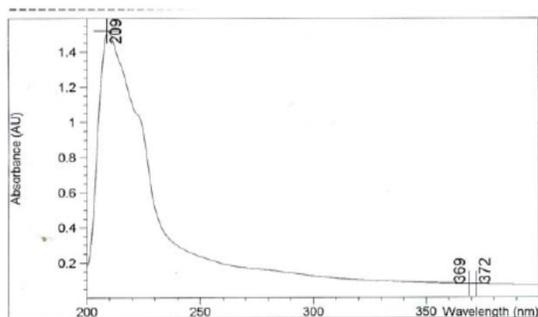
Fraksi yang tidak tersaponifikasi selanjutnya difraksinasi menggunakan KCV. Metode KCV ini dipilih karena cepat, mudah, dan memisahkan senyawa-senyawa dengan baik. Dari fraksi-fraksi yang dihasilkan setelah fraksinasi dengan KCV, dipilih satu fraksi untuk dilanjutkan. Fraksi 4 dipilih karena selain memiliki bercak yang dominan, rendemen fraksinya paling besar dari semua fraksi yang diperoleh, yakni sebesar 32,5%.

Isolasi, Pemurnian, dan Uji Kemurnian

Pada fraksi 4 dilakukan kromatografi kolom. Subfraksi yang sudah dipekatkan kemudian dipantau dengan KLT. Subfraksi 13 masih terdiri dari beberapa senyawa, sehingga untuk pemurnian isolat dilakukan KLT preparatif. Dilakukan pengerokan pada pita ke-2 dan ekstraksi dengan pelarut etil asetat, kemudian disaring dengan kertas saring dan kapas bebas lemak agar tidak terdapat partikel silika gel dalam filtrat. Dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT tiga pengembang tunggal dan KLT dua dimensi. KLT tiga pengembang tunggal dilakukan dengan menggunakan n-heksan – etil asetat (9:1), toluena-aseton (95:5), dan kloroform – metanol (9:1). Ketiga pengembang ini memberikan hasil yang sama yaitu satu bercak. KLT dua dimensi dilakukan dengan menggunakan toluena-aseton (95:5) sebagai pengembang pertama dan n-heksan – etil asetat (9:1) dan memberikan satu bercak. Dari hasil KLT tiga pengembang dan KLT dua dimensi dapat diambil kesimpulan bahwa isolat murni.

Karakterisasi Isolat

Karakterisasi dilakukan dengan metode KLT menggunakan penampak bercak spesifik, spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak dan spektrofotometri inframerah. Pada metode KLT dihasilkan satu bercak berwarna merah-ungu setelah disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard, sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat termasuk golongan triterpenoid. Spektrum serapan pada spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak dan spektrofotometri inframerah dapat dilihat secara berturut-turut pada Gambar 1 dan Gambar 2.

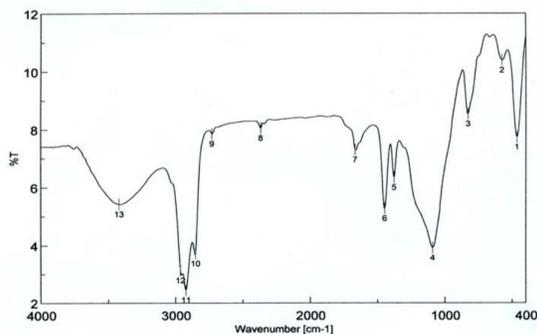


Gambar 1. Spektrum ultraviolet-sinar tampak isolat dalam pelarut metanol.

Spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 209 nm. Sebuah senyawa yang memberikan serapan pada panjang gelombang lebih besar dari 250 nm menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi (Creswell *et al.* 1982). Karena isolat tidak memberikan serapan pada panjang

gelombang lebih besar dari 250 nm, maka dapat disimpulkan bahwa isolat tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.

Spektrum inframerah pada isolat menunjukkan adanya gugus O-H pada bilangan gelombang 3421 cm^{-1} , C-H pada bilangan gelombang 2923 cm^{-1} , dan C=C pada bilangan gelombang 1666 cm^{-1} (Creswell *et al.* 1982).



Gambar 2. Spektrum inframerah isolat dalam cakram KBr.

Kesimpulan

Penapisan fitokimia simplisia daun srikaya dari dua lokasi tumbuh menunjukkan hasil yang sama yaitu adanya golongan senyawa flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid. Kedua simplisia tersebut menunjukkan karakteristik simplisia dan pola kromatogram KLT ekstrak yang mirip. Suatu senyawa golongan triterpenoid telah berhasil diisolasi dari ekstrak n-heksana simplisia 2. Isolat tersebut tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan memiliki gugus O-H, C-H, dan C=C.

Daftar Pustaka

- Creswell CJ, Runquist OA, Campbell OA, 1982, Analisis Spektrum Senyawa Organik, ed. 2, terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 29-31, 78-85.
- Heyne K, 1987, Tumbuhan Berguna Indonesia, terjemahan Badan Litbang Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, 776-777.
- Ikan R, 1991, Natural Products, A Laboratory Guide, 2nd ed., Academic Press, Inc., San Diego, 144-145.
- Shirwaikar A, Rajendran K, Kumar CD, Bodla R, 2004, Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin-nicotinamid type 2 diabetic rats, *J. Ethnopharmacol.* 91: 171-175.

Watt JM, Brandwijk MGB, 1962, *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, 2nd ed., E & S Livingstone, Edinburg, 60.

World Health Organization, 1998, *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*, World Health Organization, Geneva, 28.