

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN MANGKOKAN (*NOTHOPANAX SCUTELLARIUM MERR*)

Syafrinal

*Program Studi Analisis Kimia, Politeknik ATI Padang,
Bungo Pasang-Tabing, Padang 25171 Indonesia*

**email : rinal1450@gmail.com*

Abstrak

*Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etil asetat daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium Merr.* Metoda yang digunakan untuk mengisolasi adalah maserasi dan kromatografi kolom. Senyawa hasil isolasi berupa bubuk putih dengan titik leleh 281-282.°C. Hasil uji dengan pereaksi Liebermann-Buchard membentuk cincin hijau menunjukkan positif steroid. Analisa dengan spektroskopi UV-Vis menunjukkan serapan maksimum pada 202 nm dan analisa spektroskopi IR menunjukkan bilangan gelombang (cm^{-1}) yakni: 1021.25 (C-O), 1645.71 (C=C), 2930.85 (C-H), 3364.66 (O-H)*

Kata kunci : *Daun Mangkokan, Liebermann-Buchard, steroid*

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUND EXTRACT ETHYL ACETATE LEAF OF MANGKOKAN (*NOTHOPANAX SCUTELLARIUM MERR*)

Abstract

*This study aims to isolate and identify secondary metabolite compound contained in the extract ethyl acetate leaf of Mangkokan (*Nothopanax scutellarium Merr.* The methods used for isolation were maseration and column chromatography. The isolated compound is white powder with melting point at 281-282 ° C. Test results with Liebermann-Buchard reagents forming a green ring showed positive steroids. The analysis by UV-Vis spectroscopy showed maximum absorption at 202 nm and analysis IR spectroscopy showed wave numbers (cm^{-1}), are: 1021.25 (C-O), 1645.71 (C=C), 2930.85 (C-H), 3364.66 (O-H)*

Keywords: *leaf of Mangkokan, Liebermann-Buchard, steroid*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan sumber daya alam hayati yang beranekaragam jenisnya. Keanekaragaman hayati hutan tropisnya merupakan gudang senyawa organik bahan alam yang terdiri dari kandungan metabolit primer dan metabolit sekunder dengan aktivitas yang beragam jenis (Achmad, 2004).

Penggunaan tumbuhan sebagai obat berkaitan dengan kandungan kimia tumbuhan tersebut terutama zat bioaktif. Senyawa bioaktif dapat ditemukan pada bunga, daun, akar, dan batang, seperti tumbuhan *Enicosanthum membranifolium* yang mengandung senyawa N-trans-Feruloyltyramine, R-mellein, clerodermic acid, and salicifoline chloride yang berpotensi sebagai anti kanker (Mai Efdi, 2007), tumbuhan *Enicosanthum membranifolium* Sinclair (Annonaceae) yang juga mengandung senyawa N-trans-Feruloyltyramine yang dapat digunakan untuk inhibitor biosintesis melanin (Mai Efdi, 2007) serta tumbuhan *Toona sinensis* yang mengandung senyawa polifenol yang dapat digunakan sebagai anti leukimia (Mamoru Koketsu, 2014).

Salah satu tumbuhan yang sering digunakan sebagai obat adalah tanaman mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr). Tanaman ini berguna untuk mengatasi luka, sukar kencing, radang payudara dan membantu pertumbuhan rambut (Dalimartha, 1999). Mengobati penyakit mastitis, penyakit kulit, dan mengatasi rambut rontok (Kohei Arai, 2013). Tanaman mangkokan merupakan salah satu tanaman dari famili *Araliaceae*. Pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa, pada famili ini terdapat senyawa triterpen

dan saponin (Sandhya, 2010). *Polyscias balfouriana* adalah salah satu tanaman yang tergolong famili *Araliaceae*, yang juga mengandung metabolit sekunder yaitu triterpen dan saponin. Tanaman ini digunakan untuk mengobati penyakit bisul (Sandhya, 2010).

Penyelidikan kimia terhadap tanaman mangkokan dan genus yang sama yaitu *Nothopanax filicifolia* dilaporkan bahwa kedua spesies ini telah ditemukan tiga senyawa triterpen dan senyawa acetylenat (Veblen & Glenn, 2004). Daun mangkokan dan *Nothopanax filicifolia* yang digunakan untuk pencegahan atau pengobatan alopecia, obat luka, memperlancar ASI dan lain-lain, ditemukan juga tiga senyawa oleanene-oligoglikosida yaitu nothopanaxosida A, B, dan C, dan senyawa acetylenat panaxynol (Kitagawa, 1989).

Berdasarkan banyaknya kandungan kimia dan manfaatnya, maka penelitian ini juga meneliti senyawa steroid yang belum ditemukan dari tanaman ini..

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk pengerjaan isolasi adalah alat distilasi, alat *rotary evaporator* (Betracher Lamag[®]), oven (Fisher Scientific Isotemp[®] oven, model 630 F), lampu UV ($\lambda = 254$ nm dan 365 nm), *melting point apparatus* (Fisher Jhon), spektrofotometer UV-Vis (tipe UV-160 A; Shimadzu), spektrofotometri FTIR, kolom kromatografi, plat KLT (silika gel 60 F₂₅₄).

Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia hingga isolasi senyawa adalah kloroform (Brataco), akuades, asam klorida pekat, logam magnesium, besi (III) klorida (Merck), anhidrida asetat (Fisson), amonia (Merck),

pereaksi meyer, pereaksi *Liebermann-Burchard* (asam sulfat pekat dan anhidrida asetat), metanol (Merck), etil asetat (Merck), n-heksana (Merck), kristal iod dan silika gel 60 F₂₅₄

Prosedur Penelitian

Persiapan dan Pengambilan Sampel

Sampel segar daun mangkokan diambil sebanyak 8 kg yang diperoleh dari Nagari Cubadak, Kec. Lima Kaum, Kab. Tanah Datar dan dikering anginkan selama 1 bulan pada udara terbuka yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Sampel kering kemudian dihaluskan hingga berbentuk serbuk dan ditimbang.

Uji Fitokimia

Sampel uji yang digunakan yaitu daun mangkokan. Sampel dirajang halus dan dimasukan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan metanol dan dipanaskan dengan lampu spritus. Setelah itu filtrat dipisahkan ke dalam tabung reaksi yang lain lalu ditambahkan akuades dan kloroform dengan perbandingan 1:1 kemudian dikocok. Setelah didiamkan akan terbentuk dua lapisan dan kemudian dipisahkan. Lapisan air digunakan untuk uji kandungan fenolik dan flavonoid, sedangkan lapisan kloroform digunakan untuk uji kandungan triterpenoid dan steroid.

1. Pemeriksaan fenolik

Sebanyak 1 mL lapisan air diambil dan dimasukan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pereaksi besi(III) klorida. Terbentuknya warna hijau sampai ungu menandakan adanya kandungan senyawa fenolik (Kristati, 2008).

2. Pemeriksaan flavonoid (Shinoda tes)

Sebanyak 1 mL dari lapisan air diambil dan dimasukan ke dalam

tabung reaksi lain, kemudian tambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Kristati, 2008).

3. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid

Lapisan kloroform diambil dengan pipet tetes dan dimasukkan ke dalam tiga buah lubang plat tetes. Satu lubang sebagai pembanding, dan dua buah lubang lainnya ditambahkan H₂SO₄ pekat kemudian ditambahkan anhidrida asetat. Terbentuknya warna hijau sampai hijau kebiruan menandakan adanya steroid, sedangkan apabila terbentuk warna merah sampai merah keunguan menandakan adanya triterpenoid (Kristati, 2008).

4. Pemeriksaan kumarin

Sampel dimasukan dalam tabung reaksi dan ditambahkan metanol. Ekstrak metanol sampel diambil dengan kapiler kemudian ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan eluen etil asetat 100 %. Noda yang muncul pada plat KLT dimonitor dengan lampu UV, setelah itu plat disemprot dengan larutan NaOH 10 %. Plat diamati lagi di bawah lampu UV, terbentuknya noda yang berfluoresensi biru menandakan adanya kandungan kumarin (Kristati, 2008).

5. Pemeriksaan alkaloid

Tiga lembar daun sampel dirajang kecil-kecil lalu dimasukan ke dalam lumpang dan digerus dengan sedikit penambahan pasir, setelah itu ditambahkan ammonia dan kloroform. Ekstrak kloroform disaring dan dimasukan ke dalam tabung reaksi, kemudian

ditambahkan asam sulfat 2 N kemudian dikocok. Lapisan asam dipisahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Meyer. Terbentuknya endapan putih menandakan positif kandungan alkaloid (Kristati, 2008).

6. Pemeriksaan saponin

Sebanyak 1 gram sampel segar yang telah dirajang halus, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL akuades. Tabung reaksi dikocok selama 10 menit. Terbentuknya buih yang tidak hilang setelah 1 menit menandakan adanya kandungan senyawa saponin (Marliana, et. al., 2005).

Ekstraksi

Daun mangkogan dibersihkan, dikeringkan dan dipotong kecil-kecil lalu ditimbang sebanyak 2,5 kg. Sampel tersebut diekstraksi dengan metode maserasi, dengan menggunakan pelarut, n-heksan, etil asetat, dan metanol selama ± 4 hari berulang ulang. Ekstrak yang didapat diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak pekat. Semua fraksi yang diperoleh juga dilakukan pengujian dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* untuk menentukan fraksi yang mengandung steroid.

Pemisahan dan Pemurnian

Pada pengujian dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*, fraksi etil asetat menghasilkan warna hijau, yang menunjukkan positif mengandung steroid. Fraksi etil asetat dimurnikan dengan metode kromatografi kolom. Ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam lumpang, digerus sedikit demi sedikit dengan silika gel yang telah

ditimbang sebanyak 30 g sebelumnya. Sampel digerus hingga berbentuk bubuk dan homogen. Kemudian ekstrak yang sudah dipreadsorpsi dimasukkan ke dalam kolom. Selanjutnya kolom dielusi dengan sistim SGP (*Step Gradient Polarity*) yaitu pelarut yang berbeda kepolarannya dimulai dari pelarut n-heksana, etil asetat kemudian metanol.

Hasil kromatografi ditampung dengan vial kemudian fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis menggunakan KLT. Fraksi-fraksi yang mempunyai nilai *Rf* yang sama digabung kemudian diuapkan hingga diperoleh padatan.

Identifikasi

Senyawa hasil isolasi diuji kemurnian dengan KLT dan diamati menggunakan lampu UV 254 dan 365 nm, uap iod dan pereaksi *Liebermann Burchard*. Senyawa hasil isolasi diukur titik lelehnya dan diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan IR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Hasil fitokimia dari daun Mangkogan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia pada daun mangkogan.

No	Kandungan kimia	Reagent/ pereaksi	Hasil
1.	Alkaloid	Mayer	-
2.	Flavonoid	Sianidin test	+
3.	Fenolik	Besi (III) klorida 5%	+
4.	Terpenoid	Liebermann-Burchard	+
5.	Saponin	Aquadest	+
6.	Steroid	Liebermann-Burchard	+
7	Kumarin	Natrium Hidrokisda 10 %	-

Keterangan; (+) berarti terdeteksi.

Dari data pada Tabel 1 diketahui bahwa daun mangkokan mengandung senyawa flavonoid, fenolik, terpenoid, saponin dan steroid. Fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol dilakukan pengujian dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* untuk mengetahui fraksi yang mengandung steroid. Hasil pengujian yang didapat seperti yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*

No.	Fraksi	Hasil
1.	Heksana	-
2.	Etil asetat	+
3.	Metanol	-

Keterangan; (+) berarti terdeteksi steroid

Ekstraksi Sampel

Pada penelitian ini dilakukan proses isolasi dengan cara maserasi (perendaman) yang dilakukan berulang-ulang dan dipekatkan sehingga didapatkan hasil seperti pada Tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Sampel dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol

Ekstrak	Banyak pengulangan (kali)	Banyak larutan Pengekstrakan (liter)	Hasil ekstrak (gram)
n-Heksana	6	18	55
Etil asetat	6	18	155
Metanol	3	5	74

Berdasarkan Tabel 3 di atas dapat dilihat bahwa ekstrak daun mangkokan lebih banyak terekstrak pada pelarut etil asetat.

Pemisahan dan Pemurnian

Hasil kromatografi yang telah ditampung dengan vial kemudian diuapkan pelarutnya pada suhu kamar sampai terbentuk padatan. Padatan yang terbentuk tersebut di cek KLT-nya dan digabung dengan tujuan untuk

menyederhanakan fraksi yang terbentuk setelah dikromatografi kolom. Fraksi yang dihasilkan berjumlah 29 fraksi yaitu fraksi A-C'. dan dari beberapa fraksi, fraksi X yang dipilih karena lebih mudah dipisahkan dan diperoleh senyawa murni, selanjutnya padatan dicuci, sampai dihasilkan satu noda pada plat KLT.

Senyawa hasil isolasi yang dihasilkan berbentuk serbuk berwarna putih. Kemudian senyawa hasil isolasi diuji dengan KLT dan penampak noda. Pengujian KLT dilakukan dengan variasi tingkat kepolaran eluen, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji kemurnian senyawa hasil isolasi dengan plat KLT

No	Eluen	Rf	Noda
1	Heksana : etil asetat (9,5:0,5)	0,52	Tunggal
2	DikloroMetana : Aseton (7:3)	0,18	Tunggal
3	DikloroMetana : Aseton (1:1)	0,58	Tunggal

Berdasarkan Tabel 4, menunjukkan bahwa senyawa yang telah diisolasi telah murni, karena telah menunjukkan satu noda tunggal

Identifikasi

Pengukuran titik leleh dan Uji Liebermann- Burchard

Senyawa hasil isolasi yang telah murni diidentifikasi dengan beberapa penampak noda yaitu menggunakan lampu UV 254 nm dan 365 nm, serta pereaksi *Lieberman Burchard*, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan Tabel 5, menunjukkan bahwa senyawa yang telah diisolasi menunjukkan satu noda tunggal dengan pereaksi *Liebermann Buchard* dan memberikan warna hijau yang merupakan ciri khas senyawa golongan Steroid.

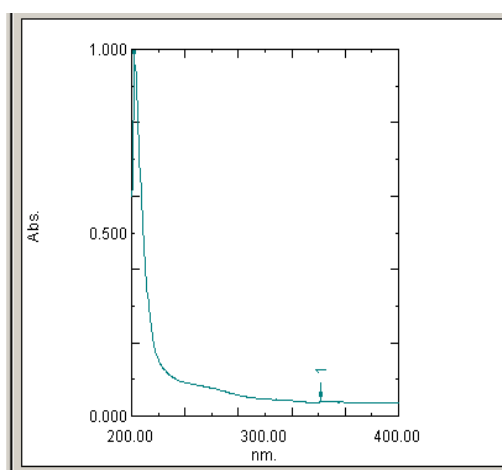
Tabel 5. Pengujian senyawa hasil isolasi dengan beberapa penampak noda

No	Penampak Noda	Hasil	Pengamatan Warna Noda
1	Lampu UV 254 nm	Tidak Ada	-
2	Lampu UV 356 nm	Tidak Ada	-
3	Liebermann Burchard	1 noda	Hijau

Uji titik leleh menunjukkan bahwa senyawa isolasi memiliki titik leleh 281.2 - 282.4°C. Rentang titik leleh senyawa ini adalah 1,2°C. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa isolasi telah murni karena rentang suhu yang kecil dari 2 °C. Data ini sesuai dengan pendapat Manjang (1985) yang menyatakan bahwa jika sudah terbentuk satu noda tunggal pada plat KLT dengan beberapa eluen dan range titik leleh yang kecil dari 2 °C menunjukkan kristal senyawa hasil isolasi sudah murni.

Spektroskopi UV – Vis

Data spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi dalam metanol memperlihatkan adanya serapan pada panjang gelombang 200-400 nm. Spektrum UV senyawa isolasi ditunjukkan pada Gambar 1.

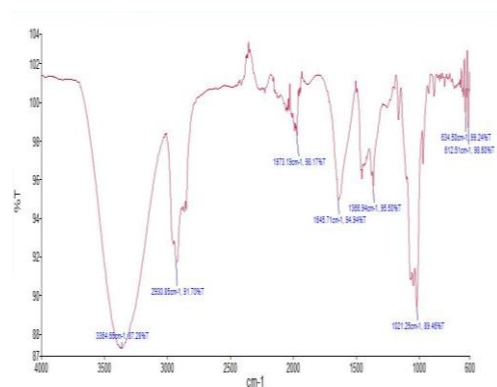


Gambar 1. Hasil spektroskopi UV

Spektrum UV senyawa organik diperoleh dari transisi elektron dari orbital energi rendah ke orbital energi yang lebih tinggi. Semakin kecil energi yang dibutuhkan, maka semakin besar panjang gelombang maksimumnya. Transisi elektron dari $\sigma \rightarrow \sigma^*$ memiliki λ_{maks} kecil dari 165 nm. Transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ memiliki λ_{maks} besar dari 165 nm. Transisi elektron dari $n \rightarrow \sigma^*$ memiliki λ_{maks} besar dari 185 nm. Transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ memiliki λ_{maks} besar dari 270 nm. Dari gambar dapat dilihat bahwa senyawa isolasi menunjukkan serapan pada panjang gelombang 202 nm yang menunjukkan transisi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ dari ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi.

Spektroskopi Infra Merah

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan IR memperlihatkan beberapa serapan penting yang menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi. Data spektrum infra merah ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektrum Inframerah senyawa isolasi

Spektrum inframerah senyawa organik terjadi akibat adanya berbagai transisi antara tingkat energi vibrasi. Spektrum ini menunjukkan gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa. Adanya spektrum dari

senyawa hasil isolasi pada bilangan gelombang 3364.66 cm^{-1} merujuk pada gugus fungsi -OH. Bilangan gelombang pada 1021.25 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus C-O. Vibrasi pada angka gelombang 1645.71 cm^{-1} menunjukkan ikatan rangkap dua atom C alifatis siklik. Adanya gugus geminal dimetil menunjukkan vibrasi antar atom C pada 1457.84 dan 1366.94 cm^{-1} . Bilangan gelombang 2930.85 dan 2859.16 cm^{-1} yang merujuk pada ikatan C-H primer dan sekunder alifatis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diisolasi dari daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium Merr*) dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etil asetat daun mangkokan adalah senyawa golongan steroid berupa bubuk putih yang menunjukkan hasil positif berupa warna hijau pada uji golongan dengan *Liebermann-Burchard* dan data dari spektroskopi UV- Vis dan FTIR

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 2004. *Kimia Bahan Alam-Suatu pendekatan untuk memahami potensi keanekaragaman hayati dalam bioindustri*. Prosiding pada Seminar Nasional IKAHIMKI 5 September 2004 di Surabaya
- Montgomery, Douglas C. 2016. *Statistical Quality Control (7th edition)*. John Wiley & Sons Singapore Pte. Ltd.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid I. 86-89. 150-153. Trubus Agriwijaya. Jakarta.
- Kitagawa, L. 1989. *Progres in chemistry of medicinal plant in Asia*. *Proceedings of the Sixth Asian Symposium on Medicinal Plants and Spices*. Bandung ITB University Press. 215.
- Kohei Arai, et al. 2013. *Identification of Ornamental Plant Functioned as Medicinal Plant Based on Redundant Discrete Wavelet Transformation*. International Journal of Advanced Research in Artificial Intelligence. Vol. 2. No.3.
- Kristati, A.N. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Mai Efdi. et. al. 2007. *The isolation of secondary metabolites and in vitro potent anti-cancer activity of clerodermic acid from Enicosanthum membranifolium*. Elsevier, Bioorganic & Medicinal Chemistry. 15 (2007). 3667-3671.
- Mamoru Koketsu, et.al. 2014. *Phytochemical analysis and antileukemic activity of polyphenolic constituents of Toona sinensis*. Elsevier. 501-1193.
- Sofjan Assauri. 1998. *Manajemen Operasi dan Produksi*. Jakarta. LP FE UI.
- Marliana, et. al. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. Biofarmasi. Vol. 3 (1). hal. 26-31.
- Sandhya, et al. 2010. *Evaluation of antiulcer activity of root and leaf extract of Polyscias balfouriana var.marginata*. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2(1). 192-195.
- Sandhya, et al. 2010. *Evaluation of Immunostimulant Activity of the*

*Root and Leaf of Polyscias
Balfouriana Marginata.*
International Journal of
Pharmaceutical and Clinical
Research. 2(2). 61-62.

Veblen, T.T. & Glenn, H.S. 2004.
Comparison on forest structure

*and regeneration on bench and
Stewart island, New Zealand.*
International Journal of
Pharmaceutical and Clinical
Research. 2(1). 192-195.