

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Mangrove Pedada (*Sonneratia Caseolaris*)

Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound Extract of n-Hexane from Pedada Mangrove (*Sonneratia Caseolaris*)

¹⁾Ike Prastika, ²⁾Netti Herawati, ³⁾Mohammad Wijaya

^{1,2,3}Jurusan Kimia Universitas Negeri Makassar, Jalan Bonto Dg. Ngirate 1 Blok 20, 90222

Email : ike.prastika@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak n-heksana dari kulit batang Mangrove Pedada (*Sonneratia caseolaris*), yang diperoleh dari daerah pinggiran Sungai Tallo Kelurahan Paccerakkang, Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Senyawa ini diperoleh melalui beberapa metode yaitu fraksinasi, pemurnian dan identifikasi. Fraksinasi dilakukan dengan cara kromatografi kolom flash; pemurnian dengan rekristalisasi dan identifikasi menggunakan uji warna, titik leleh, kelarutan, KLT dan uji spektroskopi. Kristal yang diperoleh dari hasil penelitian berbentuk serbuk berwarna putih dengan titik leleh 140 °C. Senyawa ini bereaksi positif dengan pereaksi Liebermann-Burchard yang menunjukkan golongan terpenoid. Identifikasi dengan spektroskopi infra merah memberikan serapan pada bilangan gelombang (cm⁻¹) : 1058,92 (-CO); 1462,04 (-CH) dan 1377,17 (-CH); 1641,42 (C=C); 2958,80 (-C), dan 2895,15 (-C); 3427,51 (-OH); 962,48 (=C). Berdasarkan uji pereaksi LB dan data IR maka senyawa tersebut adalah terpenoid

Kata kunci : *Pedada, Sonneratia caseolaris., Terpenoid*

ABSTRACT

This research is aimed to isolate and Identification of secondary metabolite compound Extract of n-Hexane from Pedada Mangrove (*Sonneratia Caseolaris*) who come from Tallo River side, Paccerakkang district, Makassar City, Sulawesi Selatan. This compound was obtained by some methods, namely, fractionation, purification and identification. The fractionation is carried out by flash column chromatography; purification by recrystallization and identification by colour test, melting point, solubility, thin layer chromatography (TLC), and spectroscopy method. The result of the research shows the white crystal with amorphous structure who melted on 140 °C. This compound has positive reaction to Liebrmann-Burchard reagent who identified as terpenoid group. Identification with infra red spectrum shows absorption on some wave number (cm⁻¹) are: 1058,92 (-CO); 1462,04 (-CH) dan 1377,17 (-CH); 1641,42 (C=C); 2958,50 (-C), dan 2895,15 (-C); 3427,51 (-OH); 962,48 (=C). Base on LB reagent test and IR spectrum, the compound is coming from terpenoid group.

Key word : *Pedada, Sonneratia Caseolaris, Terpenoid*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya dengan keanekaragaman sumber daya hayati yang merupakan gudang bahan kimia alami yang tidak ternilai harganya. Tumbuhan tropis memiliki peranan yang penting dalam kelangsungan hidup manusia karena begitu banyaknya manfaat yang dapat diberikan seperti obat-obatan. Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia telah mengenal berbagai macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit dan tumbuhan yang berkhasiat ini dikenal sebagai obat tradisional.

Pengembangan produksi tanaman obat tradisional semakin pesat, dipengaruhi oleh kesadaran masyarakat untuk meningkatkan tentang manfaat tanaman obat tradisional. Masyarakat semakin sadar akan pentingnya kembali ke alam dengan memanfaatkan obat-obat alami. Hal ini terbukti dari penggunaan tumbuhan obat untuk memelihara kesehatan dan pengobatan penyakit kronis yang tidak dapat disembuhkan dengan obat sintetik dengan obat dari tumbuhan berkhasiat. Hal lain yang mendorong masyarakat memilih tanaman obat adalah resiko efek samping yang relatif sedikit dibandingkan dengan obat sintetik. Pengobatan tradisional dapat dipertanggung jawabkan dengan melakukan penelitian ilmiah seperti penelitian dibidang farmakologi, toksikologi, identifikasi.

Salah satu jenis tumbuhan tersebut adalah *Sonneratia caseolaris* yang banyak tumbuh di perairan atau yang dikenal sebagai mangrove pedada. Tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan, obat-obatan, antioksidan,

antibakteri, sitotoksik, tabir surya, pengawet makanan, bahan bangunan, kayu bakar (Noor, 2006). Bahkan masyarakat Sulawesi memanfaatkan kayunya untuk membuat perahu (Manalu, 2011).

Buah *Mangrove* banyak mengandung vitamin C dan senyawa fitokimia seperti steroid, saponin, triterpenoid, dan flavonoid. Ekstrak buah *S.caseolaris* mengandung aktivitas inhibitor α -glukosidase. Komponen senyawa yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi yaitu asam oleanolik, β -D-lokopiranosida dan luteolin, dan ekstrak buah juga mengandung senyawa sitotoksik berupa (-)-(R)-iyasol, (-)-(R)-4'-O-metiliyasol dan asam maklinik (Miththapala, 2008).

Daun *Mangrove* mengandung dua senyawa flavanoid luteolin dan luteolin 7-O- β -glukosidase serta memiliki aktivitas antioksidan (Wu, *et al.*, 2009; Sadhu *et al.*, 2006). Ekstrak daun *S. caseolaris* juga mengandung L-galactopyranosida yang dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* dan bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (Melki, *et al.*, 2011 dan Maryani, *et al.*, 2002).

Pada bagian tangkai dan ranting *S.caseolaris* mengandung 24 senyawa yang dikelompokkan menjadi delapan steroid, sembilan triterpenoid, tiga flavanoid, dan mengandung empat benzena karbolik (Minging, *et al.*, 2009). Selain itu, tangkai dan ranting pedada juga mengandung asam oleanolik, 3,3'-di-O-asam metil eter ellagik dan 3,3',4-tri-O-asam metil eter ellagik (Ghalib, *et al.*, 2011).

Beberapa penelitian isolasi dan identifikasi di Indonesia yang telah dilakukan terhadap tumbuhan *S. caseolaris*

sebagian besar dilakukan pada ekstrak daun, kelopak, biji dan buah. Penelitian isolasi dari kulit batang mangrove pedada masih jarang dilakukan.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan, dimana sebelumnya telah dilakukan proses ekstraksi dan fraksinasi. Dari proses fraksinasi yang dilakukan dengan cara kromatografi kolom cair vakum ekstrak n-heksan dari kulit batang Mangrove Pedada menghasilkan 47 fraksi. Pada penelitian ini salah satu fraksi yang dilanjutkan dan dianalisis lebih lanjut. Fraksi J memiliki bobot fraksi yang cukup, dan memiliki hasil KLT noda yang nampak sedikit dan jarak pemisahan nodanya yang tampak jelas.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya pisau, mesin penggiling, ember, wadah maserasi, corong Buchner, gelas kimia dan gelas ukur berbagai ukuran, corong biasa, corong pisah 250 dan 500 mL, gunting, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, labu Erlenmeyer 1000 mL, botol fial, 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 mikro dan elektrotermal, spektrofotometer FTIR SHIMADZU Prestige-21,

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya ekstrak n-heksan kulit batang Mangrove Pedada yang berwarna hijau tua yang berbentuk padat (fraksi J) 0,1123 gram beberapa pelarut organik teknis seperti metanol (CH_3OH), n-heksana (C_6H_{14}), etil asetat

($\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_3$), kloroform (CHCl_3), 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 serum sulfat (CeSO_4) 10% dalam asam sulfat 2 N sebagai reagen penampak noda. Bahan-bahan lain yang digunakan yaitu 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 GF₂₅₄, dan tissue.

B. Prosedur Kerja

1. Persiapan Bahan Sampel

Dalam penelitian ini kulit batang mangrove pedada (*Sonneratia caseolaris*) terlebih dahulu dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, lalu dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan menggunakan blender dengan menggunakan mesin penghalus di Fak. Kehutanan UNHAS Makassar. Sampel serbuk halus kulit batang *S. caseolaris* yang diperoleh sebanyak 5,3709 kg. Serbuk halus kulit batang *S. caseolaris* dimaserasi dengan methanol selama 3x24 jam disertai pengadukan. Maserat metanol yang diperoleh kemudian didekantasi dan disaring dengan corong Buchner yang dilapisi kertas saring Whatman No. 41. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator pada 40°C sampai kira-kira tinggal seperempat dari volume awal (ekstrak kental). Ekstrak kental yang diperoleh dipartisi dengan n-heksan. Selanjutnya dipisahkan antara ekstrak metanol dengan ekstrak n-heksan

menggunakan corong pisah. Ekstrak kental yang diperoleh diekstraksi cair-cair dengan pelarut *n*-heksana sehingga diperoleh ekstrak berwarna coklat pekat.

2. Proses Isolasi

Sebanyak \pm 5 kilogram *D. falcata* (D.f) Ettingsh yang telah halus tersebut dimaserasi dengan metanol. Maserasi dilakukan sebanyak 3 x 24 jam. Kemudian disaring dengan corong Buchner yang dilapisi kertas saring Whatman. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental metanol dipartisi dengan pelarut *n*-heksana menggunakan corong pisah.

Ekstrak kental *n*-heksana yang diperoleh terlebih dahulu dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan larutan pengembang (eluen) kombinasi *n*-heksana:etil asetat, dalam berbagai perbandingan. Perbandingan yang digunakan yaitu dimulai dari 100 %, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4,. Dari hasil KLT diperoleh bahwa eluen kombinasi *n*-heksana:etil asetat dengan perbandingan memberikan pola pemisahan yang baik dan jelas untuk kromatografi kolom cair vakum. Ekstrak kental *n*-heksana yang terdiri dari beberapa komponen tersebut difraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum menggunakan silika gel G 60 (70 – 230 mesh) sebagai fasa diam, sedangkan eluennya menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat. Fraksi yang diperoleh dianalisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat dan fraksi-fraksi yang mempunyai kromatogram atau profil noda yang sama digabung. Hasil KKCVC yang diperoleh diuapkan pada suhu ruang.

Selanjutnya difraksinasi dengan kromatografi kolom tekan (KKT) dengan silika gel G 60 (230-400 mesh) sebagai

fasa diam dan eluen *n*-heksana:etil asetat fasa gerak. Fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis menggunakan KLT dengan *n*-heksana:etil asetat Fraksi-fraksi yang mempunyai profil noda yang sama digabung

Fraksi yang membentuk kristal direkristalisasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditentukan dengan melakukan KLT sistem tiga eluen dan uji titik leleh. Analisis KLT menunjukkan satu noda pada tiga macam eluen

Senyawa murni yang diperoleh diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard (terpenoid dan steroid), FeCl₃ (fenolik/flavanoid), Meyer dan Wagner (alkaloid) untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang dikandungnya dan identifikasi lebih lanjut dilakukan dengan metode Spektroskopi Infra Merah untuk mengetahui gugus fungsional. Selanjutnya data yang diperoleh diinterpretasi untuk menentukan golongan senyawa dari isolat tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KKCV) menggunakan silika gel G 60 sebagai fasa diam dan fase geraknya dimulai dari pelarut non-polar *n*-heksana 100%, kemudian ditingkatkan kepolarannya yakni kombinasi *n*-heksana dengan etil asetat dalam berbagai perbandingan hingga etil asetat 100% dan terakhir dengan pelarut polar yaitu metanol 100%. Hasil KKCVC diperoleh 47 fraksi.

Fraksi 1-47 yang diperoleh diidentifikasi melalui KLT dengan eluen kombinasi *n*-heksana:etil asetat (8:2). Fraksi-fraksi yang menunjukkan pola

kromatogram yang sama digabung, sehingga diperoleh 15 fraksi gabungan.

Fraksi gabungan J dengan berat 0,1123 gram dipilih untuk difraksinasi lebih lanjut dan terlebih dahulu diidentifikasi dengan KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan pada KKT. Eluen yang digunakan antara lain kombinasi n-heksana:etil asetat, dalam berbagai perbandingan diperoleh kombinasi n-heksana:etil asetat dengan perbandingan (7:3) memberikan pola noda yang sedikit dan pemisahan yang baik.

Fraksi J difraksinasi dengan KKT dengan menggunakan eluen n-heksana 100%, kombinasi n-heksana:etil asetat dengan perbandingan (7:3) kemudian etil asetat 100%. Eluat ditampung dalam vial-vial diperoleh sebanyak 18 fraksi. Fraksi hasil KKT diidentifikasi dengan KLT untuk mengetahui komponen senyawa kimia yang terdapat pada fraksi. Fraksi-fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama digabung sehingga diperoleh 12 fraksi gabungan. Fraksi gabungan diidentifikasi melalui KLT dengan eluen n-heksan:etil asetat perbandingan (2:8). Fraksi-fraksi diuapkan pada suhu ruang. Fraksi J₇ membentuk kristal berwarna hijau muda.

2. Pemurnian dan Identifikasi

Isolat J₇ direkristalisasi dengan n-heksana menghasilkan kristal jarum berwarna putih sebanyak 2,9 mg.

Isolat dari fraksi J₇ dinyatakan murni secara KLT selanjutnya diidentifikasi dengan pengujian titik leleh menggunakan Melting Point Meter M 5000 diperoleh titik leleh isolat adalah pada suhu 140°C.

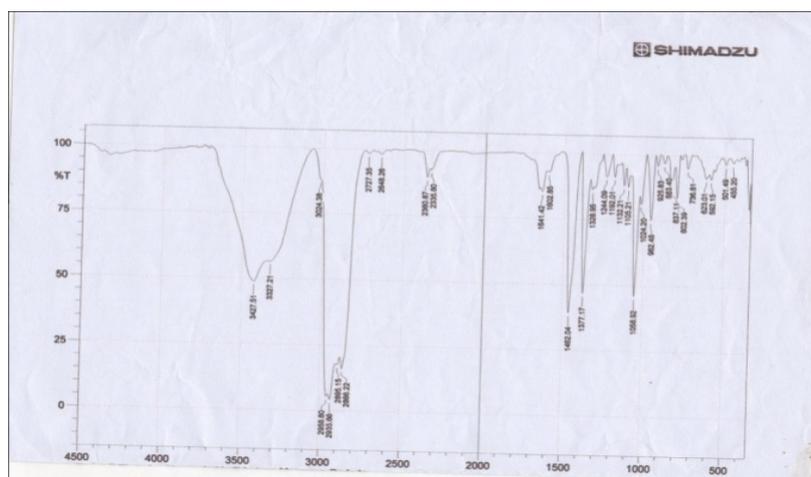
Isolat yang diperoleh diuji dengan beberapa pereaksi untuk mengetahui jenis golongan senyawanya. Adapun datanya dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil Uji Warna pada Isolat Murni Fraksi J₇

Pereaksi	Pengamatan	Keterangan
Lieberman n-Burchard	Warna Ungu	(+) Terpenoid
FeCl ₃	Warna kuning	(-) Flavonoid
Meyer	Bening kekuningan	(-) Alkaloid
Wagner	Endapan putih	(-) Alkaloid

3. Uji Spektroskopi

Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan spektrometer FTIR. Hasil interpretasi spektrum infra merah dari isolat J₇ berupa data bilangan gelombang, bentuk pita, intensitas dan gugusnya diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Interpretasi Spektrum Infra Merah dari Isolat Isolasi J₇

B. PEMBAHASAN

Isolat J₇ yang diperoleh berupa kristal berbentuk serbuk berwarna putih dengan berat 2,9 mg. Senyawa ini adalah senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid. Hasil yang diperoleh didukung oleh data uji golongan dan uji spektroskopi.

Isolat yang diperoleh selanjutnya diuji kemurniannya dengan KLT tiga macam eluen dengan pelarut dan perbandingan yang berbeda. KLT sendiri bertujuan untuk mengetahui jumlah komponen senyawa yang masih terkandung dalam fraksi J yang dapat dilihat dari jumlah noda yang tampak pada kromatogram. 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 eluen n-heksana:kloroform (5:5), n-heksana:etil asetat (8:2) dan n-heksana:aseton (1:9). Ini menandakan bahwa senyawa yang diperoleh adalah senyawa relatif polar, sesuai dengan sifat kelarutan suatu senyawa berdasarkan kepolaran pelarut dengan senyawa terlarut yakni jika kepolaran pelarut ditingkatkan maka senyawa terlarut naik sesuai

kenaikan pelarutnya berarti senyawa tersebut senyawa polar.

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 CeSO₄ 2% dan dipanaskan di atas *hotplate* sehingga diperoleh noda yang berwarna keunguan. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa isolat fraksi J₇ relatif murni secara KLT.

Uji golongan memberikan reaksi positif terpenoid terhadap pereaksi LB yang ditandai dengan terbentuknya warna ungu (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Uji dengan Pereaksi Liebermann Burchard

Hasil uji menunjukkan bahwa isolat J₇ memberikan reaksi positif terpenoid

terhadap pereaksi LB yang ditandai dengan perubahan warna dari bening menjadi warna ungu. Hal ini menunjukkan bahwa isolat J₇ termasuk golongan senyawa terpenoid. Hal ini menunjukkan senyawa yang diperoleh murni secara KLT. Uji titik leleh menunjukkan bahwa isolate J₇ terdekomposisi pada suhu 140 °C.

Spektrum infra merah isolat J₇ dapat dilihat pada Gambar 1. Identifikasi yang dilakukan selanjutnya adalah analisis spektroskopis menggunakan FTIR dengan metode pellet KBr, berfungsi untuk menentukan gugus fungsional dari suatu senyawa. Analisis spectrum inframerah (isolate J₇) memberikan serapan pada daerah bilangan gelombang (ν)3427,51 cm⁻¹ yang ditandai dengan pita yang agak lebar dengan intensitas sedang yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur O-H (bukan N-H). Analisis ini didukung oleh pita serapan pada 1058,92 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi ulur dari C-O alcohol sekunder siklik.

Serapan tajam dengan intensitas kuat tampak pada daerah ν (2895,15 dan 2866,22) cm⁻¹ yang merupakan vibrasi ulur C-H pada -CH₃. Selanjutnya serapan pada daerah ν (2935,66 dan 2958,80)cm⁻¹ diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-H pada -CH₂-. Sifat khas-CH₃ dan -CH₂-ditandai dengan adanya serapan pada daerah ν 3000-2700 cm⁻¹, di mana untuk vibrasi ulur -CH₃ (ν 2960 dan 2870 cm⁻¹), sedangkan vibrasi ulur -CH₂- (ν 2930 dan 2850 cm⁻¹). Hal ini member petunjuk bahwa struktur senyawa isola tmengandung gugus metil dan metilena. Keberadaan gugus metil dan metitena diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk C-H alifatik pada daerah ν 1462,04 cm⁻¹ untuk gugus -CH₂- dan 1377,17 cm⁻¹ untuk gugus -CH₃ yang dapat mengidikasi

adanya gugus germinal dimetil -CH(CH₃)₂ sebagai ciri khas senyawa triterpenoid.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa jenis senyawa yang terkandung dalam fraksi J dengan eluen n heksan : etil asetat (7:3) dari ekstrak n-heksan kulit batang Mangrove Pedada (*Sonneratia caseolaris*) adalah senyawa golongan terpenoid yang didukung oleh data bahwa kristal yang berbentuk padatan dan berwarna putih ini memiliki titik leleh 140°C.

B. Saran

Adapun hal yang disarankan berkaitan dengan penyempurnaan penelitian ini adalah perlu penelitian lebih lanjut untuk identifikasi terhadap struktur senyawa yang diperoleh dengan menggunakan NMR untuk memastikan struktur senyawa yang sebenarnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Djumidi, H. (Ed), 1997, *Inventaris TanamanObat Indonesia*, Jilid IV Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Jakarta.
- Manalu, R.D.E. 2011. *Kadar Beberapa Vitamin pada Buah Pedada (Sonneratia Caseolaris) dan Hasil Olahannya*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Maryani. 2002. Peranan Ekstrak Kelopak dan Buah Mangrove *Sonneratia Caseolaris* (L) Terhadap Infeksi Bakteri *Vibrio Harveyi* pada Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fab.). *Jurnal Akuakultur*

- Indonesia*. Vol. 1 No. 3. P.129-138.
- Melki. 2011. Biopotensi Tumbuhan Mangrove untuk Pencegahan Penyakit Vibrosis pada Udang Wandu. *Maspari Journal*. Vol. 02. P. 39-47.
- Miththapala, S. 2008. Mangroves. *Coastal Ecosystems Series*. Vol 2, ISBN: 978-955-8177-72-3. Ecosystem and Livelihoods Group Asia IUCN, Srilanka.
- Minging, Tian, *et al.* 2009. Chemical Constituents of Marine Medicinal Mangrove Plant *Sonneratia caseolaris*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, Vol. 27 No. 2, P. 288-296.
- Noor, Yus Rusila. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands Internasional Indonesia Programme : Bogor.
- Sadhu *et al.* 2006. Flavanoids from *Sonneratia caseolaris*. *J.Nat. Med*, Vol. 60 P.264-265.
- Wu, S.B. El. Al. 2009. *Oleanic acid-an α -Glucosidase Inhibitor and Antihyperglucemic Active Compound from The Fruits of *Sonneratia caseolaris**. Open Acces Journal of Medicinal and Aromatic Plants Vol 1(1): 19-23.