

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Sawo Manila (*Manilkara zapota*)

Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound Cloroform Extract of Sapodillas leaves (*Manilkara zapota*)

¹⁾Rini Perdana, ²⁾Pince Salempa, ³⁾Sumiati Side

¹⁾Institut Sains dan Kesehatan Bone

^{2,3)}Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg. Tata Parang Tambung

Email: perdana_rini27@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini adalah penelitian eksplorasi yang bertujuan untuk mengisolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kloroform daun *Manilkara zapota*. yang berasal dari Kecamatan Tempe Kabupaten Wajo Sulawesi Selatan. Isolasi dilakukan dalam beberapa tahap yaitu maserasi, partisi dengan kloroform, fraksinasi, uji kemurnian dan identifikasi. Hasil penelitian diperoleh isolat murni berupa serbuk berwarna putih dengan titik leleh 140-142°C. Hasil uji dengan pereaksi Liebermann-Buchard mengalami perubahan warna dari bening menjadi hijau menunjukkan positif steroid. Isolat diidentifikasi dengan menganalisis spektrum infra merah yang menunjukkan bilangan gelombang (cm^{-1}) yakni: 3442,94 (-OH terikat); 2947,23 dan 2873,94 (-CH alifatik); 1732,08 (C=O karboksilat); 1249,87 dan 1026,13 (C-O alkohol). Berdasarkan hasil analisis dan penelusuran literature adalah senyawa golongan steroid.

Kata kunci : *Isolasi, M. zapota, Steroid.*

ABSTRACT

This is an exploratory research that aims to isolate and identify secondary metabolite compound contained in cloroform Extract of *Manilkara zapota* leaves from Tempe, Wajo, South Sulawesi. The isolation was done through several stages: maceration, partition with cloroform, fractionation, purity testing, and identification. The extract was found to contain white powder of pure isolate with a melting point of 140-142°C. The test result using Liebermann-Buchard reagent exhibited a shift of color from transparent into green, therefore it can be categorized as a positive steroid. The isolate was identified by analyzing the infra red spectrum which showed wave numbers (cm^{-1}) of: 3442.94 (-OH bond); 2947.23 and 2873.94 (-CH aliphatic); 1732.08 (C=O carboxylate); 1249.87 and 1026.13 (C-O alcohol). Based on the analysis, literature search the isolate is considered as steroid compound.

Keywords : *Isolation, M. zapota, Steroid.*

PENDAHULUAN

Kedudukan Indonesia sebagai “Mega Biodiversity” terbesar kedua di dunia setelah Brazil, memiliki tumbuhan tropis dan biota laut yang sangat beragam. Di wilayah Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan dan 7.000 diantaranya diduga memiliki khasiat sebagai obat. *World Conservation Monitoring Center* telah melaporkan bahwa wilayah Indonesia merupakan kawasan yang banyak dijumpai beragam jenis tanaman obat, sedangkan jumlah tanaman yang telah dimanfaatkan hanya mencapai 2.518 jenis (Galiling dan Bhermana, 2010).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber bahan kimia bioaktif dan jumlahnya relatif besar adalah famili sapotaceae yang terdiri dari 5 suku dengan 53 genus dan sekitar 1.250 spesies. Sawo manila merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk salah satu famili sapotaceae dari genus manilkara, dimana sawo merupakan buah potensial yang sudah lama dikenal dan ditanam di Indonesia. Selain buahnya daun dari tanaman sawo dijadikan sebagai alternatif obat-obatan herbal. Berdasarkan wawancara dengan salah satu penduduk Kabupaten Natuna, didapatkan informasi bahwa masyarakatnya telah menggunakan daun sawo manila sebagai alternatif pengobatan dalam kehidupan sehari-hari. Hal ini diperkuat juga oleh masyarakat kota Pontianak yang juga menggunakan daun sawo manila sebagai obat sakit perut dikarenakan diare. Daun sawo manila digunakan untuk mengobati diare dengan meminum sarinya yaitu dengan cara

direbus dan diminum air rebusannya (Ningrum *et al*, 2008). Daun tanaman *M. zapota* dalam sistem obat tradisional obat digunakan untuk mengobati batuk, pilek dan diare. Daun tanaman juga memiliki aktivitas antioksidan. Daun juga memiliki potensi anti mikroba, analgesik, anti hiperglikemik dan hipokolesterolemik. Baik digunakan sebagai tonik dan ramuan yang diberikan dalam diare, disentri dan peludism (Ganguly *et al*, 2013). Studi kimia komposisi genus Manilkara telah menunjukkan kehadiran triterpen, saponin, dan flavonoid. Ekstrak Manilkara menunjukkan aktifitas anti mikroba, anti parasit, anti kolinesterase, melawan hama serangga, atau anti tumoral (Oliveira *et al*, 2014).

Ganguly (2013) melaporkan bahwa perbandingan daya anti inflamasi dan anti piretik dari ekstrak etanol daun dan kulit batang *M. zapota* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. zapota* memiliki efek anti inflamasi dan anti piretik yang sangat tinggi. Hal ini didukung dengan scrining fitokimia dimana ekstrak etanol daun *M. zapota* di deteksi mengandung alkaloid, fenol, tanin, gula pereduksi, flavonoid, steroid, terpenoid dan saponin.

Perbandingan daya anti bakteri dan scrining fitokimia dari ekstrak etanol daun dan batang *M. zapota* terhadap 13 jenis bakteri menunjukkan adanya daya anti bakteri yang sangat tinggi yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun *M. zapota* terhadap bakteri *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*. Dari hasil scrining fitokimia menunjukkan bahwa

ekstrak etanol daun dan kulit batang *M. zapota* terdapat alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin (Islam *et al*, 2013).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti menganggap perlu diadakan suatu penelitian lebih lanjut untuk mengkaji kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak kloroform pada daun sawo manila, kloroform yang bersifat nonpolar memberikan peluang untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang lebih bervariasi.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat untuk proses ekstraksi dan identifikasi yaitu neraca analitik, bejana maserasi, evaporator, corong Buchner, kromatografi kolom cair vakum, alat gelas yang lazim digunakan dilaboratorium, plat tetes, pipa kapiler, botol semprot, botol vial, batang pengaduk, lampu UV (panjang gelombang 254 nm dan 366 nm), penangas air, oven, chamber, alat uji titik leleh Melting Point SMP11, dan spektrofotometer IR Shimadzu prestige-21.

Bahan yang digunakan adalah serbuk daun sawo manila *M. zapota*. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol, n-heksan, etil-asetat, kloroform, aseton, aquadest, beberapa reagen seperti pereaksi Liebermann-Buchard, FeCl_3 1%, Dragendorff, dan Wagner. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah silika gel 60, pelat KLT aluminium berlapis silika gel G 60 F₂₅₄, silika gel G 60 H untuk impregnasi, gel G 60 (70-230 mesh) untuk KKCVC, aluminium foil dan kertas saring.

B. Prosedur Kerja

Daun sawo manila dihaluskan dan dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam. Maserat yang diperoleh disaring lalu diuapkan diperoleh ekstrak kental metanol kemudian ditentukan beratnya. Selanjutnya ekstrak metanol dipartisi dengan kloroform. Filtrat yang diperoleh, dievaporasi kemudian diuapkan pada suhu kamar sampai kering dan ditentukan beratnya. Kemudian ekstrak kloroform dilakukan proses fraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KKCV). Hasil KKCVC kemudian dianalisis KLT, Fraksi dilakukan uji kemurnian dengan tiga sistem eluen. Senyawa hasil isolasi dilakukan uji kualitatif dengan pereaksi Liebermann Burchard, Uji titik leleh dan dianalisis gugus fungsinya dengan metode spektroskopi IR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Ekstraksi Tumbuhan *M. zapota*

Sampel daun sawo manila *M. zapota* yang telah dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar. Daun *M. zapota* yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender. Serbuk halus daun *M. zapota* sebanyak 4.9 kg dimaserasi dengan menggunakan metanol selama 3 x 24 jam. Maserat yang diperoleh dari proses maserasi sebanyak 35 liter. Maserat yang diperoleh kemudian disaring dan dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 1,5 liter. Ekstrak kental metanol yang diperoleh selanjutnya diekstraksi cair-cair

masing-masing dengan menggunakan pelarut kloroform. Ekstrak kloroform yang diperoleh dari hasil ekstraksi cair-cair berwarna coklat kekuningan sebanyak 1,5 liter dan selanjutnya di evaporasi sehingga diperoleh ekstrak kloroform berwarna coklat kekuningan dengan bobot 15,2507 g.

2. Isolasi dan Pemurnian

Sebanyak 15 g ekstrak kloroform difraksinasi dengan kromatografi cair kolom vakum (KKCV). Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan fasa diam berupa silika gel 60 H dan menggunakan fasa gerak yaitu eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien. Hasil KKCV diperoleh sebanyak 36 fraksi. Selanjutnya fraksi-fraksi yang diperoleh diuji secara KLT dengan kombinasi eluen n-heksan:etil asetat. Fraksi-fraksi yang memiliki profil noda yang sama digabung sehingga diperoleh fraksi gabungan sebanyak 14 fraksi. Fraksi gabungan H (0,5313gr) difraksinasi lebih lanjut menggunakan cara KKT dengan menggunakan silika gel sebagai fasa diam, sedangkan fasa gerak yaitu eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien. Hasil KKT diperoleh 34 fraksi. Selanjutnya fraksi-fraksi yang diperoleh diuji secara KLT. Fraksi-fraksi yang pola noda yang sama digabung dan diperoleh 11 fraksi. Fraksi gabungan B (0,0863 g) berupa kristal putih berbentuk jarum. Isolat tersebut dimurnikan dengan pelarut n-heksan menghasilkan isolat berupa serbuk putih sebanyak 0,080 g.

Isolat yang diperoleh diuji kemurniannya dengan metode tiga

sistem eluen. Pada metode tiga sistem eluen kemurnian isolat yang diperoleh ditandai dengan muncul noda tunggal pada setiap plat KLT. Hasil uji kemurnian dengan tiga sistem eluen yaitu eluen kloroform:n-heksana (4:6), etil asetat:kloroform (8:2), dan etil asetat:n-heksana:kloroform (1:7:2) menunjukkan adanya noda tunggal. Pengujian titik menunjukkan bahwa isolat telah murni dengan trayek titik leleh adalah 2 dengan titik leleh 140-142°C.

B. PEMBAHASAN

1. Uji Golongan

Senyawa hasil isolasi dari warna isolat bening menjadi warna hijau dengan pereaksi Lieberman Burchard (Gambar 1), reaksi positif menurut teori berwarna hijau sampai biru untuk steroid dan merah sampai ungu untuk triterpenoid. Steroid dan triterpenoid merupakan senyawa yang dapat terekstraksi dengan pelarut non-polar atau semi polar (Harborne, 1987). Ini membuktikan bahwa senyawa yang diperoleh adalah terpenoid sesuai dengan penelitian sebelumnya pada tumbuhan sawo manila yang kebanyakan memperoleh senyawa terpenoid.



Gambar 1. Hasil uji golongan (LB)

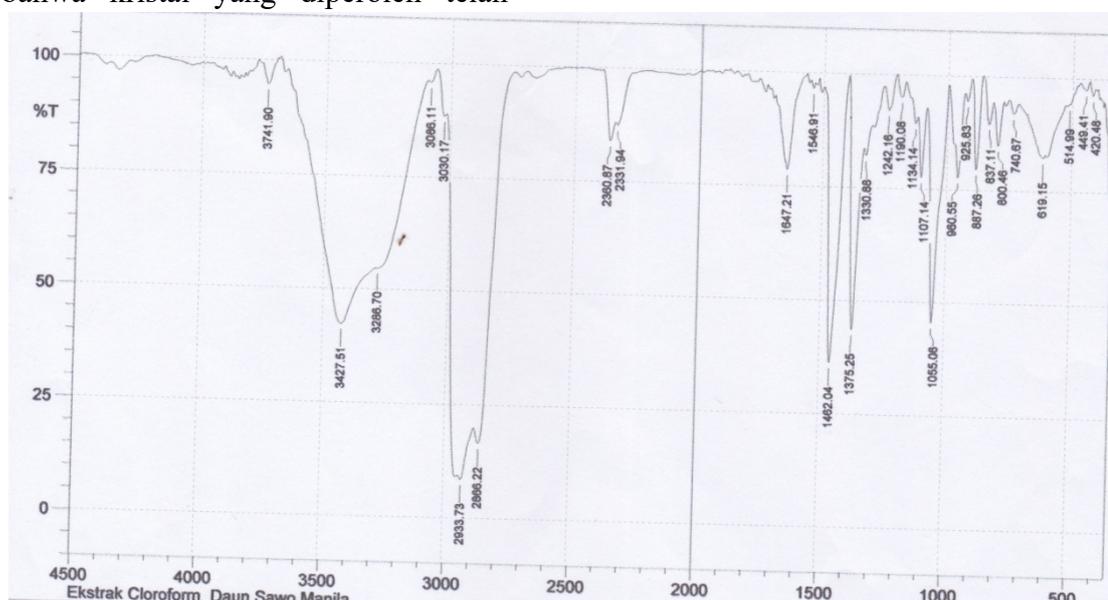
2. Uji Titik Leleh

Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan pengujian titik leleh menggunakan Melting Point. Dari teori yang diperoleh mengatakan bahwa senyawa murni akan memiliki trayek titik leleh tajam yakni awal dari melelehnya senyawa uji hingga meleleh secara keseluruhan berada dalam trayek titik leleh tidak lebih dari 2°C. Hasil uji titik leleh menunjukkan kristal mulai meleleh pada suhu 140°C dan meleleh secara keseluruhan pada suhu 142°C. Hasil ini membuktikan bahwa kristal yang diperoleh telah

murni dan memiliki titik leleh yang tinggi. Beberapa studi literatur menunjukkan bahwa kristal yang memiliki titik leleh yang berada pada kisaran 120-170°C merupakan senyawa golongan steroid

3. Uji Spektroskopi IR

Identifikasi isolat dilakukan dengan analisis spektroskopi infra merah (IR) dengan pellet KBr. Spektrum inframerah dari isolat B4 ditunjukkan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Spektrum Infra Merah Isolat B

Spektrum IR senyawa hasil isolasi menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang 3427.51 cm^{-1} yang diduga adalah serapan uluran untuk gugus O-H. Dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1055.06 cm^{-1} yang menunjukkan tekukan gugus OH. Adanya pita tajam dengan

intensitas kuat pada bilangan gelombang 2935 cm^{-1} dan 2893 cm^{-1} merupakan uluran C-H yang diperkuat dengan adanya serapan bilangan gelombang 1462 cm^{-1} dan 1375 cm^{-1} yang menunjukkan tekukan C-H. Pita serapan pada daerah bilangan gelombang 1642 cm^{-1} ditimbulkan dari gugus C=C.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Beberapa studi literatur menunjukkan bahwa spektrum-spektrum seperti uraian diatas merupakan senyawa steroid yang mirip dengan β -sitosterol. Hal tersebut didukung oleh beberapa data antara lain, uji golongan dengan Liebermann-Burchard yang menunjukkan positif steroid, uji KLT dengan membandingkan antara senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dengan senyawa β -sitosterol murni, serta data spektroskopi IR yang menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=C, C-O, dan C-H.

B. SARAN

Adapun hal-hal yang disarankan berkaitan dengan penyempurnaan penelitian ini adalah Melakukan identifikasi terhadap senyawa yang diperoleh dengan menggunakan NMR untuk mengetahui struktur senyawa yang diperoleh dan melakukan uji bioaktivitas terhadap senyawa yang didapatkan sehingga dapat diketahui manfaatnya

DAFTAR PUSTAKA

- Galinging, R. Y., dan Bhermana, A. 2010. *Pewilayahan Plasma Nutfah Tanaman Obat Berbasis Sistem Informasi Geografi di Kalimantan Tengah*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kalimantan Tengah. Kalimantan Tengah.
- Islam. M. Abdul Aziz. M. Rowshanul M 2013. *Antibacterial and phytochemical screening of*

ethanol extracts of Manilkarazapotaleaves and bark. International Journal of Pharma Sciences. Vol. 3, No. 6 (2013): 394-397

Wahyuningsih, M.S.H. 2010. *Deskriptif Penelitian Dasar Herbal Medicine*. Yogyakarta: UGM.

- Oliviera, Eduardo Coriolano. Nesrin M. Fayek. Azza R. Abdel Monem. 2014. Inhibitory Effect of Plant *Manilkara subsericea* against Biological Activities of *Lachesis muta* Snake Venom. BioMed Research International Volume 2014, Article ID 408068, 7

Habib, Rezuel. 2010. *Antimicrobial Investigation on Manilkara zapota (L.) P. Royen*. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science, Rajshahi University. -March 2011, 3(1): 185-190.

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.