

## Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Daun Ceremai (*Phyllanthus Acidus* (L) Skeels)

### *Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compounds from Ceremai Leaf Ethyl Acetate Extract (*Phyllanthus Acidus* (L) Skeels)*

<sup>1)</sup>Sudding, <sup>2)</sup>Ramdani, <sup>3)</sup>Fatmawati

<sup>1, 2, 3)</sup>Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Makassar

Email: [fatmawati.kimia@gmail.com](mailto:fatmawati.kimia@gmail.com)

#### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat daun ceremai. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap diantaranya preparasi, ekstraksi dengan metode maserasi, fraksinasi, pemurnian dan identifikasi. Hasil penelitian berupa isolat murni dengan bentuk serbuk berwarna putih. Uji pereaksi Wagner dan Dragendorf keduanya menunjukkan adanya alkaloid. Hasil identifikasi data spektrum FTIR juga menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh merupakan golongan senyawa alkaloid karena mengandung gugus fungsi NH, CH alifatik, CN, C=O, C=C aromatik dan CH aromatik dengan titik leleh 90-92°C.

**Kata Kunci:** *Isolasi, Phyllanthus acidus L. Skill, alkaloid*

#### **ABSTRACT**

This study aims to isolate and identify of secondary metabolite compound from ethyl acetate extracts of ceremai leaves. The research was carried out in several stages: preparation, extraction by maceration method, fractionation, purification and identification. The white powder was obtained in this study. Based on Wagner and Dragendorf reagent test, the isolates is alkaloid. The results of FTIR analysis showed that isolates is group of alkaloid compound since it contains functional groups of NH, CH alifatic, CN, C=O, C=C aromatic and CH aromatic with a melting point 90-92°C.

**Keywords:** *Isolation, Phyllanthus acidus L. Skill, alkaloid*

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman tumbuhan obat di dunia. Banyak sekali tumbuhan yang ada di Indonesia memiliki khasiat, tumbuhan ini digunakan sebagai obat tradisional. Eksplorasi sumberdaya alam hayati, khususnya tumbuhan tingkat tinggi untuk pengobatan masih terus dilakukan. Dari sekian banyak spesies tumbuhan tingkat tinggi yang ada, masih ada yang belum diteliti kandungan kimianya, padahal resep obat-obatan herbal yang digunakan saat ini mengandung bahan bioaktif yang bersumber dari tumbuhan tingkat tinggi.

Tumbuhan obat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif dan berguna bagi kehidupan manusia. Setiap tumbuhan menghasilkan satu atau lebih senyawa bioaktif dengan aktivitas tertentu. Tanaman obat merupakan suatu bahan alam yang mampu menghasilkan senyawa aktif tertentu. Senyawa aktif tersebut mempunyai manfaat yang berbeda-beda tergantung dari jenis senyawanya yaitu sebagai antikanker, antibakteri, antijamur maupun sebagai antioksidan (Saroinsong, dkk., 2014). Hal inilah yang menyebabkan tumbuhan telah digunakan sebagai obat-obatan sejak ratusan bahkan ribuan tahun yang lalu.

Salah satu dari sekian banyak tumbuhan obat yang ada di negara kita yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tumbuhan Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L) Skeels). Daun ceremai berkhasiat mengobati batuk berdahak, menguruskan badan, mual, kanker dan sariawan (Redaksi

Agromedia, 2008). Daun ceremai mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, steroid, tannin, polifenol dan saponin yang digunakan didalam dunia pengobatan untuk anti kolesterol dan anti bakteri.

Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan suatu penelitian untuk mengkaji kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L) Skeels). Penelitian ini diharapkan dapat menemukan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L) Skeels).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat untuk preparasi sampel, ekstraksi dan identifikasi. Alat untuk tahap preparasi sampel yaitu blender dan baskom. Alat untuk proses ekstraksi dan identifikasi yaitu neraca analitik, bejana maserasi, evaporator, corong Buchner, kolom kromatografi cair vakum, kolom flash, labu erlenmeyer berbagai ukuran, gelas ukur, corong biasa, gelas kimia, pipet tetes, plat tetes, pipa kapiler, botol semprot, botol vial, batang pengaduk, lampu UV (panjang gelombang 254 nm dan 366 nm), penangas air, oven, chamber, alat pengukur titik leleh dan spektrofotometer IR.

Bahan yang digunakan adalah serbuk halus daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L) Skeels). Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol, n-heksan, etil-asetat, aseton, aquadest, beberapa reagen seperti pereaksi Liebermann-Buchard,  $\text{FeCl}_3$  1%, Dragendorff, dan Wagner.

Bahan-bahan lain yang digunakan adalah silika gel 60, pelat KLT aluminium berlapis silika gel G 60 F<sub>254</sub>, aluminium foil dan kertas saring.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Preparasi sampel**

Daun ceremai dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang beratnya.

#### **Ekstraksi**

Sebanyak 2,7 kg serbuk daun ceremai dimaserasi dengan Etil asetat sebanyak 8 L. Maserasi dilakukan selama 3 kali 24 jam yang disertai pengadukan. Maserat etil asetat yang diperoleh kemudian disaring dengan corong Buchner yang dilapisi kertas saring Whatman No.41. Sebanyak 5 L ekstrak etil asetat yang diperoleh dipisahkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga tersisa ekstrak kental etil asetat sebanyak 57,08 gram. Ekstrak kental etil asetat kemudian diambil sebagian untuk dilakukan uji pereaksi dengan pereaksi Lieburmann-Buchard (terpenoid dan steroid), FeCl<sub>3</sub> (fenolik/flavanoid), Dragendorff dan Wagner (alkaloid).

#### **Fraksinasi**

Ekstrak kental etil asetat sebanyak 10,00 gram yang telah diimpregnasi dengan silika gel G 60 H (07733) selanjutnya difraksinasi dengan metode KKC<sub>V</sub> menggunakan silika gel G 60 (07736) sebagai fasa diam, sedangkan eluennya menggunakan eluen n-heksan 100%, n-heksana : etil asetat, etil asetat : aseton, aseton 100% dan metanol 100 %. Volume

eluen untuk setiap elusi sebanyak 100 mL. Hasil fraksinasi sebanyak 29 fraksi diidentifikasi menggunakan KLT dengan eluen n-heksan:etil asetat. Fraksi-fraksi yang mempunyai profil noda yang sama digabung hingga diperoleh 5 fraksi gabungan. 5 fraksi gabungan diuapkan pada suhu ruang. Fraksi G1 yang paling banyak diantara fraksi yang lain yaitu 68,0408 gram kemudian difraksinasi menggunakan kromatografi kolom tekan (KKT) yang terlebih dahulu diimpregnasi dengan silika gel G 60 H(07733). Silika gel G 60 (07734) sebagai fasa diam dan eluen yang sesuai sebagai fasa gerak. Fraksi hasil KKT yang diperoleh dengan jumlah 24 fraksi dianalisis menggunakan KLT dengan eluen n-heksan:etil asetat. Fraksi-fraksi yang mempunyai profil noda yang sama digabung. Diperoleh 5 fraksi gabungan hasil KKT. Fraksi gabungan selanjutnya diuapkan pada suhu ruang hingga diperoleh padatan.

#### **Pemurnian**

Padatan yang diperoleh didekantasi dengan menggunakan berbagai macam pelarut yaitu pelarut n-heksan, etil asetat, aseton dan metanol. Pelarut yang paling bagus digunakan untuk proses dekantasi yaitu pelarut aseton. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditentukan dengan melakukan KLT tiga sistem eluen yaitu n-heksan:etil asetat (7:3, 8:2 dan 9:1) dan uji titik leleh. Jika titik leleh senyawa menunjukkan trayek titik leleh yang tajam, maka senyawa tersebut telah murni.

#### **Identifikasi**

Identifikasi dilakukan dengan uji golongan menggunakan pereaksi Lieburmann-Buchard (terpenoid dan

steroid),  $\text{FeCl}_3$  (flavanoid), Wagner dan Mayer (alkaloid) untuk mengetahui golongan senyawa isolat. Identifikasi selanjutnya dengan membandingkan hasil uji titik leleh senyawa metabolit sekunder yang pernah diperoleh sebelumnya dengan titik leleh yang diperoleh. Adapun spektroskopi FTIR Shimadzu Prestige-21 untuk mengetahui gugus fungsional senyawa yang diperoleh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

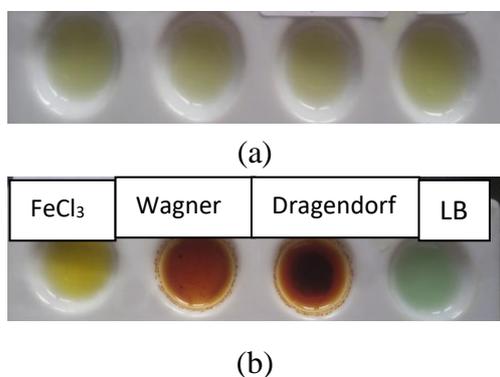
### Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Serbuk daun ceremai dimaserasi dengan menggunakan etil asetat dan disaring sehingga dihasilkan 5 L ekstrak etil asetat yang dievaporasi dan dihasilkan ekstrak kental sebanyak 57,08 gram berwarna hijau pekat seperti pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Ekstrak Kental Etil Asetat

### Uji Golongan



**Gambar 2.** Hasil Uji Golongan Ekstrak Etil Asetat

Keterangan:

- (a) Sebelum ditambahkan pereaksi
- (b) Setelah ditambahkan pereaksi

### Fraksinasi

Dengan mengamati jumlah noda terbanyak dan jarak pemisahan antar noda cukup terpisah maka dapat digunakan sebagai dasar pemilihan campuran eluen terbaik yang dapat diterapkan pada KKC (Suirta, 2007). Dari hasil KLT diperoleh eluen n-heksana : etil asetat (8:2) menunjukkan banyak noda dan pola pemisahan noda yang baik. Dari 29 fraksi yang diperoleh, selanjutnya diidentifikasi melalui KLT dengan menggunakan eluen n-heksan:etil asetat dengan berbagai perbandingan, fraksi yang memiliki pola kromatogram noda yang sama digabung.

**Tabel 1.** Hasil Penggabungan Fraksi KKC

Fraksi	Fraksi gabungan	Bentuk
5-12	G1	Padatan
13-14	G3	padatan
16-18	G4	padatan
19-22	G5	padatan
23-27	G6	padatan

Fraksi gabungan G1a dipilih untuk difraksinasi lebih lanjut karena dianggap paling potensial untuk dilanjutkan. Terlebih dahulu fraksi G1a diidentifikasi dengan KLT. Berdasarkan hasil KLT diperoleh eluen n-heksan :etil asetat (8:2) yang memiliki pola kromatogram yang baik kemudian difraksinasi dengan KKT dan diperoleh 24 fraksi hasil KKT. Fraksi-fraksi selanjutnya diidentifikasi dengan KLT dengan menggunakan kombinasi eluen n-heksan:etil asetat. Fraksi yang

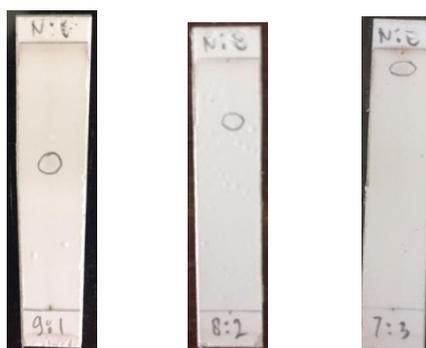
memiliki pola kromatogram yang sama digabung sehingga diperoleh 5 fraksi gabungan seperti terlihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Penggabungan Fraksi Hasil KKT

Fraksi	Komponen	Bentuk
3-4	G1a	Padatan
5-9	G1b	Padatan
11-14	G1c	Padatan
15-16	G1d	Padatan
18-22	G1e	Padatan

### Pemurnian

Fraksi G1a sebanyak 1,6130 gram dimurnikan dengan menggunakan pelarut aseton. Hasil pemurnian menghasilkan isolat berbentuk serbuk berwarna putih dengan berat 21,5 mg. Uji kemurnian dilakukan dengan analisis KLT tiga sistem eluen dengan perbandingan yang berbeda yang bertujuan untuk memastikan kemurnian suatu isolat yang ditunjukkan dengan munculnya satu noda pada plat KLT. Adapun hasil kromatogramnya dapat dilihat pada Gambar 2.



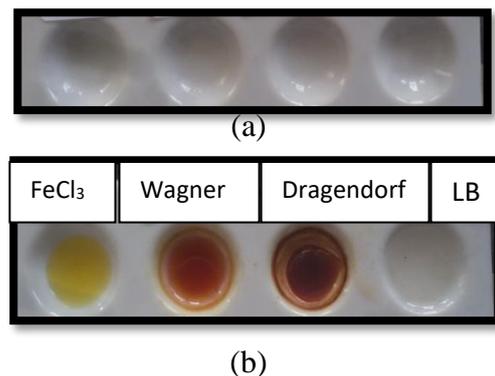
**Gambar 2.** Kromatogram Fraksi G1a Hasil KLT Tiga Sistem Eluen

### Identifikasi

#### Uji golongan

Senyawa alkaloid dengan pereaksi dragendorff akan membentuk

garam tetraiodobismut yang berwarna merah hingga coklat. Terbentuknya endapan tersebut karena nitrogen membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam bismut dari kalium tetraiodobismut (II), endapan tersebut adalah bismut-alkaloid (Marliana, *et al.*, 2005).



**Gambar 3.** Hasil Uji Golongan Isolat Murni G1a

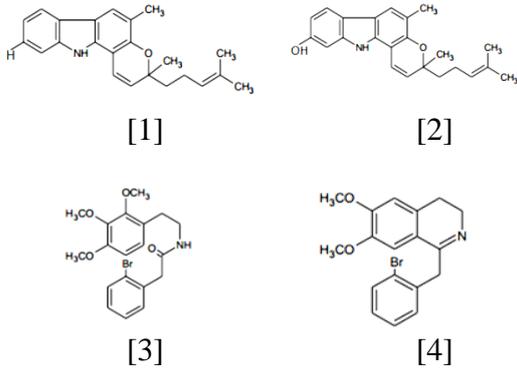
Keterangan:

(a) Sebelum ditambahkan pereaksi

(b) Setelah ditambahkan pereaksi

### Pengujian Titik Leleh

Isolat G1a diidentifikasi dengan uji titik leleh. Berdasarkan hasil pengamatan isolat meleleh pada suhu 90-92°C. Senyawa alkaloid juga telah berhasil diisolasi oleh Ahmad (2014) yaitu alkaloid jenis indol yakni Mahanimbin [1] dengan trayek titik leleh 93-95°C dan mahanin [2] dengan trayektitik leleh 91-92°C. Senyawa alkaloid jenis meskalin yaitu N-(2,3,4-Trimetoksifenetil)-2-(2bromofenil) asetamida [3] dengan trayek titik leleh 92-93°C dan 1-(2 bromobenzil)-3,4-dihidro-6,7-dimetoksiisokuinolin [4] dengan trayek titik leleh 95-96°C (Nimgirawath, 2009).

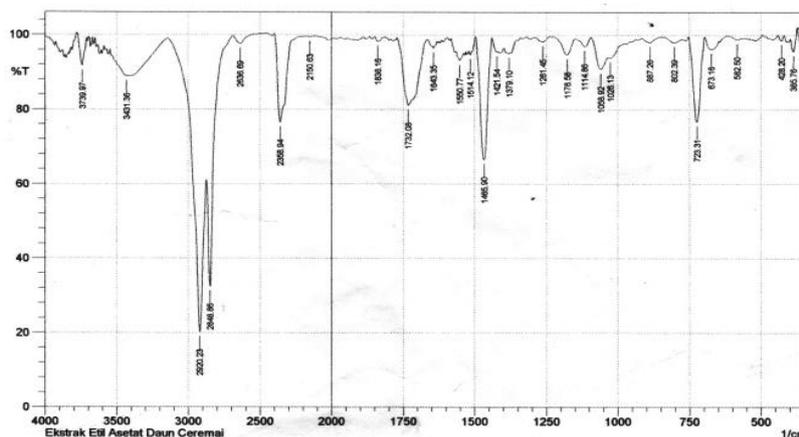


### Uji Spektroskopi

Analisis menggunakan spektroskopi FTIR yang bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi dari senyawa yang diperoleh. Analisis dengan spektroskopi FTIR sebagaimana pada lampiran III menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi. Data puncak serapan gugus fungsi, dan intensitas isolat G1a dapat dilihat pada Gambar 6.

Serapan dengan bentuk pita tajam pada bilangan gelombang  $3739,97\text{ cm}^{-1}$  diidentifikasi sebagai

serapan yang spesifik pada vibrasi ulur N-H sekunder yang didukung oleh adanya serapan dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang  $1176,58\text{ cm}^{-1}$ ,  $114,86\text{ cm}^{-1}$  dan  $1058,92\text{ cm}^{-1}$  diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-N. Serapan dengan bentuk pita melebar pada panjang gelombang  $3431,36\text{ cm}^{-1}$  diidentifikasi sebagai vibrasi ulur O-H. Serapan dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang  $2848,86\text{ cm}^{-1}$  dan  $2920,23\text{ cm}^{-1}$  diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-H (-CH<sub>3</sub> dan -CH<sub>2</sub>) alifatik. Serapan dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang  $1732,08$  diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C=O. Serapan dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang  $1465,90\text{ cm}^{-1}$  diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C=C aromatik yang didukung dengan serapan dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang  $723,31\text{ cm}^{-1}$  yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-H aromatik.



Gambar 4. Spektrum Infra Merah Fraksi G1a

Berdasarkan interpretasi data spektrum IR, uji golongan, dan pengujian titikleleh yang sudah dilakukan diketahui bahwa isolat G1a ekstrak etil asetat daun tumbuhan ceremai merupakan golongan

senyawa alkaloid aromatik yang memiliki karakteristik: N-H sekunder ( $3739,97\text{ cm}^{-1}$ ), O-H ( $3431,36\text{ cm}^{-1}$ ), C-H alifatik ( $2920,23\text{ cm}^{-1}$  dan  $2848,86\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1732,08\text{ cm}^{-1}$ ), C=C aromatik ( $1465,90\text{ cm}^{-1}$ ), C-N

(1176,58  $\text{cm}^{-1}$ , 1114,86  $\text{cm}^{-1}$  dan 1058,92  $\text{cm}^{-1}$ ) dan C-H aromatik (723,31  $\text{cm}^{-1}$ ).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder berupa serbuk berwarna putih dengan trayek titik leleh 90-92°C yang diisolasi dari ekstrak etil asetat daun ceremai adalah alkaloid.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, K., Tan, S. P., Sukari, M. A., & Ali, A. M. 2014. *Cytotoxic and AntiTumour Promoting Activities of Carbazole Alklaoids from Malayan Murayya koenigii (L.) Spreng.* American Journal of Plant Sciences. Scientific Research
- Marliana, S.D., Suryani, V. *Skrinning Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam dalam Ekstrak Etanol.* Biofarmasi. Vol 3(1).
- Nimgirawath, S., & Udomputtimekakul, P. 2009. *Total Syntheses of Telisatin A, Telisatin B and Lettowianthine.* Silpakorn University. Molecules ISSN 1420-3049
- Redaksi Agromedia. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat.* Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Saroinsong, M.S. Febby, E.F.K. Adelia, P. dan Marina, F.O.S. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Beberapa Jenis Porifera Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *staphylococcus aureus.* Jurnal

*Mipa Unsrat Online.* Vol. 3 No. 2.

- Suirta, I. W., Puspawati, N. M., & Gumiaty, N. K. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida dari Biji Mimba (Azadirachta indica A. Juss) terhadap Larva Nyamuk Demam Berdarah (Aedes aegypti).* Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. ISSN: 1907-9850.