

## Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Tumbuhan Iler (*Coleus scutellarioides*, Linn, Benth)

### Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound of Kloroform Leaves Extract of Plant Iler (*Coleus scutellarioides*, Linn, Benth)

<sup>1)</sup> A. Nurul Qalbi BM, <sup>2)</sup> Jasri Djangi, <sup>3)</sup> Muhaedah

<sup>1, 2, 3)</sup> Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg Tata Raya Makassar, Makassar 90224  
Email: nurulqalbi06@gmail.com

#### ABSTRAK

Penelitian ini adalah penelitian eksplorasi yang bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kloroform daun *Coleus scutellarioides*, Linn, Benth yang berasal dari wilayah Kecamatan Tallo, Jl. Andi Tonro, dan Minasa Upa, Kecamatan Tamalate Makassar, Sulawesi Selatan. Isolasi dilakukan dalam beberapa tahap yaitu maserasi, partisi dengan kloroform, fraksinasi, uji kemurnian dan identifikasi. Hasil penelitian diperoleh isolat murni berupa kristal jarum berwarna putih bening. Hasil uji dengan pereaksi Liebermann-Buchard membentuk cincin hijau menunjukkan positif steroid. Isolat diidentifikasi dengan menganalisis spektrum infra merah yang menunjukkan bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) yakni: 1056,99 (C-O); 1462,04 dan 1377,17 ( $\text{CH}_2$  dan  $\text{CH}_3$ ), 1645,28 (C=C); 2956,87 (C-H); 3441,01 (OH alkohol).

**Kata kunci:** Isolasi, *C. scutellarioides*, Linn, Benth., steroid

#### ABSTRACT

This study is exploratory research aim to isolate and the secondary metabolite compound contained in the kloroform extract of stem of *Coleus scutellarioides*, Linn, Benth from districts Tallo, Andi Tonro streets, and Minasa Upa, districts Tamalate Makassar, South Sulawesi. Isolation is done in several stages; maceration, partitioning with kloroform, fractionation, purity testing and identification. The result is obtained pure isolate white needle crystal. The test result with the Liebermann-Buchard reagent to form a green ring indicated a positive steroid. Isolate is identified by analyzing the infra red spectrum which showed the wave number ( $\text{cm}^{-1}$ ) are: 1056,99 (C-O); 1462,04 and 1377,17 ( $\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_3$ ), 1645,28 (C=C); 2956,87 (C-H); 3441,01 (OH alcohol).

**Keyword:** Isolation, *C. scutellarioides*, Linn, Benth., Steroid

## PENDAHULUAN

Alam memiliki banyak keanekaragaman hayati, khususnya pada dunia tumbuhan. Hampir semua spesies tumbuhan tersebar di seluruh kepulauan Nusantara mulai dari Sumatera, Kalimantan, Jawa, Sulawesi, dan Irian. Tumbuhan di Indonesia bukan hanya secara fungsional dimanfaatkan sebagai bahan pangan, tanaman hias, tetapi dapat juga digunakan sebagai tumbuhan obat yang banyak fungsinya. Senyawa kimia alami yang terkandung dalam tumbuhan berupa senyawa metabolit primer dan sekunder yang diperoleh melalui proses metabolisme. Senyawa metabolit sekunder terdiri dari alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid dan poliketida. Keberadaan senyawa metabolit sekunder sangat tergantung pada jenis tumbuhan. Hal inilah yang menyebabkan tumbuhan telah digunakan sebagai obat-obatan sejak ratusan bahkan ribuan tahun yang lalu.

Salah satu tanaman yang secara liar tumbuh diladang atau dikebun yang digunakan sebagai tanaman hias ini berasal dari famili Lamiaceae, yaitu tumbuhan iler (*Coleus antropurpureus*, Linn, Benth). Spesies tumbuhan ini tumbuh secara liar diladang atau dikebun-kebun dapat digunakan sebagai tanaman hias. Pada ketinggian 1300 m diatas permukaan laut, berbatang basah yang tingginya mencapai 1-1,5 m. Daunnya yang berwarna merah kehitaman Sebenarnya nama tumbuhan ini adalah “iler” atau biasa juga disebut daun batik atau daun iler (Dalimartha, 2003).

Lamiaceae, juga disebut Labiatae, keluarga mint dari tanaman berbunga, dengan 236 genus dan lebih dari 7.000 spesies. Digunakan oleh manusia sebagai tanaman herbal dan berguna untuk rasa, aroma, atau obat. Spesies dari Lamiaceae terutama merupakan herba atau semak-semak dalam berbagai ukuran, jarang berupa pohon. Siklus hidup dari anggota Lamiaceae mungkin tahunan atau abadi (Rissa. 2000).

Tumbuhan iler memiliki batang bersegi empat dengan alur yang agak dalam pada masing-masing sisinya, berambut, percabangan banyak, daun tunggal, helaian daun berbentuk bulat telur, ujung meruncing, tepi beringgit, tulang daun menyirip jelas (berupa alur), permukaan daun agak mengkilap, berambut halus, berwarna ungu kecoklatan sampai ungu kehitaman (Dian dan Rissa, 2000). Tumbuhan iler batangnya tegak atau berbaring pada pangkal dan ditempat itu berakar banyak, menahun, harum; tinggi 0,5 - 1,5 m. Batang berambut, tangkai daun 2 - 9 cm; helaian daun bulat telur, dengan pangkal yang membulat atau bentuk baji dan ujung yang menyempit, di atas pangkal yang bertepi rata beringgit kasar (Dalimartha, Setiawan, 2003). Tumbuhan iler memiliki aroma bau yang khas dan rasa yang agak pahit, sifatnya dingin. Jika seluruh bagian diremas akan mengeluarkan bau yang harum (Yuniarti, 2008).

Tumbuhan iler ini juga dikenal dengan nama Si gresing (Batak), Miana (Sumbar), Jawer kotok

(Sunda), Saru-saru dan Ati-ati (Bugis), Kentangan (Jawa), Majana (Madura), Adang-adang (Palembang), atau Iler (Jawa). Sebenarnya nama tumbuhan ini hanya “Iler” saja, namun karena yang paling sering digunakan adalah daunnya saja maka orang lebih biasa menyebutnya dengan Daun Iler (Dalimartha, 2008).

Studi pustaka terhadap kandungan kimia jenis-jenis tumbuhan dari keluarga Lamiaceae menunjukkan adanya flavonoid, steroid, dan Terpenoid. Ada beberapa macam flavonoid, yaitu antosianin dan tannin. Flavanoid adalah salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuh brotowali. Senyawa flavanoid terbukti mempunyai efek antioksidan dan anti bakteri. Khasiat akarnya dimanfaatkan untuk mengatasi perut mulas dan diare. Daun tumbuhan iler sering dimanfaatkan untuk wasir, radang paru, sebagai antitoksik, dan gangguan pencernaan. Seluruh bagian tanaman ini bisa digunakan untuk menyembuhkan hepatitis, menurunkan demam, batuk, influenza, dan radang telinga (Yuniarti, 2008).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji kandungan kimia tumbuhan iler. Penelitian sebelumnya dari ekstrak metanol. Pada penelitian ini kembali akan dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak kloroform daun tumbuhan iler (*C. scutellarioides*).

## METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan

Alat untuk tahap preparasi sampel yaitu blender dan baskom. Alat untuk proses ekstraksi dan identifikasi yaitu, 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, penangas air, oven, chamber, spektrofotometer FTIR.

Bahan kimia yang digunakan adalah metanol, n-heksan, etil-asetat, kloroform, aquadest, beberapa reagen seperti pereaksi Liebermann-Buchard,  $\text{FeCl}_3$ , Mayer, Wagner, silika gel G 60, pelat KLT aluminium berlapis silika gel 60 GF<sub>254</sub>, aluminium foil dan kertas saring.

### B. Prosedur Kerja

#### 1. Ekstraksi

Daun tumbuhan iler dibersihkan terlebih dahulu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender. Sebanyak 2,3 kilogram serbuk halus daun tumbuhan iler dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator sampai kira-kira tinggal seperempat dari volume awal (ekstrak kental). Selanjutnya dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak kental yang diperoleh dengan berbagai pereaksi diantaranya pereaksi Liebermann-Burchard (terpenoid dan steroid),  $\text{FeCl}_3$  (flavonoid), Mayer (alkaloid), dan Wagner (alkaloid).

## 2. Fraksinasi

Sebelum difraksinasi, ekstrak kental dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat, n-heksan : kloroform, dan etil asetat : kloroform pada berbagai perbandingan untuk mengetahui jenis pelarut dan perbandingan yang sesuai pada kromatografi kolom cair vakum. Ekstrak kental yang terdiri dari beberapa komponen tersebut difraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum menggunakan silika gel 60 H Merck dan silika gel G 60 (230 – 400 mesh) sebagai fasa diam, sedangkan eluennya menggunakan eluen dari hasil KLT. Hasil fraksinasi di KLT dengan eluen yang sama, kemudian yang sama nilai  $R_f$ nya digabungkan.

Selanjutnya fraksi gabungan difraksinasi dengan kromatografi kolom flash. Tujuan dari kromatografi kolom flash adalah untuk memisahkan senyawa yang diperoleh yang berasal dari fraksinasi kromatografi kolom cair vakum sehingga lebih murni. Fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis menggunakan KLT. Fraksi-fraksi yang mempunyai nilai  $R_f$  yang sama digabung kemudian diuapkan hingga diperoleh padatan.

## 3. Pemurnian

Komponen padatan yang diperoleh dikristalisasi atau direkristalisasi. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditentukan dengan melakukan KLT sistem tiga eluen dengan eluen etil asetat : n-heksan, n-heksan : kloroform, etil asetat : kloroform.

## 4. Identifikasi

Kristal diuji menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard,  $\text{FeCl}_3$ , Wagner dan Mayer untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dan identifikasi lebih lanjut dilakukan uji spektroskopi dengan menggunakan spektrofotometer inframerah untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa tersebut.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

#### 1. Preparasi sampel dan ekstraksi

Daun tumbuhan iler yang telah dibersihkan dikeringkan dalam suhu ruangan. Sampel kering digiling menggunakan blender hingga diperoleh serbuk halus sebanyak 2,3 kg.

Maserasi dilakukan selama 3x24 jam selanjutnya diuapkan menggunakan rotary evaporator menghasilkan ekstrak metanol kental sebanyak  $\pm 1,3$  L berwarna coklat pekat. Partisi dengan kloroform diperoleh ekstrak kloroform berwarna hijau pekat sebanyak  $\pm 3$  L. Ekstrak kloroform hasil partisi diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental kloroform berwarna hijau pekat dengan berat  $\pm 21,7923$  g.

#### 2. Uji golongan

Ekstrak kloroform yang diperoleh dilakukan uji warna dengan menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , Lieburmann-Buchard, Mayer dan Wagner.

**Tabel 1.** Hasil Uji Warna Ekstrak kloroform

| Pereaksi               | Perubahan warna yang terjadi | Ket           |
|------------------------|------------------------------|---------------|
| Wagner                 | Hijau Pekat → Merah          | (-) Alkaloid  |
| Meyer                  | Hijau Pekat → Kuning         | (-) Alkaloid  |
| FeCl <sub>3</sub> 1%   | Hijau Pekat → Hijau          | (+) Flavonoid |
| Lieberman<br>-Burchard | Hijau Pekat → Hijau          | (+) Steroid   |

### 3. Fraksinasi dan Pemurnian

Sebanyak 7,1 g ekstrak kloroform dilakukan identifikasi menggunakan KLT dengan beberapa uji eluen yang digunakan pada KLT yaitu kombinasi n-heksan etil asetat : n-heksana : kloroform dan kloroform : etil asetat dalam berbagai perbandingan. Dari hasil KLT diperoleh bahwa eluen kombinasi n-heksan etil asetat memberikan pola pemisahan yang lebih baik dan penampakan nodanya jelas.

Fraksinasi dilakukan dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KKCV) menggunakan silica gel G 60 sebagai fasa diam dan fase gerakanya dimulai dari pelarut non-polar n-heksana 100%, kemudian kepolaran ditingkatkan mulai dari kombinasi n-heksana:etil asetat dengan n-heksana:kloroform dalam berbagai perbandingan, hingga etil asetat 100%. Hasil KKCV diperoleh 98 fraksi.

Fraksi 1-98 yang diperoleh diidentifikasi melalui KLT dengan eluen kombinasi n-heksana:etil asetat

(9:1), (8:2), (7:3), dan (6:4). Fraksi-fraksi yang menunjukkan pola kromatogram yang sama digabung, sehingga diperoleh 24 fraksi gabungan. Fraksi gabungan E dengan berat 0,5321 gram yang dipilih terdapat isolat yang Fraksi E difraksinasi lebih lanjut kromatografi kolom flash (KKF) dengan menggunakan silica gel G 60 H Merck sebagai fasa diam, sedangkan fasa gerakanya menggunakan eluen n-heksana 100%, kombinasi n-heksana:etil asetat dengan berbagai perbandingan.

Eluen ditampung dalam botol vial diperoleh sebanyak 129 fraksi. Fraksi hasil KKF diidentifikasi dengan KLT untuk mengetahui komponen senyawa kimia yang terdapat pada fraksi. Fraksi yang memiliki pola kromatogram sama digabung sehingga diperoleh 17 fraksi gabungan. Fraksi-fraksi diuapkan pada suhu ruang. Fraksi yang memiliki isolat yang paling banyak adalah fraksi E<sub>7</sub> yang membentuk kristal jarum berwarna kuning kecoklatan.

## B. Pembahasan

### 1. Uji Kemurnian

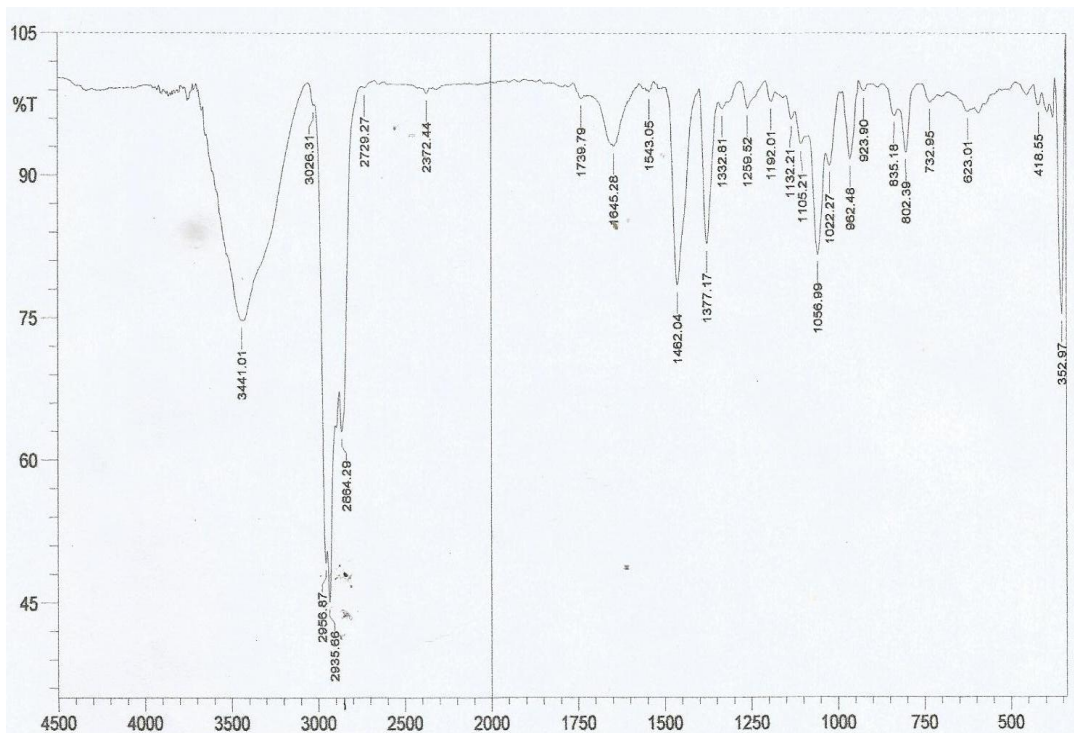
Kemurnian isolat diuji dengan KLT tiga macam eluen dengan pelarut dan perbandingan yang berbeda untuk memastikan kemurnian dari isolat dengan munculnya satu noda pada tiap KLT. Analisis KLT pada tiga macam eluen yaitu eluen kloroform:etil asetat (3:7), n-heksana: etil asetat (7,5:2,5) dan n-heksana:kloroform (5:5). Pada eluen kloroform:etil asetat (3:7) menunjukkan satu noda. Deteksi dengan lampu UV 254 dan UV 366 tidak menunjukkan adanya noda yang berpendar, ini menunjukkan bahwa struktur kimia isolat tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Noda hasil elusi yang tidak tampak di bawah lampu UV disemprot dengan reagen penampak noda  $\text{CeSO}_4$  2% dan dipanaskan di atas *hotplate* sehingga diperoleh noda yang berwarna biru dan dapat disimpulkan bahwa isolat fraksi E<sub>7</sub> relatif murni secara KLT.

### 2. Uji golongan

Identifikasi menggunakan pereaksi Liebermann-Buchard menunjukkan bahwa isolat E<sub>7</sub> positif steroid yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari bening menjadi hijau yang berasal dari reaksi antara sterol tidak jenuh dengan asam.

### 3. Uji Spektroskopi FTIR

Identifikasi isolat dilakukan dengan analisis spektroskopi infra merah (IR) Shimadzu Prestige-21 dengan pellet KBr. Analisis spektrum IR isolat E<sub>7</sub> memberikan serapan pada daerah bilangan gelombang ( $\nu$ ) 3441,01  $\text{cm}^{-1}$  yaitu pita yang agak lebar dengan intensitas sedang yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur O-H. Vibrasi ikatan ini diduga merupakan vibrasi dari gugus O-H sehingga terjadi ikatan hidrogen antarmolekul didukung dengan adanya serapan tajam dengan intensitas sedang pada daerah  $\nu$  1056,99  $\text{cm}^{-1}$  yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-O alkohol sekunder siklik. Senyawa hidroksilat memperlihatkan pita rentangan O-H pada 3650-3200  $\text{cm}^{-1}$  dan pita deformasi ke dalam bidang pada 1450-1250  $\text{cm}^{-1}$  serta keluar bidang pada 750-650  $\text{cm}^{-1}$  ditambah pita vibrasi rentangan C-O pada daerah 1210-1000  $\text{cm}^{-1}$ . Kedudukan O-H dalam molekul berada pada posisi 3 $\beta$  (ekuatorial) Tabel 2 dan Gambar 1 berikut.



**Gambar 1.** Spektrum Infra merah isolat E<sub>7</sub>

**Tabel 2.** Interpretasi Spektrum Infra Merah dari Isolat Fraksi G<sub>7</sub>

| Isolat  | Pita Serapan FTIR (cm <sup>-1</sup> ) |                             |                         | Gugus Fungsional            |
|---------|---------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|
|         | $\beta$ -sitosterol <sup>*)</sup>     | Clionasterol <sup>**)</sup> | Pustaka <sup>***)</sup> |                             |
| 3441,01 | 3440,62                               | 3417,36                     | 3450-3200               | O-H                         |
| 2935,66 | 2936,69                               | 2936,87                     | 2800-3000               | C-H alifatik                |
| 1645,28 | 1646,55                               | 1661,53                     | 1680-1620               | C=C                         |
| 1462,04 | 1463,42                               | 1464,54                     | 1475-1300               | C-H (pada CH <sub>2</sub> ) |
| 1377,17 | 1381,65                               | 1376,22                     | 1475-1300               | C-H (pada CH <sub>3</sub> ) |
| 1056,99 | 1053,89                               | 1051,74                     | 1050-1260               | C-O alkohol                 |
| 962,48  | 970,32                                | 956,64                      | 995-710                 | =CH (alkena)                |

Sumber : <sup>\*)</sup> Fitriani, 2013.

<sup>\*\*)</sup> Saleh, C., 2007.

<sup>\*\*\*)</sup> Creswell, *et al.*, 1982.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diisolasi dari daun *Coleus scutellarioides*, Linn, Benth dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kloroform daun tumbuhan iler (*Coleus scutellarioides*, Linn, Benth) merupakan senyawa golongan steroid berupa kristal putih berbentuk jarum yang menunjukkan hasil positif berupa warna hijau pada uji golongan dengan Liebermann-Burchard dan data dari spektroskopi FTIR.

### B. Saran

Adapun yang disarankan berkaitan dengan penyempurnaan penelitian ini adalah perlu melanjutkan identifikasi struktur senyawa menggunakan NMR untuk memastikan struktur senyawa yang sebenarnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Cresswel, C.J. & Runquist, O.A. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: Penerbit ITB
- Dalimartha, S. 2003. *Obat Tradisional. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*; Pusat Data Perhimpunan Rumah Sakit Seluruh Indonesia.
- Darwis, dkk. 2013. Ekstraksi dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin Dari Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L (Benth).) serta Aplikasi Pada Minuman. *Jurnal Kimia Unand* (ISSN No. 2303-3401), Volume 2 Nomor 2, Mei 2013 44. Laboratorium Kimia Bahan Alam. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Andalas.
- Fitriani. 2013. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa  $\beta$ -sitosterol dari Kulit Batang *Kleinhovia hospita* Linn. *Skripsi*. Makassar: Universitas Negeri Makassar
- Hanafi. 2002. *Dasar-Dasar Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar : Universitas Hasanuddin
- Saleh, C. 2007. Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Steroid dari Akar Tumbuhan Cendana (*Santalum album* Linn). *Disertasi*. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Zenta, F., & Kumanireng, H.A.S. 1999. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Makassar: Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin.