

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder ekstrak n-Heksan daun Tumbuhan Maja (*Aegle marmelos* Linn.)

Isolation and Identification of Secondary Metabolites Compound contained n-Hexane Extract Plant Leaves (*Aegle marmelos* Linn.)

Pince Salempa*

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Makassar. Jl. Dg. Tata Raya, Makassar

Received 3rd July 2014 / Accepted 13th August 2014

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak n-heksan daun tumbuhan maja (*A. marmelos* Linn) yang berasal dari Desa Balong, Kec. Ujung Loe, Kab. Bulukumba. Isolasi dilakukan melalui beberapa tahap yaitu maserasi, fraksinasi, uji kemurnian, dan identifikasi. Hasil penelitian diperoleh kristal murni berwarna putih bening berbentuk jarum dengan titik leleh 140-142°C. Hasil pengukuran spektrum IR menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang 3442 cm⁻¹, 2958 cm⁻¹, 2935 cm⁻¹, 1641 cm⁻¹, 1462 cm⁻¹, 1377 cm⁻¹ dan 1058 cm⁻¹ yang cenderung memiliki kesamaan spektrum dari senyawa steroid yang telah berhasil diidentifikasi. Berdasarkan titik leleh dan data spektrum IR, kristal yang diperoleh diduga golongan senyawa steroid.

Kata kunci: *Aegle marmelos* Linn, Steroid, Maja

ABSTRACT

This study aims to isolate the secondary metabolites compound contained in the n-hexane extract of the leaves of plants maja (*A. Marmelos* Linn) is from Balong village, subdistrict Ujung Loe, Bulukumba Regency. The Isolate secondary metabolites contained in the n-hexane extract of the leaves of plants maja (*A. Marmelos* Linn) was done by maseration, fractionation, purity test, and identification. Result showed that by crystal-shaped transparent pure white needles has melting point of 140°C-142°C. The IR measurement absorption bands at wave numbers of 3442 cm⁻¹, 2958 cm⁻¹, 2935 cm⁻¹, 1641 cm⁻¹, 1462 cm⁻¹, 1377 cm⁻¹, and 1058 cm⁻¹ which are similar spectrum to the steroid compounds that have been identified. Based on the melting point and IR spectrum data, obtained crystals alleged steroid compound group.

Key words : *Aegle marmelos* Linn , Steroid, Maja

*Korespondensi:

email: pince_salempa@yahoo.com

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara yang kaya keanekaragaman hayati, berbagai tanaman dapat tumbuh dengan subur ini dikarenakan keadaan geografis Indonesia yang beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi sepanjang tahun. Keanekaragaman hayati tersebut banyak digunakan sebagai sumber untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder. Senyawa yang dimaksud adalah senyawa metabolit sekunder yang meliputi golongan alkaloid, flavanoid, steroid dan terpenoid, yang tersebar pada jaringan tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan mampu merekayasa beraneka ragam senyawa kimia yang mempunyai berbagai bioaktivitas yang menarik, dan kemampuan ini pula diartikan sebagai mekanisme pertahanan diri terhadap ancaman lingkungan. Dalam hubungan ini tumbuh-tumbuhan dapat menghasilkan senyawa –senyawa kimia yang bersifat pestisida, insektisida, antifungal, atau sitotoksik (Ahmad, 2001).

Tumbuhan maja dikenal dengan berbagai sebutan seperti, maja, bila gedang, bila-bila, bilak dan bila peak. Tumbuhan maja tersebar luas di Indonesia karena tumbuh baik di iklim seluruh wilayah Indonesia. Maja yang dalam bahasa latinnya *Aegle marmelos* Linn adalah tumbuhan tingkat tinggi yang tahan di musim kemarau tetapi mudah gugur daunnya dan berasal dari daerah Asia tropika dan subtropika, yang merupakan suku jeruk-jerukan atau Rutaceae. Tumbuhan *A. marmelos* Linn merupakan salah satu jenis tumbuhan obat yang terdapat di hutan tropis Indonesia (Sastroamidjojo, 1997).

Widyaningrum (2011) mengungkapkan bahwa, secara tradisional maja dijadikan obat untuk mengobati luka, gatal, demam, diare, dan hipokondria. Maja telah lama digunakan oleh masyarakat pedesaan sebagai obat tradisional seperti merebus daunnya dan meminum air hasil rebusannya dan dipercaya dapat menurunkan tekanan darah tinggi atau hipertensi.

Buah dari tanaman ini mengandung minyak atsiri, vitamin C, gula, pati, pectin, dan tannin sedangkan daunnya mengandung rutosin, aegelin, minyak atsiri dan alkaloid (Hasrah, 1994).

Selain itu daun tumbuhan *A. marmelos* menghasilkan essensial oil yang mempunyai aktivitas antifungal. Ekstrak methanol dari daun *A. marmelos* menunjukkan aktivitas antiviral dengan mortalitas 75% pada dosis 150 mg/kg BB, menunjukkan aktivitas toksik, menunjukkan aktivitas analgesik (Shankarananth, dkk dalam Saleh, 2008).

Mafezoli, *et al*, (2000) mempelajari aktivitas antibakteri berbagai ekstrak cruzi dari speies tumbuhan family Rutaceae dan melaporkan bahwa ekstrak heksan daun dan kulit batang *Almeida coerulea* dan ekstrak diklorometan batang *Conchocarpus inopinatus* aktif menghambat bakteri *Trypanasoma cruzi*.

Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kulit batang *A. marmelos* Linn mengandung senyawa golongan steroid. Beberapa senyawa steroid mempunyai aktivitas seperti anti inflamasi atau anti peradangan. Kulit tumbuhan *A. marmelos* Linn mengandung turunan kumarin dan berdasarkan data difraksi sinar-X senyawa tersebut adalah R-(+)- marmelin [32] (Gupta, dkk., 2006).

Riyanto (2008) telah mengekstrak daun maja dengan menggunakan petroleum eter dan kloroform dan diperoleh senyawa Aegelin, (*N*-2-hidroksi-2(4-metoksifenil)-etilsinnamamida) yang merupakan alkaloid turunan asam sinamat. Pada biji *Aegle marmelos* Correa telah diisolasi senyawa Anthraquinone (1-methyl-2-(3'-methyl-but-2'-enyloxy)-anthraquinone yang memiliki aktifitas sebagai anti jamur terhadap *Aspergillus fumigatus* dan *Candida albicans* (Bhuwan, *et al*, 2010). Hasil isolasi dari *A.marmelos* Correa senyawa marmarin 7-(6'-7' dihidroxygeranial-oxy) Coumarin aktif menghambat fertilitas dan sel kanker leukemia (Nugroho *et,al* 2011)

Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dalam kulit batang *A. marmelos* Linn mengandung senyawa golongan steroid, selain itu telah diidentifikasi kandungan kimia ekstrak daun tumbuhan *A. marmelos* Linn seperti tannin, skimmianin, minyak atsiri caryophyllena, cineole, citral, citronellal, D-limonena, dan eugenol, stigmasterol dan triterpenoid termasuk lupeol, β - sitosterol dan γ -sitosterol, α - dan β -amirin, flavonoid (Karawya dalam Saleh, 2008). Adapun tujuan penelitian ini adalah mengisolasi kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak n-Heksan pada daun tumbuhan *A. marmelos* Linn.

METODE

Isolasi dan Identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak n-heksan daun tumbuhan Maja (*A. marmelos* Linn) yang meliputi preparasi sampel, ekstraksi, fraksinasi, pemurnian dan identifikasi.

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu blender, neraca analitik, evaporator, corong pisah, corong Buchner, gelas kimia, gelas ukur, tabung reaksi, pipa kapiler, pipet tetes, plat tetes, mikropipet, batang pengaduk, chamber KLT, labu erlenmeyer, pompa vakum serta alat-alat gelas lain yang digunakan dalam laboratorium organik, kolom kromatografi cair vakum (KKV), penentuan titik leleh dengan menggunakan alat ukur titik leleh Fisher Johns dan spektrofotometer FT-IR Shimadzu Prestige-21.

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah daun Maja *Aegle marmelos* Linn, diperoleh dari Kabupaten Bulukumba Sulawesi Selatan. Untuk ekstraksi dan pelarut digunakan pelarut organik teknis yang telah didestilasi ulang yaitu: n-heksan, etil asetat, aseton dan methanol serta kloroform p.a. Larutan serum sulfat (CeSO_4) 2 % dalam asam sulfat 2 N sebagai larutan penyemprot plat KLT untuk penampak noda, Liebermann-Buchard, Dragendorff, Wagner, Besi (III) klorida, kertas saring Whatman, kertas saring biasa, aluminium foil, Kromatografi kolom vakum (KKV) dilakukan dengan menggunakan silika gel 60 GF 254, Merck dan silika gel G 60 (230 – 400 mesh) dan pelat KLT aluminium berlapis silika gel 60 G F₂₅₄.

B. Prosedur Kerja

a. Preparasi dan Ekstraksi. Sebanyak 1,4 kg berat kering daun Maja (*A. marmelos*) yang telah dihaluskan lalu dimaserasi dengan metanol selama 3 x 24 jam. Maserat yang diperoleh berwarna hijau pekat, yang disaring terlebih dahulu menggunakan corong Buchner dan selanjutnya dievaporasi

hingga diperoleh ekstrak metanol dengan berat 40,20 gram. Selanjutnya difraksinasi dengan ekstraksi cair-cair dengan n-heksan diperoleh ekstrak kental n-heksan kemudian dievaporasi sampai kering diperoleh ekstrak n-heksan 9,30 gram dan berikutnya dilakukan fraksinasi dengan kolom kromatografi cair vakum (KKV) dan diidentifikasi dengan uji golongan.

- b. Fraksinasi:** Sebanyak 9,3 gram ekstrak n-heksan difraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KKV) dan dimonitor dengan meningkatkan kepolaran eluen. Hasil fraksinasi di KLT dengan eluen yang sesuai, kemudian yang sama nilai Rfnya digabungkan kemudian dievaporasi sampai kering lalu ditentukan beratnya.
- c. Pemurnian:** Isolat yang diperoleh dari kromatografi kolom vakum kemudian dimurnikan dengan cara kristalisasi/rekristalisasi sampai diperoleh noda tunggal direkris dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditentukan dengan melakukan KLT sistem tiga eluen, kemudian uji titik leleh. Jika titik leleh senyawa menunjukkan trayek titik leleh yang tajam, maka senyawa tersebut telah murni.
- d. Identifikasi:** Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi. Pereaksi yang digunakan adalah pereaksi Liebermann-Burchard, $FeCl_3$, Wagner dan Dragendorff untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh.

Uji golongan terpenoid dan steroid dengan cara, lima tetes larutan ekstrak ditempatkan pada plat tetes dan dibiarkan

hingga pelarutnya menguap. Ekstrak ditambahkan dengan anhidrida asam asetat sampai ekstrak terendam semuanya, dibiarkan hingga kering dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Perubahan warna yang terjadi diamati, adanya terpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah sampai ungu sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau sampai biru, pereaksi yang digunakan disebut Liebermann-Burchard.

Uji golongan alkaloid dengan cara, lima tetes larutan ekstrak ditempatkan pada plat tetes dan masing-masing ditambahkan dengan pereaksi Dragendorff dan Wagner. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung alkaloid, dimana Dragendorff memberikan endapan merah jingga dan pereaksi Wanger memberikan endapan coklat. Uji golongan flavonoid dengan cara, lima tetes larutan ekstrak ditempatkan pada plat tetes kemudian ditambahkan dua tetes larutan $FeCl_3$ 5%. Terjadi perubahan warna menjadi kehijauan atau hitam biru menunjukkan adanya flavonoid. Identifikasi lebih lanjut dilakukan metode spektroskopi dengan menggunakan spektrometer infra merah (IR) untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Maserat metanol yang diperoleh berwarna hijau pekat disaring menggunakan corong Buchner dan selanjutnya dievaporasi dan diperoleh ekstrak metanol sebanyak 40,20 gram. Ekstrak kental metanol dipartisi dengan n-heksana, diperoleh ekstrak kental n-heksana

9,30 gram, selanjutnya dilakukan uji golongan yang menunjukkan adanya perubahan warna setelah reaksi pada Tabel 1.

Sebanyak 9,3 gram ekstrak n-heksan difraksinasi dengan kolom kromatografi (KKV) dan dimonitor dengan meningkatkan kepolaran eluen dan setelah di KLT menghasilkan 31 fraksi kemudian dilakukan penggabungan fraksi yang

sama menjadi 11 fraksi utama. Isolat diperoleh dari fraksi 7, yang selanjutnya dilakukan proses rekristalisasi dengan menggunakan pelarut n-heksan- kloroform, diperoleh kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 149 -142°C dan uji kemurnian dengan KLT sistem tiga eluen yang berbeda, hal ini menunjukkan bahwa isolat (senyawa) sudah murni.

Tabel 1. Hasil Uji Steroid, alkaloid dan flavonoid

Pereaksi	Warna sesudah bereaksi	Keterangan
Lieberman-Burchard	Hijau Kebiruan	Positif Steroid
Dragendorff	Orange	Negatif Alkaloid
FeCl ₃	Kuning kehijauan	Negatif Flavanoid
Wagner	Hijau bening	Negatif Alkaloid

Spektrum IR (KBr): senyawa hasil isolasi memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang 3442 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya serapan gugus O-H bebas dan didukung dengan adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1058 cm⁻¹ yang menunjukkan tekukan gugus OH. Adanya pita tajam dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang 2935 cm⁻¹ dan 2893 cm⁻¹ merupakan ulur C-H yang diperkuat dengan adanya serapan bilangan gelombang 1462 cm⁻¹ dan 1377 cm⁻¹ yang menunjukkan tekukan C-H serta pita serapan pada daerah bilangan gelombang 1641 cm⁻¹ ditimbulkan dari gugus C=C. Beberapa studi literatur menunjukkan bahwa spektrum-spektrum seperti uraian diatas merupakan senyawa golongan steroid. Senyawa steroid tersebut yaitu β-sitosterol yang berhasil diidentifikasi dalam kulit batang tumbuhan

Cryptocarya fusco-pilosa Techner (Muharram, 1993), kayu akar tumbuhan *Pterospermum subpeltatum* C.B.Rob (Pince, 2010) dan tumbuhan *K.hospita* Linn (Dini, 2006). Berdasarkan data-data di atas juga dibandingkan dengan beberapa literatur spectrum β-sitosterol dapat disimpulkan bahwa senyawa yang diperoleh merupakan golongan senyawa steroid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada fraksi heksana daun tumbuhan maja (*A. marmelos* Linn) diperoleh golongan senyawa steroid.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad SA, Hakim EH, Erwin, Syah MY, Nario A, Mariko K, Lukman M, Didin M,

- Hiromitsu T. 2001. *Artoindonesianin B suatu senyawa yang bersifat Toksik Terhadap Sel Tumor P-388 dari Tumbuhan Artocarpus altilis*. Buletin The Indonesian Society of Natural Product Chemistry. 1: 20-27.
- Bhuwan BM, Kishore N, Vinod K, Tiwari DS, Tripathi V. 2010. *A novel anti fungal anthraquinone from seeds of Aegle marmelos correa (Family Rutaceae)*. Fitoterapia. 81: 104-107.
- Dini I. 2006. *Bioaktivitas ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Paliasa (Kleinhovia hospital Linn.) terhadap Artemia salina Leach*. Jurnal Chemica Edisi Khusus seminar Nasional Jurusan Kimia FMIPA UNM tahun 2006. Makassar.
- Gupta VK. 2006. *Crystal Struktur of R-(+), X-ray Structure Analysis Online*, 22, X11-X12.
- Harsah. 1994. *Pengaruh Infus Daun Maja Terhadap Fertilitas Mencit Betina*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Mafezoli J, Paulo CV, Joao BF, Maria FGF, Sergio A. 2000. *In vitro activity of Rutaceae spesies against the Trypomastigote form Trypanosoma cruzi*. Journal of Ethnopharmacologi. 73: 335-340.
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Muharram. 1993. *Beberapa Metabolit Sekunder dari Cryptocarya Fusco-Pilosa Techner dan Cryptocarya Ferrea BL. (Lauraceae)*. Bandung: ITB.
- Musahilah T. 2010. *Efek Pemberian Ekstrak Daun Maja Aegle marmelos (L.) Correa Terhadap Fertilitas Tikus Betina*. Bogor: IPB.
- Nugroho. 2011. *Anti-allergic effects of Marmin, a coumarine isolated from Aegle marmelos Correa: In vitro study*. International Journal of Phytomedicine. 3: 84-97.
- Pince S. 2010. *Bioaktivitas Antibakteri dan Metabolit Sekunder Prospektif dalam Kayu Akar Pterospermum subpeltatum C.B.Rob.* [Disertasi]. Makassar: Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
- Riyanto S. 2001. *Alkaloids From Aegle marmelos (Rutaceae)*. Malaysian Journal of Analytical Sciences. 7(2): 463-465.
- Riyanto S. 2008. *Analisis Spektro Aegelin yang Diisolasi dari Daun Maja (Aegle marmelos Corr.)*. Yogyakarta: Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Salah C. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid dari Kulit Batang Tumbuhan Aegle marmelos (L.) Correa*. Samarinda: Jurusan kimia FMIPA Universitas Mulawarman.
- Sastrohamidjojo H. 1997. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Widyaningrum, Herlina. 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Yogyakarta: Media Pressindo.