

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER PADA FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MINDI

(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLIT COMPOUNDS IN ETILASETIC FRACTIONS ON MINDI LEAF)

Nurul Lutfia dan Sri Atun*

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta
Jl. Colombo No. 1 Yogyakarta 55281

*email: sriatun@uny.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun benalu (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh yang menempel pada batang tumbuhan Mindi (*Melia azedarach*). Subjek dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan benalu pada tanaman mindi. Sedangkan objek dalam penelitian ini adalah senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat daun tumbuhan benalu yang menempel pada tanaman mindi. Metode penelitian dilakukan dengan ekstraksi maserasi daun *D. falcata* dengan pelarut etanol. Ekstrak etanol yang diperoleh dipartisi menggunakan *n*-heksana, kloroform, dan etil asetat. Fraksi etil asetat dipisahkan secara kromatografi kolom gravitasi (KKG). Fraksi relatif non polar yang sudah menunjukkan noda tunggal diuji kemurniannya menggunakan 3 jenis pelarut yang berbeda dan diidentifikasi menggunakan UV-Vis, IR, dan GC-MS. Hasil penelitian menunjukkan senyawa yang dapat diisolasi dan diidentifikasi dari fraksi etil asetat relatif nonpolar daun *D. falcata* adalah stigmast-5-en-3 -ol dengan kelimpahan 6,49 %, memiliki berat molekul m/z 414 dengan base peak 55. Senyawa sterol merupakan senyawa yang lazim ditemukan dalam tumbuhan benalu..

Kata kunci: *Dendrophthoe falcata* (Lf) Ettingsh, isolasi, benalu, metabolit sekunder

Abstract

This study was aimed at isolating and identifying secondary metabolites contained in the ethyl acetate fraction of parasitic leaves (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh which attaches to the stem of Mindi plants (*Melia azedarach*). The subjects in this study were leaves of parasitic plants on Mindi plants. While the objects in this study were secondary metabolites from the ethyl acetate fraction of the leaves of parasite plants attached to the mindi plant. The research method was carried out by extracting macerated leaves of *D. falcata* with ethanol solvents. The ethanol extract obtained was partitioned using *n*-hexane, chloroform, and ethyl acetate. Ethyl acetate fraction was separated by gravity column chromatography (CCG). The relatively non-polar fraction that has shown a single stain is tested for purity using 3 different types of solvents and identified using UV-Vis, IR, and GC-MS. The results showed that the compounds that could be isolated and identified from the relatively non-polar ethyl acetate fraction of *D. falcata* leaves were stigmast-5-en-3 -ol with an abundance of 6.49%, having a molecular weight of m / z 414 with base peak 55. Compounds sterols are compounds commonly found in parasitic plants.

Keywords: *Dendrophthoe falcata* (Lf) Ettingsh, isolation, parasites, secondary metabolites

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki kekayaan hayati yang beraneka ragam. Salah satu keanekaragaman yang ada di Indonesia adalah banyaknya jenis tanaman yang memiliki manfaat sebagai obat. Ada sebanyak 1.889 spesies yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat (Aditama, 2015). Penggunaan tanaman sebagai obat sangat dipengaruhi oleh zat aktif yang dihasilkan tumbuhan dari proses metabolisme yang dikenal sebagai senyawa metabolit. Berbagai senyawa metabolit sekunder menunjukkan aktivitas yang berguna, antara lain antioksidan, antikanker, antiinflamasi, maupun antibakteri (Grabley, 1999).

Benalu merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat, dikenal sebagai tanaman parasit, yang biasa menempel pada beberapa tumbuhan, seperti pohon manga, rambutan, maupun tumbuhan mindi (*Melia azedarach*). Salah satu benalu yang banyak ditemukan menempel pada pohon mindi adalah *Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan *D. falcata* memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba (Pattanayak & Sunita, 2008). Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol : air menunjukkan bahwa *D. falcata* mengandung steroid, terpen, glikosida, tanin, flavonoid (Pattanayak, Mazumber, & Sunita, 2011). Skrining fitokimia ekstrak

etil asetat daun *D. falcata* mengandung senyawa metabolit sekunder fitosterol, flavonoid, tanin, alkaloid, dan fenolik (Channabasava, Govindappa, & Sadananda, 2013). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun *Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh yang menempel pada batang tumbuhan mindi (*Melia azedarach*).

METODE PENELITIAN

Subjek dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan benalu (*Dendrophthoe falcata*. (L.f.) Ettingsh) pada tanaman mindi (*Melia azedarach*.). Objek dalam penelitian ini adalah senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat daun tumbuhan *Dendrophthoe falcata*. (L.f.) Ettingsh yang menempel pada tanaman mindi (*Melia azedarach*).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrometer UV-Vis Shimadzu 2450, spektrometer FTIR Thermo Nicolet Avatar 360, *Gas Chromatography – Massa Spectroscopy* (GC-MS) QP 2010, seperangkat alat evaporator Buchi R-215, satu set alat kromatografi kolom gravitasi, lampu UV, neraca analitik, *chamber* kromatografi, corong pisah, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, pipet ukur, corong, tabung reaksi, flakon, cawan petri, pipet tetes, spatula, pipa kapiler, aluminium foil, dan kertas saring.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel daun *Dendrophthoe falcata* (L.f.) Ettingsh) yang menempel pada tanaman mindi (*Melia azedarach*), kloroform p.a (Merck), etanol 96%, *n*-heksana teknis, etil asetat teknis, aseton teknis, metanol teknis, serbuk silika gel Merck 60 (200-400 mesh), serbuk silika gel Merck 60 (30-70 mesh), plat KLT, akuades, kapas.

Proses pembuatan Ekstrak etanol daun tumbuhan benalu dilakukan sebagai berikut. Sebanyak 2,5 kg serbuk daun *D. falcata* diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol hingga seluruh sampel terendam. Perendaman dilakukan selama 1x24 jam dalam sebuah jerigen tertutup dan dilakukan pengulangan (remaserasi) sebanyak dua kali sehingga diperoleh fraksi etanol daun benalu. Fraksi etanol dipartisi berturut-turut dengan pelarut *n*-heksana, kloroform, dan etil asetat. Hasil fraksinasi kemudian dipisahkan dan dipisahkan, sehingga diperoleh fraksi kental *n*-heksan, kloroform, dan etil asetat.

Fraksi etil asetat yang diperoleh diimpregnasi dengan aseton dalam silika gel 60 (30-70 mesh). Penentuan pelarut untuk kromatografi kolom ditentukan dengan menggunakan metode KLT dan pelarut yang digunakan adalah dua atau lebih campuran pelarut satu fasa, yaitu *n*-heksana : etil asetat dengan perbandingan 8:2. Pemisahan yang baik ditandai dengan nilai R_f 0,2-0,8 dan jarak antar noda tidak terlalu dekat. Noda

yang dihasilkan diamati di bawah lampu UV 254 nm. Serbuk silika gel Merck 60 (200-400) ditambahkan pelarut yang sesuai dengan hasil KLT. Kemudian sampel yang sudah diimpregnasi dimasukkan ke dalam kolom. Pelarut yang ditambahkan ke dalam kolom dinaikkan sesuai tingkat kepolaran. Pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana 100%, *n*-heksana : etil asetat (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; dan 5:5), etil asetat 100%, aseton. Eluat yang keluar dikelompokkan dan ditampung dalam botol kecil dan diberi nomor. Masing-masing fraksi di botol diidentifikasi dengan KLT dan dikelompokkan berdasarkan nilai R_f nya. Senyawa yang mempunyai noda tunggal diuji kemurniannya. Uji kemurnian ini dilakukan dengan proses kromatografi lapis tipis dengan berbagai macam perbandingan pelarut lain sebanyak 3 macam campuran pelarut. Beberapa contoh pelarut dalam KLT yang digunakan adalah antara lain *n*-heksana : kloroform 8:2; *n*-heksana : kloroform 1:1; dan *n*-heksana : kloroform 9,5:0,5. Senyawa murni yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan spektroskopi UV-Vis, IR, dan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

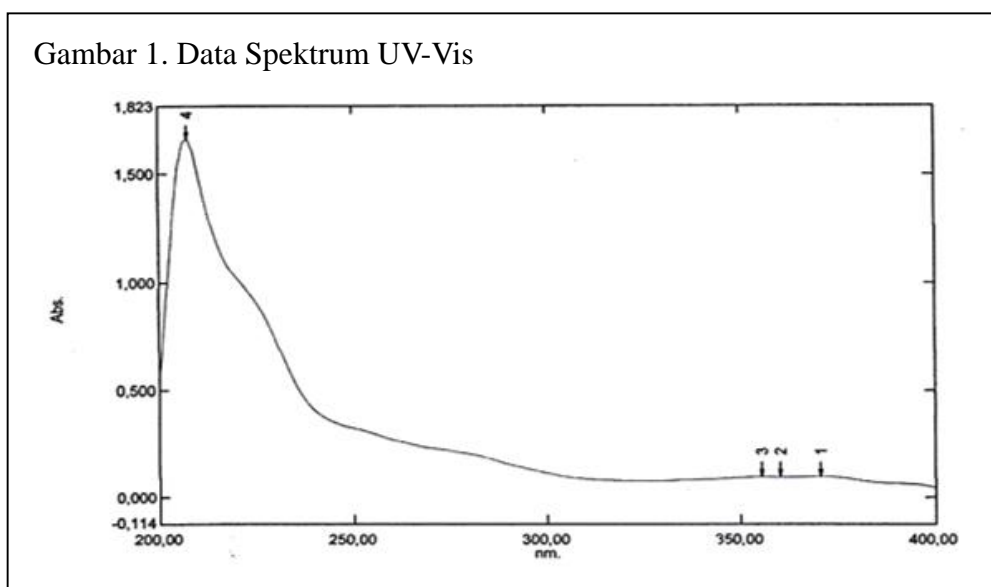
Ekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 2,5 kg serbuk kering daun *D. falcata* diperoleh fraksi etil asetat sebanyak 65,17 gram. Fraksi etil asetat sebanyak 60 g selanjutnya dipisahkan secara kromatografi

kolom gravitasi (KKG) menggunakan silika gel GF 60 Merck (200-400 mesh), (ϕ : 1,5 cm, t = 10 cm) dan dielusi menggunakan eluen dengan penambahan kepolaran yang terdiri dari *n*-heksana 100%, perbandingan *n*-heksana : etil asetat (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5), etil asetat 100%, aseton kemudian metanol. Pemisahan secara KKG, diperoleh sejumlah 17 fraksi. Fraksi relatif kurang polar yang terdapat pada botol nomor 2 dan 3 menunjukkan noda tunggal berwarna biru. Hasil uji kemurnian menggunakan 3 jenis perbandingan pelarut *n*-heksana : kloroform 1:1; 8:2; 9,5:0,5 memberikan Rf sebesar 0,75; 0,875; dan 0,2.

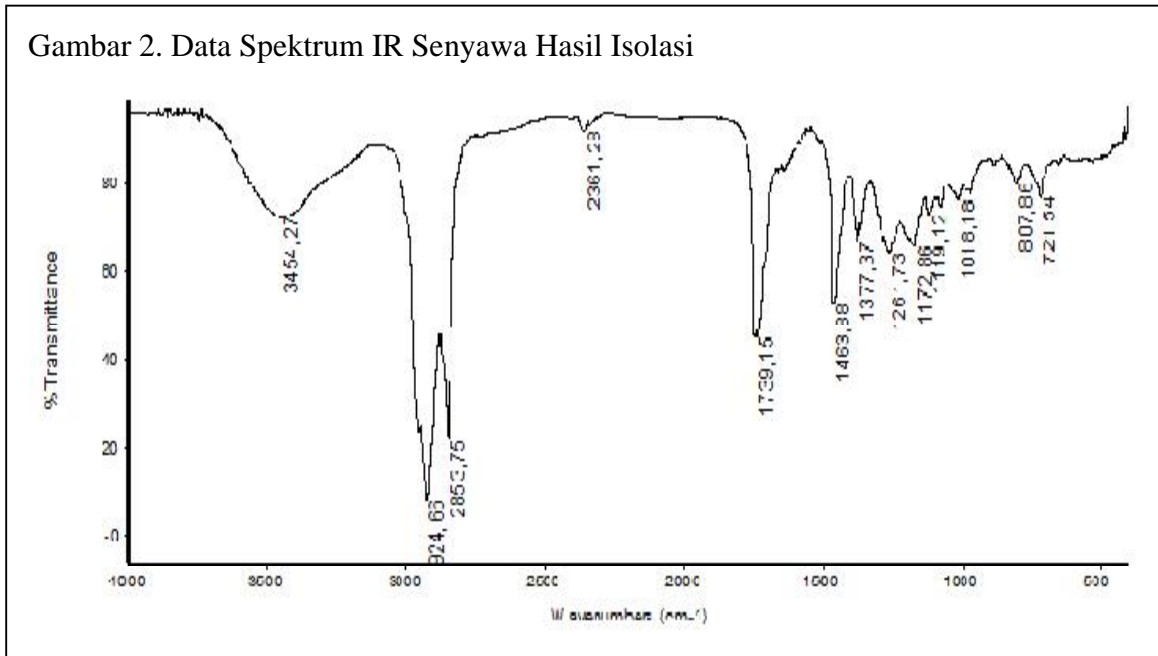
Analisis secara spektroskopi UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimal (λ_{maks}) 207,40 nm, dimana terjadi transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya ikatan C=C tidak terkonjugasi. Berikut data spektrum UV-Vis terdapat pada Gambar 1.

Hasil spektra IR senyawa hasil isolasi (Gambar 2) menunjukkan bahwa terdapat beberapa gugus fungsi yang ditunjukkan dengan munculnya puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang $3454,27\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi ikatan OH, puncak serapan pada daerah $2924,66\text{ cm}^{-1}$ dan $2853,75\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatik, daerah serapan $1739,15$ menunjukkan C=O, puncak serapan pada daerah $1463,88\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi C=C alkena. Spektru IR senyawa hasil isolasi tersebut memiliki pola spektrum IR yang mirip dengan stigmas-5-en-3-ol yang terdapat pada *spectra data base system (sdfs)* (<https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs>) yang disajikan pada Gambar 3. Analisis dengan menggunakan GC-MS diperoleh hasil kromatogram yang disajikan pada Gambar 4.

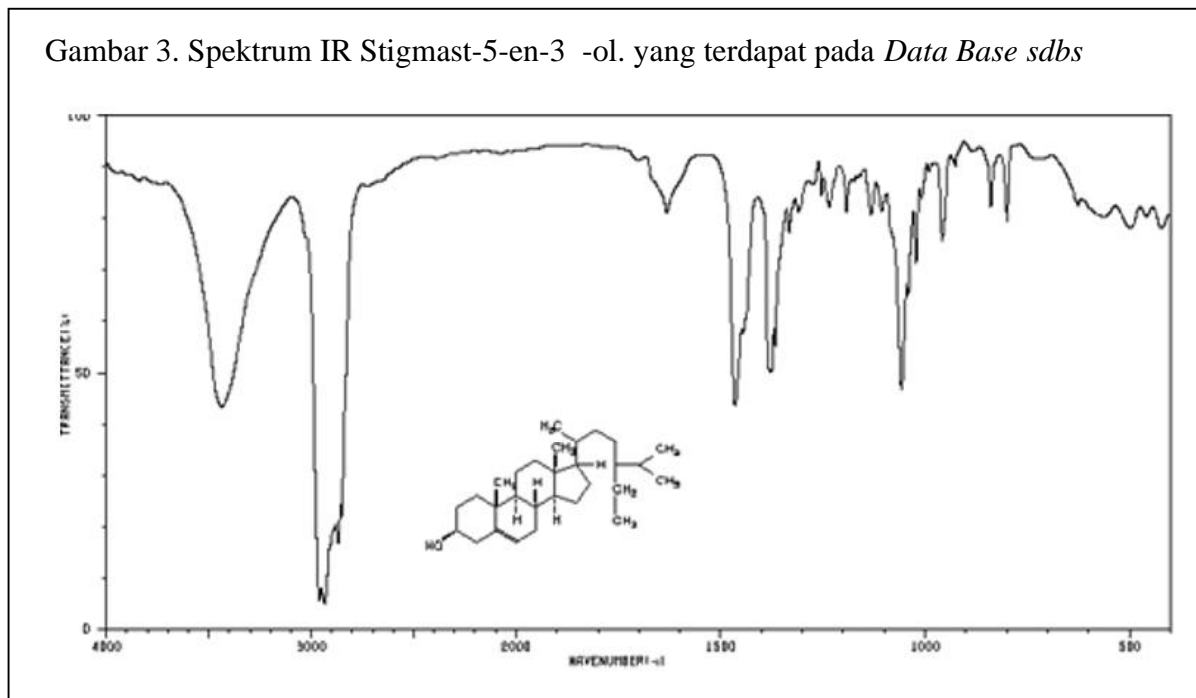
Kromatogram GC-MS diperoleh 16 puncak. Puncak yang memiliki kelimpahan



Gambar 2. Data Spektrum IR Senyawa Hasil Isolasi



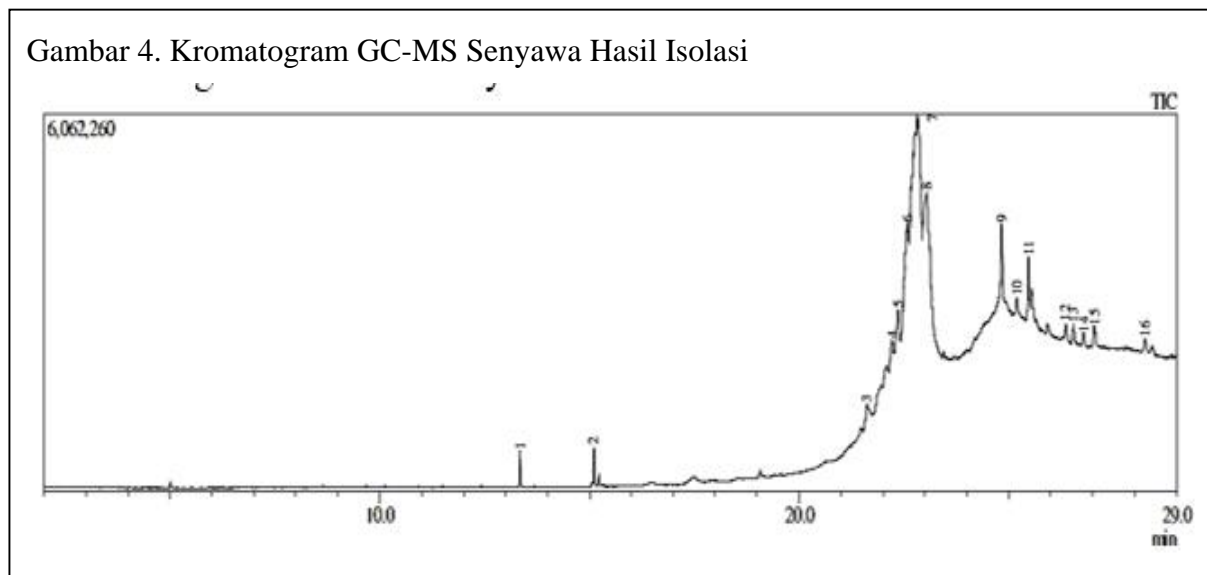
Gambar 3. Spektrum IR Stigmast-5-en-3 -ol. yang terdapat pada *Data Base sdbs*



tinggi antara lain puncak 5 sampai dengan puncak 9. Puncak tertinggi adalah puncak 7 dengan kelimpahan 30,34%. Namun, berdasarkan *data base* yang ada dalam *Library GC-MS*, puncak tersebut belum

dapat teridentifikasi karena memiliki SI < 90. Puncak yang dapat diidentifikasi adalah puncak ke-9 dengan kelimpahan 6,49%; memiliki SI (*Similarity Index*) 95; dan diduga sebagai senyawa stigmast-5-en-3 -ol. Pola

Gambar 4. Kromatogram GC-MS Senyawa Hasil Isolasi

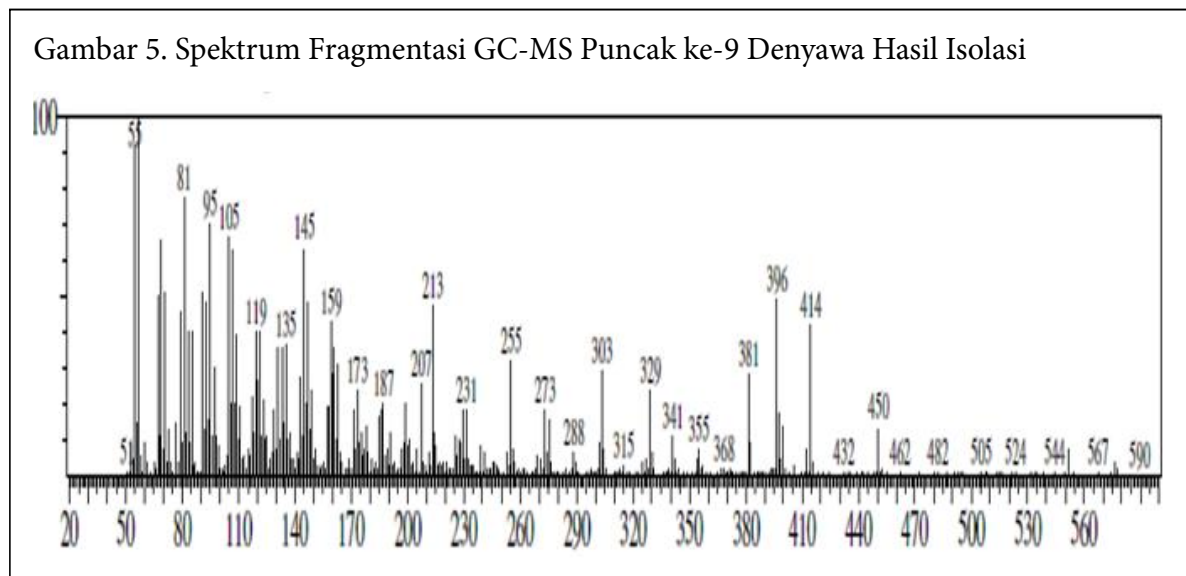


spektrum fragmentasi GC-MS senyawa hasil isolasi (Gambar 5) tersebut juga memiliki kemiripan dengan pola spektrum MS stigmast-5-en-3 -ol yang terdapat pada data base sdb (Gambar 6).

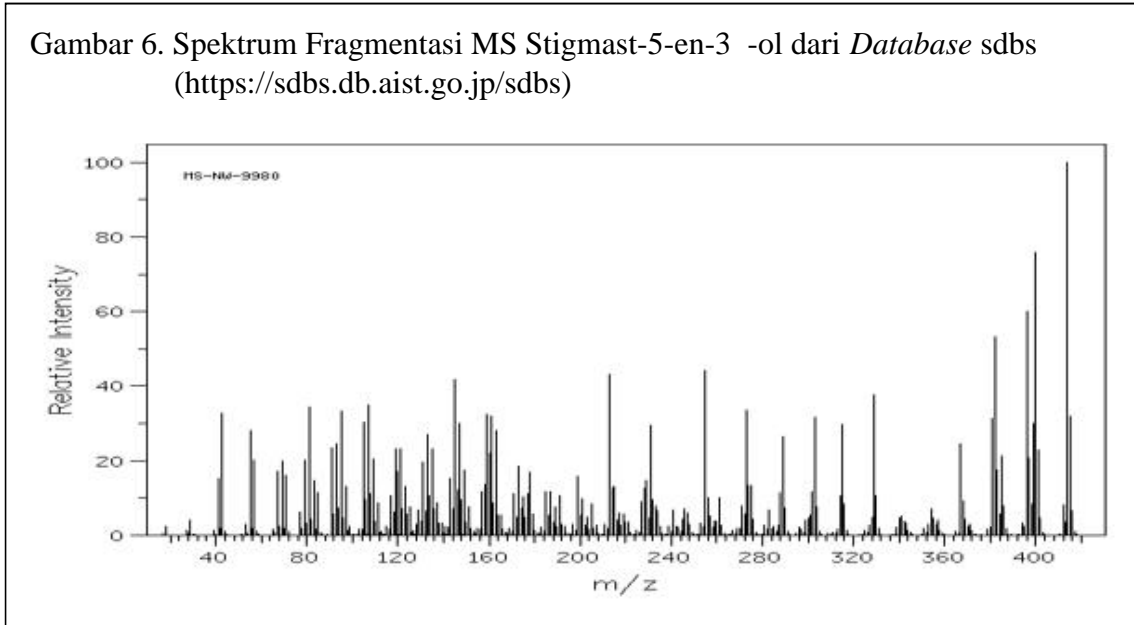
Fragmentasi senyawa hasil isolasi yang diperoleh adalah m/z 414, 396, 381, 329, 315, 303, 273, 255, 213, 173, 159, 145, 135,

105, 95, 81, 55 (*base peak*). Fragmentasi yang paling sesuai dengan pola fragmentasi tersebut adalah fragmentasi senyawa stigmast-5-en-3 -ol atau sering disebut dengan -sitosterol dengan rumus molekul $C_{29}H_{50}O$ dengan SI 95. Senyawa puncak 9 dari hasil isolasi diduga sebagai senyawa stigmast-5-en-3 -ol yang memiliki berat molekul m/z

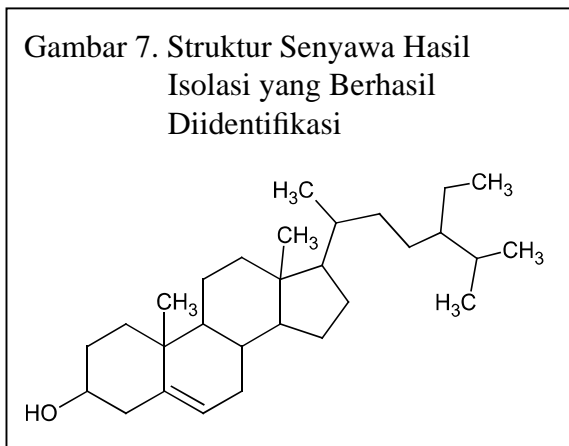
Gambar 5. Spektrum Fragmentasi GC-MS Puncak ke-9 Denyawa Hasil Isolasi



Gambar 6. Spektrum Fragmentasi MS Stigmast-5-en-3-ol dari Database sdb (https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb)



Gambar 7. Struktur Senyawa Hasil Isolasi yang Berhasil Diidentifikasi



414 dengan *base peak* 55 dan merupakan senyawa dari jenis sterol. Spektrum massa puncak 9 memberikan puncak pada m/z 414 yang diduga merupakan puncak ion molekul $[M^+]$. Puncak ion yang tampak pada m/z 396 merupakan pengeluaran molekul air. Puncak yang tampak pada m/z 231 merupakan pemutusan rantai samping yang terikat dengan C_3H_6 dan dilanjutkan pengeluaran molekul air.

Penemuan senyawa sterol dari penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya dari daun *D. falcata* mengandung lupeol, 3-acetoxy-12-ene-11-one, dan sitosterol (Rafe, Ahsan, Hasan, & Masud, 2017). Ekstrak etil asetat daun *D. falcata* juga menunjukkan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang tinggi (Atun *et al*, 2018). Selain senyawa sterol, tumbuhan benalu juga dilaporkan menunjukkan adanya senyawa fenolik, antara lain dari daun *Loranthus micanthus* Linn ditemukan adanya 3-O-(3,4,5-trimetoksibenzoil)-(-)-epicatecin (TMECG), (-)-epicatecin-3-O-(3-O-metil)-galat (ECG3 Me), rutin, dan peltatoside (Agbo, Nworu, Okoye, & Osadebe, 2014). Senyawa fenolik yang ditemukan tersebut umumnya bersifat antioksidan dan antibakteri (Patil, Anarthe, Jadhav, & Surana, 2011).

SIMPULAN

Senyawa yang dapat diisolasi dan diidentifikasi dari fraksi etil asetat relatif non polar daun *D. falcata* adalah stigmast-5-en-3-ol dengan kelimpahan 6,49 %, memiliki berat molekul m/z 414 dengan *base peak* 55. Senyawa sterol merupakan senyawa yang lazim ditemukan dalam tumbuhan benalu.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, T. Y. (2015). *Jamu dan kesehatan*. Jakarta: Lembaga Penerbit Balibanges.
- Agbo, M. O., Nworu, C. S., Okoye, F. B. C., & Osadebe, P. O. (2014). Isolation and structure elucidation of polyphenols from *Loranthus micranthus* Linn, parasitic on *Hevea brasiliensis* with anti-inflammatory property. *EXCLI Journal*, 13, 859-868.
- Atun, S., Handayani, S., Rakhmawati, A., Purnamaningsih, N. A., An Naila, B. I., & Lestari, A. (2018). Study of potential phenolic compounds from stems of *Dendrophthoe falcata* (Loranthaceae) plant as antioxidant and antimicrobial agents. *Oriental Journal of Chemistry*, 34(5), 2342-2349.
- Grabley, R. T. (1999). *Drug discovery from nature*. Berlin: Springer-Verlag.
- Channabasava, R., Govindappa, M., & Sadananda, T. S. (2013). In vitro antidiabetic activity of parasitic plant, *Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh. *Natural Products an Indian Journal*, 9(8), 311-318.
- Pattanayak, S. P., & Sunita, P. (2008). Wound healing, antimicrobial and antioxidant potential of *Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh. *Journal of Ethnopharmacology*, 120, 241-247.
- Pattanayak, S. P., Mazumder, P. M., & Sunita, P. (2011). Total phenolic content, flavonoid content and in vitro antioxidant activities of *Dendrophthoe falcata* (L.f.) Ettingsh. *International Journal of PharmTech Research*, 3(3), 1392-1406.
- Patil, S., Anarthe, S., Jadhav, R., & Surana, S. (2011). Evaluation of anti-inflammatory activity and in - vitro antioxidant activity of indian mistletoe, the hemiparasite *dendrophthoe falcate* L. F. (Loranthaceae). *Iran J Pharm Res.*, 10(2), 253-9.
- Rafe, M. R., Ahsan, M., Hasan, C. M., & Masud, M. M. (2017). Chemical and Biological Studies of Leaf Extract of *Dendrophthoe falcata* Linn. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 215-219.