Imran/J. Prog. Kim. Si. 2011, 1 (1): 16-24

Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Metilen Klorida Ekstrak Kayu Batang Paliasa (*Kleinhovia hospita L.*)

Imran[1) *]

1) Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Haluoleo, Kendari,93232, Indonesia

Abstract

The aim of the research is to determine secondary metabolit compund group of wood tissue of paliasa plant (Kleinhovia hospita L.) from methylene chloride extract. The pure compounds were found by extraction, fractionation, and crystalization method. Determination of melting point was conducted in the temperature interval 229-231 °C for the first compound and 205-207 °C for Determination of compound groups was carried out by the Liebermann-Burchard and Meyer methods. There were two compounds found as terpenoid groups. The all compound gave the red colour. The first compound has more polarity than the second compound.

Key words: Kleinhovia hospita L., compound group, methylene chloride, terpenoid.

Received: 18 April 2011
Accepted: 30 June 2011

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan golongan senyawa metabolit sekunder pada jaringan kayu batang tumbuhan paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) dari ekstrak metilen klorida. Senyawa murni diperoleh melalui tahap ekstraksi, fraksinasi, dan kristalisasi. Penentuan golongan senyawa dilakukan dengan metode Lieburmann-Burchard dan Meyer. Dua senyawa dikarakterisasi lebih lanjut dengan cara pengujian uji titik leleh dan penentuan golongan senyawa. Pengujian titik leleh senyawa pertama diperoleh pada rentang suhu 229-231 °C dan senyawa kedua pada 205-207 °C. Setelah kedua senyawa metabolit sekunder ini dinyatakan sebagai senyawa murni, selanjutnya diuji golongannya dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan Meyer. Senyawa pertama menunjukkan warna merah, positif sebagai golongan terpenoid. Senyawa kedua menunjukkan warna merah, positif sebagai golongan senyawa terpenoid. Kedua senyawa yang ditemukan dalam penelitian ini adalah golongan terpenoid. Senyawa pertama memiliki sifat lebih polar dari senyawa kedua.

Kata kunci: *Kleinhovia hospita* L., golongan senyawa, metilen klorida, terpenoid.

Diterima: 18 April 2011
Disetujui untuk dipublikasikan: 28 Juni 2011

**Penulis Korespondensi/corresponding author: Telp.+62 81241184872 Fax. +62 401 3190496*
E-mail: imran.gaffar@yahoo.com

1. Pendahuluan

Area hutan tropis dunia hanya 7% dari luas permukaan bumi, namun lebih dari 50% spesies organisme terdapat dalam area tersebut [1]. Keanekaragaman tumbuhan tropis dunia merupakan sumber daya organik yang potensial untuk memperoleh kerangka molekul senyawa metabolit yang beranekaragam. Sumber daya organik merupakan gudang senyawa kimia yang sangat potensial sebagai sumber senyawa baru yang unik yang tidak dapat ditemukan di laboratorium dan merupakan bahan yang sangat berguna untuk berbagai keperluan seperti obat-obatan, agrokimia, dan bahan baku industri [2].

Tumbuhan tropis diyakini memiliki kemampuan merekayasa beranekaragam senyawa kimia yang mempunyai berbagai bioaktivitas tertentu. Kemampuan tersebut salah satunya akibat mekanisme pertahanan diri terhadap ancaman lingkungan, karena pada umumnya hidup di bawah kondisi lingkungan yang kadang kala kurang menguntungkan, baik faktor iklim maupun gangguan dari herbivora, serangga, dan hama penyakit. Untuk itu, tumbuhan tropis dapat menghasilkan senyawa-senyawa kimia alami yang bersifat pestisida, insektisida, antifungi, dan sitotoksik [3].

Tumbuhan tropis dunia diperkirakan lebih dari 250.000 spesies dan 1500 spesies diantaranya merupakan famili Sterculiaceae yang terdapat dalam 70 genus [1]. Di sebagai Brazil, kulit kayu spesies *Waltheria douradihna* dari famili tersebut telah digunakan obat anti bakteri dan ditemukan mengandung senyawa alkaloid [4]. Ekstrak metanol dari *Sterculia lychnophora* mampu memperbaiki sel-sel hati mencit dan infus daunnya dapat berfungsi sebagai antitumor [5].

Salah satu tumbuhan famili Sterculiaceae yang tersebar di seluruh kepulauan Indonesia dan sangat potensial untuk diteliti adalah *Kleinhovia hospita* Linn sebagai tumbuhan yang berkhasiat [6]. Secara tradisional, daun tumbuhan *K. hospita* telah dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat luas, khususnya di Sulawesi Tenggara dan Selatan, dipercaya berkhasiat sebagai obat yang mampu mengobati penyakit liver [7]. Penggunaan tumbuhan tersebut sebagai obat juga tersebar di seluruh Nusantara termasuk di Maluku, Ternate dan Papua, bahkan sampai di Papua New Guinea (PNG) dan Kepulauan Solomon di Kawasan Pasik [8]. Oleh karena itu, tumbuhan ini diyakini dapat menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki

bioaktivitas tertentu dan efek terapetik yang ampuh. Kambium *K. hospita*. digunakan sebagai anti tumor dalam sarkoma mencit [9]. Sementara ekstrak daun *K. hospita* juga dapat melindungi radang hati pada tikus putih betina *Strain wista*r yang diakibatkan oleh CCl_4 [7].

Penelitian mengenai golongan senyawa metabolit sekunder pada kulit batang tumbuhan *K. hospita* ditemukan mengandung senyawa terpenoid dan steroid [11]. Sementara penelitian lain ditemukan bahwa daun tumbuhan tersebut mengandung senyawa steroid dan flavonoid [7,12]. Selain itu, kayu batang tumbuhan ini yang diekstraksi dengan menggunakan n-heksan ditemukan mengandung senyawa steroid dan alkaloid [13]. Ekstrak kayu batang tumbuhan *K. hospita* sangat potensial untuk ditemukan senyawa yang berkhasiat [6].

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap senyawa apa saja dalam jaringan kayu batang tumbuhan *K. hospita* melalui uji kepolaran golongan senyawa senyawa terpenoid setelah ditemukan sebagai senyawa murni.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan dan Alat yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel kayu batang yang diperoleh dari Desa Jambu, Kecamatan Bajo, Luwu, Sulawesi Selatan. Identitas biologi tumbuhan tersebut ditentukan oleh Pusat *Herbarium Bogoriense*, Bogor. Bahan kimia yang digunakan adalah Aluminium silika gel Kieselgel 60 F_{254}, Metanol p.a, larutan serium sulfat/H_2SO_4 15%, n-heksan, metilen klorida, etil asetat.

Alat-alat yang digunakan adalah penguji suhu lebur, pompa vakum, oven vakum, pengaduk mekanis, *hot plate*, *evaporator,* lampu ultra violet dan peralatan gelas yang umum dipakai di laboratorium kimia.

2.2. Isolasi Metabolit Sekunder

Serbuk kering kayu batang (8 kg) dimaserasi dengan metanol selama 2 x 24 jam lalu disaring ekstraktnya dan dimaserasi ulang sebanyak dua kali sesuai dengan cara maserasi awal. Ekstrak metanol dipekatkan dalam alat evaporator pada tekanan rendah hingga diperoleh cairan kental. Sebanyak 50 mL larutan pekat ini dievaporasi hingga kering untuk konversi berat. Berat sampel kering total yang larut dalam metanol diperoleh 69,17 gram. Berikutnya ekstrak ini difraksinasi secara berturut-turut dari pelarut n-heksan,

metilen klorida, dan terakhir dengan etil asetat berdasarkan tingkat kepolaran. Kemudian masing-masing fraksi ini dievaporasi hingga kering dan diperoleh berat kering *n*-heksan 11,39 g, metilen klorida 14,43 g, dan etil asetat 10,69 g. Selanjutnya fraksi metilen klorida direfraksinasi dan direkristalisasi untuk memperoleh senyawa murni.

2.3. Karakterisasi

Titik leleh senyawa murni ditetapkan menggunakan *Electrothermal Melting Point Apparatus.* Fraksinasi menggunakan kromatografi vakum cair (KVC) dengan silika gel Merck 60 GF_{254} katalog 7730. Impregnasi sampel menggunakan silika gel katalog 7733. Penentuan senyawa murni menggunakan kromatografi lapisan tipis (KLT) pada aluminium Si gel Merck Kieselgel 60 F_{254} 0,25 mm yang dipantau pada lampu ultra violet λ 254-366 nm dan penampakan noda menggunakan larutan serium sulfat/H_2SO_4 15%. Kristalisasi dan rekristalisasi menggunakan pelarut metanol p.a dan beberapa pelarut lain dengan prinsip dapat melarutkan senyawa isolat dan ketika didiamkam dapat mengendapkan senyawa isolat.

Pengujian golongan senyawa yang dilakukan dalam penelitian ini setelah senyawa tersebut ditemukan sebagai senyawa murni. Metode yang digunakan adalah uji Liebermann-Burchard dan uji Meyer. Metode pertama sangat spesifik terhadap senyawa metabolit golongan terpenoid dan steroid. Jika positif sebagai golongan terpenoid maka reaksi akan menunjukkan perubahan warna menjadi warna merah dan positif sebagai steroid akan menujukan warna hijau atau biru [14]. Sementara, metode kedua digunakan untuk menentukan golongan alkaloid dengan terbentuk endapan berwarna putih [15].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Isolasi Metabolit Sekunder

Empat belas koma empat tiga gram fraksi metilen klorida difraksinasi melalui metode kromatografi vakum cair dengan fasa diam silika gel katalog 7734 dan fasa gerak eluen n-heksan; etil asetat-n-heksan; aseton; dan metanol, berdasarkan peningkatan kepolaran eluen, diperoleh 36 fraksi. Fraksi-fraksi tersebut lalu dilakukan analisis kromatorafi lapis tipis (KLT) secara bersamaan dengan eluen aseton: klorofom = 4: 6. Melalui hasil kromtogram, fraksi-fraklsi yang memiliki R_f (*range of flow*) yang sama digabungkan dan

diperoleh 7 fraksi gabungan. Selanjutnya, masing-masing fraksi gabungan ditimbang beratnya dan diuji bioaktivitasnya dengan menggunakan *A. salina* dengan hasil seperti pada Tabel 1.

Berat F_A diperoleh 0,62 g dengan hasil uji bioaktivitas terhadap *A. salina* LC_{50} adalah 231 µg/ml. Fraksi F_A tersebut, ketika dievaporasi, nampak ada endapan berwarna putih kecoklatan. Hal ini memungkinkan untuk perolehan kistal murni senyawa metabolit sekunder dengan cara kristalisasi dan rekristalisasi. Setelah dievaporasi hingga kering, fraksi F_A ini direkristalisasi dengan pelarut metanol hingga diperoleh endapan putih. Endapan ini selanjutnya dilarutkan dalam n-heksan dan didiamkan hingga terbentuk kristal berbentuk jarum. Kristal yang terbentuk dipisahkan dari pelarut *n*-heksan dan direkristalisasi lebih lanjut dengan menggunakan metanol hingga diperoleh senyawa murni sebagai senyawa **1** dengan berat 11, 8 mg.

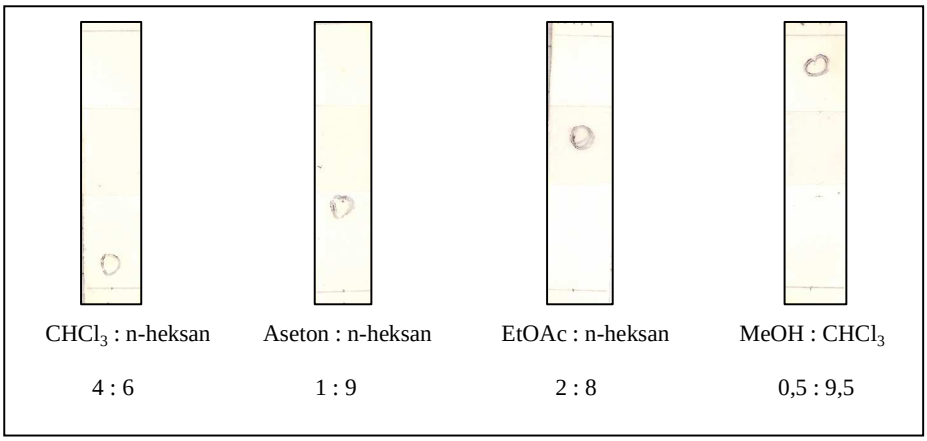
Kemurnian senyawa tersebut diuji dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) melalui beberapa macam eluen dan hanya menampilkan spot tunggal dengan nilai R_f, *range of flow* yang spesifik seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 1.

Selanjutnya, F_B, 0,82 gram dikristalisasi dan direkristalisasi dengan metanol dan diteteskan sedikit aseton untuk meningkatkan daya larut sampel. Setelah larut kemudian didiamkan hingga diperoleh endapan putih dan disaring pada wadah penyaring kristal, lalu ditimbang. Kristal yang diperoleh sebanyak 0,23 mg, diidentifikasi dengan cara diKLT bersama-sama dengan senyawa **2** terhadap beberapa eluen dan selalu menunjukkan nilai R_f yang sama sehingga kristal yang diperoleh tersebut juga merupakan senyawa **2**.

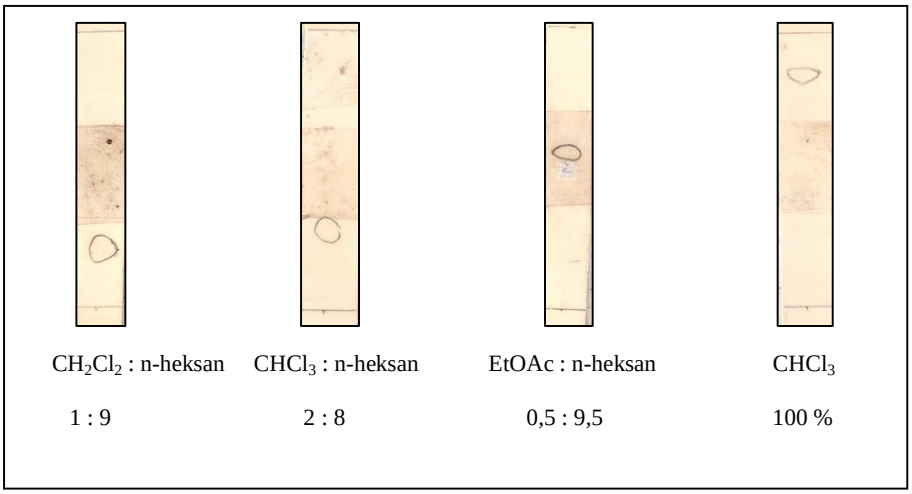
Dalam kromatogram KLT senyawa **1** (Gambar 1), eluen $CHCl_3$: n-heksan = 4 : 6 menunjukkan R_f 0,10. Selain itu, kromatogram KLT senyawa 2 seperti pada Gambar 2, eluen $CHCl_3$: *n*-heksan = 2 : 8 menunjukkan R_f 0,29. Pada kondisi tersebut, eluen KLT senyawa **1** lebih polar dari eluen KLT senyawa 2. Sementara itu, nilai R_f senyawa **2** lebih tinggi dari senyawa **1**. Oleh karena itu, senyawa **1** merupakan senyawa golongan terpenoid yang lebih polar dibandingkan senyawa **2**.

Tabel 1. Kisaran R_f, berat, dan bioaktivitas masing-masing fraksi gabungan

Fraksi gabungan	Kisaran R_f	Berat (g)	Letalitas, LC_{50} (µg/ml)
F_A (F_{1-6})	0,75-1,00	0,62	231
F_B (F_{7-11})	0,70-0,95	0,82	259
F_C (F_{12-15})	0,50-0,92	1,36	141
F_D (F_{16-21})	0,40-0,75	2,86	145
F_E (F_{22-25})	0,05-0,55	3,45	276
F_F (F_{26-28})	0,03-0,38	2,49	452
F_G (F_{29-36})	0	2,13	917



Gambar 1. Kromatogram KLT senyawa **1** dengan beberapa eluen



Gambar 2. Kromatogram KLT senyawa **2** dengan beberapa eluen

3.2 Isolasi Metabolit Sekunder

Senyawa **1** dan **2** dikarakterisasi lebih lanjut dengan cara pengujian uji titik leleh dan penentuan golongan senyawa. Pengujian titik leleh senyawa **1** diperoleh pada 229-231 $^{\circ}$C dan senyawa **2** 205-207 $^{\circ}$C menggunakan *Apparatus Melting Ponit*. Rentang suhu leleh senyawa murni berkisar 1-2 $^{\circ}$C. Setelah kedua senyawa metabolit sekunder ini dinyatakan sebagai senyawa murni, selanjutnya diuji golongannya dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan Meyer. Senyawa **1** menunjukkan warna merah, positif sebagai golongan terpenoid. Demikian pula senyawa **2** menunjukkan warna merah, positif sebagai golongan senyawa terpenoid. Hasil pengujian alkaloid menggunakan pereaksi meyer negative terlihat pada Tabel 2..

Tabel 2. Data uji titik leleh dan golongan senyawa **1** dan **2**

Senyawa	Titik leleh, $^{\circ}$C	Golongan senyawa		
		Terpenoid	Steroid	Alkaloid
1	229-231	+	-	-
2	205-207	+	-	-

4. Kesimpulan

Pada jaringan kayu batang tumbuhan paliasa *K. hospita L*. telah ditemukan dua senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid dalam ekstrak metilen klorida. Senyawa **1** adalah golongan terpenoid yang memberikan warna merah, juga senyawa **2**

golongan terpenoid yang memberikan warna merah pada pengujian metode Liebermann Burchard. Senyawa **1** mempunyai titik leleh 229-231 °C dan senyawa **2** 205-207 °C. Senyawa **1** memliki sifat lebih polar dari senyawa **2**.

Diharapkan adanya penelitian lanjutan dari sampel yang sama dengan sampel dalam penelitian ini untuk penentuan struktur senyawa sehingga kedua senyawa metabolit sekunder tersebut dapat ditentukan strukturnya. Selain itu perlu dilakukan pengujian akan khasiat senyawa yang ditemukan dalam penelitian ini sebagai perbandingan akan khasiat tumbuhan tersebut yang telah dimanfaatkan sebelumnya secara tradisional.

5. Pustaka

1. Gressler, V., Stüker, C. Z., Dias, G. O. C. de, Dalcol, I. I., Burrow, R. A., Schmidt, J., Wessjohann, L., and Morel, A. F. 2007. Quinolone alkaloid from *Waltheria douradinha*. *Phytochemistry.* 69: 99-999.
2. Ahmad, S.A. 2006. *Keanekaragaman sumber alam hayati sebagai sumber senyawa kimia yang berguna*. Makalah Seminar Nasional Kimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Makassar, Makassar 2 September 2006.
3. Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecolological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. 64: 13-19
4. Morel, A. F., Flach, A., Zanatta, N., Ethur, E. M., Mostardeiro, M. A., and Gehrke, T. S. 2005. A New cyclopeptide alkaloid from the bark of *Waltheria douradinha*. *Tetrahedron Lett*. 40, 9205-9209.
5. Hamza, O. J., Beukel, J. P.J. van den, Matee, M. I. M., Moshi, M. J., Mikx, F. H. M., Selemani, H. O., Mbwambo, Z. H., and Verweij, P. E. 2006. Antifungal activity of some Tanzanian plants used traditional for the treatment of fungal infections. *Journal of Ethnopharmacology*. 108: 124-132.
6. Imran, G., Noor, A., Harlim, T., dan Soekamto, N. H. 2007. Skrining bioaktivitas jaringan tumbuhan paliasa (*Kleinhovia Hospita L.*) *a*sal Sulawesi Selatan. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia, Chemica*. 8(2): 68-75.
7. Raflizar, Adimunca, C., dan Tuminah, S. 2006. Dekok daun paliasa (*Kleinhovia hospita Linn*.) sebagai obat radang hati akut. *Cermin Dunia Kedokteran.* 50 : 10-14.

8. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Jakarta: Badan Libang Kehutanan.
9. Latif, A., Faridah, H.I., and Maesa, L.J.G. Van den. 1997. *Kleinhovia hospita* Linn. *Plant Resources in Southeast Asia*, No. 11. Bogor: Indonesia.
10. Anderson, J.E., Goeetz, C.M., McLaughlin. 1990. A blind comparison of simple bench-top bioassay and human tumor cell cytotoxicities as antitumor prescreen. *Journal Phytochemical Analysis*. 6: 107-111.
11. Noor, A. dan Kumanireng, A.S. 2004. *Isolasi dan identifikasi konstituen organik tanaman daun paliasa, Kleinhovia hospita* Linn*., pada kelarutan berdasarkan kelompok polaritasnya*. Laporan Hasil Penelitian. Makassar: TPSDP BATCH II Unhas.
12. Taebe, B. 2004. *Standarisasi ekstrak daun paliasa (Kleinhovia hospital* Linn*.) sebagai bahan baku sediaan fitofarmaka*. Makalah disampaikan dalam Seminar Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar, 23 Februari 2004.
13. Imran, G., Noor, A., Harlim, T., dan Soekamto, N. H. 2008. Senyawa triterpenoid asam 3-asetoksi-12-oleanen-28-oat dari ekstrak metilen klorida pada tumbuhan (*Kleinhovia hospita* Linn.). *Informasi Teknologi*. 14 (2): 92-100.
14. Imran, G., Noor, A., Soekamto, N. H., dan Harlim, T. 2009. Penentuan golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak n-heksan pada kayu batang tumbuhan (*Kleinhovia hospita* Linn.). *Informasi Sains dan Teknologi Kimia*. 1 (3): 22-28.
15. Fahmi, R. 2002. *Uji fitokimia kandungan metabolit sekunder (Untuk Survey di Lapangan)*. Makalah Workshop Peningkatan Sumberdaya Manusia Kajian Kimia Organik Bahan Alam Hayati dan Pelestarian Hutan, Padang 21-27 Juli 2002.