

**IDENTIFIKASI DAN ISOLASI SENYAWA GLIKOSIDA SAPONIN
DARI BEBERAPA TANAMAN DI INDONESIA**

Andien Ravelliani, Hasna Nisrina, Lala Komala Sari, Marisah, Riani

Universitas Singaperbangsa Karawang, Indonesia

E-mail: ravellianiandien@gmail.com, hasnanisrina08@gmail.com,

lalakomalas2903@gmail.com, marisah0352@gmail.com,

ynryany@gmail.com

Diterima:

22 Juli 2021

Direvisi:

08 Agustus 2021

Disetujui:

15 Agustus 2021

Abstrak

Glikosida merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdiri atas gabungan dua bagian senyawa, yaitu glikon dan aglikon. Saponin merupakan *glikosida* bagian aglikon yang termasuk kedalam golongan *glikosida* triterpena dan sterol. Saponin memiliki banyak kegunaan untuk kesehatan diantaranya, sebagai immunomodulator, antivirus, antitumor, antiinflamasi, antijamur, dan efek hipokolesterol. Senyawa *glikosida* saponin tersebar luas pada beberapa tanaman di Indonesia. Penulisan *review* artikel ini mengulas tentang keberadaan senyawa *glikosida* saponin pada beberapa tanaman yaitu Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), Pelepah Pisang Uli (*Musa paradisiaca* L.), Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban), Daun Majapahit (*Crescentia cujete*), dan Daun Bungkus (*Smilax rotundifolia*). Metode yang digunakan dalam identifikasi dan isolasi senyawa *glikosida* saponin mulai dari ekstraksi maserasi, skiring fitokimia dengan cara uji saponin dan uji pewarna Liebermann Burchard (LB), fraksinasi secara ECC (Ekstraksi cair-cair), metode pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan metode pemisahan lainnya. Berdasarkan hasil dari beberapa jurnal yang telah ditelaah, diperoleh kesimpulan bahwa lima tanaman tersebut positif mengandung senyawa *glikosida* saponin.

Kata kunci: *glikosida, saponin, isolasi, pemisahan senyawa*

Abstract

Glycosides are a secondary metabolite compound consisting of a combination of two parts of the compound, namely glycons and aglycones. Saponins are glycosides in the aglycone part which are included in the triterpene and sterol glycosides. Saponins have many health uses, including as immunomodulators, antiviral, anti-tumor, anti-inflammatory, antifungal, and hypocholesterol effects. Saponin glycoside compounds are widely distributed in several plants in Indonesia. Writing a review of this article reviews the presence of saponin glycoside compounds in several plants, namely Binahong leaf (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis), Uli Banana Bark (Musa paradisiaca L.), Gotu Kola Herb (Centella asiatica L. Urban), Majapahit leaf (Crescentia cujete), and Bungkus leaf (Smilax rotundifolia). The method used in the identification and isolation of saponin glycosides, starting from maceration extraction, phytochemical screening by means of saponin test and Liebermann Burchard

dye test (LB), fractionation by ECC, separation method of Thin Layer Chromatography (TLC), and other separation methods. Based on the results of several journals that have been reviewed, it was concluded that the five plants were positive for saponin glycosides.

Keywords: glycosides, saponins, isolation, compound separation

Pendahuluan

Bahan alam merupakan kumpulan dari beberapa sumber kimia yang dapat berasal dari produk metabolisme dari senyawa sederhana maupun senyawa kompleks (Najib, 2018). Pengembangan obat herbal sampai saat ini masih dilakukan dengan pemanfaatan metabolit sekunder yang berpotensi besar untuk dikembangkan menjadi obat (Saifudin, 2014). Pemanfaatan ini didukung oleh sebagian besar masyarakat yang lebih memilih mengkonsumsi obat dari bahan alam maupun obat tradisional yang memungkinkan efek samping yang ditimbulkan jauh lebih rendah dibandingkan obat kimia sintesis. Pada umumnya khasiat tanaman obat disebabkan karena aktivitas senyawa yang terdapat pada suatu tanaman tersebut. Senyawa tersebut adalah metabolit sekunder yang diproduksi oleh tanaman untuk mempertahankan keberadaannya maupun sebagai sistem pertahanan diri suatu tanaman (Rachman, Wardatun, & Wiendarlina, 2018). Beberapa contoh tanaman di Indonesia yang digunakan sebagai obat dan digunakan sebagai bahan penelitian untuk mengidentifikasi senyawa biokimia yaitu, daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), pelepah pisang uli (*Musa paradisiaca* L.), pegagan (*Centella Asiatica* L. Urban), daun majapahit (*Crescentia cujete*), dan daun bungkus (*Smilax rotundifolia*). Beberapa penelitian telah dilakukan pada tanaman tersebut untuk mengidentifikasi senyawa golongan glikosida yang ada di dalam tanaman tersebut.

Senyawa glikosida pada tanaman biasanya berbentuk β -Glikosida, adapun glikosida yang dapat dikategorikan memiliki khasiat sebagai obat ialah golongan glikosida jantung, saponin, antarkuinon, resin, sianospora, tannin, isotianat, flavonol, sianhidrin, alkohol, aldehyd, lakton, fenol, dan lain sebagainya (Amody & Anggreani, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan ini bermaksud untuk mengkaji lebih dalam kandungan golongan senyawa glikosida yaitu saponin, karena memiliki aktivitas farmakologi sebagai immunomodulator, antitumor, antiinflamasi, antivirus, antijamur, efek hipokolesterol dan lainnya (Marni & Ambarwati, 2015). Saponin termasuk kelompok senyawa golongan glikosida triterpena dan sterol yang memiliki suatu karakteristik adanya aglikon steroid dan triterpenoid, serta gugus gula berupa buih sehingga saat direaksikan bersama air dan kemudian dikocok maka terbentuk buih yang tahan lama (Khotimah, 2016). Saponin memiliki sifat kelarutan mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter, rasa pahit, dan saponin lebih baik diekstraksikan dari tanaman dengan jenis pelarut etanol 70%-95% atau biasanya metanol karena saponin bersifat polar maka akan lebih tepat dan mudah larut dari pada jenis pelarut lain (Prayoga, Nocianitri, & Puspawati, 2019).

Rumusan masalah dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada beberapa tanaman di Indonesia adalah apakah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), pelepah pisang uli (*Musa paradisiaca* L.), pegagan (*Centella Asiatica* L. Urban), daun majapahit (*Crescentia cujete*), dan daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) mengandung senyawa kimia saponin, berapakah panjang gelombang dari senyawa saponin pada tanaman tersebut dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet.

Adapun tujuan yang dilakukan ialah untuk mengidentifikasi senyawa biokimia dalam berbagai jenis tanaman di Indonesia dan mengisolasi serta mengidentifikasi kandungan senyawa saponin pada tanaman daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), pelepah pisang uli (*Musa paradisiaca* L.), pegagan (*Centella Asiatica* L. Urban), daun majapahit (*Crescentia cujete*), dan daun bungkus (*Smilax rotundifolia*).

Manfaat dari penelitian yang telah dilakukan yaitu, dapat memberikan manfaat bagi pihak yang membutuhkan baik teori maupun praktik dan sebagai informasi bagi pembaca maupun pengembang ilmu pengetahuan dibidang fitokimia dan sintesis mengenai kandungan senyawa saponin yang terdapat pada tanaman sampel di beberapa percobaan yang dilakukan, serta menambah wawasan dan pengetahuan tentang senyawa saponin yang terdapat di beberapa tanaman di Indonesia sebagai sarana mengembangkan ilmu pengetahuan secara teoritis untuk dipelajari di bangku perkuliahan, diharapkan juga memberikan kontribusi untuk mengembangkan teori bagi yang ingin melanjutkan penelitian ini.

Metode Penelitian

Ekstraksi

Simplisia daun majapahit ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dimasukkan kedalam bejana maserasi. Dimasukkan cairan penyari metanol sebanyak 3 liter, kemudian bejana ditutup dan didiamkan ditempat yang gelap selama 5 hari. Setelah 5 hari disaring, ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor dan diperoleh ekstrak metanol kental.

Partisi

Dipartisi dengan pelarut dietil eter dan air (1 : 1) sebanyak 50 ml, diulang 3 kali. Hasil partisi yang berupa lapisan air ditambahkan pelarut n-butanol (1 : 1) sebanyak 50 ml, diulang 3 kali ekstrak n-butanol diuapkan dengan rotavapor dan didapatkan ekstrak kental.

Uji Busa

Serbuk kering sampel sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air mendidih, didinginkan, dikocok hingga berbusa. Setelah lebih dari 10 menit (ukur tinggi busa) busa tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 M.

Uji Pereaksi Warna

Serbuk kering sampel sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 ml kloroform. Dipanaskan diatas penangas sambil dikocok dan didinginkan. Ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard sebanyak 20 tetes. Reaksi positif saponin yaitu merah, merah muda atau ungu dan biru perlahan-lahan menjadi hijau.

Pemisahan dan Pemurnian Komponen Kimia

Ekstrak kental butanol diidentifikasi menggunakan KLT. Ditotolkan ke lempeng GF 366 dan dielusi dengan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2). Diamati dibawah sinar lampu UV 366 nm, lalu lempeng disemprot dengan H₂SO₄ 10% v/v. Diangin-anginkan kemudian difiksasi hingga diperoleh warna noda.

Identifikasi Secara KLTP

Ekstrak yang diperoleh ditotolkan secara tegak lurus pada permukaan lempeng GF366 menggunakan pipa kapiler, lalu dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2). Chamber ditutup dan lempeng dibiarkan terelusi,

lempeng dikeluarkan dan diangin-anginkan sampai kering. Diamati penampakan nodanya pada sinar lampu UV 366 nm. Pita-pita yang terbentuk dikeruk dari plat dan ditampung ke dalam vial sesuai dengan fraksinya.

Penentuan Spektrum Senyawa Murni Secara Spektrofotometri Infra Merah

Senyawa murni dari fraksi dicampurkan dengan garam KBr, lalu dimasukkan ke dalam Acculab 2 dengan spektrofotometer infra merah.

Preparasi Sampel

Herba Pegagan dibersihkan dari pengotornya, lalu diserbukan dengan cara dihaluskan dan ditimbang serbuk daun pegagan sebanyak 300 g.

Ekstraksi

Dimaserasi dengan pelarut etanol 96% : air (70 : 30) sebanyak 1500 mL selama 3 hari. Ampas dan endapan dipisah dari filtratnya. Kemudian diremaserasi selama 2 hari dengan pelarut etanol 96% : air 1100 mL. Filtrat yang didapat diuapkan dan dipekatkan pada suhu 40°C.

Uji Saponin

Ditimbang ekstrak kental sebanyak 15 mg lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan aquadest sebanyak 10 mL kemudian tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1–10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin. Ditambahkan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang menunjukkan positif saponin.

Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom

Dibuat bubur silica gel (fase diam) dengan menimbang 50 g silica gel. Ditambahkan dengan Eluen (kloroform : metanol : air dengan perbandingan 30:10:1 v/v/v) secukupnya sambil diaduk hingga menjadi bubur. Dimasukkan Bubur silica gel ke dalam kolom kromatografi yang telah dialasi dengan glass wool melalui dinding kolom agar tidak terbentuk gelembung. Bubur silica gel dimasukkan hingga ketinggian kurang lebih 25 cm dan ekstrak kemudian dielusi dengan menggunakan fase gerak kloroform : metanol : air dengan perbandingan (30:10:1 v/v/v) sebanyak 50 mL. Fraksi yang diperoleh kemudian disimpan dalam vial dan dibungkus dengan aluminium foil dan plastik ikan. Penentuan fraksi yang mengandung saponin ditentukan dengan menggunakan metode KLT.

KLT Hasil Fraksinasi

Plat Silika Gel GF254 dipotong dengan ukuran 10 x 10 cm. Kemudian diaktivasi pada suhu 110°C selama 30 menit. Fase gerak dibuat sebanyak 10 mL. Setiap fraksi ditotolkan pada plat sebanyak 4 µL. Plat dielusi sampai jarak 1 cm dari batas atas plat. Dilakukan penyemprotan dengan menggunakan anisaldehyd asam sulfat. Anisaldehyd asam sulfat akan memberikan warna ungu pada sinar tampak. Glikosida saponin tanpa perlakuan kimia (pereaksi sempnot) di bawah sinar UV 254 nm tidak terjadi pemataman bercak dan di bawah sinar UV 366 nm bercak tidak berfluoresensi.

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Fase diam yang digunakan plat Silika Gel GF254 dengan ukuran 10 cm x 10 cm dan fase geraknya adalah kloroform : metanol : air (65:25:4 v/v). Larutan sampel ditorehkan pada masing-masing plat berulang-ulang sampai terbentuk pita dengan

bantuan pipet. Selanjutnya dieluasi dengan 10 mL fase gerak. Plat diamati dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm, kemudian bagian pinggir kiri dan kanan plat KLT preparatif disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Plat yang telah disemprot dipanaskan pada suhu 85-90°C selama 15 menit. Tandai area yang akan dikerok pada plat yang tidak terkena pereaksi Liebermann-Burchard. Pada plat KLTP dikerok pita yang menunjukkan hasil positif namun tidak terkena reagen penampak noda menggunakan spatula dan hasil kerokan kemudian diekstraksi dengan metanol, kemudian disaring.

KLT Hasil Fraksinasi

Dipilih subfraksi yang memberikan warna ungu pada KLTP, ekstrak etanol dan fraksi saponin triterpenoid hasil kromatografi kolom lambat. Masing-masing ekstrak tersebut dilarutkan dengan 0,5 mL metanol sehingga diperoleh ekstrak yang tidak terlalu pekat. Plat Silika Gel GF254 dipotong dengan ukuran 2 cm x 10 cm, kemudian diaktivasi pada suhu 110°C selama 15 menit. Fase gerak yaitu kloroform : metanol : air (65:25:4 v/v) dibuat sebanyak 10 mL. Larutan uji ditotolkan pada plat sebanyak 6 µL. Plat diletakkan pada chamber yang telah dijenuhkan sebelumnya. Plat dieluasi sampai jarak 1 cm dari batas atas plat. Plat diangin-anginkan selama 10 menit untuk menguapkan fase gerak pada plat yang masih tersisa dilihat di bawah sinar UV 366 nm dan dicatat nilai Rf.

Identifikasi Isolat dengan KLT Dua Dimensi

Disiapkan plat KLT silika gel 60 F254 dengan ukuran 10 x 10 cm, plat dicuci dengan metanol dan di aktivasi dalam oven pada suhu 110°C Selama 30 menit. Fase gerak pertama dibuat sebanyak 10 mL, dipipet sebanyak 6,9 mL kloroform, 2,7 mL metanol, dan 0,4 mL air. Pelarut dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian digojog hingga homogen. Fase gerak kedua dibuat sebanyak 10 mL, dipipet sebanyak 5,3 mL kloroform, 2,8 mL asam asetat glasial, 1,1 mL metanol, dan 0,7 mL air. Pelarut dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dikocok hingga homogen. Isolat hasil KLTP dilarutkan dengan metanol. Diambil sebanyak 10 µL kemudian ditotolkan pada plat KLT. Plat dielusi dengan eluen dengan tingkat kepolaran dan arah yang berbeda. Setelah dielusi plat diangin anginkan selama 10 menit untuk menguapkan fase gerak yang masih tersisa pada plat. Hasil elusi diamati menggunakan penampak noda sinar ultra violet 254 nm. Hasil pengamatan yang menunjukkan satu bercak atau satu spot tunggal menandakan senyawa isolat yang diperoleh merupakan senyawa kimia tunggal atau murni.

Ekstraksi-Fraksinasi

Daun bungkus yang telah dikeringkan dibuat menjadi serbuk. Dilakukan proses ekstraksi secara maserasi. Sebanyak 500 gram serbuk daun bungkus diekstraksi dengan pelarut etanol 96%. Dipartisi cair-cair dengan pelarut dietil eter dan n-butanol. Filtrat di evaporasi dan selanjutnya diuapkan dengan waterbath. Diperoleh ekstrak kental sebanyak 28,46 gram berwarna hijau pekat.

Uji Busa

Ekstrak daun bungkus dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi aquadest 10 ml , kocok. Ditambahkan 1 tetes larutan asam klorida 2 M . Jika terbentuk busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik menandakan positif saponin.

Uji Pewarna

Simplisia daun bungkus sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi kloroform 10 ml. Dipanaskan selama 5 menit dengan penangas air sambil dikocok. Ditambahkan beberapa tetes pereaksi Liebermann Burchard, kemudian

diamati. Jika terbentuk cincin coklat/violet maka menunjukkan saponin triterpen, jika terbentuk warna hijau/biru menunjukkan saponin steroid.

Isolasi KLTP

Ekstrak n-butanol diisolasi secara KLT dengan ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada permukaan lempeng. Dielusi dengan eluen kloroform-etanol-air (10:6:1). Bercak berupa pita diamati dengan penampak sinar UV 254 nm dan 366 nm. Kemudian lempeng disemprot dengan pereaksi Lieberman Bucard dan dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit. Pita yang terbentuk dikeruk dari plat kaca, ditampung ke dalam vial dengan jalur pita. Kemudian dilarutkan dengan etanol lalu disaring.

Isolasi KLT 2 Dimensi

Setelah diperoleh fraksi tunggal, dilanjutkan dengan KLT 2 dimensi. Fraksi dielusi dengan kloroform : metanol : air (10:6:1) untuk arah 1, dan kloroform-etanol-air (15:6:1) untuk arah 2. Setelah dielusi dideteksi dengan menggunakan lampu UV 366 nm.

Identifikasi Senyawa Saponin dengan Spektrofotometri Ultraviolet

Filtrat diidentifikasi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 200-400 nm.

Ekstraksi

Sebanyak 100 gram simplisia dimasukkan ke dalam botol coklat gelap bertutup yang bersih kemudian direndam dengan etanol sebanyak 600 ml. Botol coklat gelap ditutup dan didiamkan selama 3 hari dengan sesekali kocok. Kemudian hasil ekstrak disaring untuk memperoleh filtrat I dan simplisia yang telah diekstrak, diekstraksi kembali dengan etanol 400 ml dan didiamkan selama 2 hari dengan sesekali kocok. Hasil ekstrak (filtrat II) dicampurkan dengan filtrat I, kemudian dievaporasi pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

KLT

Ekstrak dilarutkan dengan alkohol 95% di totolkan pada plat KLT. Lempeng kemudian dielusi dengan eluen kloroform : metanol : aquadest (13:7:2) dalam 100 ml. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm. Lempeng juga disemprotkan pereaksi Lieberman Burchard dihitung nilai R_f (Retensi Faktor).

Uji Spektrofotometri UV-Vis

Ekstrak kental 0,5 gram dilarutkan dengan alkohol 96% sehingga menjadi larutan ekstrak, yang diidentifikasi secara kualitatif dengan spektrofotometri UV-Vis. Larutan ekstrak sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam kuvet spektrofotometer UV-Vis untuk identifikasi nilai absorbansi senyawa saponin pada panjang gelombang maksimal. Pengamatan dilakukan pada range panjang gelombang 200-400 nm dengan interval 5.

Ekstraksi

Daun binahong yang telah dikumpulkan, masing-masing dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel (sortasi basah) kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian ditiriskan untuk menghilangkan air sisa-sisa pencucian. Daun binahong

yang telah bersih dan bebas air pencucian dikeringkan di bawah sinar matahari sampai masing-masing tanaman kering, kemudian dibersihkan kembali dari kotoran yang mungkin tidak hilang saat sortasi kering. Simplisia kering tersebut selanjutnya digrinder hingga menjadi simplisia serbuk kemudian diayak dengan ayakan mesh 20 lalu ditimbang untuk mendapatkan bobot akhir simplisia. Disimpan dalam wadah yang kering dan bersih.

KLT Analitik

Lempeng aluminium silica gel GF254 Merck disiapkan dengan ukuran panjang 10 cm dan lebar 3 cm. Ekstrak kental yang telah dilarutkan dengan alkohol 95% ditotolkan pada lempeng tepi bawah dan diangin-anginkan beberapa saat. Lempeng dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen yaitu campuran homogen lapisan bawah pelarut antara kloroform : metanol : akuades (13:7:2). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen merambat sampai pada tanda garis tepi atas lempeng kemudian dikeluarkan dan dikeringkan di udara. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Lempeng juga disemprotkan dengan pereaksi LB dan dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit untuk memperjelas warna noda yang terbentuk.

Isolasi Senyawa Saponin dengan KLT Preparatif

Lempeng preparatif silika gel 60 F254 Merck disiapkan dengan ukuran panjang 20 cm dan lebar 20 cm. Ekstrak kental yang telah dilarutkan dengan alkohol 96% ditotolkan sepanjang lempeng tepi bawah dan diangin-anginkan beberapa saat. Lempeng dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen yang telah dijenuhkan yaitu campuran homogen lapisan bawah pelarut antara kloroform : metanol : akuades (13:7:2). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen mencapai batas atas lempeng kemudian dikeluarkan dan dikeringkan di udara. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Lempeng juga disemprotkan pereaksi Lieberman-Burchard (LB) pada kedua bagian tepi dan bagian tersebut dikeringkan. Noda-noda yang terbentuk pada bagian tepi lempeng dihubungkan dengan garis dari tepi satu ke tepi lainnya. Bagian dalam garis dikerok dengan membuang bagian yang telah dipanaskan dan dilarutkan dengan alkohol 96% sebagai isolat.

Identifikasi Menggunakan KLT Dua Dimensi

Isolat yang telah diperoleh kemudian ditotolkan pada lempeng KLT G60 F254, dielusi menggunakan 2 eluen dengan tingkat kepolaran dan arah yang berbeda. Hasil elusi diamati menggunakan penampak noda sinar ultra violet 254 nm. Hasil pengamatan yang menunjukkan satu spot/bercak tunggal menandakan senyawa isolat yang diperoleh merupakan senyawa kimia tunggal atau murni.

Identifikasi Senyawa Saponin dengan Spektrofotometri UV-Vis

Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif diidentifikasi secara kualitatif dengan spektrofotometri UV-Vis. Isolat sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam kuvet spektrofotometer UV-Vis untuk diidentifikasi nilai absorbansi senyawa saponin pada panjang gelombang maksimal. Pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 200-800 nm.

Hasil dan Pembahasan

Metode					
No	Nama Tumbuhan	Ekstraksi	Fraksinasi	Analisis Fitokimia	Hasil
	Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete</i>)	Maserasi Menggunakan pelarut metanol	Metode ECC Ekstrak metanol dipartisi dengan menggunakan pelarut dietil eter dan n-butanol. Metode KLT (uji pemisahan dan pemurnian) FD= Silica gel GF366. FG= Kloroform : metanol : air (13:7:2) Sinar UV 366 nm. Metode KLTP FD = Silica gel GF366. FG = Kloroform : metanol : air (13:7:2).	Isolasi dengan Metode Uji Spektrofotometri InfraRed Hasil fraksinasi yang sudah murni dicampurkan dengan garam KBr, kemudian dimasukkan ke dalam Acculab 2. Skrining fitokimia Uji Busa Sampel dikocok hingga berbusa, kemudian tinggi busa diukur dan ditetesi HCl. Uji Lierbermaan Bouchard Reagen= Anhidrat asetat dan asam sulfat pekat.	Saponin steroid
	Heba Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L. Urban)	Maserasi Menggunakan pelarut etanol 96% : air (70:30)	Metode Kromatografi Kolom FD= Bubur silica gel. FG= Kloroform : metanol : air (30:10:1). Metode KLT FD= Silica gel GF254. FG= Kloroform : metanol : air (65:25:4). Sinar UV 366 nm. Metode KLTP FD= Silica gel GF 254. FG= Kloroform : metanol : air	Isolasi dengan Metode KLT dua dimensi FD= Silica gel G60F254. FG= a. 6,9mL kloroform, 2,7 mL metanol, 0,4 mL air. b. 5,3mL kloroform, 2,8 mL asam asetat glasial, 1,1 mL metanol, dan 0,7 mL air. Sinar UV 254 nm	Saponin triterpen

(65:25:4).
Sinar UV 254 nm.

Daun Bungkus (<i>Smilax rotundifolia</i>)	Maserasi Menggunakan pelarut etanol 96%	Metode ECC Ekstrak kental sampel dipartisi dengan pelarut dietil eter dan n-butanol.	Isolasi dengan Metode KLTP FD= Silica gel G60F254. FG= Kloroform : etanol : air (10:6:1) Sinar UV 254 nm. Metode KLT dua dimensi FD= Silica gel G60F254. FG= Kloroform : etanol : air (15:6:1) Sinar UV 366 nm. Uji Spektrofotometri Ultraviolet Gelombang 200-400 nm.	Saponin steroid
Pelepah Pisang Uli (<i>Musa Paradisiaca</i> L.)	Maserasi Menggunakan pelarut etanol.	Metode KLT FD= Silika Gel GF 254. FG= Kloroform : metanol: air (13:7:2). Sinar UV 254 dan 366 nm.	Uji Spektrofotometri UV-Vis Dilakukan pada range panjang gelombang 200-400nm. Uji Busa Sampel dikocok hingga berbusa, kemudian tinggi busa diukur dan di tetesi HCl.	Saponin triterpen
Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.)Steenis)	Maserasi Menggunakan pelarut metanol.	Metode KLT Analitik FD= Silika gel 60 F254. FG= Kloroform : metanol: air(13:7:2). Sinar UV 254 dan 366 nm.	Isolasi Metode KLT Preparatif FD= Silika gel 60 F254.FG= Kloroform: metanol: air(13:7:2). Sinar UV 254 dan 366 nm. Metode KLT Dua Dimensi FD= Silika gel 60 F254.FG= 2 eluen dengan tingkat kepolaran yang	Saponin triterpen

berbeda
Sinar UV 254 nm.

**Uji
Spektrofotometri
UV-Vis**

Dilakukan pada
panjang gelombang
200-800 nm.

Uji Warna

Sampel dimasukkan
kedalam kloroform
dan dipanaskan
dengan penangas air
sambil dikocok.

Kemudian
ditambahkan
beberapa tetes
lieberman burchard.

Glikosida merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida (Andar Subakti, 2018). Kata glikosida memiliki makna, yaitu suatu karbohidrat atau gula yang umumnya bersifat oksidator yang disebut dengan glikon. Sedangkan bukan gula disebut sebagai aglikon. Glikosida adalah senyawa alami yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian karbohidrat dan bagian bukan karbohidrat. Glikosida triterpenoid, steroid, dan flavonoid merupakan bagian glikosida bukan karbohidrat yang paling banyak ditemukan. Sedangkan bagian karbohidrat yang paling banyak ditemukan yaitu glukosa, galaktosa, xilosa, dan arabinosa (Rijai, 2016).

Senyawa glikosida dapat diperoleh dari berbagai macam tumbuhan dengan cara mengisolasinya. Pemisahan senyawa glikosida ini dapat dilakukan melalui beberapa tahapan, mulai dari skrinning fitokimia, ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi. Pada uji skrinning fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan (Fajarullah, Irawan, & Pratomo, 2014). Kemudian ekstraksi, merupakan proses pemisahan bahan alam dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi terdiri dari beberapa jenis yaitu maserasi, perkolasi, soxhlet, reflux dan destilasi uap. pemilihan jenis ekstraksi didasarkan pada sifat bahan dan senyawa yang akan di isolasi. Fraksinasi merupakan suatu metode pemisahan senyawa bahan alam berdasarkan kelarutan senyawa tersebut. Dan isolasi, merupakan proses pemurnian atau sepmisahan senyawa bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Berikut ini adalah contoh tumbuhan yang mengandung senyawa glikosida:

1. Majapahit (*Crescentia cujete*)

Penelitian yang telah dilakukan terhadap daun majapahit didapatkan hasil bahwa daun majapahit mengandung senyawa saponin steroid. Skrinning fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji busa dan uji pewarna Liebermann Bouchard, pada uji busa ekstrak daun majapahit memberikan hasil positif dengan terbentuknya busa lebih dari 10 menit dan pada uji warna LB ekstrak daun majapahit juga memberikan hasil positif dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi kuning. Selanjutnya proses ekstraksi simplisia daun majapahit dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut

metanol selama 5x24 jam, setelah itu ekstrak metanol daun majapahit di pekatkan sehingga diperoleh ekstrak metanol kental. Proses fraksinasi dimulai dengan proses ECC yaitu ekstrak metanol daun majapahit dipartisi dengan menggunakan dietil eter : air (1:1) proses ini diulang sebanyak tiga kali, kemudian hasil partisi ditambahkan pelarut n-butanol dan air (1:1) setelah itu diuapkan dan didapatkan hasil ekstrak metanol sebanyak 17 g dan ekstrak butanol. Setelah itu dilanjutkan dengan metode KLT dengan fase gerak nya adalah kloroform : metanol : air (13:7:2) dan disemprot dengan menggunakan H₂SO₄ 10% v/v. Hasil KLT menunjukkan warna noda ungu, jingga dan coklat. Selanjutnya pengujian KLTP dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : air (13:7:2), Hasil nya pada fraksi A terdapat 1 noda berwarna kuning sedangkan pada fraksi B dan C terdapat 1 noda berwarna jingga. Kemudian pada fraksi B dilakukan identifikasi ulang menggunakan metode KLT dua dimensi dan didapatkan hasil pada fraksi B merupakan senyawa tunggal murni ditandai dengan noda tunggal pada arah pertama maupun arah kedua. Selanjutnya melakukan uji spektrofotometri infra merah untuk menentukan spektrum senyawa murni, uji ini dilakukan dengan mencampurkan senyawa murni dari fraksi B dengan garam KBr dan kemudian dimasukkan ke dalam Acculab 2 dengan spektrofotometri infra merah, dan didapatkan hasil adanya gugus fungsi O-H, C=C, C-C, dan C-H maka dapat disimpulkan bahwa daun majapahit mengandung senyawa saponin (Firawati, 2018).

2. Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban)

Penelitian yang telah dilakukan terhadap herba pegagan. Didapatkan hasil bahwa herba pegagan mengandung saponin triterpen yang merupakan kelompok senyawa glikosida. Proses ekstraksi daun pegagan dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% : air dengan perbandingan 70 : 30, proses ini dilakukan selama tiga hari dengan menggunakan 1500 mL dan dua hari dengan menggunakan 1100 mL. Selanjutnya dilakukan uji skrinning untuk melihat ada tidaknya kandungan glikosida pada ekstrak daun pegagan, uji skrinning yang dilakukan adalah uji saponin dan reaksi positif nya beruap terbentuknya busa setelah dikocok dan tidak hilang setelah didiamkan maupun ditetesi HCl, pada uji saponin daun pegagan positif mengandung senyawa saponin. Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom dan fraksi yang dihasilkan ditampung pada botol vial untuk selanjutnya diidentifikasi menggunakan KLT. Pada proses KLT eluen yang digunakan adalah kloroform : metanol : aquades (30:10:1) dan jumlah fraksi yang diidentifikasi sebanyak 39 fraksi. Hasil positif pada sinar UV 366 nm ditandai dengan terbentuknya warna coklat-ungu setelah disemprotkan dengan anisaldehyd-asam sulfat dan pada sinar UV 254nm menunjukkan fluoresensi berwarna biru-ungu . Selanjutnya dilakukan uji KLTP dengan eluen kloroform : metanol : air (65:25:4 v/v) diamati dibawah sinar uv 366nm dan 254nm kemudian disemprot dengan pereaksi LB dan dipanaskan pada suhu 85-90°C. Hasil pada proses KLTP diperoleh 2 pita setelah diamati dengan pita masing-masing berwarna biru gelap dan biru tua. Setelah itu subfraksi diuji lagi dengan metode KLT dan hasil positif ditunjukkan dengan adanya spot berwarna ungu. Isolasi senyawa saponin pada daun pegagan dilakukan dengan menggunakan metode KLT dua dimensi dengan eluen yang digunakan adalah 6,9 mL kloroform + 2,7mL metanol + 0,4 mL air pada eluen pertama, sedangkan pada eluen kedua digunakan 5,3mL kloroform + 2,8mL asam asetat glasial + 1,1mL metanol + 0,7mL air, dan didapatkan hasil pada elusi I terbentuk spot tunggal berwarna biru pada R_f 0,5 dan pada elusi II terbentuk spot tunggal berwarna biru pada R_f 0,71. Berdasarkan hasil tersebut maka spot hasil KLT berwarna biru dengan R_f 0,5 merupakan hasil positif karena mendekati R_f madecassic acid, dan pada elusi II dengan

Rf 0,71 menunjukkan hasil positif juga karena mendekati hasil dari nilai Rf asiatic acid (Dewi, 2018).

3. Daun Bungkus (*Smilax rotundifolia*)

Penelitian yang telah dilakukan pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa daun bungkus mengandung senyawa saponin steroid. Proses ekstraksi yang dilakukan yaitu dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% , skrinning fitokimia ekstrak daun bungkus dilakukan dengan menggunakan metode uji saponin dan uji LB, dimana daun bungkus memberikan hasil positif. Selanjutnya proses fraksinasi dilakukan dengan metode ECC yaitu ekstrak dipartisi dengan menggunakan pelarut dietil eter dan pelarut n-butanol kemudian hasil fraksinasi di kentalkan dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 28,46 gram berwarna hijau pekat. Isolasi senyawa glikosida daun bungkus dilakukan dengan menggunakan metode KLTP, eluen yang digunakan adalah kloroform : etanol : air (10:6:1). Hasil KLTP didapatkan pada fraksi A berwarna hijau dengan nilai Rf 0,86 dan pada fraksi B berwarna hijau terang dengan nilai Rf 0,79. Kemudian dilakukan uji lebih lanjut pada fraksi B dengan menggunakan metode KLT dua dimensi dengan eluen untuk arah 1 adalah kloroform : etanol : air (10:6:1) dan untuk arah 2 adalah kloroform : etanol : air (15:6:1), didapatkan hasil berupa adanya spot tunggal pada lempeng silika gel. Kemudian fraksi B diuji dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet pada gelombang 200-400 nm dan didapatkan hasil yaitu terdapat serapan sebanyak 0,274 pada panjang gelombang 266,20 nm (Firawati & Iqbal, 2018).

4. Pelelep Pisang Uli (*Musa Paradisiaca* L.)

Penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa pelelep pisang uli mengandung senyawa saponin triterpen. Proses ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol, Skrinning fitokimia pelelep pisang dilakukan dengan menggunakan metode uji busa dimana pada sampel ekstrak pelelep pisang uli menghasilkan busa dengan ketinggian 2 cm dan bertahan selama 15 menit. Selanjutnya pada proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen yang digunakan yaitu kloroform :metanol :air (13:7:2) dengan pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm. Kemudian lempeng juga di semprotkan pereaksi Lieberman Burchard didapatkan hasil KLT berupa bercak noda berwarna kuning dibawah lampu UV 366 nm yang menandakan hasil positif. Selanjutnya diuji dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 220 nm dengan nilai absorbansi 0,639 dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis didapatkan nilai Rf senyawa saponin dari ekstrak pelelep pisang uli yaitu 0,825 sedangkan range Rf saponin yaitu 0,79-0,84. Hal tersebut menunjukan hasil positif pelelep pisang uli mengandung senyawa saponin triterpen.

5. Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil pada daun binahong mengandung senyawa saponin triterpen. Proses yang dilakukan pada isolasi daun binahong meliputi proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut metanol penggunaan pelarut metanol bertujuan agar hasil ekstraksi yang dihasilkan lebih banyak. Skrinning fitokimia daun binahong dilakukan dengan uji warna, sampel dimasukkan kedalam kloroform dan dipanaskan selama 5 menit dengan penangas air sambil dikocok kemudian ditambahkan beberapa tetes lieberman burchard hasil yang diperoleh berupa cincin warna coklat-ungu yang menandakan positif saponin triterpen. Kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi atau pemisahan senyawa menggunakan metode menggunakan metode KLT analitik, fase diam yang digunakan Silika gel 60 F254 dan eluen yang digunakan kloroform: metanol: air (13:7:2) selanjutnya dilakukan pengamatan pada lampu UV 254 dan 366 nm kemudian disemprotkan pereaksi lieberman burchard

didapatkan hasil bercak noda berwarna gelap atau ungu. Selanjutnya diisolasi menggunakan metode KLT preparatif dengan fase diam yang digunakan Silika gel 60 F254 dan eluen yang digunakan kloroform: metanol: air (13:7:2) selanjutnya dilakukan pengamatan pada lampu UV 254 dan 366 nm dan hasil yang diperoleh berupa noda gelap berwarna keunguan, kemudian untuk meyakinkan reaksi warna yang terjadi sekitar 1 cm panjang plat dikerok dan direaksikan dengan pereaksi LB (Lieberman Burchard) hasil yang diperoleh berwarna coklat. Menunjukkan hasil yang sama dengan uji warna yang telah dilakukan sebelum nya. Selanjutnya hasil dari metode KLT preparatif diidentifikasi dengan menggunakan KLT dua dimensi untuk mengetahui keberadaan isolat tunggal dengan menggunakan fase diam silika gel 60 F25 dengan 2 eluen yang berbeda kepolarannya dan diamati pada lampu UV 254 nm hasil yang didapatkan terdapat satu noda tunggal (Baderos, 2017). Kemudian diidentifikasi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis memiliki nilai absorbansi senyawa saponin sebesar 3,565 pada panjang gelombang maksimum 211.

Kesimpulan

Penulis memperoleh kesimpulan, lima tanaman tersebut positif mengandung senyawa glikosida saponin. Pada Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), Pelepah Pisang Uli (*Musa paradisiaca* L.), dan Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) saponin yang terkandung merupakan saponin triterpen. Sedangkan pada Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) dan Daun Bungkus (*Smilax rotundifolia*), saponin yang terkandung merupakan saponin steroid. Secara umum, identifikasi dan isolasi senyawa glikosida saponin dilakukan dengan cara mengekstraksi sampel secara maserasi dan dipartisi menggunakan pelarut polar seperti methanol, etanol, dan n-butanol, dilakukan skrining fitokimia dengan uji saponin dan uji pewarna Liebermann Burchard (LB), diisolasi dengan menggunakan KLT dan KLTP, kemudian dilakukan uji pemurnian dengan menggunakan KLT 2 Dimensi.

Bibliografi

- Andar Subakti, N. I. Nyoman. (2018). *Skrining Fitokimia Dan Analisis Total Fenol Pada Lulur Tradisional Bali Tangi*. Yogyakarta: Jurusan Analis Kesehatan.
- Amody, Zahira, & Anggreani, Kamila. (2017). Identifikasi Senyawa Glikosida Pada Akar Gebang (*Corypha Uta*) Asal Desa Landayya Kabupaten Bantaeng. *Majalah Farmasi Nasional*, 14(1), 8–13.
- Baderos, Ahmad. (2017). *Pemisahan senyawa steroidfraksi petroleum eter alga merah (Eucheuma cottonii) dengan metode kromatografi lapis tipis dan identifikasi menggunakan LC-MS*. Jawa Timur: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Dewi, N. L. A. (2018). Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). *Jurnal Farmasi Udayana*, 68-76.
- Firawati, F. (2018). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Butanol Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) dengan Metode Romatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri Infra Merah. *Jurnal Ilmiah Pena: Sains dan Ilmu Pendidikan*, 10(1), 12-17.
- Fajarullah, Aulia, Irawan, Henky, & Pratomo, Arief. (2014). Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Lamun Thalassodendron Ciliatum Pada Pelarut Berbeda. *Repository UMRAH*.
- Firawati, F., & Pratama, M. I. (2018). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Daun Bungkus (*Smilax rotundifolia*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Ultraviolet. *Jurnal Farmasi*, 6(2), 115-121.

- Khotimah, Khusnul. (2016). *Skrining fitokimia dan identifikasi metabolit sekunder senyawa karpain pada ekstrak metanol daun Carica Pubescens Lenne & K. Koch dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry)*. Jawa Timur: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Marni, Marni, & Ambarwati, Retno. (2015). Khasiat jamu cekok terhadap peningkatan berat badan pada anak. *KEMAS: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 11(1), 102–111.
- Najib, Ahmad. (2018). *Ekstraksi senyawa bahan alam*. Yogyakarta: Deepublish.
- Prayoga, Dewa Gede Eka, Nocianitri, Komang Ayu, & Puspawati, Ni Nyoman. (2019). Identifikasi senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar daun pepe (*gymnema reticulatum* br.) pada berbagai jenis pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 111–121.
- Rachman, Arif, Wardatun, Sri, & Wiendarlina, Ike Yulia. (2018). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1).
- Rijai, Laode. (2016). Senyawa glikosida sebagai bahan farmasi potensial secara kinetik. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(3), 213–218.
- Rikomah, S. E., & Elmitra, E. (2017). Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Uli (*Musa paradisiaca* L.). *SCIENTIA: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 7(1), 56-60.
- Saifudin, Azis. (2014). *Senyawa alam metabolit sekunder teori, konsep, dan teknik pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.