

ISOLASI SENYAWA DITERPENOIDA DARI EKSTRAK METANOL DAUN TUMBUHAN MERAMBUNG (*Vernonia arborea Buch-Ham.*)

Maniur Arianto Siahaan

STIKes Mutiara Indonesia

Email: meniqaryanto@gmail.com

ABSTRAK

Isolasi senyawa terpenoida yang terkandung di dalam daun tumbuhan Merambung (*Vernonia arborea Buch-Ham.*) telah dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan dan diekstraksi partisi dengan n-heksan. Fraksi n-heksana dipekatkan dan dikromatografi kolom menggunakan fasa gerak CHCl_3 : MeOH (80 : 20)^{v/v} dan fasa diam Silika gel 40 (70-230 mesh ASTM). Senyawa yang telah dimurnikan diperoleh dalam bentuk gum berwarna coklat 55 mg. Senyawa ini diidentifikasi dengan menggunakan spektroskopi Ultraungu-Tampak (UV-Vis., Spektroskopi Infra Merah (FT-IR), Spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti Proton (¹H-RMI) dan Spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti Karbon (¹³C-RMI) . Dari data hasil spektrum tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut adalah senyawa diterpenoida.

Kata Kunci: Isolasi, *Vernonia arborea Buch-Ham*, *Diterpenoida*.

PENDAHULUAN

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan obat tradisional, misalnya dari tumbuhan, binatang dan mineral. Penggunaan tumbuh-tumbuhan tersebut sebagai ramuan obat untuk penyakit-penyakit tertentu. Ini merupakan suatu bukti bahwa didalam ramuan obat tersebut terdapat senyawa-senyawa kimia yang sangat berkhasiat. (Hariana, 2004)

Tumbuh-tumbuhan termasuk salah satu sumber bahan alam hayati yang memegang peranan penting sebagai sumber zat kimia berkhasiat yang terdapat di alam. Kimia bahan alam selalu menarik perhatian para ahli kimia untuk mencari senyawa baru.

Senyawa kimia beserta derivat-derivatnya yang bermanfaat untuk kehidupan pada tumbuhan merupakan proses yang sangat menarik untuk dipelajari sehingga mendorong perhatian peneliti untuk mengenal dan mengetahui struktur senyawa hasil isolasi senyawa kimia yang terkandung pada

tumbuhan. Indonesia termasuk salah satu negara yang mempunyai banyak tumbuhan berkhasiat. Salah satu tumbuhan tersebut adalah Merambung, yang lebih sering disebut Sembung Jawa (*Vernonia arborea Buch-Ham.*) Bagian yang sering digunakan sebagai obat adalah daun, akar yang berfungsi sebagai obat luar pada luka, terpukul, bisul, koreng, kulit gatal-gatal.

Penelitian terhadap tumbuhan ini belum banyak dilakukan. Namun dari studi literatur, penelitian yang sudah dilakukan terhadap tumbuhan ini oleh Manjunatha, 2005, menyimpulkan bahwa ekstrak metanol daun *Vernonia arborea* memberikan efek aktivitas penyembuhan luka yang baik.

Dari hasil fitokimia yang dilakukan terhadap daun tumbuhan *Vernonia arborea* dengan menggunakan pereaksi-pereaksi terpenoida memberikan hasil yang positif.

METODOLOGI

Untuk mengisolasi senyawa diterpenoid digunakan daun tumbuhan merambung, berupa serbuk halus kering sebanyak 2000 gram. Tahap awal dilakukan uji skrining fitokimia dengan menggunakan pereaksi-pereaksi untuk senyawa terpenoida, yaitu pereaksi Lieberman-Burchard yang memberikan warna merah jingga atau ungu dan uji noda pada KLT dari ekstrak metanol dengan menggunakan pereaksi Cerium(IV) Sulfat sebagai pemfiksasi.

Tahap isolasi yang dilakukan:

1. Ekstraksi Maserasi
2. Ekstraksi Partisi
3. Analisis Kromatografi Lapis Tipis
4. Analisis Kromatografi Kolom

Tahapan analisis hasil isolasi yang dilakukan adalah:

1. Analisis Kromatografi Lapis Tipis, untuk menentukan harga R_f
2. Identifikasi dengan menggunakan Spektrometri Infra Merah (FT-IR), ¹H-NMR dan ¹³C-NMR.

Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini, alat-alat yang digunakan adalah Gelas ukur gelas beaker, gelas Erlenmeyer, corong saring, corong pisah, kolom kromatografi, tabung reaksi, Plat skrining, neraca analitis, rotari evaporator, labu, alat pengukur titik lebur, plat KLT preparatif, Spektrofotometer FT-IR, Spektrometer NMR ECA 500 MHz, penangas air

Adapun bahan-bahan yang digunakan adalah daun tumbuhan merambung (*Vernonia arborea* Buch-Ham.), Metanol destilasi, n-heksana teknis, etil asetat teknis, kloroform p.a. Merck, Silika Gel 60GF₂₅₄, Silika Gel 60 Type E, pereaksi Salkowsky, pereaksi Lieberman-Burchard.

Uji Pendahuluan terhadap Ekstrak daun tumbuhan Merambung Serbuk daun tumbuhan *Vernonia arborea* Ham. diidentifikasi dengan

cara: Uji busa, Skrining fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Uji Busa

Serbuk daun tumbuhan merambung sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 10 ml aquades dan dipanaskan pada penangas air. Lalu dikocok-kocok dengan kuat sehingga terbentuk busa dan didiamkan selama 10 menit. Busa yang hilang menunjukkan bahwa dalam daun tumbuhan merambung tidak terdapat senyawa glikosida

Skrining Fitokimia

Serbuk daun tumbuhan merambung sebanyak 10 gram diekstraksi dengan metanol panas. Ekstrak yang diperoleh ditest dengan pereaksi sebagai berikut:

- Pereaksi Salkowsky yaitu penambahan H₂SO_{4(p)} terhadap ekstrak dan menghasilkan larutan berwarna merah.
- Pereaksi Lieberman-Burchard yaitu dengan penambahan asam sulfat pekat dengan asam asetat anhidrid (1 : 20 v/v) dan menghasilkan larutan berwarna hijau kebiruan

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis KLT dilakukan terhadap ekstrak metanol dengan menggunakan fasa diam silika gel 60GF₂₅₄. Fasa gerak yang digunakan adalah campuran kloroform : metanol dengan perbandingan (100:0)v/v ; (90:10)v/v ; (80:20)v/v ; (70:30)v/v. Prosedur analisis kromatografi lapis tipis : Dimasukkan 10 ml larutan fase gerak kloroform : metanol dengan perbandingan (100:0) v/v ke dalam bejana kromatografi, kemudian dijenuhkan. Ditotolkan ekstrak pekat metanol pada plat KLT. Dimasukkan plat ke dalam bejana yang telah berisi pelarut yang telah dijenuhkan, lalu ditutup dan dielusi. Plat yang telah dileusi dikeluarkan dari bejana, lalu dikeringkan. Diamati bercak

yang timbul dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian di fiksasi dengan larutan cerium sulfat, dipanaskan diatas pemanas listrik dan dihitung harga Rf yang diperoleh. Hasil pemisahan yang baik diberikan pada fase gerak CHCl_3 : MeOH (80 : 20) v/v . Harga Rf dapat dilihat pada kromatogram (Lampiran C)

Prosedur untuk memperoleh Senyawa Kimia dari Ekstrak Daun Tumbuhan Merambung

Dalam penelitian ini kami menggunakan cara ekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk daun tumbuhan merambung ditimbang sebanyak 2000 gram, dimasukkan ke dalam bejana dan ditambahkan dengan pelarut metanol sampai semua sampel terendam oleh pelarut dan dibiarkan selama 72 jam dan sesekali diaduk. Maserat disaring dan diperoleh ekstrak. Maserasi dilakukan berulang kali dengan menggunakan pelarut metanol sampai ekstrak metanol yang diperoleh memberikan hasil uji yang negatif pada pereaksi identifikasi terpenoida. Ekstrak metanol yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatan dengan menggunakan alat rotari evaporator pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol, kemudian diekstraksi partisi dengan menggunakan pelarut n-heksana, sehingga terbentuk lapisan n-heksana dan lapisan metanol. Ekstraksi partisi dilakukan berulang-ulang sampai fraksi n-heksana jernih.

Isolasi Senyawa Terpenoida dengan Kromatografi Kolom

Isolasi senyawa terpenoida secara kolom dilakukan terhadap ekstrak pekat n-heksana daun tumbuhan merambung. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60 G dan fasa gerak adalah campuran pelarut kloroform : metanol. Prosedurnya: Dirangkai alat kolom kromatografi, dengan terlebih dahulu membuburkan silika gel 60G dengan

menggunakan n-heksan, diaduk hingga homogen lalu dimasukkan ke dalam kromatografi kolom. Dielusi dengan menggunakan kloroform 100% hingga silika gel padat dan homogen. Dimasukkan 40 gram ekstrak n-heksana daun tumbuhan merambung ke dalam kolom kromatografi yang telah berisi bubuk silika gel di puncak kolom, lalu ditambahkan fasa gerak kloroform : metanol (80 : 20) v/v secara perlahan-lahan dan diatur aliran fasa gerak yang keluar dari kolom sama banyaknya dengan penambahan fasa gerak dari atas kolom, dan ditampung hasilnya dalam botol bervolume 5 ml, lalu dilakukan KLT untuk tiap fraksi.

Uji Kemurnian Hasil Kromatografi Kolom dengan KLT

Uji kemurnian senyawa dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis dengan menggunakan fase diam silika gel 60 GF₂₅₄ dengan fase gerak CHCl_3 : MeOH (80 : 20) v/v . Prosedur : Dimasukkan 10 ml larutan fase gerak kedalam bejana kromatografi, lalu dijenuhkan. Ditotolkan kristal yang sebelumnya dilarutkan pada plat KLT. Dimasukkan plat KLT tersebut kedalam bejana kromatografi yang telah jenuh. Setelah pelarut fase gerak merembes sampai batas tanda, plat KLT dikeluarkan dari bejana, dikeringkan, dan difiksasi dengan menggunakan pereaksi Cerium sulfat menghasilkan bercak coklat yang menunjukkan uji positif adanya senyawa terpenoida.

Analisis spektrofotometer dilakukan di Pusat Penelitian Kimia-LIPI, Serpong-Tangerang, yaitu uv-vis, FT-IR, H-NMR dan C-NMR.

HASIL DAN DISKUSI

Daun tumbuhan Merambung (*Venonia arborea* Buch-Ham.) dinyatakan mengandung senyawa terpenoida berdasarkan hasil skrining

fitokimia yang dilakukan dengan pereaksi Pereaksi Salkowsky dan Pereaksi Lieberman-Burchard. Terhadap daun tumbuhan Merambung (*V.arborea Buch-Ham.*) dilakukan ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut metanol (pelarut polar) dan selanjutnya dilakukan ekstraksi partisi dengan menggunakan pelarut n-heksan (non polar) dengan tujuan untuk memisahkan senyawa yang bersifat polar dengan non polar. Setelah dilakukan ekstraksi partisi dengan pelarut non polar selanjutnya ekstrak n-heksana dari hasil partisi dikerjakan dengan KLT untuk mencari perbandingan pelarut yang sesuai pada kromatografi kolom, senyawa yang diperoleh dari hasil kolom dilihat hasil pemisahannya di bawah lampu UV pada short wave dan long wave dan direkristalisasi.

Dari spektrum FT-IR diperoleh :

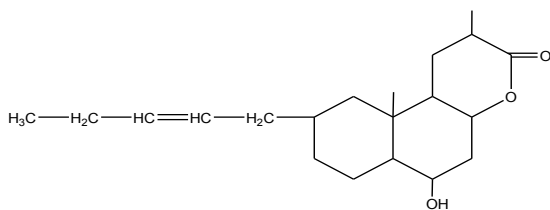
Pada bilangan gelombang 3232,77 – 3348,42 cm^{-1} puncak melebar, (menunjukkan adanya vibrasi dari atom C yang mengikat gugus –OH); pada bilangan gelombang 2850 – 2918,30 cm^{-1} puncak tajam, (menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatis); pada bilangan gelombang 1732,08 cm^{-1} puncak tajam sedang, (menunjukkan adanya vibrasi C=O dari keton siklik); pada bilangan gelombang 1465,90 cm^{-1} puncak sedang (menunjukkan adanya vibrasi CH_2); pada bilangan gelombang 1390,68 cm^{-1} puncak melebar, (menunjukkan adanya vibrasi gugus – CH_3 , – COCH_3); pada bilangan gelombang 1180,44 – 1195,87 cm^{-1} puncak tajam, (menunjukkan adanya vibrasi C-O). Dari spektrum ini di duga bahwa dalam senyawa ini terdapat gugus lakton.

Dari spektrum $^1\text{H-NMR}$ dengan $^{13}\text{C-NMR}$ diperoleh :

Pergeseran kimia pada daerah $\delta = 0,8610$ ppm merupakan puncak triplet menunjukkan pergeseran kimia proton dari – CH_3 , yang

diperkuat dengan adanya signal karbon dari – CH_3 pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ di daerah 14,2206 ppm; 14,2588 ppm. Pergeseran kimia pada daerah $\delta = 1,238$ ppm merupakan puncak singlet menunjukkan pergeseran kimia proton dari – CH_2 , diperkuat dengan adanya signal karbon dari – CH_2 pada daerah 22,8337 – 34,298348 ppm dalam $^{13}\text{C-NMR}$. Pergeseran kimia pada daerah $\delta = 2,3252$ ppm merupakan puncak triplet yang menunjukkan pergeseran kimia proton dari lakton, dimana pada $^{13}\text{C-NMR}$ terlihat adanya signal karbon C = O dari cincin lakton pada bilangan 174,5217 dan 174, 5694 ppm. Pergeseran kimia pada daerah $\delta = 4,0963$ – 4,1525 ppm merupakan puncak multiplet menunjukkan pergeseran kimia proton dari –OH, dimana pada $^{13}\text{C-NMR}$ terlihat adanya signal karbon yang mengikat gugus –OH pada 70,3727 ppm. Pergeseran kimia pada daerah $\delta = 5,3210$ – 5,3663 ppm merupakan puncak multiplet menunjukkan pergeseran kimia proton dari $\text{CH}=\text{CH}$, dimana pada $^{13}\text{C-NMR}$ terdapat adanya signal karbon dari C=C, pada daerah 128,024 ppm – 132,0952 ppm. Menurut Fujita,dkk yang telah mengisolasi senyawa diterpenoida dari tumbuhan *Andrographolide paniculata* (Acanthaceae) atau yang dikenal dengan Sambiloto. Tumbuhan ini memiliki rasa pahit disebabkan adanya senyawa diterpenoida lakton. (Fujita, dkk, 1984). Dari hal ini kami menduga bahwa tumbuhan Merambung (Asteraceae) yang mempunyai rasa pahit juga mengandung senyawa diterpenoida lakton, sama seperti yang terdapat pada Sambiloto (Acanthaceae)

Dari data IR, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$, kami menyimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa terpenoid golongan diterpen siklis yang memiliki gugus lakton, dengan bentuk perkiraan adalah



Gambar 1. Perkiraan Gugus Lakton

KESIMPULAN

Dari hasil interpretasi spektrum Inframerah (FT-IR), resonansi magnetik inti proton (¹H-NMR), Spektrofotometer Resonansi Magnetik Karbon-13 (¹³C-NMR), spektrofotometer UV-Visible dan juga berdasarkan literatur bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa terpenoida golongan diterpena.

Dari hasil spektroskopi yang diperoleh dari analisis spektrometer, struktur senyawa diterpen hasil isolasi belum dapat ditentukan, karena masih diperlukan data spektroskopi yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., 1997. *Teknik Kromatografi*, Edisi Pertama, Yogyakarta: Penerbit Andi Offset.
- Creswell, C.J., 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Edisi ke-2. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB,
- Disli, A; Bir. Y, Galaticat, 2002. *A New Diterpen from Sideritis galatica*, J.Fac. Pharm, Ankara
- Fujita, Tetsuro; Fujitani, R ; Takeda,Y, 1984. *On the Diterpenoids of Andrographis paniculata: X-Ray Cristallographic Analysis of Andrographolide and Structure Determination of New Minor Diterpenoids*, Chem. Pharm. Bull. 32(6)2117-2125
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Terbitan ke-2. IT Bandung

Hanson, J.R, 1998. *Physic and Environmental Science, School of Chemistry*, University of Sussex, Brighton, Sussex.

Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*, terbitan kedua, a.b: Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, ITB Bandung.

Wirahadikusumah, M., 1985. *Biokimia Metabolisme Energi Karbohidrat dan Lipid*, Penerbit ITB Bandung.

Hariana., 2004. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Erlangga Jakarta.

Herbert. R.B, 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*, Edisi ke-2, cetakanke-1, terjemahan Bambang Srigandono, IKIP Press Semarang.

Heyne, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid II, Yayasan Sauna Wana Jaya, Jakarta.

Keese, R., Muller, R.K., Toube T. P. 1982. *Fundamentals of Preparative Organic Chemistry (Ellis Horwood Series in Organic Chemistry)*, Ellis Horwood Ltd, Publisher.

Levy.C.G; Nelson L.G. 1972. *Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemistry*, Wiley-Interscience, Sidney-Toronto.

Makin, H, L, 1975. *Biochemistry Of Steroids Hormones*, Black well scientific Oxford, London.

Manjunatha, B.K; SM Vidya,. 2005. *Evaluation of Wound-Healing Potency of Vernonia Arborea*. Hk.Indian J Pharmacol, 223-226.

Noerdin, D. 1985. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Penerbit Angkasa. Bandung.

Pavia, L. D, 1979. *Introduction to Spectroscopy a Guide for Studens of Organic Chemistry*. Saunders College. Philadelphia.

Sastrohamidjojo, H., 2001. *Kromatografi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta.

- Sorrel, T.N. 1988. *Interpreting Spectra of Organic Molecules*, Unversity Science Books, Mill Valley, California.
- Sudjadi, 1985. *Metode Pemisahan*. Kanisius, Yogyakarta.