

Isolasi Senyawa Terpenoid Dari Fraksi *n*-Heksana Daun Bilaran Tapah (*Argyreia nervosa* (Burm. F.) Asal Kalimantan Selatan

Sutomo^{1,2*}, Putri Helena Junjung Buih², Arnida²

¹Pusat Studi Obat Berbasis Bahan Alam Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

²Program studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

Article info	Abstract
History Submission: 08-08-2019 Review: 12-01-2020 Accepted: 13-07-2020 *Email: Sutomo01@ulm.ac.id DOI: 10.33096/jffi.v7i1.527 Keywords: <i>Argyreia nervosa</i> (Burm. F.); ethanol extract; isolation; identification; <i>n</i> -hexane	<p>One of the plants that is used empirically by people in South Kalimantan as a traditional medicine is bilaran tapah (<i>Argyreia nervosa</i> (Burm. F.). This plants that has purposed antiinflammation, antimicroba, antidiabetic, diuretic, and aphrodisiac. This research aims to isolate and explore the chemical compounds of <i>n</i>-hexana fraction of <i>A. nervosa</i> leaves. Extraction is conducted by using maceration method. Isolation is conducted by using Vacumn Liquid Chromatography and gravity chromatography column. Identification qualitative assay of compound used TLC test, UV-Vis and FTIR spectrophotometry. The extraction of 500 grams <i>A. nervosa</i> leaves rough powder with 96% ethanol extracts produces 16,92% of rendement. The fractionation of 30 grams ethanol extracts with <i>n</i>-hexane produces 23,60% of rendement. <i>N</i>-hexane fraction by using VLC with mobile phase <i>n</i>-hexane- ethyl acetate (25:1; 20:1; 15:1; 10:1; 9:1; 8:2; 7:3 ; and 6:4) v/v produces fractions A, B, C, D, E, F, G, and H. Fraction C is chosen to be isolated by using column chromatography with mobile phase <i>n</i>-hexane : ethyl acetate (20:1)v/v. TLC qualitative test with ammonia vapor, dragendorff, and Liebermann-Burchard reagent shows that C-4 isolates contains terpenoid compounds. Analysis of C-4 isolates by using UV-Vis spectrophotometry reach peak at λ 245 nm. Analysis FTIR spectra shows that the functional groups of C-4 isolates are -OH (3309.85 cm⁻¹), -CH aliphatic (2939.52 cm⁻¹ and 2870.08 cm⁻¹), C = C (1635.64 cm⁻¹) and C-O (1033,85 cm⁻¹).</p>

I. Pendahuluan

Penanggulangan terhadap berbagai penyakit dengan memanfaatkan tumbuhan obat tradisional semakin banyak digunakan masyarakat seiring dengan slogan *back to nature* dan didukung oleh potensi tumbuhan obat yang cukup besar di Indonesia (Ayuni & Sukarta, 2013). Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan (Aksara *et al.*, 2013). Kandungan senyawa tersebut penting diketahui untuk memperkirakan khasiat serta menentukan metode ekstraksi untuk mengisolasi zat aktif yang ada didalamnya (Atmoko & Ma'ruf, 2009).

Kalimantan Selatan sebagai salah satu wilayah yang memiliki hutan yang kaya bahan alam dan berkhasiat sebagai obat. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional adalah bilaran tapah (*Argyreia nervosa* (Burm. F.). Tumbuhan ini secara empiris digunakan oleh masyarakat Kalimantan selatan sebagai obat batuk dan demam (antipiretik). Hasil pendekatan biogenis memberikan informasi bahwa genus *Argyreia*

memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, imunomodulator, antitumor, antidiabetes, hipoglikemia, spasmolitik, dan antimikroba (Srivastava *et al.*, 1998; Joseph *et al.*, 2011; Habbu *et al.*, 2008). Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daun *A. nervosa* menunjukkan ekstrak tersebut mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid, dan antrakuinon (Sutomo *et al.*, 2016). Ermawati (2017) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *A. nervosa* berpotensi sebagai antimalaria.

Berdasarkan informasi di atas, maka perlu dilakukan eksplorasi senyawa dari fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol daun *A. nervosa*. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengisolasi salah satu senyawa dari fraksi *n*-heksana menggunakan metode kromatografi cair vakum dan dilanjutkan dengan metode kromatografi kolom gravitasi. Data yang diperoleh dapat memberikan gambaran beberapa senyawa dalam fraksi *n*-heksana daun *A. nervosa* dan profil spektrum isolat menggunakan spektroskopi FTIR. Gambaran profil kromatogram dan spektroskopi isolat dapat dijadikan informasi ilmiah untuk penelitian yang lebih komprehensif



dan pembanding dalam aktifitas terhadap senyawa yang serupa.

II. Metode Penelitian

II.1 Pengambilan sampel dan Pembuatan Serbuk Simplisia

Proses pengambilan sampel daun *A. nervosa* dilakukan di Daerah Rantau kabupaten Tapin, Kalimantan Selatan, yaitu di KHDTK Desa Kelumpang yang berada di bawah pengelolaan Balai Penelitian Kehutanan Banjarbaru. Daun *A. nervosa* yang telah disortasi basah dan dicuci selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara dikeringanginkan. Selanjutnya dilakukan sortasi kering dan penyerbukan menjadi serbuk kasar untuk memperluas permukaan bahan sehingga proses ekstraksi dapat berjalan maksimal (BPOM RI, 2013).

II.2 Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yaitu serbuk kasar ditimbang sebanyak 1 kg dan dimasukkan ke dalam maserator. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% hingga 2 cm diatas permukaan sampel. Ekstraksi dilakukan selama 24 jam dan setiap 4 jam dilakukan pengadukan. Setelah disaring dilakukan remaserasi kembali sebanyak 2 kali dan semua ekstrak cair (filtrat) diuapkan menggunakan rotary evaporator suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak kental, selanjutnya diuapkan kembali menggunakan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap.

II.3 Fraksinasi

Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan *n*-heksana. Ekstrak ditimbang sebanyak 15 gram selanjutnya disuspensikan dengan akuades sebanyak 37,5 mL (1:2,5) dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Pelarut *n*-heksana sebanyak 75 mL ditambahkan ke dalam corong pisah yang berisi suspensi ekstrak, digojog hingga terbentuk 2 lapisan. Senyawa yang larut dalam *n*-heksana berada di lapisan atas. Proses fraksinasi diulangi sebanyak 8 kali dan semua fraksi *n*-heksana diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C hingga didapatkan fraksi kental. Fraksi kental diuapkan kembali menggunakan waterbath hingga diperoleh bobot tetap sebagai fraksi *n*-heksana dan disimpan untuk dilakukan isolasi.

II.4 Pengujian KLT

Analisis kualitatif dilakukan terhadap tumbuhan uji menggunakan pereaksi semprot H₂SO₄ 10% terhadap hasil KLT (kromatogram). Sampel dari ekstrak etanol dan fraksinya dilakukan uji KLT menggunakan fase gerak *n*-heksana-etil asetat (9:1)v/v. Kromatogram diamati pada lampu UV 254 nm dan 366 nm, selanjutnya disemprot dengan penampak bercak H₂SO₄ 10%. Bercak yang muncul dicatat dan dihitung nilai *HRf* nya (Dirjen POM, 1987).

II.5 Isolasi Senyawa Terpenoid Secara Eksploratif

1. Metode Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Tiga gram fraksi *n*-heksana dielusi dengan gradien fase gerak campuran *n*-heksana-etil asetat (25:1; 20:1; 15:1; 10:1; 9:1; 8:2; 7:3; dan 6:4)v/v. Masing-masing fraksi menggunakan fase gerak sebanyak 200 mL, sehingga secara berturut-turut didapatkan fraksi A, B, C, D, E, F, G, dan H. Fraksi hasil KCV diuapkan, selanjutnya dilakukan KLT. Isolasi dilanjutkan terhadap fraksi yang menunjukkan profil kromatogram yang baik dengan menggunakan kromatografi kolom (KK) gravitasi.

2. Metode Kromatografi Kolom Gravitasi

Kromatografi kolom dilakukan terhadap fraksi C dan D (hasil KCV) yang didasarkan dari profil kromatogram sebelumnya. Pada fraksi C dan D terdapat 2 bercak yang berpendar pada lampu UV 366 nm berwarna kemerahan pada *HRf* 55 dan putih pada *HRf* 75, sedangkan pada lampu UV 254 nm tidak menunjukkan bercak. Hasil KLT fraksi D terdapat 2 bercak yang nampak pada lampu UV 254 nm dan berpendar pada UV 366 nm dengan nilai *HRf* sebesar 69 dan 80. Berdasarkan hasil elusi pengamatan terhadap kromatogram dan jumlah fraksi yang didapat, dipilih fraksi C untuk dilanjutkan ke tahap KK. Untuk pemeriksaan kemurnian isolat dilakukan dengan kromatografi lapis tipis 2D, sedangkan untuk melihat gugus fungsi dari isolat dilakukan dengan spektroskopi FT-IR (Sastrohamidjojo, 2001; Pavia *et al.*, 2001; Sutomo, 2014; Azhari, 2016).

3. Pemeriksaan kemurnian dengan kromatografi lapis tipis (KLT) 2 dimensi

Senyawa hasil isolasi dilakukan uji kemurniannya dengan KLT 2 dimensi menggunakan fase gerak dengan kepolaran yang berbeda. Fase gerak yang pertama digunakan adalah *n*-heksana : etil asetat (9:1) v/v dan fase gerak kedua digunakan yang lebih polar yaitu *n*-heksana : etil asetat (8:2) v/v. Jika bercak yang dihasilkan menunjukkan bercak tunggal maka dapat dikatakan bahwa isolat telah murni

4. Identifikasi Isolat secara kualitatif

Identifikasi dilakukan terhadap isolat menggunakan pereaksi spesifik untuk golongan flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Uji dilakukan melalui uji semprot terhadap kromatogram, yaitu flavonoid (diuapi dengan amonia), alkaloid (disemprot dengan dragendorff), dan terpenoid (disemprot dengan Liebermann-Burchard).

5. Identifikasi senyawa aktif

Spektrofotometri UV-Vis

Sampel dilarutkan dengan 5 mL metanol p.a selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet, demikian juga dengan blanko. Larutan sampel dan blanko diukur pada panjang gelombang 200-800 nm (Silverstain *et al.*, 1986; Sastrohamidjojo, 2001; Pavia *et al.*, 2001; Sutomo, 2014; Azhari 2016). Data yang diperoleh dianalisis untuk mengetahui panjang gelombang dari isolat

Spektrofotometri Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

Senyawa hasil isolasi (isolat) yang akan diukur digerus bersama KBr (0,2-0,5 mg isolat + 100 mg KBr). Campuran dikempa (dibuat pelet) dan pelet yang telah dibuat ditempatkan pada kisi NaCl. Dilakukan pengukuran dengan alat FTIR didaerah bilangan gelombang tengah infra merah (4000-400 cm^{-1}) pada resolusi 16 cm^{-1} (Silverstain *et al.*, 1986; Pavia *et al.*, 2001; Sastrohamidjojo, 2001; Sutomo, 2014; Azhari 2016). Data yang diperoleh dianalisis untuk mengetahui gugus fungsi dari isolat.

III. Hasil Dan Pembahasan

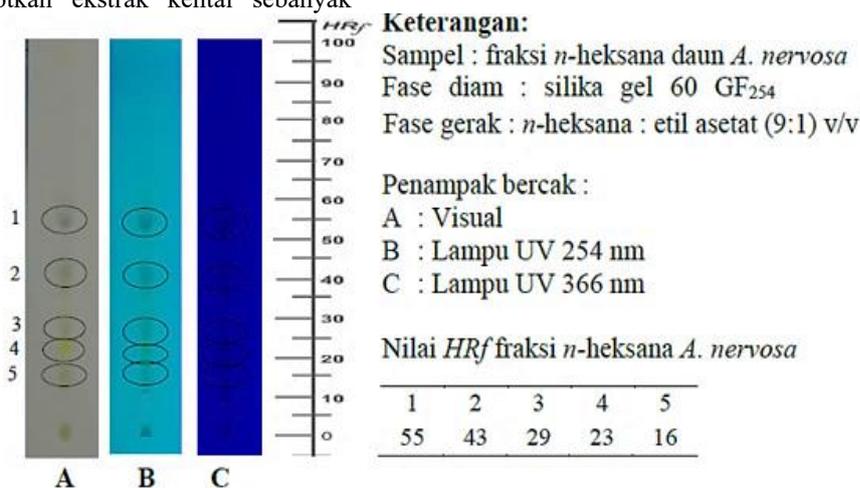
III.1 Ekstraksi

Hasil ekstraksi terhadap 1 kg serbuk kasar simplisia daun *A. nervosa* menggunakan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak kental sebanyak

169,16 g (16,92%)b/b. Karakteristik ekstrak secara organoleptik berwarna hijau tua, bau khas, dan rasa kas agak sepat.

III.2 Fraksinasi ekstrak metanol daun *A. nervosa* dengan *n*-heksana

Ekstrak etanol sebanyak 30 gram difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana. Fase *n*-heksana diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh fraksi kental dengan bobot tetap. Fraksi kental *n*-heksana yang diperoleh adalah sebesar 7,08 g (23,60%). Profil kromatogram dari fraksi *n*-heksana menunjukkan bercak dengan nilai *HRf* 16, 23, 29, 43 dan 55. Hasil uji kromatografi lapis tipis fraksi *n*-heksana disajikan pada Gambar 1.

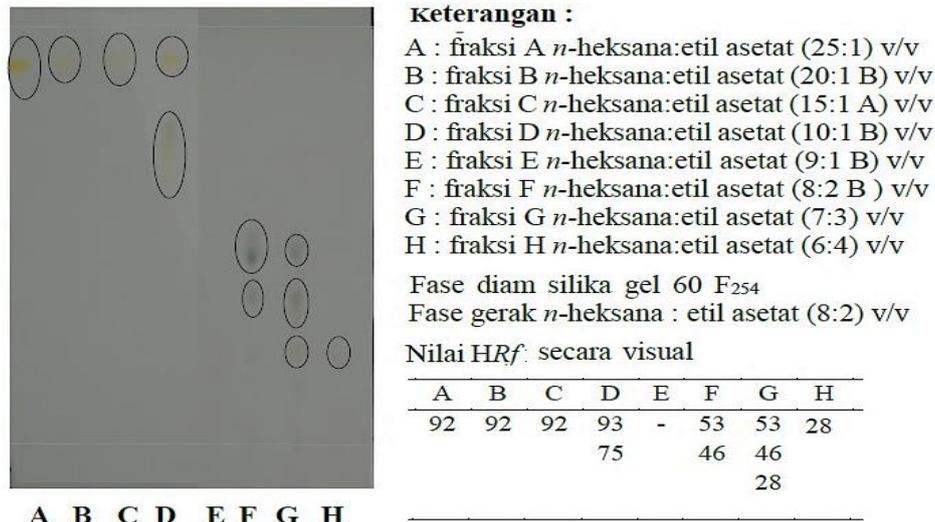


Gambar 1. Kromatogram fraksi *n*-heksana daun *A. nervosa*

III.3 Isolasi dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Hasil KCV masing-masing gradien yang diperoleh di KLT dengan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (8:2) v/v dan diidentifikasi dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm, serta pereaksi umum H_2SO_4 10%. Fraksi yang di KLT dikelompokkan sesuai dengan gradien fase gerak yang digunakan yaitu *n*-heksana-etil asetat (25:1); (20:1); (15:1); (10:1); (9:1); (8:2); (7:3); dan (6:4) sebagai fraksi A, B, C, D, E, F, G, dan H. Fraksi A, B, C, D, E, F, G,

dan H masing-masing menunjukkan 1, 1, 1, 2, 1, 0, 2, 3, dan 1 bercak, dimana kromatogram disajikan pada Gambar 2.

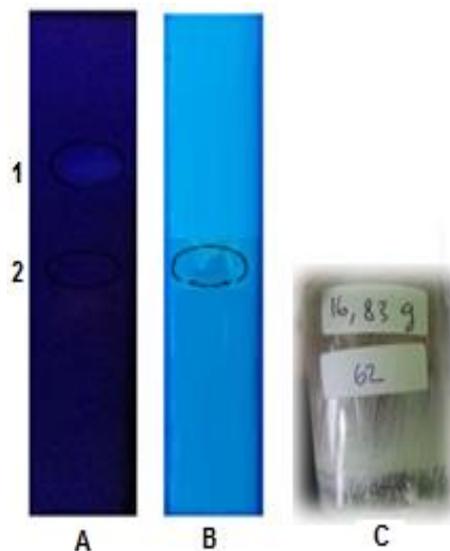


Gambar 2. Kromatogram dari fraksi *n*-heksana daun *A. nervosa* menggunakan KCV

III.4 Isolasi dengan KK Gravitasi

Fraksi yang dipilih untuk KK gravitasi adalah fraksi C karena memiliki jumlah yang relatif banyak. Setelah di KLT kembali dengan fase gerak *n*-heksana-etil asetat (9:1) didapatkan kromatogram dengan nilai *HR_f* 75 dan 55 seperti disajikan pada Gambar 3A. Isolasi dengan menggunakan KK gravitasi menggunakan fase gerak *n*-heksan-etil asetat (20:1)v/v didapatkan beberapa isolat yang

terdiri dari isolat C-1, C-2, C-3, C-4, C5, C-6, dan C-7. Isolat C-4 merupakan isolat yang paling banyak berupa kristal berwarna putih berbentuk seperti jarum (Gambar 3C). Hasil KLT menggunakan fase gerak *n*-heksana-etil asetat (9:1) menunjukkan senyawa tunggal dengan dengan nilai *HR_f* 55 (Gambar 3B). Identifikasi menggunakan pereaksi semprot Liebermann-Burchard menunjukkan bahwa isolat merupakan senyawa golongan terpenoid.

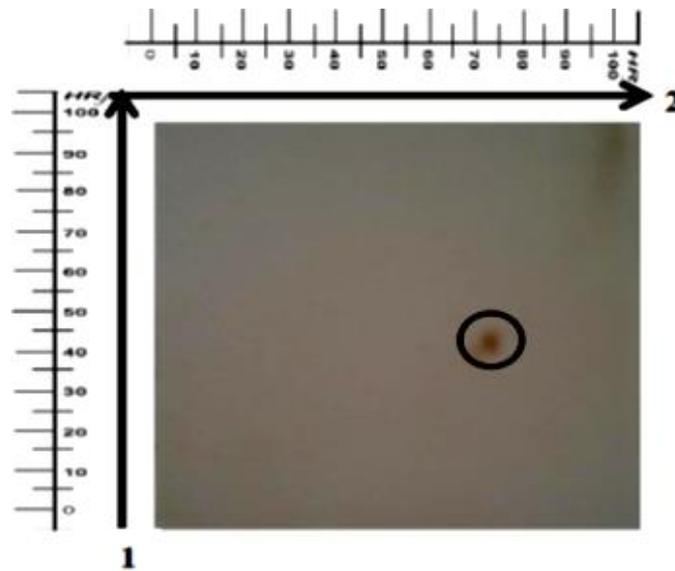


Gambar 3. Kromatogram fraksi C hasil KCV (A) dan kromatogram isolat dari hasil KK gravitasi (B) serta bentuk isolat C4

III.5 Pemeriksaan Kemurnian dengan KLT 2 Dimensi

Pemeriksaan kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan uji KLT 2 dimensi. Fase gerak yang digunakan adalah (1) *n*-heksana : etil asetat (9:1)v/v dan (2) *n*-heksana-etil asetat (8:2)v/v. Isolat menghasilkan bercak tunggal berwarna merah kecoklatan setelah disemprot dengan pereaksi

H₂SO₄ 10% yang tampak secara visual dan pada lampu UV 254 nm seperti tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Kromatogram dua dimensi dari isolat C4 hasil KK gravitasi

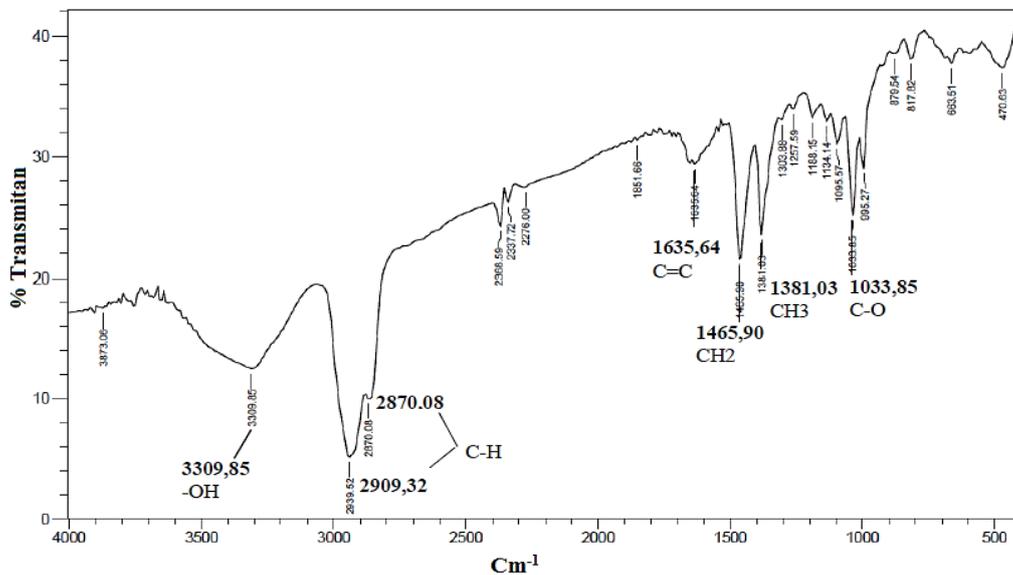
III.6 Analisis data spektrum UV-Vis

Hasil analisis isolat dengan spektrofotometri UV-Vis memberikan hasil berupa spektrum dengan serapan yang muncul pada panjang gelombang 245 nm dengan absorbansi sebesar 0,074. Munculnya serapan pada panjang gelombang 245 nm pada isolat C-4 merupakan akibat terjadinya transisi elektron kromofor berupa C=C tak terkonjugasi. Transisi elektronik $\pi - \pi^*$ terjadi pada daerah panjang gelombang 200 – 500 nm dan menunjukkan adanya ikatan rangkap tak terkonjugasi (-C-C=C-C-) (Fessenden & Fessenden, 2006; Sastrohamidjojo, 2001; Harvey, 2000).

III.7 Analisis data spektrum FTIR

Data spektrum IR dari isolat menunjukkan pita-pita serapan pada bilangan gelombang tertentu yang kemudian dibandingkan dengan pustaka. Spektrum IR isolat C-4 menunjukkan pita serapan

antara lain pada daerah bilangan gelombang 3309,85 cm^{-1} , 2909,32 cm^{-1} , 2870,08 cm^{-1} , 1635,64 cm^{-1} , 1465,90 cm^{-1} , dan 1381,03 cm^{-1} . Pita serapan lebar antara 3600-3300 cm^{-1} yaitu 3309,85 cm^{-1} menunjukkan gugus hidroksi (-OH). Pita serapan tajam antara 3000-2850 cm^{-1} yaitu pada bilangan gelombang 2909,32 cm^{-1} dan 2870,08 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus -CH alifatik yang diperkuat dengan adanya pita serapan tajam antara 1500-1400 cm^{-1} dan 1300-1000 cm^{-1} yaitu pada bilangan gelombang 1465,90 cm^{-1} dan 1381,03 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus -CH₂ dan -CH₃ *bending*. Serapan pada rentang bilangan gelombang 1650-1500 cm^{-1} yaitu pada 1635,64 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C alifatik. Pita serapan tajam antara 1300-1000 cm^{-1} yaitu pada bilangan gelombang 1033,85 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan gugus C-O. Spektrum FTIR disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum FTIR isolat C4

IV. Kesimpulan

Hasil identifikasi isolat menggunakan spektrofotometri UV-Vis menghasilkan puncak pada nilai λ sebesar 245 nm yang diperkirakan adanya kromofor C=C tak terkonjugasi. Hasil identifikasi isolat dengan spektrofotometri FTIR menunjukkan adanya gugus -OH ($3309,85\text{ cm}^{-1}$), -CH alifatik ($2939,52\text{ cm}^{-1}$ dan $2870,08\text{ cm}^{-1}$) yang diperkuat dengan spektrum pada bilangan gelombang $1465,90\text{ cm}^{-1}$ dan $1381,03\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan gugus fungsi -CH₂ dan -CH₃, -C=C ($1635,64\text{ cm}^{-1}$), dan -C-O ($1033,85\text{ cm}^{-1}$). Identifikasi isolat dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan senyawa golongan terpenoid (triterpenoid).

V. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih kepada Pusat Studi Obat Berbasis Bahan Alam ULM dan semua pihak yang membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Aksara, R., W.J.A. Musa, & L. Alio. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Entropi*, **8(1)**: 514-519.
- Atmoko, T. & A. Ma'ruf. 2009. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangan terhadap Larva *artemia salina* L. (*toxicity Testing and Phytochemical Screening of Orangan Food Extracts to Larvae of Artemia salina* L.*). *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, **6(1)**: 37-45.
- Ayuni, N.P.S. & I.N. Sukarta. 2013. Isolasi dan Identifikasi Alkaloid pada Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq). *Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA III*. Hal: 387-393.
- Azhari, A.H. 2016. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Buah Kasturi* (Mangifera casturi *Kosterm.*). Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan.
- Badan POM RI. 2013. *Petunjuk Operasional Penerapan Cara Pembuatan Obat yang Baik Jilid I*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dirjen POM. 1987. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Ermawati. 2017. Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Ekstrak Etanol Daun Bilarang Tapah Asal Daerah Rantau Kalimantan Selatan. *Skripsi*. Program studi Farmasi, FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat.
- Fessenden R.J. & J.R. Fessenden. 2006. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid II*. Erlangga, Jakarta.
- Habbu, P.V., R.A. Shastry, K.M. Mahadevan, H. Joshi, S.K. Das. 2008. Hepatoprotective and Antioxidant Effects of *Argyrea speciosa* in Rats, *Afr J Trad Compl Altern Med*, **5(2)**: 158.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. Mc Graw-Hill companies, New York.
- Joseph, A. S. Mathew, B.P. Skaria, & E.C. Sheeja. 2011. Medicinal Uses and Biological Activities of *Argyreian speciosa* Sweet (Hawaiian Baby Woodrose)-An Overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, **2(3)**: 286-291.
- Pavia, D.L., G.M. Lampman, G.S. Kriz, & J.R. Vyvyan. 2001. *Introduction to Spectroscopy, Fourth Edition*. Department of Chemistry, Western Washington University Bellingham, Washington.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Dasar-dasar Spektroskopi*. UGM Press, Yogyakarta.
- Silverstain, R. M., G.C. Bassler, & T.C. Morrill. 1986. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, Fourth Edition diterjemahkan oleh Hartono A.B. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Srivastava, A., Y.N.Shukla, S.P. Jain & S. Kumar. 1998. Chemistry and Pharmacology of The Elephat Creeper *Argyrea speciosa*- A review, *Journal Medical Arom Plant Science*, **20(3)**: 774-778.
- Sutomo. 2014. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dan Imunomodulator dari Buah Kasturi* (Mangifera casturi *Kosterm.*) *Suku Anacardiaceae*. Disertasi Program Pascasarjana Program Studi Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sutomo, Arnida, M.I. Rizki, L. Triyasmono, A. Nugroho, E. Mintowati, & Salamia. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Asal Daerah Rantau Kabupaten Tapin Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*, **3(1)**: 66-74.