

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI SERBUK KAYU MAHONI (*Swietenia macrophylla* King)

Harjono^{1*}, Iis Naeni Putri Wahyuni¹, Akhmad Darmawan², Dante Alighiri¹

¹Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

²Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

*email: harjono_hanis@mail.unnes.ac.id

ABSTRAK

Produk-produk alami telah banyak berkontribusi pada pengembangan obat-obatan baru. Oleh karena itu, sangat penting untuk meneliti tanaman obat dan herbal untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktifnya. Kayu mahoni (*Swietenia macrophylla* King), selain dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan furniture, juga telah diketahui khasiatnya sebagai antimikroba, antioksidan, antidiabetes, anti inflamasi, analgesik, serta antijamur. Dalam penelitian ini, telah dilakukan ekstraksi serbuk kayu mahoni dan skrining fitokimia dari ekstrak metanolnya, yang menunjukkan kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin. Ekstrak metanol kemudian dipisahkan untuk mengisolasi senyawa tunggal dan karakterisasi senyawa. Isolasi senyawa dengan berbagai metode kromatografi dan karakterisasi senyawa dengan NMR menghasilkan senyawa β -sitosteron yang termasuk ke dalam senyawa golongan steroid.

Kata kunci: kayu mahoni, ekstrak, skrining fitokimia, β -sitosteron

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati adalah istilah yang dapat menerangkan keragaman ekosistem dan berbagai bentuk tumbuhan, hewan, serta mikroorganisme. Saat ini terdapat sedikitnya 250.000 spesies tumbuhan tingkat tinggi, jutaan spesies jamur dan serangga yang bersama-sama dalam berbagai ekosistem dan saling berinteraksi. Semua organisme ini menghasilkan beranekaragam senyawa kimia yang berguna dalam interaksi tersebut. Penelitian yang telah dilaporkan menunjukkan bahwa organisme memproduksi dua jenis senyawa, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Sekarang ini tercatat lebih dari 100.000 metabolit sekunder yang berasal dari sejumlah spesies organisme yang telah dipelajari (Achmad, 2007).

Metabolit sekunder merupakan senyawa organik yang dapat mempengaruhi aktivitas fisiologis organ, jaringan, atau sel tertentu sehingga dijadikan bahan dasar obat. Lebih dari 30% bahan obat yang beredar di perdagangan adalah berasal dari bahan alam (Atun, 2005). Pengobatan dipandang sebagai suatu proses interaksi molekular antara obat dengan molekul biologis dari sumber penyakit. Interaksi tersebut bersifat dinamis

sesuai dengan kondisi dan situasi sehingga resistensi obat terhadap penyakit dapat terjadi. Hal ini adalah suatu tantangan dan sekaligus peluang bagi para peneliti kimia bahan alam pada masa-masa yang akan datang.

Produk-produk alami telah banyak berkontribusi pada pengembangan obat-obatan baru (Rumzhum et al., 2012). Penelitian kimiawi tumbuhan sebagai sumber metabolit sekunder baru adalah salah satu alternatif yang dapat menjawab dan memecahkan permasalahan kesehatan tersebut (Ersam, 2004). Oleh karena itu, sangat penting untuk meneliti tanaman obat dan herbal untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktifnya.

Kayu mahoni (*Swietenia macrophylla* King) selama ini dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan furniture dan sebagai peneh. Kayu Mahoni diketahui mempunyai khasiatnya sebagai antimikroba, antioksidan, antidiabetes, anti inflamasi, analgesik, serta anti jamur juga telah diteliti (Syahwiranto dan Karim, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari lebih lanjut tentang kandungan senyawa bioaktif kayu Mahoni dan mengkarakterisasi metabolit sekundernya.

METODE PENELITIAN

Preparasi Ekstrak Kayu Mahoni

Serbuk kayu Mahoni dimaserasi menggunakan n-heksan selama 24 jam, kemudian dipisahkan antara residu dengan filtratnya. Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Residu yang dihasilkan dimaserasi kembali menggunakan metanol teknis. Sebanyak 1 kg sampel diekstrak menggunakan metanol sebanyak 3 kali ulangan. Selanjutnya filtrat yang diperoleh dari hasil penyaringan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak yang kental. Kemudian dari ekstrak metanol yang diperoleh, dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan kimianya.

Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol

Skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian terhadap adanya flavonoid, terpenoid, tanin, saponin, alkaloid. Kandungan tannin diperiksa dengan larutan FeCl_3 . Uji saponin dilakukan dengan menambahkan akuades panas, dikocok, lalu diperiksa adanya buih atau busa yang tidak hilang selama 10 menit. Ada tidaknya kandungan flavonoid diperiksa dengan menambahkan logam Mg dan larutan HCl ke dalam sampel. Sementara itu, reagen Dragendorff dan Mater digunakan untuk meneliti kandungan alkaloid.

Pemisahan Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Metanol

Ekstrak metanol difraksinasi dengan metode KCV (Kromatografi Cair Vakum) menggunakan n-heksan, etil asetat, aseton dan metanol dengan sistem gradien. Selanjutnya dilakukan pemisahan kembali menggunakan KLT preparatif eluen n-heksan:kloroform (1:4) dan menghasilkan senyawa kristal berwarna putih keruh yang dimurnikan dengan cara rekristalisasi. Kristal tersebut dikarakterisasi strukturnya dengan ^1H dan ^{13}C NMR dengan pelarut CDCl_3 .

ALAT DAN BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu Mahoni (*Swietenia macrophylla* King), n-heksan, etil asetat, aseton, metanol, dan kloroform. Larutan FeCl_3 , logam Mg dan larutan HCl digunakan untuk skrining fitokimia. Untuk

pemisahan ekstrak digunakan pula silica gel untuk KCV dan lempeng silica untuk KLT preparatif.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas dengan berbagai ukuran, pengaduk kaca, tabung reaksi, pipet tetes, seperangkat alat maserasi, belender, kertas saring, neraca analitik, *rotary vacuum evaporator*, plat KLT, seperangkat alat KCV, plat KLT preparatif, chamber KLT, spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-Vis) merk Cary 60, FTIR merk Bruker, LCMS Xevo G2-XS QToF, dan NMR merk Jeol Resonance ECZ500R.

HASIL PENELITIAN

Ekstraksi Serbuk Kayu Mahoni

Pada penelitian ini, proses ekstraksi kayu mahoni dilakukan dengan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan dua pelarut organik yaitu n-heksan sebagai pelarut senyawa non polar dan metanol sebagai pelarut untuk senyawa yang bersifat polar. Proses maserasi dilakukan secara berulang kali bertujuan agar semua senyawa yang dapat larut dalam pelarut dapat terlarut. Ekstrak hasil maserasi kemudian dievaporasi hingga terbentuk ekstrak yang kental. Dari hasil maserasi didapat dua ekstrak yaitu ekstrak n-heksan yang berisi senyawa-senyawa non polar sebanyak 3,5038 gram dan ekstrak metanol yang berisi senyawa-senyawa yang bersifat polar sebanyak 54,7038 gram.



Gambar 1. Ekstrak Hasil Maserasi (kiri: ekstrak metanol, kanan: ekstrak n-heksan)

Hasil Skrining Fitokimia

Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam suatu sampel. Dari hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya tanin,

saponin, flavonoid dan alkaloid. Adanya tanin pada sampel ditandai dengan terbentuknya warna hijau ketika sampel ditambahkan dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 . Warna hijau ini terbentuk karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dengan tanin. Senyawa kompleks ini terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Effendy, 2007).

Pada uji saponin dapat dikatakan positif apabila sampel ditambahkan dengan akuades panas akan terbentuk buih atau busa yang tidak hilang selama 10 menit. Adanya busa menunjukkan bahwa terdapat glikosida pada sampel, dimana glikosida ini mempunyai kemampuan membentuk buih atau busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, 2005).

Pada skrining fitokimia suatu sampel dikatakan positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna merah atau jingga ketika sampel ditambahkan dengan logam Mg dan larutan HCl. Warna merah atau jingga yang terbentuk merupakan garam flavilium. Penambahan HCl pada uji flavonoid berfungsi untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik glikosida berupa gula yang biasa ditemui yaitu glukosa, galaktosa, serta ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol, dan xanton (Marliana, 2005).

Sampel uji dinyatakan positif terdapat alkaloid karena terbentuknya endapan jingga dengan reagen Dragendorff dan membentuk endapan putih dengan reagen Mayer. Endapan tersebut terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam yang berasal dari reagen dengan senyawa alkaloid.

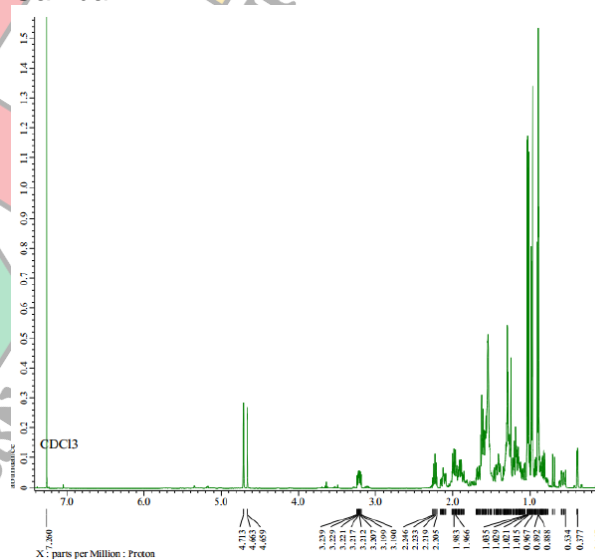
Pemisahan Senyawa Bioaktif

Selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa pada ekstrak metanol dengan menggunakan kolom cepat vakum (KCV). Sebanyak 20 gram sampel ekstrak metanol dicampur dengan 15 gram silica gel. Pelarut yang digunakan dalam metode ini

adalah n-heksan:etil asetat:metanol secara gradien dari 5%-100%. Dari hasil KCV diperoleh fraksi sebanyak 41. Kemudian fraksi yang dihasilkan di TLC dengan eluen heksan:etil asetat secara gradien.

Pada fraksi 5 (heksan 80%:etil asetat 20%) dipisahkan dengan KLT preparatif untuk mengambil satu senyawa. KLT preparatif dapat dilakukan apabila spot atau noda yang terbentuk memiliki jarak R_f yang cukup jauh, sehingga senyawanya dapat dipisahkan. KLT preparatif dilakukan dengan eluen n-heksan:kloroform (1:4). Spot yang dihasilkan kemudian ditandai dan dipotong untuk selanjutnya dilarutkan dalam kloroform. Setelah kering, terbentuk kristal berwarna putih keruh. Selanjutnya kristal putih direkristalisasi dengan larutan Metanol:kloroform (1:1).

Selanjutnya kristal putih diambil dan dipisahkan untuk kemudian dikarakterisasi dengan ^1H dan ^{13}C NMR. Hasil spektrofotometer NMR ditunjukkan pada Gambar 2.

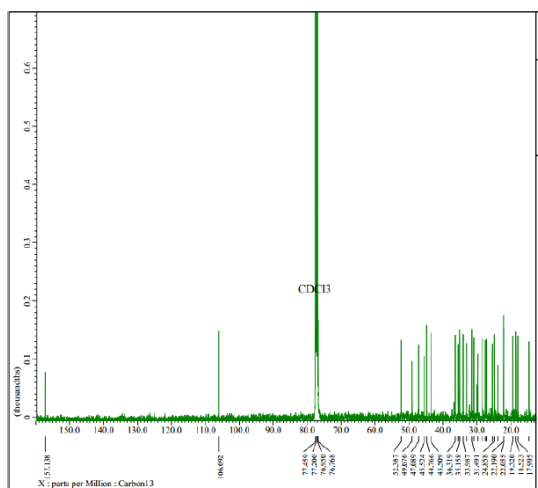


Gambar 2. Hasil Spektrum ^1H NMR

Pada spektrum ^1H NMR (Gambar 2) menunjukkan adanya 48 atom hidrogen: 6 metil proton (CH_3), 11 proton metilen (CH_2), dan 8 proton metin (CH). Proton CH_3 terletak pada pergeseran 0,83 ppm, 0,70 ppm, 0,81 ppm, 0,85 ppm, 0,91 ppm, dan 1,17 ppm. Untuk proton CH_2 terletak pada pergeseran 0,92 ppm, 0,93 ppm, 1,15 ppm, 1,52 ppm, 1,46 ppm, 1,56 ppm, 1,58 ppm, 1,85 ppm. Sedangkan proton CH terletak pada pergeseran 1,38 ppm, 1,45 ppm, 1,50 ppm, 1,69 ppm, 1,88 ppm. Berdasarkan

data ^1H dan ^{13}C NMR, dan dengan perbandingan literatur, senyawa tersebut dikarakterisasi sebagai β -sitosteron. Pada literatur, β -sitosteron mempunyai spektra: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5.71 (1H, s, H-4), 1.17 (3H, s, H3-19), 0.91 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H3-21), 0.85 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H3-29), 0.83 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H3-26), 0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H3-27), 0.70 (3H, s, H3-18) (Rumzhum et al., 2012).

Hasil spektra ^{13}C NMR (Gambar 3) memperkuat hasil di atas. Data ^{13}C NMR menunjukkan keberadaan 29 karbon. Karbon dapat diklasifikasikan sebagai mewakili CH_3 , CH_2 , CH atau karbon kuartener (QC). Pada spektrum terbentuk 29 puncak yang menunjukkan adanya 29 karbon: 6 puncak muncul karena gugus CH_3 , 11 puncak untuk gugus CH_2 , dan 8 puncak menunjukkan gugus CH . Terdapat satu gugus $\text{C}=\text{O}$ pada pergeseran 157,138ppm.



Gambar 3. Hasil Spektrum ^{13}C NMR

KESIMPULAN

Kayu mahoni (*Swietenia macrophylla* King) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin, yang diketahui melalui hasil skrining fitokimia. Pada penelitian ini, senyawa β -sitosteron dengan rumus kimia $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari kayu mahoni.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S. A. 2009. Perguruan Tinggi Berbasis Riset Dalam Pembangunan Nasional Berbasis Ilmu Pengetahuan, Senatama Wikarya: Bandung.

Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam', Jurnal Konservasi Cagar Budaya, 8(2), pp. 53–61.

Effendy. 2007. Kimia Koordinasi. Bayumedia Publishing: Malang.

Ersam, T. 2004. Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia dalam Merekayasa Model Molekul Alami. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Kimia VI, Jurusan Kimia FMIPA ITS.

Marliana, S. D., Suryanti, V., Suryono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimis Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq.Swartz.) dalam Ekstrak Etanol, Biofarmasi, vol. 3, no. 1, pp. 26-31.

Rumzhum, N., Rahman, M., & Kazal, M. 2012. Antioxidant and cytotoxic potential of methanol extract of *Tabernaemontana divaricata* leaves. International Current Pharmaceutical Journal, 1(2), 27-31.

Syahwiranto, G. and Theresih, K. 2018. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) Metode Ekstraksi Soklet Pelarut Etanol, Jurnal Kimia Dasar, 7(4), pp. 184–190.