

ISOLATION OF STEROID COMPOUNDS IN THE *n*-HEKSANA FRACTION FROM JARUM TUJUH BILAH LEAVES EXTRACT (*Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.)

Yuli Yana^{1*}, Chairul Saleh², Noor Hindryawati²

¹Magister Kimia FMIPA, Universitas Mulawarman

²Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Mulawarman

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, Kalimantan Timur

*Corresponding Author: Yanayuli_96@yahoo.co.id

Submit : 19 September 2019 Accepted : 08 November 2019

ABSTRACT

This study aims to find secondary metabolites isolated from the leaves of the Jarum Tujuh Bilah (*Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.). The method used was maceration, fractionation and column chromatography and was identified using Fourier Transform Infra Red (FT-IR). The phytochemical preliminary test of the *n*-hexane fraction contains the steroid secondary metabolite compound. The results of column chromatography produced 75 vial bottles which were then identified by thin layer chromatography and produced 8 combined fractions (A-H fraction) based on the similarity of characterization, from the 8 fractions D and E forming yellow crystals. The yellow crystals formed are then cleaned and recrystallized to produce 11.7 mg white amorphous crystals. Compounds are characterized by FTIR spectrometers. Based on FTIR analysis, isolates showed IR spectrum λ max cm⁻¹: 3375; 2927,98; 2852,18; 1680; 1462,51; 1376.81; 1329.74; 1043,92; 1022.02 and 956.27. Based on the results obtained by isolates, it is suspected that the compound is a steroid sterol.

Keywords: *Secondary metabolites, Isolation and fractionation, n-hexane fraction leave of Jarum Tujuh Bilah Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.), *steroid sterol*.

PENDAHULUAN

Kekayaan keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia yang menjadi sumber pemanfaatan metabolit sekunder dari berbagai macam tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder adalah golongan senyawa yang termasuk golongan terpenoid, steroid, flavonoid dan alkaloid dimana senyawa ini tersebar pada jaringan tumbuhan. Setiap tumbuhan mampu memproduksi beraneka ragam senyawa yang memiliki berbagai bioaktivitas yang digunakan sebagai sistem pertahanan diri terhadap lingkungan (Achmad, 2001). [1]

Tumbuhan Tujuh Duri atau biasa disebut tumbuhan Jarum Tujuh Bilah merupakan tumbuhan jenis kaktus, dan satu-satunya tumbuhan kaktus yang memiliki daun. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan genus *Pereskia*. Amerika Latin adalah asal Genus ini namun tumbuhan ini banyak tersebar di Indonesia, Thailand dan Malaysia. Tumbuhan Jarum Tujuh Bilah yang memiliki nama latin *Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C atau disebut juga *Pereskia bleo* (Kunth) D.C (Sharif *et al*, 2013). [5]

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif untuk mengetahui identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak Daun Jarum Tujuh Bilah (*Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.). Identifikasi dilakukan dengan cara melakukan ekstraksi pada daun tumbuhan Jarum Tujuh Bilah menggunakan etanol kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana kemudian dilanjutkan ketahap pemurnian dan identifikasi. Pada fraksi *n*-heksana dilakukan uji pendahuluan yaitu uji fitokimia meliputi uji golongan senyawa steroid, triterpenoid, fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin. Pada tahap pemisahan dan pemurnian pada fraksi *n*-heksana dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dimana sebelumnya telah ditentukan komposisi pelarut yang akan digunakan pada kromatografi kolom menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil Isolasi tersebut kemudian dilakukan elusidasi struktur senyawa dengan menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform-Infra Red* (FT-IR).

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, botol kaca gelap 2500 mL, batang pengaduk, corong kaca, neraca analitik, tabung reaksi, pipet tetes, corong pisah, seperangkat alat kromatografi kolom, botol vial, plat kromatografi lapis tipis (KLT), pipa kapiler, freezer, desikator, rotary evaporator, chamber KLT, lampu UV, pinset, botol semprot, alat gelas kaca, spektrofotometer *Fourier Transform-Infra Red* (FT-IR).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, *n*-heksana, H₂SO₄ pekat, Ce(SO₄)₂, asam asetat glasial, pereaksi dragendorff, FeCl₃, HCl pekat, serbuk Mg, aluminium foil, kertas saring, silika Gel 50 – 100 mesh, aquades, kapas, plat KLT silika gel GF254.

Persiapan Sampel

Daun Jarum Tujuh Bilah (*Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.) yang telah dibersihkan lalu dikering anginkan pada suhu ruangan dan terhindar dari sinar matahari langsung, setelah itu dihaluskan.

Ekstraksi Sampel

Daun tanaman Tujuh Bilah yang telah dihaluskan kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam dan diekstraksi hingga larutan ekstrak tidak berwarna. Selanjutnya ekstrak etanol disaring dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak pekat etanol.

Kemudian dilanjutkan pada proses fraksinasi, ekstrak pekat etanol difraksinasi dilakukan secara berulang kali sehingga didapatkan dua fraksi yaitu ekstrak fraksi air dan fraksi etanol, kemudian disuspensikan dengan air kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana hingga warna pelarut pada fraksi yang diinginkan tidak berwarna. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana. Maka pada tahap ini telah diperoleh dua fraksi ekstrak daun Jarum Tujuh Bilah yaitu fraksi air dan fraksi *n*-heksana. Pada penelitian ini hanya menggunakan fraksi *n*-heksana maka untuk fraksi air tidak dilanjutkan ke tahap isolasi dan elusidasi struktur.

Analisa Skrining Fitokimia

Dilakukan analisa skrining fitokimia terhadap fraksi *n*-heksana Jarum Tujuh Bilah

(*Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.) sebagai uji pendahuluan.

Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Tahap isolasi bertujuan untuk mendapatkan senyawa murni dari fraksi *n*-heksana. Hasil uji fitokimia yang dilakukan, dapat diketahui senyawa metabolit sekunder dalam fraksi *n*-heksana. Kromatografi kolom digunakan sebagai metode pemisahan dan pemurnian, Pelarut yang digunakan sebagai fasa gerak pada kromatografi kolom sebelumnya ditentukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Proses penentuan pelarut sebagai fasa gerak dengan menggunakan kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak fraksi *n*-heksana dilakukan menggunakan beberapa perbandingan pelarut. Adapun pelarut yang digunakan adalah pelarut etil asetat dan *n*-heksana. Beberapa perbandingan pelarut tersebut diuji dengan menggunakan fase diam berupa plat silika gel GF254.

Pada KLT dilihat komposisi pelarut yang menghasilkan pemisahan terbaik yang kemudian digunakan sebagai fase gerak dalam kromatografi kolom dengan menggunakan silika gel (50 – 100 mesh). Kolom disiapkan dengan cara mensuspensikan eluen dengan silika gel kemudian dimasukkan kedalam kolom yang disumbat kapas kemudian didiamkan selama 24 jam. Ekstrak dilarutkan dengan sedikit pelarut yang sesuai dicampurkan dengan silika gel sama banyak dengan jumlah ekstrak. Kemudian dimasukkan ke dalam kolom, dan dielusi dengan menggunakan metode isokratik.

Hasil kromatografi kolom kemudian ditampung dalam vial-vial kecil pada setiap fraksi. Hasil-hasil kromatografi kolom kemudian dianalisis menggunakan KLT dengan menggunakan eluen yang sama dan kemudian diamati dibawah lampu UV 254 nm dan 366 nm untuk membandingkan noda R_f. Digabungkan fraksi yang memiliki nilai R_f yang sama kemudian dilakukan uji metabolit sekunder kembali sesuai hasil uji positif pada uji fitokimia yang telah dilakukan sebelumnya. Isolasi murni kemudian dibersihkan dan direkristalisasi dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut kemudian diuapkan sehingga terbentuk kristal murni yang telah bersih.

Identifikasi Senyawa

Penentuan gugus fungsi senyawa metabolit sekunder hasil isolasi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer IR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun jarum tujuh bilah kering sebanyak 174 gram dimaserasi dengan menggunakan etanol 96%. didapatkan ekstrak pekat etanol berwarna hijau kehitaman dengan massa 29,3904 gram. Ekstrak pekat etanol kemudian fraksinasi dengan *n*-heksana dan air (1 : 1) dan dihasilkan fraksi *n*-heksana sebanyak 4,4826 gram.

Tabel 1. Rendemen isolasi senyawa metabolit sekunder dari daun Jarum Tujuh Bilah (*Leuobergeria bleo* (Kunth) D.C.).

Fraksi Ekstrak	Massa	Rendamen
Ekstak Kasar Etanol	29,3904	16,89 %
Fraksi <i>n</i> -heksana	4,4826	15,25 %

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia terhadap Ekstrak Fraksi *n*-Heksana Daun Jarum Tujuh Bilah (*Leuobergeria bleo* (Kunth) D.C.).

Jenis Metabolit Sekunder	Hasil Uji (+/-)
Alkaloid	-
Steroid	+
Triterpenoid	-
Flavonoid	-
Fenolik	-
Saponin	-

Keterangan :

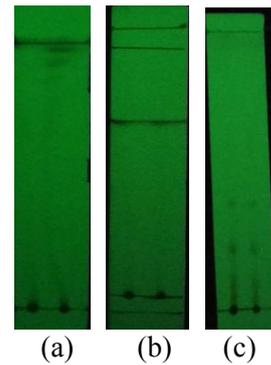
(+) = Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Pada proses kromatografi kolom menggunakan metode isokratik. Dimana sebelumnya dilakukan uji KLT untuk menentukan eluen terbaik yang akan digunakan sebagai fasa gerak. Pada uji KLT diketahui pemisahan terbaik menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (9 : 1). Eluen terbaik dapat diperhatikan pada gambar 1.

Kromatografi kolom yang dilakukan pada fraksi *n*-heksana daun jarum tujuh bilah menghasilkan 75 botol vial. Pada setiap vial kemudian di lakukan uji KLT untuk melihat pola noda dan untuk pola noda yang sama kemudian digabungkan.

Fraksi hasil kromatografi kolom gravitasi dengan nilai *R_f* dan karakteristik yang sama digabungkan sehingga didapatkan 8 fraksi gabungan (fraksi A-H). Berikut gambar 2 fraksi gabungan pada vial A-H.



Gambar 1. Kromatogram Fraksi *n*-heksana daun Jarum Tujuh Bilah *Leuobergeria bleo* (Kunth) D.C.) dengan berbagai macam perbandingan pelarut dibawah sinar UV λ 254 nm (a) Hasil KLT perbandingan 7:3, (b) Hasil KLT perbandingan 8:2 dan (c) Hasil KLT perbandingan 9:1



Gambar 2. Hasil Fraksi Gabungan dari 75 vial yang menghasilkan 8 fraksi (fraksi A-H)

Pada 8 fraksi gabungan ini dilakukan kembali uji steroid untuk mengetahui perubahan warna yang terjadi sehingga menjadi gambaran awal tentang keberhasilan pemisahan pada kromatografi kolom. Gambar hasil uji steroid pada 8 fraksi gabungan tersebut dapat dilihat pada gambar 3 berikut.



Gambar 3. Perubahan Warna yang terjadi pada Uji Steroid 8 Fraksi Gabungan Hasil Kromatografi Kolom

Berdasarkan hasil uji steroid yang dilakukan dapat dilihat beberapa fraksi menunjukkan warna yang berbeda-beda. Perbedaan warna ini menunjukkan beberapa

golongan steroid pada fraksi *n*-heksana daun Jarum Tujuh Bilah telah mengalami pemisahan pada proses kromatografi kolom. Perubahan warna hasil uji fitokimia pada tiap fraksi dapat dilihat pada tabel 3 berikut.

Tabel 3. Perubahan Warna yang Terjadi pada Uji Steroid pada 8 Fraksi Gabungan

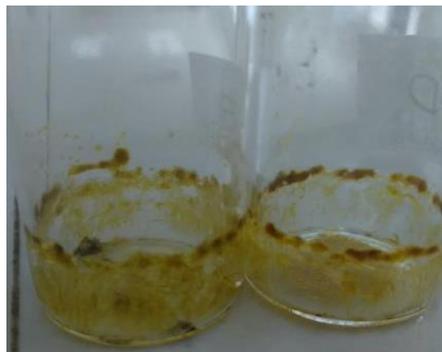
Fraksi Gabungan	Nomor Vial	Warna hasil uji
Fraksi A	1-6	Cincin hijau kecoklatan
Fraksi B	7-14	Cincin hijau kecoklatan
Fraksi C	15-20	Cincin hijau kecoklatan
Fraksi D	21-26	Cincin hijau kecoklatan
Fraksi E	27-34	Cincin hijau kecoklatan
Fraksi F	35-43	Cincin hijau kebiruan
Fraksi G	44-53	Cincin biru
Fraksi H	54-75	Cincin biru

Fraksi gabungan tersebut kemudian diuapkan dan diperoleh massa setiap fraksi seperti pada tabel 4

Tabel 4. Massa Fraksi Gabungan Hasil Kromatografi Kolom Fraksi *n*-Heksana Daun Jarum Tujuh Bilah *Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.)

Fraksi Gabungan	Massa (gram)
Fraksi A	0,0415
Fraksi B	0,0229
Fraksi C	0,0109
Fraksi D	0,0305
Fraksi E	0,0219
Fraksi F	0,0197
Fraksi G	0,0009
Fraksi H	0,0026

Pada botol vial D dan E menunjukkan adanya kristal berwarna kuning berbentuk jarum-jarum kecil seperti pada gambar 4 berikut



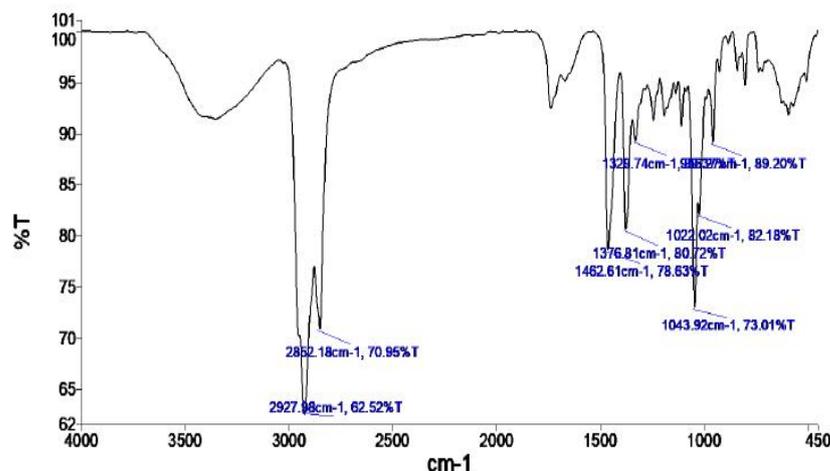
Gambar 4. Terbentuknya Jarum-Jarum Kristal Kuning pada Fraksi D dan E

Terbentuknya kristal merupakan salah satu ciri adanya isolat murni. Kristal tersebut kemudian dibersihkan dengan cara ditetesi pelarut *n*-heksana. Kemudian direkristalisasi dilarutkan dalam pelarut *n*-heksana yang dipanaskan sambil ditetesi dengan metanol. Proses rekristalisasi dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan senyawa mayor yang akan dimurnikan dengan senyawa minor oleh karena itu digunakan pelarut metanol. Setelah dilakukan rekristalisasi larutan didiamkan agar pelarut menguap sehingga yang tersisa adalah padatan kristal amorf berwarna putih dengan massa 11,7 mg. Kristal putih hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.



Gambar 5. Kristal Amorf Berwarna Putih Yang Terbentuk Setelah Pembersihan dan Rekristalisasi

Isolat yang telah di dapat kemudian diidentifikasi menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Spektrum inframerah senyawa isolat ditunjukkan pada gambar 6 dan interpretasi (gelombang, bentuk pita dan interpretasi gugus fungsi) spectrum inframerah pada tabel 5.



Gambar 6. Spektrum Infra Merah dari Isolat Ekstrak Fraksi *n*-heksana Daun Jarum Tujuh Bilah *Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.)

Tabel 5. Interpretasi Spektrum Infra Merah dari Isolat Ekstrak Fraksi *n*-heksana Daun Jarum Tujuh Bilah *Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.)

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)					
Daerah Spektra	Pada Pustaka (Novadiana, 2014) [4]	Pada Pustaka (Marlina, 2017) [3]	Pada Pustaka (Sastrohamidj, 1992) [5]	Bentuk Pita	Interpretasi Gugus
3375	3248,13	3439,08	3200-3550	Melebar	v O-H
2927,98	2939.52	2933,73	2850-3000	Tajam	v C-H
2852,18	2862.36	-	1630-1680	Tajam	v C=C
1680	1658.78	1653,00	1400-1450	Tajam	γ C-H pada CH ₂
1462,51	1458.18	1462,04	1350-1360	Tajam	γ C-H pada CH ₃
1376,81	-	1377,17	970-1250	Tajam	v C-O
1329,74	-	-	880-995	Tajam	γ C-H pada =C-H
1043,92	1002.98	1055,06			
1022,02	-	960,55			
956,27	-	-			

Berdasarkan hasil dari spektrum Infra Merah dapat dilihat terjadi serapan pada daerah bilangan gelombang v 3375 cm⁻¹ yang merupakan rentangan (stretching) dari gugus OH yang memiliki kisaran spektrum antara 3200-3550 cm⁻¹, dugaan ini diperkuat dengan adanya rentangan serapan COH sekunder pada daerah bilangan v 1043,92 cm⁻¹ dan v 1022,02 cm⁻¹ dengan kisaran spectrum antara 970-1250 cm⁻¹(Sastrohamidjojo, 1992). [4]

Dari hasil analisa ini juga terdapat serapan v C-H alifatik pada kisaran spektrum 2850-3000 cm⁻¹ yang berada pada serapan bilangan gelombang v 2852,18 cm⁻¹ dan v 2927,98 cm⁻¹ yang menunjukkan C-H dari CH₂ dan CH₃, dugaan ini dapat diperkuat dengan adanya serapan bilangan gelombang pada γ 1462,51 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya tekukan C-H dari CH₂ yang memiliki kisaran bilangan gelombang antara 1400-1450 cm⁻¹ dan adanya serapan bilangan

gelomban pada γ 1376,81 cm⁻¹ dan γ 1329,74 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya tekukan C-H dari CH₃ yang memiliki kisaran 1350-1360 cm⁻¹ (Sastrohamidjojo, 1992). [4]

Pada pita serapan bilangan gelombang v 1680 cm⁻¹ menunjukkan adanya rentangan C=C nonkonjugasi yang memiliki kisaran panjang gelombang antara 1630-1680cm⁻¹, dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan bilangan gelombang pada γ 956,27 cm⁻¹ yang menunjukkan bahwa terdapat tekukan =C-H yang memiliki kisaran bilangan gelombang antara 880-995cm⁻¹ (Sastrohamidjojo, 1992). [4]

Berdasarkan hasil dari interpretasi spektrum Infra Merah di atas, maka didapatkan bahwa senyawa isolate mengandung gugus hidroksil (OH), alkil, alkohol sekunder (C-OH) dan alkena (C=C) tak terkonjugasi. Diduga senyawa steroid yang diisolasi adalah senyawa steroid golongan sterol (steroid alkohol) hal ini disebabkan karena

terdapat gugus –OH (alkohol sekunder) yang menunjukkan bahwa isolat merupakan senyawa steroid yang mengandung gugus –OH. [4]

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil uji fitokimia menunjukkan fraksi *n*-heksana daun tumbuhan Jarum Tujuh Bilah *Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid.
2. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa karakteristik fisik dari isolat senyawa steroid berupa kristal putih amorf.
3. Hasil FT-IR menunjukkan senyawa yang telah diisolasi dari daun tumbuhan Jarum Tujuh Bilah *Leuenergeria bleo* (Kunth) D.C.) pada fraksi *n*-heksana diduga merupakan senyawa steroid

DAFTAR PUSTAKA:

- [1] Achmad SA, Hakim EH, Erwin, Syah MY, Nario A, Mariko K, Lukman M, Didin M, Hiromitsu T. 2001. *Artoindonesianin B* suatu senyawa yang bersifat Toksik Terhadap Sel Tumor P-388 dari Tumbuhan *Artocarpus altilis*. Buletin The Indonesian Society of Natural Product Chemistry. 1: 20-27
- [2] Marlina, Sudding, Pince Salempa. 2017. *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksan Batang Brotowali (Tinospora crispa Linn)*. Jurnal Universitas Negeri Makassar
- [3] Novadiana A, Erwin, Subur P. Pasaribu. 2014. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Kloroform dari Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kerehau (Callicarpa longifolia Lam.)* Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur : Jurnal Kimia Mulawarman
- [4] Sastrohamidjojo, H. 1992. *Spektroskopi Infa Merah*. Yogyakarta: Gadjah Mada Press.
- [5] Sharif K, M., Rahman M., Zaidul I. S. M., Jannatul A., A. M. J. H., & H., M.A. and S.S, 2013. Review Paper; *Pharmacological Relevance of Primitive Leafy Cactuses Pereskia*, 8, p.12.