

Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Fraksi Kloroform Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* L) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis Dan Infrared

*Isolation and Identification of Alkaloid Compounds in Chloroform Fractions of Kesambi Leaves (*Schleichera oleosa* L) Using UV-Vis and Infrared Spectrophotometry*

Muh.Aris¹; Muliana Hafid^{2*}; Sulastris³

^{1,2,3} Universitas Pancasakti, Makassar 90223, Indonesia

¹ muh.aris@unpacti.ac.id; ² muliana.hafid@unpacti.ac.id; ³ nanonice17@gmail.com

* Corresponding author muliana.hafid@unpacti.ac.id

Abstrak

Daun kesambi mengandung metabolit sekunder yang berupa alkaloid, tanin, dan flavonoid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa alkaloid apa yang terkandung dalam fraksi kloroform daun kesambi (*Schleichera oleosa* L.) secara Spektrofotometri UV-Vis dan Infra Merah. (IR). Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Universitas Pancasakti Makassar dan Laboratorium Kimia Terpadu Universitas Hasanuddin. Hasil penelitian dilakukan dengan metode ekstraksi. Ekstrak kering metanol dan kloroform diidentifikasi dengan uji warna dengan pereaksi mayer dan dragendroff yang menghasilkan warna endapan coklat dan merah bata menunjukkan adanya alkaloid. Dianalisis dengan Kromatografi lapisan tipis (KLT) dengan berbagai perbandingan pengembang. Isolasi menggunakan KLT dua dimensi diperoleh isolate ke 2 mengandung noda tunggal selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometri UV panjang gelombang 242 nm dengan λ 498,0 dan spektrofotometri IR diperoleh bilangan gelombang dan beberapa gugus yaitu 3454,51 cm⁻¹ amina (N-H), 1641,42 cm⁻¹ aromatis (C=C), 1097,50 cm⁻¹ amina (C-N), dan 806,25 cm⁻¹ aromatis (=CH), dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa murni yang di isolasi adalah senyawa alkaloid

Kata Kunci: Daun kesambi (*Schleichera oleosa* L); Fraksi Kloroform; Spektrofotometri UV- VIS dan IR; Alkaloid

Abstract

*Kesambi leaf contain secondary metabolites in the form of alkaloids, tannins and flavonoids. The purpose of this study was to determine what alkaloid compounds contained in the chloroform fraction of kesambi leaves (*Schleichera oleosa* L.) by UV-Vis and Infrared Spectrophotometry. (IR). The research design used was an experimental laboratory carried out at the Pharmacognosy-Phytochemical Laboratory, Pancasakti University Makassar and the Integrated Chemistry Laboratory, Hasanuddin University. The results of the study were carried out by the extraction method. Dry extracts of methanol and chloroform were identified by color test with Mayer and Dragendroff reagents which produced brown and brick red precipitates indicating the presence of alkaloids. Analyzed by thin layer chromatography (TLC) with various ratios of developers. Isolation using two-dimensional TLC obtained the second isolate containing a single stain and then analyzed by UV spectrophotometry at 242 nm wavelength with 498.0 and IR spectrophotometry obtained wave numbers and several groups, namely 3454.51 cm⁻¹ amine (N-H), (C-H), 1641.42 cm⁻¹ aromatics (C=C), 1097.50 cm⁻¹ amines (C-N), and 806.25 cm⁻¹ aromatics (=CH), the data obtained showed that the pure compound isolated is an alkaloid compound*

Keywords: kesambi leaf (*Schleichera oleosa* L); chloroform fraction; UV-VIS and IR spectrophotometry; Alkaloids.

Pendahuluan

Dalam pengobatan tradisional, penggunaan bahan alam dalam pengobatan biasanya dalam bentuk ekstrak atau bahkan bagian tanaman seperti akar, kulit, batang dan daun yang di seduh sebelum digunakan. Dalam pengobatan modern, pendekatan yang digunakan adalah aktifitas farmakologi berhubungan dengan suatu senyawa spesifik. Aktifitas suatu ekstrak atau tanaman pasti berhubungan dengan kandungan senyawanya, Sehingga informasi tentang senyawa yang paling bertanggung jawab terhadap aktivitas harus diketahui dan dikarakterisasi untuk dimanfaatkan sebagai obat modern. Peranan senyawa bahan alam dalam penemuan obat baru sangatlah penting [1].

Tanaman yang bisa digunakan sebagai obat sangatlah banyak. Di Indonesia ada ratusan tanaman yang berpotensi obat, salah satunya adalah kesambi. Kesambi berasal dari Pegunungan Himalaya, kini tersebar di NTB, Bali, Sulawesi

dengan tinggi pohon 40 m. Kayu kesambi digunakan untuk menghasilkan arang yang bagus, bijinya menghasilkan minyak yang dapat digunakan untuk perawatan rambut dan mengobati penyakit kulit. Selain itu, biji kesambi juga digunakan untuk pembuatan lilin, sabun dan industri batik. Disamping itu, daunnya digunakan sebagai obat eksim, kudis, radang telinga dan kulitnya dimanfaatkan sebagai penyamak kulit [2]

Kesambi (*Schleichera oleosa* L.) merupakan tanaman pohon hutan tropis salah satu dari famili sapindaceae yang tersebar di wilayah Asia Selatan dan Asia Tenggara. Pemanfaatan kesambi sudah di kenal sejak dulu di bidang pertanian dan pengobatan tradisional. Kulit batang dan buah kesambi mengandung senyawa fenolik, kulit buah dan bijinya mengandung saponin, alkaloid, terpenoid, flavonoid dan tanin. Daun kesambi mengandung fenolik, alkaloid, tannin dan flavonoid. Berdasarkan analisa metode TLC (Thin Layer Chromatography) daun kesambi mengandung quersetin dengan kemampuan sebagai antioksidan [3]

Daun kesambi mengandung senyawa alkaloid, dimana alkaloid merupakan senyawa alam dengan sifat kimia yang mirip dengan basa. Senyawa ini terdiri atas karbon, nitrogen dan hidrogen. Namanya mirip dengan alkali bersifat basa karena mempunyai sepasang elektron bebas sehinggadapat mendonorkan elektronnya. Metabolit sekunder ini, terdapat pada 20% spesies tanaman yang mempunyai pertahanan dari pathogen. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri, antivirus dan efek terapi lainnya. Secara umum, alkaloid kurang larut dalam air tapi larut dalam pelarut organik [4]

Metode

A. Alat dan bahan yang digunakan

Alat yang digunakan antara lain bejana maserasi, batang pengaduk, botol eluen, gelas piala, chamber, corong gelas, corong pisah, gelas ukur, labu ukur, lempeng KLT sintetis, pipet mikro, rotavapor, lampu UV, spektrofotometri UV-Vis dan Infra Merah, timbangan analitik, tabung reaksi, waterbath. Bahan yang akan digunakan antara lain aluminium foil, air suling, daun kesambi, pereaksi dragendroff, kertas saring, kloroform, Methanol, pereaksi Mayer, NaOH, n-heksan, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, bubuk Mg, lempeng kromatografi lapis tipis, silica gel G 60 F254, kanji .

B. Pembuatan ekstrak

Simplisia daun kesambi ditimbang sebanyak 1 kg lalu dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Ditambahkan cairan penyari etanol sebanyak 7500 ml. Selanjutnya didiamkan selama 5 hari terlindung dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk. Disaring lalu ampasnya diekstraksi kembali dengan jumlah pelarut yang sama. Hal ini dilakukan sebanyak tiga kali hingga terekstraksi sempurna. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan di evaporator hingga diperoleh ekstrak kental, ekstrak kental yang diperoleh diuapkan kembali dengan waterbath hingga diperoleh ekstrak kering [5]

C. Uji kualitatif

Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak kental etanol dan ekstrak kloroform di dilakukan identifikasi dengan menggunakan pereaksi mayer dan dragendroff. Hasil positif jika menghasilkan endapan merah dan dragendroff menghasilkan endapan coklat. Ditimbang 0,5 gram ekstrak kering daun kesambi, tambahkan 1 ml HCl 2M dan 9 ml aquadest lalu dipanaskan selama 2 menit, didinginkan kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi dalam 4 tabung reaksi, pada tabung pertama ditambahkan pereaksi mayer, tabung kedua ditambahkan pereaksi dragendroff. Diamati perubahan yang terjadi. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,3 g ditambahkan etanol 96% 2 ml dan 5 ml HCl 2N. dipanaskan selama 3 menit dan didinginkan. Ditambahkan NaCl lalu disaring, filtratnya ditambahkan HCl dan NH₄OH lalu diekstraksi dengan kloroform bebas air. Fase diambil dan diuji KLT dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 366 nm dan 256 nm [6]

D. Analisis Fraksi dengan Kromatografi Lapis Tipis

Analisis dilakukan dengan cara Fraksi terisolasi dari ekstrak dilakukan menggunakan plat KLT (Plat Silikagel GF254 20cm x 10 cm, Merck) dengan menggunakan eluen {kloroform : heksan} dengan perbandingan 7:3 dan 6:4 Pola pemisahan KLT diamati dengan menempatkan plat KLT di ruang Sinar Lampu Ultraviolet. Nilai R_f dihitung untuk masing-masing titik pada plat KLT

E. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP).

Ekstrak alkaloid yang diperoleh ditotolkan pada lempeng KLT yang berukuran 20 x 20 cm diberi tanda pada sisi atas 1 cm dan sisi bawah 2 cm, ekstrak pekat ditotolkan pada lempeng silika gel dengan menggunakan pipa kapiler secara tegak lurus secara berulang-ulang kemudian dimasukkan kedalam chamber yang telah di isi cairan pengelusi kloroform : n-heksan yang terlebih dahulu dijenuhkan. Setelah itu chamber ditutup sampai lempeng terelusi hingga garis batas atas. Lempeng yang telah terelusi dikeluarkan dari chamber kemudian diamati nodanya dibawah sinar UV

254 dan 366 nm. Noda yang terbentuk ditandai dengan menarik garis kemudian dikerok dan ditampung dalam wadah sebagai fraksi. Fraksi tersebut dimasukkan dalam vial kemudian dilarutkan dengan pelarut yang sesuai sebanyak 3 ml. Fraksi-fraksi tersebut ditotol kembali pada lempeng KLT lalu dimasukkan kedalam chamber dan dielusi dengan eluen yang sama pada chamber KLTP, untuk melihat apakah fraksi-fraksi tersebut hanya memiliki satu noda tunggal. Senyawa tunggal yang diperoleh tersebut dilanjutkan pada kromatografi lapis tipis dua dimensi [7]

F. Identifikasi Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi

Dari hasil KLTP, masing-masing noda dikerok untuk diidentifikasi dengan KLT dua dimensi. KLT dua dimensi dilakukan dengan melakukan penotolan sampel di salah satu sudut lapisan lempeng tipis dan mengembangkannya dengan eluen pertama yaitu kloroform :n- heksan dengan perbandingan yang sesuai (7:3) Lempeng kromatografi selanjutnya dipindahkan dari chamber pengembang dan eluen dibiarkan menguap dari lempeng. Selanjutnya lempeng diputar 90⁰ dimasukkan chamber yang menggunakan eluen kedua yaitu kloroform : heksan dengan perbandingan yang sesuai (6:4) sehingga pengembangan dapat terjadi pada arah kedua yang tegak lurus dengan arah pengembangan yang pertama, sampai diperoleh noda tunggal. Kemudian noda tunggal tersebut dikerok untuk diuji secara spektrofotometri UV-Vis dan Infra Merah [8]

G. Identifikasi senyawa dengan menggunakan Spektrofotometri UV-ViS

Untuk Fraksi senyawa murni yang diperoleh di larutkan dalam kloroform sebanyak 5 ml, kemudian disaring dan masukan kedalam kuved yang berisi sampel, lalu di ukur dan ditentukan pada panjang gelombang absorpsi maksimum dengan spektrofotometri UV-Vis 200-400 nm [9]

H. Identifikasi senyawa dengan menggunakan infra merah (IR)

Untuk menentukan gugus fungsi secara spektrofotometri infra merah dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi sebanyak 1 mg yang dicampur dengan 10-100 mg KBr dalam kondisi tanpa air. Bahan dibuat pelet dengan menggunakan cetakan. pelet KBr tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 400-780 cm⁻¹. Spektrofotometri secara otomatis membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu dan merekam pada kertas beberapa persen radiasi yang menembus persen radiasi yang transmisikan [10]

Hasil dan Diskusi

Tabel 1. . Hasil ekstraksi tanaman daun kesambi

Berat sampel kering (g)	Berat ekstrak kental (g)	Rendamen (%)
1000 g	42,43 g	4,243%

Tabel 2. Hasil uji pendahuluan

No.	Ekstrak	Uji Pendahuluan	
		Mayer	Dragendroff
1	Ekstrak Metanol	Endapan Hijau	Endapan Merah bata
2	Kloroform II	Endapan Coklat	Endapan Merah bata

Tabel 3. Hasil identifikasi KLT ekstrak kloroform daun

No	Noda	Nilai Rf pada sinar UV 254 nm
1	Merah	0,94
2	coklat	0,78
3	Merah kecoklatan	0,56
4	jingga	0,41

Tabel 4. Hasil Kromatografi Lapisan Tipis Preparatif

No	Isolat	Rf	Hasil Pengujian Uji Kandungan Alkaloid
1	F1	0,61	Kuning Pucat
2	F2	0,50	Berwarna Cokelat (+) Alkaloid
3	F3	0,45	Kuning lemah

Tabel 5. Hasil KLT 2 Dimensi dengan eluen kloroform-heksan

No	Fraksi	Noda	Nilai Rf Pada UV 254 nm
1	F2	Keunguan	0,52
2		Coklat	0,53

Tabel 6. Hasil pembacaan spectrum dengan spektrofotometri IR.

Fraksi	Spektrofotometri Infra Red (cm-1)	Prediksi Gugus Fungsi
Fraksi 2	3454,51	(N-H)
	1641,40	(C=C)
	1095,57	(C-N)
	800,46	(C-C)

Pada penelitian ini, ekstraksi dilakukan secara metode maserasi. Digunakan maserasi karena sampel yang digunakan lunak dan tidak menggunakan pemanasan sehingga tidak merusak senyawa kimia didalamnya. Ekstrak kental yang diperoleh yaitu sebesar 42,43 gram.

Ekstrak kering yang diperoleh selanjutnya diekstraksi menggunakan corong pisah. Ekstrak kering etanol kemudian disuspensikan dengan H₂O kemudian diasamkan dengan HCl sampai pH 1-3 dan di ekstraksi Kloroform selanjutnya dipisahkan dan ditampung kedalam vial. Sementara fase H₂O dibasakan dengan NH₄OH sampai pH 8-10 dan diekstraksi dengan kloroform, kemudian dikocok hingga tercampur maka akan menghasilkan ekstrak kloroform (I) dan lapisan air lalu dipisahkan ditampung kedalam vial. Fase H₂O di ekstraksi kembali dengan kloroform kocok hingga tercampur akan menghasilkan ekstrak kloroform (II) dan lapisan air lalu dipisahkan dan ditampung kedalam vial. Ekstrak kloroform (II) yang diperoleh selanjutnya akan di uji secara kualitatif

Pada ekstrak etanol dilakukan uji warna dengan menggunakan pereaksi mayer menghasilkan endapan hijau dan pereaksi dragendroff menghasilkan endapan merah bata, sedangkan pada ekstrak kloroform (II) dilakuka uji warna dengan pereaksi mayer menghasilkan endapan coklat dan pereaksi dragendroff mengasilkan endapan merah bata

Pada KLT Preparatif diperoleh 2 fraksi, selanjutnya fraksi-fraksi diidentifikasi dengan KLT 2 Dimensi untuk mengetahui dari keempat fraksi tersebut yang mana merupakan senyawa murni dari hasil KLT 2 Dimensi yang dilakukan dengan eluen kloroform-heksan (7:3) sebagai fase gerak pertama, Kloroform-heksana(6:4) sebagai fase gerak kedua menunjukkan bahwa pada fraksi 2 atau fraksi B merupakan senyawa tunggal dan murni, dan dapat disimpulkan bahwa hasil dari KLT 2 Dimensi dapat dilanjutkan dengan analisis spektrofotometri UV-VIS dan IR [11]

Hasil identifikasi spektrofotometri ultraviolet fraksi murni yang diperoleh panjang gelombang maximum 242 nm dengan absorbansi 0,349, panjang gelombang ini berada dalam kisaran 230-300 nm menunjukan bahwa senyawa tersebut terdapat pada senyawa golongan yang diduga alkaloid piridin dan analisis ini menunjukan bahwa senyawa tersebut terdapat gugus fungsi kromofor aromatis oleh serapan infra merah pada daerah 1654,4 cm⁻¹ yang khas untuk senyawa piridin [12]

Analisis spektrofotometri infra merah pada fraksi murni yang diperoleh, memperlihatkan pada bilangan gelombang max 3454,51 cm⁻¹ mengidentifikasikan komponen-komponen kimia dari gugus fungsi amina (N-H), pada bilangan gelombang max 1641,42 cm⁻¹ mengidentifikasikan komponen-komponen kimia gugus fungsi aromatis (C=C), pada bilangan gelombang max 1097,50 cm⁻¹ mengidentifikasikan komponen-komponen kimia gugus Fungsi amina (C-N) dan pada bilangan gelombang max 806,25 cm⁻¹ mengidentifikasikan komponen-komponen kimia gugus fungsi aromatis(=CH) [11]

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari identifikasi spektrofotometri inframerah diperoleh komponen-komponen kimia yang terdapat dalam ekstrak kloroform daun kesambi (*Schleichera oleosa* L), yaitu gugus (N-H), gugus (C=C), gugus (C-N) dan gugus (=CH) diduga mengandung senyawa alkaloid

Daftar Pustaka

- [1] H. Jennifer dan E. Saptutyningisih, "Individual preferences to traditional treatment in Indonesia," JESP: J. Ekonomi & Studi Pembangunan, vol. 16, no. 1, pp. 26–41, 2015.
- [2] M. Kurniawan, Mengenal Hewan dan Tumbuhan Asli Indonesia, Astutiningsih, Ed. Jakarta: Cikal Aksara, 2010.

- [3] K. Holil dan T. P. Griana, "Analisis fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa*) metode DPPH," *J. Islamic Pharmacy*, vol. 5, no. 1, pp. 28, 2020. doi: 10.18860/jip.v5i1.9387.
- [4] A. Saeful, N. A. Cahya, dan M. S. A. Intan, *Skrining Virtual Senyawa Alkaloid*, Yogyakarta: Deepublish CV Budi Utama, 2022.
- [5] D. D. P. Damanik, N. Surbakti, dan R. Hasibuan, "Ekstraksi katekin dari daun gambir (*Uncaria Gambir* Roxb) dengan metode maserasi," *J. Teknik Kimia USU*, vol. 3, no. 2, pp. 10–14, 2014. doi: 10.32734/jtk.v3i2.1606.
- [6] F. Khanifah, E. Puspitasari, dan A. S., "Tanin pada kombinasi kunyit (*Curcuma Longa*) dan coklat (*Theobroma cacao* L)," *J. Ilmiah Berkala Sains dan Terapan Kimia*, vol. 15, 2020.
- [7] A. Yuliana, "Isolasi zat warna baru *Monascus purpureus* dari hasil fermentasi padat dengan beras sebagai substrat," *J. Pharmacopolium*, vol. 1, no. 1, pp. 13–22, 2018. doi: 10.36465/jop.v1i1.391.
- [8] Y. K. R. L. L. Pote, "Isolasi dan karakterisasi senyawa alkaloid dari kulit batang tumbuhan halay (*Alstonia spectabilis* R. Br) asal Desa Wee Rame Kabupaten Sumba Barat Daya," *J. Geotechnical and Geoenvironmental Engineering ASCE*, vol. 120, no. 11, pp. 259, 2015.
- [9] E. T. Damayanti dan P. Kurniawati, "Perbandingan metode penentuan vitamin C pada minuman kemasan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis dan iodimetri," *Universitas Islam Indonesia Journal*, vol. 4, no. 2, pp. 258–266, 2017.
- [10] P. Riwanti dan F. Izazih, "Skrining fitokimia ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* dan profil dengan spektrofotometri infrared," *Acta Holistica Pharmacia*, vol. 2, no. 1, pp. 34–41, 2019.
- [11] W. Zakiyah, A. Agustin, A. Fauziah, D. Maharani, dan G. Mukti, "PharmaCine," *J. Pharmacy, Medical and Health Science*, vol. 2, no. 1, pp. 51–59, 2021.
- [12] S. Amin dan A. Yuliana, "Analisis dan uji kestabilan zat warna kayu secang (*Caesalpinia Sappan* L.) menggunakan spektrofotometer UV-Visible dan inframerah," *J. Kesehatan Bakti Tunas Husada*, vol. 15, no. 1, pp. 56, 2016. doi: 10.36465/jkbth.v15i1.151.