

Senyawa Fenolat dari Fraksi Etil Asetat Buah Tumbuhan Mempelas (*Tetracera indica* Merr.)

FITRYA¹⁾, MUHARNI²⁾, DAN MARETHA KOBAYWAN²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan

²⁾Jurusan FMIPA Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan

INTISARI: Telah dilakukan isolasi senyawa fenolat dari fraksi etil asetat buah tumbuhan mempelas (*Tetracera indica* Merr.). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan pemisahan senyawa menggunakan teknik kromatografi. Hasil isolasi diperoleh kristal berbentuk jarum berwarna kuning seberat 4,01 mg dengan titik leleh 297-298°C. Munculnya puncak serapan spektrum UV pada 277 nm mengindikasikan bahwa pada senyawa hasil isolasi memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang lazimnya merupakan cincin aromatis. Spektrum IR memberikan puncak absorpsi pada bilangan gelombang 3424, 3103-3010, 2947, 1715, 1438 -1608, 1386-1354, 1182 cm⁻¹ yang masing-masing menunjukkan adanya gugus O-H bebas, C-H aromatik, regang C-H alifatik, C=O keton, C=C aromatik, lentur C-H alifatik, C-O-C. Berdasarkan spektrum LC-MS menunjukkan berat molekul senyawa isolasi adalah 300.

KATA KUNCI: senyawa Fenolat, *Tetracera indica*

E-MAIL: fitrya_y@yahoo.com

1 PENDAHULUAN

Penggunaan tanaman obat untuk penyembuhan suatu penyakit didasarkan pada pengalaman yang secara turun-menurun diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya. Tanaman obat merupakan suatu komponen penting dalam pengobatan tradisional^[1].

Salah satu tumbuhan yang telah digunakan sebagai obat secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit adalah tumbuhan mempelas (*Tetracera indica* Merr). Tumbuhan ini banyak tumbuh di Indonesia, Malaysia, Thailand^[2]. Tumbuhan genus *Tetracera* mengandung senyawa flavonoid seperti kuersetin, kaemferol, apigenin, rhamnetin dan azaleatin^[3]. Di Malaysia, bagian akar tumbuhan mempelas direbus dan airnya diminum untuk menurunkan tekanan darah tinggi dan suhu badan ketika diserang demam panas. Selain itu, bagian daunnya digunakan sebagai obat bubuk untuk menghilangkan penyakit gatal-gatal kulit. Tumbuhan ini juga dapat dijadikan sebagai obat bagi penderita diabetes mellitus dan penderita bau mulut, namun tidak disebutkan bagian mana dari tumbuhan ini yang bisa digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit ini^[4].

Meskipun tumbuhan mempelas telah cukup lama digunakan sebagai obat tradisional, akan tetapi informasi tentang kandungan kimia tumbuhan mempelas masih sangat terbatas. Penelitian terdahulu menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid yaitu

5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon yang telah diisolasi dari tumbuhan mempelas^[5].

Uji fitokimia terhadap bagian buah tumbuhan mempelas mengindikasikan adanya senyawa-senyawa golongan fenolik yaitu flavonoid, sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa yang terkandung dalam buah mempelas. Sebelumnya Fitrya dkk.^[6] telah melaporkan senyawa flavonoid yang diidentifikasi sebagai wogonin (5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon) dari buah tumbuhan mempelas. Pola noda pada kromatogram KLT menunjukkan bahwa terdapat noda lain yang memiliki Rf berbeda dari senyawa wogonin dan berpotensi untuk diisolasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap senyawa metabolit sekunder lain yang terdapat pada ekstrak etil asetat sehingga dapat melengkapi profil kandungan kimia tumbuhan mempelas. Ekstraksi senyawa dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana dan etil asetat. Isolasi dan identifikasi selanjutnya dilakukan pada fraksi etil asetat buah mempelas. Pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan teknik kromatografi kolom vakum, kromatografi kolom flash dan kromatografi kolom gravitasi. Penentuan kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan teknik kromatografi lapis tipis dan penentuan titik leleh. Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan spektrofotometer ultraviolet, spektrofotometer infra merah, dan spektrofotometer LC-MS.

2 METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya, Januari sampai dengan November 2008. Analisis spektrum UV di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam departemen Kimia ITB, spektrum IR dan LC-MS dilakukan di LIPI Serpong.

2.2 Alat dan Bahan

Peralatan gelas yang lazim digunakan dilaboratorium, seperangkat alat destilasi, chamber, kolom kromatografi vakum, kolom kromatografi gravitasi, rotari evaporator R-114 Buchi dengan sistem vakum Buchi B-169, alat pengukur titik leleh Fisher Jhon, lampu UV 254 nm dan 366 nm, spektrofotometer UV Varian cone 100, spektrofotometer FTIR Shimadzu 8400 dan spektrofotometer LC-MS Mariner spektrometer, ESI sistem.

Bahan-bahan berupa serbuk kering buah tumbuhan mempelas, pelarut organik berkualitas teknis dan didestilasi, plat KLT silika gel G 60 F 254, silika gel G 60 (70-230 mesh), silika vakum 60 (230-400 mesh), silika flash 60 (40-230 mesh).

2.3 Metode

Uji Fitokimia

Terhadap buah mempelas dilakukan uji fitokimia yang terdiri dari: uji alkaloid, uji steroid, uji triterpenoid, uji flavonoid dan uji saponin.

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Fenolat dari Buah Tumbuhan Mempelas

Fraksi etil asetat (13,58 g) Pemisahan dipisahkan dengan kromatografi kolom vakum. Kromatografi kolom vakum dibuat dengan menggunakan fase diam silika gel 60 (230-400 mesh). Eluen yang digunakan adalah n-heksana, campuran eluen etil asetat dan metanol 9 :1 sampai metanol 100% (1600 mL). Hasil KLT yang menunjukkan pola noda yang sama dikelompokkan menjadi satu fraksi. Pemisahan ini menghasilkan 5 fraksi yaitu F₁-F₅. Berdasarkan pola noda dari kromatogram KLT yang diperoleh maka noda pada F₃ yang akan dipisahkan lebih lanjut.

Fraksi F₃ sebanyak 410,9 mg dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan fase diam silika gel G 60 (70-230 mesh). Sampel disiapkan secara preabsorpsi kemudian dielusi menggunakan eluen etil asetat : diklorometan (1:1) sampai etil asetat 100 %, eluat ditampung didalam 83 vial. Pemisahan ini menghasilkan 12 fraksi yaitu F_{3.1}-F_{3.12}. Berdasarkan

pola noda pada KLT maka noda utama yang dipisahkan adalah noda pada F_{3.3}.

Fraksi F_{3.3} sebanyak 127,5 mg dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom gravitasi. Sampel disiapkan secara preabsorpsi menggunakan silika gel G 60 (70-230 mesh) sebanyak 127,5 mg, kemudian dielusi menggunakan eluen etil asetat : diklorometan dengan sistem gradien. Berdasarkan pola noda pada kromatogram KLT pemisahan ini menghasilkan 2 fraksi yaitu F_{3.3.1} – F_{3.3.2}.

Pemisahan dilanjutkan terhadap fraksi F_{3.3.2} sebanyak 53,1 mg, dipisahkan dengan kromatografi kolom flash menggunakan fase diam silika flash 60 (40-230 mesh). Pemisahan ini menghasilkan 5 fraksi yaitu F_{3.3.2.1} – F_{3.3.2.5}. Hasil pemisahan tersebut menghasilkan senyawa murni (4,01 mg) pada F_{3.3.2.2.3} berupa kristal berbentuk jarum berwarna kuning.

Uji Kemurnian dan Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

Uji kemurnian terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan KLT dengan berbagai variasi campuran eluen dan uji titik leleh. Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan spektrofotometer UV, IR, dan LC-MS.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia memperlihatkan bahwa buah mempelas ini mengandung senyawa fenolat yaitu flavonoid, seperti terlihat pada tabel 1.

TABEL 1: Hasil uji fitokimia buah tumbuhan mempelas

No	Metabolit Sekunder	Hasil
1	Alkaloid	–
2	Flavonoid	+
3	Steroid	–
4	Triterpenoid	–
5	Saponin	+

Keterangan:

+ = ada kandungan kimia

– = tidak ada kandungan kimia

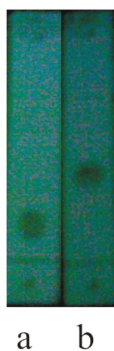
Positif flavonoid ditandai dengan perubahan warna merah pada larutan uji setelah ditambahkan logam Mg pada pereaksi shinoda. Warna merah yang terjadi akibat adanya reduksi dari logam Mg.

Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Hasil Isolasi dari Ekstrak Etilasetat Buah Mempelas

Ekstrak pekat fraksi Etil asetat buah mempelas sebanyak 13,58 g dipisahkan dengan kromatografi kolom vakum. Berdasarkan hasil dari kromatogram KLT, fraksi dikelompokkan berdasarkan Rf yang sama, sehingga diperoleh 5 fraksi yakni F₁ (vial 2-5), F₂ (vial 6-15), F₃ (vial 16-57), F₄ (vial 58-63), dan F₅ (64-86). Fraksi F₃ merupakan fraksi yang berpotensi sehingga dilakukan pemisahan lebih lanjut. Pemilihan fraksi F₃ ini didasarkan pada pola noda yang sederhana dari KLT dan terbentuknya noda berwarna kuning pekat setelah disemprot dengan pereaksi serum sulfat yang mengindikasikan senyawa Fraksi tersebut mengandung senyawa fenolat.

Fraksi F₃ (410,9 mg) selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi, fraksi yang berpotensi adalah fraksi F_{3.3} (127,5 mg) karena dari pola noda yang dihasilkan berbentuk bulat dan terdapat dua noda yang berwarna kuning terlihat semakin sangat jelas setelah disemprot dengan pereaksi semprot serum sulfat. Fraksi ini dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom. Fraksi yang berpotensi untuk dipisahkan lebih lanjut adalah fraksi F_{3.3.2}, tetapi belum menunjukkan satu noda tunggal sehingga harus dipisahkan kembali. Pemisahan F_{3.3.2} menghasilkan 5 fraksi yaitu F_{3.3.2.1} (vial 3-7), F_{3.3.2.2} (vial 8-11), F_{3.3.2.3} (vial 12-14), F_{3.3.2.4} (vial 15-19) dan F_{3.3.2.5} (vial 20-29).

Pada fraksi F_{3.3.2.3} didapatkan noda tunggal (4,01 mg), Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan KLT menggunakan berbagai variasi eluen ditunjukkan pada gambar 1.



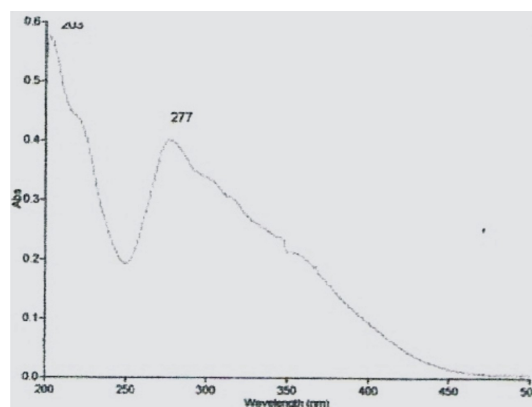
GAMBAR 1: a = *n*-heksana: diklorometana: aseton (5:4:1); b = *n*-heksana: etil asetat (7:3)

Uji kemurnian selanjutnya, dengan pengukuran titik leleh yang memberikan nilai 297-298°C dengan jarak sempit ($\leq 2^\circ\text{C}$) mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi sudah murni. Titik leleh ini berbeda dengan titik leleh senyawa flavonoid yang telah diisolasi yaitu 195-197°C. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa isolasi tidak sama dengan senyawa wogonin yang telah dipub-

likasikan terdahulu. sKristal yang didapat dari hasil pemisahan selanjutnya dianalisa dengan spektroskopi UV, IR, dan LC-MS.

Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

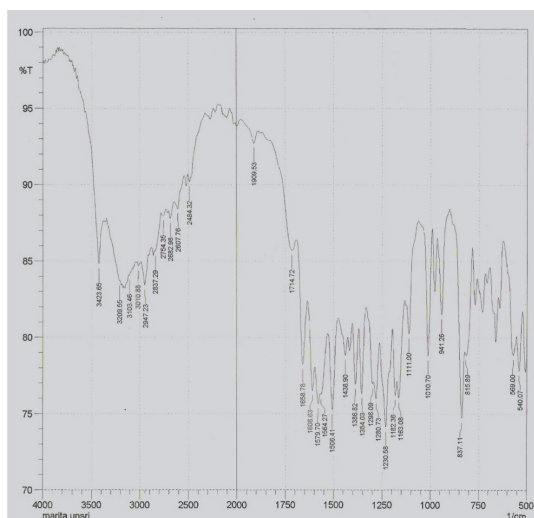
Spektrum Ultraviolet dari kristal F_{3.3.2.3} dalam pelarut metanol muncul dua puncak serapan yakni pada panjang gelombang 203 nm dan 277 nm (gambar 2). Puncak serapan pada panjang gelombang 203 nm merupakan puncak serapan yang khas untuk pelarut metanol. Adanya absorpsi pada panjang gelombang 277 nm mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi ini mempunyai cincin aromatis, dimana muncul pada panjang gelombang yang lebih panjang dengan intensitas yang besar (200-400 nm). Hal ini diperkuat dengan munculnya sinyal pada bilangan gelombang 1438-1608 cm^{-1} yang berasal dari regang C=C pada spektroskopi infra merah.



GAMBAR 2: Spektrum UV senyawa hasil isolasi

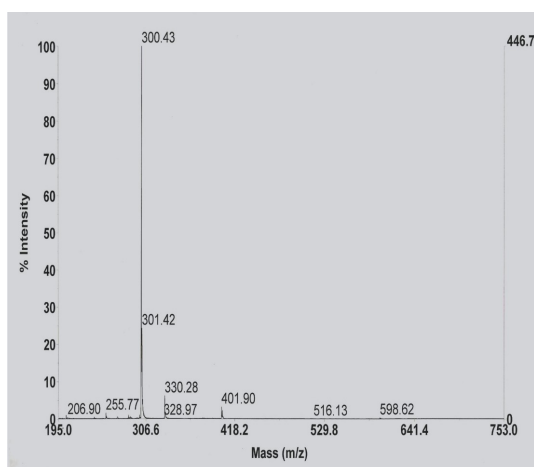
Spektrum IR memberikan informasi adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3424 cm^{-1} menunjukkan adanya regang O-H bebas, pada bilangan gelombang 1438-1608 cm^{-1} yang menunjukkan adanya regang C=C aromatik dan munculnya serapan 3103 sampai 3010 cm^{-1} menunjukkan adanya regang C-H aromatik. Munculnya pita-pita serapan ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa aromatik. Pita serapan pada bilangan gelombang 1715 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil keton. Adanya gugus C-O-C ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 1182 cm^{-1} . Pita serapan pada bilangan gelombang 2947 cm^{-1} menunjukkan adanya regang C-H alifatik dan pada bilangan gelombang 1386 sampai 1354 cm^{-1} menunjukkan adanya lentur C-H alifatik. Spektrum IR senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 3.

Analisis spektrum massa dilakukan menggunakan teknik ionisasi elektron (ES). Spektrum massa menunjukkan adanya puncak dengan kelimpahan yang paling tinggi pada m/z 300,43, puncak ini diduga puncak ion



GAMBAR 3: Spektrum IR senyawa hasil isolasi

molekul. Studi pustaka diketahui bahwa pada teknik percikan ionisasi MS yang muncul hanya puncak ion molekul sedangkan ion-ion fragmennya tidak muncul. Berdasarkan hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi memiliki senyawa dengan berat molekul m/z 300. Spektrum LC_MS dapat dilihat pada gambar 4.



GAMBAR 4: Spektrum massa senyawa hasil isolasi

Senyawa murni diuji dengan larutan FeCl_3 terben-

tuk warna ungu menunjukkan bahwa senyawa murni termasuk golongan fenolat.

4 KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak etil asetat buah mempelas dapat disimpulkan bahwa: 1.

1. Sebanyak 4,01 mg kristal berwarna kuning dengan titik leleh $297\text{--}298^\circ\text{C}$ telah berhasil di isolasi dari 13,575 g ekstrak etil asetat tumbuhan mempelas.
2. Berdasarkan analisis dengan FeCl_3 senyawa hasil isolasi termasuk kelompok fenolat dan memiliki berat molekul m/z 300.

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melengkapi data dengan menggunakan $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan MS sehingga struktur senyawa hasil isolasi dapat diketahui dan ditentukan dengan tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] _____, 2008, My Herba, www.melur.com, diakses tanggal 14 Agustus 2008
- [2] _____, 2008, Nama Ilmiah Jenis Tumbuhan, www.karantinaadisucipto.blogspot.com, diakses tanggal 14 Februari 2009
- [3] Silva, A.M., 2003, The Effect Of Tetracera potatoria And Its Constituent Betulinic Acid On Gastric Acid Secretion And Experimentally- Induced Gastric Ulceration, *Journal of Physiological Sciences*, vol. 18(1-2) : 21-26, <http://www.viewarticle.php.html>, 16 Februari 2009
- [4] _____, 2009, Akar Mempelas Rawat Darah Tinggi, <http://www.geocities.com/ex.height/herb29.html>, 11 Februari 2009
- [5] Harrison, L.J., 1994, 5,7-dihydroxy-8-methoxyflavone from Tetracera Indica, *Planta medica*, vol 60, nospp: 493-494, <http://www.sciencedirect.com/science>, 15 Februari 2009
- [6] Fitrya, Lenny Anwar dan Fitria Sari, 2009, Identifikasi Flavonoid dari Buah Tumbuhan Mempelas, *Jurnal Penelitian Sains*, Vol. 12 No 3(C) hal.1235(1)-1235(5) _____