

ISOLASI STEROID DARI DAUN PUTERI MALU (*Mimosa invisa*) DENGAN PELARUT n-HEKSANA

Ferlinahayati
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi steroid dari daun *Mimosa invisa* dengan metoda maserasi menggunakan pelarut n-heksana. Pemisahan dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan eluen n-heksana dan etil asetat secara elusi bergradien dan rekristalisasi dengan metanol. Hasil isolasi berupa kristal berbentuk jarum dengan titik leleh 144 - 146°C. Spektrum memberikan λ_{max} (MeOH) pada 208,7 nm. Spektrum inframerah memberikan serapan pada bilangan gelombang (cm^{-1}) 3419,9; 2934,2; 2862,9; 1630; 1660; 1465,8; 1383; 1055,3; dan 971,3. GC-MS memperlihatkan waktu retensi (menit) dan (M^+) masing-masing adalah 21,883 (400); 22,5 (412) dan 23,367 (414). Dari data yang ada diduga bahwa kristal steroid hasil isolasi adalah ergost-5-en-3 β -ol, stigmast-5,22-dien-3 β -ol dan stigmast-5-en-3 β -ol.

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan telah lama dikenal sebagai sumber metabolit sekunder yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku obat, kosmetika, insektisida dan lain sebagainya. Khususnya sebagai bahan baku obat, penelitian tentang kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman obat tradisional telah banyak dilakukan. Mengingat makin beranekaragamnya penyakit yang ada dewasa ini, maka diperlukan suatu usaha untuk mencari senyawa bioaktif baru yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat yang

berasal dari tumbuhan selain dari tanaman obat tradisional (Kosela, 1999). Tingginya kebutuhan akan senyawa kimia bioaktif yang dapat digunakan baik sebagai bahan baku obat maupun agroindustri mendorong dilakukan penelitian mengenai kandungan dan bioaktivitas metabolit sekunder dari tumbuhan sehingga diperoleh informasi kemotaksonomi yang dapat membantu ahli kimia dan ahli bidang terkait dalam memanfaatkan dan mengembangkan lebih lanjut senyawa bioaktif tersebut (Achmad, 1991).

Steroid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang mempunyai beragam aktivitas. Diantara kegunaan senyawa steroid ini adalah sebagai kontraseptik, pengobatan penyakit jantung, mengatur haid dan anti peradangan (Doerge, 1982).

Tumbuhan *M. invisa* (Puteri Malu) di dalam taksonomi tumbuhan termasuk ke dalam genus *Mimosa* dengan famili Mimosaceae. Tiga jenis *Mimosa* yang sering dijumpai adalah *M. pudica* yang mempunyai ukuran paling kecil, *M. invisa* yang ukurannya sedikit lebih besar dan hampir seluruh bagian batangnya berduri serta *M. pigra* yang mempunyai ukuran terbesar diantara ketiga tumbuhan tersebut..

Berdasarkan penelusuran literatur yang telah dilakukan, tidak diperoleh informasi mengenai kandungan kimia dan bioaktivitas dari tumbuhan ini. Sedangkan spesies lainnya yaitu *M. pudica* telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat yang mempunyai efek farmakologis sebagai *sedative*, anti dahak (*expectorant*), penurun panas (*antipiretic*), anti radang (*anti-inflammatory*) dan peluruh air seni (*diuretic*), dan telah dilaporkan adanya kandungan

senyawa mimosine (Wijayakusuma, 1992). Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia dari tumbuhan *M. invisa*.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi dan pemisahan adalah, metanol, n-heksana dan etil asetat dengan kualitas teknis yang telah didestilasi. Untuk rekristalisasi digunakan pelarut metanol p.a. Kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan Si gel Merck 60 (35 -70 mesh) dan analisis kromatografi lapisan tipis (KLT) pada pelat berlapis Si gel Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,25 mm. Titik leleh ditentukan dengan menggunakan alat penetapan titik leleh Fisher John. Untuk penetapan stuktur dilakukan pengukuran spektrum UV, IR dan GC-MS

Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Daun tumbuhan Puteri Malu dikumpulkan dari desa Pasar Ambacang, Kecamatan Padang Timur, Kotamadya Padang, Sumatera Barat. Tumbuhan ini

diidentifikasi oleh Herbarium Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas Padang.

Uji Fitokimia

Uji Fitokimia dilakukan terhadap kandungan alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid dan saponin dari daun tumbuhan Puteri Malu menggunakan metoda Farnsworth.

Ekstraksi dan Isolasi

Daun yang telah dikeringkan dan digiling (1000 g) diekstraksi dengan menggunakan metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya pada tekanan rendah menggunakan rotari evaporator, sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak pekat metanol (3 g) difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan eluen n-heksana yang ditingkatkan kepolarnya dengan etilasetat (elusi bergradien) yang digabungkan berdasarkan hasil analisis KLT. Pada fraksi kelima diperoleh kristal jarum berwarna hijau muda. Setelah dicuci dengan n-heksana dan direkristalisasi dalam metanol diperoleh kristal jarum bening sebanyak 40 mg.

Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi dan Karakterisasi

Karakterisasi Uji kemurnian terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan berbagai eluen yaitu, kloroform, etil asetat serta n-heksana dengan etilasetat (8 : 2) dan (7 : 3) serta uji titik leleh. Karakterisasi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV, IR dan GC-MS.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia yang dilakukan terhadap daun M. invisa memperlihatkan bahwa steroid merupakan senyawa metabolit sekunder utama dari daun M. invisa (tabel 1)

Tabel 1. Hasil uji fitokimia terhadap daun M. invisa

Table with 2 columns: Golongan senyawa, Kandungan. Rows include Alkaloid, Triterpenoid, Steroid, Saponin, and Flavonoid.

Ekstraksi yang dilakukan terhadap daun M. invisa (1000 g) memberikan ekstrak n-heksan sebanyak 16 g dan kristal putih non steroid sebanyak 2,92 gr. Selanjutnya ekstrak n-heksana memberikan noda pada KLT

dengan Rf : 0,68; 0,61; 0,52; 0,28; 0,18; 0,08; dan 0,03 dengan eluen n-heksana : etilasetat (8 : 2). Kromatografi kolom terhadap ekstrak n-heksana (2 g) dilakukan dengan menggunakan eluen n-heksan yang ditingkatkan kepolarannya dengan etilasetat yang menghasilkan 91 fraksi. Penggabungan fraksi-fraksi tersebut berdasarkan analisis KLT menghasilkan 7 fraksi utama. Pada fraksi ke lima diperoleh kristal jarum yang berwarna kehijauan. Setelah dicuci dengan n-heksana dan direkristalisasi dalam metanol diperoleh kristal jarum bening sebanyak 40 mg dan memberikan uji positif untuk senyawa steroid.

Kristal jarum hasil isolasi memberikan titik leleh 144 – 146 °C, dan pada uji KLT menggunakan berbagai eluen baik tunggal maupun campuran selalu memperlihatkan noda yang tunggal (tabel 2) sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa steroid hasil isolasi itu murni..

Tabel 2. Hasil KLT senyawa steroid hasil isolasi

Eluen	Rf
EtOAc	0,6
n-Heksana : EtOAc	0,18
n-heksana : EtOAc	0,33
Kloroform	0,22

Spektrum ultraviolet (UV) terhadap senyawa steroid hasil isolasi ini memberikan serapan pada λ_{max} (MeOH) 208,7 nm. Spektrum inframerah (KBr) memberikan puncak serapan pada 3419,9; 2934,2; 2862,9; 1630; 1660; 1465,8; 1383; 1055,3; dan 971,3 cm^{-1} . Analisa GC-MS memperlihatkan 3 puncak (3 senyawa) pada kromatogram dengan waktu retensi (Rt) dan M^+ yang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil GC-MS senyawa steroid hasil isolasi

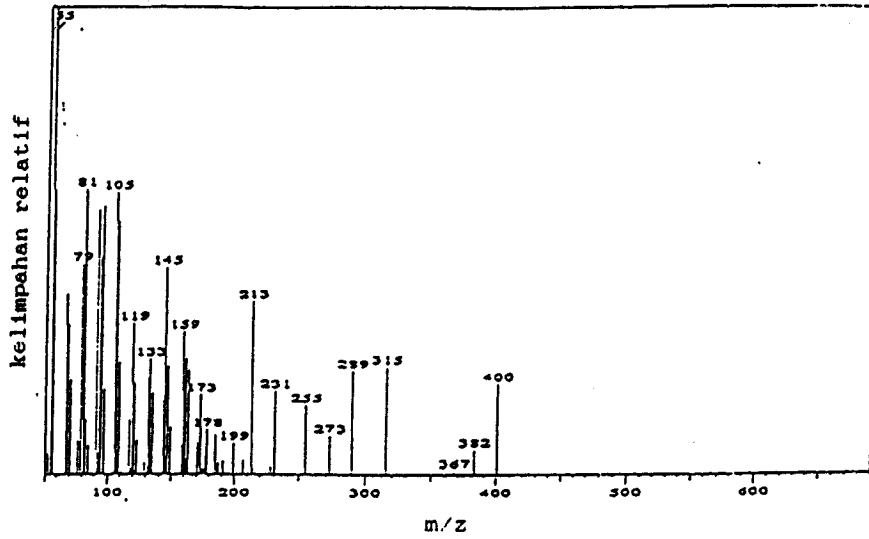
Senyawa	Waktu retensi (menit)	M^+
A	21,88	400
B	22,50	412
C	23,37	414

Spektrum UV steroid hasil isolasi memperlihatkan pita serapan maksimum pada λ_{max} (MeOH) 208,7 nm yang diduga merupakan pita serapan C=C terisolasi. Adanya sistem π terisolasi ini didukung oleh spektrum inframerah yang memberikan serapan pada daerah 1630 dan 1660 cm^{-1} yang merupakan vibrasi regang dari C=C dan 971,3 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk C-H dari sistem olefinik (Robert, et al, 1985). Serapan vibasi regang OH muncul pada

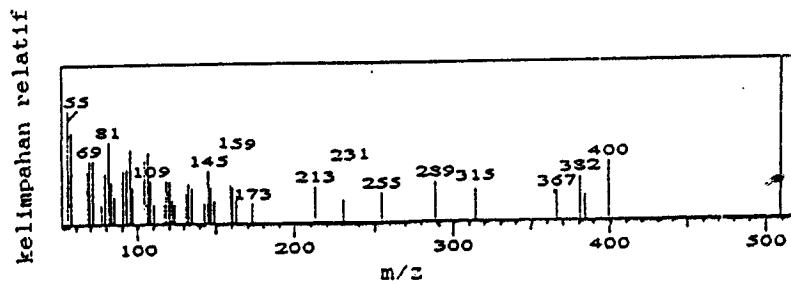
3419,19 cm^{-1} yang didukung oleh serapan pada 1055,3 cm^{-1} yang merupakan vibrasi regang dari C-O alkoksi. C-H sp_3 muncul pada 2934, 2 dan 2862,9 cm^{-1} , sedangkan pita serapan 1465,8 dan 1383,4 cm^{-1} dirujuk sebagai sistem gem dimetil. Pita serapan vibrasi tekuk C-H pada 971,3 cm^{-1} menandakan adanya ikatan rangkap terisolasi pada unit rantai samping steroid, sedangkan serapan pada 1630 dan 1660 merupakan pita serapan ikatan rangkap dalam kerangka dasar steroid. Jadi secara keseluruhan spektrum inframerah senyawa steroid hasil isolasi ini menandakan bahwa senyawa ini tergolong jenis sterol yang mengandung dua ikatan rangkap terisolasi, satu pada kerangka steroid sedang yang lain pada rantai samping.

Dilain pihak analisis GC-MS terhadap komponen steroid hasil isolasi ini menunjukkan bahwa komponen ini

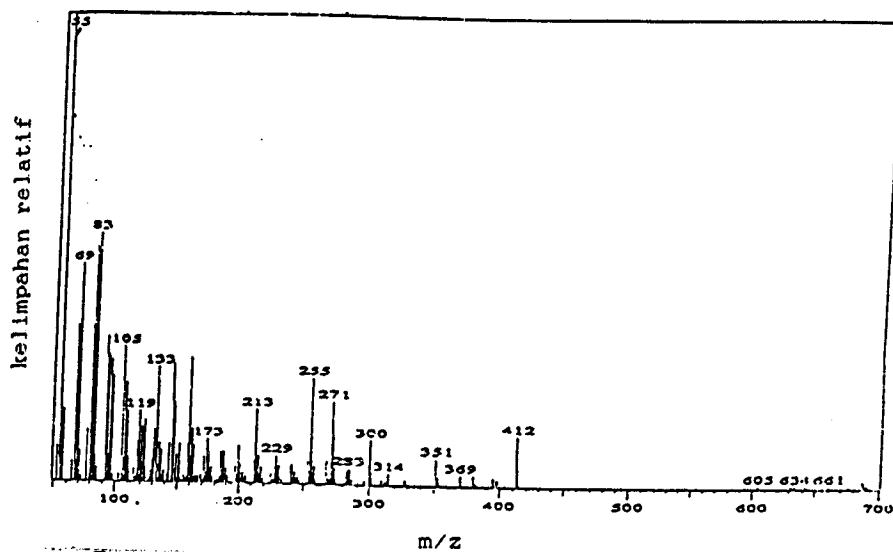
sebenarnya bukanlah suatu senyawa murni tapi terdiri dari tiga senyawa (A,B,C) dengan kepolaran yang tidak jauh berbeda yang dapat dilihat dari waktu retensinya yang berdekatan satu sama lain. Dengan merujuk pada beberapa spektrum massa steroid pembanding untuk masing-masing senyawa A, B, dan C maka spektrum massa senyawa A (gambar 1) dengan M^+ 400 relatif mirip dengan spektrum massa senyawa ergost-5-en-3 β -ol (gambar 2) sehingga senyawa A diduga sebagai ergost-5-en-3 β -ol. Spektrum massa senyawa B (gambar 3) dengan M^+ 412 relatif mirip dengan spektrum massa senyawa stigmast-5,22-dien-3 β -ol (gambar 4) sehingga senyawa A diduga sebagai stigmast-5,22-dien-3 β -ol. Spektrum massa senyawa C (gambar 5) dengan M^+ 414 relatif mirip dengan spektrum massa senyawa stigmast-5-en-3 β -ol I (gambar 6) sehingga senyawa C diduga sebagai stigmast-5-en-3 β -ol.



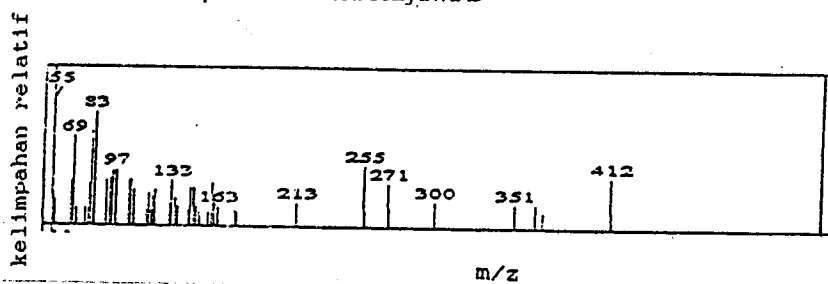
Gambar 1. Spektrum massa senyawa A



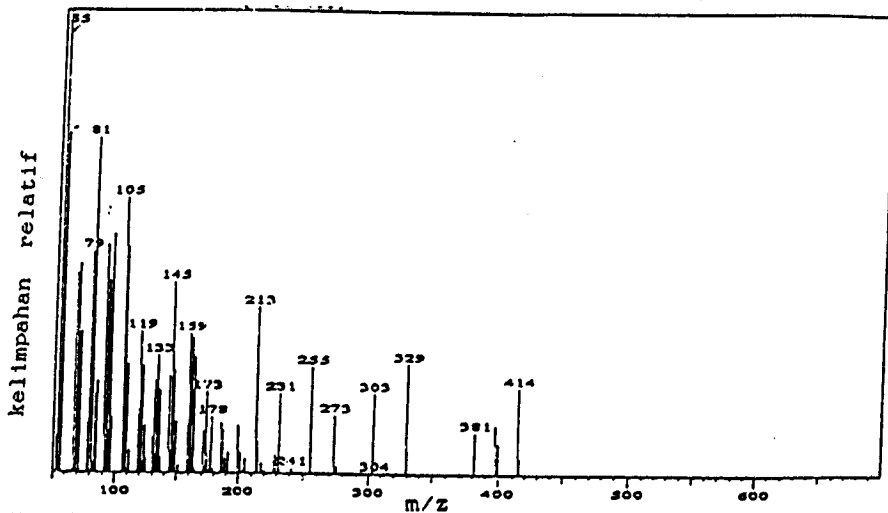
Gambar 2. Spektrum massa senyawa ergost-5-en-3β-ol



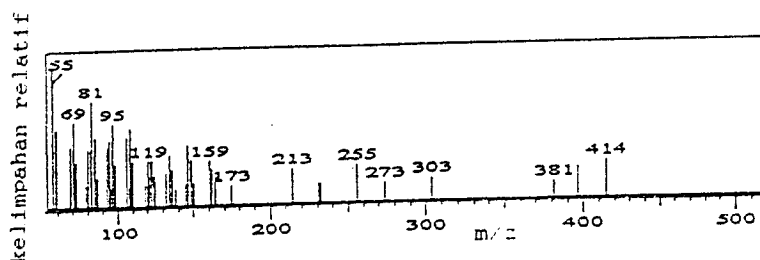
Gambar 3. Spektrum massa senyawa B



Gambar 4. Spektrum massa senyawa stigmaster-5,22-dien-3β-ol



Gambar 5. Spektrum massa senyawa C



Gambar 6. Spektrum massa senyawa stigmaster-5-en-3 β -ol.

4. KESIMPULAN

Pada penelitian ini, dari daun *M.invisa* telah berhasil diisolasi 3 senyawa steroid. Berdasarkan analisis data spektroskopi maka diduga senyawa steroid hasil isolasi itu adalah ergost-5-en-3 β -ol, stigmaster-5,22-dien-3 β -ol dan stigmaster-5-en-3 β -ol.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A., (1991), "Beberapa Upaya Pencarian Bahan Kimia Untuk Senyawa-senyawa Bioaktif dari Tanaman Lauraceae Indonesia", Makalah ilmiah pada UNESCO Workshop on Isolation an Bioactivity Studies in Natural Product Research, Padang 3-5 September.

Doerge, F.R., Kimia Farmasi dan Medisinal (terjemahan Ahmad. M.F), edisi 8 Jilid II, J.B. Lippincott Co, Philadelphia, Toronto, 1982, hal 675–680

Farnsworth, N.R., (1966), "Biological and Phytochemical Screening Plant", *J. Pharm. Sci.*, **55** : 245 – 265.

Kosela, S., (1999), "Penggalian Sumber Bahan Baku Obat Dari Tumbuhan", Seminar Nasional Kimia Bahan Alam '99 UI-UNESCO, 24 – 28

Robert, et al., (1985), *Modern Experimental Organic Chemistry*, 4th edition, Sounder College Publishing, hal 208 – 233.

Wijayakusuma, H., (1992), "Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia", Pustaka Kartini, Jakarta, hal 83.

Zeelen, F.J., (1990), *Medicinal Chemistry of steroid*, Volume 15, Pharmacochemist Try Library, Elsevier, hal 1.