ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI ETIL ASETAT BATANG TUMBUHAN SENGGANI *(Melastoma malabathricum* L.*)*

Aisyah[1*], Rudiyansyah[1], Lia Destiarti[1]
[1]Program Strudi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
[*]email: isaaisyah59@gmail.com

ABSTRAK

Tumbuhan senggani (Melastoma malabathricum L.) merupakan tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional. Tumbuhan senggani memiliki bunga majemuk dan buah berwarna merah. Tumbuhan senggani mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid dan fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid. Proses isolasi senyawa dilakukan dengan metode ekstraksi, fraksinasi, dan kromatografi. Penelitian ini telah berhasil mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat batang tumbuhan senggani. Isolat pada fraksi 4 diperoleh sebanyak 1,6 mg. Hasil analisis spektrum ^{1}H-NMR terlihat ada dua kelompok pergeseran kimia pada area 1-4 ppm dan 6-8 ppm yang merupakan kumpulan aromatik dari aglikon flavonoid. Berdasarkan spektrum dan uji fitokimia, fraksi 4 diprediksi merupakan senyawa flavonoid.

Kata Kunci: flavonoid, isolasi, karakterisasi, Melastoma malabathricum L.

PENDAHULUAN

Senggani (Melastoma *malabathricum* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang terdapat di Indonesia. Sebagian besar memanfaatkan tumbuhan ini untuk obat berbagai macam penyakit misalnya, penyakit mencret, keputihan, radang usus, sariawan, kejang dan penyakit ayan (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1989). Selain itu, akar senggani oleh masyarakat di daerah Singkawang, Kalimantan Barat dimanfaatkan untuk obat kontrasepsi wanita.

Berdasarkan beberapa penelitian, kandungan kimia yang dimiliki oleh daun senggani antara lain saponin, tanin, flavonoida, alkaloida, triterpenoid dan steroid (Hariaman, 2008). Susanti dkk., 2007 melakukan penelitian terhadap bunga tumbuhan senggani sebagai antioksidan dan sitotoksik dari senyawa flavonoid. Penelitian yang dilakukan oleh Fatonah dkk, 2016 mengenai tumbuhan senggani dimana dilakukan uji stabilitas zat warna dan anti bakteri ekstrak buah senggani.

Hingga saat ini belum ada publikasi mengenai penelitian kandungan kimia metabolit sekunder pada bagian batang tumbuhan senggani khususnya flavonoid. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mengungkap kandungan senyawa flavonoid dari batang tumbuhan senggani.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat ekstraksi, kolom kromatografi, lampu UV λ=254 nm, neraca analitik *Pioneer*, *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) Agilent 500 MHz, dan *rotary evaporator Heidolph*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah asam klorida (HCl), metanol, etil asetat, *n*-heksana, pereaksi uji fitokimia ($FeCl_3$, Lieberman-Burchard, Mayer, $MgCl_2$, dan Wagner), plat silika gel 60 F_{254}, batang tumbuhan M. *malabathricum* L., serbuk Mg (magnesium), silika gel 60-70 mesh, dan 200-400 mesh.

Prosedur Kerja

Ekstraksi dan partisi

Serbuk batang tumbuhan senggani sebanyak 1,6 kg diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan metanol. Ekstraksi dilakukan selama 3×24 jam, ekstrak disaring dan dipisahkan antara filtrat dan residunya. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan ditimbang untuk memperoleh massa dari ekstrak metanol kental.

Ekstrak metanol kental dilarutkan dalam metanol, kemudian dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Ketiga hasil partisi dipekatkan mengunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol. Ketiga fraksi disimpan dalam wadah gelap dan ditentukan massanya.

Uji fitokimia

Flavonoid

Ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan metanol diteteskan masing-masing pada dua bagian plat tetes. Bagian I sebagai kontrol dan bagian II ditambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat yang membentuk gelembung yang berupa gas H_2. Positif golongan flavonoid ditunjukkan dengan perubahan menjadi warna kuning (Setyowati dkk, 2014).

Isolasi batang tumbuhan senggani

Fraksi etil asetat dilakukan pemisahan dengan cara kromatografi vakum cair (KVC). Proses elusi pada KVC dimulai dengan menggunakan eluen berdasarkan orientasi kromatografi lapis tipis (KLT) yang dimulai dari *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (8:2, 6:4, 1:1, 3:7, 1:9), etil asetat 100%, etil asetat:metanol (9:1, 8:2, 7:3), dan metanol 100% dengan dua kali pengulangan setiap masing-masing eluen yang digunakan.

Hasil pengelusian (eluat) dalam tahap KVC ditampung dalam beberapa botol dan dibagi dalam beberapa fraksi. Fraksi yang diperoleh dari tahapan diatas dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis untuk melihat pola noda yang dapat digabungkan. Berdasarkan pola pemisahan yang dihasilkan, diperoleh sebanyak 10 fraksi gabungan (1-10). Fraksi 6 diteruskan pada tahap KKG. Analisis KLT dilakukan untuk menentukan eluen yang tepat. Fraksi 6 yang telah dilarutkan diimpreg untuk proses KKG lalu dimasukkan ke dalam kolom yang berisi fasa diam silika gel 200-400 mesh. Sampel dielusi dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9), etil asetat 100% dan metanol 100%.

Hasil pengelusian (eluat) dalam tahap KKG ditampung dalam beberapa botol vial. Eluat yang terdapat pada masing-masing botol vial di kering anginkan lalu dilakukan KLT untuk melihat noda dari sampel. Noda dan nilai R_F yang mirip atau sama digabungkan sehingga menghasilkan beberapa fraksi. Berdasarkan pola pemisahan yang dihasilkan, diperoleh sebanyak 10 fraksi gabungan (A-J). Pemisahan dilakukan menggunakan KLT preparatif dimana fraksi yang digunakan adalah fraksi 4. Sampel pada fraksi 4 dilarutkan lalu ditotolkan pada plat KLT 20x20cm yang sebelumnya telah dipanaskan dalam oven. Sampel preparatif dielusi dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4).

Uji kemurnian

Kemurnian isolat pada fraksi 4 diketahui dengan melakukan KLT menggunakan 3 variasi eluen dimana masing-masing eluen yang digunakan yaitu perbandingan eluen *n*-heksana:diklorometana (4:6), *n*-heksana:etil asetat (6:4) dan diklorometana:etil asetat (1:1). Selain dilakukan KLT juga dilakukan uji fitokimia dimana dilakukan uji metabolit sekunder berupa fenolik, flavonoid, dan terpenoid.

Karakterisasi isolat fraksi 4

Senyawa murni hasil isolasi kemudian dianalisis dengan menggunakan ^{1}H-NMR. Karakterisasi ini dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Teknologi Bandung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah batang tumbuhan senggani (*M. malabathricum* L.). Tumbuhan senggani diperoleh di Kota Pontianak. Batang tumbuhan senggani dikumpulkan

sebanyak 4 Kg. Batang senggani yang telah dikumpulkan kemudian dibersihkan lalu dikeringanginkan selama 3 minggu. Batang senggani yang telah kering kemudian dihaluskan. Batang senggani yang telah dihaluskan diperoleh berat sebesar 1,6 kg, setelah dihaluskan kemudian serbuk batang diekstraksi dengan cara maserasi.

Pengeringan dilakukan pada suhu kamar dan tidak langsung terpapar cahaya matahari, hal ini dilakukan untuk menghindari perubahan kimiawi dari sampel. Selain perubahan kimia yang dapat terjadi, pengeringan dengan cara ini juga dapat mencegah terjadinya perubahan kuantitas senyawa kimia yang terdapat dalam sampel (menjadi berkurang), meskipun kemungkinan komposisi senyawa kimia di dalamnya tetap. Tujuan dari penghalusan ini adalah untuk memperluas permukaan sampel sehingga pada proses ekstraksi, senyawa kimia dari sampel dapat terekstrak lebih maksimal dan lebih cepat.

Ekstraksi Sampel

Maserasi

Maserasi serbuk senggani dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut metanol. Metanol memiliki sifat polar sehingga dengan sifatnya dapat melarutkan semua komponen baik yang bersifat polar maupun nonpolar (Harborne, 1987).

Hasil dari proses maserasi disebut maserat, yang kemudian dikentalkan (dihilangkan pelarutnya) dengan menggunakan *rotary evaporator* yang dilengkapi dengan sistem vakum pada suhu rendah. Maserat yang telah kental ini kemudian disebut ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol yang diperoleh seberat 27,52g. Ekstrak kental metanol yang diperoleh kemudian digunakan dalam tahap partisi.

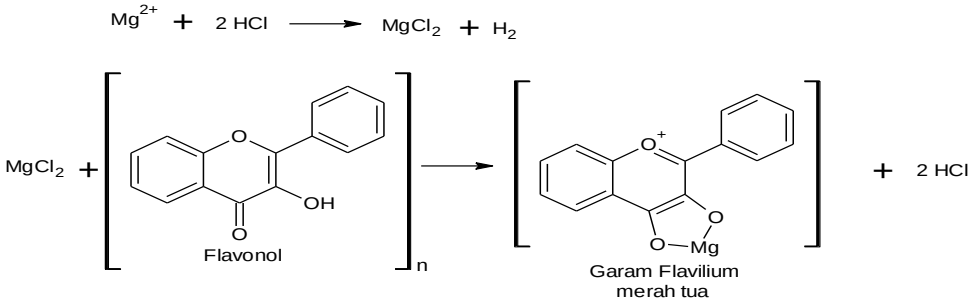
Partisi

Ekstrak kental metanol yang diperoleh masih mengandung senyawa kimia yang kompleks sehingga perlu dilakukan pemisahan yang lebih lanjut yaitu salah satunya dengan cara partisi dengan menggunakan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Pada proses partisi ini diharapkan senyawa-senyawa kimia yang berbeda kepolarannya akan terpisah berdasarkan kelarutannya. Proses partisi yang terjadi melibatkan adanya distribusi zat terlarut ke dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Pelarut tersebut tidak bercampur karena adanya perbedaan sifat kepolaran di antara keduanya.

Ekstrak kental metanol sebanyak 27,52g dipartisi dengan *n*-heksana sebanyak dua kali. Fraksi *n*-heksana ditampung dalam botol coklat sedangkan fraksi metanol dipartisi dengan pelarut etil asetat. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh dipekatkan dengan cara dikering anginkan, sehingga diperoleh massa 3,99g dengan warna hijau tua. Fraksi etil asetat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporato*r, sehingga diperoleh massa 6,71g dengan warna cokelat orange. Fraksi terlarut dalam metanol didapat sebanyak 10,91g dengan warna cokelat tua.

Uji fitokimia

Fraksi etil asetat yang diperoleh dari partisi selanjutnya dilakukan uji fitokimia. Identifikasi golongan flavonoid menggunakan penambahan serbuk magnesium dan asam klorida pekat yang membentuk gelembung yang berupa gas H_2. Positif golongan flavonoid ditunjukkan dengan perubahan menjadi kuning yang disebabkan karena terjadi reduksi pada inti benzopiron pada struktur flavonoid membentuk garam flavilium (Setyowati, dkk, 2014).

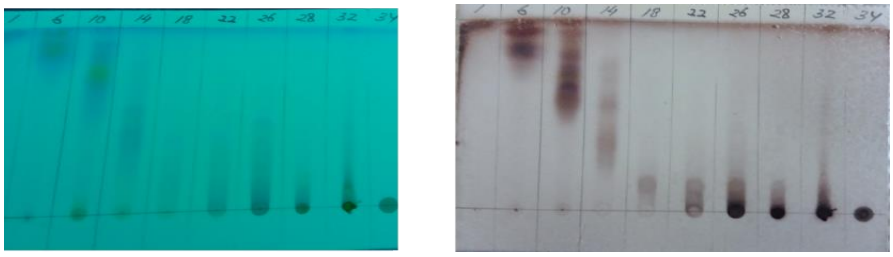


Gambar 1. Reaksi flavonoid membentuk garam flavilium

Isolasi Batang Tumbuhan Senggani

Proses pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan beberapa metode kromatografi yaitu Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Vakum Cair (KVC), Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), dan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Proses KLT dilakukan terlebih dahulu sebelum melakukan proses pemisahan dan pemurnian untuk menentukan eluen terbaik dengan variasi tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Fraksi etil asetat dilakukan orientasi menggunakan KLT untuk melihat kompleksitas komponen dalam fraksi. Selain itu, KLT bertujuan untuk mencari eluen yang sesuai untuk digunakan pada tahap pemisahan selanjutnya.

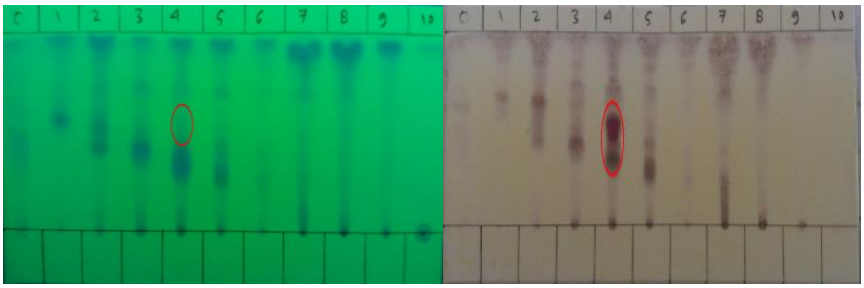
Tahap pemisahan berikutnya adalah KVC. Teknik pemisahan dengan KVC dilakukan menggunakan bantuan tarikan dari vakum. Fraksi etil asetat sebanyak 6,71g diimpreg dengan silika gel 60-70 mesh. Sementara itu kolom diisi fasa diam silika G 60 dengan penyangga berupa eluen *n*-heksana 100%. Pengelusian pada KVC dilakukan secara bergradien dan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Hal tersebut bertujuan agar senyawa yang terpisah semakin baik. Fraksi yang diperoleh dilakukan KLT, fraksi-fraksi yang memiliki noda dan Rf yang relatif sama digabungkan. Fraksi gabungan KVC diperoleh sebanyak 10 fraksi dimana dari seluruh fraksi tersebut kembali dilakukan KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4).



(a) (b)

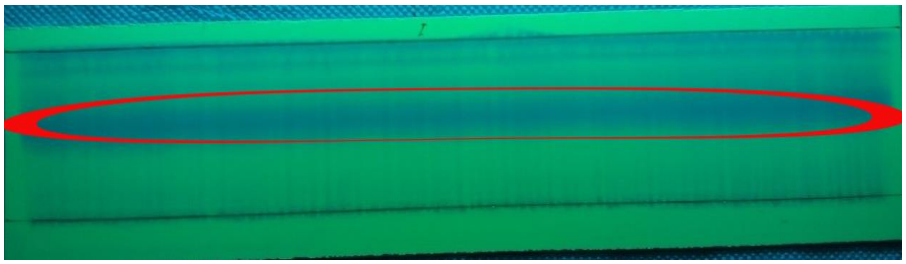
Gambar 2. Profil KLT gabungan dari fraksi KVC (penampak noda lampu UV λ=254 nm (a) dan serium sulfat(b))

Fraksi 6 mengandung senyawa target dengan kompleksitas rendah memiliki massa sebesar 0,0643g. Sebelum KKG dilakukan analisis KLT untuk menentukan eluen pertama. Fraksi 6 dilanjutkan untuk proses KKG dengan pengelusian secara bergradien. Fraksi hasil KKG selanjutnya dilakukan KLT sehingga fraksi-fraksi yang memiliki noda dan nilai Rf yang relatif sama digabungkan. Fraksi gabungan dari KKG sebanyak 10 fraksi dimana seluruh fraksi dilakukan KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3).



Gambar 3. Profil KLT gabungan dari fraksi KKG (penampak noda lampu UV λ=254 nm dan serium sulfat)

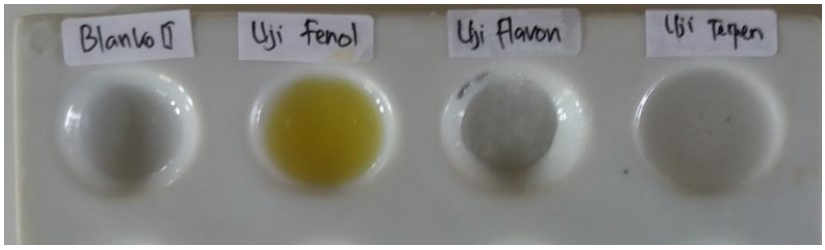
Berdasarkah hasil KLT gabungan KKG fraksi yang diperoleh belum murni sehingga dilakukan tahap KLT preparatif. Fraksi yang digunakan untuk KLT preparatif adalah fraksi 4 dimana fraksi senyawa tidak terlalu kompleks serta memiliki massa yang lebih besar. Selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan KLT prepratif dimana fraksi yang digunakan adalah fraksi 4 dengan massa 0,0127g. Sampel pada fraksi 4 dilarutkan lalu ditotolkan pada plat KLT 20x5cm yang sebelumnya telah dioven. Setelah ditotolkan dielusi dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4).



Gambar 4. Profil KLT preparatif fraksi 4 (penampak noda lampu UV λ=254nm)

Hasil analisis tersebut diambil dengan cara dikerok menggunakan spatula dan dimasukkan kedalam botol ukuran 5 mL. Hasil fraksi 4 yang telah dikerok dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat dan direndam selama 24 jam dengan tujuan untuk melepas ikatan antara silika dengan sampel dan dilakukan dekantasi. Hasil dekantasi kemudian dikeringkan untuk mengetahui massa. Massa fraksi 4 hasil dari KLT preparatif sebesar 1,6 mg.

Fraksi 4 dilakukan juga uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dimana dilakukan uji senyawa golongan terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Hasil uji fitokimia pada fraksi 4 hanya positif untuk senyawa golongan flavonoid, sehingga dapat dilakukan tahap selanjutnya berupa uji kemurnian.



Gambar 5. Uji fitokimia fraksi 4

Uji Kemurnian

Uji kemurnian terhadap isolat fraksi 4 dilakukan melalui analisis KLT dengan 3 variasi pelarut yaitu dengan perbandingan eluen *n*-heksana:diklorometana (4:6), *n*-heksana:etil asetat (6:4) dan diklorometana:etil asetat (1:1). Hasil orientasi KLT menunjukkan hanya terdapat noda yang disertai tailing dan pengotor, sehingga dimungkinkan senyawa belum cukup murni.

Analisis spektrum ^{1}H-NMR

Hasil spektrum yang diperoleh dari fraksi 4 menunjukkan bahwa fraksi 4 mengandung lebih dari satu senyawa. Berdasarkan spektrum ^{1}H-NMR terlihat ada dua kelompok pergeseran kimia pada area 1-4 ppm dan 6-8 ppm. Pada pergeseran 1-4 ppm kemungkinan menunjukkan daerah pergeseran senyawa pengotor dan pergeseran 6-8 ppm terdapat sinyal aromatik yang menunjukkan cincin aromatik senyawa flavonoid. Menurut Sovia dkk., (2013) analisis spektrum ^{1}H-NMR menunjukkan isyarat δ 6-8 ppm untuk kumpulan aromatik dari aglikon flavonoid. Hal ini juga sesuai dengan uji fitokimia yang dilakukan pada fraksi 4 menghasilkan positif flavonoid.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolasi senyawa metabolit skunder dari fraksi etil asetat batang tumbuhan senggani (*Melastoma malabathricum* L.) diperoleh isolat fraksi 4 sebanyak 1,6 mg. Isolat fraksi 4 yang diperoleh mengandung lebih dari satu senyawa. Berdasarkan hasil uji fitokimia pada fraksi 4 menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid dan didukung dengan adanya pergeseran 6-8 ppm pada spektrum ^{1}H-NMR yang menunjukkan kumpulan gugus aromatik dari aglikon flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

Fatonah, N, Idiawati, N, dan Harlia. 2016. *Uji Stabilitas Zat Warna Ekstrak Buah Senggani (Melastoma malabathricum L.).* Jurnal Kimia Khatulistiwa Vol 5(1). Hal: 29-35.

Harborne, J.B., 1987, Metode *Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB, Bandung.

Hariaman, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Setyowati, Widiastuti A.E, Sri Retno D.A, Ashadi, Bakti M, dan Cici Putri R. 2014. *Skrinning Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. ISBN : 979363174-0. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS. Surakarta.

Sovia, L, Barus, T, Marpaung, L, dan Nasution, M.P. 2013. *Structure Elucidation of Flavonoid Compound from The Leaves of Coleus Atropurpureus Benth Using 1D- and 2D-NMR Techniques.*The Malaysian Journal of Analytical Sciences Vol. 17. No. 2 : 255-261.

Susanti, D., Sirat, H.M, Ahmad, F, Ali, R.M, Aimi, N, dan Kitajima, M. 2007. *Antioxidant and Cytotoxic Favonoids from The Flowers of Melastoma malabathricum L.* Univercity Teknologi Malaysia. Food Chemistry 710-716.

Syamsuhidayat, S., dan Hutapea, 1989, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.