

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI BIJI MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq.) MENGGUNAKAN METODE EKSTRAKSI SOXHLET PELARUT ETANOL

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM MAHAGONY SEEDS (*Swietenia mahagoni* Jacq.) USING SOXHLET EXTRACTION METHODS ETHANOL SOLVENT

Oleh: Oktaviani Ambarwati¹ & Karim Theresih²

^{1) 2)} Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

¹⁾oktavianiambarwati7@gmail.com ²⁾karim@uny.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak biji mahoni dan mengidentifikasi hasil isolasi dengan spektrofotometer UV-Vis, spektrometer FTIR dan GC-MS. Serbuk kering biji mahoni diekstraksi dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian disaring dan diuapkan sehingga diperoleh hasil berupa endapan berwarna coklat. Endapan ini dianalisis dengan KLT untuk menentukan eluen. Selanjutnya, pemisahan dengan kromatografi kolom. Fraksi 51-62 diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrometer FTIR dan GC-MS. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder fraksi benzena-etil asetat dari spektra UV-Vis menunjukkan λ_{maks} pada 229,5 nm dan 267,5 nm. Spektra FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, C=C alkena, C-H aromatik, C-H alifatik serta gugus C-O. Hasil kromatogram GC menunjukkan adanya 19 puncak. Puncak 14, 15, 16 dan 19 memiliki % area yang cukup besar dibandingkan puncak lainnya yakni berturut-turut 12,67%; 32,54%, 11,90% dan 8,76%. Berdasarkan analisis spektra UV-Vis, FTIR, GC-MS sampel serta perbandingan data literatur, kemungkinan senyawa hasil isolasi diperoleh golongan steroid yaitu (3 β , 22Z)-Chola-5,22-dien-3-ol.

Kata kunci: isolasi, metabolit sekunder, soxhletasi, *Swietenia mahagoni* Jacq.

Abstract

This study aims to isolate secondary metabolite compounds from mahogany seed extract and identify isolation results by UV-Vis spectrophotometer, FTIR spectrometer and GC-MS. Dry powder of mahogany seeds was extracted with soxhletation method using 70% ethanol solvent, then filtered and evaporated to obtain the result of brown precipitate. This precipitate is analyzed by TLC to determine the eluent. Next, the separation by column chromatography. Fractions 51-62 were identified using UV-Vis spectrophotometer, FTIR spectrometer and GC-MS. Results of identification of secondary metabolite compounds benzene-ethyl acetate fraction of UV-Vis spectra showed λ_{max} at 229.5 nm and 267.5 nm. The FTIR spectra showed the presence of functional groups of O-H, C=O, C=C, C-H aromatics, C-H aliphatic and C-O groups. The GC chromatogram results show 19 peaks. Peak 14, 15, 16 and 19 have a large enough area compared to other peaks ie 12.67%; 32.54%, 11.90% and 8.76% respectively. Based on spectra analysis of UV-Vis, FTIR, GC-MS samples and comparison of literature data, the possibility of the isolated compound obtained by the steroid group is (3 β , 22Z)-Chola-5,22-dien-3-ol.

Keywords: isolation, secondary metabolites, soxhletasi, *Swietenia mahagoni* Jacq.

PENDAHULUAN

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari tumbuhan berupa molekul-molekul kecil dan sifatnya spesifik. Metabolit sekunder ini dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru (Atun, 2014).

Sebagian obat modern yang beredar di dunia diketahui berasal dari bahan aktif yang diisolasi dari tanaman. Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia meliputi 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia, 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat, jumlah terakhir ini merupakan 90% dari

jumlah tumbuhan obat di Asia (Pusat Pemberitaan Komunitas Informasi Indonesia, 2010).

Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.), dari Famili Meliaceae, tumbuh terutama di daerah tropis benua Asia, seperti India, Malaysia, Indonesia dan Cina Selatan. Di Malaysia, buah mahoni dimanfaatkan untuk vitamin dan obat-obatan alami. Penemuan buah mahoni sebagai vitamin dan obat-obatan pertama kali dilakukan oleh Dr. Larrt Brookes, seorang ahli biokimia tahun 1990-an. Beliau lalu membuat ekstrak buah mahoni yang mengandung flavonoid dan saponin tersebut. (Agoes, 2010: 72). Masyarakat Indonesia dan India menggunakan biji mahoni untuk pengobatan diabetes mellitus (De *et al.*, 2011: 1-2).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dan khasiatnya dari biji mahoni. Sari dan Sri Mursiti (2016) telah melakukan isolasi senyawa flavonoid golongan isoflavon dari biji mahoni dengan mengekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla*, King). Hajli (2013: 7) mengisolasi senyawa flavonoid pada biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) yang berpotensi sebagai antioksidan. Selanjutnya, penelitian Mursiti (2013: 177) memperkirakan adanya senyawa alkaloid 3,4,5-trietil-6-metoksi-2-metil-1,2-dihidropiridin dalam ekstrak metanol-asam nitrat dari biji mahoni bebas minyak. Rahman *et al.* (2007: 5) melaporkan bahwa ekstrak metanol biji mahoni mengandung 2 jenis senyawa limonoid, yaitu swietenolida dan 2-hidroksi-3-O-tigloilswietenolida, dan memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut organik etanol 70%. Ekstrak yang dihasilkan kemudian disaring, lalu diuapkan menggunakan evaporator. Ekstrak pekat dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk menentukan perbandingan eluen. Eluen yang digunakan adalah campuran benzena dan etil asetat. Selanjutnya, perbandingan eluen yang memberikan pemisahan terbaik digunakan untuk pemisahan komponen kimia dalam sampel pada kromatografi kolom. Fraksi yang memberikan noda tunggal dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrometer FTIR dan GC-MS.

METODE PENELITIAN

Persiapan Bahan Utama

Biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) yang digunakan berasal dari daerah Yogyakarta. Biji mahoni dikeringkan dibawah sinar matahari kemudian diblender sampai terbentuk serbuk. Serbuk biji mahoni yang sudah kering, kemudian diekstraksi menggunakan ekstraktor soxhlet.

Ekstraksi Soxhlet

Sebanyak 100 g serbuk biji mahoni diekstrak menggunakan ekstraktor soxhlet dengan pelarut etanol 70% sebanyak 335 mL selama 2-3 jam.

Ekstrak disaring menggunakan penyaring Buchner dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*, endapan yang dihasilkan sebanyak 13,5 g. Endapan tersebut dilarutkan dalam etanol dan dianalisis menggunakan KLT.

Menentukan Perbandingan Eluen

Eluen yang digunakan untuk mengembangkan sampel pada plat KLT adalah campuran benzena dan etilasetat dengan perbandingan berturut-turut 1,5:1, 3:1, dan 4:1. Lapisan silika Gel 60 F254 buatan E Merck Derstadt sebagai fasa diam (adsorben). Plat ini dipanaskan selama 30 menit. Sampel ditotolkan pada plat. Lalu diamati dengan sinar lampu UV, kemudian menghitung harga Rf tiap bercak. Pekerjaan di atas diulangi untuk semua perbandingan eluen. Perbandingan eluen yang memberikan pemisahan terbaik digunakan untuk eluen pada kromatografi kolom.

Analisis Kromatografi Kolom

Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60 (0,040-0,063 mm) yang sudah dipanaskan selama 2 jam. Eluen yang digunakan adalah benzena:etilasetat dengan perbandingan 4:1. Eluen yang menetes ditampung menjadi fraksi-fraksi. Setiap fraksi dilakukan analisis KLT. Fraksi yang menghasilkan noda tunggal dengan Rf yang sama dikumpulkan jadi satu, kemudian dievaporasi dan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrometer FTIR dan GC-MS.

Teknik Analisis Data

Sampel yang dianalisis adalah senyawa murni hasil isolasi. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi soxhlet dengan pelarut etanol 70%. Teknik kromatografi lapis tipis untuk menentukan perbandingan eluen (benzena : etilasetat) yang digunakan pada kromatografi kolom. Senyawa hasil isolasi diuji kemurniannya menggunakan kromatografi lapis tipis. Fraksi

yang memiliki noda tunggal diidentifikasi menggunakan UV-Vis, FTIR dan GC-MS.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN Ekstraksi dengan Soxhletasi

Serbuk biji mahoni diekstraksi dengan alat soxhlet. Pelarut etanol 70% dimasukkan dalam labu sehingga terjadi sirkulasi secara kontinyu, dengan harapan pelarut tersebut dapat melarutkan semua komponen senyawa kimia yang berada dalam sampel. Pelarut seperti metanol, etanol 70 % dan 96% adalah pelarut pilihan utama untuk mengekstraksi metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya dan untuk tujuan skrining. Ketiga pelarut ini memiliki *extracting power* (daya ekstraksi) yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi, sehingga semua metabolit sekunder tersari dalam tiga kali maserasi (Saifudin, 2014: 46-47). Selain itu, etanol mudah diuapkan pada proses evaporasi, karena mempunyai titik didih yang relatif rendah yaitu 78.2^oC-78.5^oC (NCP Alcohols, 2016).

Proses ekstraksi dilakukan minimal sebanyak 12 kali sirkulasi. Hal ini karena setelah 12 kali sirkulasi, etanol yang mengekstrak sampel sudah mulai terlihat bening. Sirkulasi tersebut membutuhkan waktu 2-3 jam. Serbuk biji mahoni yang digunakan untuk soxhletasi sebanyak 600 g, dengan satu kali ekstraksi sebanyak 100 g serbuk. Hasil ekstraksi ini berwarna kuning kecoklatan.

Selanjutnya, ekstrak tersebut disaring menggunakan penyaring Buchner dan diuapkan menggunakan *Rotary Evaporator Buchii*. Saat dievaporasi, etanol yang menguap hanya sedikit dikarenakan etanol yang digunakan adalah etanol 70%, sehingga tidak dihasilkan ekstrak etanol pekat. Namun, dalam ekstrak tersebut

menghasilkan endapan berwarna coklat sebanyak 13,5 g.



Gambar 1. Endapan Hasil Ekstraksi

Penentuan Eluen dengan KLT

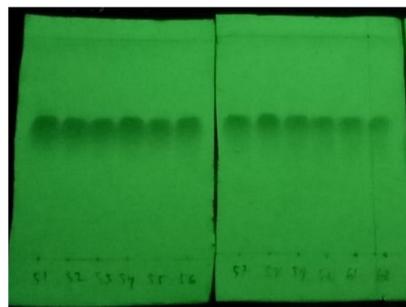
Penentuan eluen untuk sampel dilakukan dengan menggunakan KLT. Adapun KLT bertujuan untuk mengetahui pola pemisahan komponen-komponen dalam sampel menggunakan berbagai perbandingan eluen. Penentuan ini dilakukan dengan mencoba berbagai pelarut dengan perbandingan tertentu sebagai eluen pengembang dalam KLT. Hasil kenampakan bercak dilihat dibawah UV dengan panjang gelombang 254 nm. Sampel berupa padatan dilarutkan dengan pelarut etanol 96%. Selanjutnya, perbandingan eluen benzena : etilasetat = 4:1 dipilih sebagai eluen pada analisis selanjutnya.

Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Proses ini dilakukan untuk memisahkan komponen-komponen campuran suatu senyawa berdasarkan perbedaan polaritas masing-masing senyawa yang akan dipisahkan. Sampel yang digunakan sebanyak 2 g dan dilarutkan dengan sedikit pelarut benzena : etilasetat (4:1).

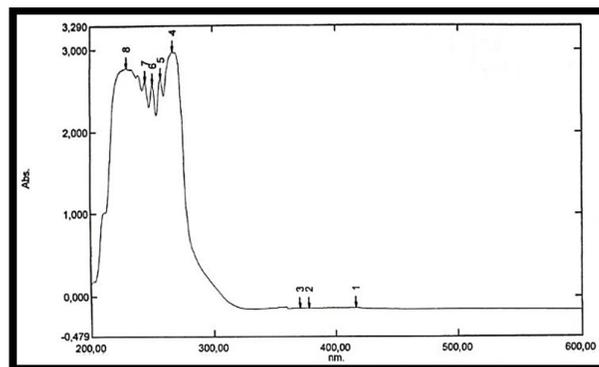
Pemisahan dengan KK ini menghasilkan 96 fraksi. Selanjutnya, setiap fraksi diidentifikasi menggunakan KLT dengan eluen benzena :

etilasetat 4:1. Hasil KLT tersebut, fraksi-fraksi dikelompokkan, berdasarkan pola pemisahan noda dan harga Rf yang sama, diperoleh 17 kelompok fraksi. Hasil kromatogram dari fraksi 51-62 (F_H) memberikan noda tunggal yang berwarna coklat. Fraksi F_H kemudian dievaporasi.



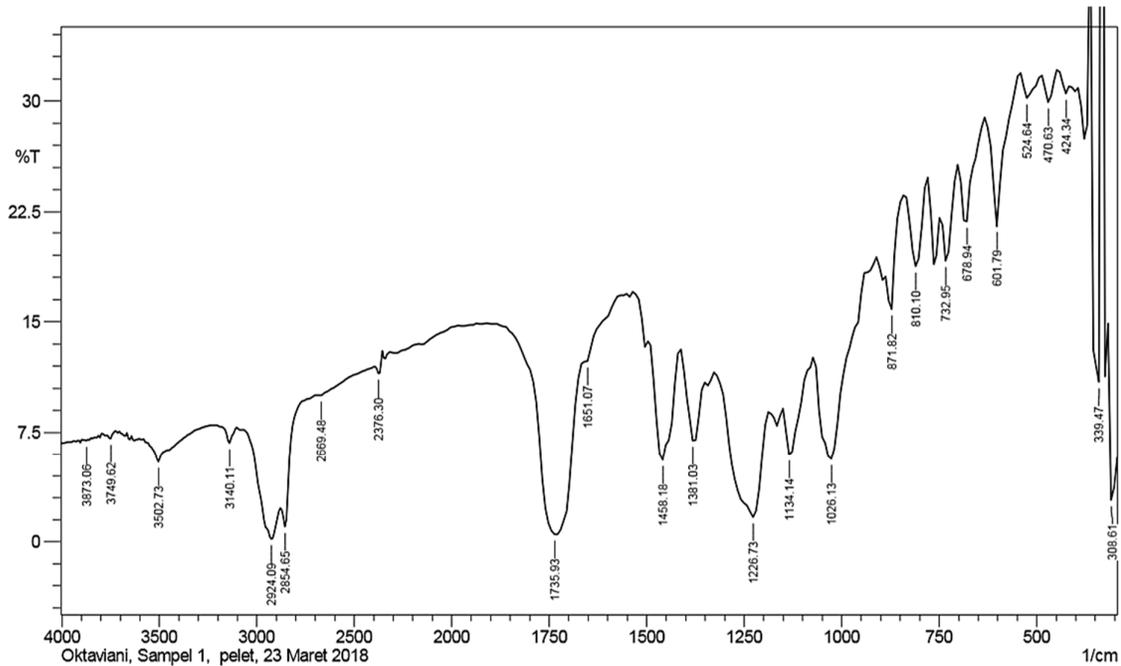
Gambar 2. Fraksi 51-62 (F_H)

Fraksi tersebut kemudian diidentifikasi lebih lanjut menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrometer FTIR dan GC-MS.



Gambar 3. Spektrum UV-Vis Senyawa Hasi Isolasi

Hasil spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi memiliki λ_{maks} 229,5 nm dan 267,5 nm. Adanya serapan cahaya di daerah ultraviolet kuarsa yaitu pada panjang gelombang 200-400 nm memberikan informasi terjadinya transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$, yang diduga menunjukkan adanya kromofor C=O atau C=C-O (Creswell, 2005: 32; Atun, 2016: 10).

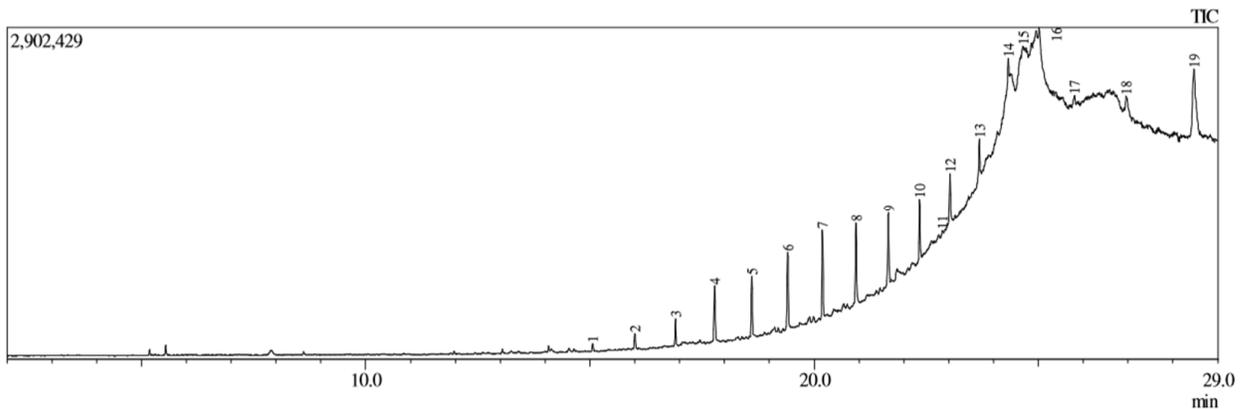


Gambar 4. Spektrum IR Senyawa Hasil Isolasi

Hasil analisis spektrometer IR menunjukkan adanya gugus O-H pada daerah 3502,73 cm^{-1} , C=O pada daerah 1735,93 cm^{-1} , C=C alkena pada daerah 1651,07 cm^{-1} . Adanya serapan pada daerah 2924,09 dan 2854,65 cm^{-1} yang diduga menunjukkan adanya C-H alkana yang didukung dengan adanya serapan pada daerah 1458,18 dan 1381,03 cm^{-1} yang menunjukkan adanya -CH₃ dan -CH₂-. Adanya C-H aromatik pada daerah 3140,11 cm^{-1} . Serta adanya gugus C-O pada daerah 1226,13 cm^{-1} , hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 1134,14 dan 1026,13 cm^{-1} .

Selanjutnya, analisis dengan GC-MS digunakan untuk mengetahui kemurnian (kadar), massa molekul, serta fragmentasi senyawa hasil isolasi. Kromatogram GC senyawa hasil isolasi terlihat pada **Gambar 5**. Sedangkan data kromatogram GC senyawa hasil isolasi disajikan pada **Tabel 1**.

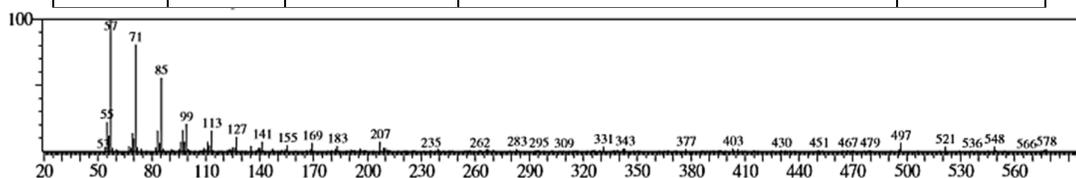
Hasil kromatogram GC menunjukkan adanya 19 puncak, kemudian dipilih 4 puncak yaitu puncak 14, 15, 16 dan 19. Keempat puncak tersebut dipilih berdasarkan % area yang cukup besar yakni berturut-turut 12,67%; 32,54%, 11,90% dan 8,76%. Sedangkan puncak yang lainnya memiliki % area dibawah 4%.



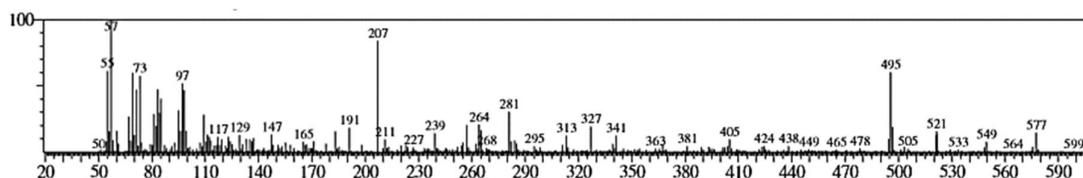
Gambar 5. Kromatogram GC Senyawa Hasil Isolasi

Tabel 1. Komposisi Senyawa Hasil Isolasi

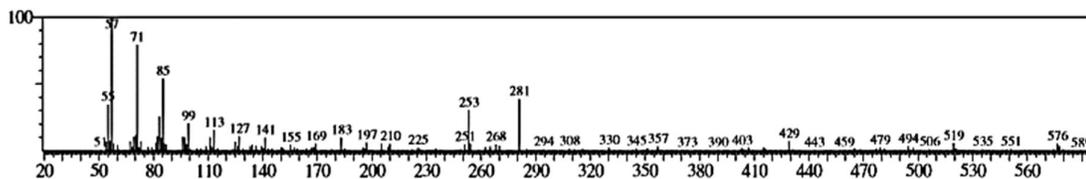
| Puncak | Waktu Retensi (menit) | Kelimpahan (%) | Prediksi Senyawa | Indeks kemiripan (SI) |
|--------|-----------------------|----------------|--|-----------------------|
| 14 | 24,329 | 12,67 | Tetracontane | 90% |
| 15 | 24,650 | 32,54 | Glycerine-1-oleate-3-palmitate | 70% |
| 16 | 25,017 | 11,90 | 1,1'-[(1-Methyl-1,2-ethanediyl)bis(oxy)]bisooctadecane | 82% |
| 19 | 28,470 | 8,76 | (3 β , 22Z)-Chola-5,22-dien-3-ol | 58% |



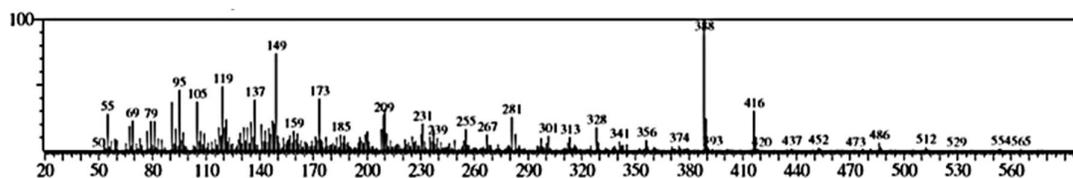
Gambar 6. Spektra Massa Puncak ke-14



Gambar 7. Spektra Massa Puncak ke-15



Gambar 8. Spektra Massa Puncak ke-16



Gambar 9. Spektra Massa Puncak ke-19

Spektra massa puncak ke-14 dengan waktu retensi 24,329 menit memiliki *base peak* 57 dan menunjukkan indeks kemiripan atau *similarity index* (SI) 90% dengan pola fragmentasi senyawa Tetracontane. Spektra massa puncak ke-14 ditunjukkan pada **Gambar 6**.

Spektra massa puncak ke-15 dengan waktu retensi 24,650 menit memiliki *base peak* 57 dan menunjukkan indeks kemiripan 70% dengan pola fragmentasi senyawa Glycerine-1-oleate-3-

palmitate. Spektra massa puncak ke-14 ditunjukkan pada **Gambar 7**.

Spektra massa puncak ke-16 dengan waktu retensi 25,017 menit memiliki *base peak* 57 dan menunjukkan indeks kemiripan 82% dengan pola fragmentasi senyawa 1,1'-[(1-Methyl-1,2-ethanediyl)bis(oxy)]bisooctadecane. Spektra massa puncak ke-16 ditunjukkan pada **Gambar 8**.

Spektra massa puncak ke-19 dengan waktu retensi 28,470 menit memiliki *base peak* 388 dan

menunjukkan indeks kemiripan 58% dengan pola fragmentasi senyawa (3 β , 22Z)-Chola-5,22-dien-3-ol. Spektra massa puncak ke-19 ditunjukkan pada **Gambar 9**.

Apabila hasil analisis GC-MS dibandingkan dengan hasil analisis spektra UV-Vis dan FTIR, senyawa dalam isolat biji mahoni diperkirakan mengandung senyawa yang mirip dengan Glycerine-1-oleate-3-palmitate dengan SI 70% dan (3 β , 22Z)-Chola-5,22-dien-3-ol dengan SI 58%. Senyawa tetracontane dan 1,1'-[(1-Methyl-1,2-ethanediyl)bis(oxy)]bisooctadecane tidak cocok dengan hasil yang diperoleh dari spektrofotometer UV-Vis dan spektrometer FTIR. Karena struktur tetracontane hanya karbon rantai panjang dan tidak mengandung gugus fungsi. Sedangkan 1,1'-[(1-Methyl-1,2-ethanediyl)bis(oxy)]bisooctadecane hanya mempunyai gugus fungsi C-O.

Akan tetapi, dari hasil GC-MS ini belum bisa dikatakan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa yang mirip dengan Glycerine-1-oleate-3-palmitate dan (3 β , 22Z)-Chola-5,22-dien-3-ol. Hal ini dikarenakan dari hasil GC diperoleh 19 puncak, artinya dalam isolat mengandung 19 senyawa.

Dari ketiga karakterisasi tersebut, diperoleh informasi bahwa dari spektra UV-Vis menunjukkan adanya kromofor C=O atau C=C-O. Spektra FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, C=C alkena, C-H aromatik, C-H alifatik serta gugus C-O. Serta dari kromatogram GC dan spektra massa pada puncak ke-19 menunjukkan senyawa metabolit sekunder golongan steroid.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Senyawa metabolit sekunder dari biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dapat diisolasi menggunakan metode ekstraksi soxhlet pelarut etanol 70% yang dilanjutkan dengan kromatografi kolom eluen benzena-etil asetat.
2. Berdasarkan hasil karakterisasi, bahwa senyawa metabolit sekunder hasil isolasi diperoleh golongan steroid. Hasil karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis diperoleh informasi pada λ_{maks} 229,5 nm dan 267,5 nm yang menunjukkan adanya kromofor C=O atau C=C-O. Adapun dari spektrometer IR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, C=C alkena, C-H aromatik, C-H alifatik dan gugus C-O. Serta hasil dari GC yaitu pada puncak ke-19 menunjukkan senyawa metabolit sekunder golongan steroid.

Saran

1. Etanol yang digunakan dalam proses ekstraksi sebaiknya menggunakan etanol dengan kadar 96%, agar pelarut tersebut dapat diuapkan sehingga dihasilkan ekstrak etanol pekat.
2. Pada saat ekstraksi, untuk mendapatkan senyawa hasil isolasi diperlukan sampel yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- NCP Alcohols. 2016. "Materials Safety Data Sheet (MSDS) Ethanol (C₂H₅OH)". Diakses dari <http://www.ncpalcohols.com>, pada 03 April 2018.
- Pusat Pemberitaan Komunitas Informasi Indonesia. 2010. "Indonesia Miliki 30.000 Jenis Tumbuhan". Diakses dari <http://kominfonewscenter.com>, pada 29 Oktober 2017.
- Agoes, Azwar. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika.

- Atun, Sri. 2014. "Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam". *Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. Volume 8, Nomor 2, Hal 53-61.
- Creswell, C.J., Olaf A.R., & Campbell, M.M. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: Penerbit ITB.
- De D, Chatterjee K, Ali KM, Bera TK, Ghosh D. 2011. "Antidiabetic Potentiality of the Aqueous-Methanolic Extract of Seed of *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Albino Rat: A Correlative and Evidence-Based Approach with Antioxidative and Antihyperlipidemic Activities". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011:1-11.
- Hajli, Zulia. (2011). "Isolasi Senyawa Golongan Flavonoid Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) yang Berpotensi sebagai Antioksidan". *Skripsi*. Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor.
- Mursiti, S., S. Matsjeh, Jumina, et al. (2013). Isolasi, Identifikasi, dan Elusidasi Struktur Senyawa Alkaloid dalam Ekstrak Metanol-Asam Nitrat dari Biji Mahoni Bebas Minyak (*Swietenia macrophylla*, King). *Jurnal MIPA* Vol 36 No 2: 169-177 (2013).
- Rahman, AKM. S., AK Azad C., Hossain R., et al. (2007). Cytotoxic Activity of Two Limonoids Isolated from *Swietenia mahagoni* by Using Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Bangladesh J Physiol Pharmacol*. Volume 23 No 1 & 2: 1-6 (2007).
- Saifudin, Azis. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sari, S.N. & Sri Mursiti. 2016. Isolasi Flavonoid dari Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*, King) dan Uji Aktivasnya sebagai Antibakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*. Vol 5 No 3 (2016).