

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAUN ADAS (*Foeniculum vulgare* Mill) DENGAN PELARUT METANOL FRAKSI KLOOROFORM

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE FROM FENNEL LEAF (*Foeniculum vulgare* Mill) WITH METHANOL SOLVENT CHLOROFORM FRACTION

Oleh: May Rina Nuraini<sup>1</sup>, Indyah Sulisty Arty.<sup>2</sup>

1) 2) Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

Email : [mayrina.mr@gmail.com](mailto:mayrina.mr@gmail.com), [indyah\\_sa@uny.ac.id](mailto:indyah_sa@uny.ac.id)

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun adas dan mengidentifikasi karakteristik senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dengan metode spektroskopi UV-Vis, IR, dan GC-MS. Subjek dari penelitian ini adalah daun adas (*Foeniculum vulgare* Mill) yang berasal dari Kopeng, Salatiga, Jawa Tengah. Objek penelitian adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi kloroform daun adas. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Ekstrak pekat hasil maserasi kemudian dipartisi menggunakan n-heksana dan kloroform. Fraksi kloroform hasil partisi kemudian diisolasi menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG). Senyawa murni hasil isolasi diidentifikasi menggunakan metode spektroskopi UV-Vis, IR, dan GC-MS. Hasil identifikasi sampel dari spektra UV-Vis memberi panjang gelombang 241,80 nm berasal dari ikatan rangkap dua. Data spektra IR menunjukkan adanya gugus -OH, C=C alkena, C-H alifatik, dan C-O alkohol. Spektrum GC menunjukkan 3 puncak dengan kelimpahan dari puncak 1,2,dan 3 berturut-turut adalah 33,23 %, 34,93%, dan 31,84 %. Data MS menunjukkan SI terbesar terdapat pada puncak 1 dengan SI sebesar 95%. Berdasarkan hasil identifikasi dengan spektroskopi GC-MS menunjukkan kemiripan SI 95% dengan senyawa eugenol.

Kata kunci: daun adas, senyawa metabolit sekunder, fenil propanoid.

#### Abstract

*This study aims to isolate secondary metabolite compounds contained in fennel leaves and identify the characteristics of secondary isolated metabolite compounds by UV-Vis, IR, and GC-MS spectroscopy methods. The subject of this research is fennel leaves (*Foeniculum vulgare* Mill) originating from Kopeng, Salatiga, Central Java. The research object is a secondary metabolite compound contained in the fennel leaf chloroform fraction. The method of extraction used in this research is maceration. The concentrated extract of maceration is then partitioned using n-hexane and chloroform. The chloroform fraction of the partition result was then isolated using the Gravity Column Chromatography (KKG) method. The pure compounds of isolation were identified using UV-Vis, IR, and GC-MS spectroscopy methods. The results of the sample identification of the UV-Vis spectra gave a wavelength of 241.80 nm derived from the double bond. The IR spectral data shows the presence of the -OH, C = C alkenes, C-H aliphatic, and C-O alcohols. The GC spectrum shows 3 peaks with abundance of peaks 1,2, and 3 respectively are 33.23%, 34.93%, and 31.84%. The MS data shows the largest SI is at peak 1 with SI of 95%. Based on the results of identification with spectroscopy GC-MS showed similarity of SI 95% with eugenol compound.*

*Keywords: fennel leaves, secondary metabolite compounds, phenyl propanoid.*

#### PENDAHULUAN

Di Indonesia tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill) banyak tumbuh pada daerah dataran tinggi seperti di daerah Salatiga, Jawa Tengah. Selama ini bagian dari tumbuhan adas

(*Foeniculum vulgare* Mill) yang banyak dimanfaatkan adalah pada bagian biji adas. Minyak atsiri dari biji adas dipercaya memiliki banyak sekali manfaat bagi kehidupan. Minyak atsiri dari adas menunjukkan efek antibakteri

terhadap patogen bawaan makanan seperti *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* dan *Staphylococcus aureus* (Mohsenzadeh, 2007). Senyawa fenolik yang diisolasi dari *F. vulgare* dianggap bertanggung jawab atas aktivitas antioksidannya (Rather, M.A. et al.,2012).

Daun adas baru dimanfaatkan sebatas sebagai sayuran saja. Etnofarmakologi di masyarakat Salatiga berkembang kepercayaan bahwa daun adas memiliki khasiat meningkatkan produksi ASI pada ibu menyusui. Selain itu, berdasarkan penelitian Sunaini, 2016 menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun adas pada induk tikus (*Rattus norvegicus*) dengan dosis 631,6 mg/kg BB selama 15 hari dapat meningkatkan berat badan anakan tikus (*Rattus norvegicus*) dibandingkan dengan kontrol dosis lain yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa daun adas memang memiliki khasiat dalam meningkatkan produksi ASI.

Penelitian isolasi ekstrak daun adas (*Foeniculum vulgare Mill*) ini dilakukan melalui metode maserasi dengan pelarut methanol ; hasil ekstrak dipartisi dengan kloroform kemudian fraksi kloroform diuji kemurniannya menggunakan KLT. Selanjutnya senyawa yang murni diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis, IR, dan GC-MS.

## **METODE PENELITIAN**

Subjek penelitian adalah daun adas (*Foeniculum vulgare Mill*) yang berasal dari Kopeng, Salatiga, Jawa Tengah. Objek penelitian adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi kloroform daun adas. Bahan-bahan

yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun adas, Kloroform p.a., Metanol teknis, n-heksana teknis terdestilasi, etil asetat teknis terdestilasi, aseton teknis terdestilasi, serbuk silika gel Merck 60 (200-400 mesh), serbuk silika gel Merck 60 (30-70 mesh), plat KLT Merck Si gel gf 254, kertas saring, mikro pipet, kapas dan tissue.. Alat yang digunakan antara lain Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer IR, Spektrofotometer GC-MS, *Evaporatory*, lampu UV, jerigen, penggiling, neraca analitik, kolom kromatografi dan statif, bejana pengembang, corong pisah, corong biasa, gelas beker 50, 100, 600 ml, gelas ukur 5, 10, 100 ml, elemeyer 125 ml, pipet tetes, pengaduk gelas, botol flakon.

## **Prosedur Penelitian**

### **1. Pengumpulan Bahan**

Daun adas dipisahkan dari batangnya kemudian dibersihkan dengan air mengalir yang bersih, kemudian dikeringkan dan dibuat serbuk.

### **2. Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Adas**

Serbuk daun adas seberat 1,065 Kg dimaserasi dengan pelarut metanol selama 2x24 jam dengan 4 kali pengulangan (remeserasi). Setelah ekstrak diuapkan menggunakan *evaporatory* diperoleh filtrate pekat sebanyak 700 ml. Filtrat pekat selanjutnya dipartisi menggunakan n-heksana dan kloroform.

Fraksi kloroform seberat 5,7 gram diisolasi menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) hingga murni. Penentuan eluen untuk KKG serta uji kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan uji KLT.

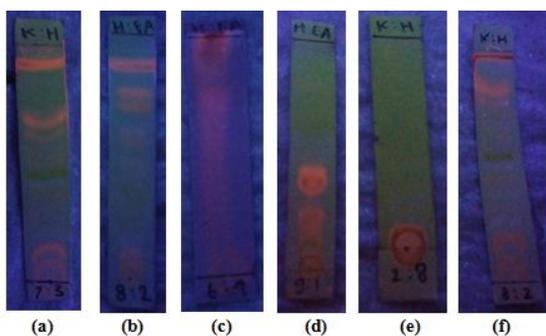
### 3. Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

Identifikasi sampel dilakukan dengan uji menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis, IR, dan GC-MS. Spektra UV-Vis sampel uji untuk mengetahui panjang gelombang maksimal ( $\lambda_{max}$ ) isolat. Spektra IR untuk mengetahui gugus fungsi senyawa isolat. Kromatogram GC dan spektra MS untuk mengetahui m/z senyawa dan SI (*Similar Index*) dari senyawa isolat.

#### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini daun adas di ekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol dipekatan dengan evaporator. Ekstrak pekat tersebut dipartisi menggunakan n-heksana dan kloroform. Fraksi kloroform dipekatan dan diperoleh sebanyak 5.7 gram fraksi kloroform pekat.

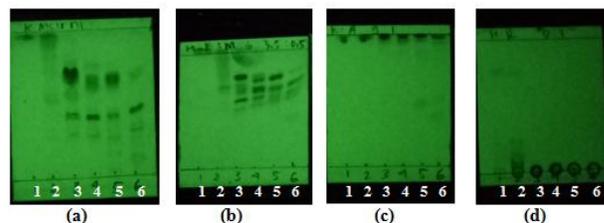
Fraksi tersebut kemudian diisolasi menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) hingga diperoleh senyawa murni. Penentuan pelarut yang digunakan untuk KKG ditentukan dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).



**Gambar 1.** Hasil uji KLT untuk menentukan eluen pada KKG I

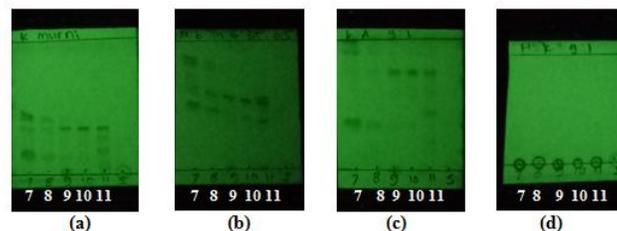
- (a) campuran eluen kloroform : n-heksana (7:3)
- (b) campuran eluen n-heksana : etil asetat (8:2)
- (c) campuran eluen n-heksana : etil asetat (6:4)
- (d) campuran eluen n-heksana : etil asetat (9:1)
- (e) campuran eluen kloroform : n-heksana (2:8)
- (f) campuran eluen kloroform : n-heksana (8:2)

Campuran eluen n-heksana : etil asetat (8:2) dipilih sebagai eluen untuk KKG I. Hasil kromatografi kolom (KKG I) ini diperoleh 11 fraksi masing-masing ditampung dalam botol 140 ml. Uji KLT kemudian dilakukan pada 11 fraksi untuk menentukan fraksi yang akan dilanjutkan KKG II dan eluen untuk KKG II.



**Gambar 2.** Hasil uji KLT fraksi 1-6 hasil KKG I

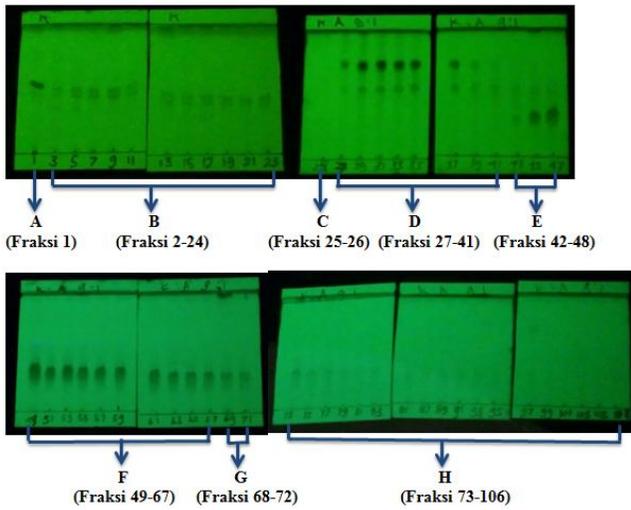
- (a) eluen kloroform
- (b) campuran eluen n-heksana : kloroform : metanol (6:3,5:0,5)
- (c) campuran eluen kloroform : aseton (9:1)
- (d) campuran eluen n-heksana : kloroform (9:1)



**Gambar 3.** Hasil uji KLT fraksi 7-11 hasil KKG I

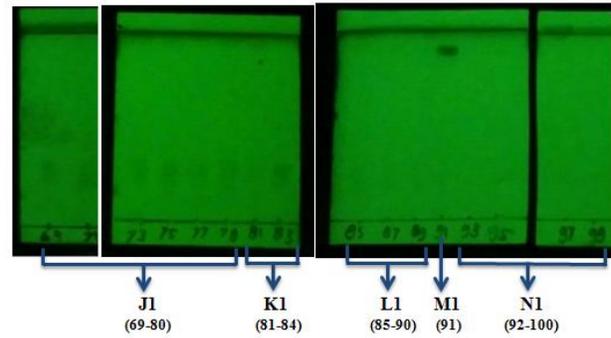
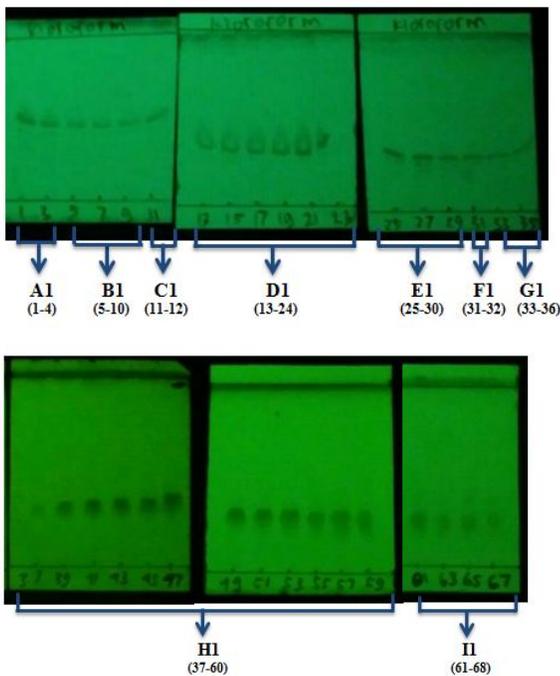
- (a) eluen kloroform
- (b) campuran eluen n-heksana : kloroform : metanol (6:3,5:0,5)
- (c) campuran eluen kloroform : aseton (9:1)
- (d) campuran eluen n-heksana : kloroform (9:1)

Berdasarkan hasil uji KLT 11 fraksi hasil KKG I dipilih fraksi 9, 10, dan 11 untuk dilanjutkan KKG II dengan eluen kloroform. Fraksi 9, 10, dan 11 pekat diperoleh seberat 2 gram. KKG II pada fraksi 9, 10, dan 11 menggunakan eluen kloroform menghasilkan 106 fraksi.



**Gambar 4.** Hasil uji KLT 106 fraksi hasil KKG II dan pengelompokannya

Fraksi hasil KKG II nomor 49-67 (kelompok E) menunjukkan 2 noda dan merupakan hasil KLT dengan pemisahan terbaik. Oleh karena itu, fraksi hasil KKG II nomor 49-67 dilanjutkan ke KKG III dengan eluen kloroform. Fraksi kelompok E setelah dievaporasi menghasilkan ekstrak pekat seberat 1 gram. Pada KKG III dihasilkan 100 fraksi sebagai berikut :



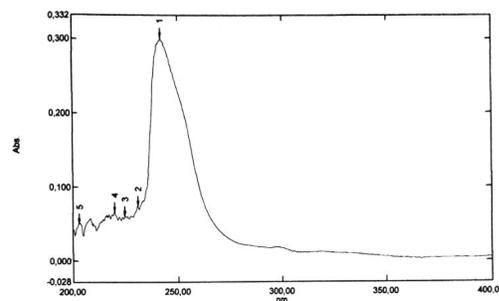
**Gambar 5.** Hasil uji KLT 100 fraksi hasil KKG III dan pengelompokannya

Hasil uji KLT pada 100 fraksi hasil KKG III menunjukkan bahwa fraksi 5-10 (Kelompok B1) memiliki 1 noda. Oleh karena itu dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan 3 macam campuran eluen. Tabel hasil uji kemurnian ditunjukkan dalam **Tabel 1** berikut :

**Tabel 1.** Hasil uji kemurnian

| Bahan                       | Pelarut                        | Jumlah spot | Rf    |
|-----------------------------|--------------------------------|-------------|-------|
| Daun adas ekstrak kloroform | 1. kloroform                   | 1           | 0,375 |
|                             | 2. kloroform : n-heksana (9:1) | 1           | 0,25  |
|                             | 3. kloroform : n-heksana (8:2) | 1           | 0,3   |

Senyawa yang sudah murni ini kemudian diidentifikasi menggunakan metode spektroskopi UV-Vis, spektroskopi IR, dan Spektroskopi GC-MS.



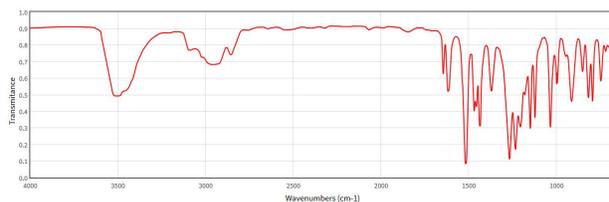
**Gambar 6.** Spektra UV-Vis senyawa hasil isolasi

Hasil spektra dari spektroskopi UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum

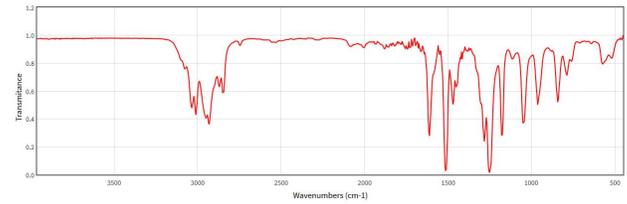
berada pada daerah 241.80 nm berasal dari ikatan rangkap dua akibat transisi elektronik dari  $\pi$  ke  $\pi^*$ . Spektra IR menunjukkan serapan di daerah 3448,57  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus hidroksi (-OH). Gugus hidroksil ini berasal dari alkohol karena adanya dukungan pita serapan C-O alkohol pada daerah 1219,42  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan pada daerah 2921,55  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus CH alifatik. Pita pada daerah serapan 1633,03  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya ikatan C=C alkena. Gugus C-O ditunjukkan pada serapan di daerah 1219,42  $\text{cm}^{-1}$ .

Analisis spektra GC sampel menghasilkan 3 puncak yaitu puncak 1, 2, dan 3 dengan puncak 1 sebagai puncak tertinggi. Kelimpahan dari puncak 1 adalah 33,23 %. Data MS menunjukkan SI terbesar 95 % dan terdapat pada puncak 1 dengan senyawanya adalah senyawa Eugenol.

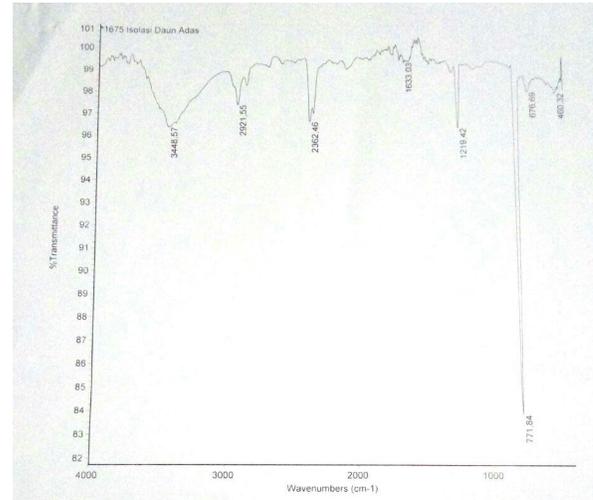
Analisis spektra MS menunjukkan SI 95% dengan eugenol, senyawa eugenol merupakan senyawa metabolit sekunder jenis fenil propanoid yang banyak ditemukan pada tumbuhan cengkeh. Berdasarkan penelitian dari (Rather, M.A., et al. 2012) menunjukkan bahwa senyawa fenil propanoid yang terdapat dalam adas adalah *trans-anethole* dan estragol. Oleh karena itu diperlukan perbandingan dengan data IR serta MS dari eugenol, anethole, dan senyawa hasil isolasi.



**Gambar 7.** Spektra IR eugenol (Sumber : <https://webbook.nist.gov>)

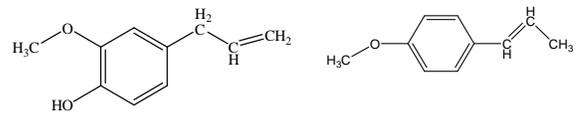


**Gambar 8.** Spektra IR anethole (Sumber : <https://webbook.nist.gov>)



**Gambar 9.** Spektra IR senyawa hasil isolasi

Struktur senyawa eugenol dan anethole :



**Gambar 10.** Struktur senyawa eugenol  
**Gambar 11.** Struktur senyawa anethole (trans-anethole)

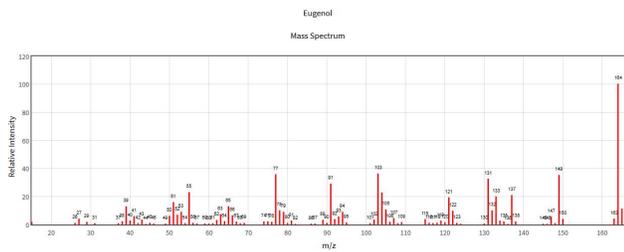
Berdasarkan data spektra IR maka diperoleh tabel perbandingan jenis vibrasi sebagai berikut :

**Tabel 2.** Perbandingan jenis vibrasi pada eugenol, anethole, dan senyawa hasil isolasi

| Senyawa               | Jenis Vibrasi |              |     |              |            |
|-----------------------|---------------|--------------|-----|--------------|------------|
|                       | OH            | C=C aromatik | C-O | C-H alifatik | C=C alkena |
| Eugenol               | ada           | ada          | ada | ada          | ada        |
| Anethole              | tidak ada     | ada          | ada | ada          | ada        |
| Senyawa hasil isolasi | ada           | tidak ada    | ada | ada          | ada        |

Perbandingan jenis vibrasi menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi dan eugenol sama - sama memiliki gugus fungsi OH, sedangkan anethole tidak memiliki gugus fungsi OH.

Anethole dan eugenol memiliki gugus fungsi C=C aromatis sedangkan senyawa hasil isolasi tidak menunjukkan adanya gugus fungsi C=C aromatis. Hal ini karena ada kemungkinan senyawa hasil isolasi masih dalam bentuk senyawa campuran sehingga kemurniannya masih rendah. Perbandingan spektra MS pada eugenol, anethole, dan senyawa hasil isolasi juga perlu dilakukan.



panjang gelombang 241,80 nm yang mengindikasikan adanya kromofor ikatan rangkap dua. Analisis spektra IR sampel diperoleh data bahwa senyawa hasil isolasi mengandung gugus -OH, C=C alkena, C-H alifatik, dan C-O alkohol. Spektra GC-MS menunjukkan m/z senyawa hasil isolasi sebesar 164,10. Spektra MS menunjukkan senyawa hasil isolasi memiliki kemiripan fragmentasi dengan senyawa eugenol SI 95%.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui struktur senyawa hasil isolasi secara pasti. Perlu dilakukan pengembangan penelitian hingga uji aktifitas senyawa hasil isolasi.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, Andria. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung : Penerbit ITB.
- Achmad, Sjamsul A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Universitas Terbuka, Depdikbud.
- Atun, Sri. 2016. *Elusidasi Struktur Molekul Senyawa Organik*. Yogyakarta: UNY Press.
- Atun, Sri. 2014. "Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam". *Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. Volume 8, Nomor 2, Hal 53-61.
- Damayanti, Astrilia dan Eko Setyawan .2012. *Essential Oil Extraction of Fennel Seed (Foeniculum vulgare) Using Steam Distillation*. Int. J. Sci. Eng., Vol. 3(2):12-14, October 2012, ISSN: 2086-5023.
- Guenther, Ernest.1990. *Minyak Atsiri jilid IV B*. Jakarta : UI Press
- belonging to the family Umbelliferae*. Int. J. Antimicrob. Agents 31, 393–395.
- Rather, M.A. et al.,2012, *Foeniculum vulgare: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety*. Arabian Journal of Chemistry (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.04.011>.
- Kaur, G.J., Arora, D.S., 2008. *In-vitro antibacterial activity of three plants belonging to the family Umbelliferae*. Int. J. Antimicrob. Agents 31, 393–395.
- Kim, D.H., Kim, S.I., Chang, K.S., Ahn, Y.J., 2002. *Repellent activity of constituents identified in Foeniculum vulgare fruit against Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*. J. Agric. Food Chem. 50, 6993–6996.
- Mohsenzadeh, M., 2007. *Evaluation of antibacterial activity of selected Iranian essential oils against Staphylococcus aureus and Escherichia coli in nutrient broth medium*. Pak. J. Biol. Sci. 10, 3693–3697.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, oleh Trevor Robinson ; Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB.
- Saifudin, Azis. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2013. *Dasar-Dasar Spektroskopi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2002. *Kromatografi*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Singh, G., Maurya, S., de Lampasona, M.P., Catalan, C., 2006. *Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of Foeniculum vulgare volatile oil and its acetone extract*. Food Control 17, 745–752.
- Sumardjo, Diamin. 2008. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.
- Sunaini. 2016. *Pengaruh Ekstrak Ethanol Daun Adas (Foeniculum vulgare Mill.) pada Induk Tikus (Rattus norvegicus) Masa Laktasi Terhadap Pertumbuhan Anak*. Yogyakarta : Skripsi UIN Sunan Kalijaga.