

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI BIJI MAHONI (*swietenia mahagoni* JACQ.) METODE EKSTRAKSI SOKLET PELARUT ETANOL

ISOLATION SECONDARY METABOLITE COMPOUND FROM MAHOGANY SEED (*Swietenia mahagoni* Jacq.) EXTRACTION SOXHLET METHOD OF ETANOL SOLVENT

Oleh: Grandy Syahwiranto¹⁾ & Karim Theresih²⁾

¹⁾²⁾Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

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

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil karakterisasi senyawa hasil isolasi menggunakan metode ekstraksi soklet pelarut etanol 70%. Ekstrak yang didapat kemudian dianalisa menggunakan KLT untuk mencari eluen terbaik. Eluen yang digunakan adalah campuran kloroform dan etil asetat. Setelah perbandingan eluen didapat dilakukan kolom dan dilanjutkan analisis menggunakan UV-Vis, FTIR dan GC-MS. Hasil penelitian ini diperoleh kristal tak berwarna yang sedikit. Hasil Karakterisasi spektrofotometri UV-Vis menunjukkan adanya kromofor transisi $n-\pi^*$ yang mengandung elektron bebas, contohnya C=O atau C=C-O. Pada FTIR didapat gugus fungsi C-O, C=C, C=O, C-H, dan O-H. Pada GC-MS diperoleh satu puncak dengan waktu retensi 24,525 menit dengan MS base peak pada massa ion molekul m/z 207,10. Berdasarkan ketiga data, belum dapat diketahui golongan senyawa hasil isolasi.

Kata kunci: Isolasi, biji mahoni, Sokhlet, KLT, metabolit sekunder.

Abstract

This study aimed to find out the result of characterization of the isolated compound using 70% ethanol solvent soxhlet extraction method. The extracts were then analyzed using TLC to find the best eluent. The eluent used is a mixture of chloroform and ethyl acetate. After eluent comparison was obtained the column and continued analysis using UV-Vis, FTIR and GC-MS. The results of this study obtained a little colorless crystals. The characterization results using UV-Vis spectroscopy show the presence of a $n-\pi^$ transition chromophore which containing free electrons, for example C=O or C=C-O. FTIR data shows the functional groups of C-O, C=O, C-H, and O-H. GC-MS data obtained one analyzed peak with a retention time of 24.525 minutes with MS base peak on molecular ion mass m/z 207.10. Based on all three data, can not be known class of isolated compounds.*

Keywords: Isolation, Mahogany seed, Soxhlet, TLC, secondary metabolite secondary.

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk negara yang memiliki keanekaragaman hayati. Diperkirakan sekitar 30.000 tumbuhan ditemukan di hutan hujan tropika dan sekitar 1260 spesies diantaranya diketahui berkhasiat sebagai obat (Atun, 2014). Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat adalah mahoni. Biji mahoni telah digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan hipertensi, diabetes dan malaria, sedangkan rebusan kulitnya telah digunakan sebagai obat penurun panas (Chen *et al.*, 2007).

Biji mahoni mengandung senyawa flavonoid, yang merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder. Untuk mengisolasi senyawa flavonoid dari biji mahoni dilakukan menggunakan ekstraksi. Siti Novita Sari & Sri Mursiti (2016) telah melakukan penelitian dengan mengekstrak biji mahoni untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan Karakterisasi struktur senyawa flavanoid hanya dilakukan dengan menggunakan IR dan UV-Vis dengan hasil menunjukkan adanya gugus fungsi C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O, C=C dan C-H

aromatik pada spektrofotometer IR serta muncul puncak pada panjang gelombang 240 nm dan 236 nm pada spektrofotometer UV-Vis, dari hasil yang didapat bahwa senyawa flavanoid hasil isolasi dari biji mahoni merupakan golongan isoflavan.

Mahoni merupakan termasuk pohon besar dengan tinggi mencapai 30 m dan diameter mencapai 100 cm (Orwa *et al.*, 2009). Kandungan senyawa sekunder dari biji Mahoni diantaranya flavonoid, saponin, alkaloid, steroid/tripenoid dan tanin (Hajli, 2011). Biji Mahoni memiliki khasiat untuk anti-microba, anti-diabetes, antioksidan, analgesik, anti-inflamasi, dan anti-jamur.(Divya, H.R., K.K., Venkatesh K.R., & T., 2012).

Metabolit Sekunder adalah suatu senyawa yang dihasilkan dari biosintesis oleh makhluk tumbuhan, mikroba atau hewan. Metabolit ini digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital. Metabolit sekunder memiliki ciri yaitu tidak terlibat langsung kekehidupan, tidak esensial, terdistribusi pada golongan tertentu, digunakan untuk pertahanan, senyawa organik dengan berat molekul 50-1500 Dalton, dan dapat dimanfaatkan manusia untuk obat, parfum, aroma, bumbu, dan relaksasi (Saifudin, 2014).

Penggolongan utama dari senyawa metabolit sekunder adalah terpenoid, fenil propanoid, Flavonoid, poliketida, dan alkaloid (Saifudin, 2014). Senyawa metabolit sekunder ini dapat diambil menggunakan metode ekstraksi dan isolasi (Wei Liu, 2011). Untuk mengetahui senyawa yang terambil adalah jenis tertentu dapat dilihat secara kualitatif dengan metode fitokimia dan untuk mengetahui lebih lanjut tentang struktur kimianya dapat menggunakan alat spektrofotometer (Jones & Kinghorn, 2005).

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk mengambil satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Leba, 2017). Teknik ekstraksi ada 3 yaitu maserasi, perkolasi, dan sokletasi.(Jones & Kinghorn, 2005).

Ekstraksi sokhlet adalah ekstraksi padat-cair menggunakan alat sokhlet. Ekstraksi ini

menempatkan sampel dan pelarut secara terpisah. Untuk prinsip kerjanya ekstraksi dilakukan secara terus-menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Saat ekstraksi telah selesai pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang mudah menguap atau titik didihnya rendah.(Leba, 2017)

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk tehnik pemisahan tertentu. Awal dari nama kromatografi digunakan untuk memisahkan senyawa yang bewarna, akan tetapi batasan senyawa bewarna tak lama dan hampir kebanyakan pemisahan-pemisahan sekarang diperuntukkan pada senyawa-senyawa yang tak berwarna, termasuk gas. (Sastrohamidjojo, 2007).

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikemukakan pada tahun 1938. Awal mula digunakan kromatografi ini adalah untuk memisahkan terpen-terpen. STAHL telah membuat cara untuk pembuatan potongan gelas dan cara melapiskanya dan menunjukkan bahwa KLT dapat digunakan untuk keperluan yang luas dalam pemisahan-pemisahan. (Sastrohamidjojo, 2007).

Pemisahan campuran senyawa dapat dilakukan dengan kromatografi kolom. Kromatografi ini menggunakan penyerap yang berbentuk padat seperti alumina yang digunakan sebagai fasa diam dan dialiri pelarut sebagai fasa gerak. Cuplikan sampel dimasukkan melalui atas kolom kemudian cuplikan akan membentuk jalur-jalur pemisahan. Bila pelarut dibiarkan mengalir melalui kolom maka akan diangkut senyawa-senyawa dari komponen-komponen campuran sesuai dengan kepolarannya. (Sastrohamidjojo, 2007).

Spektroskopi adalah studi tentang atraksi cahaya dengan atom dan molekul. Cahaya merupakan gelombang elektromagnetik yang dapat bersifat ganda atau disebut dualisme cahaya yaitu cahaya gelombang dan cahaya partikel (Atun, 2016). Spektroskopi inframerah merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur radiasi pada berbagai macam gelombang. Hampir setiap senyawa memiliki ikatan kovalen baik senyawa organik maupun

senyawa anorganik yang akan menyerap berbagai frekuensi radiasi elektromagnetik pada daerah spektrum inframerah. (Atun, 2016)

Gas Chromatography – Mass Spectroscopy (GC-MS) yaitu merupakan instrumen perpaduan dari kromatografi gas dengan spektroskopi massa. Senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi gas, selanjutnya dianalisis dengan menggunakan spektroskopi massa. Pada instrumen GC-MS aliran dari kolom terhubung secara langsung pada ruang ionisasi spektrometer massa. Pada ruang ionisasi semua molekul akan terionisasi, dan ion dipisahkan berdasarkan massa dan rasio muatannya (Harvey, 2000).

Hajli (2011) melakukan ekstraksi etanol 70% biji mahoni dengan metode maserasi. Hasil ekstraksi dipisahkan dengan lemak menggunakan n-heksana, setelah itu dipartisi menggunakan KLT dengan eluen metanol-etil asetat. Setelah didapat fraksi terbaik, dilakukan uji golongan flavanoid didapatkan hasil positif yang menunjukkan adanya senyawa flavon atau flavonol. Selain itu hasil dari spektrum inframerah memperlihatkan bahwa senyawa tersebut mempunyai gugus fungsi OH, C=O, C-O dan CH alifatik yang merupakan gugus-gugus yang dimungkinkan ada pada senyawa flavon atau flavonol.

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa flavanoid dari biji Mahoni menggunakan metoda ekstraksi sokhlet pelarut etanol 70% dan mengetahui hasil karakterisasi senyawa hasil ekstraksi sokhlet pelarut etanol 70% menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan GC-MS.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium FMIPA UNY pada bulan Januari hingga bulan April 2018. Biji mahoni (*Swietenia mahagoni Jacq.*) yang digunakan terlebih dahulu dikupas kemudian dikeringkan. Setelah kering dihaluskan menjadi serbuk.

Ekstraksi

Sampel biji Mahoni ditimbang seberat 300 gram, kemudian di ekstraksi menggunakan tehnik ekstraksi Sokhlet dengan pelarut etanol 70% sebanyak 400mL selama 2-3jam. Ekstrak yang telah dingin langsung disaring dengan penyaring buchner. Setelah didapat filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator*, didapat filtrat pekat. Filtrat yang telah didapat di analisis menggunakan KLT.

Analisis KLT

KLT yang pertama dilakukan untuk mencari perbandingan eluen untuk melarutkan sampel, kedua untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom dan yang ketiga digunakan untuk analisis fraksi-fraksi setelah kromatografi kolom. Pada penelitian ini menggunakan perbandingan eluen dari kloroform dan etil asetat. Plat yang digunakan silika gel 60 F₂₅₄ buatan E-Merck.

Plat KLT sebelum digunakan perlu dilakukan persiapan terlebih dahulu. Plat dipotong dengan ukuran sesuai chamber yang digunakan kemudian beri garis batas bawah dan batas atas. Plat kemudian dipanaskan dalam suhu 100^oC selama 60 menit untuk menguapkan air. Plat yang telah dingin siap untuk digunakan.

Penentuan eluen pertama untuk melarutkan sampel digunakan perbandingan kloroform : etilasetat 1:1 ; 1,5:1 ; 2:1 ; 2,5:1 ; 3:1 ; 3,5:1 ; 4:1 ; 4,5:1 dan 5:1. filtrat pekat yang diperoleh dari ekstraksi, di garis bawah yang telah ditentukan menggunakan pipa kapiler. Gunakan variasi eluen untuk fasa geraknya. Setelah eluen sampai batas atas maka plat KLT dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian amati totolan sampel pada plat setelah itu tentukan Rf-nya pada setiap bercak. Tentukan salah satu eluen dengan variasi yang terbaik untuk digunakan analisis selanjutnya.

Dari perbandingan eluen pertama, digunakan campuran kloroform:etilasetat (1:5) sebanyak 4mL untuk melarutkan hasil ekstrak sebanyak 2 gram. Kemudian larutan hasil ekstrak ditambahkan dengan larutan Ca(OH)₂ jenuh sebanyak 10 mL. Jika larutan telah larut ditambahkan 8 mL HCl 5% lalu di saring. Filtrat

yang didapat dilakukan analisis KLT dengan berbagai variasi eluen 1:1 ; 1,5:1 ; 2:1 ; 2,5:1 ; 3:1 ; 3,5:1 ; 4:1 ; 4,5:1 dan 5:1. Setelah eluen sampai batas atas maka plat KLT dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian amati totolan pada plat setelah itu tentukan Rf-nya pada setiap bercak. Tentukan salah satu eluen dengan variasi pemisahan terbaik untuk digunakan kromatografi kolom.

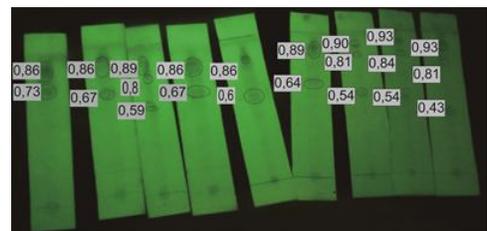
Analisis Kromatografi Kolom

Eluen pada analisis KLT kedua digunakan untuk kromatografi kolom. Kromatografi kolom ini digunakan fasa diam silika gel 60 F₂₅₄ (0,040-0,063 mm). Silika gel 60 F₂₅₄ ditimbang sebanyak 30 gram. Silika gel 60 F₂₅₄ diaktivasi dengan cara dipanaskan dalam suhu 100⁰C selama kurang lebih 1 jam. silika gel 60 F₂₅₄ yang telah aktif dimasukkan kedalam beker gelas serta ditambahkan eluen sesuai dengan Perbandingan yang telah didapat pada analisis sebelumnya. Menyiapkan kolom pada bagian bawah diberi glass woll sedikit setelah itu diberi eluen sebanyak 10 mL. Bubur silika yang telah dibuat dimasukkan ke dalam kolom hingga bubuk silika masuk semua. Pada bagian atas bubuk silika dijaga jangan sampai kehabisan eluen agar bubuk silika tidak mengering. Menambahkan eluen diatas bubuk silika kira-kira 2 cm kemudian mulut kolom bagian atas ditutup agar eluen tidak menguap, biarkan selama 4 jam. Setelah itu, eluen diturunkan hingga bagian atas hanya terlihat basah (jangan sampai habis eluen yang berada diatas silika). Sampel yang telah didapat pada proses ekstraksi ditimbang kemudian dimasukkan ke atas bubuk silika secara merata. Menambahkan eluen secara terus menerus kemudian membuka kran bagian bawah agar eluen melewati fase adsorbe. Eluen yang menetes saat setiap 2mL ditampung ditempat yang berbeda. Setiap 2mL tersebut disebut dengan fraksi 1, 2mL selanjutnya disebut F2, F3, F4 ,dst. Setiap fraksi di analisis dengan KLT dan dihitung Rf tiap bercak. Fraksi dengan pemisahan terbaik di analisis menggunakan UV-Vis, FTIR, GC-MS.

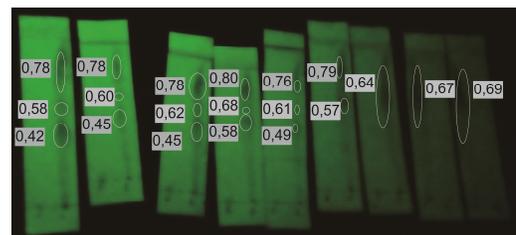
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk biji mahoni sebanyak kurang lebih 600 gram. Ekstraksi menggunakan metode sokhlet. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% teknis sebanyak 335 mL setiap sokhlet. Metode Sokhlet dilakukan sebanyak enam kali. Dari ekstraksi tersebut didapatkan ekstrak yang berbentuk padatan sebanyak 13,5 gram, dengan warna kuning keemasan. Yang selanjutnya dilakukan pemisahan secara kromatografi.

Untuk Kromatografi Lapis Tipis(KLT) pertama dilakukan untuk mencari perbandingan eluen yang tepat untuk digunakan melarutkan ekstrak kemudian ditambahkan dengan larutan Ca(OH)₂ pekat lalu ditambah HCl 5% (gambar 1). Perbandingan eluen yang digunakan pada analisis KLT pertama adalah 5:1 (kloroform:etilasetat). KLT yang kedua dilakukan untuk mencari perbandingan eluen yang tepat untuk digunakan sebagai fasa gerak dari kromatografi kolom (gambar 2). Perbandingan eluen yang digunakan pada analisis KLT pertama adalah 3,5:1 (kloroform:etilasetat) Dan untuk yang ketiga dilakukan untuk melihat pemisahan dalam kromatografi kolom (gambar 3).



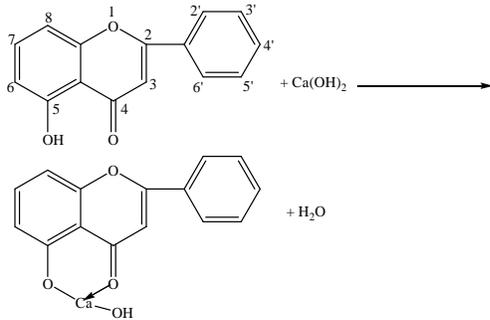
Gambar 1. KLT menentukan perbandingan eluen untuk melarutkan hasil ekstrak Perbandingan eluen yang digunakan untuk melarutkan



Gambar 2. KLT menentukan perbandingan eluen untuk Kromatografi Kolom

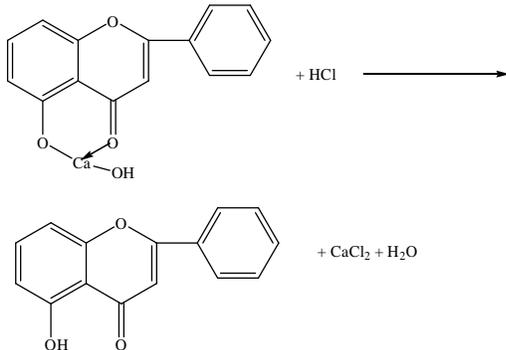
Sebelum dilakukan analisis KLT yang kedua hasil ekstrak dilarutkan ke dalam hasil eluen analisis KLT pertama. Larutan tadi dimasukkan ke dalam larutan Ca(OH)_2 kemudian ditambahkan HCl 5% untuk mengasamkan. Hasil tadi kemudian disaring dan diambil residu.

Penggunaan larutan Ca(OH)_2 ini bertujuan untuk menarik senyawa flavonoid yang mengikat gugus OH. Gugus OH pada posisi 5 bersifat aktif akan membentuk garam dengan gugus karbonil CO pada posisi 4 (gambar 12).



Gambar 3. Reaksi Flavonoid dengan Ca(OH)_2

Kemudian diasamkan dengan asam klorida untuk merubah flavonoid bentuk garam menjadi flavonoid semula (gambar 13).(Theresih, 1988)



Gambar 4. Reaksi Garam Flavonoid dengan Asam Klorida

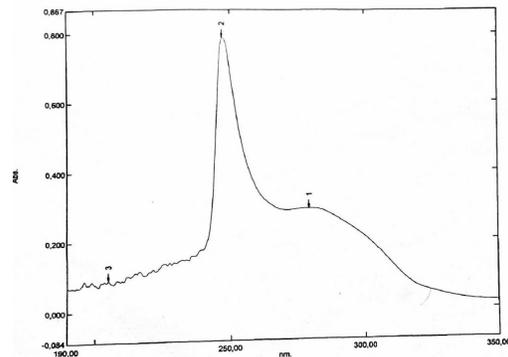
Ekstrak yang telah dilarutkan dalam campuran kloroform : etilasetat (1:5), Ca(OH)_2 jenuh dan HCl 5% kemudian di lanjutkan ke kromatografi kolom. Dalam analisis ini digunakan silika gel 60 F₂₅₄ sebanyak 30 gram. Eluen yang digunakan kloroform : etil asetat dengan perbandingan 1:3,5. Hasil yang didapat sebanyak 132 fraksi. Fraksi tersebut kemudian di

KLT untuk mengetahui pemisahan yang terjadi saat dilakukan kromatografi kolom. Setelah didapat perpisahan yang terjadi saat KLT kemudian hitung Rf. Rf yang sama dapat dilakukan penggabungan fraksi. Fraksi yang digunakan adalah nomor K dengan Rf 0,3. Kemudian dilanjutkan ke analisis spektroskopi UV-Vis, FTIR dan GC-MS.

Tabel 1. Penggabungan fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom

Fraksi ke-	Nama Fraksi	Jumlah Totalan	Rf	
1-4	A	1	0,84	-
6-10	B	2	0,66	0,8
11-12	C	1	0,66	-
13-18	D	2	0,5	0,66
19-20	E	1	0,46	-
21-27	F	1	0,44	-
28-31	G	1	0,46	-
32-34	H	1	0,32	-
35-48	I	2	0,34	0,88
49-62	J	1	0,32	-
63-69	K	1	0,3	-
70-76	L	1	0,26	-
77-83	M	1	0,18	-
84-90	N	1	0,3	-
91-97	O	2	0,2	0,3
98-104	P	1	0,18	-
105-111	Q	1	0,1	-
112-132	R	Tidak ada bercak	-	-

Spektroskopi UV-Vis menghasilkan serapan maksimum 279 nm. Serapan yang diperoleh ada tiga puncak (gambar 3)..



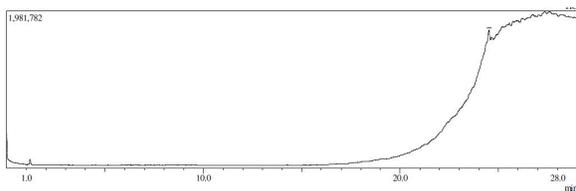
Gambar 5. Spektrum UV-Vis

Spektroskopi FTIR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi yang ada dalam senyawa hasil isolasi. Hasil analisis spektra FTIR dapat dilihat pada tabel 2.

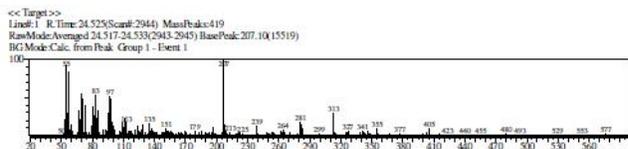
Tabel 2. Hasil Serapan Spektroskopi IR

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Perkiraan Gugus Fungsi
1244,42	C-O eter
1731,04	C=O Keton
2360,12	C-H aldehida
2933,20	C-H alifatik

Hasil Analisis Spektroskopi GC-MS hasil isolasi diperoleh Kromatogram yang memiliki satu puncak terdeteksi (Gambar 6), dengan waktu retensi 24,525 menit. Hasil spektra MS dapat dilihat dari Gambar 7. Senyawa yang teridentifikasi pada pustaka MS memiliki indeks kemiripan jauh dibawah dari 95, sehingga belum dapat diketahui senyawa yang berhasil didapat pada hasil isolasi.



Gambar 6. Kromatogram GC senyawa hasil isolasi



2. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut mengenai karakterisasi senyawa hasil isoasi dan sintesis menggunakan spektroskopi NMR, HMQC, dan HMBC untuk dapat memastikan struktur senyawa yang dapat diisolasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Atun, S. (2014). *Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam*. Konservasi Cagar Budaya Borobudur, 8, 53–61.
- Atun, S. (2016). *Elusidasi Struktur Molekul Senyawa Organik*. Yogyakarta: UNY Press.
- Divya, K., H.R., P., K.K., K., Venkatesh K.R., H., & T., J. (2012). *Herbal Drug Swietenia Mahagoni Jacq - Review*. Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine, 1(10).
- Hajli, Z. (2011). *Isolasi Senyawa Golongan Flavonoid Biji Mahoni (Swietenia Mahagoni Jacq .) Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan*. Insitut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jones, W. P., & Kinghorn, A. D. (2005). *Extraction of Plant Secondary Metabolites. Natural Products Isolation, Methods in Biotechnology*, 20, 323–350. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1>
- Leba, M. A. U. (2017). *Ekstraksi dan Real Kromatografi (cetakan pertama)*. Yogyakarta: Deepublish.
- Markham KR. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Techniques of Flavonoid of Identification*.
- Novita Sari, S., & Mursiti, S. (2016). *Isolasi Flavonoid Dari Biji Mahoni (Swietenia Macrophylla, King) Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri*. Indonesian Journal of Chemical Science, 5(3).
- Orwa, et al. (2009). *Swietenia mahagoni (L .) Jacq . Meliaceae Swietenia mahagoni (L .) Jacq ., 0, 1–5*.
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder (cetakan pertama)*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sastrohamidjojo, H. (2007). *Kromatografi (Cetakan kedua)*. Yogyakarta : Liberty Yogyakarta.
- Theresih, Karim.1988. *Isolasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Pohon Katesan (Bupatorium Odoratum)-Thesis* . Yogyakarta:Universitas Gajah Mada
- Wei Liu, H. (2011). *Extraction and Isolation of Compounds from Herbal Medicines*. In W. J.H. Liu (Ed.), *Traditional Herbal Medicine Research Methods* (pp. 81–138).