

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIMAKAN DARI BATANG TUMBUHAN BROTOWALI (*Tinospora tuberculata* BEUMEE.)

I M. Sukadana, Wiwik Susanah Rita, dan Frida R. Koreh

Jurusan kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Isolasi dan identifikasi senyawa aktif antimakan dari batang brotowali (*Tinospora tuberculata* BEUMEE.) telah dilakukan. Sebanyak 1 kg serbuk kering batang brotowali diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol, selanjutnya ekstrak metanol dipartisi secara berulang-ulang dengan n-heksana sehingga diperoleh ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana. Kedua ekstrak diuapkan dengan penguap putar vakum sehingga diperoleh ekstrak kental metanol dan ekstrak kental n-heksana yang selanjutnya diuji aktivitas antimakan. Ekstrak yang lebih aktif dilakukan pemisahan dengan kromatografi lapis tipis kemudian dilanjutkan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 dan fase gerak yang terbaik dari hasil kromatografi lapis tipis. Fraksi yang didapat diuji aktivitas antimakan. Selanjutnya ekstrak yang lebih aktif diuji kemurniannya dan diidentifikasi dengan uji fitokimia dan spektrofotometer UV-vis dan inframerah.

Sebesar 1 kg serbuk kering batang brotowali menghasilkan ekstrak kental metanol sebesar 97,07 g. Hasil partisi dengan n-heksana diperoleh 22,92 g ekstrak kental metanol dan 21,71 g ekstrak kental n-heksana. Ekstrak n-heksana menunjukkan aktivitas antimakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kental metanol. Hasil kromatografi lapis tipis untuk ekstrak kental n-heksana menunjukkan bahwa fase gerak yang terbaik adalah n-heksana : kloroform (1:1). Penggabungan dari hasil kromatografi kolom menghasilkan 3 fraksi dimana fraksi C menunjukkan aktivitas antimakan. Uji kemurnian fraksi C menghasilkan 1 noda sehingga dilanjutkan dengan uji fitokimia dan spektrofotometri UV-vis dan IR. Uji fitokimia dan analisis spektrofotometri dari isolat aktif (fraksi C) menunjukkan bahwa senyawa tersebut termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai serapan pada panjang gelombang 288,6 nm dan 310,6 nm, dan diduga mempunyai gugus fungsi O-H terikat, C-O, C-H, C=O, C=C, dan C-H.

Kata kunci : Brotowali, *Tinospora tuberculata* BEUMEE, Antimakan

ABSTRACT

Isolation and identification of antifeedant compounds from brotowali stem (*Tinospora tuberculata* BEUMEE.) was done. Brotowali dry powder of 1 kg was extracted using methanol by maceration, The methanol extract then was fractionated repeatedly by n-hexane, so that methanol and n-hexane extracts were obtained. Both of extracts were evaporated by rotary vacuum evaporator, so concentrated methanol and n-hexane extracts were obtained and then their antifeedant activity was tested. More active extract was separated by thin layer chromatography (TLC) then continued by column chromatography utilizes silica gel 60 as a stationary phase and the best mobile phases of TLC. Fractions obtained were tested of their antifeedant activity. More active fraction then was tested its purity and identified by phytochemical test and UV-vis and infrared spectrophotometer.

As much as 97.07 g of concentrated methanol extract was resulted from 1 kg brotowali dry powder. Fractionation of the methanol extract using n-hexane resulted 22.92 g of concentrated methanol and 21.71 g of concentrated n-hexane. n-hexane extract points out more activity as antifeedant than methanol extract. The best mobile phase of TLC was n-hexane: chloroform (1:1). The unite result from the column chromatography was obtained 3 fractions where fraction c points out antifeedant active. The purity test of fraction c was obtained 1 spot so continued by phytochemical test and UV-vis and infrared spectrophotometer. Phytochemical test and spectrophotometry analysis from active isolate (fraction c) point out that the compound included triterpenoid group that absorb on wavelength 288.6 nm and 310.6 nm, and be considered having functional group of O-H bonded, C-O, C-H, C=O, C=C, and C-H.

Keywords : Brotowali, *Tinospora tuberculata* BEUMEE, Antifeedant

PENDAHULUAN

Pemakaian pestisida sintetik yang tidak selektif dan tidak tepat dosisnya dapat memberikan dampak terhadap kesehatan manusia dan mencemari lingkungan. Dampak negatif ini dapat dikurangi dan dicegah keberlanjutannya dengan tidak menggunakan pestisida sintetik melainkan pestisida alami yang relatif aman terhadap lingkungan.

Salah satu tumbuhan yang diindikasikan secara etnobotani dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati adalah brotowali (*Tinospora tuberculata* BEUMEE). Bagian batang tumbuhan ini rasanya pahit, sehingga tidak ada binatang yang menyentuhnya (Heyne, 1987). Batang brotowali dapat juga digunakan untuk pengendalian penyakit keriting pada cabai, yaitu dengan mencampur batang tumbuhan ini dengan kapur, kunyit, dan air secukupnya (Sutomo, 2004). Informasi etnobotani ini memberikan dugaan bahwa di dalam batang tumbuhan brotowali mengandung senyawa pestisida nabati khususnya yang bersifat antimakan. Tumbuhan ini diketahui mengandung senyawa pikoretin, berberin, dan palmatin, yang termasuk senyawa golongan alkaloid; pikroretosid dan tinokrisposid yang merupakan suatu senyawa glikosida; serta senyawa triterpenoid (Anonim, 2004; Anonim, 2005; Krenady, 2003).

Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui terdapat pada ekstrak apakah senyawa aktif antimakan dalam batang brotowali, serta golongan senyawa apakah yang bersifat antimakan tersebut?

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang tumbuhan brotowali (*Tinospora tuberculata* BEUMEE) yang diambil dari Waingapu, Kabupaten Sumba Timur. Batang dipotong kecil-kecil dan dikeringkan di udara terbuka tanpa terkena cahaya matahari secara langsung. Bahan yang telah kering diblender sampai menjadi serbuk. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari akuades, metanol teknis dan p.a, n-heksana teknis dan p.a, CHCl_3 , silika gel GF₂₅₄, silika gel 60, HgCl_2 , KI, I_2 , NaOH 10%, H_2SO_4 pekat, bubuk Mg, HCl pekat FeCl_3 dan kertas saring.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penguap putar vakum, pipet mikro, seperangkat alat gelas, seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom, lampu UV 254 dan 366 nm, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer inframerah, timbangan elektronik, botol semprot, lap, oven, pisau, dan blender.

Prosedur Kerja

Seberat 1 kg serbuk kering batang brotowali dimaserasi menggunakan metanol teknis sampai semua senyawa yang bisa terekstraksi dengan metanol dapat terekstraksi dengan sempurna. Semua ekstrak ditampung, pelarutnya diuapkan kemudian di uji antimakan.

Ekstrak kental metanol dan dipartisi dengan n-heksana sehingga diperoleh ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol. Kedua ekstrak diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana dan ekstrak kental metanol. Kedua ekstrak kental diuji antimakan.

Uji Aktivitas Antimakan

Uji aktivitas antimakan terhadap ekstrak kental dilakukan dengan mengambil

masing-masing ekstrak untuk dibuat konsentrasi 0,1% (b/v), 5% (b/v), dan 10% (b/v). Larutan uji ini dioleskan merata pada bagian belakang dari media uji (daun kangkung laut) dengan menggunakan kuas pada paruh kiri sedangkan pelarut pada paruh kanan sebagai kontrol, lalu dikeringkan. Pelarut yang digunakan untuk kontrol sesuai dengan pelarut dari ekstrak kentalnya. Daun media uji dimasukkan ke dalam cawan petri dimana pada bagian pinggir cakram diberi kain kasa atau kapas basah untuk kelembaban. Daun ditutup dengan petri yang lebih kecil yang bagian tengahnya diberi lubang berbentuk lingkaran dengan diameter 3,5 cm. Di atas penutup daun diletakkan empat ekor larva *Epilachna sparsa* yang telah dipuaskan selama 4 jam, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam daun media uji diambil dan dilakukan perhitungan jumlah sektor daun yang dikonsumsi hewan uji. Uji aktivitas antimakan terhadap fraksi hasil kolom kromatografi maupun isolat dilakukan dengan cara yang sama, tetapi konsentrasi dari larutan uji adalah 100, 200, 400, 800, dan 1600 ppm.

Ekstrak yang aktif antimakan kemudian dipisahkan dengan kromatografi

kolom dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak kloroform:n-heksana (1:1). Fraksi-fraksi yang diperoleh dari kolom di uji aktivitasnya, dan fraksi yang paling aktif dilanjutkan dengan pemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis. Setiap isolat yang diperoleh diuji aktivitas antimakan dan kemurniannya. Isolat yang paling aktif dan relatif murni selanjutnya diidentifikasi. (Santi, 2003)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 22,92 g berwarna coklat dan ekstrak kental n-heksana sebanyak 21,71 g berwarna coklat kekuningan. Hasil uji aktivitas antimakan menunjukkan bahwa ekstrak kental n-heksana mempunyai aktivitas antimakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kental metanol.

Pemisahan sebanyak 2 g ekstrak kental n-heksana dengan kromatografi kolom menghasilkan 3 fraksi dengan berat masing-masing fraksi ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pemisahan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis ekstrak kental n-heksana.

Fraksi	Berat (g)	Jumlah noda	Rf
A (23-37)	0,73	2	0,04; 0,08
B (38-41)	0,36	3	0,05; 0,08; 0,16
C (42-81)	1,69	1	0,09

Eluat 1-22 tidak menunjukkan adanya noda baik dengan lampu UV maupun dengan pereaksi penampak noda metanol : H₂SO₄ (9:1), karena senyawa pada sampel

belum terpisah pada saat eluat ditampung atau yang ditampung pada fraksi 1-22 adalah eluen saja. Hasil uji aktifitas antimakan masing-masing fraksi hasil kolom (A, B, dan

C) menunjukkan bahwa fraksi C mempunyai aktivitas antimakan yang lebih tinggi dibandingkan fraksi lainnya seperti dipaparkan dalam Tabel 2

Tabel 2. Hasil uji aktifitas antimakan pada tiap fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom

No.	Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas antimakan (%)		
			Percobaan 1	Percobaan 2	Rata-rata
1.	A (23-37)	100	-70	-61,53	-65,77
		200	-71,43	-64,10	-67,77
		400	-33	-25	-29
		800	-17,24	-14,28	-15,70
		1600	-17,24	-29,41	-23,33
2.	B (38-41)	100	-83,33	-100	-91,67
		200	-70,21	-29,41	-48,81
		400	-37,93	-33,33	-35,63
		800	7,69	4,35	6,02
		1600	14,28	17,65	15,97
3.	C (42-81)	100	29,41	17,65	23,53
		200	41,18	33,33	37,26
		400	60,58	71,42	66
		800	71,42	100	85,71
		1600	90,46	95	92,73

Karena pada uji kemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis dengan berbagai campuran fase gerak menunjukkan bahwa pada fraksi C hanya terkandung 1 noda

seperti terlihat pada Tabel 3, maka terhadap fraksi C dilanjutkan dengan uji fitokimia.

Tabel 3. Hasil uji kemurnian fraksi C pada berbagai campuran fase gerak

No.	Fase gerak	Jumlah noda	Rf
1.	n-Heksana : Kloroform (2:1)	1	0,71
2.	Metanol : Kloroform (5:2)	1	0,42
3.	n-Heksana : Kloroform (1:1)	1	0,86
4.	Metanol : Kloroform (1:2)	1	0,26

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa isolat aktif antimakan termasuk dalam senyawa golongan triterpenoid, karena dengan pereaksi Liebermann

Buchard isolat mengalami perubahan warna dari hijau menjadi merah ungu seperti terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji fitokimia terhadap isolat antimakan (fraksi C)

No.	Uji Fitokimia	Pereaksi	Perubahan yang terjadi	Kesimpulan
1.	Flavonoid	NaOH 10%	Tidak ada (hijau-hijau)	-
		HCl + Mg	Tidak ada (hijau-hijau)	-
		H ₂ SO ₄	Tidak ada (hijau-hijau)	-
2.	Alkaloid	Wagner Meyer	Tidak ada endapan Tidak ada endapan	- -
3.	Saponin	Ditambah air lalu di kocok	Tidak ada busa	-
4.	Triterpenoid/ Steroid	Liebermann Buchard H ₂ SO ₄ pekat	Hijau – Merah ungu (triterpenoid)	+
5.	Tanin	FeCl ₃	Tidak ada (hijau-hijau)	-
		HCl 2M	Tidak ada (hijau-hijau)	-

Data spektrum inframerah isolat menunjukkan terjadi serapan melebar dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 3435,9 cm⁻¹ yang diduga serapan untuk gugus O-H dan didukung dengan adanya serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1241,2 cm⁻¹ dan 1108,1 cm⁻¹ yang diduga merupakan gugus C-O *stretching*. Adanya pita tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 2921,3 cm⁻¹ dan 2850,3 cm⁻¹ diduga menunjukkan adanya gugus C-H *stretching* alifatik yang didukung oleh adanya serapan pada daerah bilangan

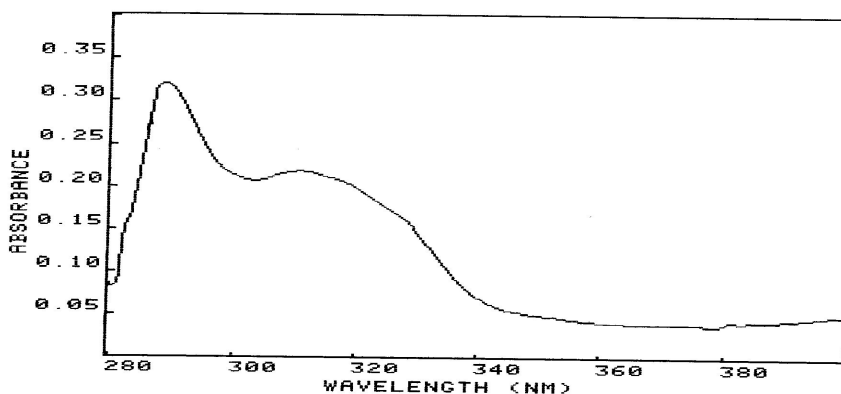
gelombang 1495,9 cm⁻¹ dan 1457,3cm⁻¹ yang diduga menunjukkan adanya gugus C-H bending alifatik. Serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1717,7 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=O *stretching*. Adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1654,4 cm⁻¹ diduga dari gugus C=C *stretching* alifatik. Hasil spektrum inframerah dari isolat aktif antimakan ditunjukkan pada Gambar 1 (Harborne, 1987; Sastrohamidjojo, 1985).



Gambar 1. Spektrum inframerah dari isolat aktif antimakan

Analisis isolat aktif antimakan dengan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan dua serapan pada panjang gelombang 288,6 nm dan 310,6 nm seperti pada Gambar 2. Serapan pada panjang gelombang 288,6 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron dari $\pi-\pi^*$. Hal ini didukung oleh adanya

serapan dari gugus fungsi C=O pada spektrum IR. Serapan pada panjang gelombang 310,6 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron $n-\pi^*$ karena pada spektrum IR juga menunjukkan serapan C=C alifatik.



Gambar 2. Spektrum UV-vis dari isolat aktif antimakan

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa isolat aktif antimakan (fraksi C) dari batang brotowali yang terdapat pada ekstrak kental n-heksana adalah senyawa golongan triterpenoid yang memiliki karakteristik gugus fungsi O-H terikat, C-O, C-H, C=O, C=C, dan C-H serta serapan maksimum pada λ_{max} 288,6 nm dan 310,6 nm yang kemungkinan disebabkan oleh terjadinya transisi elektron dari $n-\pi^*$ dan $\pi-\pi^*$.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode spektroskopi yang lain

seperti kromatografi gas untuk menentukan struktur usulan senyawa aktif antimakan dari batang brotowali serta perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan bioindikator lain selain larva *E. sparsa* dalam uji hayati antimakannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Dra Iryanti Eka Suprihatin, M.Sc., Ph.D., Ni Putu Diantariani, S.Si., M.Si., dan I Nengah Simpen, S.Si., M.Si. atas masukan dan sarannya sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2004, Tanaman Obat, <http://www.medikaholistik.com>, 1 Maret 2006.
- Anonim, 2005, Brotowali, <http://www.ipteknet.id>, 1 Maret 2006.
- Heyne, K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, terjemahan Kosasih Padmawinata, jilid II, ITB, Bandung.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia*, terjemahan Kosasih Padmawinata, Jilid II, ITB, Bandung.
- Krenady, B., 2003, *Khasiat dan Manfaat Brotowali si-Pahit yang Menyembuhkan*, PT Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Sastrohamidjojo, H., 1985, *Spektroskopi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta
- Sutomo, 2004, Pengendalian Penyakit Keriting Pada Cabai, <http://www.acicismoerdoch.com>, 1 Maret 2006.
- Santi, S. R; 2003, Penelusuran Senyawa Aktif Antimakan pada Daun Encok (*Plumbago zeylamica* L.), *Review Kimia*, Vol.6, No.2, Hal 1.