

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN TRITERPENOID DARI EKSTRAK *n*-HEKSANA DAUN KEPUH (*Sterculia foetida* L.) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS

I. A. R. Astiti Asih, I W. G. Gunawan, dan N. M. Desi Ariani

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Daun kepuh merupakan bagian dari tumbuhan kepuh yang digunakan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Maserasi \pm 1000 g serbuk kering daun kepuh menggunakan pelarut *n*-heksana dengan metode maserasi diperoleh 2,10 g ekstrak kental *n*-heksana. Pemisahan ekstrak kental *n*-heksana dengan metode kromatografi kolom menghasilkan dua isolat $F_{3,1}$ dan $F_{3,2}$ sebanyak 0,0195 g dan 0,0032 g berupa kristal amorf berwarna kuning.

Hasil uji fitokimia isolat $F_{3,1}$ dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan positif triterpenoid. Identifikasi isolat $F_{3,1}$ dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan satu pita serapan landai pada panjang gelombang 265 nm. Jenis transisi yang terjadi diduga adalah $n \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan oleh kromofor C=O. Identifikasi isolat dengan inframerah menunjukkan gugus OH pada daerah bilangan gelombang 3294,42 cm^{-1} , gugus CH alifatik pada bilangan gelombang 2924,09 cm^{-1} dan 2854,65 cm^{-1} , gugus C=O pada bilangan gelombang 1743,65 cm^{-1} , CH_2 bending dan CH_3 bending pada bilangan gelombang 1458,18 cm^{-1} dan 1381,03 cm^{-1} dan gugus CO alkohol pada bilangan gelombang 1172,72 cm^{-1} . Uji aktivitas antiradikal bebas terhadap isolat $F_{3,1}$ dilakukan dengan metode spektroskopi UV-Vis dimana isolat $F_{3,1}$ bersifat aktif antiradikal bebas dengan persentase peredaman DPPH pada menit ke-5 sebesar 85,33% dan pada menit ke-60 sebesar 88,52%.

Berdasarkan hasil uji fitokimia dan analisis spektrofotometri, diduga isolat dari daun kepuh adalah senyawa golongan triterpenoid sejati yang bersifat antiradikal bebas, dengan gugus fungsi OH, CH alifatik, C=O, dan C-O alkohol.

Kata kunci : *Sterculia foetida* L., antiradikal bebas

ABSTRACT

Kepuh leaves can be used as traditional medicine to cure various diseases. Maseration of \pm 1000 g dry powder of Kepuh leaves with *n*-hexane as the solvent resulted in 2,10 g *n*-hexane concentrated extract. Separation of this extract with column chromatography gained two yellow amorphous crystal isolates of $F_{3,1}$ and $F_{3,2}$ with 0,0195 g and 0,0032 g in weight, respectively.

The result of phytochemical test of isolate $F_{3,1}$ with Liebermann-Burchard reagent showed that the isolate positively contained triterpenoid. Identification of isolate $F_{3,1}$ with spectrophotometer UV-Vis showed one broad peak at 265 nm. The transition occurred probably was $n \rightarrow \pi^*$, that was caused by C=O chromophor. Infrared spectrum showed characteristic groups of OH at 3294,42 cm^{-1} , aliphatic CH at 2924,09 cm^{-1} and 2854,65 cm^{-1} , C=O at 1743,65 cm^{-1} , bending CH_2 and bending CH_3 at 1458,18 cm^{-1} and 1381,03 cm^{-1} and alcoholic CO at 1172,72 cm^{-1} . Free antiradical activity test against isolate $F_{3,1}$ was carried out by spectroscopy UV-Vis method. Isolate $F_{3,1}$ had characteristic as a free antiradical with DPPH damping percentage at the 5th minute was 85,33% and at the 60th minute was 88,52%.

According to phytochemical tests and spectrophotometry analysis, isolates from kepuh leaves was expected to contain true triterpenoid group compounds with free antiradical activity OH group, aliphatic CH, C=O and alcoholic C-O as the functional groups.

Keywords : *Sterculia foetida* L., anti-free radical

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang beriklim tropis, sehingga berbagai jenis tumbuhan dapat hidup dan berkembang. Berbagai jenis tumbuhan tersebut diketahui memiliki khasiat sebagai obat tradisional. Pemanfaatan tumbuh-tumbuhan sebagai obat dalam pengobatan tradisional secara turun-temurun telah dikenal oleh masyarakat Indonesia karena diyakini memiliki efek penyembuhan terhadap suatu penyakit. Keanekaragaman hayati (*biodiversity*) yang dimiliki Indonesia dapat digunakan sebagai pustaka kimia alam (*chemodiversity*) yang dapat diberdayakan secara maksimal melalui proses isolasi senyawa aktif maupun skrining bioaktivitasnya (Farnsworth, 1966; Hariana, 2004).

Salah satu keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah *Sterculia foetida* L. Di Bali tumbuhan ini lebih dikenal dengan nama Kepuh. Bagian tumbuhan kepuh yang paling banyak digunakan dalam pengobatan adalah kulit batang yang digunakan sebagai "boreh", sedangkan daunnya digunakan untuk mempermudah keluarnya keringat dan peluruhan kencing. Daunnya yang telah dilumatkan dapat juga digunakan sebagai boreh pada kaki dan tangan yang patah ataupun sendi-sendi yang terkilir. Daun kepuh juga berkhasiat sebagai obat TBC, radang selaput lendir mata, rematik, dan kepala pusing. Ekstrak daun kepuh dapat diminum untuk mengobati demam serta memiliki aktivitas antiinflamatori dan analgesik. Bagian tumbuhan kepuh yang lain seperti kulit batang, buah, dan biji dapat digunakan sebagai obat sakit perut, penggugur (abortivum), batuk, borok, kudis, kencing nanah, dan raja singa (Didin, 1986; Heyne, 1987).

Berdasarkan data dari badan POM, bahwa kepuh diketahui mengandung senyawa kimia seperti saponin, flavonoid, polifenol, tannin dan triterpenoid (Anonim, 2004). Daun kepuh diketahui mengandung 2,66% kalsium. Ekstrak n-heksana daun kepuh telah diketahui mengandung triterpenoid, sedangkan pada bijinya mengandung 34% asam lemak (olein dan laurin) (Anonim 2008).

Berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan menunjukkan bahwa dalam ekstrak n-

heksana daun kepuh mengandung senyawa triterpenoid, dan steroid. Secara kualitatif, intensitas perubahan warna untuk reaksi golongan triterpenoid sangat kuat dengan pereaksi fitokimia. Dengan demikian diduga senyawa triterpenoid merupakan kandungan utama dalam daun kepuh. Menurut Rika (2009) bahwa pada kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) telah ditemukan senyawa golongan triterpenoid yang aktif sebagai antiradikal bebas dengan persentase peredaman setelah 5 menit sebesar 76,96% dan peredaman setelah 1 jam sebesar 99,91%. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan biasanya tersebar merata ke seluruh bagian tumbuhan tetapi dalam kadar yang berbeda-beda (Markham, 1988). Uji pendahuluan aktivitas peredaman radikal bebas secara spektroskopi UV-Vis yang telah dilakukan diketahui bahwa ekstrak n-heksana memiliki persentase peredaman radikal bebas setelah 5 menit sebesar 71,55% dan setelah 1 jam sebesar 74,18%.

Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologis tertentu, seperti antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan dapat mengatasi penyakit diabetes (Robinson, 1995). Keaktifan dari golongan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antiradikal bebas ditentukan oleh adanya gugus fungsi -OH (hidroksi) bebas dan ikatan rangkap karbon-karbon, seperti flavon, flavanon, skualen, tokoferol, β -karoten, dan vitamin C (Djatkiko, 1998). Daun kepuh telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamatori (anti peradangan), dimana beberapa penelitian menunjukkan bahwa kanker lambung diakibatkan oleh peradangan kronis sehingga menyebabkan mutasi genetik oleh zat karsinogenik. Hal ini dikarenakan radikal bebas mampu bereaksi dengan protein, lipoprotein, dan DNA yang pada akhirnya dapat menyebabkan kanker, penuaan dini, peradangan, dan jantung koroner. Untuk menghindari hal tersebut, dibutuhkan zat antioksidan yang mampu bereaksi dengan radikal bebas (Soeksmanto, 2007).

Berdasarkan hasil uji pendahuluan pada ekstrak n-heksana yang didukung oleh penelitian bahwa ekstrak n-heksana diketahui mengandung triterpenoid dan pada kulit batang kepuh telah

ditemukan senyawa golongan triterpenoid yang aktif antiradikal bebas, serta dilihat dari banyaknya kegunaan daun kepuh terutama keaktifan ekstrak *n*-heksana daun kepuh dalam meredam radikal bebas, maka penulis tertarik melakukan penelitian untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa golongan triterpenoid dari ekstrak *n*-heksana daun kepuh serta menguji aktivitas antiradikal bebas.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang diperoleh dari Pura Maspait Desa Dauh Puri Kauh, Banjar Monang–Maning, Denpasar Barat. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah akuades, *n*-heksana (p.a dan teknis), kloroform (p.a dan teknis), etilasetat (teknis dan p.a), karbon aktif, metanol (p.a), DPPH (difenilpicril hidrazil), silika gel GF₂₅₄, silika gel 60, kalium bromida (KBr), dan pereaksi untuk uji fitokimia antara lain : Liebermann-Buchard (asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat).

Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah pisau, blender, stoples, neraca analitik, botol semprot, botol vial, desikator, kertas saring, corong, penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*), plat tetes, hot plate, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, labu ukur, gelas ukur, gelas beker, *ball filler*, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat kromatografi kolom, lampu UV 254 nm dan 366 nm, spektrofotometer UV–Vis, dan spektrofotometer IR.

Cara Kerja

Sebanyak ± 1000 g serbuk kering daun kepuh diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana. Ekstrak *n*-heksana yang didapat dipisahkan dari pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*

sehingga didapat ekstrak kental *n*-heksana. Ekstrak kental *n*-heksana yang diperoleh ditambahkan karbon aktif dengan perbandingan 1:1 dan dilarutkan dalam pelarut *n*-heksana, kemudian dipanaskan dengan *hot plate* dan disaring. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak kental tersebut diuji fitokimia dengan pereaksi Liebermann-Burchard untuk menentukan ada tidaknya triterpenoid. Ekstrak kental positif triterpenoid dipisahkan dengan kromatografi kolom. Sebelum dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom, terlebih dahulu dilakukan pemilihan eluen dengan teknik KLT. Hasil pemisahan kromatografi kolom (silika gel 60, *n*-heksana : kloroform (1 : 3)) yang sama digabungkan dan dikelompokkan menjadi kelompok fraksi. Masing-masing kelompok fraksi tersebut diuji triterpenoid. Fraksi yang positif mengandung triterpenoid dengan noda tunggal dilanjutkan dengan uji kemurnian secara KLT dengan beberapa campuran eluen. Bila tetap menghasilkan satu noda maka fraksi tersebut dapat dikatakan sebagai isolat relatif murni secara KLT. Isolat relatif murni ini kemudian dianalisis dengan Spektrofotometer Ultra violet-tampak dan Inframerah, serta diuji aktivitas antiradikal bebasnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kental *n*-heksana yang diperoleh berwarna kuning pekat dengan berat 2,10 g dari sekitar 1000 g serbuk kering daun kepuh. Pemisahan 1 g ekstrak kental *n*-heksana menggunakan kromatografi kolom (silika gel 60, *n*-heksana : kloroform (1 : 3)) menghasilkan 199 eluat, yang kemudian difraksinasi dengan KLT menghasilkan 7 kelompok fraksi. Ketujuh kelompok fraksi tersebut diuji triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Buchard. Hasil uji triterpenoid ketujuh kelompok fraksi tersebut dipaparkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Minyak Kelapa Dengan Cara Tradisional dan Fermentasi

| Fraksi | Berat (g) | Pereaksi LB | Keterangan |
|--------------------------|-----------|-------------------------------|------------|
| F ₁ (1-17) | 0,9237 | Kuning pekat menjadi hijau | - |
| F ₂ (18-42) | 0,2106 | Kuning menjadi merah ungu | ++ |
| F ₃ (43-70) | 0,0398 | Kuning menjadi merah ungu | +++ |
| F ₄ (71-126) | 0,0682 | Kuning bening menjadi ungu | + |
| F ₅ (127-156) | 0,0916 | Hijau kekuningan menjadi ungu | + |
| F ₆ (157-171) | 0,0103 | Kuning bening menjadi ungu | + |
| F ₇ (172-199) | 0,0122 | Kuning bening menjadi ungu | + |

Fraksi yang dilanjutkan untuk analisis lebih lanjut adalah fraksi F₃ karena secara kualitatif intensitas perubahan warna yang dihasilkan pada penambahan pereaksi Liebermann-Burchard yaitu dari kuning menjadi merah ungu dengan intensitas warna yang kuat dimana fraksi F₃ mengandung 2 komponen senyawa sehingga dimurnikan lebih lanjut dengan teknik KLT preparatif. Eluen yang digunakan adalah n-heksana : kloroform (1 : 3). Hasil KLT preparatif fraksi F₃ diperoleh 2 fraksi. Kedua fraksi hasil KLT preparatif tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Dua fraksi hasil KLT preparatif fraksi F₃.

| Fraksi | Jumlah noda | Warna | Berat |
|------------------|-------------|---------------|--------|
| F _{3.1} | 1 | Kuning | 0,0195 |
| F _{3.2} | 1 | Kuning bening | 0,0032 |

Kedua fraksi hasil KLT preparatif diuji triterpenoid menunjukkan bahwa fraksi F_{3.1}

positif triterpenoid dan fraksi F_{3.2} negatif triterpenoid. Uji kemurnian terhadap fraksi F_{3.1} dengan teknik KLT menggunakan beberapa campuran eluen menghasilkan isolat relatif murni dengan satu noda pada berbagai polaritas eluen yang digunakan. Hasil analisis isolat F_{3.1} dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam metanol memberikan satu serapan landai yaitu pada panjang gelombang 265 nm diduga akibat adanya transisi elektron dari n – π* yang disebabkan oleh adanya kromofor C=O. Dugaan ini didukung dari hasil data spektrum inframerah yang menunjukkan isolat F_{3.1} mempunyai gugus fungsi C=O pada panjang gelombang 1743,65 cm⁻¹. Data spektrum inframerah terhadap isolat F_{3.1} menunjukkan adanya serapan melebar pada daerah bilangan gelombang 3294,42 cm⁻¹ yang diduga serapan dari gugus OH *stretching* terikat. Dugaan ini diperkuat dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang 1172,72 cm⁻¹ yang merupakan serapan dari gugus C-O alkohol. Serapan tajam pada daerah bilangan gelombang 2924,09 cm⁻¹ dan 2854,65 cm⁻¹ diduga serapan dari gugus CH alifatik (CH₃ dan CH₂ *stretching*). Dugaan ini didukung oleh adanya gugus CH₂ *bending* dan CH₃ *bending* yang ditandai dengan munculnya puncak berintensitas tajam pada daerah bilangan

gelombang $1458,18\text{ cm}^{-1}$ dan $1381,03\text{ cm}^{-1}$. Gugus karbonil (C=O) terindikasi muncul dengan adanya puncak dengan intensitas tajam pada daerah bilangan gelombang $1743,65\text{ cm}^{-1}$. Berdasarkan data-data diatas maka diduga isolat F_{3.1} adalah senyawa golongan triterpenoid sejati yang mempunyai gugus fungsi OH, CH alifatik, C=O, dan C-O alkohol.

Hasil uji aktivitas antiradikal bebas menunjukkan bahwa isolat F_{3.1} aktif sebagai antiradikal bebas karena pada menit ke-5 telah menunjukkan persentase peredaman yang besar yaitu sebesar 85,33% dan pada menit ke-60 persentase peredamannya naik sebesar 88,52%. Suatu bahan dikatakan aktif sebagai peredam radikal bebas jika memiliki persentase peredaman lebih besar atau sama dengan 50% (Rahmawati, 2004). Selain itu kemungkinan disebabkan oleh beberapa senyawa yang bersifat sinergis dalam meredam radikal bebas.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Isolat (F_{3.1}) dari ekstrak *n*-heksana daun kepuh adalah senyawa golongan triterpenoid sejati yang memberikan serapan landai pada panjang gelombang 265 nm dengan transisi elektron dari $n - \pi^*$ dan mempunyai gugus-gugus fungsi karakteristik yaitu OH, CH alifatik, C=O, dan C-O alkohol. Isolat F_{3.1} dari daun kepuh bersifat aktif antiradikal bebas dengan persentase peredaman sebesar 85,33% pada menit ke-5 dan 88,52% pada menit ke-60.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan struktur dari isolat triterpenoid daun kepuh dengan menggunakan MS, dan spektroskopi NMR serta perlu diuji aktivitas lain sehingga dapat menambah informasi tentang keaktifan dari isolat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak membantu sehingga tulisan ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2004, Obat Bahan Alam Indonesia Obat, <http://www.pom.go.id-Sterculia foetida L./Kepuh>, 2 Agustus 2008
- Anonim, 2008, *Annual Report 2000-2001*, Autonomous Institutions, Agharkar Research Institute, Departement of Science and Technology, Pune, India
- Didin, S., dan Sastrapradja, 1986, *Indeks Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia*, Eisai Indonesia
- Djarmiko, Santosa, M. H., dan Wahyu, 1998, *Seminar Nasional Tumbuhan Obat XII*, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya
- Fransworth, N. R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plant, *J. Pharm. Sci*, 55 (3) : 225-276
- Hariana, A., 2004, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Seri I, Penerbit Swadaya, Jakarta
- Heyne, K., *Tumbuhan Berguna Indonesia III*, Badan Lidbang Departeman Kehutanan
- Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavanoid*, Edisi II, terjemahan Padmawinata, K., ITB, Bandung
- Rahmawati, D., 2004, Uji Antiradikal Bebas Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak Metanol Buah Menkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Secara Spektroskopi, *Skripsi*, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Udayana, Denpasar
- Rika, K. D., 2009, Isolasi Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Antiradikal Bebas Dari Kulit Batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.), *Skripsi*, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Udayana, Denpasar

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, a.b Padmawinata, K, edisi ke-6, ITB, Bandung
Soaksmanto dan Hapsari, 2007, *Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, Phaleria*

macrocarpa (Scheff) Boerl. (Thymelaceae), Pusat Penelitian Bioeknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta