

**KANDUNGAN SENYAWA STEROID-ALKALOID
PADA EKSTRAK *n*-HEKSANA DAUN BERINGIN (*Ficus benjamina* L)**

I Made Sukadana

*Kelompok Studi Kimia Bahan Alam
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa steroid-alkaloid dari daun beringin (*Annona muricata* Linn). Sebanyak 27,13 g ekstrak kental etanol dihasilkan dari 1,0 Kg serbuk kering daun beringin yang dimaserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak tersebut kemudian dipartisi dengan *n*-heksana. Sehingga menghasilkan 11,39 g ekstrak kental *n*-heksana. Ekstrak etanol dilarutkan dalam campuran etanol-air (7:3) kemudian diuapka pelarutnya sampai tersisa ekstrak air. Selanjutnya ekstrak air ini dipartisi dengan kloroform sehingga menghasilkan berturut-turut 0,7 g ekstrak kental kloroform yang berwarna hijau gelap dan 2,21 g ekstrak kental air yang berwarna hijau.

Pemisahan ekstrak *n*-heksana positif steroid dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 dan fase gerak kloroform- etilasetat (4:1) menghasilkan 14 fraksi dimana fraksi F₈ paling positif terhadap pereaksi Liebermann-Burchard, tetapi fraksi ini sedikitnya mengandung lima komponen. Selanjutnya pemurnian fraksi F₈ menggunakan KLT preparatif menghasilkan 6 fraksi (F_{8,1}, F_{8,2}, F_{8,3}, F_{8,4}, F_{8,5}, dan F_{8,6}) dan fraksi F_{8,1} yang paling aktif steroid.

Hasil identifikasi menggunakan analisis spektrofotometer inframerah menunjukkan bahwa isolat (fraksi F_{8,1}) kemungkinan adalah senyawa steroid-alkaloid yang mempunyai gugus fungsi seperti O-H stretching 3448,72 cm⁻¹ yang didukung dengan satu pita C-O-H stretching pada 1381,03 cm⁻¹. Pita dari gugus C-H aldehid muncul pada 2924,09 dan 2854,65 cm⁻¹ serta gugus karbonil aldehid C=O pada 1735,9 cm⁻¹. Serapan pada bilangan gelombang 2337,72 cm⁻¹ menunjukkan adanya C≡N stretching yang didukung berturut-turut gugus N-H alifatik dan C-N alifatik pada 1172,72 dan 1111,00 cm⁻¹. Gugus yang lain adalah C=C alifatik (1558,48 cm⁻¹), C-H alifatik bending (1458,18 cm⁻¹), dan C-O-C stretching (1257,59 cm⁻¹). Data GCMS menunjukkan suatu senyawa isomer dengan BM. 393 dan rumus molekul C₂₄H₂₇O₄N yang merupakan suatu alkaloid.

Kata Kunci : *Ficus benjamina*.L , steroid, alkaloid, isolasi, identifikasi.

ABSTRACT

Isolation of steroid-alkaloid compounds from Banyan leaf (*Ficus benjamina* L.) has been carried out. As much as 27.13 g of concentrated ethanol extract was resulted from 1.0 kg dried powders of Banyan leaf that was macerated using ethanol as a solvent. Further, this extract was partitioned with *n*-hexane to obtain 11.39 g concentrated extract of *n*-hexane. Ethanol extract was dissolved in ethanol-water (7:3), then was evaporated leaving water extract. Futhermore these water extract was partitioned with chloroform to obtain 0.7 g concentrated chloroform extract which was dark green and 2.21 g concentrated water extract which was green.

Separations of *n*-hexane extract containing steroids using column chromatography (stationary phase : silica gel 60 and mobile phase : chloroform-ethylacetate (4:1)) resulted in fourteen fractions with F₈ fraction being the most positive toward Liebermann-Burchard reagent, but this fraction contains at least in five components. Purification of the F8 fraction using TLC preparative resulted in six fractions (F_{8,1}, F_{8,2}, F_{8,3}, F_{8,4}, and F_{8,5}) with F_{8,1} fraction being the most active steroid.

The infrared spectrophotometer analysis suggested that the isolate (F_{8,1} fraction) was a steroid-alkaloid compound having functional groups including O-H stretching at 3448.72 cm⁻¹ that was supported by one band C-OH stretching at 1381.03 cm⁻¹, the band of C-H aldehyde group at 2924.09 and 2854.65 cm⁻¹ and the carbonyl group C=O of aldehyde at 1735.9 cm⁻¹. Absorption at 2337.72 cm⁻¹ indicated C≡N stretching which was supported by N-H

aliphatic and C-N aliphatic groups at 1172.72 and 1111.00 cm^{-1} respectively. The other groups were C=C aliphatic (1558.48 cm^{-1}), C-H aliphatic bending (1458.18 cm^{-1}), and C-O-C stretching (1257.59 cm^{-1}). The gas chromatogram and mass spectra showed an isomer compound with Mr of 393 and molecular formula of $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}$ which was an alkaloid.

Keywords : *Ficus benjamina* L., steroid, alkaloid, isolation, identification

PENDAHULUAN

Beringin (*Ficus benjamina* L) merupakan salah satu tumbuhan obat yang sering dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional di Bali (Rusmarini, 2003). Di Bali tumbuhan ini dikenal dengan nama bingin, di daerah Sunda dikenal caringin, dan di Jawa serta Sumatra dinamakan waringin (Dalimartha, 1999). Tumbuhan ini juga dianggap keramat karena daun beringin dipakai sebagai sarana upacara ngaben, mamukur, dan ritual lainnya (Anonim, 2007a). Sebagai tumbuhan obat beringin sering digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti pernafasan, kulit, demam tinggi, nyeri rematik sendi, memar, influenza, radang saluran nafas (bronchitis), batuk rejan (pertusis), dan disentri (Anonim, 2005; Mousa *et al.*, 1994). Menurut Dalimartha (1999) akar udara dan daun beringin berkhasiat sebagai antiperitik, antibiotik, antiinflamasi, peluruh keringat (diaforetik), dan peluruh kencing (deuretik). Akar udara tumbuhan beringin mengandung senyawa asam amino, fenol, dan gula. Selain itu daun, akar, dan kulit batang beringin mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, dan polifenol (Anonim, 2007b).

Hasil uji fitokimia pendahuluan terhadap ekstrak kental etanol daun beringin diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, dan polifenol. Secara kualitatif dilihat dari intensitas warna sebagai reaksi positif dari beberapa pereaksi fitokimia, diduga bahwa senyawa golongan steroid sebagai kandungan utama/mayor pada daun beringin, maka dalam penelitian ini dilakukan isolasi senyawa golongan steroid dan mengidentifikasi isolat menggunakan spektrofotometer inframerah (IR) dan kromatografi gas-spektrometer massa (GCMS).

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun beringin (*Ficus benjamina* L) yang diperoleh dari daerah Bukit Jimbaran Atas, Kuta Selatan Badung Bali. Identifikasi tentang taksonomi tumbuhan dilakukan di LIPI-UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya "Eka Karya" Bali.

Bahan kimia yang digunakan adalah etanol, metanol, kloroform, etilasetat, dan *n*-heksana yang semuanya berderajat teknis dan p.a. Selain itu digunakan kalium bromida, akuades, silika gel 60, silika gel GF₂₅₄, serta pereaksi Liebermann-Burchard untuk mendeteksi steroid.

Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi : seperangkat alat gelas, neraca analitik, blender, pisau, penguap putar vakum, lampu UV, seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kolom, desikator, plat tetes, pipet tetes, spektrofotometer FTIR-8201 PC, dan kromatografi gas-spektrometer massa (GCMS).

Analisis spektrofotometri inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA UGM Yogyakarta, dan analisis GCMS dilakukan di laboratorium Forensik Mabes Polri Denpasar.

Cara Kerja

Sebanyak 1,0 kg serbuk kering daun beringin dimaserasi berulang kali dengan pelarut etanol teknis 96% (EtOH) sampai semua komponen terekstraksi. Ekstrak EtOH dipisahkan dengan penguap putar vakum sampai diperoleh ekstrak kental EtOH.

Ekstrak kental EtOH dipartisi dengan pelarut *n*-heksana beberapa kali kemudian

dipisahkan bagian ekstrak EtOH dan bagian ekstrak *n*-heksana.

Ekstrak *n*-heksana diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana dan diuji kandungan steroidnya.

Ekstrak EtOH kemudian disuspensikan ke dalam campuran etanol-air (7:3) sampai terlarut dan diuapkan etanolnya hingga yang tersisa hanya ekstrak air.

Ekstrak air ini selanjutnya dipartisi dengan kloroform berulang kali, sehingga diperoleh ekstrak kloroform dan ekstrak air. Kedua ekstrak ini diuapkan masing-masing pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental kloroform dan ekstrak kental air serta diuji kandungan steroidnya.

Ekstrak kental *n*-heksana yang paling positif steroid dilanjutkan untuk dipisahkan dengan teknik kromatografi kolom menggunakan silika gel 60 dan fase gerak kloroform-etilasetat (4:1). Tiap fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom diuji steroid. Fraksi positif steroid yang relatif belum murni dimurnikan dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif menggunakan fase gerak yang sama sampai diperoleh isolat yang relatif murni. Isolat ini selanjutnya dianalisis fisikokimia menggunakan alat spektrofotometer inframerah (IR) dan kromatografi gas spektrometri massa (GCMS)

untuk menentukan senyawa atau karakteristik isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi dari 1,0 Kg serbuk kering daun beringin (*Ficus benjamina* L.) menggunakan pelarut etanol 96% (EtOH) diperoleh 27,13 g ekstrak kental etanol berwarna hijau pekat. Ekstrak kental etanol dipartisi berulang kali dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dan setelah diuapkan pelarutnya diperoleh ekstrak kental *n*-heksana yang berwarna hijau pekat sebanyak 11,39 g dan positif (++++) steroid. Ekstrak etanol yang telah disuspensikan ke dalam etanol-air (7:3) kemudian dipartisi dengan kloroform berulang kali dan diuapkan masing-masing pelarutnya, maka diperoleh ekstrak kental kloroform yang berwarna hijau pekat sebanyak 0,7 g yang negatif steroid dan ekstrak kental air sebanyak 2,21 g yang berwarna hijau positif mengandung steroid (+).

Pemisahan ekstrak kental *n*-heksana menggunakan kromatografi kolom diperoleh 14 (empat belas) fraksi dengan pola pemisahan yang berbeda serta hasil uji kandungan steroidnya dipaparkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom, berat masing-masing fraksi dan uji kandungan steroid dari ekstrak kental *n*-heksana

Fraksi	Warna	Jumlah Noda	Berat (g)	Uji Steroid	Fraksi	Warna	Jumlah Noda	Berat (g)	Uji Steroid
F ₁	Hijau pekat	1	0,2513	+	F ₈	Coklat kuning	5	0,0123	+++
F ₂	Hijau pekat	2	0,0445	+	F ₉	Kuning Hijau	4	0,0067	++
F ₃	Hijau pekat	4	0,2850	-	F ₁₀	Kuning Hijau	3	0,0010	-
F ₄	Hijau pekat	4	0,0340	+	F ₁₁	Hijau kuning	3	0,0116	++
F ₅	Hijau pekat	4	0,0421	+	F ₁₂	Hijau kuning	2	0,0035	++
F ₆	Coklat kuning	5	0,0205	++	F ₁₃	Hijau	1	0,0221	+
F ₇	Coklat kuning	4	0,0053	+	F ₁₄	Kuning	1	0,0060	-

Keterangan : + intensitas warna lemah
 ++ intensitas warna sedang
 +++ intensitas warna kuat
 - tidak mengandung steroid

Fraksi yang paling positif mengandung senyawa steroid adalah fraksi F₈ namun terdiri

dari 5 komponen maka fraksi F₈ dilanjutkan untuk dimurnikan dengan teknik KLT preparatif.

Hasil pemurnian ini menghasilkan 6 fraksi dimana fraksi F_{8.1} yang paling positif mengandung steroid dilihat dari intensitas warna

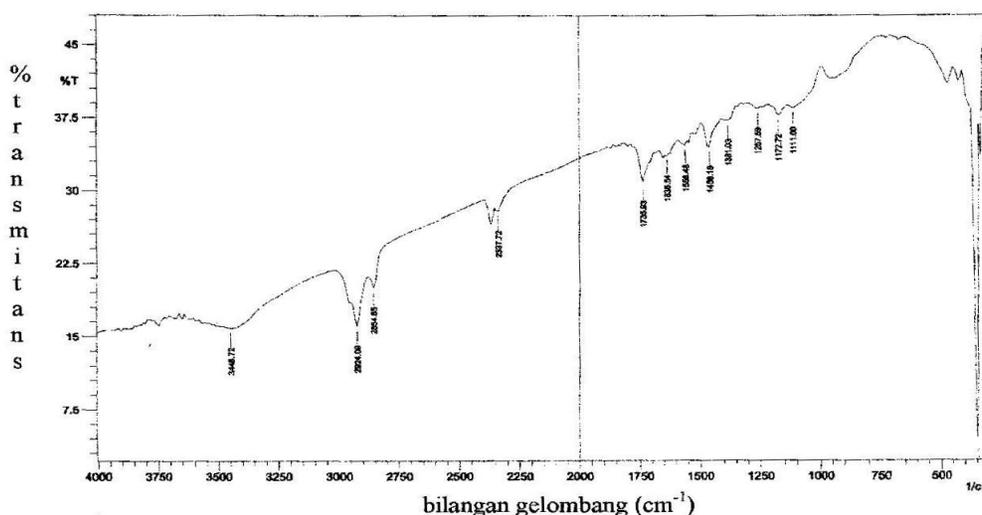
dengan pereaksi Liebermann Burchard seperti dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Fraksi hasil pemurnian fraksi F₈ menggunakan KLT preparatif, berat masing-masing fraksi dan uji kandungan steroid.

Fraksi	Warna	Rf	Berat (g)	Uji Steroid
F _{8.1}	Hijau bening	0,84	0,0019	+++
F _{8.2}	Bening	0,75	0,0016	-
F _{8.3}	Kuning Bening	0,66	0,0012	++
F _{8.4}	Kuning Bening	0,57	0,0013	-
F _{8.5}	Bening	0,49	0,0002	-
F _{8.6}	Bening	0,29	0,0010	-

Secara kromatografi lapis tipis (KLT) fraksi F_{8.1} ini relatif murni dengan tetap memberikan satu noda pada berbagai fase gerak yang digunakan seperti: kloroform-etilasetat (4:1); etanol-etilasetat (1:1), etanol-butanol (1:1),

kloroform-*n*-heksana (3:4), etilasetat-etanol (1:3), etilasetat-kloroform-*n*-heksana (3:1:1), kloroform-*n*-heksana (2:1), etilasetat-kloroform (3:1), dan etilasetat-*n*-heksana (4:1).



Gambar 1. Spektrum inframerah isolat (fraksi F_{8.1}) dengan pelet KBr

Hasil spektrum inframerah menunjukkan bahwa isolat (fraksi F_{8.1}) kemungkinan mengandung beberapa gugus fungsi seperti O-H stretching 3448,72 cm⁻¹ yang didukung dengan satu pita C-O-H stretching pada 1381,03 cm⁻¹. Dua pita serapan dari gugus C-H aldehyd muncul pada 2924,09 dan 2854,65 cm⁻¹ serta gugus karbonil aldehyd C=O pada 1735,9 cm⁻¹. Serapan pada bilangan gelombang 2337,72 cm⁻¹ menunjukkan adanya C≡N stretching yang didukung berturut-turut gugus N-H alifatik dan

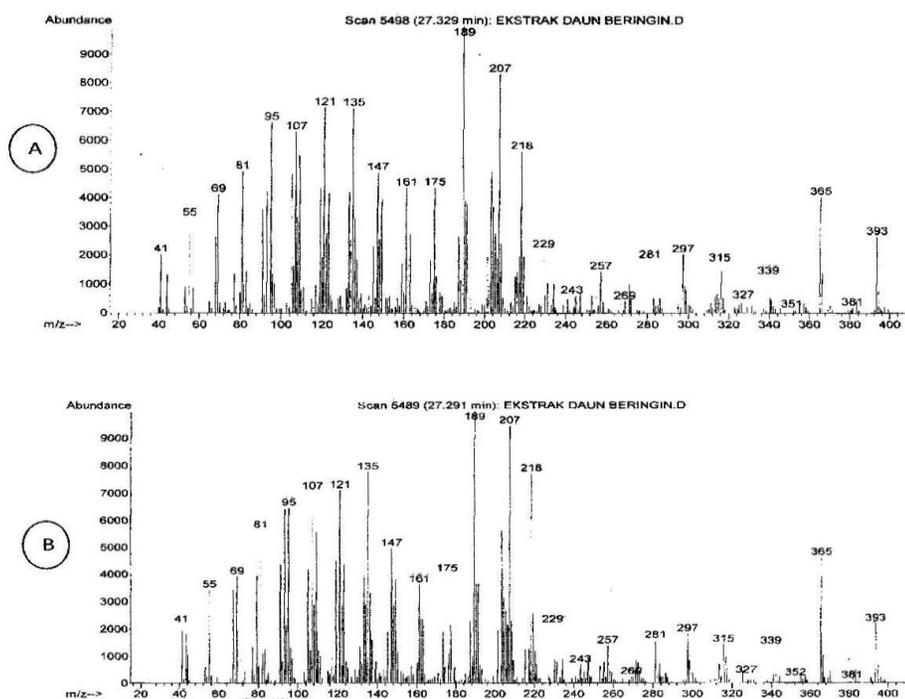
C-N alifatik pada 1172,72 dan 1111,00 cm⁻¹. Adanya atom Nitrogen pada berbagai jenis ikatan ini mencirikan suatu senyawa alkaloid. Hal ini didukung juga dari data spektrometri massa dimana Berat Molekul isolat yang ganjil yaitu 393. Berdasarkan aturan Nitrogen bahwa bila Berat Molekul suatu senyawa adalah ganjil artinya senyawa tersebut pasti mengandung atom nitrogen yang jumlahnya ganjil, yang mana adanya atom nitrogen adalah karakteristik untuk senyawa alkaloid. Gugus yang lain adalah C=C

alifatik ($1558,48\text{ cm}^{-1}$), C-H alifatik bending ($1458,18\text{ cm}^{-1}$), dan C-O-C stretching ($1257,59\text{ cm}^{-1}$) (Sastrohamidjojo, 1997; Silverstin *et al.*,

1991). Spektrum inframerah dari isolat dipaparkan pada Gambar 1.



Gambar 2. Kromatogram isolat (fraksi $F_{8.1}$) daun beringin



Gambar 3. Spektrum massa dari puncak dengan waktu retensi 27,329 menit (A); spektrum massa dari puncak dengan waktu retensi 27,291 menit (B).

Kromatogram dari isolat (fraksi $F_{8.1}$) menunjukkan dua komponen mayor yang sulit dipisahkan, dimana masing-masing puncak muncul pada waktu retensi 27,291 dan 27,329 menit (Gambar 2.). Diduga kedua puncak ini merupakan suatu senyawa yang saling

berisomer. Analisis spektrometri massa menunjukkan kedua puncak dengan waktu retensi tersebut memiliki ion molekul (M^+) yang sama pada m/z 393, ($M+1$) pada m/z 394, dan ($M+2$) pada m/z 395 seperti tampak dalam Gambar 3.

Berdasarkan intensitas kelimpahan puncak-puncak isotop diketahui persentase (M+1) sebesar 26,58% dan (M+2) sebesar 5%. Kelimpahan (M+1) sebanding dengan 24 jumlah atom C dan kelimpahan (M+2) sebanding dengan 4 atom O (Silverstin *et al.*, 1991). Adanya atom N yang jumlahnya ganjil berdasarkan BM. 393 yang ganjil, maka kemungkinan rumus molekul dari isolat adalah $C_{24}H_{27}O_4N$ dengan *Double Bond Equivalent* setara 12 yang merupakan suatu senyawa isomer steroid-alkaloid. Kerangka dasar steroid yang mungkin dengan jumlah atom C sebanyak 24 adalah kolestan (Fieser and Fieser, 1959; Harbone, 1987). Dugaan alkaloid didukung dari analisis KLT dimana isolat menunjukkan warna fluoresensi merah bila dideteksi dengan lampu UV pada λ . 366 nm. Menurut Wagner *et al.* (1984) bahwa senyawa dikatakan positif mengandung alkaloid bila analisis KLT memberikan warna fluoresensi kuning, biru, violet, atau merah.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Isolat (fraksi $F_{8.1}$) ekstrak *n*-heksana daun beringin merupakan campuran 2 senyawa yang saling berisomer yang kemungkinan merupakan golongan steroid-alkaloid dengan rumus molekul $C_{24}H_{27}O_4N$ dan *Double Bond Equivalent* setara 12, serta mempunyai gugus fungsi karakteristik yaitu -OH bebas, C-H aldehyd, $C\equiv N$ *stretching*, C=O aldehyd, N-H alifatik, C=C alifatik, C-H alifatik *bending*, C-O-H, C-O-C *stretching*, dan C-N alifatik.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi isolat dengan menggunakan analisis NMR sehingga dapat ditetapkan suatu struktur usulan dari isolat tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Drs. I Gusti

Agung Gede Bawa M.Si. dan Luh Gede Sumahiradewi, S.Si. serta kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2005, Tanaman Obat Indonesia: Beringin, IptekNet, <http://www.beringin/sentra/informasi/iptek.htm>, 16 Juli 2008
- Anonim, 2007a, Kenapa Pohon Beringin??. <http://baliguide.bl2/?p=293>, 23 Juli 2008
- Anonim, 2007b, Ficus benjamina L, http://bebas.vlsm.org/v12/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku3/3-028.pdf, 22 September 2008
- Dalimartha, S., 1999, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*, Trubus Agriwidya, Jakarta
- Fieser, L. F. and Fieser, M., 1959, *Steroid*, Reinhold Publishing Corporation, New York
- Harbone, J. B., 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, a.b Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Edisi II, ITB Bandung
- Mousa, O., Vuorela, P., Kiviranta, J., Abdel Wahab, S., Hiltuner, R., and Vuorela, H., 1994, Bioactivity of Certain Egyptian Ficus Species, *Journal of Ethnopharmacology*, 41 (1-2) : 71-76
- Rusmarini, I. A., 2003, *Pengobatan Tanaman Obat Tradisional Bali*, Edisi II, Puri Damai, Denpasar
- Sastrohamidjojo, H., 1997, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta
- Silverstin, R. M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C., 1991, *Spectrometric Identification of Organic Coumpounds*, Fifth edition, Jhon Wiley & Sons, Inc., New York
- Wagner, H., Bland, S., Zgainski, 1984, *Plant Drugs Analysis, a Thin Layer Chromatography Atlas*, Translated by Th. A. Colored Photographs, Spinger-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, p. 292

