

IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES OF ETHANOLIC EXTRACT OF SOURSOP LEAF (*Annona Muricata* L) FROM KUPANG CITY USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETER

Raymoon Jurumana¹, Jasman², Dorteia Maria Woga Nay³
Program Studi Pendidikan Kimia, FKIP Universitas Nusa Cendana, Kupang Email:
jurumanaraymon@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L) asal Kota Kupang menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun sirsak. Tahapan dari penelitian ini dilakukan melalui uji fitokimia, uji kromatografi lapis tipis, uji kromatografi lapis tipis preparatif dan identifikasi isolat menggunakan spektrofotometer Ultraviolet Visible (UV-Vis). Pengujian secara kualitatif uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen n-butanol:Asam Asetat Glisial:Air (5:2:3) menunjukkan adanya 4 spot. Analisis spektrofotometer UV-Vis menunjukkan nilai maksimum pada isolat I dengan panjang gelombang 230 nm dan nilai absorbansi 4,523 mengindikasikan adanya senyawa alkaloid jenis isoquinolin, pada isolat II dengan panjang gelombang 210 nm dan nilai absorbansi 2,463 menunjukkan adanya senyawa saponin, pada isolat III dengan panjang gelombang 280 nm dan nilai absorbansi 1,186 menunjukkan adanya senyawa flavonoid, dan pada isolat IV dengan panjang gelombang 230 nm dan nilai absorbansi 3,999 menunjukkan adanya senyawa alkaloid jenis isoquinolin. Dengan demikian senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi pada spektrofotometer UV-Vis adalah alkaloid, saponin, dan flavonoid.

Kata kunci : metabolit sekunder, ekstrak etanol, daun sirsak, spektrofotometer UV-Vis

ABSTRACT

*Research on the Identification of Secondary Metabolites of Ethanol Extract of Soursop (*Annona Muricata* Linn) Leaves from Kupang City has been carried out using a UV-Vis Spectrophotometer. This study aims to detect the presence of a class of secondary metabolites found in soursop leaves. The stages of this research were carried out through phytochemical tests, thin layer chromatography tests, preparative thin layer chromatography tests and identification of isolates using an Ultraviolet Visible (UV-Vis) spectrophotometer. Qualitative testing of phytochemical tests showed the presence of compounds belonging to the class of flavonoids, alkaloids, tannins and saponins. The results of thin layer chromatography (TLC) analysis using n-butanol:glacial acetic acid:water (5:2:3) showed that there were 4 spots. UV-Vis spectrophotometer analysis showed that the maximum value in isolate I with a wavelength of 230 nm and an absorbance value of 4.523 indicated the presence of isoquinoline alkaloid compounds, in isolate II with a wavelength of 210 nm and an absorbance value of 2.463 indicated the presence of saponin compounds, in isolate III with a wavelength 280 nm and an absorbance value of 1.186 indicated the presence of flavonoid compounds, and in isolate IV with a wavelength of 230 nm and an absorbance value of 3.999 indicated the presence of isoquinoline alkaloid compounds. Thus the secondary metabolites identified on the UV-Vis spectrophotometer are alkaloids, saponins, and flavonoids*

Keyword: secondary metabolites, ethanol extract, soursop leaves, UV-Vis spectrophotometer

PENDAHULUAN

Indonesia yang beriklim tropis merupakan negara dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia. Wilayah Indonesia luasnya sekitar 9 juta km² (2 juta km² daratan, dan 7 juta km² lautan). Luas wilayah Indonesia ini hanya sekitar 1,3% dari luas bumi, namun mempunyai tingkat keberagaman kehidupan yang sangat tinggi. Tumbuhan di Indonesia, diperkirakan memiliki 25% dari spesies tumbuhan berbunga yang ada di dunia atau merupakan urutan negara terbesar ketujuh dengan jumlah spesies mencapai 20.000 spesies, 40% merupakan tumbuhan endemik atau asli Indonesia (Abidin, *et al.*, 2020). Dari sekitar 30.000 spesies tanaman tersebut, 7.000 diantaranya memiliki khasiat sebagai obat yang sudah digunakan turun-temurun seperti rempah-rempah (lada, pala, cengkeh) dan tanaman herbal (kumis kucing, mahoni, mengkudu, saga, asam jawa, cabe jawa, tapak dara dan daun sirsak (Yulina, 2017).

Tumbuhan memiliki keanekaragaman dalam jenis dan jumlahnya, sehingga senyawa kimia yang terkandung di dalamnya juga beragam. Senyawa organik bahan alam adalah senyawa organik yang merupakan hasil proses metabolisme dalam organisme hidup. Senyawa dari jenis ini disebut juga metabolit. Pada permulaan abad ini, peneliti kimia semakin tertarik dengan senyawa organik bahan alam untuk diisolasi dan digunakan sebagai bahan untuk keperluan makhluk hidup. Senyawa organik bahan alam terdiri dari metabolit primer dan metabolit sekunder. Para ahli dalam bidang studi kimia organik berpendapat bahwa metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang terdapat dalam suatu organisme yang tidak terlibat secara langsung dalam proses pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi organisme (Atun, 2014). Manfaat senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya (Dewatisari *et al.*, 2018). Tumbuhan mengandung metabolit sekunder diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, senyawa fenol, steroid, dan terpenoid (Nuryanti & Pursitasari, 2014). Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya (Setiana *et al.*, 2011).

Daun sirsak (*Annona muricata L*) merupakan tanaman berkhasiat obat yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Daun sirsak memiliki banyak aktivitas farmakologi dalam mengatasi berbagai penyakit, salah satunya adalah antibakteri. Senyawa kimia aktif dari tumbuhan terkandung dalam akar, daun, biji, kulit batang dan buah. Senyawa kimia di dalam tanaman merupakan hasil metabolisme sekunder dari tanaman itu sendiri (Saenong, 2017). Tanaman yang digunakan dalam pengobatan herbal salah satunya adalah sirsak (*Annona muricata L*), yang termasuk dalam famili *Annonaceae*. Daun sirsak telah digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk obat sakit pinggang, mengurangi rasa nyeri, gatal-gatal, rematik, obat bisul, penurun panas dan bahkan dikatakan dapat mengobati kanker. Famili *Annonaceae* merupakan salah satu tanaman penghasil metabolit sekunder. Famili *annonaceae* memiliki keanekaragaman kimia seperti insektisida dari alkaloid benzilisokuinolin, acetogenin, senyawa-senyawa C-benzil flavonoid dan terpenoid, sifat-sifat biologi dan farmakologi seperti, antimikroba, antifungal, sitotoksik, antitumor yang dihasilkan oleh tumbuhan ini (Pimdee, 2014).

Daun sirsak (*Annona muricata L*) dikenal sebagai tanaman obat herbal yang banyak dikonsumsi masyarakat pada umumnya, daun sirsak berfungsi sebagai anti-bakteri, dan juga dapat digunakan sebagai obat untuk mengobati penyakit paru-paru, baik paru-paru basah maupun kering dikarenakan kandungan senyawa bioaktif didalamnya yakni senyawa metabolit sekunder. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya, diketahui bahwa daun sirsak mengandung senyawa metabolit sekunder golongan saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, tanin dan alkaloid (Ningsih *et al.*, 2016).

Sudah banyak peneliti yang melakukan penelitian tentang tanaman sirsak (*Annona muricata L*) baik batang, buah, maupun daun sirsak. Contohnya pemeriksaan mutu ekstrak daun sirsak mencakup parameter non spesifik dan spesifik. Sampel daun sirsak diperoleh dari tiga tempat tumbuh dengan ketinggian yang berbeda, yaitu daerah Tawangmangu, Jawa Tengah; Pasuruan, Jawa Timur; Bogor, Jawa Barat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak yang paling baik adalah ekstrak dari daerah Pasuruan dengan parameter non spesifik (kadar air 7,15%, kadar abu 3,59%, kadar aflatoksin G20,44 ppb), dan parameter spesifik (kadar annonacin sebesar 12,80) (Atun, 2019).

Berdasarkan uraian tersebut maka diketahui bahwa perbedaan tempat tumbuh mempengaruhi kualitas pada daun sirsak. Selain itu, pemanfaatan daun sirsak di daerah Kupang, Nusa Tenggara Timur (NTT) belum dilakukan secara optimal. Mengingat pentingnya fungsi senyawa yang terkandung dalam daun sirsak serta sulitnya menemukan data mengenai senyawa

yang terkandung pada daun sirsak asal daerah NTT, maka perlu dilakukan kajian lebih mendalam terkait identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun sirsak asal Kota Kupang, NTT.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan bahan daun sirsak (*Annona muricata L*) yang diambil dari Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur. Bahan lain yang digunakan yaitu etanol 95%, n-heksana, etil asetat, HCl 1%, aquades, etil asetat, n-butanol, pereaksi liebermann-burchrad, pereaksi shibata, dan pereaksi wagner. Sedangkan alat yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis, toples kaca, pengayak 60 mesh, oven, blender, neraca analitik, pengaduk kaca, kain flanel, stopwatch, *rotary vakum evaporator*, plat KLT silika gel, labu erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, tabung reaksi, pipet tetes, aluminium foil, kertas saring.

Preparasi Sampel

Sampel daun sirsak dari Kota Kupang dikeringkan dengan cara dianginkan selama 2 minggu. Daun sirsak yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender dan disaring dengan pengayak (60 mesh).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L*)

Sebanyak 500 gram serbuk daun sirsak diambil lalu diekstraksi secara maserasi terlebih dahulu dengan menggunakan pelarut n-heksana 1000 mL selama 7 hari pada suhu ruang. Diperoleh ekstrak n-heksana, kemudian disaring sehingga diperoleh ekstrak n-heksana dan ampas. Ampas yang diperoleh dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, setelah itu ampasnya diekstraksi secara maserasi dengan etanol sebanyak 1000 mL. Sampel direndam selama 7 hari pada suhu ruang. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk dipisahkan dari ampasnya. Pelarut etanol pada ekstrak diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut kemudian ditimbang. Hasilnya digunakan untuk analisis selanjutnya.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan pada ekstrak. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji terpenoid, flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan saponin. Pada uji terpenoid, ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 2 mL diuji dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard. Apabila terbentuk cincin berwarna merah kecoklatan atau ungu menunjukkan adanya terpenoid. Pada uji flavonoid, ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 2 mL diuji menggunakan pereaksi Shibata. Apabila terbentuk warna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid. Pada uji alkaloid, ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 2 mL ditambahkan HCL 2% dan diuji dengan menggunakan pereaksi Wagner. Apabila terbentuk endapan coklat pada pereaksi Wagner menunjukkan adanya alkaloid. Pada uji steroid, ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 2 mL diuji dengan menggunakan pereaksi liebermann-burchard. Adanya warna hijau-biru menunjukkan adanya steroid. Pada uji tanin, ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 2 mL ditambahkan dengan larutan FeCl₃ 1% 1-2 tetes. Adanya warna hitam menunjukkan adanya tanin. Pada uji saponin, ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 2 mL ditambahkan dengan beberapa tetes aquades (1:1) kemudian dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa yang stabil dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

Pemisahan Komponen Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Tahap pertama yang dilakukan yaitu disiapkan chamber kromatografi ukuran kecil, ke dalamnya dimasukkan pelarut (eluen) etanol:etil asetat dengan perbandingan (3:1), chamber ditutup dan dibiarkan sampai jenuh dengan eluen. Pada pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan plat silika gel GF254 yang sudah diaktivasi dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Masing-masing plat dibuat ukuran 8x2 cm. Plat diberi tanda berupa garis sepanjang plat pada batas bawah (2 cm dari tepi bawah plat) dan batas atas (1,5 cm dari tepi atas plat) menggunakan pensil dan mistar. Dengan menggunakan mikropipet, ditetaskan ekstrak etanol daun Sirsak pada garis batas bawah yang telah dibuat. Diusahakan diameter yang ditetaskan sekecil mungkin kemudian dikeringkan di udara terbuka. Plat dimasukkan ke dalam chamber kromatografi yang telah terisi pelarut dalam posisi berdiri dan diusahakan agar tolotan sampel tidak terendam dalam pelarut. Dibiarkan hingga pelarut bergerak mencapai garis batas atas plat, kemudian plat dikeluarkan dari chamber dan dikeringkan pada suhu kamar. Plat diamati di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Warna noda (spot) yang terbentuk dicatat, kemudian diukur jarak yang ditempuh masing-masing spot. Langkah-langkah diatas diulang menggunakan perbandingan eluen yang berbeda Etanol : Etil Asetat (3:1), Perlakuan yang sama juga untuk fraksi air : Ekstrak etanol daun sirsak (*annona muricata linn*) menggunakan eluen BAA (n-butanol : Asam Asetat Glisial

: Air) dengan perbandingan (5:2:3), dan (6:1:2). Eluen terbaik adalah eluen yang dapat memisahkan banyak komponen serta memiliki nilai Rf yang agak berjauhan. Semua hasil KLT dihitung nilai Rf-nya, dilihat kolom kromatogram dan warna yang tampak pada spot. Bercak noda masing-masing dihitung nilai Rf-nya. Eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik digunakan untuk KLT preparatif.

Pemisahan Komponen Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Pada pemisahan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) digunakan plat silika gel GF254 dengan ukuran 20 x 20 cm. Plat yang digunakan sebelumnya harus diaktivasi dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Plat yang telah diaktivasi dibuat garis batas elusi menggunakan pensil dengan jarak batas atas 1.5 cm dan batas bawah 2 cm. Ekstrak etanol daun sirsak ditotolkan sepanjang plat dengan jarak 2 cm dari tepi bawah plat. Selanjutnya dielusi dengan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT analitik dan dibiarkan hingga pelarut bergerak mencapai garis batas atas plat. Plat dikeluarkan dan dikeringkan pada suhu kamar. Selanjutnya plat diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya. Warna noda (spot) yang terbentuk dicatat, kemudian diukur jarak yang ditempuh masing-masing spot. Perlakuan yang sama juga untuk fraksi air : n-heksana daun sirsak menggunakan eluen BAA (n-Butanol : Asam Asetat Glasial : Air) dengan pemisahan terbaik. Noda yang diperoleh kemudian dikerok untuk masing-masing komponen, hasil kerokan kemudian dilarutkan dalam pelarut etanol, lalu disaring dan diuapkan sehingga diperoleh isolat. Isolat yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Identifikasi senyawa dilakukan dengan menganalisis ciri spektra hasil spektrofotometri UV-Vis. Isolat relatif murni dianalisis dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Data yang diperoleh berupa spektra diinterpretasi untuk memperoleh data spektra senyawa yang digunakan untuk menentukan karakter dari senyawa yang terdapat dalam isolat.

HASIL

Preparasi sampel

Tahap awal dari penelitian ini adalah menyiapkan sampel penelitian yaitu daun dari tanaman sirsak. Daun sirsak yang dijadikan objek penelitian adalah daun sirsak dalam kondisi segar, berasal dari daerah Kota Kupang Nusa Tenggara Timur. Daun yang telah terkumpul dibersihkan untuk menghilangkan debu dan pengotor yang melekat pada daun sirsak. Pembersihan dilakukan dengan mencuci daun sirsak menggunakan air. Sampel daun sirsak yang telah bersih kemudian dipotong menjadi bagian yang kecil agar mempermudah dalam proses pengeringan dan penghalusannya. Sampel daun sirsak setelah dipotong kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan di udara terbuka di atas tampah, tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung untuk mencegah terjadinya degradasi pada sampel. Sampel dikeringkan pada suhu kamar untuk mengurangi kadar air sehingga mengurangi resiko aktivitas tumbuhnya mikroba/jamur yang dapat merusak sampel dan menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menguraikan zat aktif pada sampel sehingga diperoleh sampel kering yang tidak mudah rusak serta dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan sampel daun sirsak dilakukan selama 20 hari.

Selama proses pengeringan terjadi perubahan warna, bentuk serta berat pada sampel daun sirsak. Sampel segar daun sirsak mula-mula berwarna hijau segar, setelah dikeringkan mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan. Hal ini terkait dengan terjadinya degradasi klorofil yang berwarna hijau menjadi *feofitin* yang berwarna coklat selama proses pengeringan sampel, dimana salah satu sifat terpenting klorofil adalah kelebihanannya yang sangat sensitif terhadap cahaya, panas, oksigen dan degradasi kimia (Gross, 1991). Bentuk serta berat sampel daun sirsak yang telah kering menjadi berkerut, kering, mudah diremah dan menjadi lebih ringan dibandingkan dengan bentuk serta berat sampel daun sirsak segar dikarenakan daun sirsak kehilangan beberapa persen kandungan airnya selama proses pengeringan.

Setelah 20 hari pengeringan, sampel daun sirsak kering dihaluskan menggunakan blender untuk mendapatkan serbuk daun sirsak. Penghalusan sampel ini perlu dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel daun sirsak menjadi serbuk, sehingga menghasilkan luas permukaan sampel yang besar. Semakin besar luas permukaan sampel maka kontakannya dengan larutan pengekstrak pada saat proses ekstraksi menjadi semakin banyak, mengakibatkan komponen metabolit sekunder di dalam sampel serbuk daun sirsak akan lebih mudah tertarik pada larutan pengekstrak, sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung optimal. Serbuk daun sirsak yang diperoleh dari hasil penghalusan kemudian diayak menggunakan ayakan elektrik 60 mesh untuk mendapatkan ukuran serbuk yang

seragam. Serbuk daun sirsak yang diperoleh sebanyak 500 gram lalu disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup guna menjaga mutu dari serbuk daun sirsak tersebut. Serbuk inilah yang akan digunakan sebagai sampel penelitian.



Gambar 1. Serbuk Daun Sirsak

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L*)

Dalam penelitian ini, metode yang digunakan adalah metode ekstraksi maserasi. Tahap awal penelitian ini, sampel dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana dan tahap kedua menggunakan pelarut etanol. Pada tahap pertama sampel serbuk daun sirsak direndam menggunakan pelarut n-heksana selama 7 hari. Setelah mencapai waktu 7 hari, proses ekstraksi maserasi dihentikan dan dilakukan penyaringan sampel untuk memisahkan ampas dari ekstrak n-heksana daun sirsak. Dari hasil penyaringan diperoleh ampas hasil penyaringan sebanyak 330,31 gram dan filtrat hasil maserasi yang berwarna kecoklatan. Proses ekstraksi maserasi dilanjutkan pada tahap kedua, ampas hasil penyaringan ekstrak n-heksana dimaserasi menggunakan pelarut etanol selama 7 hari. Hasil penyaringan diperoleh ampas hasil penyaringan sebanyak 320,10 gram dan filtrat hasil maserasi berwarna hijau pekat. Filtrat hasil ekstraksi maserasi yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*. *Rotary Vacuum Evaporator* berfungsi mengubah sebagian atau keseluruhan pelarut dalam suatu larutan dari bentuk cair menjadi uap menggunakan prinsip kerja dari evaporasi itu sendiri. Proses evaporasi bertujuan untuk menghilangkan pelarut yang digunakan selama proses maserasi serta mendapatkan larutan ekstrak etanol pekat yang konsentrasinya lebih tinggi. Proses evaporasi dilakukan pada temperatur rentan 40-45°C dengan tujuan untuk menghindari rusaknya senyawa aktif yang terkandung dalam sampel. Prinsip utama dari instrumen *rotary vacuum evaporator* ini terletak pada penurunan tekanan pada labu alas bulat dan pemutar labu alas bulat yang bertujuan agar pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya. Dalam prosesnya, labu alas bulat dipanaskan pada temperatur 40-45°C diatas *waterbath* dan diputar, sehingga terjadi pemanasan yang merata. Adanya tekanan yang diberikan oleh pompa vakum membuat tekanan uap pada labu alas bulat mengalami pengurangan sehingga pelarut etanol menguap lebih cepat dibawah titik didihnya yaitu di bawah 64.7°C, kemudian terkondensasi dan jatuh pada labu penampung. Proses penguapan dihentikan setelah diperoleh ekstrak etanol pekat yang ditandai dengan sudah tidak ada pelarut etanol yang menetes pada labu penampung. Ekstrak etanol pekat daun sirsak yang dihasilkan berwarna hijau pekat sebanyak 25,10 gram. Hasil ekstrak kental inilah yang digunakan pada uji fitokimia, KLT, KLTP dan serta uji pada Spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 1. Data Hasil Ekstraksi Pembuatan Ekstrak etanol Daun Sirsak dengan Metode Maserasi

No	Berat Sampel (gram)	Larutan Pengekstrak	Volume Pelarut (mL)	Warna Ekstrak	Volume Ekstrak Kasar (mL)	Berat Ekstrak Setelah Evaporasi (gram)
1	330,31	n-Heksana	1000	Kuning kecoklatan	899	-
2	320,10	Etanol	1000	Hijau Pekat	850	25,10



Gambar 2. Hasil Evaporasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder dalam sampel. Uji fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol daun sirsak menggunakan pereaksi warna, meliputi uji terpenoid, flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan saponin.

Tabel 2. Data Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirsak

No	Senyawa Metabolit Sekunder yang Diuji	Pereaksi yang Digunakan	Perubahan pada Tinjauan Pustaka	Perubahan yang Diamati	Ket.
1	Terpenoid	Liebermann-Burchard	Cincin berwarna merah kecoklatan atau ungu	Tidak terbentuk cincin berwarna merah atau ungu	-
2	Flavonoid	Shibata	Perubahan warna menjadi merah atau jingga	Berwarna merah/jingga	+
3	Alkaloid	Wagner	Adanya endapan coklat	Terbentuk endapan coklat	+
4	Steroid	Liebermann-Burchard	Perubahan warna menjadi hijau-biru	Tidak berwarna hijau/biru	-
5	Tannin	FeCl ₃ 1%	Perubahan warna menjadi warna hitam	Berwarna hitam	+
6	Saponin	Aquades	Busa yg stabil	Adanya busa yang stabil	+

Keterangan : + = Teridentifikasi senyawa

- = Tidak teridentifikasi senyawa

Uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirsak yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Hasil uji menunjukkan adanya perubahan, baik warna maupun melalui pembentukan busa yang stabil melalui uji menggunakan masing-masing pereaksi.

Pemisahan Komponen Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

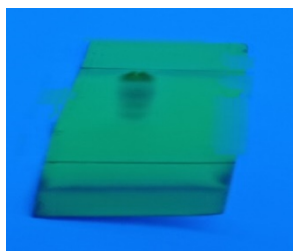
Identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirsak dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dalam penelitian ini dilakukan untuk menegaskan secara pasti hasil yang diperoleh dari uji fitokimia. Karena berfungsi sebagai penegas, maka uji KLT hanya dilakukan untuk golongan-golongan senyawa yang menunjukkan hasil positif pada uji fitokimia (flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin). Hal penting yang harus diperhatikan dalam pelaksanaan pemisahan dan pemurnian dengan kromatografi adalah pemilihan fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Pada prinsipnya, analit (senyawa yang akan dianalisis) harus lebih larut (terikat) dalam fase diam daripada fase gerak.

Tabel 3. Data Hasil Pemisahan Komponen Senyawa dengan KLT.

No	Nama	Analisis			Nilai Rf
		Jumlah Spot	Bentuk Spot	Warna Spot	

1	BAA (n-Butanol:asam asetat glasial:air) perbandingan (5:2:3) dan(6:1:3)	4	Bulat Utuh	Ungu	0,44
					0,55
		3	Bulat Utuh	Ungu	0,73
					0,88
2	Etanol:Etil asetat	3	Bulat Utuh	Ungu	0,46
					0,66
					0,88
					0,48
			0,60		

Hasil pemisahan secara kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa masing-masing eluen mampu memisahkan senyawa dalam ekstrak etanol daun sirsak. Hal ini dibuktikan dengan adanya noda pada setiap plat yang dielusi. Dari proses elusi, untuk eluen perbandingan pertama menghasilkan 1 noda berbentuk bulat utuh, berwarna ungu

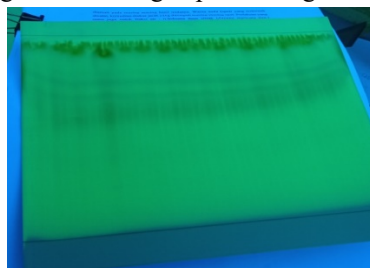


Gambar 3. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Dilihat Pada Lampu UV

Dari ketiga perbandingan eluen yang telah digunakan dilihat perbandingan eluen yang memberikan pemisahan terbaik. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda yang satu dengan yang lainnya terlihat jelas serta memiliki nilai R_f yang tidak terlalu besar (Harbone, 1987). Berdasarkan tabel 5.3, eluen yang memberikan pemisahan terbaik adalah eluen n-butanol:asam asetat glasial:air dengan perbandingan 5:2:3 yang ditunjukkan dengan terbentuknya 4 noda berwarna ungu. Eluen n-butanol:asam asetat glasial:air dengan perbandingan 5:2:3 dipilih sebagai eluen terbaik untuk digunakan pada tahap KLT preparatif.

Pemisahan Komponen Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Eluen terbaik hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) diaplikasikan pada kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Tujuan dilakukan pengaplikasian KLTP yaitu untuk mendapatkan isolat dalam jumlah yang lebih banyak. Hasil pemisahan kromatografi lapis tipis preparatif hampir sama dengan KLT analitik namun berbeda pada kuantitas dari ekstrak yang digunakan dan Plat KLT yang digunakan pada aplikasi KLTP adalah plat KLT berukuran 20 x 20 cm. Ekstrak etanol daun sirsak ditotolkan sepanjang garis batas bawah plat (2 cm dari tepi bawah plat), kemudian plat yang telah ditotolkan dikeringkan sebelum diletakkan dalam chamber yang berisi eluen yang telah dijenuhkan. Selanjutnya plat dielusi dengan eluen terbaik hasil KLT analitik yaitu n-butanol:asam asetat glasial:air dengan perbandingan 50:20:30.



Gambar 4. Hasil Pengamatan Spot Dibawah Lampu UV 366 nm

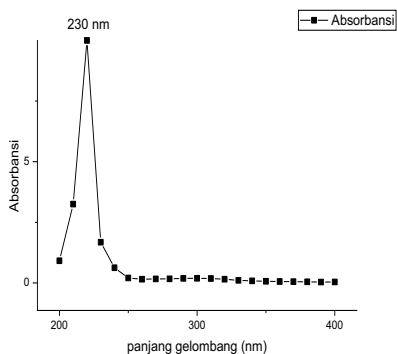
Tabel 4. Data Hasil Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Nama Eluen	Lampu UV 366 nm			
	Jumlah Spot	Warna Spot	Bentuk Spot	R_f
	4	Ungu	Pita	0,57

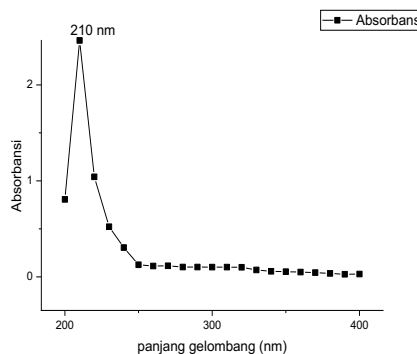
n-butanol:	Ungu	Pita	0,65
asam asetat:	Ungu	Pita	0,80
glasial air (50:20:30)	Bercak Hijau	Pita	0,96

Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

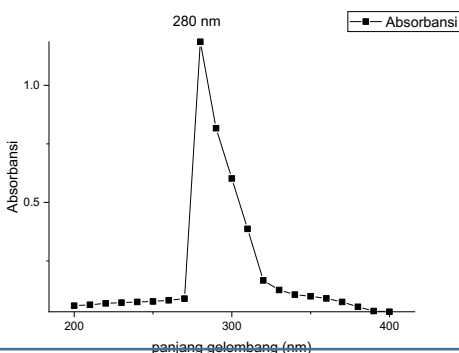
Spektrometer UV-Vis adalah teknik analisis spektroskopi yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik dan sinar tampak. Instrumen ini digunakan untuk memperkuat dugaan hasil uji fitokimia, menentukan secara deskriptif senyawa yang diperoleh dari pemisahan menggunakan KLTP. Tujuan utama analisis ini yaitu untuk menentukan secara pasti senyawa yang terkandung pada isolat hasil isolasi KLTP. Analisis UV-Vis ini diukur pada panjang gelombang 200-400 nm.



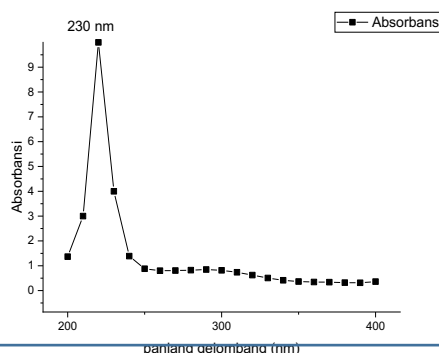
Gambar 5. Spektra UV-Vis dari Isolat I



Gambar 6. Spektra UV-Vis dari Isolat II



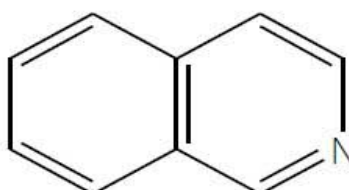
Gambar 7. Spektra UV-Vis dari Isolat III



Gambar 8. Spektra UV-Vis dari Isolat IV

Berdasarkan data hasil spektra UV-Vis diatas, spektrum UV-Vis dari isolat ekstrak etanol daun sirsak memberikan 4 pita serapan pada daerah Ultraviolet dan daerah Visibel, dimana pada isolat I panjang gelombang 230 nm dengan nilai absorbansi 4,523, pada isolat II panjang gelombang 210 nm dengan nilai absorbansi 2,463, pada isolat III panjang gelombang 280 nm dengan nilai absorbansi 1,186, dan pada IV panjang gelombang 230 nm dengan nilai absorbansi 3,999.

Pita serapan yang dihasilkan dari isolat I-IV kemudian dibandingkan dengan spektrumnya. Pada isolat I panjang gelombang 230 nm dengan nilai absorbansi 4,523 dan isolat IV panjang gelombang 230 nm dengan nilai absorbansi 3,999 mengandung senyawa alkaloid, dimana panjang gelombang maksimum senyawa alkaloid pada rentangan 200-230 nm (Harborne,1996). Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian sejenis oleh Anisa 2022) yang menyatakan bahwa pada panjang gelombang 230 nm menunjukkan adanya senyawa alkaloid turunan isoquinolin.



Gambar 9. Alkaloid Jenis Isoquinolin

Pada isolat II panjang gelombang 210 nm dengan nilai absorbansi 2,463 mengandung senyawa saponin, dimana panjang gelombang maksimum senyawa saponin pada rentangan 200-210 nm (Agung, 2013). Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian sejenis yang dilakukan Wilda (2017), bahwa kandungan saponin diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 209 nm. Pada isolat III panjang gelombang 280 nm dengan nilai absorbansi 1,186 mengandung senyawa flavonoid, dimana panjang gelombang maksimum senyawa flavonoid pada rentangan 270-280 nm (Aharudin *et al.*, 2020). Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian sejenis yang dilakukan Yohanes (2017), bahwa kandungan flavonoid diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 250-280 nm.

SIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun sirsak asal kota Kupang, NTT yang teridentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada isolat I yaitu senyawa alkaloid jenis isoquinolin, pada isolat II yaitu senyawa saponin, pada isolat III yaitu senyawa flavonoid, dan pada isolat IV yaitu senyawa alkaloid jenis isoquinolin.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Abidin, Z., Purnomo, & Pradhana, C. (2020). Keanekaragaman Sebagai Komunitas (1st ed.). Fakultas Pertanian Universitas KH. A. Wahab Hasbullah
- [2] Agung, 2013. "Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon " <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/viewFile/914/727>
- [3] Aharudin, Mustapa, K., & Jura, M. R. (2020). Analysis of Flavonoid Levels in Extract of Gambas Fruit (*Luffa acutangula L*) Originating from the Village of Posona District Parigi. *Jurnal Akademika Kimia*, 102-106.
- [4] Anisa, S. (2022). Isolation and Identification of Secondary Metabolic Compounds from Mangrove (*Rhizophora mucronata*) and their Bioactivity Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria
- [5] Atun, S. (2014). Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam putri kartika. *Jurnal KOnservasi Cagar Budaya*, 8(2), 53–61.
- [6] Dewatisari, W. F., Rumiyantri, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17 (3) (January), 197202 .<http://www.jurnal.polinela.ac.id/JPPT>
- [7] Harborne, J.B. (1996). Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan : Institut Teknologi Bandung.
- [8] Nuryanti, S., & Pursitasari, D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *Jurnal Akademik Kimia*, 3(August), 165–172.
- [9] Pimdee. (2014). Identifikasi Dan Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Dari Daun Tanaman Sirsak (*Annona muricata L*). 345–362.
- [10] Saenong, M. S. (2017). Tumbuhan Indonesia Potensial sebagai Insektisida Nabati untuk Mengendalikan Hama Kumbang Bubuk Jagung (*Sitophilus spp.*). *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), 131. <https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016.p131-142>
- [11] Wilda, A. (2017). Uji Kandungan Saponin Pada Daun, Tangkai Daun Dan Biji Tanaman Turi (*Sesbania Grandiflora*)
- [12] Yohanes, A. K. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*pluchea indica L*) Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 47

- [13] Yulina, I. K. (2017). Back to Nature: Kemajuan atau Kemunduran. *Mangifera Edu*, 2(1), 20–31. <https://doi.org/10.31943/mangiferaedu.v2i1.15>