

IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK *n*-HEKSANA DAUN BERWARNA MERAH DARI *Syzygium myrtifolium* Walp.

IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS *n*-HEXANE EXTRACT FROM RED LEAF OF *Syzygium myrtifolium* Walp.

Tri Novianti^{1*}, Chairul Saleh², Erwin²

¹Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Mulawarman

²Jurusan Kimia FMIPA Universitas Mulawarman

Jl. Barong Tongkok No. 4 Kampus Gn. Kelua Samarinda 75123

*Corresponding Author: trinovianti13@yahoo.com

Submit : 14 Februari 2018 Accepted : 10 Mei 2019

ABSTRACT

Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) is one of the plants belonging to the genus *Syzygium* family *Myrtaceae*. This study has been carried out to isolate and identify secondary metabolite from red leaf of *Syzygium myrtifolium* Walp. This research was conducted by extracting *Syzygium myrtifolium* Walp. leaf with Etanol followed by partition using *n*-Hexane, *n*-Hexane extract was separated by Coloum Chromatography with system isokratik. The separation of produce a compounds isolated as white powder. The result of GC-MS analysis was suggested 3 major compounds that 1-Octadecene; bis (2-ethylhexyl) hexanedioic; and bis (2-ethylhexyl) phthalate with a molecules weight in a row 252; 370 and 390.

Keywords : GC-MS, Secondary Metabolite, *Syzygium myrtifolium* Walp.

PENDAHULUAN

Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) merupakan spesies dari famili *Myrtaceae*. *Syzygium Myrtifolium* Walp. merupakan tanaman semak cemara golongan angiospermae, memiliki biji dikotil dan tanaman tropis atau subtropis, dengan ketinggian berkisar antara 2 sampai 20 m. Tanaman ini memiliki dua warna daun yaitu merah dan hijau dengan permukaan daunnya halus dan mengkilap [1]. Tanaman ini memiliki beberapa nama lokal yaitu Pokok Kelat Paya (Malaysia), Ubah Laut (Malaysia Timur), *Chinese Red-Wood* (*Chinese*), *Wild Cinnamon*, *Red-lip*, *Australian Brush Cherry* dan *Kelat Oil* [2].

Telah diisolasi senyawa asam betulinat [3] dan *Dimethyl cardamonin* (DMC) [4] pada daun hijau *Syzygium myrtifolium* Walp. Serta telah diketahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun merah *Syzygium myrtifolium* Walp. adalah golongan alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenolik dan flavonoid. Serta bersifat sitotoksik dan memiliki aktivitas antibakteri [5].

Diperlukan investigasi lanjut mengenai kandungan senyawa yang terdapat pada bagian daun berwarna merah tanaman *Syzygium*

myrtifolium Walp. Sehingga dilakukan penelitian identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak *n*-Heksana pada daun berwarna merah tanaman *Syzygium myrtifolium* Walp. menggunakan GC-MS.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah botol kaca gelap 2500 mL, neraca analitik, corong pisah, alat kromatografi kolom, botol vial, plat kromatografi lapis tipis (KLT), KLT preparatif, desikator, *rotary evaporator*, *chamber* KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm, botol semprot titik dan alat-alat gelas. Untuk keperluan identifikasi diperlukan *Gas Chromatography – Massa Spektrosphotometry* (GC – MS).

Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian adalah daun berwarna merah dari tanaman *Syzygium myrtifolium* Walp., Etanol, *n*-Heksana, Etil asetat, Aseton, H₂SO₄ pekat, Ce(SO₄)₂, Asam asetat glasial, pereaksi Dragendorff, FeCl₃ 1%, HCl pekat, serbuk Mg, silika Gel 60 (50-100 Mesh), dan plat KLT silika gel GF₂₅₄.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel kering daun merah *Syzygium myrtifolium* Walp. yang telah dihaluskan sebanyak 1100 gram dimaserasi dengan etanol 96%. Ekstrak disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak total. Ekstrak total difraksinasi dengan etanol dan *n*-Heksana (1:1) secara berulang sehingga diperoleh fraksi *n*-Heksana yang jernih. kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak *n*-Heksana.

Uji Fitokimia

Uji alkaloid dilakukan dengan pereaksi Dragendorff, uji triterpenoid dan steroid dengan pereaksi Liebermann- Burchard, uji saponin dilakukan dengan mengocok sampel dalam aquadest, uji fenolik dengan pereaksi FeCl_3 1% dan uji flavonoid dengan metode Wilstater.

Pemisahan dan Pemurnian

Proses pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom, yang sebelumnya dilakukan penentuan komposisi pelarut yang akan digunakan pada saat pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Proses kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak *n*-Heksana dilakukan dengan fase gerak berupa campuran *n*-Heksana dan etil asetat dengan berbagai perbandingan dan fase diam berupa plat silika gel GF₂₅₄ dengan pereaksi penampak $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. Komposisi pelarut yang menghasilkan pemisahan KLT terbaik kemudian digunakan sebagai fase gerak dalam kromatografi kolom.

Pada pemisahan dengan kromatografi kolom, silika gel yang disuspensikan terlebih dahulu dengan eluen yang telah ditentukan dan dimasukkan ke dalam kolom yang dasarnya telah disumbat kapas. Ekstrak dilarutkan dengan sedikit pelarut. Kemudian dimasukkan ke dalam kolom, dan dielusi dengan menggunakan metode isokratik.

Hasil dari kromatografi kolom yang diperoleh ditampung dalam vial masing-masing 10 mL setiap fraksi. Selanjutnya dilakukan analisis kromatografi lapis tipis dengan eluen yang sama dan diamati di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm untuk melihat noda dengan R_f yang sama. Fraksi-fraksi dengan noda yang sama

pada KLT digabungkan dan diuapkan pelarutnya. Kemudian fraksi yang diperoleh diuji fitokimia.

Isolat dari ekstrak *n*-heksana hasil kromatografi kolom diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan beberapa macam eluen.

Identifikasi Senyawa Metabolit

Senyawa metabolit sekunder hasil isolasi yang diperoleh diidentifikasi menggunakan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun berwarna merah *Syzygium myrtifolium* Walp. yang segar diambil, dicuci bersih dan dikeringanginkan untuk mengurangi kadar air pada sampel. Pengerangan dilakukan pada suhu kamar untuk menghindari penguraian senyawa termolabil serta meminimalkan terjadinya reaksi kimia akibat paparan radiasi ultraviolet dari sinar matahari langsung. Kondisi kering sangat penting untuk mencegah fermentasi mikroba, reaksi enzimatik dan degradasi metabolit yang terkandung di dalam sampel [5].

Sampel yang digunakan tersebut terlebih dahulu dihaluskan. Kemudian 1100 gram sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 96 %. Hasil dari maserasi disaring dan filtratnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak total etanol sebanyak 144 gram. Evaporasi dilakukan pada suhu 35°-40°C untuk menghindari kerusakan senyawa metabolit sekunder karena beberapa senyawa metabolit sekunder mudah rusak pada suhu tinggi [6].

Ekstrak total etanol difraksinasi dengan *n*-Heksana dengan tujuan agar seluruh senyawa metabolit sekunder yang bersifat nonpolar akan terlarut dalam pelarut *n*-Heksana. Fraksi *n*-Heksana yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Dimana ekstrak total etanol dan *n*-Heksana yang diperoleh dari masing-masing sampel tersebut akan diuji fitokimia. Hasil fitokimia ditunjukkan pada Tabel 1.

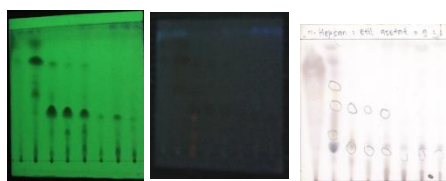
Pemisahan dan pemurnian senyawa metabolit sekunder pada ekstrak *n*-Heksana dilakukan dengan teknik kromatografi kolom secara isokratik. Eluen yang digunakan antara lain; *n*-Heksana dan Etil asetat dengan variasi perbandingan tertentu. Dari hasil uji KLT, eluen *n*-Heksana:Etil asetat (9:1) memberikan pola pemisahan terbaik sehingga digunakan dalam kromatografi kolom, karena mampu memisahkan 6 buah noda yang terkandung pada fraksi *n*-Heksana dengan jarak pemisahan cukup jauh.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia dari Ekstrak Total Etanol dan *n*-Heksana

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak	
	Ekstrak Total Etanol	Ekstrak <i>n</i> -Heksana
Alkaloid	+	+
Saponin	+	-
Steroid	+	+
Triterpenoid	+	+
Flavonoid	+	-
Fenolik	+	-

Ket: (+) = mengandung metabolit sekunder
 (-) = tidak mengandung metabolit sekunder

Setelah tahap kromatografi kolom, fraksi yang didapat dilakukan KLT menggunakan eluen *n*-Heksana : Etil-asetat (9:1) dan diamati di bawah lampu UV 254 dan 366 nm. Serta disemprot menggunakan pereaksi penampak Serium sulfat 2% dalam asam sulfat 2N. Hasil monitoring ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Pola Noda KLT dari Penggabungan Fraksi

Hasil kromatografi kolom didapatkan 8 fraksi gabungan. Masing-masing fraksi dilakukan uji fitokimia. Hasil fitokimia dari masing-masing fraksi gabungan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Fitokimia Fraksi Gabungan

Metabolit sekunder	Fraksi Gabungan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Alkaloid	-	+	+	-	-	-	-	-
Fenolik	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoid	-	-	-	-	-	-	-	-
Steroid	-	+	+	-	-	-	-	-
Triterpenoid	-	+	+	+	+	+	+	+

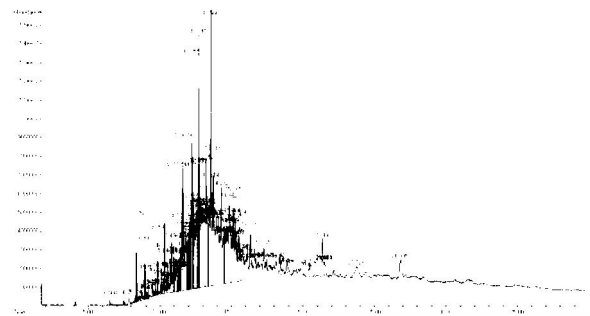
Ket: (+) = mengandung metabolit sekunder
 (-) = tidak mengandung metabolit sekunder

Fraksi 8 menunjukkan tiga noda yang memiliki jarak noda yang cukup jauh. Kemudian

dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi preparatif pada fraksi 8, dikarenakan berat fraksi yang didapat sangat sedikit. Hasil dari kromatografi preparatif diperoleh 3 isolat, isolat noda ke-1 memiliki berat 2.3 mg, nilai Rf 0,875 dan berbentuk serbuk berwarna putih. Kemudian noda tersebut akan dilanjutkan dengan identifikasi senyawa menggunakan GC-MS.

Identifikasi Senyawa

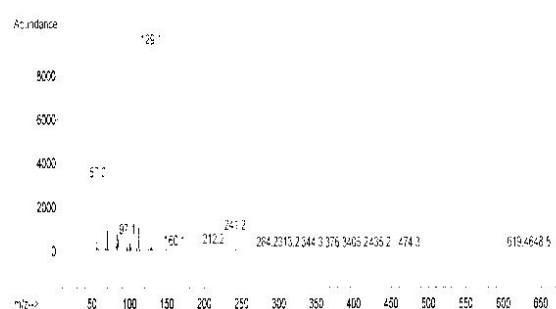
Isolat fraksi 8 noda ke-1 selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektrofotometri GC-MS (gambar 2).



Gambar 2. Hasil Kromatogram Isolat

Terdapat 3 senyawa yang dominan yaitu bis (2-etil heksil) heksanadioat; 1-oktadekena; dan bis (2-etil heksil) ftalat berdasarkan besar persentase area dan kemiripan dengan *database Willey09th.L.*

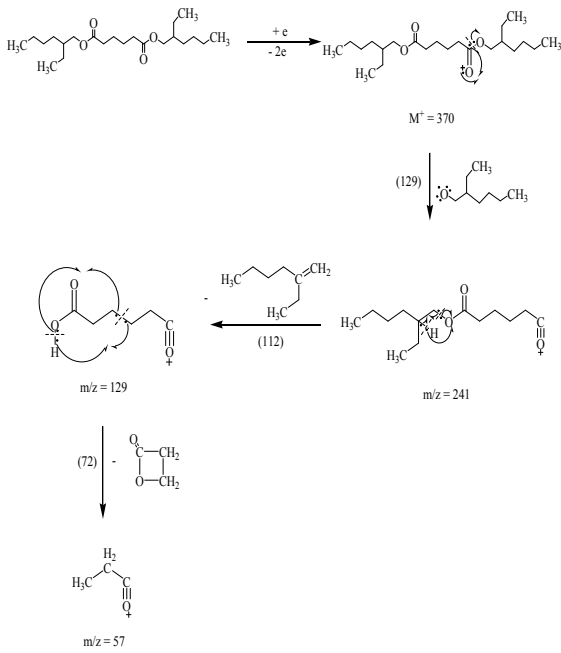
Berikut adalah spektrum massa senyawa bis (2-etilheksil) heksanadioat yang memiliki waktu retensi (R. Time) sebesar 12.743 min.



Gambar 3. Hasil Kromatogram Fragmentasi Senyawa dengan Waktu Retensi 12.743

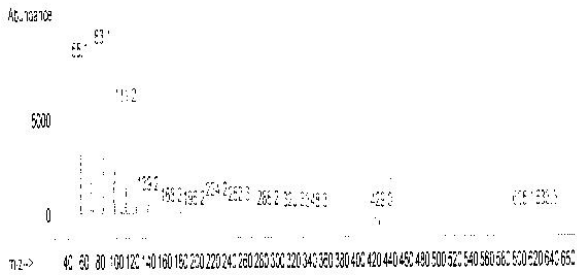
Senyawa bis (2-etil heksil) heksanadioat memiliki berat molekul 370 dengan rumus molekul $C_{22}H_{42}O_4$. Spektrum massa diatas memiliki kemiripan 95% terhadap *database Willey09th.L.* dan memiliki M^+ 370.

Fragmentasi senyawa bis (2-etil heksil) heksanadioat adalah sebagai berikut :



Gambar 4. Fragmentasi Senyawa Bis (2-etil heksil) heksanadioat

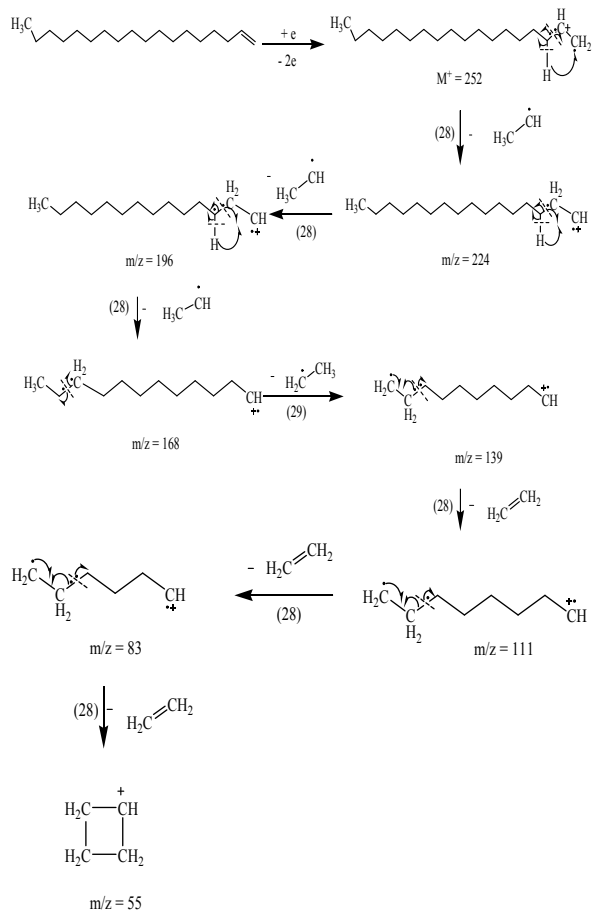
Berikut adalah spektrum massa senyawa 1-oktadekena yang memiliki waktu retensi (R. Time) sebesar 11.628 min. Dengan hasil fragmentasi senyawa yang dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil Kromatogram Fragmentasi Senyawa dengan Waktu Retensi 11.628

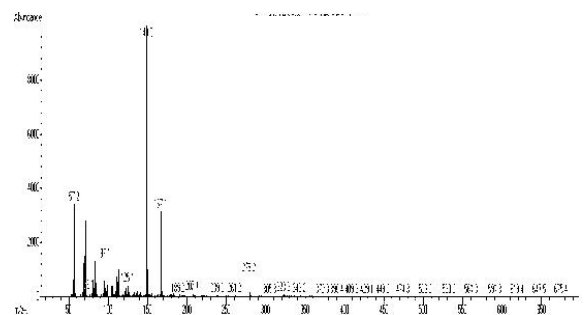
Senyawa 1-oktadekena memiliki berat molekul 252 dengan rumus molekul $C_{18}H_{36}$. Spektrum massa diatas memiliki kemiripan 99% terhadap *database Willey09th.L.* dan memiliki M^+ 252.

Fragmentasi senyawa 1-oktadekena adalah sebagai berikut :



Gambar 6. Fragmentasi Senyawa 1-oktadekena

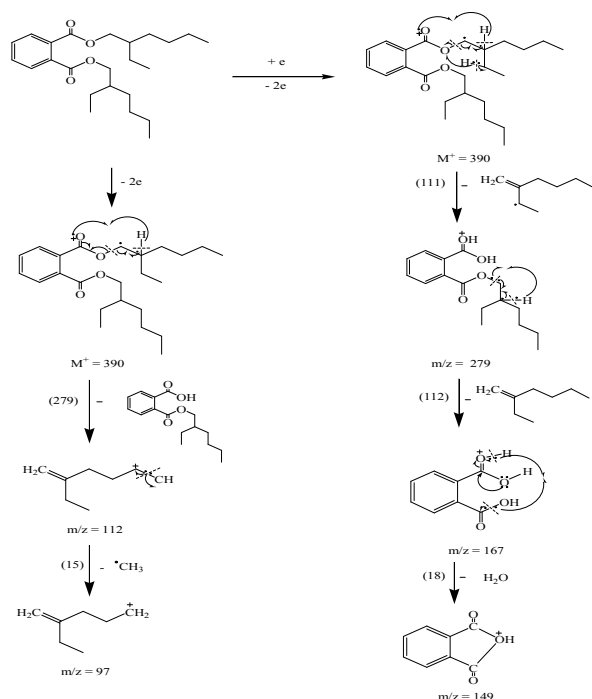
Berikut adalah spektrum massa senyawa bis (2-etil heksil) ftalat yang memiliki waktu retensi (R. Time) sebesar 13.549 min.



Gambar 7. Hasil Kromatogram Fragmentasi Senyawa dengan Waktu Retensi 13.557

Senyawa bis (2-etilheksil) ftalat memiliki berat molekul 390 dengan rumus molekul $C_{24}H_{38}O_4$ dan memiliki M^+ 390. Senyawa bis (2-etil heksil) ftalat bersifat sitotoksik [7]. Selain itu senyawa bis (2-etil heksil) ftalat juga memiliki aktivitas sebagai antimikroba dan antiinflamasi [8].

Fragmentasi senyawa bis (2-etil heksil) ftalat adalah sebagai berikut :



Gambar 8. Fragmentasi Senyawa Bis (2-etilheksil) ftalat

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian identifikasi senyawa menggunakan GC-MS menunjukkan bahwa pada ekstrak *n*-Heksana daun merah *Syzygium myrtifolium* Walp. diduga mengandung 3 senyawa dominan yaitu bis (2-etil heksil) heksanadioat; 1-oktadekena; dan bis (2-etil heksil) ftalat. Berat molekul senyawa tersebut berturut-turut adalah 370; 252 dan 390.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Mudiana, D. 2010. *Keragaman dan Studi Habitat Klampok (Syzygium) di Kabupaten Malang, Jawa Timur*. Riset Dasar. LIPI. Purwodadi.
- [2] The Plant List. 2010. *A Working List Of All Plan*. The International Plant Names Index.
- [3] Aisha, A. F. A., Ismail Z., Salah K. M. A., Shiddiqui J. M., Ghafar G. dan Majid A. M. S. A. 2013. *Syzygium Campanulatum Korth Methanolic Extract Inhibits Angiogenesis and Tumor Growth in Nude Mice*. BMC Complementary and Alternative Medicine Vol. 13 p. 168.

- [4] Memon, A. H., Ismail Z., Aisha A. F. A., Al-Suede F. S. R., Hamil M. S. R., Hashim S., Saeed M. A. A., Laghari M. dan Majid A. M. S. A. (2014). *Isolation, Characterization, Crystal Structure Elucidation, and Anticancer Study of Diethyl Cardamonin, Isolated from Syzygium campanulatum Korth*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Vol. 2014.
- [5] Haryati, N. A. 2015. *Uji Toksisitas dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pucuk Merah (Syzygium myrtifolium Walp.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. **Skripsi**. Universitas Mulawarman.
- [6] Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB Press.
- [7] Thenmozhi, S dan Rajan, S. 2015. *GC-MS Analysis of Bioactive Compounds in Psidium guajava Leaves*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2015; 3(5): 162-166.
- [8] Wirmandiyanthi, K. D., Manurung, M., dan Swantara, I M. D. 2013. *Uji Toksisitas dan Identifikasi Ekstrak Spons Haliclona fascigera terhadap Larva Artemia salina L*. Cakra Kimia, Vol. 1 2013.