

## ISOLASI SENYAWA KIMIA HIDROKSIMETIL (4-(5-METILHEKSIL) FENIL KETON DARI EKSTRAK METANOL KACANG KARA BENGUK (*Mucuna pruriens* (L.) DC

Lilik Sulastrri\*

Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi (STTIF), Jl. Kumbang No 23 Bogor 16151

\*E-mail: liliksulastrri28@gmail.com

### ABSTRAK

Kacang kara benguk, *Mucuna pruriens* (L.) DC (Fabaceae) dimanfaatkan oleh masyarakat Jawa Tengah sebagai bahan baku tempe, sedangkan di Nigeria sudah dimanfaatkan sebagai obat untuk anti kanker. Pada penelitian ini dilakukan maserasi dengan pelarut metanol yang kemudian dipartisi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol, dan air, dan dilanjutkan uji aktivitas sitotoksik dengan larva udang metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Fase teraktif yaitu fase etil asetat dilanjutkan isolasi dan pemurnian dengan kromatografi kolom (SiO<sub>2</sub>; *n*-heksan-etilasetat = 10:1 ~ 1 : 1; etilasetat) dan KLT preparatif (SiO<sub>2</sub>; *n*-heksan-etilasetat 10 : 1) menghasilkan isolat murni KBEA 1-5. Berdasarkan interpretasi data spektra UV-Vis, FT-IR, RMI 1 D (RMI proton, karbon dan DEPT) isolat KBEA 1-5 diestimasi sebagai senyawa kimia hidroksimetil-{4-(5-metilheksil)fenil}keton yang mempunyai aktivitas sitotoksik sebesar LC<sub>50</sub> 270.50 bpj.

**Kata Kunci:** kara benguk, *Mucuna pruriens* (L.) DC, Fabaceae, hidroksimetil{4 (5-metilheksil)fenil}keton

### PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang sangat kaya akan flora dan fauna. Bahkan kekayaan alam Indonesia menjadi salah satu yang terbesar di dunia. Diantara kekayaan flora tersebut, banyak diantaranya yang masuk kategori tumbuhan obat (1). Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah kacang kara benguk {*Mucuna pruriens* (L.) DC} yang termasuk familia *Fabaceae*. Tanaman ini merupakan semak berakar tunggang, batang menjalar, daun berwarna hijau dan menggantung, bunga berupa tandan, buah yang berupa polongan tebal dengan biji berbentuk pipih dan berwarna putih. Penyebaran tanaman ini ada di daerah Asia Tenggara atau Selatan tropis (2). Pemanfaatan kacang kara benguk belum diketahui secara luas di Indonesia. Sebagian masyarakat Jawa Tengah memanfaatkan kacang kara benguk sebagai bahan baku tempe. Kandungan gizi untuk kebutuhan metabolit primer antara kacang kara benguk dan kedelai hampir sama. Kandungan gizi yang dimaksud antara lain protein, lemak dan karbohidrat (3). Penelitian yang telah dilakukan di Nigeria menyatakan bahwa kacang kara benguk mengandung senyawa kimia seperti L-Dopa, alkaloid, flavonoid, polifenol. kara benguk juga dapat digunakan sebagai anti-parkinson, apodisiak, antioksidan, antitumor selain itu mempunyai aktivitas toksik (4, 5). Berdasarkan hal tersebut dan dalam upaya pemanfaatan kacang kara benguk sebagai bahan baku obat, maka akan

dilakukan penelitian tentang toksisitas. Uji toksisitas dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang, menggunakan mencit sebagai hewan percobaan, serta secara mikrobiologi menggunakan mikroba seperti bakteri, kapang, dan alga.

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT dengan pertimbangan bahwa metode ini merupakan salah satu metode penapisan awal untuk isolasi senyawa bioaktif. Disamping itu, uji bioaktivitas menggunakan metode BSLT memiliki beberapa keuntungan, diantaranya yaitu mudah dilakukan, sederhana, tidak memerlukan waktu yang lama, cukup akurat, serta memiliki spektrum aktivitas farmakologi sehingga metode ini merupakan suatu metode yang potensial untuk menentukan aktivitas suatu senyawa. (6)

Dalam penelitian ini, ekstrak kacang kara benguk diuji aktivitasnya dengan metode BSLT dan terhadap ekstrak yang memberikan tingkat mortalitas paling tinggi dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom. Hasil fraksinasi diuji lagi dengan BSLT dan dilakukan isolasi untuk selanjutnya dimurnikan. Isolat yang diperoleh kemudian diidentifikasi dengan Spektrofotometri UV-Vis, *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), dan Spektrometri Resonansi Magnet Inti (RMI).

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan ekstrak

Sebanyak 600 gram serbuk kacang kara benguk dimaserasi dengan pelarut metanol 98% selama 24 jam sambil sekali-kali diaduk perlahan-lahan lalu disaring. Ampasnya ditambahkan pelarut metanol yang baru dan dimaserasi kembali. Hal ini dilakukan beberapa kali hingga simplisia terekstraksi sempurna. Maserat metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotavapor sampai diperoleh ekstrak pekat.

### Partisi ekstrak metanol

Sebanyak 60 gram ekstrak kental metanol dipartisi dengan corong pisah menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol masing-masing dilakukan 3 kali. Hasil partisi berupa fase *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol dan air ditampung dan diuapkan dengan rotavapor.

### Pengujian sitotoksik dengan BSLT

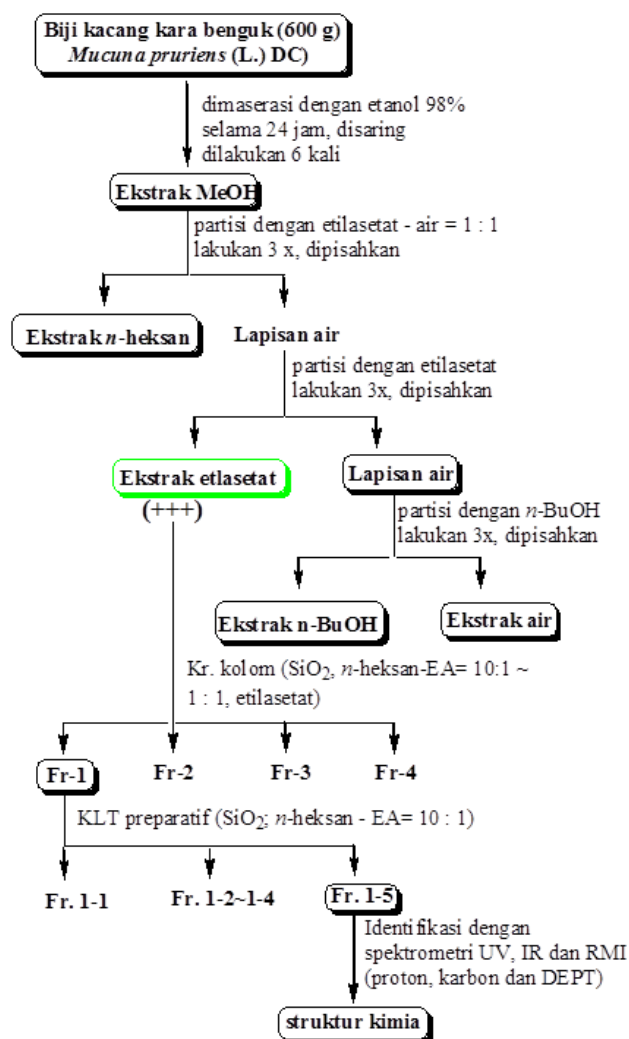
Pengujian toksisitas dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach terhadap ekstrak total metanol, ekstrak kental *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol dan air dilakukan berdasarkan metode Meyer (1982)

### Fraksinasi dengan kromatografi kolom

Fase pelarut yang paling aktif yaitu fase etil asetat difraksinasi dengan kromatografi kolom ( $\text{SiO}_2$ ; *n*-heksan – etilasetat = 10 : 1 ~ 1 : 1; etilasetat) menghasilkan 4 fraksi (KBEA-1 ~ KBEA 4). Kemudian fraksi KBEA-1 di KLT preparatif ( $\text{SiO}_2$ ; *n*-heksan-etilasetat = 10 : 1) menghasilkan isolat murni pada KBEA 1-4.

### Identifikasi senyawa isolate KBEA 1-4

Identifikasi senyawa isolat murni KBEA 1-4 dilakukan dengan pengambilan data spektra UV-Vis, Infra merah, Resonansi Magnet Inti (RMI) proton, karbon dan DEPT.



**Gambar 1.** Skema isolasi dan pemurnian senyawa kimia dari ekstrak metanol kacang kara benguk [*Mucuna pruriens* (L.) DC]

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil ekstraksi dan partisi

Hasil ekstraksi dan partisi terhadap 600 gr simplisia kacang kara benguk (*Mucuna pruriens* (L.) DC) dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil rendemen menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan memberikan persentase yang lebih banyak dibandingkan ekstrak lainnya seperti ekstrak etilasetat, n-butanol maupun ekstrak air. Hal ini diketahui bahwa komponen utama dari kacang kara benguk adalah senyawa asam lemak dan minyak, yang banyak terdapat di ekstrak non polar (pelarut n-heksan).

**Tabel 1.** Hasil rendemen hasil ekstraksi biji kacang kara benguk

No.	Sampel	Berat (gram)	Rendemen (%)*
1	Ekstrak MeOH	67,6	11,27
2	Fase n-heksan	34,2	5,70
3	Fase etil asetat	1,7	0,28
4	Fase n-butanol	1,8	0,30
5	Fase air	16,2	2,70

\*) : dihitung dari berat kering 600 gram serbuk simplisia

### Identifikasi Isolat dengan spektrometri

#### Interpretasi spektra spektrofotometri ultraviolet-cahaya tampak

Spektrum untuk isolat KBEA 1.5 dengan spektrofotometri ultraviolet-cahaya tampak memberikan panjang gelombang maksimum pada  $\lambda$  209,5 nm dan 224,5 nm, yang mengindikasikan adanya gugus kromofor alkena (aromatik) pada struktur kimianya. (14)

#### Identifikasi dengan Spektrofotometri Inframerah Fourier Transform

Spektrum inframerah untuk isolat KBEA 1.5 menunjukkan bahwa senyawa kimia mempunyai gugus fungsi hidroksi (OH) yang terdapat pada bilangan gelombang  $\nu$  3747,43  $\text{cm}^{-1}$  dan gugus karbonil (C=O) pada bilangan gelombang  $\nu$  1717,49  $\text{cm}^{-1}$  dan gugus -CH-, -C=CH- (alkana, alkena/aromatik) pada bilangan gelombang  $\nu$  2957  $\text{cm}^{-1}$

#### Identifikasi dengan Spektrometri Resonansi Magnet Inti proton

Spektrum RMI proton untuk isolat KBEA 1-5 menunjukkan adanya pergeseran kimia pada medan magnet tinggi di antara  $\delta\text{H}$  0,89 ~ 4,22 ppm yang karakteristik untuk proton yang

mempunyai ikatan tunggal seperti -CH; -CH<sub>2</sub>, dan -CH<sub>3</sub>. Pergeseran kimia  $\delta\text{H}$  di antara 7,26 ~ 7,70 memberikan informasi adanya proton yang spesifik untuk alkena dan aromatik.(16)

No.	Pergeseran Kimia Proton (ppm)	Pendugaan Gugus
1.	0,89~ 4,22	-CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH
2.	7,26 ~ 7,70	=CH-

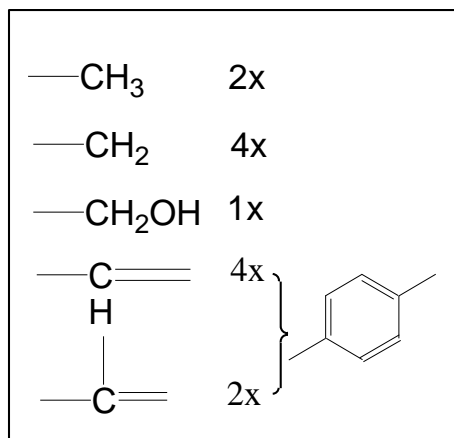
### Identifikasi dengan spektrometri RMI karbon dan DEPT

Spektra RMI karbon dan DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) untuk spektra KBEA 1-4 memberikan 15 atom karbon yang terdiri 2 karbon -CH<sub>3</sub>; 4 karbon -CH<sub>2</sub>-; 1 karbon -CH-; 1 karbon -CH<sub>2</sub>OH; 4 karbon -CH=; 2 karbon -C= dan 1 karbon karbonil (C=O). Hasil analisis spektra RMI karbon, DEPT dan RMI proton untuk isolat KBEA 1-4 dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Estimasi pergeseran kimia proton dan karbon untuk senyawa kimia KBEA 1-5

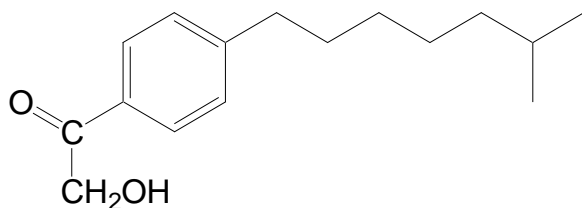
No	RMI karbon		RMI proton
	$\delta\text{C}$	DEPT	$\delta\text{H}$
1.	14,14	-CH <sub>2</sub> -	0,89 ~ 3,0
2.	14,24	CH <sub>2</sub> -	0,89 ~ 3,0
3.	23,18	-CH <sub>2</sub> -	0,89 ~ 3,0
4.	23,93	-CH <sub>2</sub> -	0,89 ~ 3,0
5.	29,11	-CH <sub>2</sub> -	0,89 ~ 3,0
6.	30,55	-CH <sub>2</sub> -	0,89 ~ 3,0
7.	38,91	-CH-	2,35
8.	68,35	-CH <sub>2</sub> OH	4,22
9.	128,99	=CH-	7,27 ~ 7,70
10.	128,99	=CH-	7,27 ~ 7,70
11.	131,06	=CH-	7,27 ~ 7,70
12.	131,06	=CH-	7,27 ~ 7,70
13.	132,64	=C-	-
14.	132,64	=C-	-
15.	167,95	-C=O	-

Hasil interpretasi dari semua spektra UV-Vis, FTIR, NMR proton, karbon dan DEPT, maka struktur parsial untuk senyawa isolat KBEA 1.5 dapat digambarkan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur parsial senyawa isolat KBEA 1-5

Sehingga rangkaian struktur parsial di atas dapat diprediksi menjadi suatu struktur kimia seperti pada Gambar 3, yang disebut sebagai hidroksimetil{4-(5-metilheksil)fenil}keton.



**Gambar 3.** Struktur kimia hidroksimetil{4-(5-metilheksil)fenil}keton

## KESIMPULAN

Berdasarkan uji sitotoksik secara BSLT diperoleh nilai  $LC_{50}$  pada fase etil asetat ekstrak metanol kacang kara benguk adalah 1,66 bpj. Setelah dilakukan fraksinasi, fraksi teraktif hasil kromatografi kolom (KBEA 1.5) adalah 270,50 bpj. Hasil identifikasi struktur kimia isolate KBEA 1-5 berdasarkan interpretasi data spectra UV, IR dan GC-MS adalah hidroksimetil{4-(5-metilheksil)fenil}keton

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Inventarisasi tumbuhan yang berpotensi sebagai obat. Diambil dari <http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR.P.END.BIOLOGI/196402261989032R.KUSDIANTI/Makalah2.pdf>. Diakses 31 Oktober 2011.
- [2] Hutapea JR. Inventaris tanaman obat indonesia. Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1994, h 398.
- [3] Kacang kara benguk (*Mucuna pruriens* L). Diambil dari <http://kuhasceexpress.blogspot.com/2010/12/kacang-kara-benguk-mucuna-pruriens-1.html>. Diakses 31 Oktober 2011.
- [4] *Mucuna pruriens*. Diambil dari <http://mucuna.org>. Diakses 31 Oktober 2011.
- [5] Nwaoguikpe RN, Braide W, Ujowundu CO. The Effects of Processing on the Proximate and Phytochemical Compositions of *Mucuna pruriens* seeds (Velvet beans). *Pakistan Journal of Nutrition*; 2011, p 947-51.
- [6] Meyer BN, Putnam JE. A Convenient General Bioassay for Active Plants Constituents. *Planta Medica*; 1982, p 45:31-4.
- [7] *Mucuna pruriens* (L.) DC. Diambil dari <http://www.proseanet.org/prohati2/browser.php?docsid=370>. Diakses 31 Oktober 2011.
- [8] Klasifikasi *Mucuna pruriens* (L.) DC. Diambil dari <http://zaifbio.wordpress.com/2009/02/11/kara-benguk/>. Diakses pada 31 Oktober 2011.
- [9] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Buku Panduan Teknologi Ekstrak. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 2002, h 13-6.
- [10] Stahl E. Analisis obat secara kromatografi dan mikroskopi. Terjemahan dari *Drug Analysis by Chromatography* diterjemahkan oleh Padmawinata K dan Soediro Iwan. Bandung : Institut Teknologi Bandung; 1995, h 3-18.
- [11] Gritter RJ, Bobbit JM, Schwarting AE. Pengantar Kromatografi. Edisi II. Bandung : Institut Teknologi Bandung; 1991, h 1-6, 9-10, 140-7, 161-3.
- [12] Roth HJ, Fleming I. Analisis Farmasi diterjemahkan oleh Kisman S. Yogyakarta : GM university press; 1998, h 373-426.
- [13] Harborne JB. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan dari *Phytochemical methods* diterjemahkan oleh Padmawinata K dan Soediro Iwan, Edisi II. Bandung : Institut Teknologi Bandung; 1987, h 4-15
- [14] Silverstein RM, Webster, F.X., Kiemle, D.J. *Spectrometric Identification of Organic Compounds* seventh edition. New York; 1986, p 3-9, 78-9, 95-104.

- [15] Sastrohamidjojo H. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti ( *Nuclear Resonance Magnetic, NMR*). Yogyakarta: UGM-Press; 1988, h. 1-22.
- [16] Jenie UA, Kardono LBS, hanafi M, Rumampuk RJ, darmawan A. Teknik Modern Spektroskopi NMR. Jakarta : Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia; 2006, h. 11-39, 77-8.