

ISOLASI STEROID DARI DAUN MENKGUDU (*Morinda citrifolia L.*)

Sri Benti Etika, Suryelita

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang

Email : bentietika@yahoo.com

*Isolation steroid from leaf of mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) has been conducted in the Chemical Laboratory Research of MIPA UNP Padang. The aim of this research is to isolate and characterization the steroid compound from leaf of mengkudu. Isolation conducted by maceration with methanol during 6 days and fractionation with n-hexane eluen. Colom, for adsorbent used gel silica 60 and and n-hexane eluent: ethil acetate at by SGP. From the crystalline that has been formed, the recrystallization is form with ethyl acetate repeatedly unit if becomes the pure crystal counted 1,2306 g (0,027%) with its melting point 137,6 – 139,4^oC. Ultraviolet spectroscopy shows the maximum of wavelength 203 nm with adsorben 0,49854. Spectroscopy infrared shows that steroid has bunch fuction of OH at 3445 cm⁻¹, C-H alkane at 2940 cm⁻¹, C-C non konyugation at 1642 cm⁻¹, CH₂ at 1457 cm⁻¹, CH₃ at 1376 and C-O alcohol at 1057 cm⁻¹. Result of checking spectroscopy ¹H-RMI and ¹³C-RMI to compare information by literature assumption steroid product of isolation formed stigmasterol compound.*

Key Words : *Isolation, Steroid, Mengkudu (*Murinda Citrifolia L.*), Ultraviolet, Infrared.*

PENDAHULUAN

Perkembangan penggunaan obat-obatan tradisional dari tumbuh-tumbuhan sebagai solusi kesehatan masyarakat sudah cukup meluas. Saat ini sudah banyak diketahui beberapa tumbuh-tumbuhan yang merupakan salah satu sumber senyawa kimia baru yang penting dalam pengobatan berbagai macam penyakit.

Penggunaan tumbuhan sebagai obat sangat berkaitan dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut terutama zat aktif biologisnya. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan biasanya merupakan senyawa metabolit sekunder seperti: flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, terpenoid dan lain-lain (Kusuma, T.S, 1988).

Steroid merupakan senyawa metabolit sekunder dengan berbagai fungsi biologis yang penting dan tersebar luas baik

dalam jaringan tumbuhan maupun hewan. Steroid yang terdapat pada hewan pada umumnya bertindak sebagai hormon, sedangkan steroid sintetik digunakan secara luas sebagai bahan obat (Fessenden, R.J& Fessenden, J.S. 1997)

Senyawa golongan steroid digunakan luas dalam dunia pengobatan dan kontrasepsi antara lain: androgen merupakan hormon steroid yang dapat menstimulasi organ seksual jantan, estrogen dapat menstimulasi organ seksual betina, adrenokortikonoid dapat mencegah peradangan dan rematik (Nogrady, T. 1992). Digitoksin merupakan senyawa steroid yang dapat memacu kerja jantung, contoh lain seperti kortison, kortisol dan prenidson digunakan untuk mengobati peradangan karena alergi atau encok (*Rheumatoid arthilis*) dan noretinodrel digunakan untuk menekan ovulasi sebagai metoda pembatasan kelahiran. Steroid merupakan senyawa yang terdapat pada

tumbuh-tumbuhan, yang terdiri dari bermacam jenis.

Tumbuhan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) merupakan salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Akar mengkudu dimanfaatkan untuk mengobati kejang-kejang dan tetanus, menormalkan tekanan darah dan obat demam. Kulit batang digunakan sebagai anti septik pada luka atau pembengkakan kulit. Daunnya digunakan sebagai obat disentri, kejang usus, pusing, muntah-muntah dan demam. Buah mengkudu bermanfaat untuk obat peluruh kencing, pelembut kulit, kejang-kejang, bengek, gangguan pernafasan dan radang selaput sendi (Goreti, 2006)

Hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan terhadap kandungan kimia daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) menunjukkan bahwa positif mengandung steroid dan alkaloid. Penelitian terdahulu oleh Sudarsono tahun 1989 telah berhasil mengisolasi senyawa alkaloid dari biji mengkudu (*Morinda citrifolia L.*), senyawa alkaloid oleh Suwarno (1987), saponin oleh Gunawan (1989) dan flavonoid oleh Pramono (1989). Selain dari itu, Handayani (1996) juga telah mengisolasi senyawa alkaloid dari daun tumbuhan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa steroid dari daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan kimia bahan alam tentang tanaman yang mengandung steroid serta memberikan informasi mengenai senyawa steroid yang terdapat pada daun mengkudu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilaksanakan di labora-

torium Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang. Sampel penelitian ini adalah daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) yang diambil dari daerah Air Tawar Barat, Kec. Padang Utara yang diambil secara acak.

Alat-alat yang digunakan antara lain rotary evaporator, kolom kromatografi, plat KLT, alat-alat gelas serta alat penentuan titik leleh Gallenkamp dan Spektroskopi UV-VIS Angilent, Spektroskopi Inframerah Perkin Elmer, Spektroskopi ¹H-RMI Bruker AM 300 dan ¹³C-RMI Bruker AM 300. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, etil asetat, n-heksana, asam klorida pekat (MERCK), asam sulfat pekat (MERCK), aquades, kloroform (MERCK), anhidrida asetat, serbuk magnesium, amoniak pekat, silika gel 60, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, pereaksi Wagner, pasir putih dan kapas.

Isolasi dilakukan dengan cara maserasi (perendaman) dengan prosedur sebagai berikut : Sampel daun mengkudu segar yang telah dibersihkan sebanyak 4500 gram dirajang halus, dimaserasi dengan metanol sebanyak 16 liter selama 6 hari sambil di aduk sekali-sekali. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali hingga sampel menunjukkan hasil negatif dengan pereaksi Liberman-Burchard. Selanjutnya disaring dan pelarutnya diuapkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental metanol berwarna hijau kehitaman sebanyak 286,00 gram.

Eksrak kental metanol difraksinasi dengan n-heksana sebanyak 8x570 mL sampai ekstrak metanol menunjukkan uji negatif dengan pereaksi Lieberman – Burchard. Kemudian fraksi n-heksana dipekatkan dengan rotary evaporator, sampai diperoleh ekstrak pekat n-heksana sebanyak 42,00 gram.

Pemisahan lebih lanjut dilakukan dengan kromatografi kolom dan sebagai

adsorben digunakan silika gel (70-230 mesh). Sebelum digunakan kolom terlebih dahulu dibersihkan, dibilas dengan metanol dan dikeringkan, kemudian diberi kapas pada dasar kolom. Selanjutnya silika gel sebanyak 50 gram dibuat slury dengan n-heksana, dengan hati-hati dimasukkan ke dalam kolom dan diikuti sampel sebanyak 5 gram, kemudian dielusi secara SGP (Step Gradient Polarity) dengan eluen n-heksana : etil asetat (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10). Eluat ditampung dengan vial-vial kecil yang telah diberi nomor. Masa-masing vial dimonitor dengan KLT, eluat yang memiliki Rf sama digabung dalam satu vial kemudian dibiarkan menguap pelarutnya sampai terbentuk zat padat amorf. Pemurnian dilakukan dengan pencucian menggunakan pelarut yang cocok yang dapat melarutkan pengotor dan hasil isolasi pada suasana panas, tetapi tidak melarutkan salah satunya dalam suasana dingin sehingga diperoleh kristal yang bersih.

Untuk uji kemurnian senyawa hasil isolasi digunakan kromatografi lapis tipis, noda pada kromatogram dapat diamati langsung atau dengan menggunakan lampu uv pada panjang gelombang 245-366 nm, atau pereaksi semprot penimbul warna yaitu uap NH_3 (untuk noda yang tidak tampak). Senyawa yang murni akan terlihat jika noda yang dihasilkan sudah tunggal, sedangkan noda yang tidak tunggal menunjukkan senyawa yang diisolasi belum murni (Gritter, 1991).

Titik leleh ditentukan dengan alat Gallenkamp Melting Point, zat padat amorf yang akan diuji kemurniannya dimasukkan kedalam pipa kapiler yang tertutup salah satu ujungnya setinggi 1 mm, selanjutnya di masukkan kedalam alat tersebut. Pengamatan dilakukan saat zat amorf mulai meleleh sampai meleleh seluruhnya. Suatu zat

dikatakan murni apabila range titik lelehnya kecil dari 2°C .

Karakterisasi senyawa hasil isolasi ditentukan dengan menggunakan pereaksi kimia yaitu air brom dalam karbon tetraklorida, hilangnya warna air brom menandakan adanya ikatan rangkap. kemudian dilanjutkan dengan spektroskopi Uv-Vis. Untuk mengetahui adanya gugus-gugus fungsi yang terkandung dalam senyawa tersebut ditentukan dengan alat spektroskopi Inframerah, dari hasil pengukuran tersebut didapat puncak-puncak serapan spesifik (Harbone, 1987). Terakhir digunakan alat spektroskopi ^1H -RMI dan ^{13}C -RMI untuk mengetahui jumlah atom hidrogen dan karbon.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Isolasi

Dari 4500 gram daun mengkudu yang dimaserasi dengan metanol diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 286,00 gram. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali selama 6 hari dengan metanol sebanyak 16 L. Fraksi dengan n-heksana menghasilkan ekstrak kental n-heksana berwarna hijau kehitaman sebanyak 42,00 gram.

Maserasi dilakukan dengan pelarut metanol, karena metanol dapat melarutkan hampir semua senyawa organik dalam tumbuhan, baik yang bersifat polar maupun non polar. Disamping itu metanol juga memiliki titik didih yang rendah yaitu 65°C sehingga mudah menguap.

Ekstrak metanol hasil maserasi dari 4500 gram daun mengkudu dipisahkan dengan rotary evaporator dengan tujuan untuk menurunkan tekanan uap pelarut, sehingga pelarut akan mendidih pada temperatur yang lebih rendah dari titik didih

yang sebenarnya, dan komponen-komponen yang ada dalam sampel terhindar dari proses termolisis. Setelah diperoleh ekstrak kental metanol maka ekstrak difraksinasi dengan n-heksana untuk memisahkan steroid dari senyawa polar yang ikut terekstrak ke dalam metanol. Fraksinasi ekstrak metanol dilakukan beberapa kali sampai ekstrak metanol menunjukkan uji negatif dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Hal ini berarti bahwa steroid yang larut dalam metanol tidak ada lagi. Pemisahan selanjutnya dilakukan dengan kromatografi kolom dengan menaik kan kepolaran (SGP) menggunakan eluen n-heksana : etilasetat.

2. Uji kemurnian

Dari hasil kromatografi kolom 5,00 gram steroid kasar fraksi n-heksana diperoleh steroid murni berbentuk Kristal jarum berwarna putih dengan jarak titik leleh $137,6^{\circ}\text{C}$ - $139,4^{\circ}\text{C}$ dengan range titik leleh $1,8^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya, uji kemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan beberapa eluen, didapatkan noda tunggal dan Rf yang berbeda : n-heksana; etil asetat (9:1) dengan Rf 0,075; n-heksana:etil asetat (8:2) dengan Rf 0,200; n-heksana : etil asetat (7:3) dengan Rf 0,375 dan n-heksana: etil asetat (6:4) dengan Rf 0,500.

Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dengan kromatografi lapis tipis menggunakan beberapa perbandingan eluen di peroleh noda tunggal, jarak titik leleh kecil dari 2°C yaitu $1,8^{\circ}\text{C}$, dari kedua data tersebut membuktikan bahwa senyawa steroid hasil isolasi tersebut sudah murni. Hal ini sesuai dengan pendapat Manjang (1985) yang

menyatakan bahwa jika sudah terbentuk noda tunggal pada kromatografi lapis tipis dan range titik lelehnya kecil dari 2°C maka senyawa hasil isolasi sudah murni.

3. Karakterisasi

Hasil pengujian dengan pereaksi brom dalam karbontetraklorida menunjukkan adanya ikatan rangkap. Spektrofotometer ultra violet (UV) dengan pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 203 nm. Sedangkan spektrum Inframerah menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3445 cm^{-1} , 2940 cm^{-1} , 1642 cm^{-1} , 1457 cm^{-1} , 1376 cm^{-1} dan 1057 cm^{-1} .

Spektrum ^{13}C -RMI memperlihatkan adanya puncak karbon pada pergeseran kimia 11,86; 11,97; 18,70; 19,04; 19,80; 21,20; 23,09; 24,30; 21,20; 26,13; 28,24; 28,90; 31,67; 31,92; 33,97; 36,51; 37,27; 39,79; 40,46; 42,31; 45,86; 50,16; 56,08; 56,78; 71,81; 121,71; 129,30; 136,29 dan 140,76. Sedangkan spektrum ^1H -RMI menunjukkan adanya sinyal pada $\delta\text{H } 0,69$; $\delta\text{H } 0,9$; $\delta\text{H } 1,01$; $\delta\text{H } 1,21$; $\delta\text{H } 2,25$; $\delta\text{H } 3,3$; $\delta\text{H } 3,5$ dan $\delta\text{H } 4,90 - 5,20$.

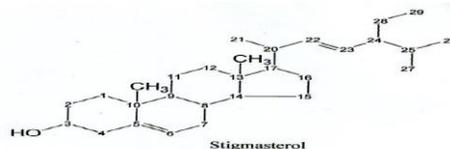
Berdasarkan hasil pengukuran spektrofotometer UV didapat serapan maksimum pada panjang gelombang 203 nm dengan absorban 0,49854, ini menunjukkan adanya ikatan rangkap tak terkonyugasi. Pita serapan ini lebih rendah dari serapan diena terkonyugasi pada transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ di daerah 215 - 230 nm (Silverstein, R.M. 1986). Adanya ikatan rangkap ini juga didukung oleh hilangnya warna orange dari larutan Br_2/CCl_4 ketika ditambahkan senyawa steroid.

Karakterisasi dengan spektrofotometer Inframerah menunjukkan adanya serapan vibrasi ulur dari OH pada daerah 3445 cm^{-1} , dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan dari regangan C-O alkohol pada daerah 1057 cm^{-1} . Pita serapan ini menunjukkan bahwa senyawa isolat merupakan suatu senyawa siklik (Steroid) yang mengandung gugus OH. Pita serapan pada daerah panjang gelombang 1642 cm^{-1} ditimbulkan dari gugus C=C non konyugasi. Serapan pada daerah 2940 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur dari C-H dari sistim alkana, sedangkan pita serapan tekuk CH_3 muncul pada daerah 1376 cm^{-1} dan serapan tekuk CH_2 muncul pada daerah 1457 cm^{-1} , data di atas sesuai dengan literatur (Sastroamidjojo, H. 1992).

Pengukuran spektrum ^{13}C -RMI dilakukan dengan medan magnet berkekuatan 300 MHz dengan pelarut CDCl_3 menunjukkan bahwa terdapat 29 atom karbon penyusun senyawa steroid hasil isolasi. Spektrum ^{13}C -RMI menyatakan adanya ikatan rangkap ditunjukkan oleh puncak karbon olefinik (C_5 dan C_6) pada $\delta\text{C } 121,71$ dan $\delta\text{C } 140,76$. Adanya group hidroksil diperkuat oleh munculnya puncak karbon pada $\delta\text{C } 71,81$ sesuai dengan pergeseran kimia atom C_3 (cincin A) untuk golongan sterol dengan senyawa stigmastan (C-29) (Santoni, dkk. 2000). Untuk memperkirakan struktur senyawa hasil isolasi dilakukan penelusuran dengan membandingkan spektrum senyawa hasil isolasi dengan senyawa yang telah dikenal. Dari data harga ^{13}C -RMI hasil isolasi dengan harga ^{13}C -RMI senyawa stigmasterol menunjukkan hasil yang mirip.

Pengukuran spektrum ^1H -RMI dilakukan dengan medan magnet berkekuatan 300 MHz dengan pelarut CDCl_3 menunjukkan sinyal multiplet pada $\delta\text{H } 3,5$ diduga berasal dari proton C_3 yang berjodohan dengan C_2 dan C_4 , doublet melebar (broad doublet) pada $\delta\text{H } 3,3$ yang diduga dari proton C_7 yang terkopling oleh proton pada C_6 . Suatu multiplet terjadi pada $\delta\text{H } 4,90 - 5,20$ yang dihasilkan oleh proton olefinik rantai samping C_{22} dan C_{23} senyawa steroid hasil isolasi. Sinyal yang demikian khas untuk proton olefinik rantai samping (C_{22} dan C_{23}) stigmasterol (Santoni, dkk. 2000). Puncak sinyal doublet pada $\delta\text{H } 0,69$; $\delta\text{H } 0,9$; $\delta\text{H } 1,01$ dan $\delta\text{H } 1,21$ diperkirakan berasal dari proton pada C_{21} , C_{26} , C_{27} dan C_{28} . Munculnya sinyal triplet pada $\delta\text{H } 2,25$ diperkirakan berasal dari Me-29. Bila dibandingkan spektrum ^1H -RMI senyawa hasil isolasi dengan senyawa stigmasterol menunjukkan hasil yang mirip. Perbandingan spektrum ^1H -RMI senyawa hasil isolasi.

Berdasarkan data dari pereaksi kimia, spektroskopi Ultraviolet (UV), spektroskopi Inframerah (IR), spektroskopi Resonansi Magnit Inti proton (^1H -RMI), Resonansi Magnit Inti karbon (^{13}C -RMI) dan penelusuran pustaka diduga bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa stigmasterol dengan struktur sebagai berikut :



KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Dari isolasi 4500 gram daun mengkudu (*Morinda citrifolia. L*) diperoleh steroid murni sebanyak 1,2306 gram (0,027%) berbentuk Kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 137,6⁰C – 139,4⁰C.
2. Karakterisasi struktur dengan pereaksi kimia, spektrofotometer ultraviolet (UV), spektrofotometer Inframerah (IR), spektrofotometer Resonansi Magnit Inti proton (¹H-RMI), spektrofotometer Resonansi Magnit Inti karbon (¹³C-RMI) dan data literatur menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa stigmasterol.

DAFTAR PUSTAKA

- Elya, B.2003. **Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Kimia dari Ekstrak n-Heksana Kulit batang *Garcinia rigida***. Universitas Indonesia. Depok.
- Fessenden,R,J dan Fessenden J.S. 1997. **Kimia Organik**. Terjemahan oleh A.Hadyana P. Jilid II, Edisi ketiga. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Goreti, M.W. 2006. **Sehat dengan Mengkudu**. Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara. Jakarta.
- Gritter,R.J. 1991. **Pengantar Kromatografi**. Edisi kedua. ITB. Bandung
- Gunawan,D. 1989. **Saponin dan Buah Pace (*Morinda citrifolia L*)**. Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi Indonesia. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.
- Ikkan,R.I. 1989. **Natural Product of Laboratory Guide**. Academic Press. London.
- Kusuma,T.S. 1988. **Kimia dan Lingkungan**. Pusat Penelitian Universitas Andalas Padang
- Manjang, Y. 1985. **Kimia Analisis Organik**. Proyek Peningkatan Perguruan Tinggi. Universitas Andalas Padang.
- Nogrady, T. 1992. **Kimia Medisinal**. Edisi II Alih Bahasa Raslim Rasyid. ITB. Bandung.
- Pramono, S. 1989. **Isolasi Flavonoid dari Buah Pace (*Morinda citrifolia L*)**. Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi Indonesia. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.
- Santoni, A. dkk. 2000. **Isolasi steroid dari Fraksi Non Polar Ekstrak Daun *Aglaia Speciosa***.Universitas Andalas Padang.
- Silverstein, R.M. 1986. **Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik**. Erlangga. Jakarta.
- Sudarsono. 1989. **Alkaloid dan Iridoid Yang Terdapat Dalam Biji *Morinda citrifolia L***. Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi Indonesia. Jurusan Kimia UnMul . Samarinda.