

SENYAWA NON FENOLIK DARI EKSTRAK *n*-HEKSANA KULIT BATANG BAKAU MERAH
(*Rhizophora stylosa*)

NON PHENOLIC COMPOUND FROM *n*-HEXANE EXTRACT OF THE STEM BARK RED
MANGROVE (*Rhizophora stylosa*)

Diyah kiranawati* dan Suyatno

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, email: k1r4_na12@yahoo.com

Abstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui struktur molekul senyawa non fenolik dari ekstrak *n*-heksana kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*). Dalam penelitian ini, ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, pemisahan dilakukan dengan metode kromatografi (kromatografi cair vakum, kromatografi lapis tipis dan kromatografi flash), dan pemurnian dilakukan dengan metode rekristalisasi. Uji kualitatif dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan struktur molekul senyawa hasil isolasi ditentukan dengan metode spektroskopi (UV-Vis, IR, dan GC-MS). Dari hasil penelitian diperoleh isolat berupa serbuk tak berwarna seberat 0,0749 mg dengan titik leleh 211-212 °C. Hasil uji kualitatif senyawa isolat dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan warna ungu yang mengindikasikan bahwa isolat positif mengandung senyawa triterpen. Berdasarkan analisis spektroskopi, diduga bahwa isolat merupakan senyawa triterpen dengan rumus molekul $C_{30}H_{50}O$.

Kata-kata kunci: *Rhizophora stylosa*, triterpen, lupeol, ekstrak *n*-heksana.

Abstract. The aims of this research were to know the molecule structure of non phenolic compound from *n*-hexane extract of the stem bark red mangrove (*Rhizophora stylosa*). In this research, extraction was carried out by maceration method, separation by chromatographic techniques (vacuum liquid chromatography, thin layer chromatography, flash chromatography), and purification by recrystallization method. The qualitative test was done by Liebermann-Burchard reagent and the molecular structure of the isolate compound was determined by spectroscopic methods (UV-Vis, IR, and GC-MS). Based on this research, it was obtained as colourless powder isolates in weight 0,0749 mg with melting point of 211-212 °C. The results of qualitative test of isolate using Liebermann-Burchard reagent showed purple colour indicating that isolate positively contained triterpen compound. Based on spectroscopic analyze, it can be concluded that the isolat is triterpen lupeol compound with molecular formula $C_{30}H_{50}O$.

Keywords: *Rhizophora stylosa*, triterpen, lupeol, *n*-hexane extract.

PENDAHULUAN

Hutan bakau (mangrove) merupakan salah satu kekayaan hayati Indonesia yang terluas di dunia (3,8 juta ha), melebihi Brazil (1,3 juta ha), Nigeria (1,1 juta ha), dan Australia (0,97 juta ha) [1]. Hutan mangrove di Indonesia terdiri dari beberapa famili tumbuhan yaitu *avicenniaceae*, *combretaceae*, *Lythraceae*, dan *Rhizophoraceae* [2]. Genus *Rhizophora* merupakan tumbuhan yang mendominasi sebagian besar hutan mangrove di Indonesia. Tumbuhan tersebut terdiri dari beberapa spesies yaitu *R. apiculata*, *R. harrisonii*, *R.*

lamarckii, *R. mangle*, *R. mucronata*, *R. racemosa*, *R. samoensis*, *R. selala*, *R. stylosa*, dan *R. annamalayana* [3].

Tumbuhan bakau famili *Rhizophoraceae* sebagian besar tumbuh di daerah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia. Dari famili *Rhizophoraceae* telah berhasil dipisahkan senyawa bioaktif jenis non-fenolik golongan terpenoid, steroid, dan lipid. Senyawa non-fenolik β -sitosterol dan adian-5en-3-ol yang memiliki aktivitas antidiare dan antiinflamasi telah berhasil dipisahkan dari kulit batang *Rhizophora Mucronata* [4]. Sementara itu,

senyawa seskuiterpen dan triterpen yakni 3-hidroksi-3,7,11-trimetil-9-oksododeka-1,10-diena, 3 β -(Z)-kafeoiltaraxerol, 3 β -(E)-kafeoiltaraxerol telah berhasil ditemukan dari ekstrak *n*-heksana dan ekstrak kloroform buah *Rhizophora mucronata* [5]. Senyawa terpenoid azulena dari ekstrak kloroform kulit batang *Rhizophora mucronata* memiliki aktivitas antikanker terhadap larva udang *A. salina* dengan nilai LC₅₀ sebesar 301,50 μ g/mL [6].

Bakau merah (*Rhizophora stylosa*) merupakan salah satu spesies tumbuhan bakau genus *Rhizophora* yang banyak tumbuh di daerah pantai di Indonesia. Bakau merah telah banyak dimanfaatkan sebagai obat untuk menghentikan pendarahan pada air seni [4]. Dari tumbuhan *Rhizophora stylosa* telah dilaporkan keberadaan senyawa metabolit sekunder jenis non-fenolik golongan terpenoid dan steroid. Senyawa triterpen pentasiklik yakni 3 β -O-(E)-kumaroil-15 α -hidroksi- β -amirin, 15 α -hidroksi- β -amirin, 3 β -taraxerol, 3 β -taraxerol format, 3 β -taraxerol asetat, 3 β -O-(E)-kumaroil-taraxerol, dan 3 β -O-(Z)-kumaroil-taraxerol telah dapat dipisahkan dari batang tumbuhan bakau merah [7]. Dari daun *Rhizophora stylosa* juga telah berhasil diisolasi senyawa non-fenolik cerebordin, taraxerol, β -sitosterol, dan deukasterol [8].

Mengingat masih belum banyak senyawa non-fenolik yang belum ditemukan dari kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*), maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang senyawa non-fenolik dari ekstrak *n*-heksana kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*).

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Sasaran dalam penelitian ini adalah senyawa non-fenolik dari ekstrak *n*-heksana kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*). Sampel tersebut diperoleh dari daerah Tambak Osowilangun, Surabaya, Jawa timur dan diidentifikasi di LIPI, Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa timur.

Alat

seperangkat alat ekstraksi dengan metode maserasi, seperangkat alat penyaring buncher, rotary vacuum evaporator (heidolp laborata 4001), seperangkat alat kromatografi cair vakum, seperangkat alat

kromatografi *flash*, Fisher John melting point apparatus, spektrofotometer UV (Shimadzu Pharma Spec. UV-1700), spektrofotometer IR (Perkin Elmer USA), spektrofotometer massa (Shimadzu QP-2010S), dan alat gelas yang lazim di gunakan dalam laboratorium kimia organik bahan alam.

Bahan

Sampel berupa serbuk kulit batang bakau merah *n*-heksana teknis, *n*-heksana p.a, etil asetat teknis, kloroform, p.a, metanol, p.a, asam sulfat pekat, p.a, anhidrida asam asetat, p.a, silika gel Merck G-60 (60-200 μ m), kiesegel Merk 60 GF-254, pekat pelat KLT silika gel F-254 (20x20; 0,25 mm).

Prosedur Penelitian

Tahap Pengumpulan dan Penyiapan Sampel Tumbuhan

Sampel berupa kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) yang diperoleh dari daerah Tambak Osowilangun, Surabaya. dibersihkan dari kotoran yang menempel, dipotong-potong berukuran kecil, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering kemudian digiling menjadi serbuk halus untuk di ekstraksi.

Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk halus kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) sebanyak 3 kg diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan volume *n*-heksana $\pm$ 6 liter. Hasil maserasi *n*-heksana disaring dengan corong Buchner dalam keadaan vakum, sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana dan residu. Ekstrak *n*-heksana diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* diperoleh ekstrak pekat.

Ekstrak pekat yang diperoleh, diuji kualitatif dengan Liebermann-Burchad dan dipisahkan komponen-komponennya melalui metode kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan fasa diam silika gel GF-254 dengan eluen *n*-heksana, campuran *n*-heksana-etilasetat, dan etilasetat. Hasil pemisahan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan pelat KLT silika gel F-254 dengan perbandingan eluen *n*-heksana-etilasetat = 9 : 1. Pemisahan lebih lanjut dilakukan kromatografi kilat (*flash chromatography*)

menggunakan fase diam silica gel merck G 60 (0,063-0,2 mm) dengan eluen campuran *n*-heksana-etilasetat.

Fraksi-fraksi yang bersesuaian nilai R_f -nya dan sudah menunjukkan satu noda pada KLT digabung. Pemurnian senyawa hasil isolasi (isolat) dilakukan dengan cara rekristalisasi menggunakan pelarut yang sesuai. Uji kemurnian isolat dilakukan dengan penentuan titik leleh dan KLT dengan tiga sistem eluen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Non Fenolik dari Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*)

Ekstrak *n*-heksana hasil maserasi diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* diperoleh ekstrak padat berwarna hijau kehitaman sebanyak 12 gram.

Ekstrak padat yang diperoleh diuji kualitatif dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan hasil uji positif steroid dengan warna biru kehijauan. Selanjutnya, ekstrak padat dipisahkan komponen-komponennya menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) menghasilkan 130 fraksi. Pemisahan tersebut menggunakan fasa diam berupa silica gel Merck GF-254 dan eluen yang kepolarannya ditingkatkan secara bertahap mulai dari *n*-heksana, campuran *n*-heksana-etilasetat, dan etil asetat.

Hasil pemisahannya dimonitor dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan eluen *n*-heksana-etil asetat = 9 : 1. Berdasarkan hasil monitoring, fraksi yang menunjukkan R_f sama pada monitor pelat KLT yaitu pada fraksi 40-48 digabung menjadi satu fraksi.

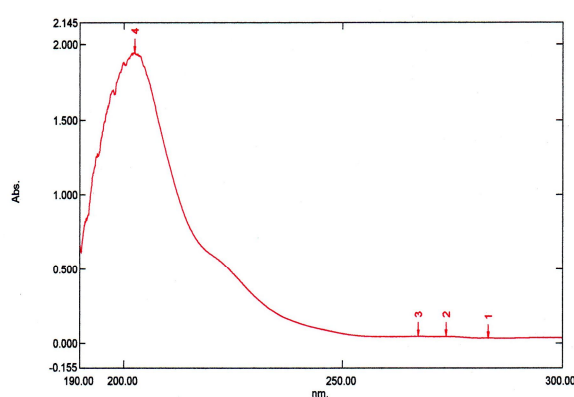
Fraksi gabungan (40-48) seberat 1,090 gram berwarna kuning dilakukan pemisahan menggunakan metode kromatografi *flash* dan menghasilkan 92 fraksi. Pemisahan ini menggunakan fasa diam berupa silica gel Merck G 60 (0,063-0,2 mm) dan eluen *n*-heksana-etil asetat = 97:3.

Hasil pemisahannya dimonitor dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan eluen *n*-heksana-etil asetat = 9 : 1. Berdasarkan hasil monitoring, fraksi yang menunjukkan R_f sama pada monitor pelat KLT yaitu pada fraksi 54-92 digabung menjadi satu fraksi.

Fraksi gabungan seberat 98,1 mg direkristalisasi menggunakan pelarut metanol menghasilkan isolat berupa serbuk tak berwarna seberat 0,0749 mg. Selanjutnya isolat diuji kemurnian dengan pengukuran titik leleh sebesar 211-212 °C dan kromatografi lapis tipis tiga sistem eluen. Kromatografi lapis tipis (KLT) tersebut menggunakan perbandingan eluen *n*-heksana : etilasetat = 9:1, *n*-heksana : etil asetat = 4:1, dan *n*-heksana : kloroform 1:1. Hasil Pengujian dengan KLT tersebut menunjukkan hasil berupa satu noda dengan R_f masing-masing 0,44; 0,73; dan 0,46. Hasil uji kualitatif isolat dengan pereaksi Liebermann-Burchard positif triterpen ditunjukkan adanya perubahan warna ungu.

Penentuan Struktur Molekul Senyawa Hasil Isolasi

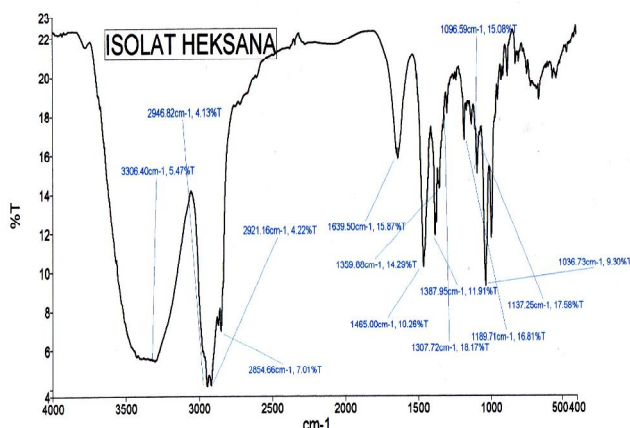
Data spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi (isolat) menunjukkan puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 202,4 nm seperti yang disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa terdapat ikatan rangkap C=C tidak terkonjugasi akibat adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$.



Gambar 1. Spektrum UV-Vis Isolasi

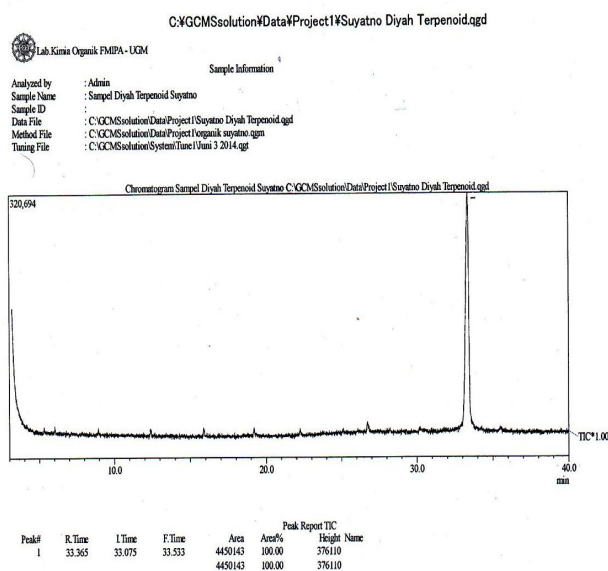
Data spektrum IR senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya kerangka senyawa terpenoid yang didukung dengan adanya gugus regang C-H alkil (2854.66, 2921.16, dan 2946.82 cm^{-1}) dan gugus tekuk C-H alkil (1307.72, 1359.88, 1387.96, dan 1465 cm^{-1}). Adanya gugus gugus O-H pada 3306.4 cm^{-1} , gugus C-O karbinol pada, 1036.73, 1096.59, 1137.25, dan 1189.71 cm^{-1} serta gugus C=C pada 1639.5

cm^{-1} mendukung bahwa isolat merupakan senyawa triterpen yang mengandung gugus hidroksi yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektrum IR Isolat

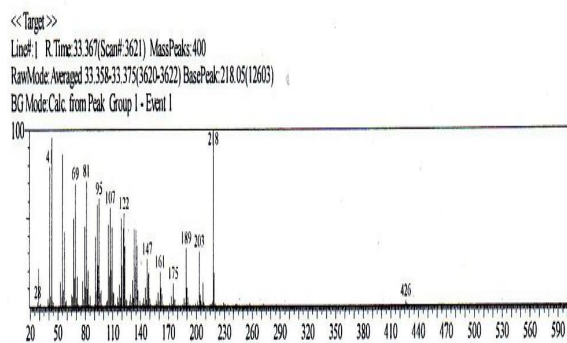
Setelah dilakukan uji spektroskopi IR, selanjutnya isolat dilakukan uji spektroskopi kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS) untuk menentukan struktur dan massa molekul senyawa tersebut. Kromatogram hasil kromatografi gas spektroskopi massa dari isolat disajikan pada Gambar 3, sedangkan hasil pengukuran spektrum massa disajikan pada Gambar 4.



Gambar 3. Kromatogram Hasil Kromatografi Gas Isolat

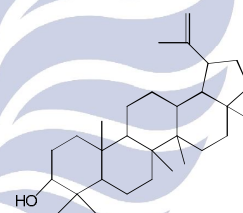
Berdasarkan hasil analisis dengan kromatografi gas spektroskopi massa (GC-MS), terdapat satu puncak utama dengan waktu retensi 33,367 menit. Spektrum massa dari senyawa yang terdapat dalam puncak tersebut menunjukkan massa

molekul relatif sebesar 426 (Gambar 4). Senyawa tersebut menunjukkan puncak-puncak ion fragmen pada m/z , yaitu : 426 (M^+), 218, 203, 189, 175, 147, 122, 107, 95, 81, 69, 41, dan 28.



Gambar 4. Spektrum Massa Isolat

Pola fragmentasi yang ditunjukkan dalam spektrum massa tersebut mendukung bahwa isolat yang dihasilkan merupakan senyawa triterpen yakni lupeol. Hal tersebut juga didukung hasil analisis data spektroskopi Uv-Vis dan IR serta hasil uji kualitatif isolat. Struktur molekul senyawa tersebut ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Molekul Lupeol

Adanya kandungan senyawa triterpen lupeol tersebut membuktikan bahwa dalam bakau merah (*Rhizophora stylosa*) terdapat senyawa golongan non fenolik. Hal tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa senyawa triterpen pentasiklik telah dapat dipisahkan dari batang tumbuhan bakau merah [6]. Menurut Senyawa lupeol juga pernah diisolasi dari genus yang sama yakni *Rhizophora* spesies *Rhizophora mucronata* [9].

PENUTUP

Simpulan

Senyawa hasil isolasi (isolat) dalam kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) diduga merupakan senyawa lupeol dengan rumus molekul $C_{30}H_{50}O$.

Saran

Melakukan penelitian isolasi dan identifikasi lebih lanjut pada bakau merah (*Rhizophora stylosa*) sehingga diperoleh senyawa-senyawa lain dalam upaya pengembangan ilmu fitokimia dan kemotaksonomi tumbuhan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Noor, Y.R., Khazali, M., Suryadiputra, I.N.N. 1999. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Bogor : PHKA/WI-IP.
2. Mulyani, Y., Bachtiiar, E., A, M.U.K. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio L.*). *Jurnal Akuatika*. 4(1): 1-9.
3. Nebula, M., Harisankar, H.S., Chandramohanakumar, N. 2013. Metabolites and Bioactivities of *Rhizophoraceae* Mangroves. *Nat. Prod. Bioprospect.* 3: 207-232.
4. Rohini, R.M., and Das, A.K. 2010a. Antidiarrheal and antiinflammatory activities of Lupeol, Quercetin, β -Sitosterol, Adene-5-en-3-ol and Caffeic acid isolated from *Rhizophora mucronata* Bark. *Scholars Research Library*. 2 (5): 95-101.
5. Surat, L., Chatchanok, K., and Chanita, P. 2004. New Sesquiterpenoid and Triterpenoids from the Fruits of *Rizophora mucronata*. 52(7): 883-885.
6. Diastuti, H. dan Suwandri. 2009. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antikanker Ekstrak Kulit Batang *Rhizopora mucronata* serta Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Molekul*. 4(2): 54 – 61.
7. Li, D.L., li, X.M., Wang, B.G. 2008. Pentacyclic Triterpenoids from the Mangrove Plant (*Rhizophora stylosa*). *Natural Product Research*. 22 (9): 808-813.
8. Yang, X.H., HB, li., H, Chen., P, Li., BP, Ye., 2008. Chemical Constituent in the Leave of *Rhizophora stylosa* L and their Biological Activities. *Yao Xue Xue Bao*. 43 (9). 974-978.
9. Rohini, R.M., and Das, A.K. 2010b. Triterpenoids from the Stem Bark of *Rhizopora mucronata*. *Natural Product Research*. 24(2): 197-202.