

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK METANOL KULIT BATANG TUMBUHAN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.)

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES COMPOUNDS FROM METHANOL EXTRACT OF THE STEM BARK OF MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.)

Meita Rahmawati.* dan Nurul Hidajati

Departement of Chemistry, Faculty Mathematics and Natural Sciences State University of Surabaya
Jl. Ketintang, Surabaya, (60231), tlp 031-8298761

*Corresponding author, e-mail: meitarahma092@gmail.com

Abstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa hasil isolasi dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Penelitian ini diawali dengan mengekstrak serbuk kulit batang tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan maserasi menggunakan metanol. Ekstrak metanol selanjutnya dipartisi menggunakan *n*-heksana dan kloroform. Ekstrak metanol yang telah dipartisi selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dan selalu dipantau dengan KLT. Isolat yang berupa kristal kuning dianalisis dengan spektroskopi UV-Vis, FTIR dan GC-MS. Hasil menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh diduga adalah senyawa Digitoksigenin. Digitoksigenin merupakan salah satu senyawa steroid pada tumbuhan dalam bentuk kardenolida atau γ -laktone.

Kata kunci: *Morinda citrifolia* L., Senyawa Metabolit Sekunder, Isolasi, Identifikasi, Steroid, Digitoksigenin.

Abstract. The aims of this research is to identify the isolate from methanol extract of the stem bark of *Morinda citrifolia* L. This research was begun by extracting the stem bark powder of *Morinda citrifolia* L with maceration using methanol. The methanol extract was then partitioned technique using *n*-hexane and chloroform. The methanol extract from partition was then separated with Gravitational Column Chromatography (GCC) and always monitored by TLC-analysis. A yellow crystal isolates was then analyzed using UV-Vis, FTIR and GC-MS spectroscopy. The results showed that the isolate was Digitoksigenin. Digitoksigenin is the steroidal compounds of the plant in the form of cardenolide or γ -lactones.

Keywords: *Morinda citrifolia* L., Secondary Metabolites Compounds, Isolation, Identification, Steroidal, Digitoxigenin.

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan berbagai macam tumbuhan. Tumbuhan dapat menghasilkan senyawa bioaktif yaitu senyawa metabolit primer dan sekunder (Sumaryono, 1999 dalam Rizal, 2011). Senyawa metabolit primer seperti karbohidrat, protein, lemak dan asam nukleat sedangkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, fenolik, saponin dan tanin. Fungsi metabolit sekunder yaitu sebagai alat pertahanan diri terhadap radikal bebas, mikroba, virus dan tumbuhan kompetitor (Verpoorte, 2000; Wink, 2003 dalam Sahidin, 2006).

Salah satu tumbuhan di Indonesia yang kaya akan senyawa metabolit sekunder yaitu dari genus *Morinda* salah satunya adalah *Morinda citrifolia*

L. *Morinda citrifolia* L. dikenal dengan nama Mengkudu. Buah dari tumbuhan ini berbentuk bulat lonjong, lunak, berbiji kecil, memiliki rasa pahit dan berbau tidak sedap (Bangun dan Sarwono, 2002). Tumbuhan ini memiliki pohon dengan tinggi 1-6 meter dengan diameter batang 13-35 cm. Kulit batang tumbuhan ini berwarna cokelat keabu-abuan atau cokelat kekuningan dan tidak berbulu (Teguh, 2012).

Hasil kajian yang telah dilakukan terhadap senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan Mengkudu menunjukkan bahwa daun Mengkudu diketahui mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, antrakuinon dan polifenol (Eisai, 1986 dalam Surya, 2009). Batang tumbuhan Mengkudu diketahui mengandung senyawa morindon, morindin, senyawa heksosa, pentosa, alizarin,

rubiadin monoetil eter dan xeronin (Rukmana, 2002). Biji Mengkudu diketahui mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin dan glikosida jantung (Hayani dan Fatimah, 2004). Akar tumbuhan Mengkudu diketahui mengandung senyawa damnacanthal, sterol, resin, asperulosida, antrakuinon, glikosida, klororubin, rubiadin, morindanigrin dan aligarin metil eter (Sitepu, 2012). Sang *et al* (2002) telah mengidentifikasi adanya senyawa 2-metil-4-hidroksi-5,7-dimetoksi antrakuinon 4-O- β -D-glukopiranosil-(1,4)- α -L-ramnopira- nosida, 5,8-dimetil-apigenin 4'-O- β -D- galaktopiranosida dan arasetin 7-O- β -D- glukopiranosida pada bunga Mengkudu.

Berdasarkan penjelasan di atas, dapat diketahui bahwa penelitian tentang isolasi guna menemukan senyawa-senyawa yang terkandung dalam bagian tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) masih memiliki peluang besar terutama pada bagian kulit batang karena belum adanya penelitian yang relevan tentang kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam kulit batang tumbuhan Mengkudu ini. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Negeri Surabaya. Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian deskriptif. Bahan yang digunakan yaitu serbuk kulit batang tumbuhan Mengkudu (sampel), metanol, akuades, *n*-heksana, kloroform, etil asetat, diklorometana, silika gel, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, etanol 60-70%, serbuk Mg, larutan HCl pekat, H₂SO₄ 2N, FeCl₃ 1%, NaCl 10%, gelatin 1% dan pereaksi (Mayer, Dragendroff dan Wagner). Alat yang digunakan yaitu seperangkat alat gelas (gelas kimia, gelas ukur, vial kecil, labu ukur dan corong kaca), seperangkat alat maserasi, *vacuum rotary evaporator*, neraca digital, pipet tetes, kontainer plastik, pipa kapiler, kertas tissue, seperangkat alat Kromatografi Kolom Gravitasi dan plat KLT, Fisher John *Melting Point Apparatus*, spektroskopi UV-Vis, FTIR dan GC-MS.

Proses isolasi kulit batang tumbuhan mengkudu dimulai dengan cara maserasi yaitu merendam 5 Kg serbuk kulit batang tumbuhan mengkudu dengan metanol sampai pelarut mencapai 1 cm di atas sampel. Maserasi

dilakukan selama 1x24 jam dengan 3 kali pengulangan. Selanjutnya disaring dan dikentalkan dengan *vacuum rotary evaporator*.

Ekstrak kental metanol diencerkan kembali dengan pelarut metanol sebanyak 2 liter dan diekstraksi dengan cara partisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana sebanyak 2 liter dengan 2 kali pengulangan dan dilanjutkan dengan pelarut kloroform sebanyak 1 liter dengan 2 kali pengulangan. Kemudian ekstrak metanol yang telah dipartisi dikentalkan kembali dengan *vacuum rotary evaporator*.

Ekstrak kental metanol yang telah dipartisi diuji kandungan senyawanya dengan uji fitokimia. Tahap-tahap uji fitokimia sebagai berikut:

1. Uji Alkaloid: 1 ml ekstrak kental metanol ditambahkan 5 tetes ammonia pekat kemudian di tambahkan 2 ml H₂SO₄. Hasil positif ditandai apabila ditambah 1 tetes reagen mayer terbentuk endapan putih, 1 tetes reagen dragendroff terdapat endapan jingga dan 1 tetes reagen wagner terdapat endapan coklat.
2. Uji Steroid dan Terpenoid: 1 ml ekstrak kental metanol ditambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes H₂SO₄ pekat. Hasil positif berwarna hijau, biru untuk steroid dan berwarna ungu, jingga, kuning keemasan untuk terpenoid.
3. Uji Fenolik: 1 ml ekstrak kental metanol ditambahkan 0,5 mL metanol dan 3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif menunjukkan larutan berwarna ungu, biru atau hitam.
4. Uji Flavonoid: 1 ml ekstrak kental metanol ditambahkan 5 tetes etanol 70 %, sedikit pita Mg dan 5 tetes HCl pekat. Hasil positif menunjukkan larutan berwarna merah, kuning atau jingga.
5. Uji Tanin: 1 ml ekstrak metanol ditambahkan 5 tetes NaCl 10%, 2 tetes gelatin. Hasil positif menunjukkan terdapat endapan kuning.
6. Uji Saponin: 1 ml ekstrak metanol ditambahkan 2 ml aquades kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit dan di kocok. Hasil positif menunjukkan terdapat busa stabil \pm 2-4 menit maka positif saponin.

Pemisahan selanjutnya dilakukan dengan Kromatografi Kolom Grafitasi (KKG) sebanyak 2 kali masing-masing menggunakan eluen sebanyak 400 ml dengan perbandingan eluen diklorometana : etil asetat : metanol = 5 : 2 : 3 (200 : 80 : 120) ml. Adsorben yang digunakan yaitu silika gel

sebanyak 50 gram dan sampel yang digunakan sebanyak 5 gram. Hasil yang keluar ditampung dengan vial-vial kecil yang telah diberi nomor. Masing-masing vial dipantau dengan KLT dan fraksi yang memiliki noda sama digabung dalam 1 vial.

Fraksi yang memiliki 1 noda diuji kemurnian senyawanya dengan teknik tiga jenis eluen yang berbeda. Eluen yang digunakan adalah etil asetat : metanol = 1 : 2 sebanyak 6 ml (2 ml : 4 ml); diklorometana : metanol = 3 : 1 sebanyak 4 ml (3 ml : 1 ml) dan *n*-heksana : metanol = 1 : 3 sebanyak 4 ml (1 ml : 3 ml). Senyawa dikatakan murni jika menunjukkan 1 noda. Kemudian isolat yang telah menunjukkan 1 noda diuji titik leleh dengan alat Fisher John *Melting Point Apparatus*. Isolat dikatakan murni apabila range titik lelehnya tidak lebih dari 2 °C. Karakterisasi senyawa isolat menggunakan spektroskopi UV-Vis, FTIR dan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Proses Maserasi

Sebanyak 5 kg serbuk kulit batang tumbuhan mengkudu yang telah dimaserasi dengan metanol, dipekatkan dengan vacuum rotary evaporator dan diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 364,529 gram. Maserasi dilakukan dengan metanol karena metanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik dalam tumbuhan dari yang polar sampai non polar.

Ekstrak kental metanol kulit batang tumbuhan mengkudu diencerkan kembali dengan pelarut metanol sebanyak 2 liter dan diekstraksi dengan teknik partisi menggunakan *n*-heksana sebanyak 2 liter dan kloroform sebanyak 1 liter masing-masing dilakukan 2 kali pengulangan. Proses partisi dilakukan untuk mengurangi senyawa-senyawa yang ada di dalam ekstrak metanol sehingga pemisahan yang dilakukan lebih mudah. *n*-heksana merupakan pelarut non polar sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti alkaloid, sedangkan kloroform merupakan pelarut semi polar sehingga dapat menarik senyawa-senyawa semi polar seperti lipid, flavonoid, steroid dan terpenoid. Ekstrak kental metanol yang telah dipartisi dipekatkan kembali dengan vacuum rotary evaporator dan diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 30,347 gram.

2. Uji Fitokimia.

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol kulit batang tumbuhan Mengkudu sebelum dan setelah partisi ditunjukkan pada tabel 1 dan 2 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil uji fitokimia kulit batang tumbuhan Mengkudu sebelum partisi

Uji Fitokimia	Warna yang ditimbulkan	Hasil analisis Fitokimia	
		Positif (+)	Negatif (-)
Alkaloid			
Mayer	Tidak terbentuk endapan putih		-
Wagner	Tidak terbentuk endapan coklat		-
Dragendrof	Tidak terbentuk endapan jingga		-
Steroid	Terbentuk larutan berwarna hijau	+	
Terpenoid	Tidak terbentuk larutan berwarna jingga		-
Fenolik	Tidak terbentuk larutan berwarna hitam		-
Flavonoid	Terbentuk larutan berwarna kuning	+	
Saponin	Terbentuk busa stabil selama 30 detik	+	
Tanin	Terbentuk endapan kuning	+	

Tabel 2. Hasil uji fitokimia kulit batang tumbuhan Mengkudu setelah partisi

Uji Fitokimia	Warna yang ditimbulkan	Hasil analisis Fitokimia	
		Positif (+)	Negatif (-)
Alkaloid			
Mayer	Tidak terbentuk endapan putih		-
Wagner	Tidak terbentuk endapan coklat		-
Dragendrof	Tidak terbentuk endapan jingga		-
Steroid	Terbentuk larutan berwarna hijau	+	
Terpenoid	Tidak terbentuk larutan berwarna jingga		-
Fenolik	Tidak terbentuk larutan berwarna hitam		-
Flavonoid	Terbentuk larutan berwarna kuning		-
Saponin	Terbentuk busa stabil selama 30 detik		-
Tanin	Terbentuk endapan kuning	+	

3. Hasil Isolasi

Ekstrak kental metanol setelah dipartisi kemudian dipekatkan kembali dan diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 30,347 gram.

Setelah itu pemisahan dilanjutkan dengan Kromatografi Kolom Grafitasi (KKG) sebanyak 2 kali masing-masing menggunakan eluen sebanyak 400 ml dengan perbandingan eluen diklorometana : etil asetat : metanol = 5 : 2 : 3 (200 : 80 : 120) ml.

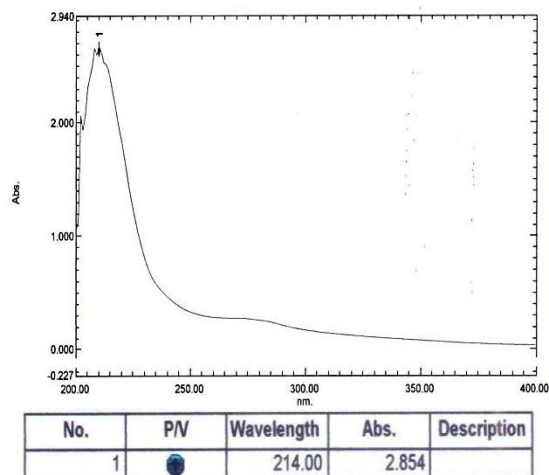
Fraksi-fraksi hasil KKG dipantau dengan KLT dan diperoleh fraksi-fraksi dengan 1 noda. Fraksi yang memiliki 1 noda yaitu fraksi 3-16 dengan R_f 0,89 dan fraksi 17-30 dengan R_f 0,52. Kemudian fraksi-fraksi tersebut digabung dalam 1 vial dan diuji kemurniannya.

4. Uji Kemurnian

Uji kemurnian isolat menunjukkan bahwa isolat pada fraksi 3-16 dan 17-30 menunjukkan satu noda ketika sampel di elusi menggunakan tiga eluen yang berbeda yakni dengan eluen etil asetat : metanol = 1 : 2 sebanyak 6 ml (2 ml : 4 ml); diklorometana : metanol = 3 : 1 sebanyak 4 ml (3 ml : 1 ml) dan *n*-heksana : metanol = 1 : 3 sebanyak 4 ml (1 ml : 3 ml). Isolat pada fraksi 3-16 yang diperoleh berupa kristal kuning pucat sedangkan isolat pada fraksi 17-30 berupa kristal kuning. Isolat pada fraksi 17-30 dipilih untuk diidentifikasi lebih lanjut dengan spektroskopi dikarenakan memiliki massa yang lebih banyak yaitu 20 mg sedangkan isolat pada fraksi 3-16 hanya memiliki massa 9 mg. Jarak R_f yang diperoleh dari hasil uji kemurnian pada isolat fraksi 17-30 masing-masing adalah 0,78 ; 0,86 dan 0,60. Hasil titik leleh menunjukkan isolat memiliki titik leleh sebesar 165-166°C. Isolat memiliki interval titik leleh sebesar 1°C atau kurang dari 2°C sehingga dapat dikatakan bahwa isolat tersebut murni.

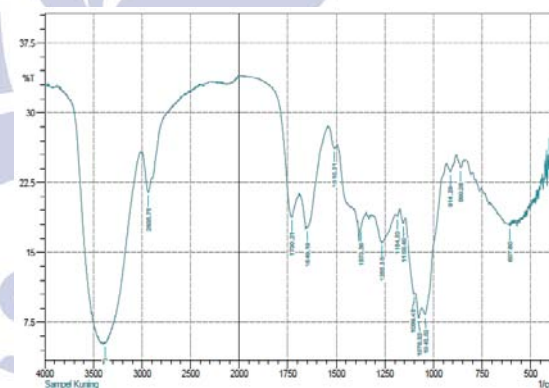
5. Identifikasi Isolat dengan Spektroskopi

Hasil pengukuran menggunakan spektroskopi UV-Vis menunjukkan isolat kulit batang tumbuhan Mengkudu memiliki panjang gelombang 214 nm.



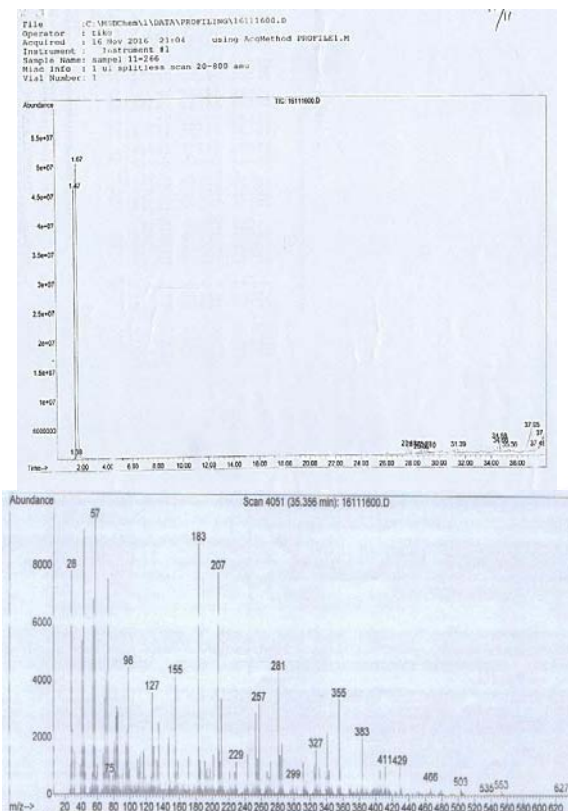
Gambar 1. Hasil spektroskopi UV-Vis isolat kulit batang tumbuhan Mengkudu

Hasil pengukuran menggunakan spektroskopi FTIR menunjukkan pita serapan tajam pada bilangan gelombang 3379,4 cm^{-1} yang melebar dari gugus -OH. Serapan C - H (alkil) pada daerah bilangan gelombang 2935,76 cm^{-1} . Gugus C=O pada daerah bilangan gelombang 1730,21 cm^{-1} . Uluran C=C (alifatik) pada daerah bilangan gelombang 1649,19 cm^{-1} , serta serapan C-O-C aril pada bilangan gelombang 1265,35 cm^{-1} sampai 1076,32 cm^{-1} .



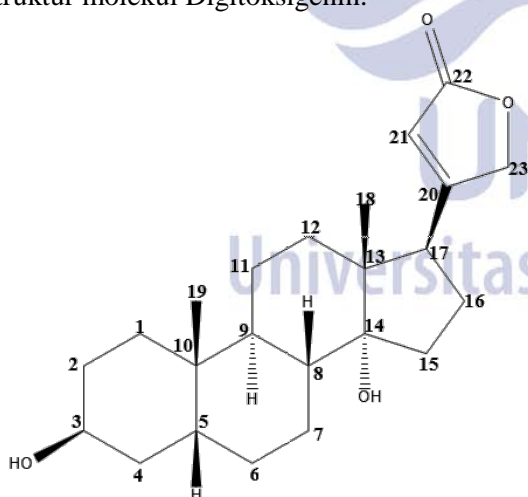
Gambar 2. Hasil spektroskopi FTIR isolat kulit batang tumbuhan Mengkudu

Hasil spektroskopi GC-MS menunjukkan adanya ion molekul senyawa yang muncul pada m/z 55, 75, 127, 155, 183, 281, 327 dan 355.



Gambar 3. Hasil spektroskopi GC-MS isolat kulit batang tumbuhan Mengkudu

Berdasarkan hasil identifikasi tersebut, isolat kulit batang tumbuhan mengkudu diduga memiliki kandungan senyawa Digitoksigenin (IUPAC: 3 β ,14-dihidroksi-5 β -kard-20(22)-enolid) dengan rumus molekul C₂₃H₃₄O₄. Berikut struktur molekul Digitoksigenin.



Gambar 4. Struktur senyawa Digitoksigenin

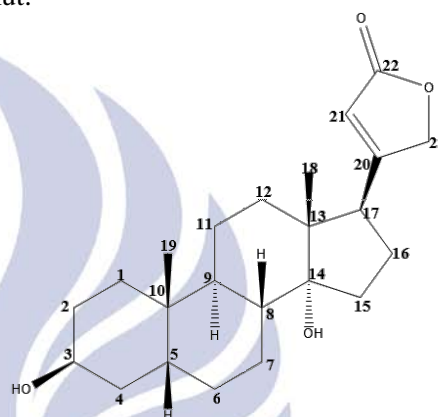
Digitoksigenin merupakan salah satu senyawa steroid pada tumbuhan dalam bentuk kardenolida atau γ -laktone (Kasal, 2010). Digitoksigenin dapat larut sempurna dalam pelarut metanol, hal ini dikarenakan pelarut metanol dapat melarutkan

senyawa polar hingga non polar (McMurry, 1992 dalam Samosir, 2011).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa struktur molekul senyawa hasil isolasi dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) diduga merupakan senyawa Digitoksigenin (IUPAC: 3 β ,14-dihidroksi-5 β -kard-20(22)-enolid) dengan rumus molekul C₂₃H₃₄O₄ dan struktur molekul sebagai berikut:



Saran

Saran yang dapat diberikan untuk peneliti selanjutnya adalah sebagai berikut:

1. Melengkapi data untuk lebih meyakinkan bahwa isolat yang diperoleh adalah senyawa Digitoksigenin dengan C-NMR dan H-NMR.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bangun, A. P., dan Sarwono, B. 2002. *Khasiat dan Manfaat Mengkudu*. Tangerang: Agro Media.
2. Hayani, Eni, dan Fatimah, Tjitjah. 2004. *Identifikasi Komponen Kimia dalam Biji Mengkudu (Morinda citrifolia L.)*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
3. Kasal, Alexander, Budesinsky, Milos and Griffiths, William J. 2010. *Spectroscopic Methods of Steroid Analysis*. Swansea: Swansea University.
4. Rizal, Rahmat. 2011. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Insektisida Isolat dari Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Toona sinensis (A. Juss) Roem (Meliaceae)*. Surabaya: Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya.
5. Rukmana, R. 2002. *Mengkudu: Budidaya dan Prospek Agribisnis*. Yogyakarta:

- Kanisius.
6. Sahidin. 2006. *Tiga Oligomer Resveratrol dari Kulit Batang Hopea Gregaria (dipterocarpaceae) Serta Sifat Toksik dan Sitotoksiknya*. Sulawesi Tenggara: Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Haluoleo Kendari.
 7. Samosir Y. 2011. *Tinjauan Pustaka Lemak dan Minyak*. Repository.usu.ac.id. Diakses 21 September 2016 pukul 04.00 WIB.
 8. Sang, S., Wang, M., He, K., Liu, G., Dong, Z., Badmaev, V., Zheng, Q. Y., Ghai, G., Rosen, R. T., Ho, C. T. 2002. Chemical Components in Noni Fruits and Leaves (*Morinda citrifolia* L.). *American Chemistry Society*. Washington DC. pp. 134-150.
 9. Sitepu, J. 2012. *Kandungan Senyawa dan Manfaat Mengkudu*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
 10. Surya, Hermawan. 2009. *Efek Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Kadar Enzim SGOT dan SGPT pada Mencit dengan Induksi Karbon Tetraklorida*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
 11. Teguh. 2012. *Mengkudu (Morinda citrifolia L.)*. www.academia.edu. (Diakses 20 Februari pukul 19.00 WIB).

