

**ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK *n*-HEKSANA  
DAUN TUMBUHAN MAJAPAHIT (*Crescentia cujete*)**

**ISOLATION OF SECONDARY METABOLITES FROM *n*-HEXANE EXTRACT OF  
MAJAPAHIT LEAF (*Crescentia cujete*)**

**Intan Fardilla dan Nurul Hidajati\***

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

\*Corresponding author, telp: 0817300411, email: nurulhidajati@unesa.ac.id

**Abstrak.** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan struktur molekul senyawa metabolit sekunder dari ekstrak *n*-heksana daun tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete*). Isolasi menggunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut *n*-heksana dan diuapkan dengan rotary vacuum evaporator. Fraksinasi ekstrak *n*-heksana menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG) yang dimonitor melalui kromatografi lapis tipis (KLT), pemurnian melalui rekristalisasi. Penentuan struktur molekul menggunakan spektrokopi UV-Vis, IR, dan GC-MS. Hasil skrining uji fitokimia positif mengandung steroid dan tannin. Rekristalisasi menghasilkan serbuk putih sebanyak 33 mg dengan titik leleh 141-142°C. Hasil uji kualitatif isolat menunjukkan warna biru kehijauan yang mengidentifikasi bahwa isolat merupakan golongan steroid. Berdasarkan analisis data UV-VIS, FT-IR, dan GR-MS, senyawa yang terkandung diduga stigmasta-5,22-dien-3- $\beta$  ol.

**Kata Kunci:** *Crescentia cujete*, ekstrak *n*-heksana, steroid, stigmasta-5,22-dien-3- $\beta$  ol.

**Abstract.** The aim for this research is to determine the molecular structure of secondary metabolites from *n*-hexane extract of majapahit leaf (*Crescentia cujete*). Isolation was used extraction method using maseration with *n*-hexane and evaporated by rotary vacuum evaporator. Fractionation of *n*-hexane extract were conducted by vacuum liquid chromatography (VLC) and column chromatography gravity (CCG) monitored by thin layer chromatography (TLC), purification by recrystallization method. The determine molecular structure of isolates by UV-VIS, IR, and GC-MS. The phytochemical screening result positive contains steroid and tannin. Recrystallization gained colorless powder as much 33 mg with melting point 141-142°C. The result of qualitives test of isolate showed greenish-blue colour indicating that isolate was steroid. According to analysis UV-Vis, FT-IR, and GC-MS, isolate was expected stigmasta-5,22-dien-3- $\beta$  ol.

**Keywords:** *Crescentia cujete*, *n*-hexane extract, steroid, stigmasta-5,22-dien-3- $\beta$  ol

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya tumbuhan. Beberapa famili tumbuhan mengandung racun yang dapat digunakan sebagai insektisida nabati. Famili Bignoniaceae memiliki beberapa potensi sebagai insektisida antara lain *Jacaranda mimosaeifolia*, *Jaracanda obtusifolia*, *Markhamia stipulata*, dan *Crescentia cujete* [1].

Tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete*) umum dijumpai di daerah tropis. Tanaman ini merupakan jenis tanaman dikotil berbunga yang berasal dari

Grenada [1]. Kegunaan dari tumbuhan majapahit adalah sebagai kayu bakar, buahnya digunakan untuk tempat air dan gayung, daunnya sebagai pakan ternak, dan sebagai tanaman hias.

Berdasarkan literatur yang telah ditelusuri, buah maja mengandung fenolik, flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, cardenolid [2]. Ekstrak metanol daun majapahit mengandung alkaloid, triterpenoid, fenolik, dan saponin. [3]. Dalam penelitian yang dilakukan Nurhasanah, menyebutkan bahwa dari hasil penelitian yang dilakukan uji bioaktivitas ekstrak tumbuhan majapahit LC<sub>50</sub> pada rayap

menunjukkan fraksi n-heksana sebesar 1.323%, ekstrak kasar etanol sebesar 1.548%, dan fraksi etanol 8,296%, dan fraksi kloroform sebesar 0.982%. Menurut Nurhasanah, ekstrak n-heksana mengandung senyawa alkaloid, steroid, polifenol, dan saponin [4].

Metode yang digunakan adalah metode ekstraksi. Ekstraksi yang dilakukan adalah dengan cara maserasi menggunakan pelarut n-heksana. Dipisahkan dengan sistem 2 eluen atau lebih, kemudian di KCV dan di KKG serta dimonitor dengan KLT dan dimurnikan dengan cara rekristalisasi. serta diidentifikasi dengan metode spektroskopi UV-Vis, FTIR, dan GC-MS [5].

Penelitian tentang isolasi dan kandungan kimia ekstrak n-heksana belum dilaporkan. Sehingga, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang senyawa metabolit sekunder dari ekstrak n-heksana daun tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete*).

## METODE PENELITIAN ALAT

Peralatan yang digunakan untuk isolasi senyawa meliputi seperangkat alat yang digunakan untuk ekstraksi dengan cara maserasi, seperangkat alat penyaring Buchner, neraca analitik, gelas kimia (100 mL, 250 mL, dan 500 mL), gelas ukur (100 mL, 25 mL, dan 10 mL) cawan petri, pipet tetes, kertas tisu, tabung vial, botol, *rotary vacuum evaporator*, seperangkat kromatografi vakum cair, seperangkat kromatografi kolom gravitasi, dan plat KLT.

Peralatan untuk fitokimia antara lain plat tetes, spatula, gelas kimia 400 mL dan 100 mL, gelas ukur 10 mL, tabung reaksi, kompor, kasa, rak tabung reaksi, pipet tetes. Peralatan yang digunakan untuk identifikasi adalah Fisher John *Melting Point Apparatus*, spektrofotometer FT-IR Shimadzu, spektrofotometer UV-Vis Shidzumadzu, spektrofotometer GC-MS QP2010S Shimadzu.

## BAHAN

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi kolom adalah pelarut teknis etil asetat, etanol, metanol, heksana, dan kloroform p.a. Untuk kristalisasi dan kemurnian isolat digunakan pelarut pro analisis. Penyemprotan atau penampakan noda KLT digunakan larutan jenuh  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  1.5% dalam

$\text{H}_2\text{SO}_4$  2N. Fasa diam KCV menggunakan silica gel Merk Keisegel 60 F<sub>254</sub> 0.25 mm, 20 cm x 20 cm, serta serbuk kering daun tumbuhan majapahit.

Bahan-bahan yang digunakan dalam fitokimia antara lain metanol 70%,  $\text{FeCl}_3$  5%, etanol 70%, serbuk pita Mg, HCl pekat, aquades, n-heksana, kloroform p.a, ammonia pekat,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, reagen Mayer, Wagner, Dragendrof, dan  $\text{FeCl}_3$  1%.

## PROSEDUR PENELITIAN

### Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana Daun Tumbuhan Majapahit

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete*) sebanyak 10,1 kg daun basah. Daun majapahit kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, dikeringkan tanpa menggunakan sinar matahari atau hanya di angin-anginkan.

Sampel berupa serbuk kering halus daun tumbuhan majapahit sebanyak  $\pm 2$  kg dimaserasi berturut-turut dengan pelarut n-heksana selama 24 jam. Dan diulang sebanyak 3x pada suhu ruang kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Setelah melakukan ekstraksi dan didapatkan ekstrak n-heksana kemudian dilakukan uji fitokimia yang meliputi uji flavonoid, saponin, fenolik, tannin, alkaloid, steroid dan triterpenoid [5][6].

Ekstrak kental n-heksana dipisahkan menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan eluen etil asetat dan n-heksana. Hasil KCV kemudian dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan perbandingan eluen n-heksana: etil asetat = 8:2. Fraksi yang memperlihatkan noda yang sama digabung dan dimurnikan dengan cara rekristalisasi dengan menggunakan pelarut kloroform dan metanol p.a. Pengukuran titik leleh dan KLT dengan sistem tiga eluen dilakukan untuk mengetahui kemurnian isolat. Senyawa hasil isolasi yang telah dimurnikan kemudian diuji menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, metode spektroskopi UV-Vis, FT-IR, dan GC-MS.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete*) sebanyak 10,1 kg daun basah. Daun majapahit kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, dikeringkan tanpa menggunakan sinar matahari atau hanya di angin-anginkan. Pengeringan ini bertujuan untuk menghilangkan air yang terkandung di dalam sampel dan supaya sampel dapat disimpan lebih lama.

Serbuk halus sebanyak 2 kg direndam/dimaserasi dengan pelarut n-heksana selama 24 jam dan dilakukan sebanyak 3 kali dengan pelarut baru hingga didapatkan ekstrak berwarna hijau kehitaman kemudian disaring menggunakan corong Buchner dan Erlenmeyer pipa samping. Filtrat diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan didapatkan ekstrak kental sebesar 17,4279 gr. Ekstrak kental n-heksana yang terbentuk kemudian diuji fitokimianya, yang dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

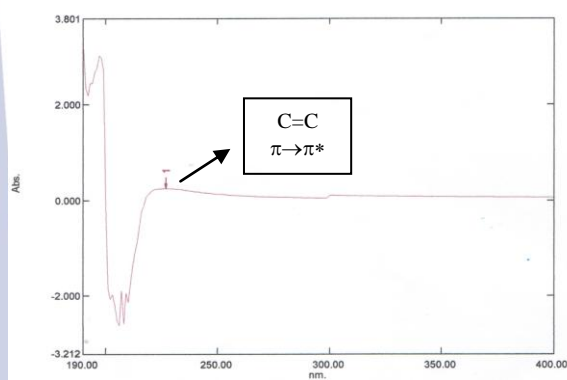
Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak n-heksana Daun Tumbuhan Majapahit

No.	Uji Fitokimia	Hasil Identifikasi	Keterangan
1.	Terpenoid	Biru kehijauan	Negatif (-)
2.	Steroid	Biru kehijauan	Positif (+)
3.	Fenolik	Coklat	Negatif (-)
4.	Flavonoid	Hijau	Negatif (-)
5.	Alkaloid	- Meyer: endapan hijau - Wagner: endapan coklat - Dragendorf: endapan ungu	Negatif (-)
6.	Saponin	Terbentuk busa tidak stabil	Negatif (-)
7.	Tannin	Coklat kehijauan	Positif (+)

Ekstrak kental n-heksana dipisahkan menggunakan metode KCV dengan eluen n-heksana dan etil asetat menghasilkan 154 fraksi. Hasil pemisahannya dimonitoring dengan menggunakan KLT dengan perbandingan eluen n-heksana: etil asetat = 8:2.

Fraksi 61-69 yang memperlihatkan noda yang sama pada KLT digabung dan membentuk kristal putih kehijauan pada dinding vial. Sehingga dilakukan proses rekristalisasi dengan menggunakan pelarut kloroform p.a dan metanol p.a. Proses rekristalisasi dilakukan dua kali sehingga didapatkan serbuk putih sebanyak 33 mg dengan titik leleh 141-142°C.

Hasil uji KLT dengan sistem 3 eluen dengan perbandingan eluen heksana:etil asetat (8:2), heksana: metanol (3:2), dan heksana:kloroform (4:1). Masing-masing memiliki harga Rf 0,4375; 0,21875; dan 0,15625. Hasil uji isolat menggunakan Liebermann-Burchard menunjukkan warna biru kehijauan yang menandakan isolat positif merupakan senyawa steroid.



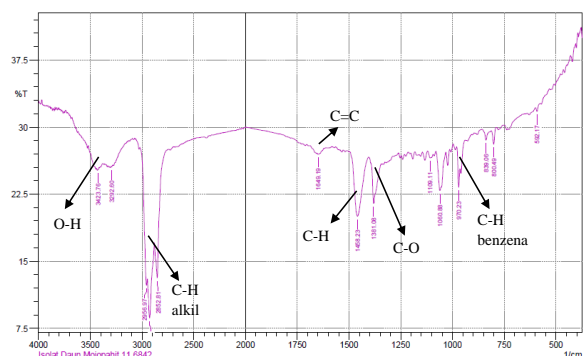
Gambar 1. Spektrum UV-Vis

Berdasarkan gambar 1, data spektrum UV-Vis menunjukkan serapan maksimum senyawa hasil isolasi pada daerah 227 nm, terjadi transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Hal ini menandakan senyawa memiliki kromofor ikatan rangkap tak terkonjugasi (C=C).

Data spektrum IR pada gambar 2, senyawa hasil isolasi terdapat melebar antara 3600-2900  $\text{cm}^{-1}$  yang menandakan keberadaan gugus hidroksil (-OH). Keberadaan gugus alkil ditunjukkan oleh pita vibrasi ulur C-H alkil pada daerah 2956,97-2852,1  $\text{cm}^{-1}$  menandakan senyawa tersebut mengandung sejumlah gugus metil (-CH<sub>3</sub>), metilen (-CH<sub>2</sub>-) dan gugus metin (-CH-) serta adanya vibrasi tekuk pada 1458,23-1381,08  $\text{cm}^{-1}$  menandakan adanya gugus alkil. Adanya serapan lemah pada daerah 1649,19  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan keberadaan ikatan rangkap dua alkena (C=C). Pada 1060,88  $\text{cm}^{-1}$  terdapat pita serapan pada yang menandakan adanya C-O. Ikatan C-H tekukan benzena tersubstitusi terdeteksi pada serapan 970,23  $\text{cm}^{-1}$ . Berdasarkan spektrum

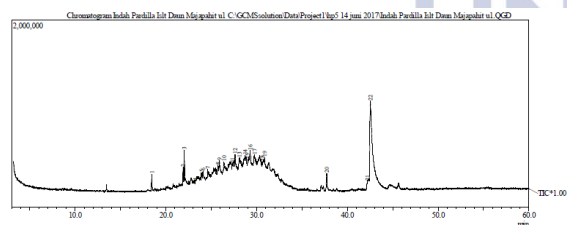


inframerah, isolat ekstrak n-heksana daun tumbuhan majapahit mengandung gugus –OH, C=C alkena, C-O, dan C-H tekukan benzena yang merupakan ciri-ciri dari golongan steroid.

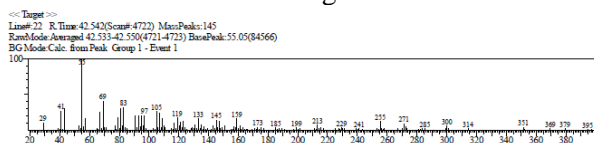


Gambar 2. Spektrum IR

Berdasarkan analisis spektroskopi GC-MS pada gambar 3 dan 4, isolat merupakan senyawa yang memiliki massa molekul relatif 412. Dengan persentase luas sebesar 49,94%. Dari hasil data GC-MS menunjukkan berat molekul relatif pada m/z yakni 412, dengan sebaran ion fragmentasi (m/z): senyawa dengan massa molekul 412(a) menunjukkan puncak-puncak ion pada m/z, yaitu: 395, 379, 369, 351, 314, 300, 285, 271, 255, 241, 229, 213, 199, 185, 173, 159, 145, 133, 119, 105, 97, 83, 69, 55, 41, dan 29. Spektrum massa senyawa memiliki kemiripan dengan trans stigmasta-5,22-dien-3-β ol dengan rumus molekul C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O. Kromatograf isolat ditunjukkan pada gambar 3 dan spektrum massa isolat ditunjukkan gambar 4.



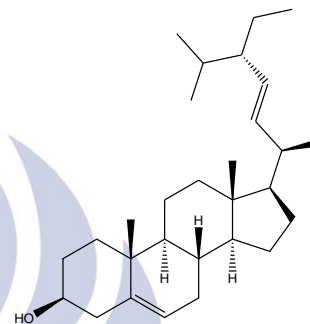
Gambar 3. Kromatograf GC isolat



Gambar 4. Spektrum Massa isolat

Dalam penelitian Riza (2014) hasil GC-MS yang diperoleh untuk stigmasterol memiliki sebaran ion fragmentasi (m/z), yaitu: 394, 369, 351, 314, 300,

281, 271, 255, 241, 229, 213, 199, 187, 175, 159, 147, 123, 105, 97, 83, 69, 55, dan 41 [7]. Sedangkan pada penelitian P. R, Dande (2013), sebaran ion fragmentasi (m/z), yaitu sebagai berikut: 398, 351, 300, 271, 255, 213, 199, 185, 173, 159, 147, 145, 133, 119, 105, 95, 91, 83, 81, 69, 67, 57, 55, 43, dan 41 [8]. Jika dibandingkan dengan isolat yang didapatkan dalam penelitian ini, hampir sama. Sehingga, dapat disimpulkan isolat diduga stigmasta-5,22-dien-3-β ol yang ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Struktur stigmasta-5,22-dien-3-β ol

## KESIMPULAN

Senyawa yang terkandung dalam isolat ekstrak n-heksana daun tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete*) diduga merupakan senyawa stigmasta-5,22-dien-3-β ol dengan rumus molekul C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O yang memiliki titik leleh sebesar 141-142°C.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan untuk LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Purwodadi yang telah membantu untuk mengidentifikasi tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Wardani, Fitri Fatma, dan Angga Yudaputra. 2015. Inventarisasi Koleksi Tumbuhan Kebun Raya Bogor yang Berpotensi sebagai Pestisida Nabati. *Pros Semnas Masy Biodiv Indon Vol.1, No.3, Hal 528-533*
2. Ejelonu BC, Lasisi AA, Olaremu AG, dan Ejelonu OC. 2011. The chemical constituent of calabash (*Crescentia cujete*). *Jurnal Bioteknologi Africa Volume 10(84) Hal 19631-19635*
3. Erwin, Chaerul Saleh, dan Tika Purwitasari. 2012. Uji Hipoglikemik Ekstrak Metanol Daun Majapahit (*Crescentia cujete Linn*) terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan. *Jurnal Kimia Mulawarmannrin Vol.9, No.2, Hal 50-55*

4. Nurhasanah, dkk. 2014. Uji Bioaktivitas Ekstrak Daun Maja (*Crescentia cujete Linn*) Sebagai Anti Rayap. *JKK FMIPA Universitas Tanjungpura Vol 3(3) Hal 43-48*
5. Risadatul Amalyah dan Nurul Hidajati. 2015. Isolasi Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Insektisida Ekstrak N-heksana Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccenciss*). *Unesa Journal of Chemistry Vol .4, No.1, Hal 25-30*
6. Elasti Imanta dan Nurul Hidajati. 2017. Uji Biolarvasida Nyamuk *Aedes aegypti* dari Hasil Isolasi Ekstrak Metanol Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata NESS*). *Unesa Journal of Chemistry Vol. 6, No. 1, January 2017*
7. Riza Rofida Mukharromah dan Suyatno. 2014. Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Dikloromentana Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*). *Unesa Journal of Chemistry Vol. 3, No.3, September 2014*
8. P.R. Dande, etc.2013. GC-MS Analysis of Bioactive Unsaponifiable Fraction From *Sesbania Sesban L (Merr)*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences 4(3): (P) 1025-1035*

