

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER dari EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN TANAMAN PECUT KUDA (*Stachytarpheta jamaicensis*)

ISOLATION OF SECONDARY METABOLITES COMPOUNDS FROM ETHYL ACETATE EXTRACT OF PECUT KUDA LEAF (*Stachytarpheta jamaicensis*)

Mochammad Dany Rizaldy dan Nurul Hidajati*

Departemen of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

State University of Surabaya

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

*Corresponding author, e-mail: nurulhidajati@unesa.ac.id

Abstrak. Tujuan penelitian ini yakni untuk menentukan struktur molekul senyawa yang dominan hasil isolasi ekstrak etil asetat daun tanaman pecut kuda (*S. Jamaicensis*) dan aktivitasnya sebagai antijamur. Tahap awal dari penelitian ini adalah ekstraksi dengan metode maserasi dan partisi. Kemudian dilakukan proses isolasi dengan metode KCV (Kromatografi Cair Vakum) dan KKG (Kromatografi Kolom Gravitasi) serta dimonitoring menggunakan KLT dengan perbandingan eluen diklorometan : etil asetat (8:1) hingga didapatkan isolat murni. Identifikasi senyawa pada isolat murni menggunakan metode uji fitokimia dan instrumen UV-VIS, FT-IR dan GC-MS. Perolehan ekstrak etanol sebanyak 104,12 gram dan hasil partisi etil asetat sebanyak 12,6 gram. Isolat hasil KKG berupa serbuk berwarna hijau. Serbuk tersebut direkrystalisasi yang bertujuan untuk memurnikan isolat, sehingga didapatkan isolat murni berwarna hijau sebesar 36,3 mg. Senyawa hasil isolasi dari pengujian UV-VIS, FT-IR, dan GC-MS adalah 2,4-ditert-butil-fenol yang termasuk golongan fenolik.

Kata kunci: Ekstraksi, etil asetat, *Stachytarpheta Jamaicensis*, isolasi, 2,4-ditert-butil-fenol.

Abstract. The purpose of this research was to determine the molecular structure of the dominant compound from the isolation of ethyl acetate extract from the leaves of the whip horse plant (*S. Jamaicensis*) and its activity as an antifungal. The initial stage of this research is extraction by maceration and partitioning methods. Then the isolation process was carried out with the KCV (Vacuum Liquid Chromatography) and KKG (Gravity Column Chromatography) methods and monitored using TLC with dichloromethane: ethyl acetate (8: 1) eluent ratio until pure isolates were obtained. Identification of compounds in pure isolates using phytochemical test methods and UV-VIS, FT-IR and GC-MS instruments. The acquisition of ethanol extract was 104.12 grams and the result of ethyl acetate partition was 12.6 grams. KKG isolates in the form of green powder. The powder was recrystallized which aims to purify the isolate, to obtain pure green isolate of 36.3 mg. The isolated compound from UV-VIS, FT-IR, and GC-MS testing is 2,4-ditert-butyl-phenol which is a phenolic group.

Key words: Extraction, ethyl acetate, *Stachytarpheta Jamaicensis*, isolation, 2,4-ditert-butyl-fenol.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara maritim yang mempunyai hutan hujan tropis serta keragaman sumber daya alam hayati didalamnya. Hal tersebut dikarenakan Indonesia

terletak pada garis khatulistiwa yang memiliki tingkat kelembapan, pencahayaan, dan curah hujan yang cukup. Keanekaragaman sumber daya alam hayati tersebut ada yang memiliki aktivitas untuk menyembuhkan beberapa

macam penyakit dan biasa disebut dengan tanaman obat.

Tanaman obat mengandung senyawa bioaktif, sehingga digunakan sebagai sumber alami yang memiliki manfaat terapi serta perawatan yang terjangkau terhadap berbagai macam penyakit. Tanaman obat telah digunakan dalam skala global sebagai obat alternatif yang disintesis secara kimia dalam pengobatan penyakit. Penelitian telah menunjukkan bahwa tanaman obat ini mengandung metabolit sekunder dan telah melaporkan peran mereka dalam berbagai sifat obat, termasuk analgesik, antidiare, antimikroba, antioksidan, antihipertensi, antinosiseptif, dan antiinflamasi [1].

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai tanaman obat adalah tanaman *S. jamaicensis* (famili *Verbenaceae*) atau dikenal dengan sebutan tanaman pecut kuda di Indonesia, merupakan tanaman yang berasal dari daerah selatan Florida. Selain itu *S. jamaicensis* juga tumbuh di daerah tropis benua Asia termasuk Indonesia dan Filipina. Tanaman pecut kuda merupakan tanaman liar yang tidak terawat yang sering dijumpai di sisi jalan maupun di ladang, dan tanaman ini termasuk tanaman gulma yang dapat mengganggu pertumbuhan dari tanaman lain. Hampir seluruh bagian tanaman ini bisa dijadikan obat diantaranya diketahui berkhasiat sebagai pembersih darah, anti radang, diuretik (melancarkan urinasi), keputihan dan batuk. Beberapa khasiat obat tersebut dapat terjadi karena dalam tanaman pecut kuda terkandung beberapa jenis senyawa bioaktif [2].

Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak metanol 80% daun tanaman pecut kuda mengandung tanin, flavonoid, saponin, sterol, dan triterpen [3]. Pada penelitian lain daun pecut kuda mengandung senyawa iridoid glikosida, glikosida fenilpropanoid, dan verbascosida [4]. Froelich, *et al.*(2008)[5] berhasil mengisolasi 5 senyawa feniletanoid glikosida yakni iso-acteosida, acteosida, leucosceptosida A, martynosida, jionosida D. Senyawa ester kafeat glikosida dengan nama

sturtur β -(3, 4 - dihydroxyphenyl)- ethyl- O - α - L - rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 3) - β - D - (4 - O - Caffeoyle) - glucopyranoside berhasil diisolasi dari tanaman pecut kuda [6]. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa daun pecut kuda mengandung beberapa jenis senyawa metabolit sekunder fenolik maupun non-fenolik.

Senyawa fenolik memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antijamur, dan anti bakteri. Senyawa fenolik dapat diisolasi dari pelarut etil asetat yang sesuai hasil penelitian dari Onofre bahwa total fenolik terbanyak dari tanaman *S.cayennensis* didapatkan menggunakan pelarut etil asetat dengan rata-rata 15,33% [7]. Pelarut etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semipolar yang memiliki kemampuan melarutkan senyawa fenolik disamping senyawa non fenolik, sehingga diharapkan dengan menggunakan pelarut etil asetat tersebut akan mendapatkan suatu senyawa fenolik yang memiliki tingkat kepolaran yang tidak jauh berbeda dengan etil asetat. Senyawa metabolit sekunder yang larut dalam pelarut semipolar adalah alkaloid bebas, asam fenolat, fenilpropanoid, flavonoid, antraknon, santon, dan stilben [8].

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat ekstraksi dengan metode maserasi, seperangkat alat penyaring Buchner, rotary vacum evaporator (Heidolp laborata 4001), seperangkat alat kromatografi cair vakum, seperangkat alat kromatografi kolom gravitasi, differential scanning calorimetry, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Pharma Spec.UV-1700), FT-IR (Perkin Elmer USA 89485), GC-MS (Shimadzu QP-2010S) .

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, kloroform p.a, etil asetat teknis, n-heksana teknis, metanol teknis, asam sulfat pekat p.a, anhidrida asetat, asam klorida

pekat, larutan besi(III) klorida 5%, ammonia, logam Mg, etanol 70%, aquades, reagen Liebermann-Burchard, reagen Mayer, reagen Dragendorf, reagen Wagner, silika gel Merck G-60 (60-200 μm), pelat KLT kiesel gel G 60 F-254 (20;20;0,25 mm), gelatin.

PROSEDUR PENELITIAN

a. Tahap Pengumpulan dan Perparasi Sampel

Sebanyak 10 kg sampel daun tanaman pecut kuda diperoleh dari Desa Cinta Asih, Kabupaten Bandung Barat, Provinsi Jawa Barat. Selanjutnya diidentifikasi di Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur. Kemudian sampel dicuci untuk dipisahkan dari kotoran yang menempel, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dan digiling hingga diperoleh serbuk halus yang diekstrak.

b. Ekstraksi dan Isolasi

Sebanyak 3 kg serbuk halus daun tanaman pecut kuda di maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3 kali selama 24 jam pada suhu kamar. Proses ekstraksi dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan penyaring Buchner yang dilengkapi dengan vakum dan filtrat yang dihasilkan, selanjutnya diproses menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk diuapkan serta diperoleh ekstrak etanol kental. Kemudian ekstrak yang dihasilkan dipartisi dengan n-heksana, dan di partisi kembali dengan pelarut etil asetat. Proses partisi dilakukan dengan cara dikocok sampai terjadinya pemisahan menjadi dua fasa [9]. Ekstrak etil asetat yang diperoleh di evaporasi untuk dilakukan uji fitokimia dan proses isolasi.

Ekstrak di isolasi dan dipisahkan komponen yang terkandung dengan metode kromatografi cair vakum (KCV)

menggunakan silika gel GF-254 serta dilanjutkan dengan proses KKG. Kemudian senyawa hasil isolasi dimonitor menggunakan pelat KLT silika gel F-254. Fraksi yang menunjukkan satu noda dan memiliki nilai Rf yang sama pada KLT digabung, selanjutnya proses rekristalisasi dilakukan untuk memurnikan isolat. Kemurnian isolat diuji menggunakan metode penentuan titik leleh dan KLT sistem tiga eluen yang berbeda dan sesuai. Senyawa dalam isolat yang relatif murni akan membentuk satu noda pada tiap KLT dengan campuran eluen berbeda [10] dan dilanjutkan uji penentuan titik leleh. Isolat murni diidentifikasi menggunakan instrument spektrofotometer UV-VIS, FT-IR, dan GC-MS untuk mengetahui struktur senyawa yang terkandung di dalamnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

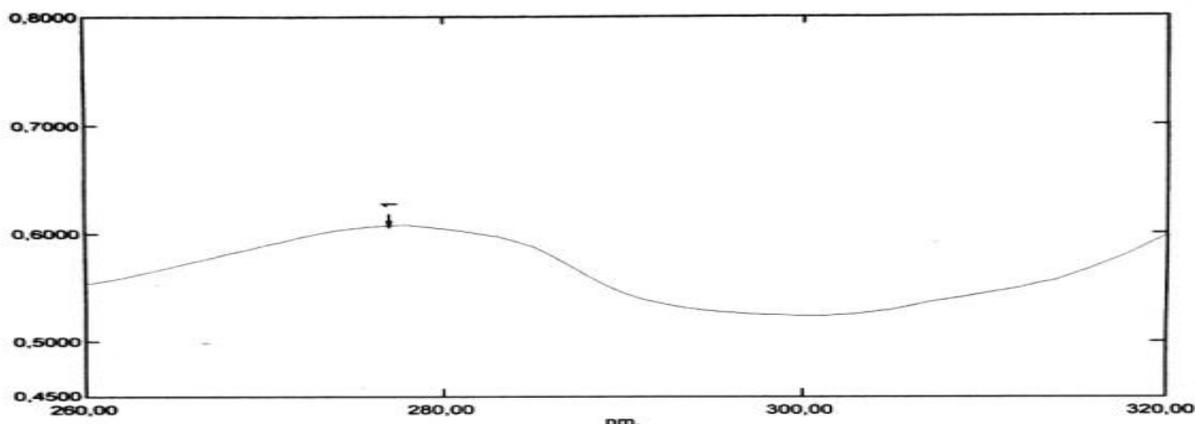
a. Hasil Uji Fitokimia

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia

Uji Fitokimia	Hasil Uji Fitokimia
Alkaloid	+
- Mayer	+
- Wagner	-
- Dragendorf	+
Steroid	+
Triterpenoid	-
Fenolik	+
Flavonoid	-
Saponin	-
Tanin	-

b. Identifikasi Senyawa

Hasil pembacaan instrumen (UV-Vis, IR, dan GC-MS) dari isolat dijelaskan sebagai berikut. Hasil pengukuran spektrum UV-VIS dapat dilihat pada Gambar 1.

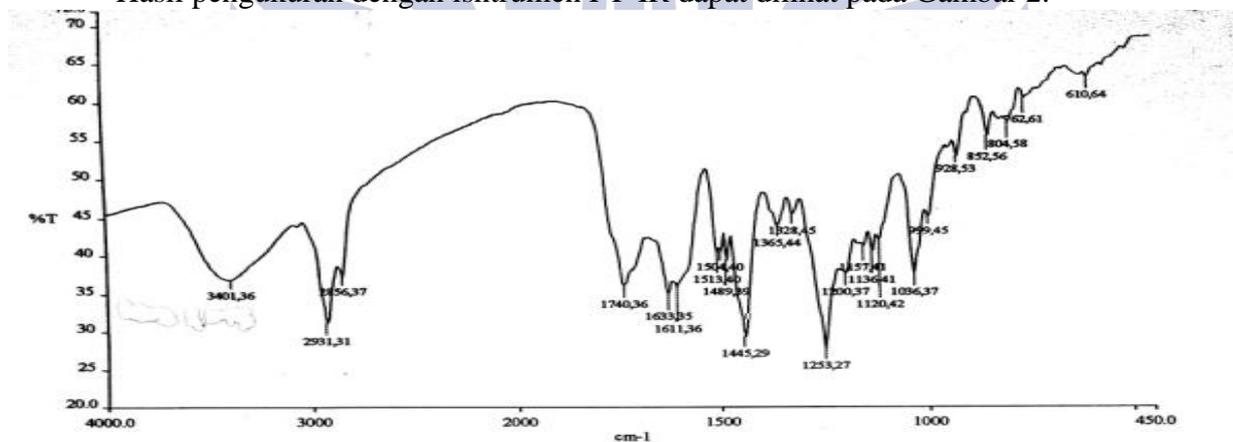


Gambar 1. Spektrum UV-Vis Isolat

Hasil data pembacaan UV-Vis didapatkan munculnya puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 277 nm pada panjang gelombang tersebut terjadi transisi elektron dari orbital $\pi \rightarrow \pi^*$ oleh

adanya ikatan C=C pada benzena serta adanya gugus hidroksil yang menempel pada benzena, dari data tersebut menunjukkan bahwa adanya senyawa fenol yang terkandung didalam isolat [8].

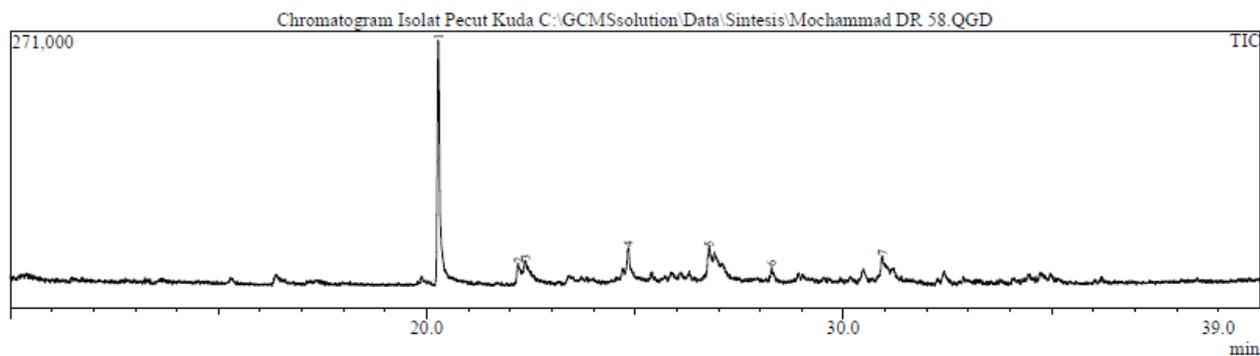
Hasil pengukuran dengan instrumen FT-IR dapat dilihat pada Gambar 2.



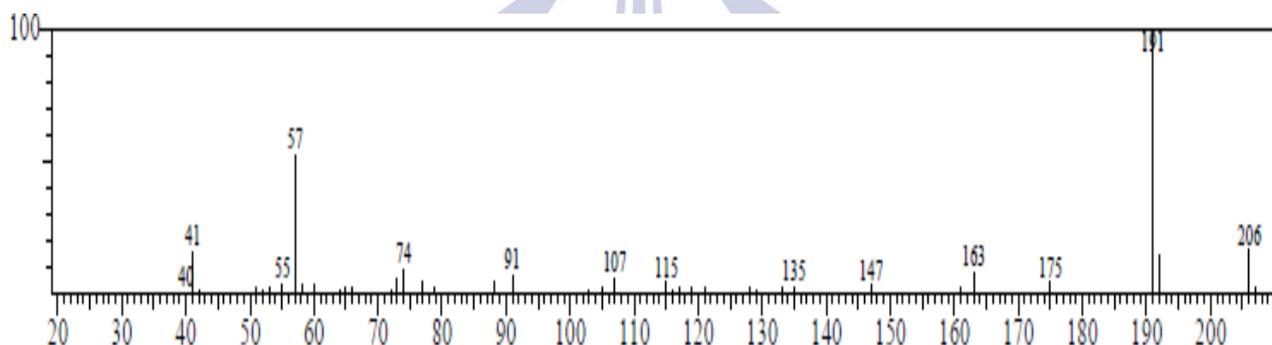
Gambar 2. Spektrum FT-IR

Serapan IR senyawa pada isolat memperlihatkan menunjukkan adanya gugus -OH pada serapan bilangan gelombang 3401,36 cm^{-1} , serapan pada bilangan gelombang 2931,31-2856,37 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus metil (-CH₃), serapan pada bilangan gelombang 1633,35-1504,40 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C, serapan pada bilangan gelombang 999,45-762,61 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus Ar-H.

Hasil pembacaan spektrum GC-MS senyawa isolat menunjukkan adanya 7 puncak. Puncak no 1 adalah senyawa dominan dengan % area sebesar 70,25%. Massa molekul relatif dari puncak no 1 adalah 206 dengan base peak pada 191. Nilai m/z pada masing-masing puncak yaitu : 206, 191, 175, 163, 147, 135, 115, 107, 91, 74, 57, 55, 41, 40.

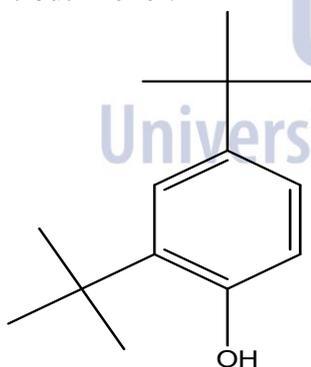


Gambar 3. Kromatogram GC Isolat



Gambar 4. Spektrum MS Isolat

Menurut data library GC-MS WILEY7.LIB di Jurusan Kimia Universitas Brawijaya menunjukkan bahwa senyawa isolat puncak ke-1 memiliki tingkat kemiripan menurut *Similarity index* sebesar 95% dengan senyawa 2,4-di-tert-butil-fenol. Berikut adalah struktur molekul senyawa 2,4-di-tert-butil-fenol:



Gambar 5. Struktur senyawa Isolat (2,4-di-tert-butyl-fenol)

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etil asetat daun tanaman pecut kuda (*S. jamaicensis*) mengandung suatu senyawa fenolik yaitu 2,4-di-tert-butyl-fenol yang berupa isolat serbuk kering berwarna hijau seberat 0,0366 gram

DAFTAR PUSTAKA

1. M. Rahmatullah, R. Jahan, F. M. S. Azam, S. Hossan, M. A. H. Mollik, and T. Rahman. 2011. Folk medicinal uses of verbenaceae family plants in Bangladesh. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 8 (5): 53–65.
2. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid I dan II. Terj. Badan Libang Kehutanan. Cetakan I. Koperasi karyawan Departemen Kehutanan Jakarta Pusat

3. Indrayani, L., Hartati, S., & Lydia, S. 2006. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika. Universitas Kristen Satya Wacana*, 57-61.
4. Rokyal, A. S. 2015. Uji Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L) Sebagai Penghambat Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Jurnal Tadris IPA Biologi FITK IAIN Mataram*, 200-210.
5. Sonja Froelich, Mahabir P. Gupta, Karsten Siems, Kristina Jenett-Siems. 2008. Phenylethanoid glycosides from *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, Verbenaceae, a traditional antimalarial medicinal plant. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 18 (4): 517-520.
6. M. Mohammed, A.M. Musa, A.A. Adeiza, S. H. Musa & L. Lande. 2013. Bioactive Caffeic Glycoside Ester and Antimicrobial Activity of Various Extracts from the Leaf of *Stachytarpheta angustifolia* Mill Vahl (Verbenaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2 (3): 77-85.
7. Onofre, S. B., Zípora M. Q. d. S., Francini Y. K., & Shaiana P. M. 2015. Antifungal activity of the aqueous extract of *Stachytarpheta cayennensis*, (Rich.) Vahl. (Verbenaceae), on oral candida species. *Journal of Medicinal Plant Research*.42-47.
8. Suyatno. 2016. *Penentuan Struktur Molekul Senyawa Organik*. Surabaya: Penerbit Unesa University Press.
9. Amalyah, R & Nurul Hidajati. 2015. Isolasi Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Insektisida Ekstrak N-Heksan Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccenciss*). *Journal of Chemistry*. 4 (1): 25-30.
10. Rahmawati, M & Nurul Hidajati. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Journal of Chemistry*. 6 (2): 113-118.

