

SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK DIKLOROMETANA KULIT BATANG BAKAU MERAH (*Rhizophora stylosa*)

SECONDARY METABOLITES FROM DICHLOROMETHANE EXTRACT OF RED MANGROVE'S STEM BARK (*Rhizophora stylosa*)

Riza Rofida Mukharromah* dan Suyatno

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, 60231

* email: rizarofida@yahoo.com

Abstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan struktur molekul senyawa metabolit sekunder dari ekstrak diklorometana kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*). Isolasi dimulai dari ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut berturut-urur *n*-heksana dan diklorometana. Fraksinasi ekstrak diklorometana menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) yang dimonitor melalui kromatografi lapis tipis (KLT), pemisahan menggunakan metode kromatografi kilat dan pemurnian menggunakan metode rekristalisasi menghasilkan isolat serbuk tak berwarna seberat 0,0623 gram dengan titik leleh 136-137 °C. Penentuan struktur molekul isolat dengan spektroskopi UV-Vis, IR dan GC-MS. Hasil uji kualitatif dari isolat dengan reagen Liebermann-Burchard menunjukkan warna biru kehijauan yang mengindikasikan bahwa isolat merupakan senyawa steroid. Berdasarkan analisis data spektroskopi, isolat mengandung 3 campuran senyawa steroid, terdiri dari kampesterol, stigmasterol, dan β -sitosterol.

Kata-kata kunci: *Rhizophora stylosa*, ekstrak diklorometana, kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol

Abstract. The aims of this research is to determine the molecular structure of secondary metabolites from dichloromethane extract of red mangrove's stem bark (*Rhizophora stylosa*). Isolation was started by extraction using maseration method, successively with *n*-hexane and dichloromethane. Fractionation of dichloromethane extract were conducted by vacuum liquid chromatography (VLC) monitored by thin layer chromatography (TLC), separation using flash chromatography method and purification by recrystallization method gained colorless powder isolates with 0,0623 gram in weight with melting point of 136-137 °C. The determine molecular structure of isolate by UV-Vis, IR and GC-MS. The results of qualitative test of isolate with Liebermann-Burchard reagent showed greenish-blue colour indicating that isolate was steroid compound. According to spectroscopic analysis, isolate contains 3 mixture compounds of steroid consisting of campesterol, stigmasterol and β -sitosterol.

Keywords: *Rhizophora stylosa*, dichloromethane extract, campesterol, stigmasterol, β -sitosterol

PENDAHULUAN

Hutan bakau merupakan salah satu kekayaan hayati Indonesia yang terluas di dunia dengan luas sekitar 3,8 juta hektar, diikuti Brazil, Australia, Nigeria, dan Mexico. Indonesia memiliki sekitar 40% dari total hutan bakau di dunia. Jenis-jenis tumbuhan yang hidup di hutan bakau antara lain: *Avicenniaceae*, *Combretaceae*, *Arecaceae*, *Rhizophoraceae*, dan *Lythraceae*. *Rhizophoraceae* merupakan salah satu tumbuhan pantai, terdiri atas 20 genus dan 110 spesies yang tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Di samping sebagai penghasil

kayu untuk bahan bangunan, tumbuhan bakau diketahui merupakan salah satu sumber senyawa metabolit sekunder, sehingga banyak digunakan masyarakat sebagai obat tradisional [1].

Dari spesies tumbuhan bakau telah dilaporkan adanya senyawa metabolit sekunder golongan non fenolik jenis terpenoid dan steroid, serta golongan fenolik jenis flavonoid. Ekstrak dan isolat dari spesies tumbuhan bakau menunjukkan aktivitas biologis yang menarik.

Senyawa golongan terpenoid diisolasi dari ekstrak kloroform kulit batang *Rhizophora mucronata* yakni dekahidro-1,1,7-trimetil-4-

metilena-siklopropil azulena [2]. Dua senyawa steroid yaitu 4-metil-kolest-24-en-3-ol dan 4-metil-stigmast-22-en-3-ol yang dipisahkan dari ekstrak kloroform kulit batang *Rhizophora mucronata* [3]. Ekstrak metanol *Rhizophora mucronata* (*Rhizophoraceae*) yaitu β -sitosterol memiliki aktivitas antiinflamasi dan antidiare [4].

Tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) merupakan salah satu spesies tumbuhan bakau yang mudah didapat dengan jumlah yang banyak dan belum dimanfaatkan secara optimal oleh masyarakat. Tumbuhan tersebut dimanfaatkan masyarakat sebagai tanaman pelindung pantai dari abrasi air laut, bahan bangunan serta kayu bakar. Penelitian kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan tersebut telah dilakukan terhadap kulit batang dan menghasilkan senyawa golongan flavonoid.

Dua senyawa flavan-3-ol glikosida dengan tujuh flavan-3-ol dari kulit batang *Rhizophora stylosa* menggunakan pelarut metanol [5]. Pada batang dan ranting *Rhizophora stylosa* telah ditemukan satu senyawa flavanol terasetilasi baru yakni 3,7-*O*-diasetil (-)-epikatecin serta tujuh turunan flavanol yang telah diketahui yakni (-)-epikatecin, 3-*O*-asetil (-)-epikatecin, 3,3',4',5,7-*O*-pentaasetil (-)-epikatecin, (+)-afzelecin, (+)-katecin, kinconain Ib, dan proantosianidin B2 [6].

Penelitian kandungan kimia dan bioaktivitas ekstrak diklorometana kulit batang tumbuhan bakau merah belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengkaji senyawa metabolit sekunder dari ekstrak diklorometana tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*).

METODE PENELITIAN

Alat

Seperangkat alat ekstraksi dengan metode maserasi, seperangkat alat penyaring Buchner, *rotary vacuum evaporator*, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat kromatografi cair vakum, Fisher John *melting point apparatus*, spektrofotometer UV Shimadzu Pharma Spec. UV-1700, spektrofotometer IR Perkin Elmer USA 89485, spektrofotometer massa Shimadzu QP-2010S, dan alat gelas yang digunakan dalam Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam.

Bahan

n-heksana, diklorometana, etil asetat, 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), kieselgel Merck 60 GF-254, dan pelat KLT silika gel Merck F-254 (20x20; 0,25 mm).

PROSEDUR PENELITIAN

Sampel berupa serbuk halus kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) sebanyak 3 kg diekstraksi dengan cara maserasi bertahap selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut *n*-heksana kemudian diklorometana. Ekstrak diklorometana yang diperoleh diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* (penguap putar) menghasilkan ekstrak pekat.

Ekstrak pekat yang diperoleh dipisahkan komponen-komponennya menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan eluen campuran *n*-heksana-etil asetat dan etil asetat. Hasil pemisahan dimonitor menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan perbandingan eluen *n*-heksana-etil asetat = 4:1. Fraksi yang menunjukkan noda utama dengan *R_f* sama pada KLT digabung. Hasil penggabungan fraksi dipisahkan dengan metode kromatografi kilat (*flash*) dengan eluen *n*-heksana-etil asetat = 92:8 dan dimurnikan dengan cara rekristalisasi menggunakan pelarut yang sesuai. Uji kemurnian isolat dilakukan dengan pengukuran titik leleh dan KLT dengan tiga sistem eluen. Senyawa hasil isolasi yang telah dimurnikan selanjutnya diuji kualitatif menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard dan metode spektroskopi (UV-Vis, IR dan MS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak diklorometana yang diperoleh diuapkan secara vakum dengan *rotary vacuum evaporator* (penguap putar) menghasilkan ekstrak pekat berwarna hijau kehitaman sebanyak 9,9065 gram.

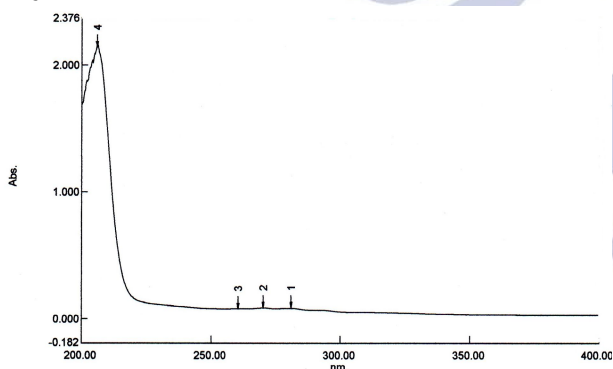
Ekstrak pekat yang diperoleh dipisahkan komponen-komponennya menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan eluen campuran *n*-heksana-etil asetat dan etil asetat menghasilkan 136 fraksi. Hasil pemisahannya

dimonitor menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen *n*-heksana-etil asetat = 4:1.

Fraksi yang menunjukkan noda utama dengan *R_f* sama pada KLT yaitu fraksi 56-69 digabung dan diuapkan menghasilkan zat padat seberat 0,3334 gram. Fraksi tersebut dipisahkan dengan metode kromatografi kilat (*flash*) dengan eluen *n*-heksana-etil asetat = 92:8 menghasilkan 92 fraksi. Fraksi yang menunjukkan satu noda yaitu fraksi 42-68 digabung dan diuapkan menghasilkan zat padat berwarna kuning seberat 0,1895 gram. Rekristalisasi padatan tersebut menggunakan pelarut metanol menghasilkan isolat serbuk tak berwarna sebanyak 0,0623 gram dengan titik leleh 136-137 °C.

Hasil uji dengan KLT tiga sistem eluen dengan perbandingan eluen *n*-heksana-etil asetat = 4:1; *n*-heksana-etil asetat = 9:1 dan *n*-heksana-kloroform = 1:1 menunjukkan hasil berupa satu noda dengan *R_f* masing-masing 0,6; 0,26 dan 0,17. Isolat menunjukkan perubahan warna menjadi biru kehijauan ketika diuji menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, yang menunjukkan bahwa isolat tersebut positif senyawa golongan steroid.

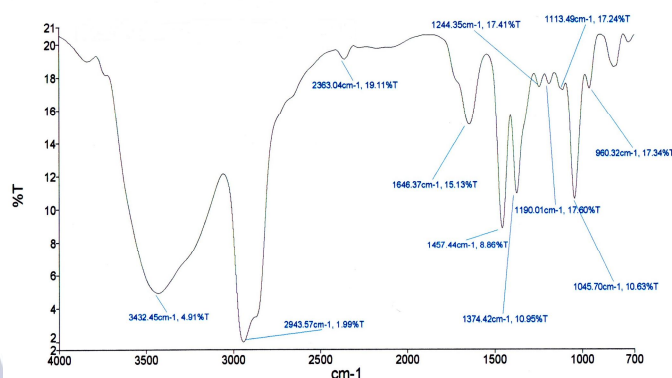
Data spektrum UV-Vis isolat terdapat puncak dengan serapan maksimum pada daerah panjang gelombang 208 nm yang disajikan pada Gambar 1. Data spektrum Uv-vis tersebut menunjukkan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan oleh ikatan rangkap C=C yang tidak terkonjugasi dalam senyawa hasil isolasi.



Gambar 1. Spektrum UV-Vis Isolat

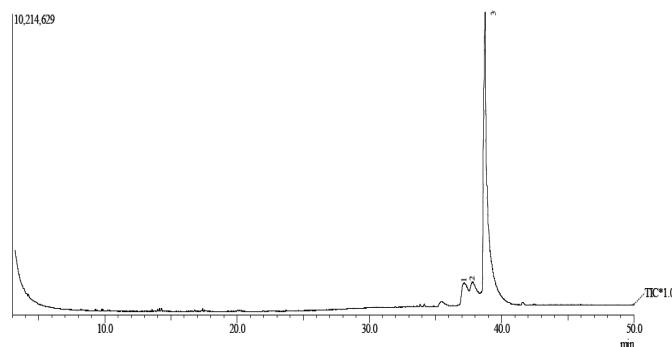
Data spektrum IR isolat (Gambar 2) menunjukkan adanya regang C-H alkil ($2943,57\text{ cm}^{-1}$) dan tekuk C-H alkil ($1457,44$ dan $1374,42\text{ cm}^{-1}$) yang mendukung adanya kerangka senyawa steroid dalam isolat. Vibrasi regang O-H ($3432,45\text{ cm}^{-1}$) dan regang C-O ($1113,49$ dan $1045,70\text{ cm}^{-1}$) juga

mendukung bahwa isolat merupakan senyawa steroid karena memiliki gugus hidroksil.

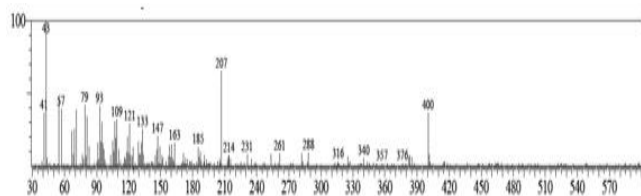


Gambar 2. Spektrum IR Isolat

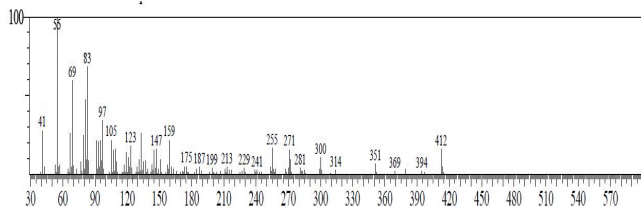
Berdasarkan hasil analisis dengan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS), isolat merupakan campuran dari 3 senyawa yang masing-masing memiliki massa molekul relatif 400 (A), 412 (B) dan 414 (C) dengan persen luas area masing-masing 2,35; 3,58 dan 94,07. Senyawa A memberikan ion-ion fragmen pada *m/z* 376, 357, 340, 316, 288, 261, 231, 214, 207, 185, 163, 147, 133, 121, 109, 93, 79, 57, 43, dan 41. Spektrum massa senyawa A menunjukkan kemiripan dengan spektrum massa kampesterol. Senyawa B memberikan ion-ion fragmen pada *m/z* 394, 369, 351, 314, 300, 281, 271, 255, 241, 229, 213, 199, 187, 175, 159, 147, 123, 105, 97, 83, 69, 55, dan 41. Spektrum massa senyawa B menunjukkan kemiripan dengan spektrum massa stigmasterol. Senyawa C memberikan ion-ion fragmen pada *m/z* 396, 381, 354, 329, 303, 273, 255, 231, 213, 199, 185, 173, 159, 145, 133, 119, 107, 95, 81, 57, 43, dan 41. Spektrum massa senyawa C menunjukkan kemiripan dengan spektrum massa β -sitosterol. Kromatogram isolat ditunjukkan oleh Gambar 3 dan spektrum massa isolat ditunjukkan oleh Gambar 4.



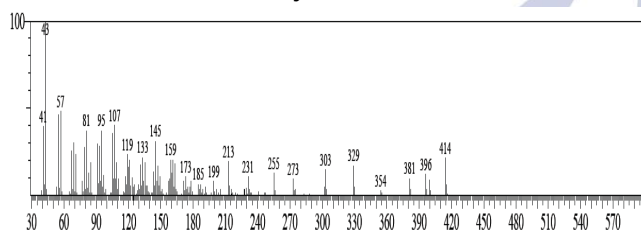
Gambar 3. Kromatogram GC Isolat



Senyawa A



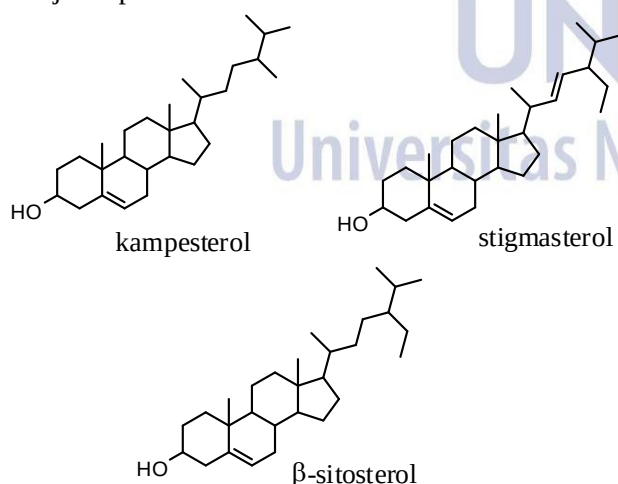
Senyawa B



Senyawa C

Gambar 4. Spektrum Massa Isolat

Berdasarkan perbandingan pola fragmentasi spektrum massa senyawa A, B, dan C dengan data dalam library GC-MS Jurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada serta data literatur, dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa steroid tersebut masing-masing adalah kampesterol, stigmasterol, dan β -sitosterol didukung dengan spektrum UV-Vis dan IR. Struktur senyawa hasil isolasi tersebut disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Senyawa Hasil Isolasi

Adanya kandungan senyawa steroid jenis kampesterol, stigmasterol dan β -sitosterol dalam

tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) mendukung penelitian sebelumnya bahwa dalam tumbuhan bakau famili Rhizophoraceae terdapat senyawa steroid jenis β -sitosterol [4].

KESIMPULAN

Senyawa steroid yang terkandung dalam isolat dari ekstrak diklorometana kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) merupakan campuran senyawa steroid yaitu kampesterol (ergost-5-en-3-ol) dengan rumus molekul $C_{28}H_{48}O$, stigmasterol (stigmast-5,22-dien-3-ol) dengan rumus molekul $C_{29}H_{48}O$, dan β -sitosterol (stigmast-5-en-3-ol) dengan rumus molekul $C_{29}H_{50}O$. Isolat tersebut berupa serbuk tak berwarna seberat 0,0623 gram dengan titik leleh 136-137 °C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur yang telah membantu mengidentifikasi sampel tumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mulyani, Y., Bachtiar, E & Kurnia, M. U. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika*. IV(1): 1-9.
2. Diastuti, H & Suwandri. 2009. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antikanker Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* serta Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Molekul*. 4(2): 54-61.
3. Diastuti, H & Warsinah. 2010. Identifikasi Senyawa Antikanker dari Ekstrak Kloroform Kulit Batang *Rhizophora mucronata*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 21(4): 279-284.
4. Rohini, R. M & Das, A. K. 2010. Antidiarrheal and Anti Inflammatory Activities of Lupeol, Quercetin, β -sitosterol, Adene-5-en-3-ol and Caffeic Acid Isolated from *Rhizophora mucronata* Bark. *Der Pharmacia Lettre*. 2(5): 95-101.

5. Takara, K., Kuniyoshi, A., Wada, K., Kinjo, K., & Iwasaki, H. 2008. Antioxidative Flavan-3-ol Glycosides from Stem of *Rhizophora stylosa*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72(8): 2191-2194.
6. Li, D. L., Li, X. M., Peng, Z. Y., & Wang, B. G. 2007. Flavanol Derivatives from *Rhizophora stylosa* and Their DPPH Radical Scavenging Activity. *Molecules*. 12: 1163-1169.

