

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.)

Yuszda K. Salimi, Nurhayati Bialangi, Saiman
Jurusan Kimia, Universitas Negeri Gorontalo
Email : Yuszdasalimi23@gmail.com

Abstract

*A study has been conducted on the isolation and identification of secondary metabolite compounds from methanol extract of kelor leaf (*Moringa oleifera* Lamk.). This study aims to isolate and identify secondary metabolite compounds from leaf kelor methanol extract. Moringa leaf was macerated with methanol and obtained a yield of 16.7% methanol extract. The extract of methanol separated by column chromatography yielded 272 fractions. The fraction was purified and analyzed by thin layer chromatography using eluent n-hexane: ethyl acetate (7: 3) and obtained stain spots with Rf (0.61) and (0.47). Phytochemical results of positive isolates on flavonoids test. The results of identification using UV-Vis spectrophotometry and infrared spectrophotometry is a flavonoid compound. The identification using UV-Vis spectrophotometry yields 1 absorbing bands at 250 nm wavelength. The absorption at 250 nm wavelength is suspected because of the non-bonding electron transition to the σ anti-bonding orbital ($n \rightarrow \sigma^*$) by an unconjugated auxochrome suspected to be a hydroxyl functional (OH) group. Identification using infrared (IR) spectrophotometry showed the presence of a bound OH function group, C = O, C = C aromatic, C-H aliphatic, C -O alcohol and = C-H aromatic.*

Keywords: *Kelor, methanol, isolation, identification, secondary metabolite*

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun kelor. Daun kelor dimaserasi dengan metanol dan diperoleh rendemen ekstrak metanol 16,7%. Ekstrak metanol dipisahkan dengan kromatografi kolom menghasilkan 272 fraksi. Fraksi dimurnikan dan dianalisis dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (7:3) dan diperoleh

bercak noda dengan Rf (0,61) dan (0,47). Hasil uji fitokimia isolat positif terhadap uji flavonoid. Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri inframerah merupakan senyawa flavonoid. Identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis menghasilkan 1 pita yang menyerap pada panjang gelombang 250 nm. Serapan pada panjang gelombang 250 nm di duga karena adanya transisi elektron yang tidak berikatan ke orbital σ anti-ikatan ($n \rightarrow \sigma^*$) oleh suatu ausokrom yang tidak terkonjugasi yang diduga merupakan gugus fungsional hidroksil (OH). Identifikasi menggunakan spektrofotometri inframerah (IR) menunjukkan adanya gugus fungsi OH terikat, C=O, C=C aromatik, C-H alifatik, C-O alkohol dan =C-H aromatik.

Kata kunci: *Kelor, metanol, isolasi, identifikasi, metabolit sekunder*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber daya alam organik sangat berlimpah dan mengandung jutaan senyawa kimia. Tumbuhan dapat berpotensi sebagai pengobatan penyakit karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Secara totalitas tumbuhan di Indonesia, sebagian besar belum diteliti kandungan kimianya. Belum adanya bukti secara ilmiah menyebabkan tumbuhan tertentu tidak dimanfaatkan secara maksimal dan keberadaannya tumbuh sebagai tumbuhan liar.

Penelitian khusus untuk mengisolasi senyawa bahan alam sangat diperlukan untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder tertentu. Salah satu contoh

tumbuhan yang biasanya digunakan sebagai pengobatan tradisional adalah tumbuhan kelor. Masyarakat Indonesia khususnya masyarakat pedesaan telah lama memanfaatkan kelor baik sebagai obat tradisional, sebagai sayuran, maupun makanan ternak. Keberadaan tumbuhan kelor sangat mudah didapatkan di seluruh wilayah Indonesia tidak terkecuali di daerah Gorontalo. Salah satu bagian tumbuhan kelor yang banyak dikonsumsi adalah bagian daun.

Penelitian tentang daun kelor dilaporkan Rohyani, dkk. (2015) menunjukkan bahwa hasil skrining fitokimia dari daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder di

antaranya flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin, antrakuinon dan terpenoid. Selain itu, Lutfiana (2013), dari hasil penapisan fitokimia fraksi etil asetat daun kelor mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Dari kedua hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah satu set peralatan kromatografi, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis dan Infrared (IR).

Bahan yang digunakan adalah aquades (H_2O), metanol (CH_3OH), etil asetat ($C_3H_8O_2$), n-heksana (C_6H_{14}), aseton (C_3H_6O), kloroform ($CHCl_3$), asam sulfat (H_2SO_4), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof, pereaksi Wagner, pereaksi Hager, silica gel 60 (70-230 Mesh), plat KLT GF₂₅₄, serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCl), asam asetat (CH_3COOH), dan natrium hidroksida (NaOH).

Sampel penelitian ini adalah daun kelor. Lokasi pengambilan sampel di kota Gorontalo. Sampel dideterminasi di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Gorontalo (UNG).

Prosedur Penelitian

Preparasi sampel

Sampel daun kelor segar dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama ± 4 hari. Daun kelor kering dirajang sampai menjadi serbuk kasar dan dihitung rendemennya.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia secara kualitatif merupakan uji pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol. Skrining fitokimia terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid dengan metode Harborne, 1987.

Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk melihat pola kromatogram komponen senyawa yang terkandung

dalam ekstrak metanol. Pada kromatografi lapis tipis dilakukan dengan prinsip *trial and error* guna mencari eluen yang memberikan pemisahan yang baik. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF₂₅₄ dengan fase gerak menggunakan beberapa perbandingan eluen untuk mencari pemisahan yang baik.

Kromatografi kolom

Kromatografi kolom menggunakan fase diam menggunakan silika gel 60 (70-230 Mesh) dan fase gerak menggunakan eluen secara bergradien mulai dari n-heksan 100% hingga etil asetat 100% dan dilanjutkan dengan fase gerak etil asetat-metanol dengan komposisi etil asetat 100% hingga metanol 100% dengan kenaikan kepolaran pelarut sebesar 10 %. Hasil elusi ditampung menggunakan botol vial sebagai fraksi.

Uji kemurnian isolat

Uji kemurnian isolat menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT)..

Uji fitokimia isolat

Uji fitokimia isolat terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid. Uji keberadaan senyawa flavonoid dari isolat digunakan uji Wilstatter. Isolat ditambahkan 2-4 tetes HCl pekat dan serbuk Mg. Perubahan warna terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange atau merah (Achmad, 1986).

Identifikasi senyawa

Identifikasi senyawa dilakukan dengan menganalisis ciri spektra hasil spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri inframerah (IR). Isolat relatif murni dianalisis dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer inframerah (IR). Data yang diperoleh berupa spektra diinterpretasi untuk memperoleh data spektra senyawa yang digunakan untuk menentukan karakter dari senyawa yang terdapat dalam isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi, kelor memiliki nama *Moringa oleifera* Lamk. Daun kelor kering 760 g dirajang sampai menjadi serbuk kasar dengan rendemen 21, 74%. Serbuk kasar daun

dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan penyaringan dilakukan setiap 1x24 jam. Maserat total yang diperoleh dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Evaporasi bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Proses penguapan pelarut terjadi di bawah suhu titik didih pelarutnya sehingga tidak merusak senyawa aktif pada ekstrak. Hasil evaporasi adalah ekstrak kental metanol 111,89 g. Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak kental metanol 16,7 %.

Ekstrak metanol diskriming fitokimia. Skriming fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak metanol. Skriming fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin.

Hasil skriming fitokimia ekstrak metanol menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Ekstrak metanol mengandung senyawa flavonoid yang

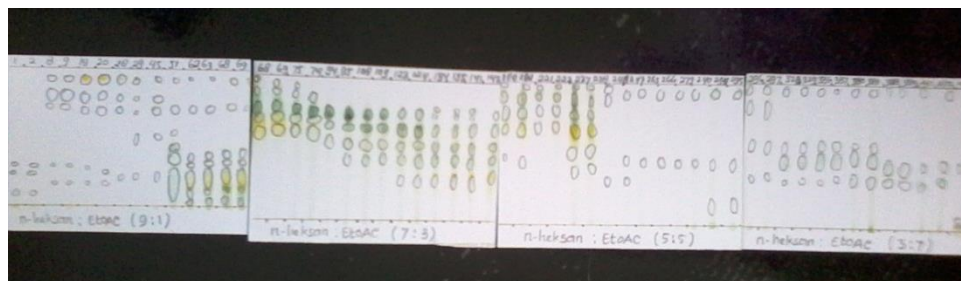
ditandai dengan perubahan warna dari hijau tua menjadi hijau kekuningan dengan menggunakan pereaksi HCl + serbuk Mg. Perubahan warna tersebut diduga merupakan reaksi pembentukan garam flavilium. Hal ini diperkuat oleh Prashant, 2011 dalam (Setyowaty, dkk., (2014) di mana asam klorida dan magnesium bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H₂, sedangkan asam klorida dan logam magnesium pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga.

Analisis kromatografi lapis tipis pada ekstrak metanol dilakukan menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3). Ekstrak dilarutkan kedalam pelarut metanol. Pewarna yang digunakan adalah anisaldehida. Pelat yang sudah dielusi dideteksi dengan lampu UV 254 nm, 366 nm, dan sinar tampak. Berdasarkan hasil KLT pada ekstrak metanol, menunjukkan 9 bercak noda dengan nilai R_f (0,05),

(0,13), (0,20), (0,31), (0,37), (0,48), (0,63), (0,69) dan (0,74).

Selanjutnya ekstrak metanol 10 gr dipisahkan dengan kromatografi kolom. Hasil pemisahan diperoleh 272 fraksi. Uji kemurnian terhadap senyawa hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan teknik analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi

yang memiliki kesamaan warna noda, jumlah noda dan nilai Rf dianggap satu fraksi. Warna noda diamati lebih teliti menggunakan lampu UV. Dari 272 fraksi yang memiliki profil bercak yang sama terdapat 13 gabungan fraksi (Gambar 1).



Gambar 1. Profil kromatogram lapis tipis fraksi hasil kromatografi kolom

Uji kemurnian isolat

Uji kemurnian isolat menggunakan teknik kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk melihat pola kromatogram senyawa pada isolat. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF₂₅₄ dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3). Isolat dilarutkan kedalam pelarut metanol. Pewarna yang digunakan adalah anisaldehyda.

Pelat yang sudah dielusi dideteksi dengan lampu UV 254 nm, 366 nm, dan sinar tampak. Berdasarkan hasil KLT isolat nomor 28, menunjukkan 2 bercak noda dengan Rf (0,61) dan (0,47).

Uji fitokimia isolat

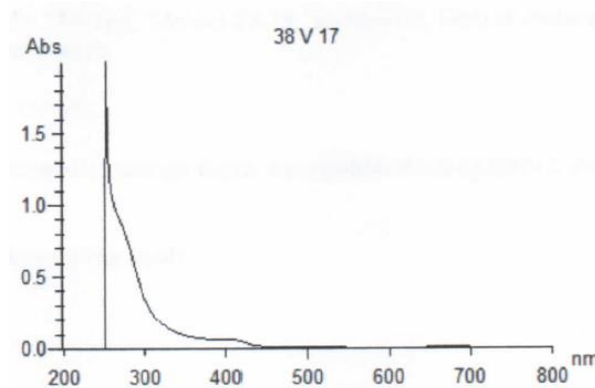
Hasil uji fitokimia isolat menunjukkan bahwa isolat positif (+) terhadap uji flavonoid yang ditandai dengan munculnya gelembung pada

saat penambahan serbuk Mg dan larutan menjadi berwarna merah. Perubahan warna merah pada uji flavonoid menunjukkan senyawa flavonoid. Senyawa golongan flavonoid seperti flavonol, flavanon, dan xanton akan memberikan warna merah jika direduksi dengan logam magnesium dan asam klorida. Warna merah yang terbentuk merupakan garam flavilium. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987) senyawa flavonoid

seperti flavon dan flavonol jika direduksi dengan serbuk Mg dan HCl pekat menghasilkan warna merah.

Identifikasi senyawa

Identifikasi senyawa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan IR. Identifikasi spektrofotometri UV-Vis bertujuan meramalkan transisi elektron valensi dari isolat yang dianalisis. Spektra hasil analisis spektrofotometri UV-Vis (Gambar 2).



Gambar 2. Spektra isolat hasil analisis UV-Vis

Berdasarkan hasil spectra UV-Vis serapan pada panjang gelombang 250 nm di duga karena adanya transisi elektron yang tidak berikatan ke orbital σ anti-ikatan ($n \rightarrow \sigma^*$) oleh suatu

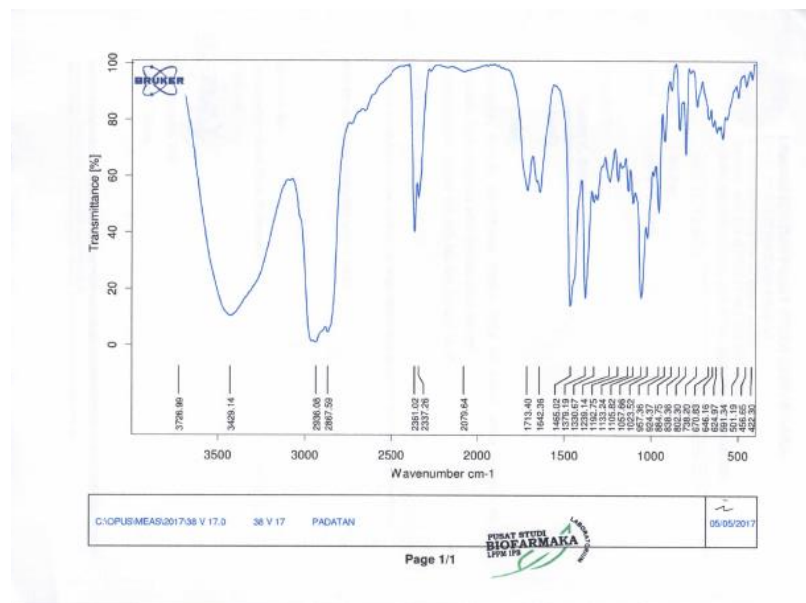
ausokrom yang tidak terkonjugasi yang diduga merupakan gugus fungsional hidroksil (OH). Hal ini diperkuat dalam Khopkar (2014) transisi elektron yang tidak berikatan

ke orbital σ anti-ikatan ($n \rightarrow \sigma^*$) terjadi pada daerah 150-250 nm.

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, isolat menunjukkan senyawa flavonoid. Dalam Markham (1988) senyawa flavonol memiliki pita II pada kisaran panjang gelombang 250-280 nm sedangkan senyawa khalkon memiliki pita II pada kisaran panjang

gelombang 230-270 nm dengan intensitas rendah.

Spektra hasil analisis menggunakan spektrofotometri inframerah (IR) ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum isolat hasil analisis spektrofotometer inframerah (IR)

Berdasarkan data hasil analisis spektrofotometer inframerah (IR) yang berupa spektrum dianalisis untuk

memperoleh data spektrum senyawa. Adapun hasil analisis spektrum

inframerah (IR) isolat dari ekstrak etil
asetat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis spektrum inframerah (IR) isolat

Isolat	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Bentuk pita	Intensitas	Kemungkinan gugus fungsi
	Sukadana, (2010)	Pustaka (Creswell, dkk, 1981)	Pustaka (Silverstein, dkk., 1984)			
3429,14	3000-3500	3000-3750	3550-3200	Lebar	Kuat	Ulur OH terikat
2936,08	2800-	2700-	2830-	Lebar	Lemah	Ulur C-
2867,59	2950	3000	2695	Lebar	Lemah	H Alifatik
2361,02	-	-	-	Tajam	Kuat	-
2337,06				Tajam	Lemah	
2079,64				Lebar	Lemah	
1713,04	1700-1725	1500-1675	1870-1540	Tajam	Sedang	Ulur C=O
1642,37	1400-	1675-	1675-	Tajam	Sedang	Ulur C=C
1465,02	1650	1500	1500	Tajam	Kuat	Aromatik
1379,17	-	1330-	1330	Tajam	Kuat	Tekuk C-H

Isolat	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Bentuk pita	Intensitas	Kemungkinan gugus fungsi
	Sukadana, (2010)	Pustaka (Creswell, dkk, 1981)	Pustaka (Silverstein, dkk., 1984)			
1330,67		1420		Tajam	Lemah	Alifatik
1239,14	1000-	1000-	1000-	Tajam	Sedang	Tekuk C-
1192,75	1300	1260	1300	Tajam	Lemah	O Alkohol
1133,24				Tajam	Lemah	
1105,82				Tajam	Lemah	
1023,52				Tajam	Kuat	
957,36	650-1000	650-1000	840-800	Tajam	Sedang	Tekuk
924,37				Tajam	Lemah	=C-H
884,75				Tajam	Kuat	Aromatik

Dari interpretasi data spektra inframerah menunjukkan adanya gugus fungsi OH terikat, C=O, C=C aromatik, C-H alifatik, C-O alkohol dan C-H aromatik yang merupakan ciri khas senyawa flavonoid. Berdasarkan struktur dasar jenis flavonoid pada Gambar 2.5, antara senyawa khalkon dan flavonol, hanya khalkon yang

memiliki ikatan C-H pada rantai alifatik sedangkan flavonol tidak memiliki rantai alifatik. Dengan demikian berdasarkan hasil identifikasi spektra UV-Vis dan inframerah isolat dari ekstrak etil asetat daun kelor mengandung senyawa flavonoid yang merujuk pada flavonoid jenis khalkon.

SIMPULAN

Ekstrak metanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid yang diduga adalah jenis khalkon yang diisolasi dengan menghasilkan noda tunggal yang positif terhadap uji flavonoid dan diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri Inframerah (IR).

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Sjamsul Arifin. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Penerbit Karunika. Jakarta
- Creswell, Clifford J., Olaf A. Runquist, dan Malcolm M. Campbell. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. ITB. Bandung
- Fessenden, Ralph J., dan Joan S. Fessenden. 1986. *Organic Chemistry. 3rd*. Wadsworth, Inc. California. Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. 1998.
- Kimia Organik. Edisi 3. Jilid 1. Erlangga. Jakarta.
- Immy Suci Rohyani, Evi Aryanti, Suropto. (2015). *Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di Pulau Lombok*. (jurnal Volume 1, Nomor 2, April 2015, ISSN: 2407-8050. Halaman: 388-391).
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah: Padmawinata, K. Terbitan kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Khopkar, S.M. 2014. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penerjemah: Saptorahardjo, A. UI press . Jakarta
- Lutfiana. 2013. *Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk.) Dengan Metode Stabilisasi Membrane Sel*

- Darah Merah Dengan Metode In Vitro*. (Skripsi). Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A.2008. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*. Chemistry Progress. 1,47-53.
- Sastrohamdjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. UGM.Yogyakarta
- Silverstein, Bassler dan Morrill. 1984. *Penyidikan Spektrofotometrik Senyawa Organik Edisi ke-4*. Jakarta; Erlangga.
- Sukadana, I M. 2010. *Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar*. 4 (1) : 63-67
- Wiwit Denny Fitriana, Sri Fatmawati, dan Taslim Ersam. 2015. *Uji aktivitas antioksidan terhadap DDPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (Moringa oleifera)*. (jurnal Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015 (SNIPS 2015) 8 dan 9 Juni 2015. Bandung.