

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp)

Norman Ferdinal^{a*}, Afrizal^a, Reynol Devryonda^a

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia, FMIPA Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, 25163, Indonesia

*Corresponding author: ferdinalnorman@yahoo.co.id

Abstract

Salam plant (*Syzygium polyanthum*) is a plant from the Myrtaceae family and the *Syzygium* genus, which is widely used as a traditional medicine to treat hypertension, ulcers, diarrhea, skin diseases, lower cholesterol, control uric acid levels, and diabetes. This study aims to isolate and characterize secondary metabolites from the ethyl acetate extract of bay leaves. Isolation of secondary metabolites was carried out by column chromatography and characterization with Ultraviolet-Visible (UV-Vis) and Fourier Transform Infrared (FTIR) spectrophotometers. The isolated compound is a white solid of 0.0082 g with a melting point of 190-192°C. The results of the identification of the phytochemical profile on the TLC plate with the Liebermen-Burchard (LB) reagent showed that the compound was a triterpenoid group. The results of the UV-Vis spectrum analysis showed maximum absorption at a wavelength of 221 nm indicating the presence of π - π^* electron transitions from the unconjugated C=C bond and the results of the FTIR spectrum analysis showed the presence of OH, C-O (alcohol), C=C groups. (alkenes), C-H is aliphatic and geminal dimethyl.

Keywords

Syzygium polyanthum
kromatografi kolom
KLT
spektrofotometer UV-Vis
Fourier Transformation Infrared (FTIR)

1. Pendahuluan

Tanaman salam merupakan salah satu jenis tanaman Indonesia yang tergolong dalam keluarga Myrtaceae. Di beberapa daerah Indonesia tanaman ini juga memiliki nama lokal, seperti gowok (Sunda), kastolam (Kangean dan Sumenep) dan manting (Jawa) [1,2]. Bagi masyarakat Indonesia tanaman salam sering digunakan daunnya sebagai obat herbal maupun bumbu tambahan dalam makanan. Secara tradisional tanaman salam dapat dikonsumsi dengan cara meminum air rebusan daunnya. Hal ini dikarenakan daun salam memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh manusia, seperti mengobati hipertensi, maag, diare, penyakit kulit, menurunkan kolesterol, mengontrol kadar asam urat dan mengobati diabetes[3].

Kemampuan tanaman salam dalam mengobati berbagai macam penyakit disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman salam. Tanaman salam diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Berbagai penelitian mengenai bioaktivitas senyawa-senyawa tersebut telah banyak

dilakukan. Rahim *et al*, sebelumnya telah meneliti senyawa squalena (triterpenoid) pada tanaman salam yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antitumor. Senyawa phytol (diterpenoid) yang memiliki bioaktivitas sebagai antiinflamasi, antikanker, antimikroba dan antioksidan. Senyawa lainnya juga telah diteliti seperti asam palmitat yang memiliki bioaktivitas sebagai antiinflamasi dan antibakteri, senyawa nerolidol yang memiliki bioaktivitas antiinflamasi dan antijamur, senyawa linalool yang memiliki bioaktivitas sebagai antidiabetes, antibakteri dan antiinflamasi, dan senyawa tokoferol yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang juga telah teridentifikasi pada tanaman salam dan memiliki bioaktivitas antara lain senyawa hentriancontane yang bersifat antiinflamasi, dan senyawa pinene yang memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri dan antiinflamasi [3].

Penelitian ini menggunakan ekstrak etil asetat daun salam yang diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti triterpenoid, steroid, alkaloid, fenolik dan flavonoid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rahma Ayni (2020), ekstrak etil asetat daun salam ini memiliki aktivitas antibakteri yang lebih

baik dari pada ekstrak heksana dan ekstrak metanol daun salam[4]. Pada ekstrak etil asetat daun salam ini juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang baik dengan nilai $IC_{50}=14,49$ mg/L [5] dan aktivitas sitotoksik yang baik dengan nilai LC_{50} 316,23 mg/L [6].

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan Kimia

Pelarut organik yang sudah didistilasi (n-heksana, etil asetat, dan metanol). Fasa diam yang digunakan untuk kromatografi kolom yaitu silika gel (0,063–0,200 mm). Pada analisis kromatografi lapis tipis digunakan plat KLT (silika gel 60 F254) dan pereaksi *Liebermann-Burchard* (anhidrida asetat dan asam sulfat) untuk mengidentifikasi adanya senyawa triterpenoid.

2.2. Peralatan

Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah seperangkat alat distilasi, oven, botol reagen, kolom kromatografi, botol vial, spektrofotometer UV-Vis spektroskopi, FTIR, neraca analitik, desikator, *chamber*, pipet tetes, spatula, pipa kapiler, lampu UV (λ 254 nm dan 365 nm), *melting point apparatus*.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Pendahuluan

Ekstrak etil asetat daun salam di KLT terlebih dahulu sebelum di kromatografi kolom menggunakan beberapa eluen [7]. Pola noda hasil KLT dapat dilihat menggunakan lampu UV 254 nm dan 365 nm. Berdasarkan pola noda yang dihasilkan, maka dapat ditentukan sistem elusi yang digunakan untuk pemisahan senyawa metabolit sekunder menggunakan kromatografi kolom nantinya, yaitu sistem elusi dengan metode SGP (*step gradient polarity*) atau isokratik. Berdasarkan uji KLT pendahuluan sistem elusi yang digunakan adalah metoda SGP.

2.3.2 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

a. Kromatografi Kolom

Sampel ekstrak etil asetat daun salam sebanyak 20 g dipreabsorpsi terlebih dahulu untuk digunakan pada kromatografi kolom. Sampel dimasukkan ke dalam lumpang dan ditambahkan silika gel dengan perbandingan sampel dan silika gel (1:1) [8]. Kemudian digerus sampai menjadi bubuk halus yang homogen.

Pemisahan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel dan fasa gerak n-heksana, etil asetat dan methanol [9]. Fasa diam silika gel sebanyak 300 gram diaktivasi pada suhu 100-110°C didalam oven yang bertujuan untuk memperbesar luas permukaan dari silika gel sehingga proses pemisahan senyawa pada saat kromatografi kolom menjadi lebih baik[10]. Setelah diaktivasi silika gel tersebut ditambahkan dengan pelarut n-heksana secukupnya dan diaduk sampai menjadi bubur silika gel. Kemudian bubur silika gel dimasukkan kedalam kolom yang telah diberi kapas pada bagian bawahnya kemudian dielusi terus menerus sampai bubur silika gel tersebut menjadi padat didalam kolom. Sampel yang telah dipreabsorpsi dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi bubur silika gel secara perlahan. Kemudian sampel dielusi. Sistem elusi yang digunakan pada kromatografi kolom berdasarkan uji KLT pendahuluan yang telah dilakukan adalah metoda SGP. Hasil elusi dari kolom ditampung dengan botol vial 10 mL dan dilihat pola noda menggunakan plat KLT setiap interval 5 vial. Fraksi yang mempunyai pola noda yang sama digabung sehingga didapatkan 32 fraksi[11]. Fraksi 1-26 digunakan oleh peneliti lain untuk penelitiannya. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan fraksi 27-32 untuk proses analisis selanjutnya. Kemudian diambil fraksi 27 untuk proses pemurnian lebih lanjut dengan metode rekromatografi kolom karena memiliki pola pemisahan noda yang lebih baik dan massa yang lebih banyak. Proses rekromatografi kolom fraksi 27 ini sama dengan proses kromatografi kolom yang pertama. Sebanyak 5 gram fraksi 27 dipreabsorpsi dan dielusi kembali pada kolom yang telah disiapkan.

Hasil elusi pada kolom kedua ini ditampung dalam botol vial 10 mL dan di KLT setiap interval 5 botol vial untuk melihat pola noda pemisahannya. Senyawa dengan pola pemisahan yang sama digabungkan sehingga diperoleh 14 subfraksi. Pada subfraksi 13 vial 802-823 terlihat adanya padatan putih dengan sedikit pengotor yang masih menempel. Kemudian di KLT untuk melihat noda yang terdapat pada padatan putih tersebut. Kemudian padatan putih tersebut akan dimurnikan sehingga diperoleh senyawa murni.

Padatan putih pada vial 802-823 dimurnikan dengan cara trituras menggunakan pelarut etil asetat. Proses trituras ini diharapkan agar padatan putih tersebut dapat terpisah dengan pengotor yang masih menempel. Proses trituras ini memiliki prinsip yaitu

melarutkan pengotor tetapi tidak melarutkan padatan putih yang telah terbentuk. Pengotor yang telah larut tersebut dipipet dan dipindahkan ke wadah lain. Proses tritulasi ini dilakukan berulang kali sehingga padatan putih tersebut terpisah dengan pengotornya [10] dan memberikan hasil KLT dengan noda tunggal.

2.3.3 Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi

Padatan putih yang telah dimurnikan diuji kemurniannya dengan uji KLT dengan perbandingan eluen yang berbeda-beda yaitu dengan eluen etil asetat: metanol (10:0 ; 9:1 ; 8:2). Hasil uji KLT diberi penampak noda H_2SO_4 dan pereaksi *Liebermann-Burchard* (LB) untuk mengidentifikasi senyawa triterpenoid [10]. Padatan putih setelah pemurnian diuji titik lelehnya menggunakan alat *Melting Point Apparatus*. Senyawa yang murni akan menunjukkan range titik leleh antara 1-2 °C [10].

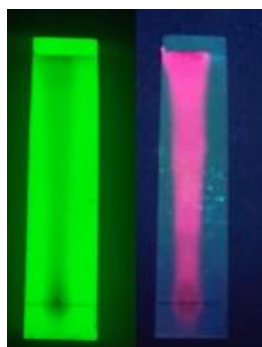
2.3.4 Karakterisasi

Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan spektroskopi UV-Vis. Sebanyak 1 mg padatan putih yang sudah murni dilarutkan dengan pelarut metanol p.a dan diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm. Selanjutnya, sebanyak 6 mg padatan putih yang sudah murni diambil dan diukur serapannya menggunakan spektroskopi FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Uji KLT Pendahuluan

Hasil uji KLT pendahuluan yang diamati dibawah lampu UV (254 nm dan 365 nm) menunjukkan bahwa komponen tidak terpisah dengan baik. Berdasarkan hasil KLT pendahuluan ini maka sistem elusi yang digunakan pada kromatografi kolom adalah dengan metode SGP. Hasil KLT pendahuluan ditampilkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Hasil KLT pendahuluan (a) UV 254 nm, (b) UV 365 nm.

3.2 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Hasil kromatografi kolom ditampung dalam botol vial 10 mL dan diperoleh sebanyak 2185 botol vial eluat. Kemudian setiap interval 5 botol vial diuji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk melihat pola pemisahannya yang sama. Setiap pola pemisahan yang sama digabung menjadi satu fraksi dan didapatkan sebanyak 32 fraksi berdasarkan hasil uji KLT yang didapatkan yang dilihat dibawah sinar UV (254 dan 365 nm).

Fraksi 27 diambil untuk dilakukan rekromatografi kolom karena memiliki pola pemisahan yang lebih baik dan massa yang lebih besar dibanding fraksi lainnya. Sebanyak 5 gram fraksi 27 dipreabsorpsi kembali dan dilakukan pemisahan kembali dengan kromatografi kolom dengan sistem elusi SGP.

Hasil dari rekromatografi kolom ditampung dalam botol vial 10 mL dan didapatkan sebanyak 965 vial eluat. Kemudian setiap interval 5 botol vial eluat di KLT untuk melihat pola pemisahan yang sama. Setiap pola pemisahan yang sama digabung menjadi satu fraksi dan didapatkan 14 subfraksi berdasarkan hasil uji KLT yang didapatkan yang dilihat dibawah lampu UV (254 dan 365 nm).

Pada subfraksi 13 vial 802-823 terlihat adanya padatan putih yang masih terdapat sedikit pengotor yang masih menempel. Kemudian dilakukan pemurnian padatan putih tersebut dengan cara tritulasi menggunakan pelarut etil asetat. Pemurnian dengan cara tritulasi ini akan melarutkan pengotor yang menempel tersebut namun tidak melarutkan padatan putih yang telah terbentuk sehingga didapatkan padatan putih yang telah terpisah dengan pengotornya. Sehingga didapatkan padatan putih sebanyak 0,0082 g. Kemudian padatan putih tersebut diidentifikasi dan dilakukan uji kemurniannya [10].

3.3 Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi

3.3.1 Uji KLT dan Profil Fitokimia

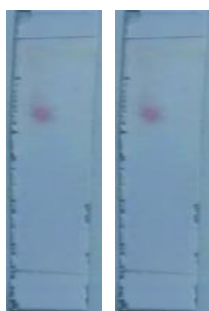
Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dapat dilakukan dengan cara KLT dengan perbandingan kepolaran eluen yang berbeda-beda. Perbandingan eluen yang digunakan adalah etil asetat:metanol (10:0 ; 9:1 ; 8:2). Hasil KLT memperlihatkan bahwa terdapat 1 noda tunggal yang muncul dengan berbagai perbandingan kepolaran eluen yang berbeda-beda. Ini menandakan bahwa padatan putih tersebut telah murni. Hasil uji

KLT senyawa hasil isolasi dengan perbandingan eluen yang berbeda-beda dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Hasil uji KLT s senyawa hasil isolasi

Perbandingan eluen		R _f	Penampakan noda (Pereaksi LB)
Etil asetat	Metanol		
10	0	0,075	1 noda ungu
9	1	0,625	1 noda ungu
8	2	0,675	1 noda ungu

Setelah ditambahkan dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* pada uji KLT muncul noda tunggal berwarna ungu ketika dipanaskan diatas *hot plate*. Ini menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi positif termasuk golongan senyawa triterpenoid [10]. Hasil profil fitokimia pada plat KLT dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* dapat dilihat pada Gambar 3.2 1 noda ungu



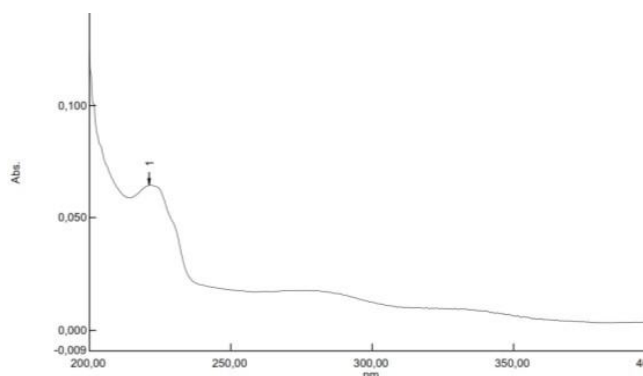
Gambar 3.2 Hasil KLT Senyawa Murni Dengan Pereaksi *Liebermann-Burchard*.

3.3.2 Uji Titik Leleh

Hasil uji titik leleh senyawa hasil isolasi dengan alat *melting point apparatus* didapatkan bahwa rentang titik leleh senyawa tersebut adalah 190-192°C. Senyawa hasil isolasi ini dapat dikatakan telah murni karena telah mencapai titik leleh dengan rentang $\leq 2^\circ\text{C}$ [10].

3.4 Karakterisasi

3.4.1 Spektroskopi UV-VIS



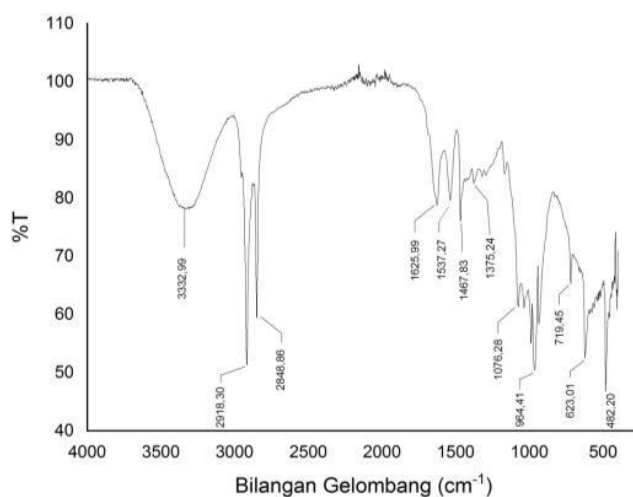
Gambar 3.3 Spektrum UV-Vis Senyawa Hasil Isolasi

Salah satu tujuan dilakukannya karakterisasi senyawa organik menggunakan spektroskopi UV-Vis adalah dapat memberikan keterangan tentang gugus kromofor pada struktur senyawa organik tersebut. Untuk spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi bisa dilihat pada Gambar 3.3

Berdasarkan spektrum UV-Vis tersebut terlihat adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 221 nm. Pada panjang gelombang ini menandakan adanya transisi elektron $\pi-\pi^*$ yang menunjukkan adanya kromofor dari ikatan $\text{C}=\text{C}$ yang tidak berkonjugasi. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Arif (2019) bahwa serapan maksimum pada panjang gelombang 200-230 nm menandakan adanya transisi elektron $\pi-\pi^*$ yang menunjukkan adanya kromofor dari ikatan $\text{C}=\text{C}$ yang tidak berkonjugasi [12]. Data ini didukung dengan adanya serapan gugus $\text{C}=\text{C}$ (alkena) pada bilangan gelombang $1615,99\text{ cm}^{-1}$ pada spektrum FTIR.

3.4.2 Spektroskopi FTIR

Tujuan dilakukannya karakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR adalah mampu mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada struktur senyawa organik tersebut. Hasil spektrum FTIR dari senyawa hasil isolasi ini dapat dilihat pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Spektrum FTIR senyawa isolasi

Berdasarkan spektrum FTIR tersebut menunjukkan adanya gugus fungsi antara lain, pada bilangan gelombang $3332,9\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus OH yang didukung adanya serapan C-O pada bilangan gelombang $1076,28\text{ cm}^{-1}$. Pada bilangan gelombang $1625,9\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C (alkena). Pada bilangan gelombang $2918,3\text{ cm}^{-1}$ dan $2848,86\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-H alifatik yang diduga merupakan gugus metil dan metilena yang diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $1467,8\text{ cm}^{-1}$ dan $1375,2\text{ cm}^{-1}$. Serapan di daerah $1375,2\text{ cm}^{-1}$ ini merupakan serapan dari gugus geminal dimetil sebagai ciri khas dari senyawa triterpenoid [13,14].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa telah didapatkan senyawa dari ekstrak etil asetat daun salam yang tergolong dalam golongan senyawa triterpenoid berupa padatan putih dengan berat $0,0082\text{ g}$ ($0,041\%$ terhadap ekstrak) dan titik leleh $190\text{--}192^{\circ}\text{C}$. Berdasarkan hasil karakterisasi senyawa, dari data spektrum UV dan FTIR menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi tidak memiliki ikatan rangkap berkonjugasi dan mempunyai gugus OH, C-O (alkohol), C=C (alkena), C-H alifatik dan geminal dimetil.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Departemen Kimia, Fakultas MIPA Universitas Andalas.

Kontribusi Penulis

Konseptualisasi: N.F.

Investigasi: N.F., R.D

Metodologi: N.F.; A.

Supervisi: N.M., A.

Penulisan – Draft asli: N.F., A., R.D.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

Daftar Pustaka

1. C. Harismah K, *Utilization of bay leaves (Eugenia polyantha) as herbal medicine and food flavoring herbs.*, 2nd ed. Warta LPM 19, 2017.
2. M. of Health, *Materia Medica IV Director General of the National Agency of Drug and Food Control of Republic of Indonesia.* 1980.
3. E. N. Asmira Abd Rahim, A. Ismail, M. N. Omar, U. N. Rahmat, and W. A. Nizam Wan Ahmad, "GC-MS analysis of phytochemical compounds in *Syzygium polyanthum* leaves extracted using ultrasound-assisted method," *Pharmacogn. J.*, vol. 10, no. 1, pp. 110–119, 2018, doi: 10.5530/pj.2018.1.20.
4. C. Harismah K, *Utilization of bay leaves (Eugenia polyantha) as herbal medicine and food flavoring herbs.*, 2nd ed. Warta LPM 19, 2017.
5. N. Ferdinal, Afrizal, and I. Navira, "Identifikasi Metabolit sekunder Dan Uji Antioksidan dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp).," *J. Kim. Unand*, vol. 10, no. 2, pp. 27–33, 2020.
6. R. Septriadi, "Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Uji Sitotoksik Fraksi Heksan, Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi Metanol Dengan Metoda BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp).," Universitas Andalas, 2021.
7. A. Santoni, Sabariah, and M. Efendi, "Isolasi Dan Elusidasi Struktur Senyawa Triterpenoid Dari Kulit Batang Ambacang (*Mangifera Foetida* L.) Serta Uji Brine Shrimp Letality Test (BSLT)," *J. Ris. Kim.*, vol. 9, no. 1, 2015.
8. Suryati, H. Nurdin, and N. Amalia, "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak Kayu Surian (*Toona sinensis*)," *J. Kim. Unand*, vol. 4, no. 1, pp. 49–52., 2015.
9. F. Dwisari, Harlia, and A. Alimuddin, "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid Ekstrak Metanol Akar Pohon Kayu Buta-Buta (*Excoecaria agallocha*

- L.),” *J. Kim. Fak. MIPA Univ.*, vol. 5, no. 3, pp. 25–30, 2016.
10. B. Arifin, O. Norita Tetra, and S. Maghfirah, “Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Daun Lengkeng (*Dimocarpus longan* Lour.) dan Uji Aktivitas,” *J. Zarah*, vol. 8, no. 2, pp. 69–75, 2020.
11. Zulfadli, N. Ferdinal, and B. Arifin, “Isolasi Terpenoid Fraksi Aktif Antioksidan dari Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L.] A. Cheval),” *J. Kim. Unand*, vol. 4, no. 1, pp. 67-70., 2015
12. M. S. Arif, “Uji Toksisitas dan Identifikasi Ekstrak Kasar Metanol Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) dengan Variasi Metode Pengeringan dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi,” Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 2019.
13. D. Noerdin, *Elusidasi Struktur Senyawa Organik dengan Cara Spektroskopi Ultralembayung dan Inframerah*. Bandung: Angkasa. Bandung, 1985.
14. M. Yunazar, *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid dan Steroid*. Padang: Unand Press, 2000.