

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK *n*-HEKSAN dari UMBI LOBAK (*Raphanus sativus* Lamk)

¹Ummi Zahra, ²Muharram, ³Asriani Ilyas

^{1,3}Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar

²Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Makassar

Email: zahraummi90@gmail.com

Abstract: Isolation and identification of secondary metabolite compound in extract of *n*-Hexane in Umbi Lobak (*Raphanus sativus* Lamk) have been carried out. The purpose of this research is to know secondary metabolite compound which is contained in Umbi Lobak (*Raphanus sativus* Lamk) which obtained from Gowa. The compound was obtained by isolation process that consists of several steps including extraction, fractionation, purification, and identification. Extraction was carried out using maceration with *n*-hexane. The identification has done by phytochemistry test, melting point, solubility, TLC, and IR spectroscopy. The result of research found out that the obtained compound was the steroid compound, with melt point 133-133,5°C and had positive reaction toward Lieberman Burchard reagents, where the Lieberman Burchard reagent resulting is green which perfectly solved in *n*-hexane, bit solved in methanol, and could not be solved in acetone. TLC analysis showed a stain in three scales different solvent and the result of elucidation structure in IR spectrophotometer showed that compound which get is β sitosterol.

Keywords: *Raphanus sativus*, secondary metabolite, β sitosterol.

1. PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang ditemukan di hampir semua zona iklim sedang hingga daerah tropika dan yang paling banyak ditemukan adalah famili *Brassicaceae*. Secara keseluruhan, terdapat 350 marga (genus) dan sekitar 3.000 spesies. Adapun pemanfaatannya banyak digunakan sebagai obat anti kanker dengan sejumlah penelitian yang telah menunjukkan bahwa *Brassicaceae* melindungi terhadap resiko kanker (William, 2004). Kandungan kimia dari *Brassicaceae* telah ditemukan senyawa yang termasuk golongan glukosinolat dan golongan polifenol, terdapat hanya *Brassicaceae* yang memiliki kandungan senyawa tersebut sehingga dapat bersifat antioksidan dan antidiabetes yang menangkal radikal bebas (Damayanti, 2012).

Raphanus merupakan salah satu genus dari 350 genus *Brassicaceae*. *Raphanus* memiliki buah yang tidak pecah pada saat jatuh tempo untuk mengungkapkan benih. Genus ini berasal dari Asia, tetapi anggotanya sekarang dapat ditemukan di seluruh dunia. Di Indonesia *Raphanus* banyak tumbuh di daerah pegunungan dan lembab, seperti di daerah Malino Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan. Diantara tiga spesies pada genus ini *Raphanus sativus* Lamk merupakan spesies yang banyak digunakan sebagai bahan makanan dan obat serta banyak diteliti akan kandungan kimiawinya. *Raphanus sativus* Lamk yang sering disebut lobak merupakan salah satu spesies tanaman pada raphanus yang banyak dimanfaatkan sebagai sayuran dan obat-obatan. *R. sativus* Lamk

mengandung zat kimia yang bermanfaat bagi tubuh antara lain niasin, minyak atsiri, glukosinolat, kolin, fenilalanin, flavonoid, fenolat, terpenoid, steroid, dan asam lemak (Budiman, 2011).

Tujuan

Tujuan penelitian adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksan umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk).

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari sampai Desember 2012 yang mencakup penelusuran literatur, pengambilan sampel, preparasi sampel, analisis sampel. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, Laboratorium Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar dan FMIPA UNHAS Makassar.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu semprot, wadah maserasi, rangkaian alat destilasi, pinset, botol fial, gelas kimia, gelas ukur, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet tetes, labu erlenmeyer, statif, klem, *rotary evaporator*, alat penentu titik leleh elektroterma, penangas air, oven, neraca analitik, kromatografi kolom flash, kromatografi kolom cair vakum, chamber, lampu UV 254-366 nm dan spektrofotometer IR.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk), *n*-heksana, etilasetat, kloroform, metanol, pereaksi Lieberman-Burchard, pereaksi Dragendorff, asam sulfat pekat, NaOH 10%, pereaksi Mayer, pereaksi FeCl₃, plat KLT G 60 F₂₅₄, silika gel 7730, silika gel 7733, silika gel 7734, aquadest dan tissue.

Prosedur Kerja

Ekstraksi

Serbuk kering umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk). Sebanyak 1 kg dimaserasi dengan pelarut *n*-heksan sampai seluruh sampel terendam. Setiap 24 jam pelarutnya diganti selama tiga kali (Kholifah, 2009). Ekstrak *n*-heksana disaring dan dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana.

Fraksinasi

Ekstrak kental yang diperoleh di KLT kemudian diteruskan dengan kromatografi kolom cair vakum (KKCV). Fraksi yang diperoleh pada proses (KKCV) di KLT, sehingga R_f yang sama digabung. Fraksi yang sudah digabung dilanjutkan pada kromatografi flash, sehingga diperoleh fraksi yang lebih sederhana (Mahmia, 2006).

Pemurnian

Pemurnian dilakukan dengan cara kristalisasi dan rekristalisasi dengan pelarut yang cocok, hingga diperoleh kristal murni yang ditandai dengan hasil KLT yang menunjukkan satu noda dan pengujian titik leleh.

Identifikasi

Identifikasi senyawa dilakukan dengan menggunakan beberapa pereaksi yaitu, Identifikasi Flavonoid (uji dengan NaOH 10%, uji dengan H₂SO₄ (pekat), dan uji dengan FeCl₃), identifikasi alkaloid (uji dengan pereaksi Dragendorff dan uji dengan pereaksi Mayer) dan identifikasi steroid (uji dengan pereaksi Lieberman-Bouchard).

Analisis IR

Penentuan struktur dilakukan antara lain Inframerah (IR) untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa organik (Silverstein, 1991).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi senyawa metabolit sekunder pada umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk) dilakukan dengan merendam sebanyak satu kilogram sampel kering umbi lobak dengan pelarut *n*-heksan. Perendaman tersebut merupakan metode ekstraksi maserasi yang dilakukan, proses ini berupa pemindahan senyawa aktif dari suatu sampel yang berasal dari sel suatu sampel menuju pelarut. Maserasi dilakukan dan dipilih dikarenakan perendaman yang cukup dengan suhu kamar dapat memaksimalkan tertariknya seluruh senyawa aktif yang berada pada sampel, disamping mudah dan murah dalam pengerjaannya. Proses perendaman ini akan menyebabkan pelarut yang digunakan akan menembus sitoplasma sel dari sampel dan akan menyebabkan tekanan terhadap senyawa aktif dan mendorong senyawa aktif terlarut dalam pelarut (Taofik, 2010). Selanjutnya ekstrak cair yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian disaring dengan menggunakan kain blacu, penyaringan ini diharapkan agar yang akan menjadi ekstrak yang akan digunakan selanjutnya berupa cairan yang terekstrak selama 3 x 24 jam, selanjutnya dilakukan evaporasi untuk memisahkan pelarut dengan ekstrakanya, sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 5,635 gram. Ekstrak ini kemudian dilakukan uji pereaksi sebagai uji pendahuluan kandungan yang ada pada *R sativus* Lamk.

Tabel 1. Hasil Uji Pendahuluan

Uji	Pereaksi	Warna		Ket
		Pustaka	Hasil	
Alkaloid	Dragendorff	Endapan jingga	Endapan jingga	(+)
	Wagner	Endapan coklat	Endapan coklat	(+)
Flavonoid	H ₂ SO ₄ pekat	Merah	Merah	(+)
	NaOH 10%	Kuning muda	Kuning muda	(+)
	FeCl ₃ 1 %	Biru hitam	Biru hitam	(+)
Steroid	Lieberman-Bauchard	Biru atau Hijau	Hijau	(+)

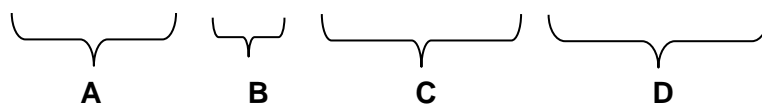
Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis kromatografi, untuk mengetahui eluen yang akan digunakan untuk fraksinasi selanjutnya. Setelah dilakukan analisis KLT diperoleh eluen yang terbaik yaitu perbandingan etil asetat:*n*-heksana (1:9) pada profil KLT pada gambar 1 terlihat komponen dapat terpisah dengan baik, juga dari profil tersebut dapat terlihat komponen-komponen yang terkandung pada umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk).



Gambar 1. Kromatografi lapis tipis ekstrak *n*-Heksana

Eluen= *n*-heksana : etilasetat (9 :1)
Adsorben= TLC silika gel 60 F₂₅₄
Penampakan noda H₂SO₄ 10%

Proses selanjutnya adalah proses fraksinasi yaitu pemisahan golongan yang dikandung yang satu dengan golongan lainnya, dimana proses ini dilakukan berdasarkan perbedaan kepolarannya (Harborne, 1987). Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya dilakukan KKVC (kromatografi kolom vakum cair) menggunakan adsorben silika gel 7730 sebagai fasa diam dan eluen yang terus ditingkatkan kepolarannya berupa etilasetat dengan *n*-heksana sebagai fasa gerak (Mahmiah, 2006). Hasil yang diperoleh dari fraksinasi dapat terlihat pada gambar 2.

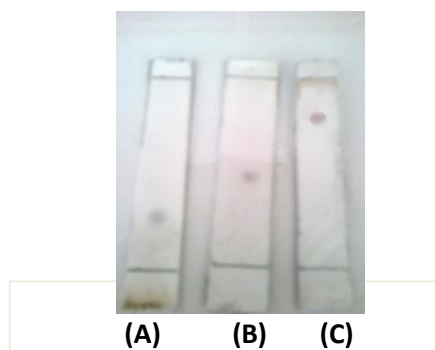


Gambar 2 Kromatografi lapis tipis fraksi 1-12

Eluen = *n*-heksana:etilasetat (9:1)
Adsorben = TLC silika gel 60 F₂₅₄
Penampak noda = H₂SO₄ 10%

Berdasarkan profil KLT di atas maka dilakukan penggabungan fraksi-fraksi hasil KCCV fraksi A gabungan fraksi 1-2, fraksi B gabungan (3-4), fraksi C gabungan (5-8) dan fraksi D gabungan (9-12). Adapun fraksi yang dilanjutkan pada kromatografi flash adalah fraksi B. Berdasarkan profil yang terlihat fraksi B berpotensi untuk dilanjutkan dengan noda tunggal yang terlihat dan pada fraksi B terlihat tanda-tanda Kristal. Fraksi B selanjutnya dilakukan kembali fraksinasi berupa Kromatografi flash. Kromatografi flash pada fraksi B akan kembali memisahkan fraksi-fraksi tersebut ke dalam golongan-golongannya. Hasil tersebut diperoleh 22 fraksi, selanjutnya dilakukan kembali analisis kromatografi lapis tipis untuk melihat persamaan golongan ke-22 fraksi yang diperoleh, dari fraksi yang terlihat fraksi B₁ (1-2), fraksi B₂ (3-7) dan fraksi B₃ (8-22). Hasil KLT yang terlihat bahwa fraksi B₂ memiliki profil satu noda dan fraksi yang terlihat adanya kristal pada dinding-dinding vial itu terjadi saat proses penjuanan dari fraksi yang telah melalui proses kristalisasi, yaitu suatu proses kesetimbangan molekul dalam larutan dalam kesetimbangan dengan kisi-kisi kristalnya. Karena kisi-kisi kristal lebih teratur, berbeda dengan molekulnya dan sebagai pengotor, molekul akan dikeluarkan dari kisi-kisi kristal dan kembali ke larutan (Zenta, 1999). Terlihatnya kristal pada saat proses tersebut sehingga dilakukan rekristalisasi dengan membersihkan kristal dari pengotor dengan menggunakan *n*-heksana panas hingga terdapat kristal murni dan putih berdasarkan profil KLT yang menunjukkan satu noda. Adapun kristal yang diperoleh sebanyak 0,0128 gram. Hasil dari ekstrak kental tersebut selanjutnya dilakukan fraksinasi berupa kromatografi kolom vakum cair dengan eluen yang kepolarannya terus dinaikkan yaitu *n*-heksana:etilasetat (9 : 1), (8 : 2), (7 : 3), (6 : 4), (5 : 5), (4 : 6), (3 : 7), (2 : 8), (1 : 9); etilasetat 100%; metanol:etilasetat (1:1) dan metanol 100% hasil dari fraksinasi ini menghasilkan fraksi-fraksi yang berbeda-beda.

Dari fraksi-fraksi yang diperoleh di atas kemudian kembali dilakukan kromatografi lapis tipis untuk melihat profil dari kesamaan berdasarkan pemisahan yang dilakukan. Identifikasi yang dilakukan antara lain uji KLT 3 eluen, uji titik leleh, uji fitokimia, dan kelarutan. Hasil dari beberapa uji identifikasi tersebut antara lain, pada eluen terlihat terdapat satu noda pada kromatogram dengan variasi kepolaran yang berbeda-beda, selanjutnya pada uji titik leleh trayek titik leleh yang diperoleh sebesar 0,5 °C yaitu 133-133,5 °C. Dan pada uji kelarutan kristal larut pada *n*-heksana, sedikit larut pada methanol dan etanol dan tidak larut pada aseton dan etil asetat. Adapun hasil uji fitokimia terdapat pada tabel 2.

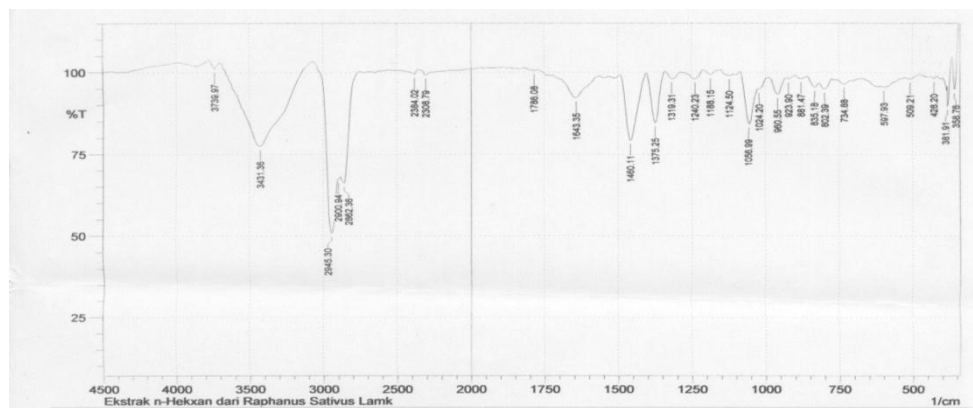


Gambar 3. Kromatografi lapis tipis 3 sistem eluen
 Adsorben : TLC silika gel 60 F₂₅₄
 Penampak noda : H₂SO₄ 10%

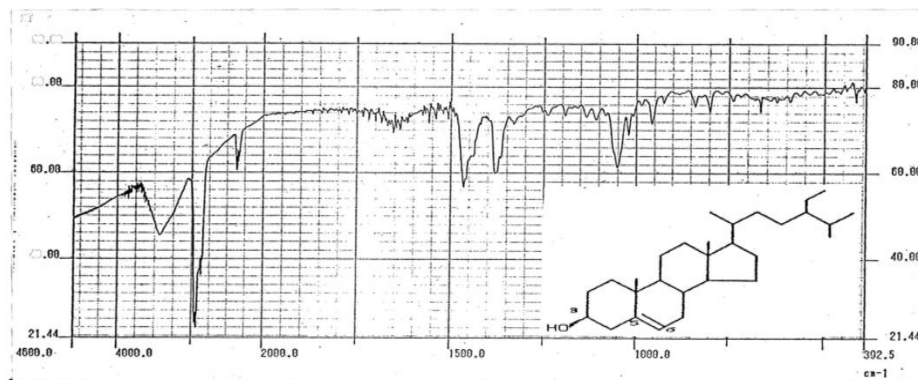
Tabel 2. Hasil uji identifikasi pada kristal umbi lobak

Uji	Pereaksi	Warna		Ket
		Pustaka	Hasil	
Alkaloid	Dragendorff	Endapan coklat	Bening	(-)
	Wagner	Hijau tua	Bening	(-)
Flavonoid	H ₂ SO ₄ pekat	Merah	Bening	(-)
	NaOH 10%	Kuning muda	Bening	(-)
	FeCl ₃ 1 %	Biru hitam	Bening	(-)
Steroid	Lieberman-Bauchard	Biru atau Hijau	Hijau	(+)
Terpenoid	Lieberman- Bauchard	Merah hingga ungu	Bening	(-)

Proses lanjutan dari uji identifikasi yaitu analisis IR, penentuan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa steroid yang dilakukan dengan menggunakan instrumen spektroskopi IR.

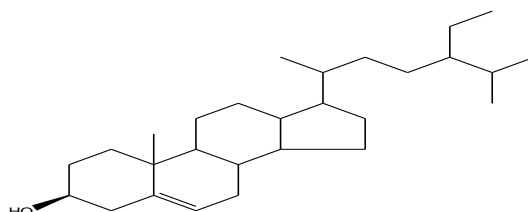


Gambar 4. Spektrum IR β sitosterol dari *Raphanus sativus* Lamk



Gambar 5. Spektrum IR β sitosterol dari *C. Fusco-pilosa*

Hasil interpretasi data spektrum serapan spektrofotometer IR yaitu pada $\tilde{\nu}$ 3431,36 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus OH yang kemudian diperkuat dengan adanya serapan C-O pada $\tilde{\nu}$ 1056,99 cm^{-1} dan keberadaan gugus $-\text{CH}_2-$ jenuh pada $\tilde{\nu}$ 2925,30 cm^{-1} , disebabkan senyawa sterol memiliki 4 ikatan rangkap, hal tersebut juga berdasarkan hasil perbandingan spektrum IR dari umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk) dengan β sitosterol pada *C. Fusco-pilosa* terlihat spektrum yang identik. Pada *C. Fusco-pilosa* memiliki spektrum maksimum pada daerah $\tilde{\nu}$ 3450 cm^{-1} , 1050 cm^{-1} , dan 1600 cm^{-1} (Muharram, 1993) sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil intepretasi data spektrum serapan spektrofotometer IR dari umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk) diduga senyawa yang diperoleh adalah β sitosterol $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ (22).



Gambar 6. β sitosterol $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ (22).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan hasil penelitian terhadap isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak *n*-heksana dari umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk.) diperoleh senyawa golongan steroid dengan titik leleh 133-133,5°C serta berdasarkan hasil elusidasi spektrum analisis IR diduga adalah senyawa β sitosterol $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disarankan sebagai bahan informasi tambahan bagi peneliti lain yang ingin melakukan penelitian lebih lanjut mengenai umbi lobak (*Raphanus sativus* Lamk.)

DAFTAR PUSTAKA

- Budiman, H., 2011, *Tanaman Obat*, <http://www.iptek.net.id>, 1 November 2011.
Firdaus, Z., 1999, *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Makassar: FMIPA Universitas Hasanuddin.
Harborne, J. B, 1987, *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- Istiqomah, N., 2011, *Isolasi dan Identifikasi Beberapa Senyawa Flavonoid dalam Fase n-Butanol Dari Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (Brassica oleracea L. var. botrytis L.* Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
- Kholifah, 2009, *Dua Senyawa Terpenoid Alkohol Dari Rimpang Lengkuas Merah*, Kalimantan Selatan: FMIPA Universitas Lambung Mangkurat..
- Mahmiah, 2006, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tumbuhan Saccopetalum horsfieldii Benn*, Surabaya: Hang Tuah University.
- Muharram, 1993, *Beberapa Metabolit sekunder dari Cryptocarya Fusco-Pilosa Techner dan Cryptocarya ferrea BL (lauraceae)*, Bandung: Program Magister Kimia ITB.
- Silverstein, 1991, *Spectrometric Identification Of Organic compounds*, Edisi ke-5 Jhon Wiley dan Sons.
- Sophi, D, 2012, *Pengobatan Herbal Bibimbap Ampuh Gempur Batu Ginjal* (Wawancara oleh [Duto Sri Cahyono](#)), Pengobatan Herbal Trubus, (12-05 2012).
- Taofik, M, 2010, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air Daun Paitan (Thitonia Diversifolia) sebagai Bahan Insektisida Botani untuk Pengendalian Hama Tungau Eriophyidae*, Malang:Fakultas Sains dan Teknologi UIN.
- Pearson Wiliam Kwaku Ahiano, 2004, *Phytotoxin and Metabolism of Phytoalexins*, Canada : Departement of chemistry,Universiti of Saskatchewan. h. 2