

Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis)

Muhammad Titis B.M.¹, Dra. Enny Fachriyah, M.Si¹ dan Dra. Dewi Kusriani, M.Si¹
Lab. Kimia Organik Jurusan Kimia FSM Universitas Diponegoro Semarang

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi, identifikasi serta uji aktifitas senyawa alkaoid daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). Serbuk daun binahong dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana, kemudian etanol, diperoleh ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol. Dari ekstrak etanol dilakukan isolasi alkaloid total. Pemisahan alkaloid dilakukan dengan KLT preparatif dan analisis dengan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan LC-MS. Dari analisis yang dilakukan diduga isolat alkaloid adalah senyawa betanidin (C₁₈H₁₆N₂O₈) yang bersifat tidak sitotoksik dengan LC₅₀ sebesar 85,583 ppm.

Kata kunci: Binahong, *Anredera cordifolia*, alkaloid, betanidin

PENDAHULUAN

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia telah dilakukan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad yang lalu. Indonesia dengan jumlah penduduk lebih dari 200 juta jiwa, memiliki lebih kurang 30.000 spesies tumbuhan dan 940 spesies diantaranya termasuk tumbuhan berkhasiat [1]. Tumbuhan tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktifitas biologi yang beraneka ragam serta memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai macam penyakit.

Salah satu tanaman di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional adalah tanaman binahong. Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) merupakan tanaman merambat, berbatang kecil, memiliki rhizoma yang kuat serta memiliki daun yang relatif tidak besar [2]. Penduduk di India menyebut tanaman ini sebagai Malabar *spinach* dan sangat baik untuk mengobati infeksi pada tenggorokan, dada dan kulit [3]. Tanaman binahong termasuk dalam famili *Basellaceae* [4]. Tanaman binahong mulai menjadi tanaman yang serius diteliti di Australia, Afrika

~~Selatan, Hawaii, New Zeland dan negara pasifik lainnya [5].~~

Berdasarkan hasil penelitian [6] daun binahong mengandung alkaloid, saponin dan flavonoid. Ekstrak alkaloid secara umum dari beberapa jenis tanaman dilaporkan memiliki fungsi medis dalam bidang kesehatan, seperti *siamine* yang merupakan alkaloid pada *Cassia siamea* memiliki aktifitas sebagai antioksidan [7].

Penelitian Glassgen [8] dan Pattabhiraman [9] memaparkan bahwa di dalam famili *Basellaceae* terkandung senyawa *betacyanins* yang merupakan suatu jenis alkaloid berwarna sehingga biasa disebut dengan *chromoalkaloid*. Berdasarkan kesamaan kemotaksonomi dari tanaman tersebut, diharapkan kandungan senyawa alkaloid dalam tanaman binahong tidak jauh berbeda.

METODE

Serbuk daun binahong dimaserasi dengan pelarut n-heksana hingga filtratnya jernih. Kemudian disaring, residu hasil maserasi diangin-anginkan hingga kering. Residu yang telah kering kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol hingga filtratnya jernih. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary*

evaporator sehingga diperoleh ekstrak etanol.

Ekstrak etanol yang telah didapatkan, ditambahkan larutan HCl 2M hingga pH larutan menjadi 3. Larutan yang telah bersifat asam kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat. Hasil ekstraksi akan terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan asam dan lapisan etil asetat. Selanjutnya kedua lapisan dipisahkan, kemudian lapisan asam ditambahkan NH_4OH hingga pH larutan mencapai 9 kemudian diekstraksi kembali menggunakan etil asetat. Hasil ekstraksi akan terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan basa dan lapisan etil asetat, kemudian dipisahkan. Lapisan etil asetat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak alkaloid total.

Terhadap alkaloid total yang diperoleh dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan campuran pelarut etanol, etil asetat dan n-heksana yang bersifat p.a dengan perbandingan 1:2:30 menggunakan plat silika gel 60GF₂₅₄ sehingga diperoleh noda-noda isolat. Selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif.

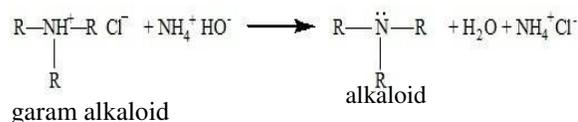
Hasil isolat alkaloid kemudian di analisis strukturnya menggunakan Spektroskopi UV-Visible, FTIR dan LC-MS. Uji aktifitas senyawa tersebut dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk daun binahong dimaserasi menggunakan n-heksan bertujuan untuk mengikat senyawa-senyawa metabolit sekunder daun binahong yang bersifat non polar seperti steroid dan triterpenoid. Selanjutnya dilakukan penyaringan. Residu yang telah kering kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol hingga filtratnya jernih. Maserasi menggunakan etanol karena etanol dapat melarutkan alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga akan terikat dalam pelarut etanol. Filtrat yang diperoleh

kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian diuji golongan senyawa alkaloid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol menunjukkan reaksi positif alkaloid yang ditandai dengan adanya endapan putih pada penambahan pereaksi Meyer dan terdapat endapan merah bata pada penambahan pereaksi Dragendorf [10].

Selanjutnya ekstrak etanol ditambahkan larutan HCl hingga pH larutan 3 agar terbentuk garam alkaloid. Larutan yang telah bersifat asam kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat. Hasil ekstraksi akan terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan bawah yang merupakan lapisan asam dan lapisan atas merupakan lapisan etil asetat. Kedua lapisan tersebut dipisahkan, kemudian lapisan asam ditambahkan NH_4OH hingga pH larutan mencapai 9. Perlakuan tersebut dilakukan agar garam alkaloid membentuk basa bebas alkaloid. Reaksi alkaloid dengan basa secara umum dapat dilihat pada reaksi berikut:

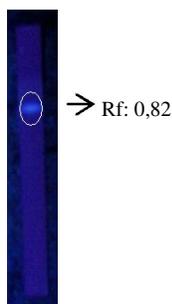


Larutan basa yang telah diekstraksi dengan etil asetat akan membentuk 2 lapisan yaitu lapisan basa dan lapisan etil asetat. Selanjutnya kedua lapisan tersebut dipisahkan. Lapisan etil asetat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* menghasilkan ekstrak etil kemudian diuji alkaloid menggunakan pereaksi Meyer. Hasil uji alkaloid pada ekstrak tersebut menunjukkan hasil positif alkaloid, yaitu terbentuknya endapan putih.

Hasil KLT menggunakan plat silika gel 60GF₂₅₄ dan fasa gerak yang digunakan adalah campuran pelarut etanol, etil asetat dan n-heksana (1:2:30). Hasil yang diperoleh pada lampu UV λ_{365} nm yakni dua buah noda yang berwarna biru dan merah

dengan Rf 0,65 dan 0,23. Berdasarkan hasil KLT, diketahui noda berwarna biru merupakan alkaloid. Menurut [4] di bawah lampu UV 365 nm senyawa alkaloid pada umumnya berwarna biru, biru kehijauan atau ungu berfluoresensi. Selanjutnya dilakukan pemisahan dengan KLT preparatif menggunakan pengembang yang sama dihasilkan dua buah pita.

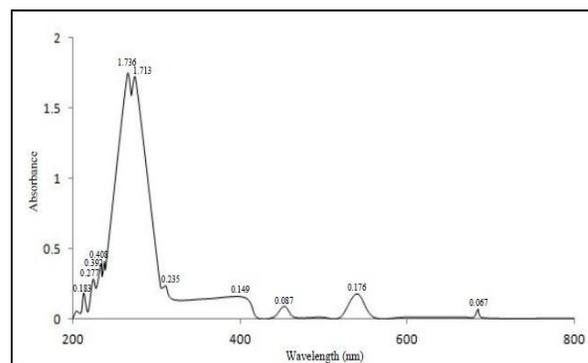
Pada pita yang berwarna biru dilakukan pengerokan untuk diuji kemurniannya dengan KLT kembali menggunakan pengembang yang sama. Hasil yang diperoleh yakni noda tunggal yang berwarna biru dan diduga isolat alkaloid tersebut telah murni.



Gambar 1. Hasil KLT isolat alkaoid

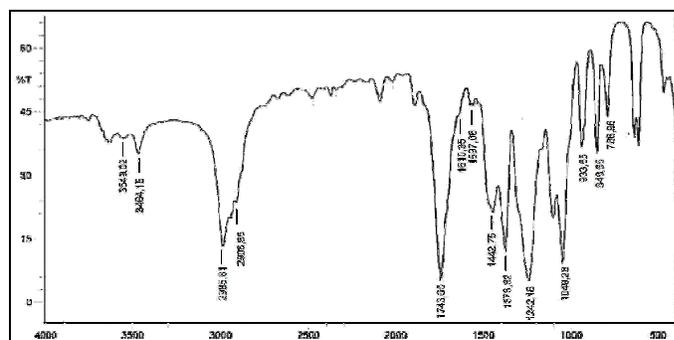
Filtrat tersebut kemudian diuapkan untuk menghilangkan pelarut yang terkandung di dalamnya sehingga dihasilkan kristal alkaloid. Terhadap kristal alkaloid tersebut kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan LC-MS.

Hasil analisis isolat noda tunggal menggunakan spektrofotometer UV-Vis, diketahui bahwa isolat tersebut mempunyai panjang gelombang maksimum (λ_{max}) sebesar 265 nm 275 nm yang diindikasikan bahwa senyawa tersebut termasuk dalam golongan alkaloid indol. Menurut [11] terbentuknya dua buah serapan yang berdekatan menunjukkan ciri khas dari senyawa alkaloid indol. Hasil spektra UV isolat alkaloid ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Spektra UV-Vis isolat alkaoid

Hasil di atas selain adanya serapan pada 265 nm dan 275 nm, juga menunjukkan adanya serapan pada 311 nm yang disebabkan adanya pengaruh gugus karboksilat kemudian adanya serapan pada 406 nm disebabkan pengaruh ikatan C=C terkonjugasi dalam senyawa tersebut, serta pada serapan 540 nm disebabkan serapan keseluruhan dari senyawa tersebut.



Gambar 3. Spektogram FTIR

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada isolat murni. Berdasarkan data interpretasi spektrogram FTIR pada gambar 3 menunjukkan puncak-puncak vibrasi dengan serapan pada panjang gelombang $3464,15 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan dari vibrasi ulur gugus N-H, selain itu didukung pula dengan adanya serapan pada panjang gelombang $1597,06 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi tekuk gugus N-H. Adanya serapan pada panjang gelombang $3549,02 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan vibrasi ikatan O-H. Vibrasi ikatan ini diduga

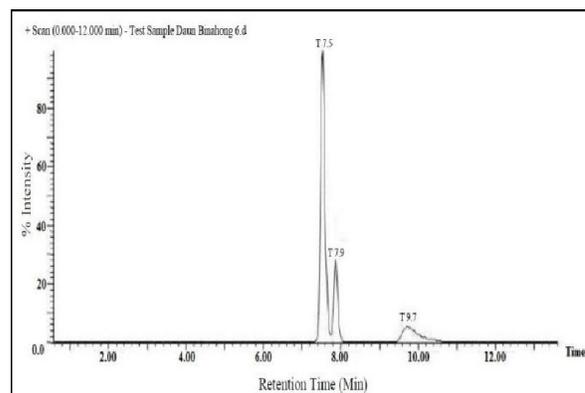
merupakan vibrasi gugus alkohol yang didukung dengan munculnya serapan kuat pada bilangan gelombang $1049,28\text{ cm}^{-1}$ dari vibrasi ulur C-O alkohol. Adanya vibrasi pada bilangan gelombang $1373,32\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan dari C-N. Selain itu pada daerah gelombang $1610,35\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan vibrasi ikatan C=C aromatik terkonjugasi. Serapan kuat pada daerah panjang gelombang $1743,65\text{ cm}^{-1}$ diduga karena adanya gugus fungsi C=O karboksilat. Rentangan C-H alifatik asimetri dan simetri ditunjukkan pada panjang gelombang $2985,81\text{ cm}^{-1}$ dan $2908,65\text{ cm}^{-1}$, hal ini berasal dari gugus CH_2 [12]. Adanya C-H alifatik diperkuat dengan adanya serapan pada panjang gelombang $1442,75\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan dari C-H alifatik bending dan pada panjang gelombang $1242,16\text{ cm}^{-1}$ adalah serapan vibrasi ulur dari C-H keluar bidang. Kemudian pada bilangan gelombang $786,96\text{ cm}^{-1}$, $848,68\text{ cm}^{-1}$ dan $933,55\text{ cm}^{-1}$ merupakan substitusi orto, para dan meta pada cincin aromatik.

Berdasarkan hasil analisis UV-Vis dan FTIR, diduga senyawa alkaloid yang terkandung dalam isolat merupakan senyawa alkaloid yang mengandung gugus O-H, N-H, C-N, C=C, C-O alkohol, C=O karboksilat dan CH_2 .

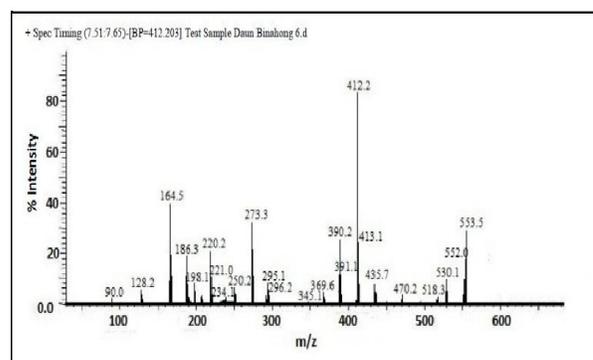
Isolat kemudian dianalisis menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* (LC-MS) untuk mengetahui berat molekul isolat alkaloid. Kromatogram isolat alkaloid ditampilkan pada gambar 4. Hasil menunjukkan bahwa isolat tersebut belum murni. Hal ini ditunjukkan adanya

tiga puncak yang diduga terdapat tiga jenis senyawa alkaloid pada isolat tersebut. Spektrogram isolat alkaloid dari puncak yang tertinggi ditampilkan pada gambar 5.

Hasil spektrogram MS menunjukkan harga berat molekul senyawa yang diisolasi sebesar 389 g/mol ditunjukkan pada gambar



Gambar 4. Kromatogram LCMS

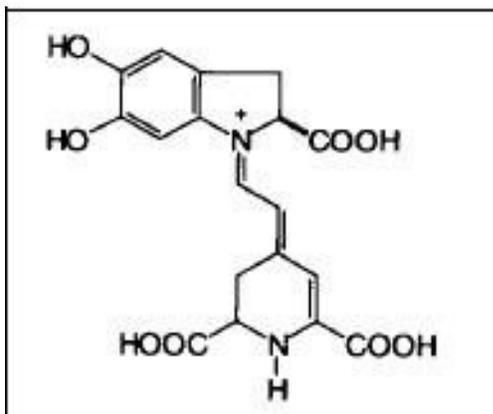


Gambar 5. Spektrogram puncak tertinggi

5 dengan adanya $m/z\ 390,2\ [\text{M}+\text{H}]^+$ dan $m/z\ 412,2\ [\text{M}+\text{Na}]^+$.

Berdasarkan penelitian Khan dkk [13] analisis menggunakan metode spektrometri, diketahui jenis alkaloid beanidin mempunyai harga panjang gelombang dasar sebesar 535

nm dan mempunyai berat molekul sebesar 389 g/mol. Sehingga berdasarkan penelitian tersebut diduga isolat alkaloid yang telah diisolasi dari daun binahong mengandung senyawa betanidin ($C_{18}H_{16}N_2O_8$). Struktur dari alkaloid betanidin ($C_{18}H_{16}N_2O_8$) ditunjukkan pada gambar 6.



Gambar 6. Struktur alkaloid betanidin

Uji aktifitas yang dilakukan dengan metode BSLT menggunakan *Artemia salina* diperoleh harga LC_{50} dari ekstrak etanol dan alkaloid total masing-masing sebesar 4,593 ppm dan 85,583 ppm. Berdasarkan Moshik [14] harga 1 - 10 ppm bersifat sangat sitotoksik sedangkan 30 - 100 ppm bersifat sitotoksik. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bersifat sangat sitotoksik sedangkan alkaloid total bersifat sitotoksik.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa yang telah diisolasi dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) merupakan golongan senyawa alkaloid.
2. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan LCMS diduga merupakan senyawa alkaloid betanidin ($C_{18}H_{16}N_2O_8$).
3. Hasil uji sitotoksik terhadap ekstrak

etanol dan alkaloid total daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) masing-masing menunjukkan sifat sangat sitotoksik dan sitotoksik dengan harga LC_{50} yaitu 4,593 ppm dan 85,583 ppm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa alkaloid yang telah diisolasi serta mengidentifikasi senyawa alkaloid lain yang terdapat pada daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sari, L.O., 2006, *Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya*, Universitas Jember, Jember
- [2] Dequan, L., 2003, *Flora of China*, Northwestern Institute of Botany, China
- [3] Prasuna, C.P., Chakradhar, R.P.S., Rao, J.L., Gopal, N.O., 2009, *EPR and IR spectral investigations on some leafy vegetables of Indian origin*, University of Sri Vankateswara, Andhra Pradesh, India
- [4] Wagner, W.L., Herbst, D.R., Sohmer, S.H., 1999, *Manual of the Flowering Plants of Hawaii*, University of Hawaii Press and Bishop Museum Press, Honolulu
- [5] Cagnotti, C., 2007, *Biology and host specificity of Plectonocha correntina Lacordaire (Chrysomelidae), a candidate for the biological control of Anredera cordifolia (Tenore) Steenis (Basellaceae)*, South American Biological Control Laboratory, USDA-ARS, Hurlingham, Argentina, 15(2), 300-30

- [6] Sumartiningsih, S., 2011, *The Effect of Binahong to Hematoma*, Department Sport Science in Semarang State University, Semarang
- [7] Minarti, D.P., Kardono, L.B.S., Wahyudi, B., 2002, *Penapisan Kimia Senyawa Alkaloid dalam Ekstrak Daun Johar (Cassia siamea L.)*, Pusat Penelitian LIPI, Jakarta
- [8] Glassgen, W.E., Metzger, J.W., Heuer, S., Strack, D., 1993, *Betacyanins from fruit of Basella rubra*, Institut fur Organische Chemie der Universitat Tubingen, Germany
- [9] Pattabhiraman, T.R., 1965, *An Investigation for Alkaloids in Charpentiera Obovata Gaud*, Thesis, University of Hawaii, Hawaii
- [10] Farnsworth, N.R., 1966, *Biological and Phytochemical Screening of Plants*, University of Pittsburgh, America
- [11] Nassel, F.M., 2008, *Isolasi Alkaloid Utama dari Tumbuhan Lerchea interrupta Korth, Tenaga Fungsional BPOM, Jambi*
- [12] Socrates, G., 1994, *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts*, New York, John Wiley and Sons
- [13] Khan, M.I., Harsha, P.S.C., Giridhar, P., Ravishankar, G.A., 2012, *Pigment identification, nutritional composition, bioactivity, and in vitro cancer cell cytotoxicity of Rivina humilis L. berries, potential source of betalains*, Food Science and Technology, New Delhi, India
- [14] Moshi, M.J., Innocent, E., Magadula, J.J., Otieno, D.F., dan Weisheit, A., 2010, *Brine shrimp toxicity of some plants used as traditional medicines in Kagera Region*, Muhimbili University of Health and Allied Sciences, Tanzania, 12 (1)

Semarang, Oktober 2012

Pembimbing I

Pembimbing II

Dra. Enny Fachriyah, M.Si
NIP. 1961 10 24 1987 03 2 002

Dra. Dewi Kusriani, M.Si
NIP. 1957 08 07 1987 03 2 001