

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak *n*-heksana
Tumbuhan Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.)

Isolation and Identification of Secondary Metabolites Compound Extract of *n*-
hexane Meniran plant (*Phyllanthus niruri* Linn.)

¹⁾Risnawati, ²⁾Muharram, ³⁾Jusniar

^{1,2,3)} Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg. Tata Raya Parang Tambung
Email: risnawatiyusuf010.kimiaunm@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini adalah penelitian eksplorasi yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak *n*-heksana dari tumbuhan Meniran. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, diantaranya preparasi, ekstraksi dengan metode maserasi, partisi, fraksinasi, pemurnian, dan identifikasi. Hasil penelitian berupa dua senyawa kristal putih berbentuk jarum. Senyawa A positif terhadap pereaksi FeCl₃ dan senyawa B positif terhadap pereaksi Lieburmann-Buchard. Berdasarkan hasil uji pereaksi dan data FTIR dan UV-Vis, menunjukkan bahwa senyawa A adalah Flavonoid dan senyawa B adalah terpenoid.

Kata kunci: *Isolasi, P. niruri Linn., Flavonoid dan Terpenoid.*

ABSTRACT

This study is exploratory research that aim to isolate and identify the secondary metabolite compound of *n*-hexane extract of Meniran plant. This research was carried out in several steps; they were preparation, extraction of sample with maceration, partition, fractionation, purification and identification. The result were two needle white crystal. Compound A positive to FeCl₃ reagent, while compound B positive to Liebermann-Burchard reagent. Base on the reagent test and FTIR and UV-Vis data, showed that the compound A is flavonoid and compound B is terpenoid.

Keyword: *Isolation, P. niruri Linn., Flavonoid and Terpenoid.*

PENDAHULUAN

Tumbuhan meniran atau *Phyllanthus niruri* Linn merupakan salah satu spesies genus dari *Phyllanthus* yang termasuk jenis herba dengan tinggi 40-100 cm, tumbuh secara liar di tempat berbatu dan lembab, seperti di tepi sungai, pantai, semak, lahan bekas sawah, tanah telantar diantara rerumputan, hutan atau ladang, atau tumbuh di sekitar pekarangan rumah, baik di pedesaan maupun di perkotaan (Kardinan, *et al.*, 2004).

Seluruh bagian tanaman meniran dapat digunakan sebagai obat. Khasiatnya telah terbukti ampuh mengobati penyakit hepatitis dan juga dikenal sebagai pembangkit libido, peluruh air seni, gangguan pernafasan, kencing manis, diare, demam, penyakit kelamin, dan cacar (Sulaksana, *et al.*, 2004).

Di Indonesia, air rebusan meniran diminum untuk melancarkan buang air kecil atau deuretik, digunakan untuk mengobati penyakit ginjal seperti radang ginjal, infeksi dan batu di saluran kencing, melancarkan air seni, dan menyembuhkan radang hati atau hepatitis, sakit kuning, dan penyakit kelamin seperti kencing nanah (Achmad, *et al.*, 2008).

Secara empiris dan klinis, meniran berfungsi sebagai antibakteri atau antibiotik, antihepatotoksik (melindungi hati dari racun), antipiretik (peredam demam), antitusif (peredam batuk), antiradang, antivirus, diuretik (peluruh air seni dan mencegah pembentukan batu kristal kalsium oksalat), ekspektoran (peluruh dahak), hipoglikemik (menurunkan kadar glukosa darah), serta sebagai immunostimulan (merangsang sel imun bekerja lebih aktif) (Kardinan, *et al.*, 2004).

Khasiat meniran yang beragam ini berkaitan erat dengan senyawa yang dikandungnya. Filantin dan hipofilantin dalam meniran merupakan komponen utama yang berkhasiat melindungi hati dari zat toksik. Kandungan lainnya berupa senyawa flavonoid rutin dan kuerstin dikenal sebagai antikarsinogen (penghambat kanker). Nirurin dan kuerstin yang terdapat di dalam meniran berkhasiat sebagai peluruh air seni (diuretik). Selain itu, meniran mengandung zat pahit seperti alkaloid. Zat yang memiliki rasa pahit biasanya bersifat mendinginkan (antidemam), antiradang, antidiare atau antigen, dan antidiabet (Kardinan, *et al.*, 2004).

Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol dari tumbuhan meniran memiliki aktivitas sebagai antidiabetes dan air rebusannya sebagai antioksidan. Hasil pengujian untuk identifikasi senyawa dalam ekstrak etanol menunjukkan bahwa meniran mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Achmad, *et al.*, 2008; de Padua, 1999; Joy, 1998; Mangunwardoyo, *et al.*, 2009).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti menganggap perlu diadakan suatu penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak *n*-heksana pada tumbuhan meniran.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat untuk proses ekstraksi dan identifikasi yaitu neraca analitik, bejana maserasi, evaporator, corong Buchner, alakromatografi kolom cair vakum, gelas yang lazim digunakan dilaboratorium,

plat tetes, pipa kapiler, botol vial, batang pengaduk, lampu UV (panjang gelombang 254 nm dan 366 nm), hotplate, oven, chamber, alat uji titik leleh Melting Point Meter M5000, spektrofotometer IR Shimadzu prestige-21 dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan adalah serbuk tumbuhan *P. niruri* Linn.. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol, *n*-heksana, etil-asetat, kloroform, aseton, beberapa reagen seperti pereaksi Liebermann-Buchard, FeCl₃ 1%, Meyer dan Wagner. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah silika gel 60, pelat KLT aluminium berlapis silika gel G 60 F₂₅₄, silika gel G 60 H untuk impregnasi, gel G 60 (70-230 mesh) untuk KKCVC, aluminium foil dan kertas saring.

B. Prosedur Kerja

Sebanyak 5,6 kg tumbuhan meniran dihaluskan dan dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam. Maserat yang diperoleh disaring menggunakan penyaring Buchner dengan kertas Whatman no.41 lalu dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental metanol, kemudian ditimbang. Selanjutnya ekstrak metanol dipartisi dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut *n*-heksana. Filtrat yang diperoleh, dievaporasi kemudian diuapkan pada suhu kamar sampai kering dan ditimbang. Kemudian ekstrak *n*-heksana ditimbang sebanyak 8,0587 gram untuk dilakukan proses fraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KKCV). Hasil KKCV kemudian dianalisis KLT, untuk fraksi yang memiliki profil noda yang sama

kemudian digabungkan untuk diuapkan pada suhu kamar. Fraksi yang menunjukkan adanya kristal dilakukan KKT, kemudian fraksi yang menunjukkan adanya kristal dilakukan proses reksistalisasi sehingga diperoleh kristal murni. Fraksi dilakukan uji kemurnian dengan tiga sistem eluen. Senyawa hasil isolasi dilakukan uji kualitatif dengan pereaksi Liebermann Burchard, Uji titik leleh dan dianalisis gugus fungsinya dengan metode spektroskopi IR dan UV-Vis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Uji Pendahuluan

Ekstrak *n*-heksana yang diperoleh diuji dengan menggunakan beberapa pereaksi yaitu pereaksi Liebermann-Burchard, besi (III) klorida (FeCl₃), Meyer, dan Wagner untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam sampel. Seperti yang disajikan dalam tabel berikut.

Tabel Hasil Uji Warna Ekstrak *n*-Heksana

Pereaksi	Pengamatan	Keterangan
Wagner	Hijau → Jingga kecoklatan	(-) Alkaloid
Meyer	Hijau → Bening	(-) Alkaloid
FeCl ₃ 1%	Hijau → coklat	(+) Flavonoid
Lieberman-Burchard	Hijau → Hijau kemerahan	(+) Terpenoid

2. Fraksinasi

Ekstrak kental *n*-heksana hasil partisi sebanyak 8,0587 g yang telah diimpregnasi dengan silika gel G 60 (07736) difraksinasi dengan metode KKCV. Namun ekstrak kental *n*-heksana

terlebih dahulu diidentifikasi menggunakan KLT dengan menggunakan eluen kombinasi *n*-heksana:etil asetat, dan kloroform:etil asetat pada berbagai perbandingan. Hasil KLT menunjukkan bahwa eluen *n*-heksana:etil asetat memberikan penampakan noda yang jelas dan pola pemisahan yang baik sehingga eluen tersebut digunakan untuk fraksinasi pada KKCVC.

Fraksinasi dengan KKCVC menggunakan silica gel G 60 (07736) sebagai fasa diam dan berbagai macam eluennya (fasa gerak) menggunakan eluen *n*-heksan:etil asetat, etil:aseton dan yang terakhir dengan metanol secara SGP (*Step Gradient Polarity*), mulai dari eluen nonpolar sampai polar sebagai fasa gerak. Volume eluen untuk setiap elusi sebanyak 50 mL. Eluat ditampung dalam botol-botol vial besar hingga diperoleh 55 fraksi. Hasil fraksinasi yang diperoleh kemudian diidentifikasi dengan menggunakan KLT dengan eluen yang sesuai. Fraksi-fraksi yang mempunyai profil noda yang sama digabung hingga diperoleh 15 fraksi gabungan (fraksi A hingga O). Fraksi-fraksi hasil KKCVC yang diperoleh diuapkan pada suhu ruang.

Fraksi F difraksinasi lebih lanjut menggunakan Kromatografi Kolom Tekan (KKT) yang terlebih dahulu diimfregnasi dengan silica gel G 60 (07734) sebagai fasa diam dan eluen yang sesuai sebagai fasa gerak. Fraksi hasil KKT yang diperoleh ditampung dalam vial-vial sebanyak 52 fraksi yang dikelompokkan menjadi 13 fraksi gabungan (fraksi F₁ hingga F₁₃). Fraksi

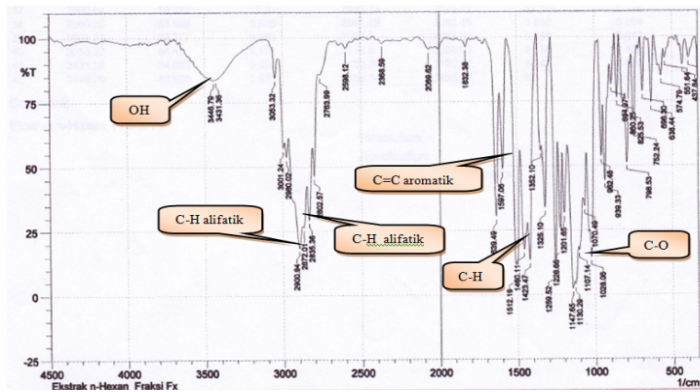
gabungan selanjutnya diuapkan pada suhu ruang. Setelah semua fraksi gabungan menguap pelarutnya. Fraksi F₈ kemudian dipilih untuk KKT lanjutan. Dari hasil KKT lanjutan ini diperoleh 12 fraksi gabungan. Selanjutnya, fraksi gabungan diuapkan pada suhu ruang.

3. Pemurnian

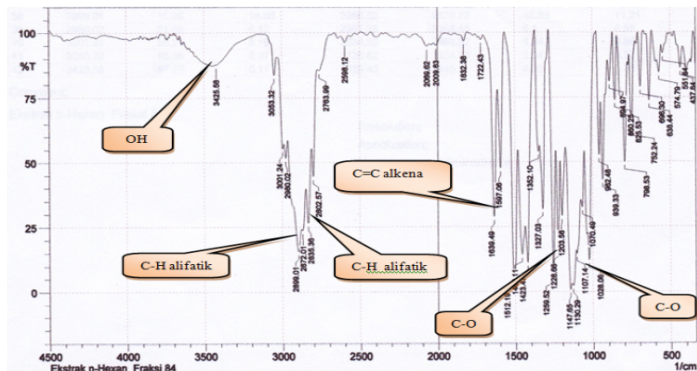
Kedua Isolat yang diperoleh direkristalisasi dan kemurniannya ditentukan dengan KLT menggunakan tiga sistem eluen. Pada metode tiga sistem eluen kemurnian isolat yang diperoleh ditandai dengan muncul noda tunggal pada setiap plat KLT. Hasil uji kemurnian dengan tiga sistem eluen untuk isolat A yaitu eluen *n*-heksana:Aseton (9:1), kloroform:etil Asetat (19:1) *n*-heksana:Etil Asetat (7:3), dan untuk isolat B yaitu eluen *n*-heksana:Aseton (0,85:15), *n*-heksan:etil Asetat (8:2) kloroform:Etil Asetat (0,95:0,5) menunjukkan adanya noda tunggal. Pengujian titik leleh menunjukkan bahwa kedua isolat telah murni dengan titik leleh 129,4 dan 127,2°C.

4. Identifikasi

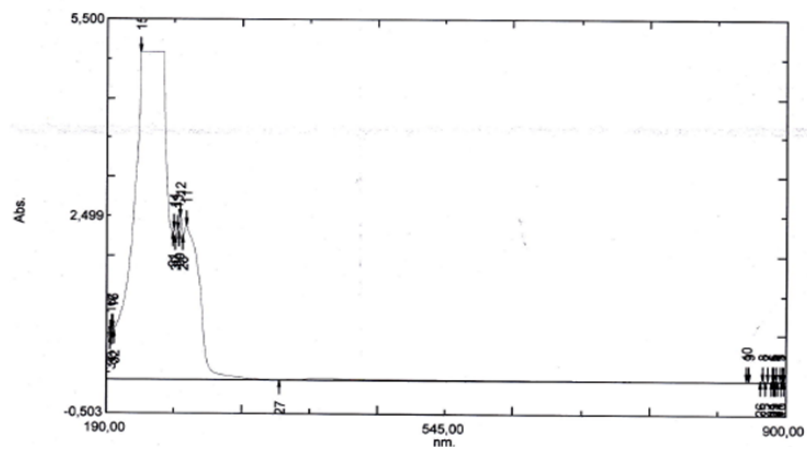
Isolat yang diperoleh diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl₃, Wagner dan Meyer. Tujuannya adalah untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh, dan diidentifikasi lebih lanjut dengan uji spektroskopi FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan uji spektroskopi UV-Vis.



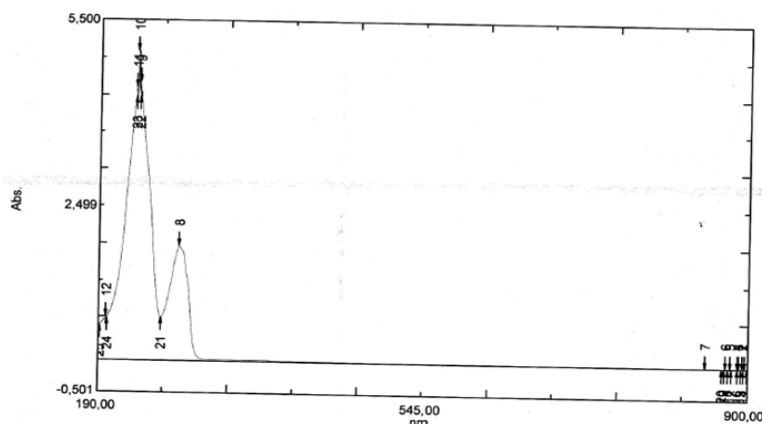
Gambar 1. Hasil Interpretasi Infra Merah Isolat A



Gambar 2. Hasil Interpretasi Infra Merah Isolat B



Gambar 3. Spektrum UV-Vis Isolat A



Gambar 4. Spektrum UV-Vis isolat B

B. Pembahasan

1. Uji Pendahuluan

Senyawa A hasil isolasi menjadi warna kuning kehijauan dengan pereaksi FeCl_3 1%, hal ini merupakan golongan Flavonoid. Sedangkan senyawa B hasil isolasi menjadi warna merah muda dengan pereaksi Liebermann Burchard, hal ini menunjukkan bahwa isolat merupakan senyawa golongan terpenoid.

2. Fraksinasi

Ekstrak kental *n*-heksana tumbuhan *P. niruri* yang diperoleh difraksinasi dengan kromatografi kolom cair vakum (KKCV). Kolom fraksinasi KKCV dielusi dengan pelarut secara SGP (*step gradient polarity*) dimulai dari pelarut nonpolar sampai polar sebagai fase gerak. Elusi secara bergradien dimaksudkan agar semua senyawa nonpolar maupun polar dapat terfraksinasi.

Fraksi-fraksi yang diperoleh dari hasil KKCV kemudian dilanjutkan dengan analisis KLT, fraksi yang memiliki profil noda yang sama digabungkan sehingga diperoleh

sebanyak 15 fraksi (fraksi A hingga O) berdasarkan fraksi gabungan. Fraksi F telah membentuk kristal pada dinding wadah sehari setelah KKCV.

Fraksi F (3,5732 g) dipilih untuk difraksinasi lebih lanjut dengan pertimbangan paling berpotensi untuk dilanjutkan dilihat dari pola pemisahan nodanya yang baik dan memiliki bobot yang cukup banyak serta telah terbentuk kristal berwarna kehijauan pada dinding vial. Fraksi F diidentifikasi dengan KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan pada KKT dan diperoleh kombinasi *n*-heksana:etil asetat (8:2) memberikan pola pemisahan yang baik. Eluat ditampung dan diperoleh sebanyak 62 fraksi. Pelarut dari fraksi-fraksi tersebut dibiarkan menguap dan penggabungan fraksi berdasarkan hasil KLT dengan profil noda yang sama sehingga diperoleh 12 fraksi gabungan (fraksi F₁-F₁₂). Setelah semua fraksi gabungan menguap pelarutnya, fraksi F₅-F₈ membentuk kristal. Dari hasil KLT, fraksi F₈ dipilih untuk diKKT kembali dengan pertimbangan terdapat target yang ingin dicapai. Dari hasil

KKT ke-2 diperoleh sebanyak 12 fraksi gabungan.

3. Uji Kemurnian

Isolat A dan B diuji kemurniannya dengan menggunakan KLT tiga sistem eluen dengan pelarut dan perbandingan yang berbeda. Tujuan dilakukannya KLT adalah untuk memastikan kemurnian dari isolat yang diperoleh, ditunjukkan dengan munculnya satu noda pada tiap KLT. Kromatogram terlihat setelah pemberian penampak noda CeSO_4 2% dan dipanaskan di atas hot plate yakni isolat A berwarna ungu ketika dipanaskan dan untuk isolat B berwarna kuning. Hasil analisis KLT untuk kedua isolat menunjukkan satu noda pada tiga sistem eluen. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kedua isolat relatif murni secara KLT.

Kedua isolat murni selanjutnya diidentifikasi dengan pengujian titik leleh. Titik leleh yang diperoleh untuk isolat A adalah 129,4 °C dan isolat B 127,2 °C. penelitian sebelumnya telah memperoleh senyawa flavonoid jenis katekin atau turunan senyawa flavan 3-ol pada tumbuhan *Artocarpus reticulatus* dengan titik leleh 131-132 °C dan kristal berwarna ungu (Achmad *et al.*, 1998) dan pada daun sirih hutan telah ditemukan pula senyawa jenis katekin dengan titik leleh 132,3 °C kristal berwarna putih (Taha *et al.*, 2010). Sehingga kemungkinan isolat A yang diperoleh adalah senyawa katekin atau turunan dari senyawa flavan 3-ol.

4. Identifikasi

Kedua isolat yang diperoleh diuji dengan menggunakan beberapa

pereaksi untuk mengetahui jenis golongan senyawanya. Berdasarkan hasil pengujian dengan pereaksi FeCl_3 yang menghasilkan warna hijau kekuningan, maka diduga isolat A yang diperoleh merupakan golongan senyawa flavonoid. Sedangkan untuk isolat B dilakukan pengujian dengan pereaksi Liebermann-Buchard yang menghasilkan warna merah muda, maka diduga senyawa yang diperoleh merupakan golongan terpenoid. Identifikasi senyawa isolat A dan B kemudian dilanjutkan dengan menggunakan spektroskopi FTIR..

a. Isolat A

Berdasarkan hasil analisis spektrum IR terhadap isolat A (Gambar 1) memberikan serapan pada daerah bilangan gelombang (ν) 3446,79 cm^{-1} dan 3431,36 cm^{-1} yang ditandai dengan pita yang agak lebar dengan intensitas sedang yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur O-H. Dugaan ini didukung dengan adanya serapan tajam dengan intensitas sedang pada daerah ν 1259,52 cm^{-1} yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-O alkohol. Serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 2835,36 cm^{-1} dan 2900,94 cm^{-1} yang menunjukkan adanya CH alifatik. Munculnya serapan dengan intensitas kuat pada panjang gelombang 1597,06 cm^{-1} diduga adanya serapan C=C aromatik.

Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis (Gambar 3). Hasil pengukuran senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis pada isolat A, menunjukkan bahwa senyawa dalam isolat A mempunyai

panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) sebesar 274 nm dan 268 nm. Panjang gelombang antara 230-270 nm menunjukkan adanya gugus kromofor yang terikat pada cincin aromatik (gugus kromofor C=C atau C=O) (Supratman, 2010).

Berdasarkan data UV-Vis diduga senyawa yang diperoleh adalah senyawa golongan flavonoid. Hal ini didukung dari hasil identifikasi dengan uji warna yang memberikan warna hijau kekuningan setelah penambahan pereaksi FeCl_3 1% pada isolat yang menunjukkan positif flavonoid, dugaan ini didukung pula dari data IR yang menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 1579,06 cm^{-1} yang mengidentifikasi adanya serapan gugus senyawa C=C aromatik. Serapan senyawa aromatik merupakan salah satu ciri khas dari golongan flavonoid. Senyawa flavonoid yang diperoleh diduga memiliki gugus OH, CH alifatik, C=C aromatik dan C-O.

Berdasarkan data IR, golongan senyawa flavonoid yang diperoleh tidak memiliki gugus C=O hal ini diduga karena tidak adanya serapan pada bilangan gelombang 1650-1700 cm^{-1} yang mengidentifikasi adanya gugus C=O.

b. Isolat B

Hasil analisis spektrum IR (Gambar 2) terhadap isolat B memberikan serapan pada daerah bilangan gelombang (ν) 3425,58 cm^{-1} yang ditandai dengan pita yang agak lebar dengan intensitas sedang yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur O-H. Dugaan ini didukung dengan adanya serapan tajam dengan intensitas sedang

pada daerah bilangan gelombang (ν) 1259,52 cm^{-1} dan 1028,06 cm^{-1} yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-O alkohol. Serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 2835,36 cm^{-1} serta 2899,01 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus -CH alifatik. Munculnya pita serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1639,49 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan rangkap pada C=C alkena. Data ini diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk C-H pada bilangan gelombang 1460.11 cm^{-1} dan 1423.47 cm^{-1} serta bilangan gelombang 962.48 cm^{-1} .

Hasil identifikasi dengan spektroskopi UV-Vis (Gambar 4) terhadap isolat B menunjukkan adanya dua puncak serapan pada panjang gelombang 231 nm dan 278 nm. Pada panjang gelombang 186-280 nm menunjukkan adanya gugus C=C (Khopkar, 2007). Dugaan ini didukung pula dengan spektrum IR yang memperlihatkan adanya gugus C=C pada daerah panjang gelombang 1639,49 cm^{-1} . Dari hasil uji warna terhadap isolat B dengan menggunakan pereaksi Liebermann Burchard yang menghasilkan warna merah muda, maka diduga senyawa yang diperoleh merupakan senyawa terpenoid. Hal ini diperkuat dengan tidak terdapatnya serapan N-H pada daerah 3500 cm^{-1} yang karakteristik dengan dua puncak peak, tidak adanya serapan N-H menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh bukan golongan alkaloid.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari ekstrak *n*-heksana tumbuhan *P. niruri* Linn. berupa isolat yang berbentuk serbuk kristal berwarna putih diduga senyawa golongan flavonoid dan terpenoid.

B. Saran

Adapun hal yang disarankan berkaitan dengan penyempurnaan penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk identifikasi terhadap struktur senyawa yang diperoleh dengan menggunakan NMR untuk memantapkan struktur senyawa yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.J., Hakim, E.H., Makmur, L., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., & Mujahidin, D. 2008. *Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- de Padua, L.S., Bunyaphatsara, N., & Lemmens, R.H.M.J. (1999). *Plant Resources of South-East Asia No.12(1): Medicinal and Poisonous Plants 1*, Backhuys Publishers, Leiden, 381-392.
- Joy, K.L., & Kuttan, R. 1998. *Inhibition by Phyllanthus amarus of hepatocarcinogenesis induced by N-nitrosodiethylamine*, *J. Clinical Biochemistry and Nutrition*, 24(3), 133-139
- Kardinan, A., & Kusuma, F.R. 2004. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Mangunwardoyo, W., Cahyaningsih, E., & Usia, T. 2009. *Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.)*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol.7, No.2*.
- Supratman, U. 2010. *Eludasi Struktur Senyawa Organik: metode spektroskopi untuk penentuan struktur senyawa organik*. Widya Padjajaran, Bandung
- Than, N.N., Fotso, S., Poeggeler, B., Hardeland, R., & Laatsch, H. 2006. *Niruriflavone a New Antioxidant Flavone Sulfonic Acid from Phyllanthus niruri*. Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung