

Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Butanol Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri Infra Merah

Firawati

Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia Timur, Makassar

E-mail : apoteker.fira@gmail.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa saponin ekstrak butanol daun majapahit (*Crescentia cujete*). Hasil penelitian diperoleh bahwa isolat murni ekstrak butanol daun majapahit dengan nilai Rf 0,6 diduga teridentifikasi mengandung senyawa saponin pada uji busa dan hasil spektum infra merah yang ditandai dengan adanya gugus O-H, C=C, C-C, dan C-H.

Kata kunci: Saponin, Majapahit (*Crescentia cujete*), KLT, dan spektrofotometri infra merah.

Abstract

Isolation and identification saponin compound had been done butanol extract of Majapahit leaf (Crescentia cujete). The results showed that pure isolate by butanol extract Majapahit leaf in Rf value of 0.6 allegedly identified the saponin compounds at foam test and infra red spectrum results of which is marked by the presence of O-H, C=C, C-C, and C-H groups.

Keywords: Saponin, Majapahit (*Crescentia cujete*), TLC, and spectrophotometry infra red.

PENDAHULUAN

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan dalam konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun, beberapa saponin juga berfungsi sebagai anti mikroba. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu saponin berasa pahit dalam larutan air membentuk busa yang stabil dapat menghemolisa eritrosit merupakan racun kuat untuk ikan dan amfibi membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksidisteroid lainnya (Reni, 2012).

Beberapa jenis tanaman diketahui banyak mengandung saponin seperti mahkota dewa, belimbing wuluh, kemiri, buah pare, turi, dan lain-lain. Tetapi pada umumnya perbedaan tumbuh, suhu dan tanah dari suatu tanaman akan berpengaruh terhadap komponen kimia yang terkandung didalamnya. Hal ini dapat kita lihat dengan tumbuhnya salah satu tanaman di berbagai

daerah sehingga tidak semua komponen kimia yang terkandung didalamnya sama.

Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah Daun Majapahit (*Crescentia cujete*). Tidak semua orang Indonesia mengenal tanaman majapahit yang berasal dari suku jeruk-jerukan ini. Beberapa hasil penelitian tentang Daun Majapahit, menurut Mita Kusuma Dewi (2014) meneliti tentang aktivitas anti bakteri ekstrak daun majapahit terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia Solanacearum* penyebab penyakit layu. Potensi tumbuhan Majapahit sebagai antibakteri telah dibuktikan oleh Rinawati (2011), yang melakukan uji antibakteri yang menggunakan daun majapahit (*Crescentia cujete*) pada bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan metode difusi yang menunjukkan zona hambat sebesar 19 mm. Nurhayati (2008), melakukan uji antibakteri menggunakan ekstrak buah majapahit dengan metode dilusi dan hasil uji aktivitas terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli* mampu membunuh pada konsentrasi 100%.

Berdasarkan uraian diatas, maka permasalahan dalam peneitian ini adalah apakah ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete*) yang berasal dari Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan mengandung saponin.

Tujuan penelitian adalah untuk mengidentifikasi senyawa saponin dalam ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete*) yang berasal dari Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan.

Manfaat penelitian adalah sebagai bahan referensi tentang daun majapahit (*Crescentia cujete*) dan menjadi salah satu tambahan data ilmiah tentang kandungan saponin yang terdapat dalam ekstrak butanol daun majapahit (*Crescentia cujete*).

Metodologi Penelitian

a. Jenis dan desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian neksperimental, menggunakan rancangan eksperimental sederhana, yakni identifikasi senyawa alkaloid dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan dilanjutkan dengan metode kromatografi lapis tipis dan spektrofotometri infra merah.

b. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada tahun 2015 di laboratorium Fitokimia Farmasi Universitas Indonesia Timur dan Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin Makassar.

c. Metode Kerja

1. Ekstraksi

Daun majapahit yang telah diolah menjadi simplisia ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditekan dengan batang pengaduk hingga rata permukaannya, dimasukkan cairan penyari metanol sebanyak 3 liter, hingga simplisia tersebut terendam seluruhnya dalam cairan. Bejana lalu ditutup dan didiamkan ditempat yang gelap 3-5 hari sambil diaduk-aduk.

Setelah 5 hari disaring lalu cairan penyari diganti dengan pelarut yang baru dan dimaserasi kembali, hingga simplisia tersari dengan baik. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak metanol kental yang selanjutnya dipartisi dengan pelarut dietil eter dan air dengan perbandingan 1 : 1 sebanyak 50 ml dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil partisi yang berupa lapisan air ini ditambahkan pelarut n-butanol dan air dengan perbandingan 1 : 1 sebanyak 50 ml dengan pengulangan sebanyak 3 kali, lalu ekstrak n-butanol diuapkan dengan rotavapor hingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan uji busa dan uji pendahuluan.

2. Uji Pendahuluan

a. Uji Busa

Serbuk kering sampel sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan 10 ml air mendidih, dingin, dikocok hingga berbusa. Lebih dari 10 menit (ukur tinggi busa), busa tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 M.

b. Pereaksi Warna

0,5 gram serbuk kering sampel dalam tabung reaksi, tambah 5 ml kloroform, panaskan diatas tangas air sambil di kocok, dinginkan. 1 ml filtrat + pereaksi Liebermann Bouchard 20 tetes anhidrat asetat dengan 1 tetes asam silfat pekat) diamati perubahan warna. (reaksi positif saponin yaitu merah, merah muda atau ungu dan biru perlahan-lahan menjadi hijau).

3. Pemisahan dan Pemurnian Komponen Kimia

Ekstrak butanol dimasukkan ke dalam vial kemudian dilarutkan dengan masing-masing pelarut lalu ditotolkan ke lempeng GF 366 nm dan dielusi dengan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) Kemudian diamati dibawah sinar lampu UV 366 nm. Kemudian lempeng disemprot

dengan H₂SO₄ 10% v/v, diangin-anginkan kemudian difiksasi hingga diperoleh warna noda.

4. Identifikasi Secara KLTP

Ekstrak yang diperoleh ditotolkan secara tegak lurus pada permukaan lempeng yang telah dibuat parit menggunakan pipa kapiler, dimasukkan dalam chamber yang berisi eluen kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) yang telah dijenuhkan dengan posisi berdiri (diusahakan tempat penotolan tidak kontak dengan eluen yang digunakan) kemudian chamber ditutup dan lempeng dibiarkan terelusi, setelah itu lempeng dikeluarkan dan diangin-anginkan sampai kering, lalu diamati penampakan nodanya pada sinar lampu UV 366 nm. Pita-pita yang terbentuk dikeruk dari plat kaca dan ditampung ke dalam vial sesuai dengan fraksinya.

5. Penentuan Spektrum Senyawa Murni Secara Spektrofotometri Infra Merah

Senyawa murni dari fraksi dicampurkan dengan garam KBr (0,5-1,5 mg zat / 200 mg KBr). Campuran ini dicetak kemudian dimasukkan ke dalam Acculab 2 dengan spektrofotometer infra merah.

6. Pengamatan Dan Pengolahan Data

Pengamatan dilakukan dengan melihat jumlah noda yang diperoleh dari hasil Kromatografi Lapis Tipis dan KLTP, serta hasil melihat pembacaan spektrum serapan dan letak struktur yang diperoleh dari Spektrofotometri Infra Merah.

Hasil Penelitian

Dari ekstrak yang diperoleh dilakukan uji pendahuluan yaitu dengan menggunakan pereaksi warna, kemudian dilakukan metode kromatografi lapis tipis, kromatografi lapis tipis preparatif, dan spektrofotometri

inframerah dan diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Ekstraksi

Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak metanol awal sebanyak 17g dan ekstrak butanol yang merupakan hasil partisi akhir inilah yang dilanjutkan dengan pengujian kromatografi lapis tipis dan spektrofotometri infra merah.

2. Hasil Uji Pendahuluan

Hasil Uji Busa dan Pereaksi Warna

Dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 1. Hasil analisis kualitatif saponin yang terkandung dalam daun majapahit dengan menggunakan pereaksi kimia

Pengujian	Hasil Pengamatan	Menurut Pustaka	Ket.
Uji Busa (ditambahkan 10 ml air mendidih, dinginkan lalu kocok)	Terbentuk Busa	Busa tahan > 10 menit, busa tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 M	Positif Saponin
Pereaksi Lieberman Bouchard	Hijau dan perlahan-lahan berubah menjadi kuning	Hijau Perlahan Menjadi kuning	Positif Saponin

3. Pemisahan dan Pemurnian Komponen Kimia

Dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak n-butanol dengan penampak noda UV

No.	Warna Noda	RF
1.	Ungu	0,1
2.	Jingga	0,3
3.	Jingga	0,4
4.	Jingga	0,6
5.	Coklat	0,8

4. Identifikasi Secara KLTP

Dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 3. Daftar nilai Rf dan warna pita hasil KLTP dan KLT dari fraksi-fraksi.

Pita	Warna Pita	Fraksi	No.Urut Noda	Nilai	Warna
Pita 1	Kuning	Fraksi A	Pertama	0,72	Kuning
Pita 2	Jingga	Fraksi B	Pertama	0,62	Kuning
Pita 3	Jingga	Fraksi C	Pertama	0,31	Biru

Isolasi secara kromatografi lapis tipis preparatif senyawa saponin dari ekstrak n-butanol dengan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (13:7:2) menghasilkan 3 fraksi. Dari 3 fraksi tersebut pada fraksi B menampakkan noda tunggal yang diduga senyawa saponin setelah diidentifikasi dengan KLT kemudian dibuktikan dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi (KLT-dua dimensi) dengan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (13:7:2) arah pertama dan (10:9:3) arah kedua.

5. Penentuan Spektrum Senyawa Murni Secara Spektrofotometri Infra Merah

Tabel 4. Daftar nilai Rf dan warna noda hasil KLT dua dimensi

Fraksi	No.Urut Noda	Nilai RF	Warna Noda
			Sinar UV
Fraksi B	Arah I	0,65	Kuning
	Arah II	0,6	Kuning

Tabel 5. Hasil analisis spektrum infra merah senyawa dari isolat fraksi B

No.	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) Pada Spektra	Kemungkinan Gugus Fungsi
1	3479,56	O-H
2	1629,85	C=C
3	1097,50	C-C
4	466,77	C-H

Pembahasan

Penelitian ini diawali dari pengumpulan bahan daun majapahit (*Crescentia cujete* L) yang berasal dari Kabupaten Gowa, Propinsi Sulawesi Selatan. Kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Metanol digunakan sebagai pelarut

karena metanol merupakan pelarut yang umum yang dapat menarik hampir sebagian besar senyawa kimia yang terkandung di dalam daun majapahit dan dilanjutkan ekstraksi dengan pelarut n-butanol. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk menarik komponen senyawa saponin yang terdapat dalam simplisia tersebut.

Hasil ekstraksi dengan pelarut metanol secara maserasi, selanjutnya diuapkan di alat rotavapor hingga diperoleh ekstrak kering sebanyak 17 gram. kemudian dilakukan ekstraksi dengan corong pisah dengan menggunakan pelarut n-butanol. Lapisan n-butanol diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kering kemudian diidentifikasi dengan pereaksi kimia dan uji busa menghasilkan busa tahan > 10 menit, busa tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 M, pereaksi pereaksi Libermen menghasilkan hijau perlahan menjadi kuning. Hasil ini sama dengan literatur yang ada artinya positif mengandung senyawa saponin.

Selanjutnya ekstrak kental yang diperoleh dilakukan pemantauan dengan KLT menggunakan fase gerak kloroform:metanol:air (13:7:2). Hasil identifikasi secara kromatografi lapis tipis terhadap komponen kimia yang terdapat pada ekstrak tersebut diperoleh 5 noda yaitu warna ungu, jingga, jingga, jingga, coklat dengan penampakan noda sinar UV 254 nm.

Selanjutnya dilakukan pemisahan komponen kimia dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dengan eluen kloroform : metanol : air (13:7:2) diperoleh 3 pita/fraksi yaitu fraksi A, B, dan fraksi C. Untuk fraksi A berwarna kuning dengan jumlah noda 1, untuk fraksi B berwarna jingga dengan jumlah noda 1 yang merupakan fraksi tunggal, untuk fraksi C berwarna jingga

dengan jumlah noda 1. Selanjutnya fraksi B diidentifikasi lagi dengan KLT dua dimensi untuk membuktikan senyawa tersebut tunggal, dan hasilnya adalah bahwa fraksi B memperlihatkan noda tunggal baik arah pertama maupun arah kedua, hal ini membuktikan bahwa fraksi B adalah senyawa murni.

Kemudian fraksi B dilanjutkan dengan menggunakan metode spektrofotometri infra merah, dimana hasilnya menyatakan bahwa adanya serapan pada bilangan gelombang $3479,58\text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas lebar dan melemah menunjukkan gugus OH dan adanya serapan pada bilangan $466,77\text{ cm}^{-1}$ diperoleh gugus C-H, pada bilangan $1629,85\text{ cm}^{-1}$ diperoleh gugus C=C, dan pada bilangan $1095,50\text{ cm}^{-1}$ diperoleh gugus C-O, kemudian untuk lebih membuktikan adanya senyawa saponin pada daun majapahit.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa daun majapahit mengandung senyawa kimia saponin.

Saran

Disarankan pada peneliti selanjutnya agar melanjutkan penelitian ini dalam memperoleh struktur kimia spesifik saponin dari daun majapahit (*Crescentia cujete* L) dengan menggunakan instrumen yang lebih canggih dan mendukung.

Daftar Pustaka

- Anonim. 2012. *Kandungan dan Manfaat Buah Maja bagi Kesehatan*. Available, (<http://dilihatnya.blogspot.com/>). diakses 25 Maret 2015.
- Anonim. 2013. *Manfaat Buah Maja*. Available at (<http://gatyaaonline.com>) diakses 25 Maret 2015.
- Dalimartha,S, 2008, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Edisi V*, Penerbit Pustaka Bunda, Jakarta.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sediaan Galenika*, Jakarta.
- Gritter, Roy, (1991), *Pengantar Kromatografi*, terbitan ke dua, ITB, Bandung.
- Harfia.2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Edisi II*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harbone, J.B., 2004, *Metode Fitokimia*, Diterjemahkan Oleh Koasih Padwinata dan Iwang Sudiro, Bandung.
- Job sheet, 2012, *Petunjuk Praktikum Kimia Analitik Instrumen*. Politeknik Negeri Sriwijaya. Palembang.
- Lau, W.S, 1999. *Karakterisasi Infra Merah Untuk Mikroelektronik*. Worl Scientific.
- Gritter, R.J., J.M Bobbit, and A.E Schwarting, 1991. *Pengantar Kromatografi*. ITB : Bandung.
- Gunawan, D. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi Jilid 1)*. Penebit Swadaya. Jakarta.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung.
- <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio> *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (Crescentia cujete) terhadap Pertumbuhan Bakteri Ralstonia solanacearum Penyebab Penyakit Layu* oleh Mita Kusuma Dewi, dkk. Dalam Jurnal LenteraBio Vol. 3 No. 1, Januari 2014: 51–57.
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, dan Kurniadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Nurhayati. 2008. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Majapahit (Crescentia cujete.L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella dysenteriae dan Escherichia coli secara in vitro*. Thesis. Tidak dipublikasikan. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Rinawati ND, 2011. *Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (Crescentia Cujete L.) terhadap Bakteri Vibrio alginolyticus*. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Surabaya: Jurusan

- Biologi Fakultas MIPA Institut Teknologi Sepuluh November.
- Robinson, Trevor. 1991. Kandungan *Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung.
- Saifudin, Aziz dan Viesa Rahayu. 2011. *Standarisasi Obat Bahan Alam*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Sastroamidjojo, H., 1996, *Sintesis Bahan Alam*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sastroamidjojo, H. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Penerbit Dian Pustaka. Jakarta.
- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Utami, Prapti. 2008. *Tanaman Obat*. Penerbit. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Wiryowidagdo, Sumarni. 2008. *Kimia Dan Farmakologi Bahan Alam*. Penerbit EGC. Jakarta.
- Yani, A. 2004. *Fraksinasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Tanaman Berenuk (Crescentia cujete L)*. Thesis. Tidak dipublikasikan. Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor.