

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ALKALOID DALAM
EKSTRAK ETANOL DAUN PANDAN HUTAN JENIS BARU
(*Freycinetia sessiliflora* Rizki)**

Ade Ferdinan*, Fitri Sri Rizki, Nunik Rahmawati
Akademi Farmasi Yarsi Pontianak

Email* : ferdin.nay@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk isolasi dan identifikasi senyawa golongan alkaloid yang terdapat pada daun pandan hutan (*Freycinetia sessiliflora* Rizki). Skrining fitokimia menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner, hasil skrining fitokimia golongan alkaloid dengan dua pereaksi menunjukkan hasil positif yaitu endapan jingga kecoklatan pada pereaksi Dragendorff dan endapan kuning hingga keoklatan pada pereaksi Wagner. Isolasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kolom dengan fase gerak etil asetat : metanol : NH₄OH (85 : 10 : 5) menunjukkan hasil nilai R_f 0,25-0,62. Analisis panjang gelombang dengan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan kandungan senyawa alkaloid daun pandan hutan (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) yaitu pada panjang gelombang 262-266 nm.

Kata kunci : Pandan hutan (*Freycinetia sessiliflora* Rizki), Alkaloid, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Kolom, Spektrofotometri UV-Vis.

ABSTRACT

*Purpose of this research to isolate and identify the alkaloid compounds found in forest pandan leaves (*Freycinetia sessiliflora* Rizki). Phytochemical screening using Mayer, Dragendorff and Wagner reagents, phytochemical screening results for alkaloids with two reagents showed positive results, there is brownish orange precipitate on Dragendorff's reagent and yellow to brownish precipitate on Wagner's reagent. Isolation using Thin Layer Chromatography (TLC) and Column Chromatography with ethyl acetate: methanol: NH₄OH (85: 10: 5), showing R_f values of 0.25-0.62. Wavelength analysis using UV-Vis spectrophotometry showed that the content of forest pandan leaf alkaloid compounds (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) was at a wavelength of 262-266 nm.*

Keywords : Forest pandanus (*Freycinetia sessiliflora* Rizki), Alkaloids, Thin Layer Chromatography (TLC), Column Chromatography, UV-Vis Spectrophotometry.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara dengan kekayaan alam yang melimpah, hampir segala jenis tumbuhan dapat tumbuh di Negara ini. Sebagian besar sudah dimanfaatkan oleh nenek moyang kita untuk mengobati berbagai penyakit (Rahmawan, 2008).

Pandan merupakan tanaman yang sering dimanfaatkan daunnya. Pandan termasuk ke dalam family Pandanaceae yang terdiri dari beberapa marga yaitu *Pandanus*, *Sararanga*, *Freycinetia*, *Martellidendron* dan *Benstonea*. Telah ditemukan pandan yang termasuk marga *Freycinetia* di Kalimantan Barat merupakan spesies baru yang terdapat di Gunung Pasi Singkawang, jenis pandan ini dinamai *Freycinetia sessiliflora* Rizki (Rizki, F.S dkk., 2015).

Daun pandan *Freycinetia sessiliflora* Rizki mengandung senyawa metabolit alkaloid, flavonoid, terpenoid steroid, saponin, fenol dan tanin (Rizki, 2019). Flavonoid membunuh bakteri dengan mekanisme kerja merusak membran sitoplasma. Alkaloid mekanismenya dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel. Saponin dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membrane sel melalui ikatan hidrogen, sehingga menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan dapat menimbulkan kematian sel (Firawati, 2017).

Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang tersebar luas pada tanaman dan memiliki fungsi utama sebagai pertahanan kimia oleh tanaman terhadap herbivora dan predator (Fattorusso & Scafati, 2008).

Dalam penggunaan klinis, alkaloid digunakan sebagai antitumor, antimalaria, antiparasit, sedatif, analgesik, efek hipotensi, kardiotonik, percepatan hormon, pertumbuhan, dan aktivitas antimikroba (Funayama & Cordell, 2015). Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) dan belum adanya penelitian yang mengidentifikasi secara detail senyawa alkaloid pada daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bejana maserasi, gunting, blender, *rotary evaporator*, oven, dry cabinet, gelas kimia, labu takar, batang pengaduk, tabung reaksi, timbangan analitik (*Ohaus*), corong pisah, pipet volume, gelas ukur, Chamber, Pipet kapiler, plat tetes, plat KLT 2x10 cm, vial, lampu UV λ 254 nm, lampu UV λ 366 nm spektrofotometer UV-Visible.

Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki), etanol 96%, aquadest, HCL 2N, silika gel 60 F254 (Merck), methanol, kloroform, ammonia, n-heksan, etil asetat, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff dan pereaksi Wagner.

Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara serbuk simplisia daun pandan hutan jenis baru dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan rasio 1:3 yaitu sebanyak. Ekstraksi dilakukan secara 3x24 jam pada suhu kamar. Maserat yang didapat dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* 40°C sehingga mendapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan perhitungan susut pengeringan

Skrining Fitokimia Alkaloid

A. Pereaksi Mayer :

Sebanyak 2 ml sampel ekstrak diasamkan menggunakan 1 ml HCl 2N dan 9 ml air, dipanaskan diatas penangas selama 2 menit kemudian dinginkan dan saring. Diambil 3 tetes ekstrak yang telah disaring dan ditambahkan 3 tetes pereaksi mayer. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan (Harborne, 1984).

B. Pereaksi Dragendorff :

Diambil 3 tetes pereaksi dragendorff masukkan kedalam larutan ekstrak. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga kecoklatan.

C. Pereaksi Wagner :

Tiga tetes sampel ekstrak ditambahkan 3 tetes pereaksi wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan kuning hingga kecoklatan.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak dan baku standar kafein ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Plat KLT yang telah ditotolkan dimasukkan ke dalam 3 chamber yang telah berisi eluen kloroform: metanol (9:1), n-heksan : etil asetat : etanol (30:2:1), etil asetat : metanol : NH₄OH (85:10:5). Setelah masing-masing eluen mengelusi noda sampai tanda batas atas, plat KLT tersebut dikeluarkan dari chamber dan dikeringkan. Selanjutnya pergerakan noda yang telah dielusi dilihat dibawah sinar lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm . Dilihat noda yang mana memiliki pemisahan yang paling jauh berarti eluen tersebut yang dipakai pada pemisahan kromatografi kolom.

Kromatografi Kolom

Silika gel sebanyak 60 gram dikeringkan dengan oven pada suhu 105°C selama empat jam, didinginkan pada desikator, kemudian ditambahkan dengan sedikit fase geraknya sampai berbentuk seperti bubur. Fase gerak dimasukkan ke dalam kolom yang bagian bawah kolom telah tersumbat kapas. Setelah seluruh masuk, fase diam dielusi sampai terjadi pemampatan dengan sempurna.

Sebanyak 1,5 gram ekstrak etanol daun pandan hutan dilarutkan dengan sedikit pelarutnya kemudian dimasukkan dan fase gerak ditambahkan secara terus menerus sampai terjadi pemisahan. Fraksi ditampung setiap 3 mL. Kemudian digabungkan berdasarkan kesamaan pola noda sehingga diperoleh beberapa fraksi. Fraksi yang diperoleh dilihat pola nodanya pada plat KLT dan hitung nilai R_f (Markham, 1988).

Spektrofotometri UV-Vis

Sampel yang positif mengandung alkaloid selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, ekstrak etanol daun pandan hutan jenis

baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) dan baku kafein dibuat konsentrasi sebanyak 1, 3, 6, 9, 12, dan 15 ppm. Lalu diukur panjang gelombang pada rentang 200-400 nm. Hasil panjang gelombang maksimum standar baku kafein berada pada 273 nm (Wahyuni & Mauritz, 2020). Panjang gelombang maksimum tersebut untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki).

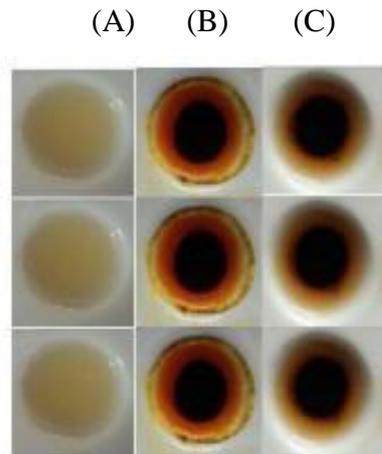
HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun pandan hutan (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) yang mana sampel diambil dari gunung Passi, Singkawang Provinsi Kalimantan Barat yang didapatkan sebanyak 3 kg. Sampel kemudian diolah menjadi simplisia kering dengan berat basah 1,6 kg Kemudian dikeringkan menggunakan dry cabinet dengan suhu 40°C selama 2 hari dan diperoleh simplisia kering dengan berat 408,345 gram dengan susut pengeringan yang didapat yaitu 74,5% serta kadar air yang tersisa di dalam kandungan simplisia sebesar 25,6%. Kemudian diekstraksi dengan metode maserasi 1x24 jam selama 3 hari, pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol 96% kemudian didapat ekstrak cair sebanyak 7,618 liter. Filtrat yang diperoleh dipekatkan hingga menjadi ekstrak kental dengan menggunakan *rotary evaporator* dan hasil ekstrak kental berwarna hijau pekat sebanyak 94,3 gram dengan randemen ekstrak yang dihasilkan 23,09%.

Skrining Fitokimia Alkaloid

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokima

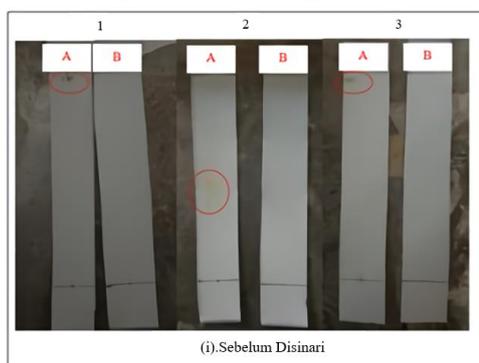
Uji	Pengamatan	Hasil	Keterangan
Mayer	Endapan berwarna putih kekuningan (Harborne, 1984).	Negatif (-)	Tidak adanya golongan senyawa alkaloid
Dragendorff	Endapan jingga kecoklatan (Harborne, 1984).	Positif (+)	Adanya golongan senyawa alkaloid
Wagner	Endapan kuning hingga kecoklatan (Harborne, 1984).	Positif (+)	Adanya golongan senyawa alkaloid



Gambar 1. (A) Pereaksi Mayer, (B) Pereaksi Dragendorff, (C) Pereaksi Wagner

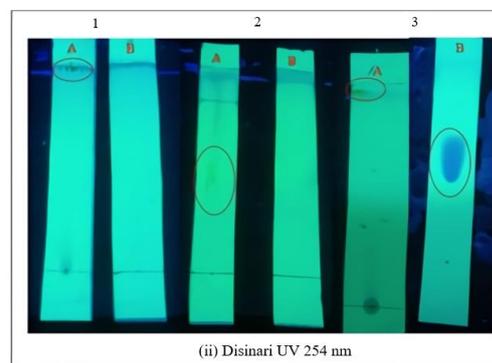
Skринing fitokimia alkaloid ekstrak etanol daun pandah hutan (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) dengan dua pereaksi menunjukkan hasil positif yaitu endapan jingga kecoklatan pada pereaksi Dragendorff dan endapan kuning hingga keoklatan pada pereaksi Wagner. Namun pada pereaksi Mayer menunjukkan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya endapan putih pada uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer ($HgCl_2 + KI$). Warna larutan tetap bening, tidak menjadi keruh dan tidak terbentuk endapan putih. Tidak adanya endapan putih tersebut karena tidak terbentuk kompleks kalium-alkaloid.

Kromatografi Lapis Tipis



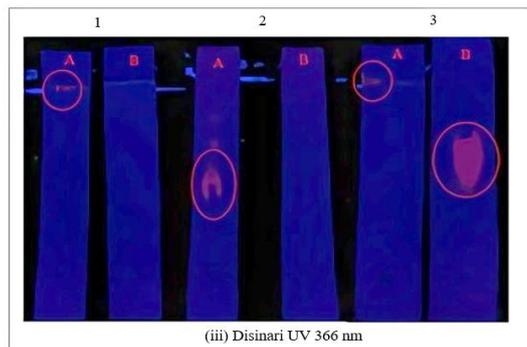
Gambar 1. Hasil KLT sebelum disinari dan disemprot pereaksi Dragendorff (A) Ekstrak (B) Standar Kafein

1. Fase Gerak Kloroform : Metanol (9:1)
2. Fase Gerak n-heksan : Etil asetat : Etanol (30:2:1)
3. Fase Gerak Etil asetat : Metanol : NH_4OH (85:10:5)

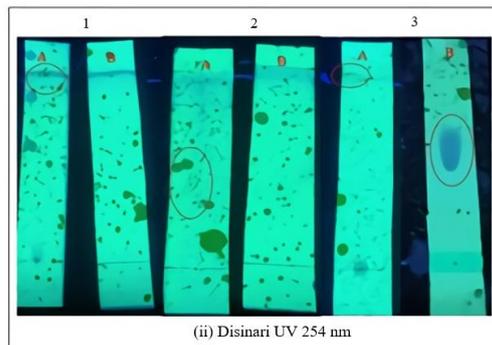


Gambar 2. Hasil KLT disinari 254 nm (A) Ekstrak (B) Standar Kafein

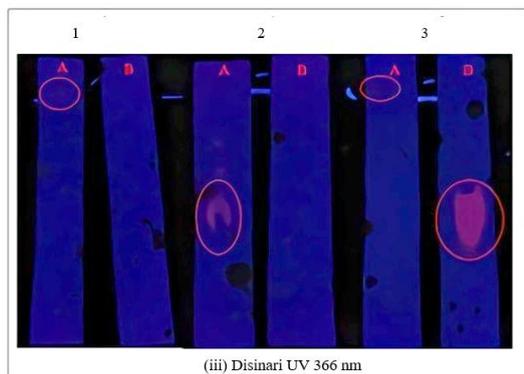
1. Fase Gerak Kloroform : Metanol (9:1)
2. Fase Gerak n-heksan : Etil asetat : Etanol (30:2:1)
3. Fase Gerak Etil asetat : Metanol : NH_4OH (85:10:5)



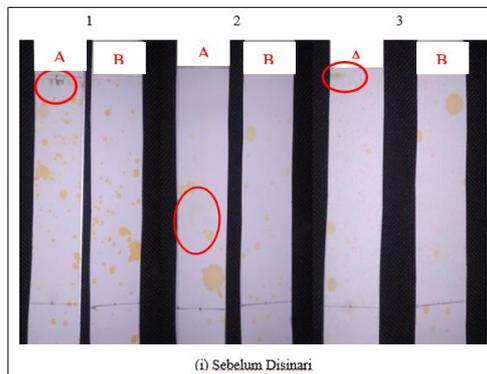
Gambar 3. Hasil KLT sesudah disemprot Dragendorff (A) Ekstrak (B) Standar Kafein
 1. Fase Gerak Kloroform : Metanol (9:1)
 2. Fase Gerak n-heksan : Etil asetat : Etanol (30:2:1)
 3. Fase Gerak Etil asetat : Metanol : NH₄OH (85:10:5)



Gambar 4. Hasil KLT sesudah disemprot Dragendorff dan disinari 254 nm (A) Ekstrak (B) Standar Kafein
 1. Fase Gerak Kloroform : Metanol (9:1)
 2. Fase Gerak n-heksan : Etil asetat : Etanol (30:2:1)
 3. Fase Gerak Etil asetat : Metanol : NH₄OH (85:10:5)



Gambar 5. Hasil KLT sesudah disemprot Dragendorff dan disinari 366 nm (A) Ekstrak (B) Standar Kafein
 1. Fase Gerak Kloroform : Metanol (9:1)
 2. Fase Gerak n-heksan : Etil asetat : Etanol (30:2:1)
 3. Fase Gerak Etil asetat : Metanol : NH₄OH (85:10:5)



Gambar 6. Hasil KLT sesudah disemprot Dragendorff (A) Ekstrak (B) Standar Kafein
 1. Fase Gerak Kloroform : Metanol (9:1)
 2. Fase Gerak n-heksan : Etil asetat : Etanol (30:2:1)
 3. Fase Gerak Etil asetat : Metanol : NH₄OH (85:10:5)

Fase gerak yang mampu memisahkan paling cocok dengan senyawa pada ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) dan baku standar kafein pada visualisasi menggunakan lampu UV pada λ 254 nm dan 366 nm adalah perbandingan etil asetat : metanol : NH₄ dikarenakan visualisasi ekstrak dan baku standar dibawah sinar menunjukkan hasil noda berpendar yang sesuai dengan ketentuan yaitu pada baku standar menunjukkan noda berwarna ungu (Hanani, 2016).

Visualisasi ekstrak pada saat sebelum disinari, terdapat noda berpendar berwarna hijau, UV 254 nm juga menunjukkan noda bercak warna hijau, sedangkan pada UV 366 nm menunjukkan sinar yang berfluorensi, penampakan noda pada

lampu UV 366 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut.

Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak pada lampu UV 366 nm terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Sudjadi, 1988). Pada baku standar kafein visualisasi UV 254 nm menunjukkan noda berwarna ungu, namun visualisasi tanpa sinar dan UV 366 nm tidak menunjukkan noda.

Gritter, dkk (1991) menyatakan, apabila senyawa pada noda yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik jenisapa saja, sinar UV yang mengeksitasi tidak dapat mencapai indikator fluoresensi, dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya ialah noda gelap dengan latar belakang yang bersinar.

Pereaksi *dragendorff* disemprotkan pada hasil plat KLT, nitrogen akan membentuk ikatan kovalen dengan K^+ yang merupakan ion logam sehingga terbentuk endapan coklat muda sampai kuning (Marliana *et al*, 2005). Pada plat KLT dengan fase gerak etil asetat : metanol : NH_4OH (85:10:5) terbentuk bercak coklat muda sampai kekuningan, sedangkan pada kedua fase gerak lainnya tidak terdapat endapan coklat muda sampai kuning.

Kromatografi Kolom

Fase diam yang digunakan dalam kromatografi kolom adalah silika gel 60, silika gel 60 bersifat polar maka akan menyerap senyawa-senyawa polar lebih kuat, dibandingkan senyawa semi polar dan non polar. Pemisahan komponen - komponen sampel dengan kromatografi kolom menghasilkan 66 vial yang kemudian dikelompokkan menjadi 12 vial. Pengelompokkan ini dilakukan karena warna dari beberapa vial sama, tiap vial menampung 3 ml dari 100 ml cairan pembawa etil asetat : metanol : NH_4OH

Tabel 2. Nilai Rf

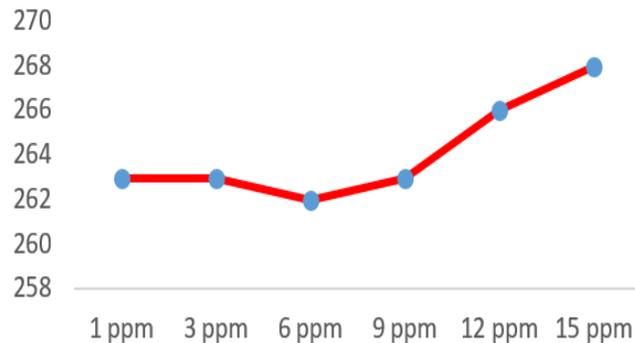
Vial	Rf	Hasil	Pembanding
Vial 1	0.37	Positif Alkaloid	Nilai Rf alkaloid yang paling umum yaitu 0,07-0,62 (Harborne, 1987) Nilai Rf standar kafein 0,26 (Ermawati Nur, 2019)
Vial 2	0.31	Positif Alkaloid	
Vial 3	0.62	Positif Alkaloid	
Vial 4	0.25	Positif Alkaloid	
Vial 5	0.43	Positif Alkaloid	
Vial 6	0.37	Positif Alkaloid	
Vial 7	0.26	Positif Alkaloid	
Vial 8	0.28	Positif Alkaloid	
Vial 9	0.45	Positif Alkaloid	
Vial 10	0.26	Positif Alkaloid	
Vial 11	0.33	Positif Alkaloid	
Vial 12	0.53	Positif Alkaloid	

Nilai Rf standar kafein yaitu menurut penelitian Ermawati Nur (2020) 0,26 dan nilai Rf alkaloid menurut Harborne (1987) yaitu 0,07-0,62. Nilai Rf alkaloid yang paling umum yaitu 0,07-0,62 (Harborne, 1987) Nilai Rf standar kafein 0,26 (Ermawati Nur, 2019) Dari hasil pengamatan dapat diketahui nilai Rf alkaloid 0,25-0,62 dikatakan ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) mengandung senyawa alkaloid.

Spektrofotometri UV-Vis

Hasil kromatografi kolom yang sudah murni kemudian dilakukan analisis dengan spektroskopi UV-Vis, yang disesuaikan dengan panjang gelombang maksimum standar baku kafein berada pada 273 nm (Wahyuni & Mauritz, 2020). Metode ini digunakan untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid yang diperoleh dari pemisahan senyawa dengan KLT. Ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) diukur panjang gelombangnya pada rentang 200-400 nm dengan konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, 6 ppm, 9 ppm, 12 ppm, dan 15 ppm.

Gambar 7. Grafik Panjang Gelombang Ekstrak Etanol Daun Pandan Hutan



Spektrum dari ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) yaitu dengan konsentrasi 15 ppm berada pada 268 nm. Hasil yang tidak terdeteksi adanya alkaloid pada spektrum pada panjang gelombang yang diperoleh yaitu melebihi 273 nm, hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa yang ada pada sampel belum terpisah secara sempurna. Sedangkan hasil spektrum mulai terdeteksi adanya alkaloid pada spektrum karena senyawa-senyawa yang ada pada sampel sudah mengalami pemisahan senyawa secara sempurna, dan diperoleh spectrum dari keenam konsentrasi ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) yaitu 262-266 nm.

Pengujian panjang gelombang ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) berdasarkan spektrum tertinggi menunjukkan penyerapan pita mendekati panjang gelombang maksimum untuk alkaloid sehingga dapat digambarkan bahwa daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) mengandung senyawa alkaloid.

KESIMPULAN

Isolasi dan identifikasi senyawa alkaloid ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) dengan fase gerak etil asetat : metanol : NH_4OH (85:10:5) memiliki nilai R_f 0,25-0,62 dengan panjang gelombang 262-268 nm. Penelitian lebih lanjut dapat melakukan karakterisasi terhadap senyawa alkaloid yang terdapat pada ekstrak etanol daun pandan hutan jenis baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki).

DAFTAR PUSTAKA

- Ermawati, Nur. 2019. Standardisasi Ekstrak Batang Greges Otot (*Equisetum Debile Roxb.*). *Pena Medika Jurnal Kesehatan* 9.2 : 15-25.
- Fattorusso, & Scafati. 2008. *Modern Alkaloids Structure, Isolation, Synthesis and Biology*. Weinheim: Wiley-VHC Verlag GmbH & Co., KgaA.
- Firawati, Karlina. 2017. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amary Ilifolius roxb.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*, *Majalah Farmasi Volume 14 Nomor 1, Tahun 2017*.
- Funayama, S., & Cordell, G. A. 2015. *Alkaloids : a Treasury of Poisons and Medicines*. London: Elsevier.
- Gritter, R.J., dkk.. 1991. Pengantar Kromatografi. Edisi Kedua. Bandung: ITB. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 3-17, Bandung: ITB.
- Harborne, J.B., 1984. *Phytochemical Method*. Chapman and Hall ltd. London. Terjemah Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Harbone, J.B. 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terjemah Kosasih Padmawinata, K. Dan Soediro, I., Edisi II, Penerbit ITB, Bandung.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB, Bandung.
- Marliana S.D., Suryanti V. dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq.Swartz*) dalam Ekstrak etanol, *Biofarma* 3(1), 26-31.
- Rizki. F.S. Chikmawi. T, Rugayah, T, 2015, A New Species of Freycinetia Gaudich (Pandanaceae) From West Kalimantan, *Journal of Plant Biologi Volume 6: 5701*, Bogor Agricultural University, West Java.
- Rizki. 2019. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Ekstrak Pandan Spesies Baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, *Eschericia coli*, Dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro
- Wahyuni, Septia, and Mauritz Pandapotan Marpaung. 2020. Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca Miers*) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Dalton: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia* 3.2