

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA SAPONIN DAUN BUNGKUS (*Smilax rotundifolia*) MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET

FIRAWATI, M. IQBAL PRATAMA
Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia Timur
Email : apoteker.fira@gmail.com

ABSTRAK

Daun bungkus yang terkenal dengan kemampuannya dalam memperbesar bagian tubuh yang berasal dari Papua ini ternyata belum banyak diteliti. Kemampuannya dalam pembesaran penis ini diduga memiliki senyawa kimia tertentu yang diantaranya saponin. Penelitian senyawa saponin dilakukan dengan identifikasi dan isolasi dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan spektrofotometri ultraviolet. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa daun bungkus mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan positif mengandung busa dan warna hijau pada penambahan pereaksi Liebermann Bouchard. Hasil isolasi diperoleh fraksi B yang positif membentuk senyawa tunggal pada metode KLT 2 dimensi. Panjang gelombang maksimum 266,20 nm dengan nilai serapan 0,2742 merupakan hasil identifikasi dari metode spektrofotometri ultraviolet.

Kata Kunci : *Smilax rotundifolia*, Saponin, Spektrofotometri Ultraviolet

PENDAHULUAN

Berbagai tanaman obat dan ribuan tanaman berpotensi obat di Indonesia mengandung beraneka ragam jenis senyawa kimia alami. Berdasarkan penggunaan tradisional dan berbagai penelitian ilmiah, tanaman tersebut memiliki berbagai efek farmakologis dan bioaktivitas penting mulai dari potensi sebagai agen anti penyakit infeksi sampai penyakit degeneratif seperti imunodefisiensi, hepatitis, arthritis, stroke, osteoporosis bahkan kanker. Di sisi lain, pengobatan dengan senyawa tunggal atau senyawa isolat murni maupun sintesis belum memberikan kesembuhan optimal dan paripurna maka masyarakat berupaya untuk mencari obat alternatif, terutama dari herbal (Saifudin, 2011).

Daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) merupakan salah satu tanaman yang
JF FIK UINAM Vol.6 No.2 2018

banyak dibudidayakan di Indonesia terutama di daerah Papua yang tumbuh di daerah pesisir pantai dan dikenal berkhasiat tinggi sebagai obat kejantanan.

Menurut Zambell et.al. (2015) daun muda dari tanaman daun bungkus dapat dijadikan sebagai bahan makanan seperti asparagus dan bayam. Literatur masih sangat kurang hingga saat ini yang membahas mengenai jenis tanaman daun bungkus, kandungan kimia, dan manfaatnya. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Jonatan (2016) menyatakan bahwa daun bungkus berkhasiat untuk memperbesar penis, memperbesar bokong, memperbesar payudara serta dapat mengobati penyakit sifilis.

Kegunaan tumbuhan obat sebenarnya disebabkan oleh kandungan

kimia yang dimiliki. Namun, tidak seluruh kandungan kimia diketahui secara lengkap karena pemeriksaan bahan kimia dari suatu tanaman (Hariana, 2013). Beberapa kandungan senyawa kimia yang biasanya terkandung didalam tanaman adalah saponin, tanin, alkaloid, flavonoid, dan steroid. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengkaji kandungan saponin karena mempunyai aktifitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolesterol (Hariana, 2013).

Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam yaitu terasa manis, ada juga yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dapat menyebabkan hemolisis. Dalam pemakaiannya saponin bisa dipakai untuk banyak keperluan, misalnya dipakai untuk membuat minuman beralkohol, dalam industri pakaian, kosmetik, membuat obat-obatan, dan dipakai sebagai obat tradisional (Hariana, 2013).

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) mengandung senyawa kimia saponin dan berapakah panjang gelombang senyawa saponin dari daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kandungan saponin ekstrak daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dengan metode spektrofotometri ultraviolet.

Manfaat penelitian ini adalah sebagai bahan informasi mengenai kandungan saponin yang terdapat dalam daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dan sebagai bahan pengembangan ilmu untuk peneliti selanjutnya.

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Jenis Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Instrumentasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Timur Makassar. Jenis penelitian ini adalah penelitian studi eksperimental dan observasi laboratorium.

B. Alat dan Bahan yang Digunakan

Lampu ultraviolet 366 nm, lempeng KLT $G_{60}F_{254}$, rotary evaporator, spektrofotometri ultraviolet, asam asetat, asam klorida, asam sulfat 10% v/v, dietil eter, etanol 96% v/v, kloroform, n-butanol, pereaksi Liebermann Bouchard, sampel sarang semut (*Smilax rotundifolia*), dan silika gel.

C. Ekstraksi sampel

Daun bungkus diekstraksi sebanyak 500 gram dengan etanol 96%, kemudian dipartisi cair-cair dengan menggunakan pelarut dieter dan n-butanol selanjutnya diidentifikasi, isolasi, dan pengujian lainnya.

D. Identifikasi dan Isolasi Senyawa Saponin

Uji Pendahuluan

Ekstrak daun bungkus dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan aquades 10 ml, dikocok dan ditambahkan 1 tetes larutan asam klorida 2M. Uji positif saponin jika terbentuk busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik.

Simpilisia sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan kloroform 10 mL, dipanaskan selama 5 menit dengan penangas air sambil dikocok kemudian ditambahkan beberapa tetes prekursor LB (Liebermann Bouchard). Uji positif saponin jika terbentuk cincin coklat atau violet maka menunjukkan adanya saponin triterpen, sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid.

Isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Ekstrak n-butanol diisolasi secara KLT dengan cara ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada permukaan lempeng. Selanjutnya dielusi dengan eluen kloroform-etanol-air (10:6:1) bercak berupa pita diamati dengan penampak sinar UV. Pita-pita yang terbentuk dikeruk dari plat kaca dan ditampung ke dalam vial dengan jalur pita, ditambahkan pelarut kemudian disaring dan filtrat sebagai fraksi tunggal.

Isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis 2 Dimensi

Setelah diperoleh fraksi noda tunggal, dilanjutkan pengerjaan dengan KLT 2 dimensi untuk membuktikan bahwa fraksi tersebut adalah senyawa murni yaitu dengan fraksi tunggal yang diperoleh dielusi dengan kloroform-etanol-air (10:6:1) untuk arah 1 dan kloroform-etanol-air (15:6:1) untuk arah 2. Setelah dielusi dideteksi dengan menggunakan lampu UV 366 nm.

Identifikasi dengan Metode Spektrofotometri Ultraviolet

Identifikasi dilakukan terhadap fraksi B secara spektrofotometri ultraviolet yang merupakan hasil positif saponin pada proses kromatografi lapis tipis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL PENELITIAN

Rendemen Ekstrak

Simpilisia kering yang digunakan untuk diekstraksi adalah 500,07 gram dan diperoleh ekstrak sebanyak 28,46 gram sehingga diperoleh 5,691 % rendemen ekstrak.

Uji Pendahuluan

Positif mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa dan warna hijau (saponin steroid).

Isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

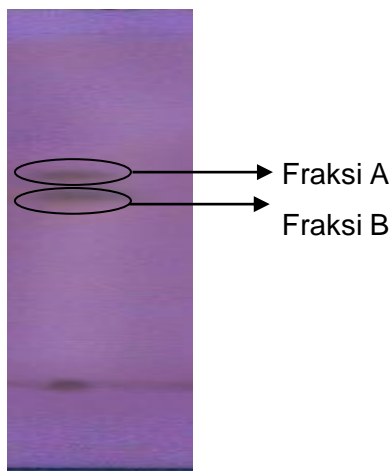
Eluen kloroform-etanol-air perbandingan (10:6:1)

Tabel 1. Kromatogram dengan eluen kloroform-etanol-air (10:6:1)

Warna Noda	Nilai Rf
Hijau	0,86
Hijau terang	0,79

Terdapat 2 pita/fraksi hasil KLTP yang berwarna hijau (fraksi A) dan hijau terang (fraksi B).

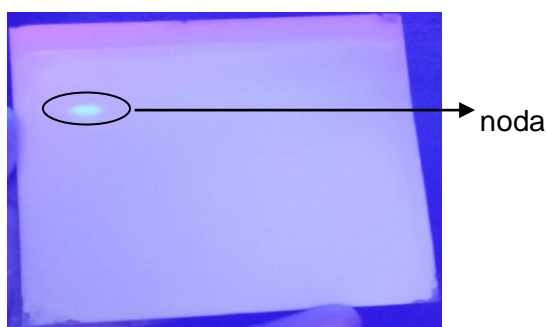
Gambar 1. Kromatogram dengan eluen kloroform-etanol-air (10:6:1)



Isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis 2 dimensi

Terdapat noda tunggal pada KLT 2 dimensi yaitu fraksi B yang berwarna hijau terang.

Gambar 2. Kromatogram noda tunggal dari fraksi B



Identifikasi secara Spektrofotometri Ultraviolet

Terdapat serapan sebanyak 0,274 pada panjang gelombang 266,20 nm spektrofotometri ultraviolet.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan saponin dalam tanaman daun bungkus (*Smilax rotundifolia*). Daun bungkus diperoleh dari daerah Waropen Papua. Adapun teknik pengambilan samplingnya yaitu *purposive sampling* dengan pertimbangan sampel yang digunakan hanya daun yang berwarna hijau pekat yang mengandung banyak klorofil (bukan daun muda ataupun sudah tua menguning). Hal ini dikarenakan saponin terikat banyak di senyawa klorofil yang berwarna hijau pekat. Kandungan saponin dianalisis menggunakan uji busa, uji warna, kromatografi lapis tipis, dan spektrofotometer ultraviolet

Ekstrak daun bungkus diperoleh dari daun yang berwarna hijau pekat yang telah dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3x24 jam dan dilanjutkan dengan proses pemanasan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 7 jam. Pengeringan dilakukan agar kadar air yang terkandung dalam sampel daun bungkus akan hilang sehingga memudahkan dalam proses ekstraksi. Sampel kering kemudian dibuat menjadi serbuk agar hasil ekstraksi yang

diperoleh lebih banyak, karena semakin halus sampel yang akan diekstraksi maka semakin mudah pelarut masuk ke sel untuk menarik zat aktif.

Maserasi merupakan metode yang digunakan dalam proses ekstraksi pada penelitian ini untuk menghasilkan ekstrak daun bungkus dengan etanol 96% sebagai pelarutnya. Etanol dipilih sebagai pelarut karena sifatnya yang polar sesuai dengan zat aktif yang akan diteliti yaitu saponin. Setelah proses maserasi, filtrat dievaporasi dan selanjutnya diuapkan dengan *waterbath* yang diperoleh ekstrak kental sebanyak 28,46 gram berwarna hijau pekat.

Selanjutnya dilakukan uji pendahuluan untuk memastikan secara kualitatif adanya senyawa saponin yang terkandung dalam daun bungkus. Uji ini dilakukan dengan dua cara yaitu uji busa dan uji warna Liebermann Burchard. Simplisia daun bungkus yang dimasukkan dalam tabung reaksi berisi pelarut aquades kemudian dikocok menghasilkan busa dan setelah penambahan pereaksi asam klorida 2 N, busa yang terbentuk tidak hilang. Pengujian busa dilakukan berulang terhadap simplisia. Dalam uji busa digunakan aquades sebagai pelarut dan asam klorida 2 N sebagai pereaksinya. Setelah simplisia dikocok dalam aquades, busa yang terbentuk pada tabung reaksi setinggi 3 cm dan setelah penambahan asam klorida 2 N, busa tidak hilang dengan ketinggian 2 cm selama 30

detik. Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok.

Uji warna yang dilakukan secara berulang terhadap simplisia menunjukkan hasil yang positif. Dalam uji warna yang dilakukan menghasilkan warna hijau terang setelah simplisia yang dilarutkan dalam kloroform dan dipanaskan selama 5 menit sambil dikocok, ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard menunjukkan adanya saponin steroid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suharto dkk. (2015) menyatakan bahwa setelah sampel ditambahkan pereaksi Liebermann Bouchard akan menghasilkan cincin warna coklat-ungu yang menunjukkan adanya saponin triterpen dan hijau-biru untuk saponin steroid.

Setelah uji pendahuluan, dilakukan isolasi senyawa saponin dengan KLT. Kromatografi lapis tipis merupakan metode yang sering digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa dalam suatu simplisia. Pemisahan senyawa saponin dari ekstrak daun bungkus dalam penelitian ini menggunakan metode KLT dengan eluen kloroform : metanol : air lapisan bawah (Harborne, 2006). Hasil KLT yang diamati secara visual terlihat bercak noda pada lempeng silika gel yang telah ditotolkan ekstrak dan terelusi oleh eluen berwarna kuning kecokelatan. Pada pengamatan di

bawah lampu UV 254 terlihat beberapa bercak noda dengan nilai Rf yang berbeda. Lempeng kemudian disemprotkan dengan pereaksi LB (Liebermann Bouchard) dan dipanaskan pada suhu 110 °C selama 10 menit untuk membuktikan bercak dari senyawa saponin. Setelah penyemprotan yang dilanjutkan dengan pemanasan diperoleh noda sebagai berikut pada perbandingan (10:6:1) diperoleh noda hijau pada Rf 0,86 dan noda hijau terang pada Rf 0,79.

Setelah proses KLT analitik menunjukkan hasil yang positif maka dilakukan proses isolasi dengan KLT preparatif untuk memperoleh isolat. Eluen yang digunakan yaitu campuran pelarut kloroform : metanol : air (10:6:1). Dalam proses KLT preparatif digunakan lempeng preparatif silika gel. Setelah lempeng terelusi hingga batas atas, dilakukan pengamatan di bawah lampu UV 366 nm menunjukkan bercak noda gelap yang sama seperti pada hasil KLT analitik. Untuk lebih memperjelas bercak dari senyawa saponin hasil pemisahan, pada bagian tepi kiri dan kanan lempeng sekitar 1 cm dari tepi disemprotkan pereaksi LB (Liebermann Bouchard) kemudian diamati perubahan warnanya. Daerah sekitar bercak kiri dan kanan dihubungkan dengan garis lurus. Bagian dalam garis dikerok dan dilarutkan dengan etanol 96%. Larutan didiamkan dan setelah terlihat endapan silika, filtrat disaring sebagai isolat untuk diidentifikasi. Pada penelitian

ini tidak digunakan baku pembanding saponin karena sulit untuk memperolehnya sehingga uji warna dijadikan dasar untuk mengisolasi senyawa saponin.

Tahap akhir, dilakukan identifikasi senyawa saponin dengan spektrofotometri ultraviolet. Proses identifikasi dengan spektrofotometri UV bertujuan untuk mengetahui nilai absorbansi senyawa saponin pada panjang gelombang maksimal yang terkandung dari filtrat hasil isolat. Filtrat diidentifikasi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 200-400 nm. Hasil identifikasi menunjukkan satu puncak dari garis gelombang yaitu pada 266,20 nm sebagai panjang gelombang maksimal dan memiliki nilai absorbansi 0,274.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh yaitu daun bungkus benar mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan positif mengandung busa dan warna hijau pada penambahan pereaksi Liebermann Bouchard. Hasil isolasi diperoleh fraksi B yang positif membentuk senyawa tunggal pada metode KLT 2 dimensi. Panjang gelombang maksimum 266,20 nm dengan nilai serapan 0,2742 merupakan hasil identifikasi dari metode spektrofotometri ultraviolet.

KEPUSTAKAAN

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2014). *Farmakope Indonesia Edisi V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Hariana, A. H. (2013). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Seri III. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hanani, E. (2016). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Harborne, J.B. (2006). *Metode Fitokimia*. Terbitan Kedua. Bandung : Penerbit ITB.
- Jonatan. T. M. (2016). *Identifikasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Daun Bungkus (Similax Sp.) yang Berasal dari Biak Papua*". Makassar
- Saifudin, A., Viesa, R, & Hilwan, Y.T. (2011). *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Jilid Pertama. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Suharto, M.A.P., Edy, H.J, & Dumanauw, J.M. (2015). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (Musa paradisiaca var.)*. Jurnal Kefarmasian Indonesia, 5(2).
- Zambell, B., Christopher, Dein, B. (2015). *Common Greenbrier (Smilax rotundifolia L.) As a Model for Understanding Fungal Community Organization in the Phyllosphere* dalam Journal of Pharmaceuticals 4(1).