ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA FENOLIK DALAM EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT BUAH JENGKOL

Ahmad Sopian¹, Ahmad Darmawan², Partomuan Simanjuntak³.

Magister Farmasi, Universitas Pancasila, Email: ahmadsopain0191@gmail.com
Laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu

Pengetahuan Indonesia (LIPI).

³ Laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat penelitian Bioteknologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)

Abstrak

Jengkol (Archidendron pauciflorum (Benth.) I.C Nielsen) merupakan tanaman yang sudah tidak asing lagi di Indonesia dan banyak digunakan sebagai pangan olahan yang cukup digemari. Salah satu bagian tanaman jengkol yang kurang dimanfaatkan adalah kulitnya. Kulit buah jengkol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, glikosida, sapoinin dan steroid atau triterpenoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam ekstrak etil asetat kulit buah jengkol , dan menguji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH.

Hasil isolasi, pemurnian dalam ekstrak etil asetat kulit buah jengkol tidak memberikan aktivitas sebagai antioksidan. Hasil analisis menggunakan spektrofotometri FTIR, kromatografi Gas-Spektrometri Massa (KG-SM) dan Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (¹HNMR).

Kata Kunci: Kulit Buah Jengkol, *Archidendron pauciflorum* (Benth.) I.C Nielsen, Leguminosae, (1-(2,6-dihidroksi,4metoksi fenil) dekana-1-one)

Abstract

Jengkol (Archidendron pauciflorum (Benth.) I.C Nielsen) is a plant that is already familiar in Indonesia and is widely used as a processed food that is quite popular. One of the underutilized parts of the jengkol plant is the skin. Jengkol fruit peel contains alkaloid compounds, flavonoids, tannins, glycosides, sapoinin and steroids or triterpenoids. The purpose of this study was to determine the content of chemical compounds in ethyl acetate extract of jengkol fruit peel, and to test antioxidant activity by DPPH free radical reduction method.

The results of isolation, purification in ethyl acetate extract of jengkol fruit skin does not provide activity as an antioxidant. The results of the analysis using FTIR spectrophotometry, Gas chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (¹HNMR).

Keywords: Antioksidan ,archidendron pauiflorum (Benth) I.C Nielsen, jengkol, (1- (2,6-dihydroxy, 4methoxy phenyl) decane-1-one)

PENDAHULUAN

Obat herbal dipakai secara luas di hampir seluruh negara di dunia. Menurut WHO, negara di Asia dan Amerika Latin menggunakan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer yang mereka terima. Bahkan di Afrika. 80% dari sebanyak populasi menggunakan obat herbal untuk pengobatan primer. Indonesia dikenal sebagai negara dengan sumber daya hayati kedua terbesar yang tersebar dari Sabang hingga Merauke (WHO, 2003). Dalam Kotranas BPOM di Indonesia terdapat lebih kurang 30.000 jenis tumbuh-tumbuhan, lebih kurang 7.500 jenis diantaranya termasuk tanaman berkhasiat obat, salah satunya adalah tumbuhan jengkol yang merupakan tumbuhan khas di wilayah Asia Tenggara. Bijinya digemari di Malaysia, Thailand, dan Indonesia sebagai bahan Tumbuhan ini pangan. juga banyak ditemukan di Malaysia dan Thailand. Namun, asal-usul tanaman jengkol tidak diketahui dengan pasti. Di Sumatera, Jawa Barat, dan Jawa Tengah, tumbuhan jengkol banyak ditanam di kebun atau pekarangan secara sederhana (Kontranas, 2006)

Tumbuhan jengkol suku Fabaceae, yang sudah sejak lama ditanam di Indonesia, di kebun atau pekarangan. Buah jengkol mengandung karbohidrat, protein, vitamin A, vitamin B, fosfor, kalsium, alkaloid, minyak atsiri, steroid, glikosida, tanin, dan saponin. Biji jengkol merupakan bagian tanaman yang paling banyak dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat. Sebagai obat, biji jengkol dapat membantu memperlancar proses buang air besar karena jengkol mengandung serat yang tinggi (Anonim, 2009).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan (unpaired electron). Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, sehingga akan terbentuk radikal baru lagi dan seterusnya sampai terjadi reaksi berantai. Reaksi ini akan terus berlanjut sampai reaktivitasnya diredam oleh senyawa yang bersifat antioksidan (Winarsi, 2007).

Radikal bebas hanya bisa diatasi dengan antiokisdan yang berperan sebagai inhibitor penghambat oksidasi dengan cara bereaksidengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil (Sofia, 2003).

Menurut penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa dalam kulit buah jengkol menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, saponin, steroid/triterpenoid. Kulit buah jengkol umumnya dikategorikan sebagai limbah, khususnya di pasar tradisional dan dianggap tidak mempunyai nilai ekonomis (Nurussakinah, 2010).

hasil Berdasarkan penelitian yang dilakukan Surya Alfian tentang analisis aktivitas antioksdian ekstrak kulit jengkol (pithecellobium jiringa) dengan pelarut yang berbeda kepolarannya dimana IC₅₀ dengan waktu maserasi selama 24 jam dan mendatakan aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol sebesar 51,1979 μg/mL (Surya, 2017).

Menurut penelitian sebelumnya Verdiani Devi tentang isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan dari ekstrak etanol 96% kulit buah jengkol (Archidendron pauciflorium (*Benth*) *I.C Nilesen*) diketahui bahwa mempunyai senyawa metil galat (Metil 3,4,5-trihidroksibenzoat) (Verdiani, 2018).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lanjutan terhadap ekstrak kulit buah jengkol, dengan tujuan mengisolasi, untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dalam kulit buah jengkol yang berpotensi sebagai antioksidan untuk mengetahui serta aktivitas antioksidan terhadap ekstrak, fraksi, dan senyawa murni dan untuk mengidentifikasi struktur kimia isolat hasil proses isolasi yang diperolah dari ekstrak etil asetat kulit buah jengkol.

METODE PENELITIAN

Bahan

Ekstrak etil asetat kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum* (Benth.) I.C Nielsen) diperoleh dari LIPI Cibinong 6,07 gram.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Kolom Kromatografi, Corong Pisah, Tabung Reaksi, Labu Ukur, Erlenmeyer, Mikropipet, Pipa Kapiler, Cawan Penguap) Spektrofotometer **FTIR** (Merck, shimadzu FTIR-8400S), spektrofotometer UV-Vis (Merck, HITACHI U-3900H), GC-MS (Merck, agilent Technologies 5975C inert MSD, 7890A System), Sonikator (Merck, Branson1550), Timbangan Analitik (Merck, Precisa 2A0A), Lempeng Silika Gel, (Merck, GF254. Inkubator Homogenizer, memmert), TLC Lamp, Hot plate, , Kertas Saring, Alumunium Foil, Batang Pengaduk, Spatula, Vial.

• Penyiapan Ekstrak

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etil asetat kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum* (Benth.) I.C Nielsen).

• Isolasi dan Pemurnian

Sebanyak 6,07 gram ektrak etil asetat kulit jengkol dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom siika gel. Fase gerak yang digunakan yaitu *n*-heksan – etil

asetat (5:1) ~ (1:1), etil asetat, metanol. Hasil fraksinasi kromatografi kolom pertama diperoleh 7 frkasi kemudian ke 7 fraksi diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. selanjutnya Fraksi 7.3 yang diperoleh dimurnikan menggunakan KLT preparatif dengan eluen DCM:MeOH (10:1) dan menghasilkan isolat 7.3.1.

• Uji aktivitas Antioksidan metode peredaman radikal bebas

a. Pembuatan larutan blangko DPPH

Reagen DPPH (BM 394,32) ditimbang seksama sebanyak lebih kurang 1,6 mg, dimasukan kedalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dengan methanol pro analisis hingga tanda. dihomogenkan, kemudian dimasukan kedalam botol coklat. Untuk setiap pengujian larutan dibuat baru.

b. Pembuatan larutan blangko

Larutan DPPH 0,4 mM dipipet sebanyak 600 uL, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah ditera 3 mL, kemudian ditambahkan metanol pro analitik hingga tanda, lalu

dihomogenkan, mulut tabung ditutup rapat dan diinkubasi

c. Pembuatan larutan uji

Ekstrak Kulit buah jengkol ditimbang seksama sebanyak lebih kurang 1,3 mg, kemudian dimasukkan kedalam labu terukur 10 mL. ditambahkan metanol pro analisis hingga 2,6 mL sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 500 ug/mL sebagai larutan induk. Larutan induk tersebut dipipet 30 ul, 60 ul, 100 ul, 300 ul, 600 ul.

d. Pengukuran serapan

Larutan uji, larutan blangko diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit, serapan larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

%hambatan = $\frac{serapan \, blanko - serapan \, larutan \, uji}{serapan \, blanko} x \, 100$

Ditentukan fraksi mana yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antioksidan F-EA.7 hasil kromatografi kolom

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan didalam ekstrak etil aseatat kulit buah jengkol maka dilakukan uji dengan metode peredamn radikal bebas hasil uji bisa dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persen Hambat Uji Antioksidan 1

		PEREDASMAN
NO	SAMPEL	(%)
1	F-EA.1	86,87
2	F-EA2	12,96
3	F-EA.3	12,61
4	F-EA.4	12,96
5	F-EA.5	12,78
6	F-EA.6	93,64
7	F-EA.7	85,87

Berdasarkan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas **DPPH** menunjukkan bahwa fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan ada tiga mempunyai fraksi aktivitas yang antioksidan dengan tertinggi masingmasing yaitu fraksi EA1: 86,87 %, EA6: 93,64 %, dan EA7: 85,87 %, dan ditentukan fraksi 7 untuk dilanjutkan untuk kolom kedua dilihat dari banyak bobot fraksi yang didapat.

Uji aktivitas antioksidan F-EA.7.3 hasil kromatografi kolom 2

Hasil dilihat dari aktivitas paling tinggi dengan dilihat persen hambat yaitu ada pada F-EA.7.3 dengan persen hambat 93,05% bhasil uji bisa dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persen hambat uji antioksidan 2

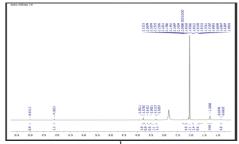
		PEREDASMA
NO	SAMPEL	N (%)
1	F-EA.7.2	82,25
2	F-EA.7.3	93,05
3	F-EA.7.4	54,97
4	F-EA.7.5	13,46

• Identifikasi Senyawa Kimia

Berdasarkan data spektrofotometri 1 H-NMR (Gambar 1) menunjukkan bahwa isolat EA 7.3.1 memiliki 1 buah puncak proton pada daerah aromatik $\delta_{\rm H}$ (ppm) 7,10 (s, 2H, H-3/H-6) dengan intensitas 2 buah proton, 1

buah puncak khas untuk metoksi (-OCH₃) (singlet dengan intensitas kuat) pada $\delta_{\rm H}$ (ppm) 3,78 (s, 3H, H-7), 1 buah puncak proton pada daerah δ_H (ppm) 8,01 dengan multiplisitas singlet (s) kemungkinan besar merupakan puncak pergeseran kimia dari gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik, serta puncak-puncak khas atau typical untuk gugus asam lemak (alkana) pada $\delta_{\rm H}$ (ppm) 0,88 (t, 3H, H-10' (-CH₃)), 1,29 (bs, 12H, H-4'-H9' 6(CH₂)), 1,59 (m, 2H, H-3' (CH₂)), dan 2.29 (t, 2H, H-2' (CH₂)).

Berdasarkan data hasil analisa ¹H-NMR tersebut, patut diduga bahwa isolat EA-7.3.1 memiliki 1 buah cincin aromatik dalam bentuk senyawa fenolik yang mengikat 2 buah substituen berbeda yaitu gugus metoksi dan gugus asam lemak hasil ¹H-NMR bisa dilihat pada Gambar 1.

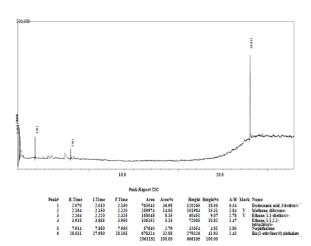


Gambar 1. Spektrum ¹H-NMR isolat EA 7.3.1

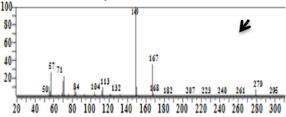
Berdasarkan data hasil analisa ¹H-NMR FT-IR dan yang dilakukan terhadap isolat EA-7.3.1 patut di duga bahwa isolat EA-7.3.1 merupakan senyawa fenolik mempunyai 2 yang buah substituen berbeda, yaitu gugus metoksi (-OCH3) yang terikat pada atom C-4 dan gugus asam lemak yang terikat pada atom C-1 gambar bisa dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2 Struktur Kimia senyawa fraksi EA 7.3.1

Untuk memastikan bobot molekul dari isolat EA-7.3.1 diperlukan analisa lanjutna untuk memperoleh bobot molekul (BM) dari senyawa isolat EA-7.3.1 Analisis BM dilakukan menggunakan Kromatografi GC dengan spektrum hasil analisa terlihat pada Gambar 3



<< Target >> Line#:11 R.Time:28.030(Scan#:5207)
RawMode:Averaged 28.025-28.035(5206-5208) BasePeak:149.05(87349)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Gambar 3. KG-SM isolat 7.3.1

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil analisis BM terhadap isolat EA-7.3.1, diperoleh data bahwa isolat EA-7.3.1 dengan kondisi analisis yang dilakukan memiliki waktu retensi (Rf) 28.03 menit, dengan intensitas puncak paling tinggi.

Adapun pada waktu retensi tersebut, bobot molekul yang ditunjukkan adalah (m/z) 295 [M+1] atau [M+H], yang berarti bahwa bobot molekul [M+] dari isolat EA-7.3.1 adalah (m/z) 294. Munculnya

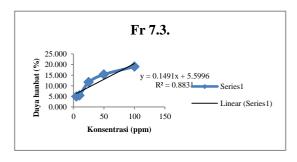
nilai [M+1],[M+2],dan seterusnya sebagai akibat dari adanya isotop dari masingmasing atom, sebagai contoh ^{12}C adalah atom yang mempunyai jumlah kelimpahan di alam sebesar 98.9%, serta kelimpahan isotopnya ¹³C yang hanya sebesar 1,10%. Adanya isotop ¹³C inilah yang menyebabkan adanya nilai [M+1], [M+2], dan seterusnya dalam hasil analisisis isolat murni.

Setelah diidentifikasi senyawa dan diapatkan isolat murni dilanjutkan uji aktivitas antioksidan IC_{50} dan bisa dilihat pada tabel dan gambar.

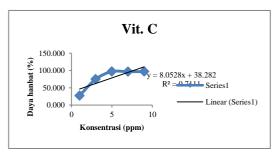
Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan IC₅₀

No	Sampe 1	rata- rata	% hamba t	IC ₅₀
1	Blanko	1.004		
2	Fr 7.3.1	0.955	4.88	297,7
3		0.95	5.428	9
4		0.887	11.653	
5		0.85	15.339	
6		0.813	19.024	
7	Vit C	0.731	27.241	1,455

8	0.251	75	
9	0.032	96.863	
10	0.033	96.713	
11	0.031	96.912	



Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi (bpj) dengan persen inhibisi (%) uji aktivitas antioksidan dengan peredamna radikal bebas DPPH fraksi 7.3.



Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi (bpj) dengan persen inhibisi (%) uji aktivitas antioksidan dengan peredaman radikal bebas DPPH Vitamin C.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi dan purifikasi, yang dilanjutkan dengan proses identifikasi berdasarkan data hasil analisa FT-IR, ¹H-NMR dan GC-MS, dapat disimpulkan bahwa diduga kulit

Viva Medika: Jurnal Kesehatan, Kebidanan, dan Keperawatan, 11 (02), Maret 2019 Ahmad Sopian, Ahmad Darmawan, Partomuan Simanjuntak (Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Fenolik Dalam Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Jengkol)

buah jengkol dari ekstrak etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan fenolik 1-(2,6-dihidroksi-4-metoksfenil)dekan-1-on (IUPAC:1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)decan-1-one) yang mempunyai bobot molekul *m/z* 294, dan tidak aktif sebagai senyawa antioksidan dengan nilai IC₅₀ 297,79 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas ilmu yang diberikan kepada saya, juga kepada kedua pembimbing saya bapak Prof. (ris) Dr. Partomuan simanjuntak, M.Sc. dan bapak Dr. Ahmad Darmawan, M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

World Health Organization.

Traditional Medicine. 2003

Kotranas. 2006. Ramuan Pusaka Nusantara, Kekayaan Bangsa yang Harus Dipelihara.

Anonim, Atasi jentik DBD dengan kulit jengkol. (2009).

Winarsi H. 2007. Antioksidan alami dan radikal. Penerbit Kanisius. (Edisi 4-10 juli 2012 No.3646 Tahun XLII 2 Agroinovasi Badan Litbang Pertanian). H.11-36, 77-82

Sofia D.antioksdian dan radikal bebas; 2003

Nurussakinah. Skrinning Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Uji Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jengkol (Archidendron Pauciflorum (Benth.) I.C Nielsen) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans. Staphylococcus aureus, dan Eschericia coli. Skripsi, Fakultas Farmasi. USU. Medan: 2010.

Surya Alfian Aktivitas Ekstrak Kulit buah Jengkol (*pitecellebium jiringa*) dengan Tiga Pelarut yang Berbeda Kepolarannya: Pekanbaru.2017

Verdiani, Devi. Isolasi DanIdentifikasi Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit buah jengkol (*Archidendron Pauciflorum* (Benth.) I.C Nielsen). Jakarta. 2018.