

Penjaringan dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Batang Kayu Kuning
(*Arcangelisia Flava Merr*)
(*Screening and Identification of Alkaloid Compounds in Kayu Kuning Stem*
(*Arcangelisia Flava Merr*))

Restu Kartiko Widi¹⁾ dan Titin Indriati²⁾

¹⁾ Departemen Kimia FMIPA Universitas Surabaya

²⁾ Alumnus Jurusan Kimia FMIPA UGM

ABSTRACT

Extraction of kayu kuning stem (Arcangelisia flava Merr) with petroleum ether, chloroform and methanol 80% to screen of alkaloid compound has been carried out. Extract of chloroform was added by 10% of NH₃ solution and Al₂O₃, then put into column chromatography and flowed by chloroform. Eluat was tested by dragendorf reagent to know the present of the alkaloid compound. This eluat was identified by thin layer chromatography with chloroform-methanol (1:4 v/v) as a mobile phase. It gave four spots that had the Rf value of 0.78; 0.64; 0.41; 0.18. After these spots were added by dragendorf reagent, only the first spot gave positive result. Then the chloroform fraction was separated by column chromatography to take the fraction which had Rf value of about 0.78 and thenit was analyzed by spectroscopic method (uv-vis and infra red). The data suggested that the alkaloid compound was the pyridin alkaloids group.

Keywords: alkaloid, dragendorf, chromatography, spectroscopy

PENDAHULUAN

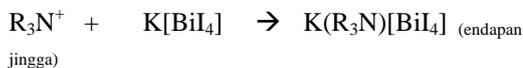
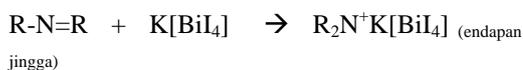
Salah satu tanaman yang dikenal sebagai obat adalah kayu kuning (*Arcangelisia flava Merr*) yang merupakan tanaman menjalar dengan batang kayu bulat, membelit pada pohon-pohon yang tinggi, daunnya berbentuk bulat telur, buahnya seperti duku, bergerombol dan keluar langsung dari batangnya. Di beberapa daerah di Sulawesi tumbuhan ini umumnya digunakan untuk pengobatan penyakit malaria, kencing manis, kencing batu dan lain-lain. Pada umumnya penggunaan batang kayu kuning untuk pengobatan dari dalam dengan cara minum air rebusannya. Di Jawa tumbuhan ini dipergunakan sebagai obat sariawan (Wiyanto, 1993; Nagle and Nagle, 2005).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdahulu, senyawa yang berperan sebagai obat dalam tumbuhan adalah senyawa alkaloid. Dalam praktek medis kebanyakan alkaloid mempunyai nilai tersendiri, disebabkan oleh sifat farmakologi dan kegiatan fisiologinya yang menonjol sehingga dipergunakan luas dalam bidang pengobatan. Manfaat alkaloid dalam bidang kesehatan antara lain adalah untuk memacu sistem saraf, menaikkan atau menurunkan tekanan darah dan melawan infeksi mikrobia (Solomon, 1980; Carey, 2006).

Metoda klasifikasi alkaloid yang paling banyak digunakan adalah berdasarkan struktur nitrogen yang dikandungnya (Krygowski, *et al.*, 2005; Sherman, 2004), yaitu:

1. Alkaloid heterosiklis, merupakan alkaloid yang atom nitrogennya berada dalam cincin heterosiklis. Alkaloid ini dibagi menjadi: alkaloid pirolidin, alkaloid indol, alkaloid piperidin, alkaloid piridin, alkaloid tropan, alkaloid histamin, imidazol dan guanidin, alkaloid isokuinolin, alkaloid kuinolin, alkaloid akridin, alkaloid kuinazolin, alkaloid izidin.
2. Alkaloid dengan nitrogen eksosiklis dan amina alifatis, seperti efedrina.
3. Alkaloid putresin, spermin dan spermidin, misalnya pausina.
4. Alkaloid peptida merupakan alkaloid yang mengandung ikatan peptida.
5. Alkaloid terpena dan steroidal, contohnya funtumina.

Secara umum senyawa alkaloid diekstrak dari tumbuhan menggunakan beberapa pelarut untuk menghilangkan lemak yang tercampur, kemudian ekstraknya dibasakan dengan larutan NH₃ 10% dan Al₂O₃. Campuran ini selanjutnya dipisahkan secara kromatografi kolom dan diidentifikasi. Identifikasi senyawa alkaloid dapat dilakukan dengan metoda fisika, dengan cara penyinaran kromatogram di bawah sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm. Beberapa alkaloid memberikan warna fluoresensi biru atau kuning di bawah sinar tersebut, serta metoda kimia dengan menggunakan pereaksi tertentu, seperti pereaksi dragendorf membentuk endapan jingga-merah (Wagner, 1984; Kyle *et al.*, 2006).



Identifikasi selanjutnya adalah dengan spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak yang memberikan keterangan tentang tipe struktur molekulnya. Panjang gelombang maksimum yang diberikan oleh suatu senyawa dapat digunakan sebagai perkiraan awal terhadap jenis senyawa tersebut. Cara identifikasi lainnya adalah dengan menggunakan spektroskopi inframerah yang memberikan informasi tentang gugus-gugus fungsional dalam suatu senyawa. Pada umumnya senyawa alkaloid memberikan serapan khas pada daerah frekuensi $3480-3205 \text{ cm}^{-1}$ (-N-H), $2100-1980 \text{ cm}^{-1}$ (=N⁺-H), $1660-1480 \text{ cm}^{-1}$ (-C=N-), $1350-1000 \text{ cm}^{-1}$ (-C-N-) dan beberapa serapan lainnya yang khas untuk masing-masing senyawa (Yuliati, 1990; Morrison, *et al.*, 2000).

Tulisan ini menuturkan penjarangan senyawa alkaloid dalam batang kayu kuning dengan metoda pembasaan dan identifikasinya melalui identifikasi penampak bercak, spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak, dan spektroskopi inframerah.

METODE

Dua puluh lima gram serbuk batang kayu kuning (dari Sulawesi Selatan) diekstraksi menggunakan alat ekstraksi soxhlet dengan pelarut petroleum eter (40 - 60°C) sebanyak 300 ml selama 7 jam, ampas diangin-anginkan semalam untuk menghilangkan pelarut. Ampas diekstraksi kembali dengan beberapa pelarut secara terpisah dan berurutan, yaitu kloroform dan metanol 80% masing-masing 300 ml. Ekstraksi dengan kloroform diperoleh ekstrak kloroform, dan ampasnya yang telah diangin-anginkan semalam diekstrak lagi dengan metanol 80% diperoleh ekstrak metanol dan ampas. Masing-masing ekstraksi dilakukan selama 7 jam.

Ekstrak kloroform dipekatkan diambil 2 ml sebagai bahan penjarangan alkaloid dengan menambahkan larutan amonia 10% 2 ml dan 7 gram Al₂O₃, diaduk selama beberapa menit. Campuran yang diperoleh dimasukkan ke dalam kolom selanjutnya dialiri dengan kloroform. Eluat yang diperoleh ditampung

untuk uji warna dengan penambahan pereaksi dragendorf. Apabila reaksi positif, eluat dipergunakan sebagai sampel untuk KLT, kromatografi kolom dan analisisnya dengan menggunakan spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak, serta spektroskopi IR.

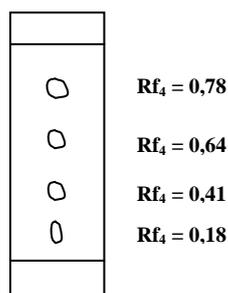
Ekstrak metanol dipekatkan diambil 5 ml sebagai bahan penjarangan dengan menambahkan 2 ml larutan ammonia 10% sambil diaduk. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 60°C di atas penangas air, kemudian disaring dalam keadaan panas. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji warna dengan penambahan pereaksi *dragendorf*. Apabila reaksi positif, filtrat digunakan untuk sampel KLT dan kromatografi kolom. Pengamatan bercak dilakukan dengan penyinaran di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, serta dihitung harga *retardation factor* (Rf = jarak bercak dari titik awal dibagi dengan jarak pelarut, dari titik awal). Selanjutnya untuk mengetahui bercak alkaloid dilakukan penyemprotan dengan pereaksi dragendorf. Setelah diketahui adanya alkaloid dan harga Rf, maka untuk mendapatkan senyawa alkaloid tersebut dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel 60 G (70-230 mesh). sedang analisisnya dikerjakan menggunakan spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak, serta spektroskopi IR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembebasan lemak dari batang kayu kuning menggunakan pelarut petroleum eter sangat penting karena adanya lemak akan mengganggu proses penjarangan alkaloid, berkaitan dengan berat molekul lemak yang sangat besar. Pelarut berikutnya adalah kloroform dan metanol 80% dengan kepolaran metanol lebih besar daripada kloroform, sehingga diharapkan komponen dalam batang kayu kuning yang berbeda kepolarannya dapat terjaring semua. Ekstrak kloroform mengandung komponen dengan kepolaran yang lebih rendah daripada ekstrak metanol. Tahap berikutnya masing-masing ekstrak yang sudah dibasakan diuji dengan penambahan pereaksi dragendorf. Hasil uji ini ternyata menunjukkan bahwa ekstrak basa fraksi kloroform memberikan endapan berwarna oranye yang berarti positif terdapat alkaloid, sedangkan ekstrak basa fraksi metanol tidak memberikan endapan berwarna oranye, yang

berarti ekstrak fraksi metanol tidak mengandung alkaloid.

Pemisahan komponen-komponen yang ada dalam ekstrak basa fraksi kloroform dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada KLT ini digunakan silika gel yang terlapis pada plat plastik sebagai fasa diam. Karena silika gel bersifat polar, maka komponen dalam ekstrak batang kayu kuning yang bersifat polar akan diserap lebih kuat sehingga akan terelusi lebih lambat dan akan memiliki harga R_f yang kecil. KLT memerlukan eluen sebagai fasa gerak untuk pemisahan cuplikan. Tabel 1. menunjukkan hasil pemisahan cuplikan pada plat KLT pada berbagai eluen. Berdasarkan hasil tersebut maka eluen yang digunakan sebagai fasa gerak adalah campuran kloroform-metanol (1:4, v/v). Dari KLT fraksi kloroform ini diperoleh empat bercak dengan harga R_f 0,78; 0,64; 0,41; dan 0,18 (Gambar 1).



Gambar 1. Kromatogram KLT fraksi kloroform dengan eluen kloroform-metanol (1:4,v/v).

Di bawah sinar ultraviolet (uv) 254 nm tiga buah bercak memberikan warna hitam dan satu buah bercak tidak memberikan warna, sedangkan dibawah sinar uv 366 nm masing-masing bercak memberikan warna merah bata, biru, hitam dan kuning. Penyemprotan dengan menggunakan pereaksi dragendorf terhadap hasil KLT fraksi kloroform dengan eluen kloroform-metanol (1:4, v/v) yang ditambahkan asam sulfat 2N 0,2 ml, memberikan warna oranye pada bercak yang berwarna merah bata (R_f 0,78), ini berarti bercak tersebut positif mengandung alkaloid (Tabel 2).

Pemisahan komponen-komponen ekstrak basa fraksi kloroform selanjutnya adalah dengan menggunakan kromatografi kolom. Fasa diam yang dipergunakan adalah silika gel 60 G (70.230 mesh). Hasil pemisahan yang positif terhadap pereaksi dragendorf (Tabel 3), dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama, pelarut dibiarkan berada dalam fraksi dan dianalisis dengan spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak, memberikan panjang gelombang maksimum pada daerah 242 nm. Analisis ini menunjukkan bahwa dalam senyawa tersebut terdapat gugus kromofor (gugus tak jenuh). Panjang gelombang ini berada dalam kisaran 230-300 nm (gambar 2). Menurut Sangster (1960), panjang gelombang tersebut diberikan oleh senyawa yang mempunyai sistem kromofor aromatis sederhana seperti piridin. Adanya inti piridin ini diperkuat oleh serapan inframerah (IR) pada daerah $1654,4 \text{ cm}^{-1}$ yang khas untuk piridin (Smith and March, 2001; Smith, 2005).

Tabel 1. Hasil pemisahan cuplikan pada plat KLT dengan berbagai eluen

Eluen (v/v)	Banyak bercak	Keterangan
Am:Me:Klo (0,5:2,5:7)	1	Tidak memisah
Sik:Klo:Diet (5:4:1)	2	Pemisahan tidak bagus
Sik:Klo:Me (3:2:1)	3	Bercak 3 memanjang
Klo:Diet (5:1)	2	Bercak tidak jelas
Klo:Me (2:1)	1	Tidak memisah
(1:2)	1	Bercak tidak jelas
(1:3)	1	Tidak memisah
(1:4)	4	Bercak, pemisahan jelas
Sik:Klo (2:1)	1	Tidak memisah
(3:1)	3	Bercak 1,2 berhimpitan

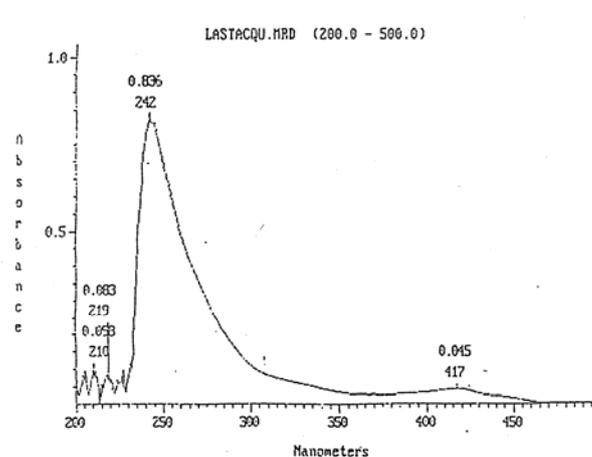
Keterangan: Am = amonia; Me = metanol; Klo = kloroform; Sik = sikloheksana; Diet = dietil eter

Tabel 2. Pengamatan bercak hasil KLT fraksi kloroform dengan eluen kloroform-metanol (1:4, v/v) di bawah sinar uv dan penyemprotan dengan pereaksi dragendorf

Bercak	Rf	Sinar uv		Dragendorf
		254 nm	366 nm	
1	0,78	hitam	merah bata	oranye
2	0,64	hitam	biru	tidak ada perubahan
3	0,41	hitam	hitam	tidak ada perubahan
4	0,18	-	kuning	tidak ada perubahan

Tabel 3. Hasil kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel 60G dan eluen kloroform-metanol (1:4, v/v) di bawah sinar uv dan penyemprotan dengan pereaksi dragendorf

Tabung	Warna eluat	Bercak	Rf	Fraksi	Warna di bawah sinar uv 366nm	dragendorf
1	hijau kebiruan	1	0,700	I	merah bata	+ (oranye)
2	hijau kebiruan	1	0,725	I	merah bata	+ (oranye)
3	hijau kebiruan	1	0,775	I	merah bata	+ (oranye)
4	hijau kebiruan	1	0,775	I	merah bata	+ (oranye)
5	hijau kebiruan	1	0,750	I	merah bata	+ (oranye)
6	hijau kebiruan	1	0,775	I	merah bata	+ (oranye)
7	hijau kebiruan	1	0,775	I	merah bata	+ (oranye)
8	hijau kebiruan	1	0,750	I	merah bata	+ (oranye)
9	hijau kebiruan	1	0,725	I	merah bata	+ (oranye)
10	hijau kebiruan	1	0,775	I	merah bata	+ (oranye)
11	hijau kebiruan	1	0,700	I	merah bata	+ (oranye)
12	hijau kebiruan	1	0,750	I	merah bata	+ (oranye)
13	hijau kebiruan	2	0,725 0,650	II	merah bata biru	- -
14	kuning kehijauan	1	0,675	III	biru	-
15	kuning	1	0,400	IV	hitam	-
16	kuning	1	0,350	IV	hitam	-
17	kuning	2	0,325 0,150	V	hitam kuning	- -
18	jernih kecoklatan	1	0,125	VI	kuning	-

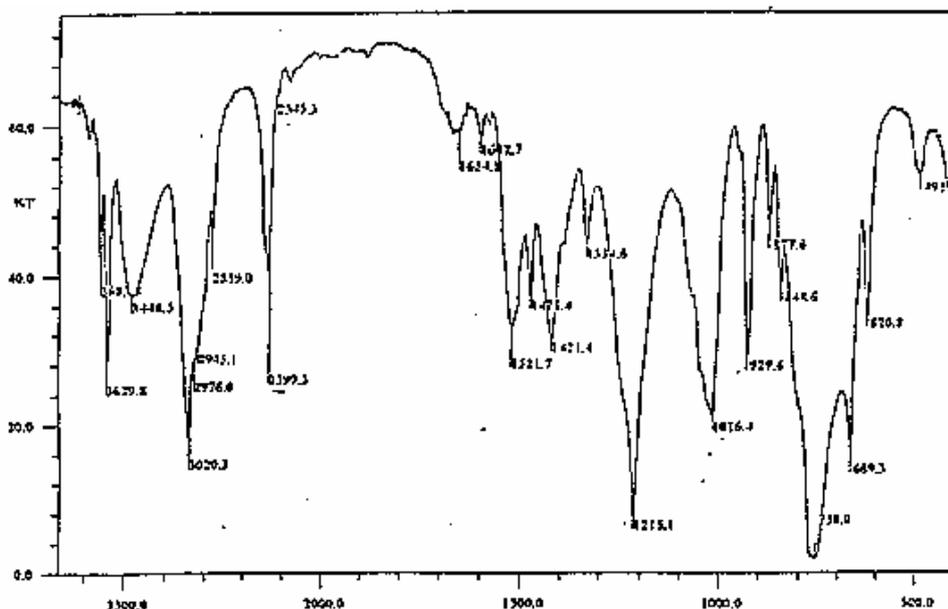


Gambar 2. Spektrogram ultraviolet dan sinar tampak fraksi positif

Bagian kedua, pelarutnya diuapkan hingga terdapat padatan berwarna biru-kehijauan. Padatan ini dilarutkan dalam kloroform untuk dianalisis dengan spektroskopi inframerah. Serapan tajam pada daerah 3683,8 dan 3629,8 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus H-N-H (amina primer). Hal ini diperkuat oleh adanya serapan -N-H bengkokan pada 1521,7 cm^{-1} . Terdapatnya gugus ammonium ($-\text{N}^+\text{-H}$) dalam senyawa ini ditunjukkan oleh serapan tajam pada 2399,3 cm^{-1} . Atom N (nitrogen) yang terdapat dalam senyawa ini diperkuat lagi oleh serapan tajam pada 1334,6 cm^{-1} oleh gugus -C-N. Senyawa ini, juga mengandung gugus -O-H (hidroksi) yang ditunjukkan oleh serapan melebar pada daerah 3448,5 cm^{-1} , dan diperkuat oleh serapan gugus -C-O pada 1016,4 cm^{-1} . Serapan bersama-sama pada daerah 3020,3 cm^{-1} , 758,0 cm^{-1} (serapan di luar bidang), 1602,7 cm^{-1} dan 1475 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus aromatis. Serapan tajam-lemah pada daerah 1654,8 cm^{-1} menunjukkan bahwa gugus aromatis tersebut adalah inti piridin. Adanya inti piridin ini diperkuat oleh serapan tajam-sedang pada daerah 929,6 cm^{-1} yang merupakan serapan substituen piridin. Gugus lain yang terdapat di dalam senyawa ini adalah metilen ($-\text{CH}_2-$) yang ditunjukkan oleh serapan bersama pada 2976 cm^{-1} dan 2945,1 cm^{-1} serta 2839,0 cm^{-1}

(asimetri dan simetri) dan diperkuat oleh serapan $-\text{CH}_2-$ rentangan pada daerah 1421,4 cm^{-1} (Gambar 3).

Ada tiga kelompok senyawa alkaloid yang mempunyai inti piridin, yaitu alkaloid kuinolin, alkaloid isokuinolin dan alkaloid piridin. Menurut Cordell (1981) alkaloid yang mengandung inti isokuinolin mempunyai serapan inframerah yang khas pada daerah 1271 cm^{-1} , 1360 cm^{-1} , dan 1505 cm^{-1} . Serapan ini diperkuat oleh spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak yang menunjukkan adanya tiga buah panjang gelombang maksimum pada daerah 230 nm, 266 nm dan 351 nm dalam pelarut metanol. Alkaloid yang mengandung inti kuinolin mempunyai serapan inframerah yang khas pada daerah 1235 cm^{-1} , 1510 cm^{-1} dan 1030 cm^{-1} atau 1619 cm^{-1} . Serapan ini diperkuat oleh spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak yang menunjukkan adanya tiga buah panjang gelombang maksimum pada daerah 236 nm, 278 nm dan 332 nm dalam pelarut etanol. Spektra ultraviolet dan sinar tampak serta spektra inframerah senyawa alkaloid hasil penjaringan dengan metoda pembasaan ini berbeda dengan spektra senyawa alkaloid yang mengandung inti kuinolin dan isokuinolin tersebut di atas. Dengan demikian alkaloid yang diperoleh pada penelitian ini diyakini merupakan alkaloid kelompok piridin.



Gambar 3. Hasil spektroskopi inframerah fraksi positif

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan senyawa alkaloid dalam batang kayu kuning (*Arcangelisia flava Merr*) dapat diekstrak menggunakan ekstraksi soxhlet dengan pelarut kloroform dan metanol secara berturutan, melalui metode pembasaan. Berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan silika gel sebagai fasa diam dan campuran kloroform-metanol (1:4. v/v) sebagai fasa gerak terhadap ekstrak basa batang kayu kuning dalam kloroform, didapatkan minimum empat senyawa dengan harga retardation factor (Rf) 0,78; 0,64; 0,41; 0,18, dan hanya satu senyawa dengan harga Rf 0,78 yang memberikan reaksi positif terhadap pereaksi dragendorf. Hasil analisis senyawa dengan harga Rf 0,78 menggunakan spektroskopi ultraviolet dan sinar tampak diperoleh panjang gelombang maksimum pada daerah 242 nm, sedangkan berdasarkan data spektroskopi inframerah, senyawa alkaloid dalam batang kayu kuning tersebut mengandung gugus-gugus -N-H primer, amonium, -OH, metilen dan inti piridin sehingga senyawa alkaloid tersebut termasuk kelompok alkaloid piridin. Dari penelitian ini, untuk selanjutnya, perlu dilakukan pemurnian senyawa dan identifikasi titik lebur, indeks bias dan titik didih agar dapat dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan spektroskopi proton NMR dan spektroskopi massa, sehingga struktur kongkret alkaloid dapat diketahui.

DAFTAR PUSTAKA

- Carey, Francis A., 2006. *Organic Chemistry*, 6th ed., New York: McGraw Hill, 954.
- Cordell A., 1981. *Instruction to Alkaloids a Biogenetic Approach*, John Willey and Sons, New York.
- Krygowski T. M., H. Szatyowicz, and J. E. Zachara, 2005. *J. Org. Chem.*, **70** (22): 8859 - 8865;
- Kyle J. M. Bishop, Rafal Klajn, Bartosz A. Grzybowski, 2006. *Angewandte Chemie International Edition* **45**, Issue 32: 5348 – 5354.
- Morrison R. T., Robert N. Boyd, and Robert K. Boyd, 2000. *Organic Chemistry*, 9th edition, Benjamin Cummings.
- Nagle Hinter and Barbara Nagle, 2005. *Pharmacology: An Introduction*, McGraw Hill, Boston, 256.
- Perkampus H. H., 2001. *UV-VIS Atlas of Organic Compounds*, 6nd edition Wiley-VCH, London.
- Sangster A. W., 1960. Determination of Alkaloid Structures. *Journal of Chemical Education*. **37**: 454-458.
- Sherman A. R., 2004. *Pyridine in Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (Ed: L. Paquette). J. Wiley & Sons, New York.
- Smith M.B., J. March, 2001. *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure Wiley-Interscience*, 5th edition.
- Smith A., 2005. *Applied Infrared Spectroscopy*, PIKE Technology, Washington
- Solomon T.E.W., 1980. *Organic Chemistry, John Willey and Sons*, 2th Ed New York.
- Wagner H., 1984. *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography*, 1st Ed., Springer Verlag, Berlin.
- Wiyanto 1993. *Petunjuk Mengenai Tanaman di Indonesia dan Khasiatnya sebagai Obat Tradisional*, terj., Jilid 1, Yayasan Dana Sejahtera, Yogyakarta.
- Yuliati K., 1990. *Isolasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Akar Goniothalamus Scorticini King*, Skripsi yang tidak dipublikasikan: FMIPA Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta..