

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Hasil uji pendahuluan

Setelah dilakukan uji kandungan kimia, diperoleh hasil bahwa tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* positif mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, dan fenolik. Isolasi komponen aktif senyawa alkaloid dilakukan terhadap bagian buah tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl yang menunjukkan hasil positif dengan ditandai adanya endapan putih pada penambahan pereaksi mayer dan endapan merah kecoklatan terhadap pereaksi Dragendorff.

4.1.2. Ekstraksi dengan pelarut metanol

460 g serbuk halus buah tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl dimaserasi dengan metanol, menghasilkan ekstrak total kental metanol 42 g (9,130 %). Ekstrak total diasamkan dengan HCl 1N dan dipartisi dengan n-heksan, kemudian dibasakan dengan larutan amoniak 29% hingga pH 9-10 dan diekstrak dengan diklorometan. Fraksi diklorometan dicuci dengan air untuk menghilangkan basa dan untuk mengeringkan air ditambahkan natrium sulfat. Kemudian lapisan diklorometan tersebut diuapkan dan diperoleh ekstrak alkaloid total sebanyak 0,4 g (0,95 %).

4.1.3. Pengujian ekstrak total metanol

Hal ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa alkaloid dalam sampel tersebut, dari hasil uji KLT noda mulai bergerak/naik pada eluen etilasetat : methanol (8:2) dan dengan reagent Dragendorff noda berwarna merah.

4.1.4. Pengujian ekstrak total crude alkaloid dengan plat KLT

Ekstrak alkaloid total dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Hal ini dilakukan untuk mencari eluen yang sesuai pada uji kromatografi lapis tipis terhadap hasil pemisahan dengan kromatografi cepat (*flash chromatography*). Hasil uji KLT dapat dilihat pada Tabel 1.



Tabel 1. Hasil uji KLT ekstrak total crude alkaloid

No.	Eluen	Harga Rf	Keterangan
1	n-Heksan 100 %	0	Noda tidak naik
2	n-Heksan : Etilasetat (8:2)	0,31; 0,48	2 noda, bulat
3	n-Heksan : Etilasetat (6:4)	0,51; 0,63	2 noda, bulat
4	n-Heksan : Etilasetat (4:6)	0,67	2 noda, bulat dan memanjang
5	n-Heksan : Etilasetat (2:8)	0,34	Noda memanjang
6	Etilasetat 100%	0,33	Noda memanjang
7	Etilasetat : Metanol (9:1)	0,34	Noda memanjang
8	Etilasetat : Metanol (8:2)	0,25	Noda memanjang
9	Etilasetat : Metanol (7:3)	0,05;0,09;0,39	3 noda, memanjang
10	Etilasetat : Metanol (6:4)	0,31	Noda memanjang
11	Etilasetat : Metanol (5:5)	0,05;0,44	2 noda, memanjang
12	Etilasetat : Metanol (4:6)	0,06;0,26	2 noda, memanjang
13	Etilasetat : Metanol (3:7)	0,07;0,23	2 noda, memanjang
14	Etilasetat : Metanol (2:8)	0,09;0,34	2 noda, memanjang
15	Etilasetat : Metanol (1:9)	0,08;0,16;0,42	3 noda, memanjang
16	BAW(butanol:Asetat:air	0,52	1 noda, memanjang

4.1.5. Pemisahan senyawa dengan kromatografi cepat (*flash chromatografi*)

Ekstrak alkaloid total sebanyak 0,2 g dikolom menggunakan flash kromatografi yang dilusi dengan sistem kepolaran bertingkat yang dimulai dari eluen etil asetat 100 % sampai etilasetat : metanol (1:1). Hasil kolom kromatografi cepat diperiksa dengan KLT yang

4.1.6. Pengujian hasil kromatografi cepat dengan KLT

Hasil pemisahan kromatografi cepat ini memperoleh 46 vial, kemudian diambil beberapa vial untuk perwakilan uji. Hasil pemisahan ini diuji KLT dengan eluen etilasetat : metanol (7:3).

Tabel 2. Hasil uji KLT kromatografi cepat

No Vial	Harga Rf	Keterangan	Bentuk
3	-	Noda tidak naik	Minyak
7	0,26	Noda memanjang	Minyak kekuningan
11	0,51	Noda memanjang	Minyak kekuningan
15	0,51	Noda memanjang	Minyak kekuningan
19	0,51	Noda memanjang	Minyak kekuningan
23	0,65	Noda memanjang	Minyak kekuningan
27	-	Noda tidak naik	Minyak kekuningan
31	-	Noda tidak naik	Minyak
35	-	Noda tidak naik	Minyak
39	-	Noda tidak naik	Minyak
43	-	Noda tidak naik	Minyak

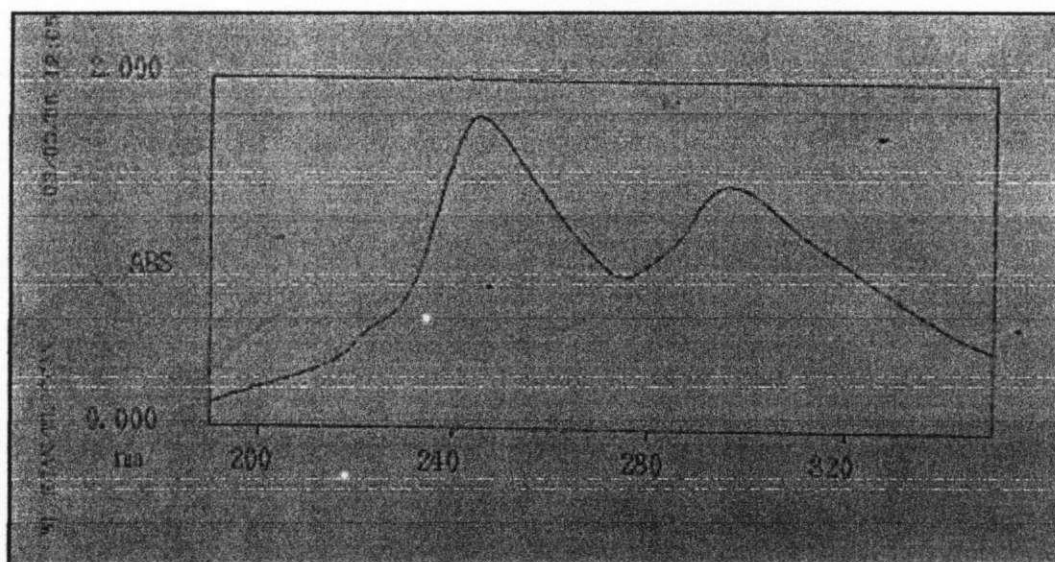
Berdasarkan hasil KLT di atas diperoleh beberapa vial memiliki harga Rf yang sama, sehingga dilakukan fraksi gabungan yaitu mulai dari vial no 11-19. Hasil KLT fraksi gabungan dapat dilihat pada Tabel dibawah ini.

Tabel 3. Hasil uji KLT fraksi gabungan

Fraksi	No Vial	Harga Rf	Keterangan	Bentuk
F.gab	11-19	0,51	1 noda memanjang	Minyak kuning kecoklatan

4.1.7. Hasil karakterisasi spektroskopi ultraviolet (UV)

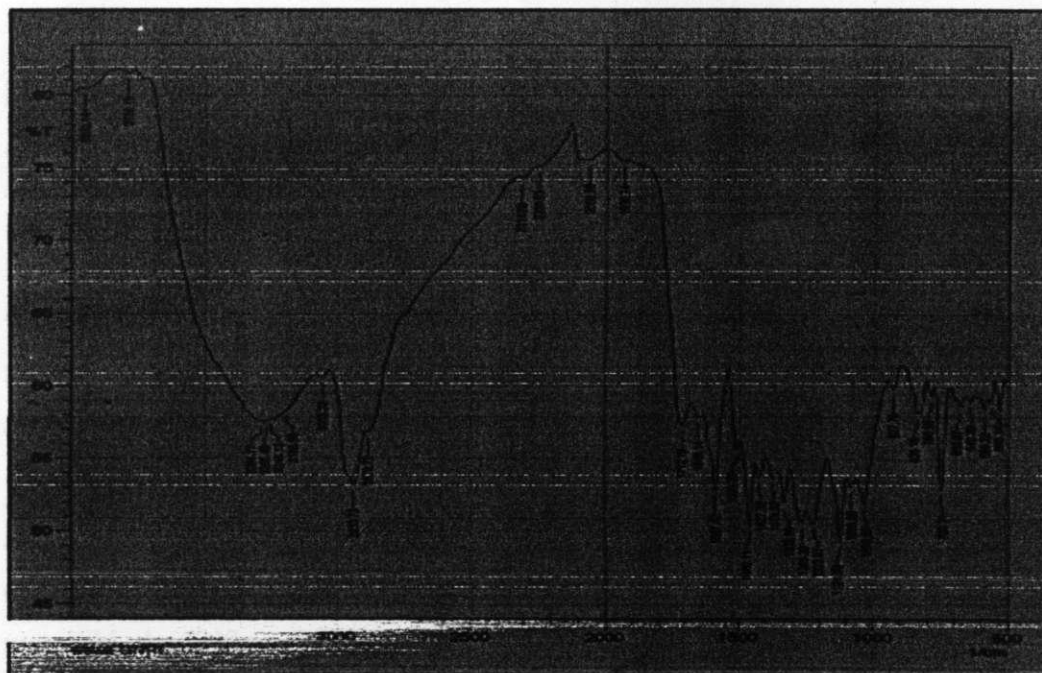
Spektroskopi UV ini digunakan untuk melihat ada tidaknya ikatan rangkap yang terkonjugasi yang dikandung oleh sampel, Spektroskopi UV senyawa TSW memperlihatkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang (λ) 245 nm ($A=1,784$) dan 296,2 nm ($A= 1,401$) seperti Gambar di bawah ini



Gambar 2 : Spektrum UV senyawa TSW

4.1.8. Hasil karakterisasi spektroskopi infra merah (IR)

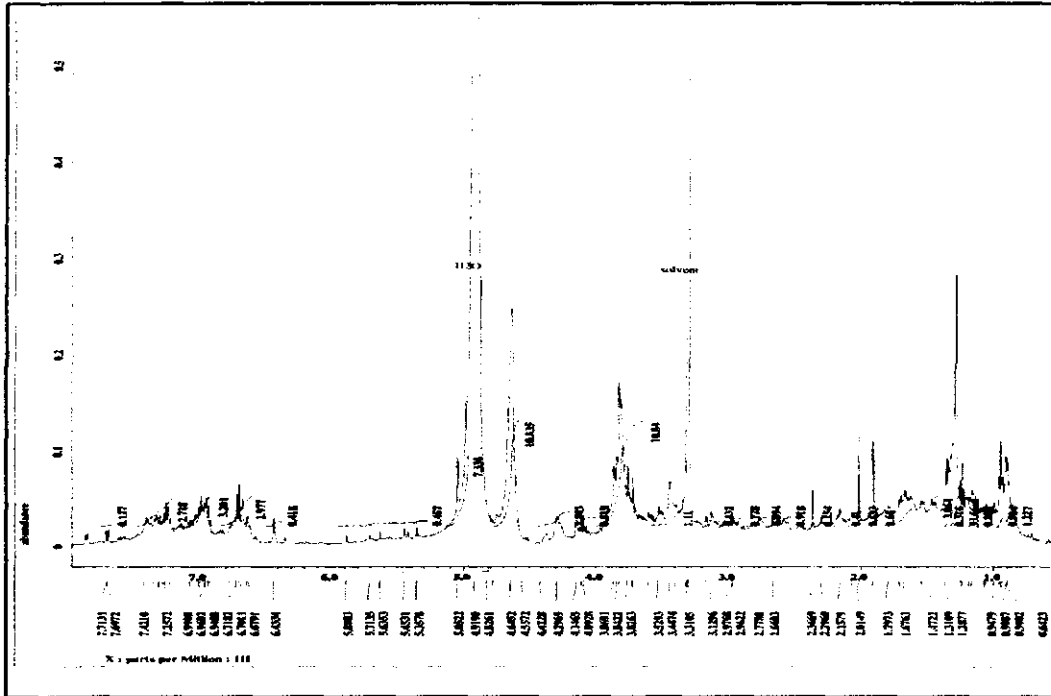
Spektroskopi IR ini digunakan untuk melihat vibrasi ikatan dan gugus fungsi yang dikandung oleh sampel, spektroskopi IR senyawa TSW memperlihatkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang (ν) $1460,11\text{ cm}^{-1}$ dan $1587,42\text{ cm}^{-1}$, $2879,72\text{ cm}^{-1}$, $2933,7\text{ cm}^{-1}$, $3053,32\text{ cm}^{-1}$ dan $3188,33$ sampai $3284,77$ seperti gambar di bawah ini.



Gambar 3. Spektrum IR senyawa TSW

4.1.9. Hasil karakterisasi spektroskopi NMR

Spektrum ^1H -NMR dalam pelarut CD_3OD menginformasikan adanya sinyal proton metilen dan aromatis, seperti gambar di bawah ini



Gambar 4. Spektrum ^1H -NMR senyawa TSW

4.2. Pembahasan

Hampir semua senyawa alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan fisiologis tertentu. Misalnya tumbuhan *Tabernaemontana australis* yang dapat digunakan sebagai anti tumor, anti malaria dan anti HIV (Adrade, dkk. 2005). Dan juga pada alkaloid indol yang diisolasi dari tumbuhan *Tabernaemontana laeta* Mart biasa digunakan sebagai anti tumor, anti mikrobial dan anti hipertensi. Diantara famili Apocynaceae, kandungan yang utama dari genus *Tabernaemontana* adalah alkaloid indol yang berguna untuk klasifikasi spesiesnya (Walter, dkk. 2001).

Berdasarkan dari literatur tersebut dapat diketahui bahwa spesies lain dari genus *Tabernaemontana* mempunyai senyawa alkaloid yang aktif, dengan demikian diharapkan pada penelitian ini, senyawa alkaloid yang diperoleh juga memiliki keaktifan fisiologis. Dan penelitian ini masih dilanjutkan oleh mahasiswa lain.

Berdasarkan hasil uji kandungan kimia bahwa pada bagian buah tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl positif mengandung senyawa alkaloid yang ditandai adanya endapan putih pada penambahan pereaksi Meyer dan endapan orange terhadap pereaksi Dragendorff. Untuk memperoleh senyawa alkaloid dari ekstrak kental metanol, ekstrak tersebut diasamkan dengan menggunakan asam klorida 1 N. Hal ini dilakukan karena kebanyakan alkaloid yang terdapat dalam tanaman sebagai garam organik dan garam-garam tersebut lazim larut dalam asam sampai ekstrak memberikan hasil negatif terhadap reagen penguji alkaloid yang berarti ekstrak tersebut telah terbebas dari alkaloid. Kemudian diekstraksi dalam corong pisah menggunakan pelarut n-heksan untuk menghilangkan pengotor dan senyawa-senyawa non polar yang terdapat pada ekstrak metanol, ekstraksi menghasilkan fraksi metanol (lapisan asam) yang berwarna coklat kemerahan. Selanjutnya lapisan asam dibasakan dengan menggunakan larutan amoniak 29 % agar senyawa alkaloid berubah ke dalam bentuk garamnya, kemudian diekstraksi menggunakan diklorometan dan dicuci dengan air untuk menghilangkan lapisan basa, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh crude total alkaloid yang berwarna coklat kehitaman sebanyak 0,417 g dari total ekstrak metanol 42 g.

Berdasarkan hasil KLT diperoleh fraksi gabungan yang diberi nama senyawa TSW, yaitu mulai vial 11-19 yang berbentuk minyak berwarna kuning kemerahan, sehingga tidak dilakukan pengukuran titik lelehnya. Hasil uji KLT senyawa alkaloid dengan menggunakan eluen etilasetat : metanol (7:3) noda terlihat naik namun masih memanjang, sedangkan dengan menggunakan eluen BAW noda naik lebih tinggi dan lebih bulat, gambar KLT dapat dilihat pada lampiran VII. Fraksi gabungan yang diperoleh dikarakterisasi dengan menggunakan spektrum UV, IR dan NMR. Hasil uji KLT dapat dilihat pada Tabel 3. fraksi gabungan yang diperoleh ini tidak dapat dilakukan pemisahan lebih lanjut untuk memperoleh senyawa murni, karena jumlah sampel yang dihasilkan dari fraksi gabungan ini sangat sedikit, yaitu sekitar 19 mg.

Hasil analisa spektrum ultraviolet dari senyawa TSW dalam pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{maks}) 245 nm ($A=$

1,784) dan pada 296, 2 nm ($A=1,401$), serapan maksimum ini menunjukkan adanya ikatan rangkap yang terkonjugasi.

Analisis spektrum inframerah dari senyawa TSW yang larut dalam pelarut metanol memperlihatkan adanya pita serapan yakni pada bilangan gelombang $1460,11\text{ cm}^{-1}$ dan $1587,42\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya vibrasi ulur ikatan rangkap C=C aromatis pada bilangan gelombang $2879,72\text{ cm}^{-1}$ dan $2933,7\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatik, pada bilangan gelombang $3053,32\text{ cm}^{-1}$ adanya vibrasi C-H aromatis dan pada bilangan gelombang 3188,33 sampai $3284,77\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur adanya ikatan N-H.

Hasil analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$ dalam CD_3OD dengan frekuensi 500 MHz (gambar 4) memperlihatkan adanya puncak pada pergeseran kimia (δ_{H}) pada 1,0 ppm sampai 4,0 ppm menunjukkan adanya proton yang berasal dari metilen, pada pergeseran kimia (δ_{H}) 6,4 ppm sampai 7,7 ppm menunjukkan adanya proton yang terikat pada cincin C=C aromatis. Namun dari spektrum $^1\text{H-NMR}$ tersebut belum dapat dipastikan berapa jumlah proton seluruhnya, hal ini dikarenakan senyawa yang diperoleh belum murni sehingga spektrum yang dihasilkan tidak begitu jelas.

Berdasarkan data di atas dapat diduga bahwa senyawa TSW yang diperoleh termasuk dalam golongan alkaloid yang mengandung gugus NH dan ikatan rangkap C=C aromatis.

