

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI STEROID DARI TUMBUHAN PILADANG HITAM (*COLEUS SCUTELLAROIDES (L). BENTH*)

Susilawati, Islamias, Zulfiasni

*Laboratorium Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP
Universitas Riau Pekanbaru 28293*

Abstrak

Telah diisolasi konstituen utama dari piladang hitam (*Coleus Scutellarioides (L) Benth*). Sampel yang telah dikering anginkan dipotong kecil diekstrak dengan metanol kemudian difraksinasi dengan pelarut dengan kepolaran berbeda, heksan dan etil asetat. Pemisahan dilakukan dengan kromatografi kolom pada silika gel-60 dengan metode SGP. Kristal tak berwarna (titik leleh = 157-159,5⁰C) telah diisolasi dari fraksi etil asetat dan berdasarkan reagen Liberman Burchard, spektrum ultraviolet diidentifikasi sebagai steroid yang mempunyai ikatan rangkap tidak terkonjugasi.

Kata Kunci : Piladang hitam, *Coleus Scutellarioides (L) Benth*, steroid

Pendahuluan

Indonesia kaya akan sumber daya alam hayati yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan seperti bahan baku industri, pangan, dan obat. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional telah banyak dilakukan, seperti tumbuhan piladang hitam. Didaerah Sumatera Barat tumbuhan ini digunakan untuk membersihkan darah kotor setelah melahirkan. Menurut Manjang (2001) tumbuhan piladang hitam juga berkhasiat melancarkan haid dan mengobati penyakit kulit seperti gatal-gatal dan memar. Steeniss (1975) mengatakan bahwa tumbuhan ini berkhasiat untuk abortus dan sakit mata.

Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan Manjang (2001), tumbuhan piladang hitam mengandung senyawa metabolit sekunder seperti steroid, flavonoid dan triterpenoid. Senyawa golongan steroid memiliki sifat fisiologis dan bioaktivitas yang penting, misalnya berperan dalam pembentukan struktur membran, pembentukan hormon kelamin dan hormon pertumbuhan serta pembentukan vitamin D, sebagai penolak dan penarik serangga dan sebagai antimikroba (Robinson, 1995)

Senyawa golongan steroid bermanfaat dalam pembentukan hormon estrogen pada wanita yang berpengaruh pada sirkulasi darah dalam uterus sehingga berkhasiat untuk membersihkan darah kotor setelah melahirkan dan melancarkan haid. Jadi diperkirakan bahwa yang berkhasiat dari tumbuhan piladang hitam adalah senyawa steroid. Keberadaan steroid dicirikan dengan timbulnya warna hijau-biru dengan menggunakan pereaksi Lieberman – Burchard (Manjang, 2001)

Penelitian terhadap tumbuhan *Coleus Forskohlii* (W) Benth, menurut Pushpa (2002) tumbuhan ini mengandung senyawa diterpenoid forskolin. Di India senyawa ini telah terdapat dalam bentuk sediaan obat-obatan yang digunakan untuk meningkatkan hormon tiroid, pengobatan diabetes dan suplemen diet. Penelitian efek farmakologi ekstrak tumbuhan piladang hitam telah dilakukan oleh Yulwiriati (1989) dimana diperoleh adanya kontraksi uterus pada tikus. Tetapi penelitian tentang isolasi kandungan kimia dari tumbuhan ini belum ada dilakukan.

Berdasarkan uraian diatas maka penulis tertarik untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa steroid dari tumbuhan piladang hitam Adapun Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengisolasi senyawa steroid dari tumbuhan piladang hitam dan untuk melakukan identifikasi senyawa steroid hasil isolasi. Kontribusi penelitian adalah untuk memberi informasi tentang kandungan senyawa steroid tumbuhan piladang hitam dan diharapkan dapat memberikan sumbangan positif dalam pengembangan ilmu pengetahuan khususnya kimia organik bahan alam.

Tumbuhan piladang hitam (*Coleus Scutellaroides* (L). Benth) termasuk family Laminaceae, Genus *Coleus* (Becker, et al., 1965). *Coleus* adalah nama umum untuk kelompok tumbuhan yang berwarna, hidup di daerah Asia, Afrika dan Australia. Beberapa species digunakan untuk tumbuhan hias (Hary, 2002)

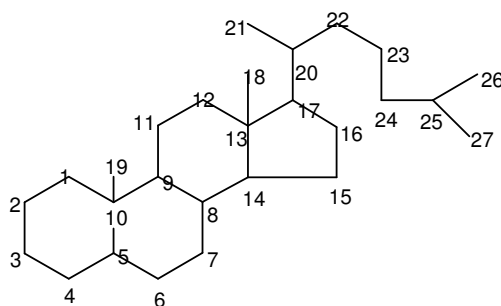
Tumbuhan piladang hitam (*Coleus Scutellaroides* (L). Benth) merupakan tumbuhan berupa herba tegak atau herba baring dan ditempat itu berakar banyak, harum dan tingginya 0,5 – 1,5 m, daun berbentuk lanceolatus, warna hijau sampai lembayung dengan tepi daun yang berbentuk crenatus, panjang tangkai daun 2-9 cm, bunga dalam anak payung yang berhadapan dan berkumpul menjadi anak

tandan yang lepas pada ujung mahkota berbibir dua dengan bibir bawah menggantung, buah keras berbentuk bulat serta licin (Steenish, 1975)



Gambar 1. Tumbuhan Piladang hitam (*Coleus Scutellaroides (L) Benth*)

Stereokimia steroid telah diselidiki oleh para ahli dengan menggunakan analisis sinar X dari struktur kristalnya atau cara-cara kimia. Percobaan-percobaan menunjukkan bahwa kerangka dasar steroid dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kerangka dasar steroid

Inti steroid dasar sama dengan inti lanosterol dan triterpenoid tetrasiklik lain, tetapi hanya pada 2 gugus metil yang terikat pada sistem cincin, pada posisi 10 dan 13. Rantai samping 8 karbon yang terdapat dalam lanosterol terdapat dalam steroid yang berasal dari hewan, tetapi kebanyakan steroid tumbuhan mempunyai 1 atau 2 atom karbon tambahan.

Steroid dapat dikelompokkan menjadi sterol, sterolin, saponin (sapogenin), glikosida jantung dan asam empedu. Sterol alam selalu mempunyai gugus hidroksi pada posisi C₃ pada cincin A dan rantai samping C₁₇ serta kadang-kadang berikatan rangkap pada posisi 5-6, contoh : stigmasterol, β -sitosterol, dan lain-lain (Robinson, 1995)

Steroid mempunyai kerangka dasar siklopentano perhidro fenantren. Ditinjau dari segi struktur molekul perbedaan antara kelompok steroid ditentukan oleh jenis substituen R pada C₁₇, C₁₃ dan C₁₀ yang terikat pada kerangka dasar karbon (gambar 2). Perbedaan antara senyawa satu dengan yang lain dari suatu kelompok tertentu ditentukan oleh panjang rantai karbon R pada C₁₇, gugus fungsi yang terdapat pada substituen R pada ketiga C serta jumlah posisi gugus fungsi oksigen dan ikatan rangkap. (Manitto, 1981)

Senyawa ini sering terdapat tidak bebas tetapi sebagai turunan senyawa yang lebih rumit, seperti glikosida atau ester dengan asam lemak atau asam aromatik. Steroid hewan yang khas, kolesterol terdapat pada lipid permukaan dan organel tumbuhan. (Robinson, 1995)

Bahan dan Metode

Tumbuhan piladang hitam diambil di desa Taratak Buluh Kabupaten Kampar, metanol, etil asetat, n-heksan, asam sulfat pekat, asetat anhidrida, khloroform, dragendorff, logam Mg, HCl pekat, FeCl₃, asam trichloro asetat, plat KLT silika gel GF₂₅₄, silika gel 60.

Alat-alat yang digunakan: Alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, neraca analitik, seperangkat alat destilasi, bejana maserasi, rotary evaporator, corong pisah, kolom khromatografi, bejana KLT, termometer, lampu UV (254 nm), alat pengukur titik leleh Fisher John dan spektrofotometer UV Shimadzu.

Prosedur Kerja

1. Persiapan sampel

Sampel tumbuhan piladang hitam dibersihkan dan dikeringkan selama beberapa hari dalam ruangan terbuka dan terlindung dari sinar matahari. Setelah kering tumbuhan tersebut dipotong kecil-kecil.

2. Uji fitokimia

Uji steroid dalam tumbuhan piladang hitam: 10 gram sampel tumbuhan dimaserasi dengan metanol kemudian disaring, filtratnya diuji dengan pereaksi Lieberman Burchard diatas plat tetes. Kedalam plat tetes dimasukkan ekstrak metanol kemudian 5 tetes asam asetat anhidrida lalu diaduk, setelah kering ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat, jika terbentuk warna hijau-biru berarti sampel positif mengandung steroid.

3. Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak ±850 gram sampel tumbuhan piladang yang telah dikering anginkan dimaserasi dengan metanol kemudian disimpan ditempat yang terlindung cahaya matahari selama 3 hari sambil sekali-sekali dikocok. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan sari metanol dari ampasnya. Perlakuan ini diulangi sampai 3 kali dan filtratnya digabung menjadi satu. Sari metanol yang terkumpul dirotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak metanol kering

Ekstrak kering metanol dilarutkan dengan metanol dan ditambahkan aquades 2 :1 (400 : 200 mL) sambil dikocok. Selanjutnya difraksinasi dengan corong pisah berturut-turut dengan heksan (3 x 800 mL) dan etil asetat (3 x 800 mL) untuk memisahkan fraksi-fraksi yang non polar dan semi polar. Terhadap fraksi heksan dan fraksi etil asetat kemudian dilakukan rotary evaporator sampai diperoleh fraksi kering.

4. Uji Steroid terhadap masing-masing Fraksi

Ekstrak dari masing-masing fraksi diuji dengan pereaksi Lieberman Burchard, jika terbentuk warna hijau–biru berarti fraksi tersebut positif mengandung steroid.

5. Pemisahan

Fraksi yang positif mengandung steroid dipreabsorbsi dan dilanjutkan ke kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel selanjutnya dielusi dengan pelarut yang kemudian dinaikkan kepolarannya secara bertahap (sistem SGP) dengan volume tertentu. Fraksi yang turun (± 20 ml) ditampung dengan vial-vial kosong dan diberi nomor urut lalu dibiarkan kering.

Terhadap setiap fraksi dilakukan uji KLT, fraksi yang memberikan noda yang sama digabung.

6. Pemurnian

Jika telah diperoleh kristal maka langsung dimurnikan dengan cara rekristalisasi dengan pelarut yang cocok,. Hasil rekristalisasi dimonitor dengan KLT menggunakan beberapa eluen serta uji titik leleh. untuk memastikan kemurnian senyawa.

7. Identifikasi Steroid

Untuk identifikasi dilakukan reaksi warna dengan Lieberman Burchard, KLT dan uji spektroskopi dengan spektrofotometer UV.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan metabolit sekunder dari tumbuhan piladang hitam memperlihatkan adanya senyawa yang positif dengan pereaksi Lieberman-burchard yaitu steroid dan senyawa yang positif dengan Mg/HCl yaitu flavonoid.

Pengekstraksian dilakukan dengan cara maserasi karena merupakan metoda ekstraksi yang sederhana dan baik untuk mengisolasi senyawa-senyawa yang belum diketahui sifat-sifatnya, agar senyawa-senyawa tersebut terhindar dari proses oksidasi karena tidak menggunakan pemanasan.

Untuk memisahkan komponen-komponen lain yang tingkat kepolarannya berbeda, dilakukan fraksinasi dengan corong pisah mulai dari pelarut yang non polar sampai polar, yaitu dari n-heksan, etil asetat sampai metanol. Hasil maserasi dari 850 g sampel tumbuhan piladang hitam diperoleh ekstrak metanol berwarna hijau kehitaman seberat 128 g. Hasil fraksinasi diperoleh fraksi heksan berwarna hijau kehitaman 2,85 g dan fraksi etil asetat berwarna hijau kecoklatan 3,10 g. Kedua fraksi diatas mengandung senyawa steroid berdasarkan uji LB. Fraksi heksan tidak dilanjutkan ke kromatografi kolom karena banyak mengandung klorofil yang sulit dimurnikan.

Pemurnian senyawa organik dilakukan dengan teknik rekristalisasi karena senyawa organik yang diperoleh membentuk zat padat (kristal/amorf) jika pelarutnya telah menguap. Senyawa hasil isolasi memberikan noda tunggal dan

bulat dengan KLT dengan beberapa eluen, titik leleh 157- 159,5°C, berarti senyawa yang diperoleh relatif murni.

Hasil isolasi dari fraksi etil asetat diperoleh senyawa murni sebanyak 17 mg berupa kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 157-159,5°C. Kristal hasil isolasi ini dengan KLT silika gel memberikan noda tunggal dengan Rf 0,55 pada heksan : kloroform (2:8). Uji kristal dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan warna hijau kebiruan dan dengan pereaksi Roseinheim memberikan warna biru yang merupakan uji positif terhadap steroid.

Spektrum UV memberikan informasi tentang adanya ikatan rangkap yang berkonjugasi dan membedakan senyawa aromatik dengan senyawa alifatik rantai jenuh. Spektrum UV senyawa hasil isolasi memberikan puncak serapan pada panjang gelombang 205,5 nm, berarti bahwa senyawa steroid hasil isolasi mempunyai ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi.. Menurut kaidah Woodward untuk meramalkan serapan maksimum untuk sistem diena mempunyai harga dasar 217 nm untuk ikatan rangkap berkonjugasi.

Pada penelitian ini belum dapat ditentukan struktur senyawa steroid dengan lengkap. Untuk menentukan struktur lengkap dari senyawa steroid hasil isolasi ini dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan analisis spektroskopi lain yaitu spektrofotometer Infra merah, Resonansi magnet inti ^1H dan ^{13}C serta spektroskopi massa.

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil dan pembahasan disimpulkan bahwa :

1. Dari hasil pemeriksaan metabolit sekunder tumbuhan piladang hitam ditemukan adanya senyawa steroid dan flavonoid
2. Hasil maserasi dari 850 g sampel tumbuhan piladang hitam diperoleh ekstrak metanol berwarna hijau kehitaman seberat 128 g. Hasil fraksinasi diperoleh fraksi heksan berwarna hijau kehitaman 2,85 g dan fraksi etil asetat berwarna hijau kecoklatan 3,10 g

3. Dari fraksi etil asetat piladang hitam diperoleh kristal jarum berwarna putih sebanyak 17 mg dengan Tl 157-159,5°C yang memberikan harga Rf 0,55 pada KLT dengan n-heksana:kloroform (8:2)
4. Serapan maksimum spektrum UV pada λ 205,5 nm memberikan informasi bahwa senyawa steroid hasil isolasi mempunyai ikatan rangkap tidak berkonjugasi

Saran

Untuk mendapatkan struktur senyawa steroid lengkap disarankan untuk menggunakan analisis spektroskopi lain yaitu spektrofotometer infra merah, spektroskopi massa dan resonansi magnet inti ^1H dan ^{13}C RMI

Daftar Pustaka

- Backer, C. A. and Bachuizen Van Den Brink, R. C., 1965, Flora of Java, vol 1, N. V. P. Noordhoff, Netherlands.
- Hary, P., 2002, Plant Evaluation Obsevation Coleus, Orlando, Florida
- Manitto, P., 1980, Biosynthesis of Natural Products, John Wiley & Sons, New York, 228-229, 316-323
- Manjang, 2001, Survey dan profil fitokimia tumbuhan Sumbar, kajian terpenoid dan steroid, makalah Workshop peningkatan SDM untuk pemanfaatan SDA hayati dan rekayasa bioteknologi, FMIPA Unand-Dikti Depdiknas, Padang, 8-9
- Pushpa, 2002, Histochemical Localization of Forskolin and Other Terpenoid in Coleus Forskohlii, Journal of Scientific Correspondence, Vol 83, No. 8, 25 October 2002.
- Robinson, T., 1995, Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, ITB, Bandung
- Steeniss, C. G. G., 1975, Flora Untuk Sekolah Indonesia, Paradia Paramita, Jakarta.
- Yulwiriati, 1989, Uji Efek Ekstrak Herba Coleus Scutellarioides (L). Benth terhadap Kontraksi Uterus Tikus Putih pada Tahap Estrus secara Invitro, Skripsi, UNAND, Padang.