

## Isolasi dan Identifikasi Steroid dari Ekstrak *N*-Heksana Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

### [Isolation and Identification of Steroid from *N*-Hexane Extract of *Vernonia amygdalina* Del.]

Evi Mashunah<sup>1</sup>, Erwin<sup>1\*</sup>, Saibun Sitorus<sup>1</sup>

<sup>1)</sup> Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman, Samarinda 75123

<sup>\*</sup>Corresponding author: winulica@yahoo.co.id

**ABSTRACT.** Isolation and identification of steroids from the *n*-hexane fraction of *Vernonia amygdalina* Del. was carried out. Separation and purification were performed using flash chromatographic and gravity chromatography. Based on the results of phytochemical tests supported by UV and FT-IR data analysis, the isolate obtained was a steroid (sterol type). Toxicity test results using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) were known that the steroid has moderate toxicity with an LC<sub>50</sub> value of 48.39 ppm.

**Keywords :** *Vernonia amygdalina* Del., toxicity, BSLT, sterol, steroid

**ABSTRAK.** Isolasi dan identifikasi steroid dari fraksi *n*-heksana daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) telah dilakukan. Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan cara kromatografi tekan dan kromatografi grafitasi. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang didukung oleh data UV dan FT-IR dapat diketahui bahwa isolat yang diperoleh adalah golongan steroid jenis sterol. Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diketahui bahwa toksistas isolat adalah moderat dengan nilai LC<sub>50</sub> adalah 48,39 ppm.

**Kata kunci:** *Vernonia amygdalina* Del., toksisitas, BSLT, sterol, steroid

**Riwayat artikel:** Diterima 8 Maret 2020, Disetujui 9 April 2020

**Cara sitasi:** Mashunah, E., Erwin., Sitorus, S. (2020). Isolasi dan Identifikasi Steroid dari Ekstrak *N*-Heksana Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(1): 18-22.

**DOI:** <https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i1.15032>

## LATAR BELAKANG

Indonesia yang dikenal sebagai salah satu *megadiversity country*, memiliki berbagai jenis tumbuhan tropis. Berbagai jenis tumbuhan telah digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan tradisional. Salah satu tumbuhan obat ditemukan di Kalimantan Timur adalah adalah daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.).

*V. amygdalina* adalah tumbuhan semak yang selama ini dikenal dengan nama *bitter leaf* (daun pahit) karena daunnya terasa pahit. Tumbuhan ini banyak digunakan sebagai sayuran hijau atau ramuan untuk mengobati malaria dan diabetes (Yeap *et al.*, 2010). Dalam pengobatan tradisional tanaman ini juga digunakan sebagai obat anti-cacing, anti malaria, pencahar, cairan pencernaan,

makanan pembuka, obat penurun panas dan untuk pengobatan luka (Ijeh & Ejike, 2011).

Beberapa penelitian sebelum tentang daun Afrika memperlihatkan aktivitas yang menarik seperti sebagai antibakteri (Sobrinho *et al.*, 2015), menurunkan kolesterol total dalam darah Tikus (Ardiani, 2017), hepatoprotektif (Johnson *et al.*, 2015), antidiabetik (Asante *et al.*, 2016) dan tidak menimbulkan efek toksik terhadap ginjal (Suryati *et al.*, 2016). Penelitian lain memperlihatkan bioaktivitas yang lebih banyak yang dimiliki oleh ekstrak tanaman ini seperti antidiabetes, antibakteri, antimalaria, antijamur, antioksidan, perlindungan hati dan efek sitotoksik yang bermanfaat bagi kesehatan (Sarofah *et al.*, 2016; Yeap *et al.*, 2010) dan dapat mengobati luka (Ernawaty *et al.*, 2014). Daun Afrika juga memiliki khasiat seperti menurunkan asam urat (Krisnawati, 2015). Hasil penelitian (Sitorus *et al.*, 2016) diperoleh bahwa fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi etanol daun Afrika bersifat toksik.

Penelitian ini dilakukan untuk mengungkap kandungan senyawa metabolit sekunder daun Afrika (*V. amygdalina* Del.) yang selama ini banyak digunakan sebagai obat.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah tumbuhan Daun Afrika (*V. amygdalina* Del.), etanol 95%, n-heksana, etil asetat, pereaksi *dragendorf*, larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, asam asetat glasial, asam klorida pekat, serbuk magnesium, asam sulfat pekat, larutan FeCl<sub>3</sub> 1%, akuades, silika gel 60 (70-230 mesh), silika gel F<sub>254</sub>, kertas saring dan aluminium foil.

Peralatan yang digunakan, yaitu seperangkat alat gelas, neraca analitik, blender, pisau, serangkaian alat *rotary evaporator*, lampu UV, seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kolom, desikator, *chamber*, tabung reaksi, batang pengaduk, spatula, botol semprot, pipa kapiler, spektrofotometer UV-Vis *Variant Cary 100/300* dan spektrofotometer FTIR *Shimadzu IR Prestige-21 FTIR*.

### Prosedur Kerja

#### **Ekstraksi dan pemurnian**

Ekstraksi dan isolasi dalam penelitian ini dilakukan dengan cara yang lazim, yakni ekstraksi dengan cara maserasi dan dilanjutkan dengan isolasi dan pemurnian dengan menggunakan kromatografi kolom (Erwin *et al.*, 2014, 2015).

Sejumlah 500 gr Daun Afrika kering yang sudah dihaluskan, dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Setelah disaring, filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan *rotaevaporator* sampai diperoleh maserat kental. Maserat dipartisi dengan n-heksana, kemudian filtrat n-heksan dipisahkan menggunakan *rotavapour* dan diperoleh ekstrak n-heksan 2,10 gram.

Sejumlah 2,10 gram fraksi n-heksana dipisahkan menggunakan kromatografi kolom *flash* dengan fase diam silika gel 60 (70-230 mesh) dengan cara gradien menggunakan eluen n-heksan: etil asetat (mulai 100 n-heksan sampai 100% etil asetat), dengan cara *bergradient*. Hasil yang diperoleh sebanyak 33 vial. Berdasarkan hasil analisis KLT menggunakan eluen etil asetat : n-heksan (2 : 8) yang selanjutnya dimonitoring dengan lampu UV pada  $\lambda$  254 nm dan 366 nm, diperoleh 8 fraksi utama yaitu H1 (137 mg) , H2 (152,3 mg) , H3 (99,5 mg), H4 (131,5 mg), H5 (82,3

mg), H6 (56,4 mg), H7 (68,9 mg), dan H8 (119,3 mg).

Pada fraksi H2 (152,3 mg) dilakukan kromatografi flash lebih lanjut menggunakan eluen n-heksan:etil (mulai perbandingan 18,5:1,5 - 2:8). Kemudian dimonitoring lagi dengan KLT menggunakan eluen etil asetat: n-heksan (1:19) diperoleh 4 fraksi utama (H21=11,0 mg, H22=14,1 mg, H23=102,0 mg, dan H24=17,1 mg).

Selanjutnya fraksi H22 dan H23 dipisahkan secara terpisah menggunakan Kromatografi gravitasi. Fraksi H22 menghasilkan 4 fraksi (H221= 1,2 mg, H222= 7,3 mg, H223=2,4 mg), sedangkan fraksi H23 menghasilkan 5 fraksi utama (H231=39,5 mg, H232=11,3 mg, H233=17,1 mg, H234=9,2 mg, dan H235=15,2 mg). H222, dan H231 digabung kemudian dilakukan rekristalisasi menggunakan pelarut n-heksan dan diperoleh kristal amorf berwarna putih (2,02 mg).

Isolat selanjutnya di uji kemurnian dengan KLT menggunakan tiga eluen yang berbeda. Selanjutnya isolat diuji fitokimia dan dilanjutkan dengan analisis spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri FT-IR. Uji toksisitas isolat dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan analisis probit SAS.

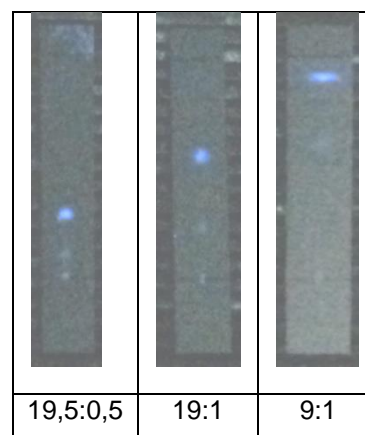
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat yang diperoleh berupa kristal amorf berwarna putih seberat 2,02 mg. Berdasarkan hasil uji kemurnian menggunakan KLT dengan tiga perbandingan eluen yang berbeda (etil asetat: n-heksan (0,5:19,5); etil aseta: n-heksan (1:19); dan kloroform: n-heksan (1:9) diperoleh noda tunggal, dengan demikian hasil ini dapat dipastikan bahwa isolat mempunyai kemurnian yang cukup tinggi.

**Tabel 1.** Nilai Rf Kromatogram KLT isolat dengan tiga eluen yang berbeda

Eluen	Nilai Rf
etil asetat: n-heksan = 0,5: 19,5	0,285
etil asetat: n-heksan = 1: 19	0,571
kloroform: n-heksan= 1:9	0,857

Pada hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa isolat adalah golongan senyawa steroid. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya warna hijau setelah direaksikan dengan pereaksi *Lieberman-Buchard*.



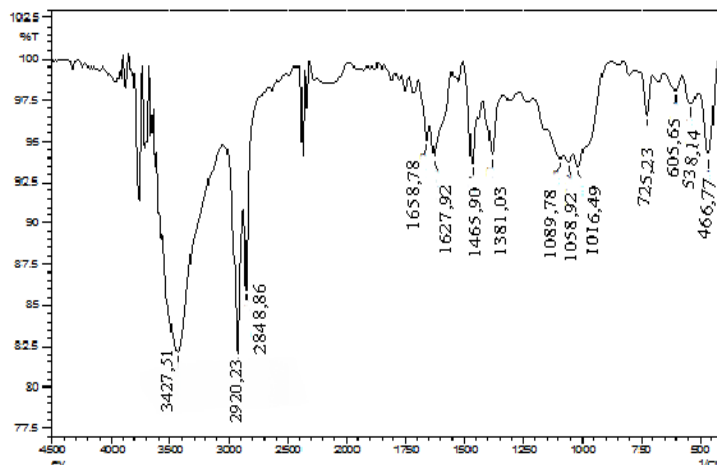
**Gambar 1.** Kromatogram dari KLT Isolat dengan 3 perbandingan eluen

## Hasil Identifikasi Senyawa Isolat

Hasil spektrum UV dalam pelarut n-heksana menunjukkan dua serapan maksimum pada panjang gelombang ( $\lambda_{maks}$ ) 202,04 nm dan 202,04 nm dan 205,60 nm mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai ikatan rangkap tidak terkonjugasi. Eksitasi elektron dari  $\pi \rightarrow \pi^*$  merupakan suatu transisi yang terjadi pada ikatan rangkap dan menurut (Silverstein, 1986; Supratman, 2010) untuk ikatan rangkap terkonjugasi pada sistem diena berada pada serapan dengan harga dasar 215 – 230 nm.

Hasil spektrofotometer FTIR (Gambar 2), senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya serapan dari OH (alkohol) pada daerah  $3427,51\text{ cm}^{-1}$ , dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada daerah  $1058,92\text{ cm}^{-1}$  dari C-O alkohol. Kemudian serapan C=C non konjugasi pada daerah  $1658,78\text{ cm}^{-1}$ . Serapan *stretching* CH alkana pada daerah  $2920,23$

$\text{cm}^{-1}$ , didukung serapan dari  $\text{CH}_2$  *bending* pada daerah  $1465,90\text{ cm}^{-1}$  dan serapan dari  $\text{CH}_3$  *bending* pada daerah  $1381,03\text{ cm}^{-1}$  (Sastrohamidjojo, 1992). Berdasarkan hasil identifikasi spektrum UV dan FT-IR maka isolat yang diperoleh diperkirakan steroid jenis sterol.



**Gambar 2.** Hasil spektrum FTIR dari isolat fraksi n-heksan Daun Afrika (*V. amygdalina* Del.)

### Hasil Uji Toksisitas Isolat dengan Metode BSLT

Hasil uji toksisitas pada isolat dari fraksi n-heksana daun Afrika dengan metode BSLT ini diperoleh nilai  $\text{LC}_{50}$  sebesar 48,39 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh memiliki toksisitas moderat.

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat yang diperoleh adalah golongan steroid jenis sterol dengan toksisitas yang moderat.

### DAFTAR PUSTAKA

Ardiani, R. (2017). Efek Antikolesterol Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) pada Tikus. *JURNAL PENELITIAN PENDIDIKAN MIPA*, 2(1): 116–121.

Asante, D.-B., Effah-Yeboah, E., Barnes, P., Abban, H. A., Ameyaw, E. O., Boampong, J. N., Ofori, E. G., & Dadzie, J. B. (2016). Antidiabetic Effect of Young and Old Ethanolic Leaf Extracts of *Vernonia amygdalina*: A Comparative Study. *Journal of Diabetes Research*, 2016: 1–13. <https://doi.org/10.1155/2016/8252741>

Erwin, Noor, A., Soekamto, N. H., van Altena, I., & Syah, Y. M. (2014). Waltherione C and Cleomiscosin from *Melochia umbellata* var. *Degrabrata* K. (*Malvaceae*), Biosynthetic and Chemotaxonomic Significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 55: 358–361. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.03.020>

Erwin, Sulistyarningsih, S., & Kusuma, I. (2015). Isolation and MS Study of Friedelinol from The Leaves of Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 6(1): 598–604.

- Ijeh, I. I., & Ejike, C. E. C. C. (2011). Current Perspectives on The Medicinal Potentials of *Vernonia amygdalina* Del. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(7): 1051–1061.
- Johnson, M., Olufunmilayo, L. A., Anthony, D. O., & Olusoji, E. O. (2015). Hepatoprotective Effect of Ethanolic Leaf Extract of *Vernonia amygdalina* and *Azadirachta indica* against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Sprague-Dawley Male Albino Rats. *American Journal of Pharmacological Sciences*, 3(3): 79–86. <https://doi.org/10.12691/ajps-3-3-5>
- Krisnawati, D. (2015). Uji Aktivitas Fraksi Etanol dan N-heksana Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) Sebagai Antihiperurisemia pada Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat. [Skripsi]. Universitas Mulawarman, Samarinda.
- Sarofah, U., Sudrajat, & Hariani, N. (2016). Pengaruh Ekstrak Daun *Vernonia amygdalina* Delile dan Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa glutinosa*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Mencit (*Mus musculus*) Yang diinduksi Aloksan. *Prosiding Seminar Sains Dan Teknologi FMIPA Unmul*, 419–423.
- Sastrohamidjojo, H. (1992). *Spektroskopi Inframerah*. Liberty Yogyakarta, Yogyakarta.
- Silverstein, R. (1986). *Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik*. Erlangga, Jakarta.
- Sitorus, S., Saleh, C., & Panggabean, A. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) sebagai Antihiperurisemia (Asam Urat) pada Mencit Putih Jantan. [Laporan Penelitian Hibah Fundamental], Samarinda.
- Sobrinho, A. C. N., Souza, E. B. de, & Fontenelle, R. O. dos S. (2015). A Review on Antimicrobial Potential of Species of The Genus *Vernonia* (Asteraceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(31): 838–850. <https://doi.org/10.5897/JMPR2015.5868>
- Supratman, U. (2010). *Elusidasi Struktur Senyawa Organik Metode Spektroskopi untuk Penentuan Senyawa Organik*. Widya Padjajaran, Bandung.
- Suryati, S., Dillasamola, D., & Rahadiant, F. (2016). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Vernonia amygdalina* Del terhadap Kadar Kreatinin Serum Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(1): 79–83. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2016.3.1.103>
- Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Liang, W. S., Ky, H., Youstr, A. H. N., & Alitheen, N. B. (2010). *Vernonia amygdalina*, an Ethnoveterinary and Ethnomedical Used Green Vegetable with Multiple Bio-Activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25): 2787–2812.