

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA SAPONIN DARI EKSTRAK METANOL BATANG PISANG AMBON (*Musa paradisiaca var. sapientum* L.)

M. Agung Pratama Suharto¹⁾, Hosea Jaya Edy¹⁾, Jovie M. Dumanauw²⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

²⁾ Program Studi Framasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Manado, 95115

ABSTRAK

Pisang merupakan tanaman yang dapat dijadikan bahan dasar dalam pengobatan. Batang pisang mengandung senyawa saponin, flavonoid dan tanin. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengisolasi saponin yang terkandung pada ekstrak metanol batang pisang Ambon (*Musa paradisiaca var. sapientum* L.) dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) preparatif, selanjutnya mengidentifikasi nilai absorbansi saponin pada panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometri UV-Vis. Ekstrak metanol batang pisang Ambon diperoleh dengan cara maserasi. Saponin dinyatakan terkandung dalam batang pisang Ambon dengan uji pembentukan busa stabil setinggi 2-3 cm selama 30 detik pada penambahan satu tetes asam klorida 2 N dan uji warna Liebermann Burchard (LB) yang menghasilkan cincin warna coklat menunjukkan adanya saponin triterpen. Isolasi menggunakan eluen kloroform : metanol : air (13:7:2) diperoleh bercak noda berwarna hijau pada lempeng silika gel yang disemprotkan pereaksi LB, menyatakan sampel juga mengandung saponin jenis steroid dengan nilai Rf 0.275, 0.325, 0.375. Hasil identifikasi Spektrofotometri Ultra Violet Visible (UV-Vis) yaitu nilai absorbansi saponin 2,754 pada panjang gelombang maksimal 209 nm.

Kata Kunci : Isolasi, Saponin, Ekstrak Metanol, Batang Pisang Ambon

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SAPONIN COMPOUND IN METHANOL EXTRACT OF AMBON BANANA (*Musa paradisiaca var. sapientum* L.) TRUNK.

ABSTRACT

Bananas a plant that can be used as the basis for treatment. Banana trunk contains saponin compounds, flavonoids, and tannins. The purpose of this study was to isolate saponin compound in methanol extract of Ambon banana (*Musa paradisiaca var. sapientum* L.) using preparation of Thin Layer Chromatography method. Identification of absorbance value of saponin was done in maximum wave length using UV-Vis spectrophotometer. Methanol extract of Ambon banana trunk was obtained by maceration. Saponin is said to be contained in banana trunk if the foam formed is stable with the height of 2-3 cm high for 30 seconds in the addition of one drop of hydrochloric acid 2N and color test Liebermann Burchard (LB) which produces brown ring indicates triterpene saponin. Results of isolation using eluent chloroform: methanol: water (13:7:2) gave the green stain spots on silica gel plates sprayed with reagent LB so it is said that the sample also contains steroid saponin types with Rf value of 0.275; 0.325; 0.375. Based on the results of identification using ultraviolet visible spectrophotometry, absorbance value was 2.754 saponin at 209 nm maximum wavelength.

Keywords: isolation, saponin, methanol extract, Ambon banana trunk

PENDAHULUAN

Zaman semakin modern seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, begitu pula dengan gaya hidup manusia sekarang ini yang semakin serba instan seperti dalam pemilihan makanan. Hal tersebut merupakan salah satu penyebab timbulnya berbagai masalah kesehatan. Kemajuan teknologi dalam menangani masalah kesehatan memang telah banyak berkembang seperti obat-obatan tetapi efek samping yang akan ditimbulkan juga beragam dan harga obat-obatan relatif mahal. Kesehatan dapat diperoleh dengan pola hidup sehat dan mencegah atau mengobati penyakit dengan obat-obatan berbahan dasar alam yang tidak membutuhkan biaya mahal.

Indonesia merupakan negara kepulauan beriklim tropis yang memiliki beranekaragam tanaman, mulai dari tanaman hias, tanaman rempah maupun tanaman obat. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan dasar dalam pengobatan yaitu tanaman pisang. Secara tradisional, masyarakat pedesaan telah menggunakan getah batang pisang sebagai penyembuh luka.

Getah batang pisang mengandung saponin, antrakuinon dan kuinon yang berfungsi sebagai antibakteri dan penghilang rasa sakit. Terdapat pula kandungan lektin yang berfungsi untuk menstimulasi pertumbuhan sel kulit, tanin bersifat antiseptik dan kalium yang bermanfaat untuk melancarkan air seni. Selain itu, zat saponin berkhasiat mengencerkan dahak (Anonim, 2011). Penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa ekstrak batang pisang mengandung beberapa jenis senyawa fitokimia yaitu saponin, tanin dan flavonoid (Wijaya, 2010).

Identifikasi awal saponin dilakukan dengan uji busa dan uji warna. Saponin ditunjukkan dengan adanya pembentukan busa stabil selama 30 detik setelah simplisia tanaman dikocok dalam air yang menghasilkan ketinggian busa 1-3 cm dan

penambahan asam klorida pekat pada tabung reaksi. Identifikasi dengan uji warna dilakukan terhadap simplisia dengan pelarut kloroform yang dipanaskan dan penambahan pereaksi Liebermann Burchard (LB), jika pada larutan menghasilkan cincin warna coklat atau violet menunjukkan adanya saponin triterpen sedangkan jika menghasilkan cincin warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid (Jaya, 2010).

Saponin paling tepat diekstraksi dari tanaman dengan pelarut etanol 70-95% atau metanol. Ekstrak saponin akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan metanol karena saponin bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut daripada pelarut lain. Isolasi saponin dihasilkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan lempeng silika gel dan eluen campuran kloroform, metanol dan air (Harborne, 1987).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa saponin yang terkandung pada ekstrak metanol batang pisang Ambon dengan metode KLT preparatif dan mengidentifikasi nilai absorbansi senyawa saponin yang terkandung pada isolat hasil KLT preparatif pada panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometri UV-Vis.

METODOLOGI PENELITIAN

Pelaksanaan dan Jenis Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September 2012 di laboratorium Biologi, laboratorium Advance UNSRAT dan laboratorium Farmakognosi Politeknik Kesehatan Kemenkes Manado. Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif laboratorium.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu pisau, timbangan, aluminium foil, oven, neraca analitik, blender serbuk, sudip, gelas ukur, tabung reaksi, pipet Mohr, pipet tetes, penangas air, mistar, erlenmeyer, kertas saring,

corong gelas, rotavapor, gelas piala, cawan porselen, *waterbath*, *vortex*, pensil, pipa kapiler, corong pisah, *chamber*, *hair dryer*, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis “Spectroquat Pharo 300“, lampu UV 254 dan 366 nm.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang pisang Ambon, aquades, asam klorida 2 N, kloroform, pereaksi LB, metanol, alkohol 95%, lempeng alumunium silika gel GF₂₅₄ Merck dan lempeng preparatif silika gel 60 F₂₅₄ Merck.

Prosedur Kerja

Identifikasi Tanaman

Tanaman pisang Ambon yang tumbuh di perkebunan warga Kelurahan Manembonembo Kecamatan Matuari Kota Bitung Propinsi Sulawesi Utara diidentifikasi secara makroskopik. Kemudian dokumentasi bagian-bagian tanaman yang akan dijadikan sampel ini dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi berdasarkan kunci determinasi dan disesuaikan dengan atlas tanaman obat Indonesia.

Pengambilan Sampel

Tanaman pisang Ambon yang telah diidentifikasi, diambil bagian batangnya dan dibawa ke laboratorium untuk diteliti.

Preparasi sampel

Sampel batang pisang Ambon dibersihkan dengan air, dirajam kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 4x24 jam dan dilanjutkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 7 jam. Setelah kering diblender untuk menghasilkan serbuk sampel atau simplisia.

Uji pendahuluan

a. Uji busa

Simplisia sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan aquades 10 ml,

dikocok dan ditambahkan satu tetes larutan asam klorida 2 N. Tabung reaksi tersebut didiamkan dan diperhatikan ada atau tidak adanya busa stabil. Sampel mengandung saponin jika terbentuk busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik.

b. Uji warna

Simplisia sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan kloroform 10 ml, dipanaskan selama 5 menit dengan penangas air sambil dikocok. Kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi LB. Jika terbentuk cincin coklat atau violet maka menunjukkan adanya saponin triterpen, sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid.

Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Sebanyak 100 g simplisia dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian direndam dengan metanol sebanyak 600 ml. Erlenmeyer ditutup dengan alumunium foil dan didiamkan selama 3 hari dengan sesekali dikocok. Kemudian hasil ekstrak disaring untuk memperoleh filtrat I dan simplisia yang telah diekstrak (debris), diekstrak kembali dengan metanol sebanyak 400 ml dan didiamkan selama 2 hari dengan sesekali dikocok. Hasil ekstrak (filtrat II) dicampurkan dengan filtrat I, kemudian dievaporasi pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair kemudian dimasukkan ke dalam cawan porselen dan diuapkan dengan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Isolasi Senyawa Saponin dengan KLT analitik

Lempeng alumunium silika gel GF₂₅₄ Merck disiapkan dengan ukuran panjang 10 cm dan lebar 3 cm. Ekstrak kental yang telah dilarutkan dengan alkohol 95% ditotolkan pada lempeng tepi bawah dan diangin-anginkan beberapa

saat. Lempeng dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi eluen yaitu campuran homogen lapisan bawah pelarut antara kloroform : metanol : aquades (13:7:2). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen merambat sampai pada tanda garis tepi atas lempeng kemudian dikeluarkan dan dikeringkan di udara. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Lempeng juga disemprotkan dengan pereaksi LB dan dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit untuk memperjelas warna noda yang terbentuk. Proses KLT analitik dilakukan secara berulang hingga memperoleh hasil yang tepat. Setelah hasil dengan KLT analitik disimpulkan positif maka dilanjutkan dengan KLT preparatif.

Isolasi Senyawa Saponin dengan KLT preparatif

Lempeng preparatif silika gel 60 F₂₅₄ Merck disiapkan dengan ukuran panjang 20 cm dan lebar 20 cm. Ekstrak kental yang telah dilarutkan dengan alkohol 95% ditotolkan sepanjang lempeng tepi bawah dan diangin-anginkan beberapa saat. Lempeng dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi eluen yaitu campuran homogen lapisan bawah pelarut antara kloroform : metanol : aquades (13:7:2). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen mencapai batas atas lempeng kemudian dikeluarkan dan dikeringkan di udara. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Lempeng juga disemprotkan pereaksi LB pada kedua bagian tepi dan bagian tersebut dipanaskan dengan *hair dryer* untuk memperjelas warna noda yang terbentuk. Noda-noda yang terbentuk pada bagian tepi lempeng dihubungkan dengan garis dari tepi satu ke tepi lainnya. Bagian dalam garis dikerok dengan membuang bagian yang telah dipanaskan dan dilarutkan dengan alkohol 95% sebagai isolat.

Identifikasi Senyawa Saponin dengan Spektrofotometri UV-Vis

Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif diidentifikasi secara kualitatif dengan spektrofotometri UV-Vis. Isolat sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam kuvet spektrofotometer UV-Vis "Spectroquat Pharo 300" untuk diidentifikasi nilai absorbansi senyawa saponin pada panjang gelombang maksimal. Pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 200-800 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi tanaman

Telah dilakukan identifikasi tanaman di laboratorium Biologi UNSRAT dengan menggunakan kunci determinasi dan disesuaikan dengan atlas tanaman obat Indonesia. Hasil identifikasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman pisang Ambon keluarga *musaceae*, spesies *Musa paradisiaca* var. *sapientum* L. yang disahkan dengan surat hasil identifikasi laboratorium.

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak batang pisang Ambon diperoleh dari batang pisang Ambon bersih yang dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 4x24 jam dan dilanjutkan dengan proses pemanasan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 7 jam. Pengeringan dilakukan agar kadar air yang terkandung dalam sampel batang pisang Ambon akan hilang sehingga memudahkan dalam proses ekstraksi. Sampel kering kemudian dibuat menjadi serbuk agar hasil ekstraksi yang diperoleh lebih banyak, karena semakin halus sampel yang akan diekstraksi maka semakin mudah pelarut masuk ke sel untuk menarik zat aktif. Maserasi merupakan metode yang digunakan dalam proses ekstraksi pada penelitian ini untuk menghasilkan ekstrak batang pisang Ambon dengan metanol sebagai pelarutnya. Metanol dipilih sebagai pelarut karena sifatnya yang polar

sesuai dengan zat aktif yang akan diteliti yaitu saponin. Setelah proses maserasi, filtrat dievaporasi dan selanjutnya diuapkan dengan *waterbath* yang diperoleh ekstrak kental berwarna coklat dengan rendemen 1,554 %.

Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk memastikan secara kualitatif adanya senyawa saponin yang terkandung dalam batang pisang Ambon. Uji ini dilakukan dengan dua cara yaitu uji busa dan uji warna LB (Jaya, 2010).

a. Uji Busa

Simplisia batang pisang Ambon yang dimasukkan dalam tabung reaksi berisi pelarut aquades kemudian dikocok menghasilkan busa dan setelah penambahan pereaksi asam klorida 2 N, busa yang terbentuk tidak hilang. Pengujian busa dilakukan berulang terhadap simplisia.

Dalam uji busa digunakan aquades sebagai pelarut dan asam klorida 2 N sebagai pereaksinya. Setelah simplisia dikocok dalam aquades, busa yang terbentuk pada tabung reaksi setinggi 3 cm dan setelah penambahan asam klorida 2 N, busa tidak hilang dengan ketinggian 2 cm selama 30 detik. Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok.

b. Uji Warna

Uji warna yang dilakukan secara berulang terhadap simplisia menunjukkan hasil yang positif.

Dalam uji warna yang dilakukan menghasilkan cincin coklat setelah simplisia yang dilarutkan dalam kloroform dan dipanaskan selama 5 menit sambil dikocok, ditambahkan pereaksi LB menunjukkan adanya saponin triterpen. Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang senyawa saponin yang menyatakan bahwa sampel setelah ditambahkan pereaksi

LB akan menghasilkan cincin warna coklat-ungu yang menunjukkan adanya saponin triterpen dan hijau-biru untuk saponin steroid.

Isolasi Senyawa Saponin dengan KLT

Kromatografi lapis tipis merupakan metode yang sering digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa dalam suatu simplisia. Pemisahan senyawa saponin dari ekstrak batang pisang Ambon dalam penelitian ini menggunakan metode KLT dengan eluen kloroform : metanol : air (13:7:2) lapisan bawah (Harborne, 1987). Hasil KLT yang diamati secara visual tidak terlihat bercak noda pada lempeng alumunium silika gel Merck yang telah ditotolkan ekstrak dan terelusi oleh eluen. Pada pengamatan di bawah lampua UV 254 dan 366 terlihat beberapa bercak noda dengan nilai Rf yang berbeda. Lempeng kemudian disemprotkan dengan pereaksi LB dan dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit untuk membuktikan bercak dari senyawa saponin.

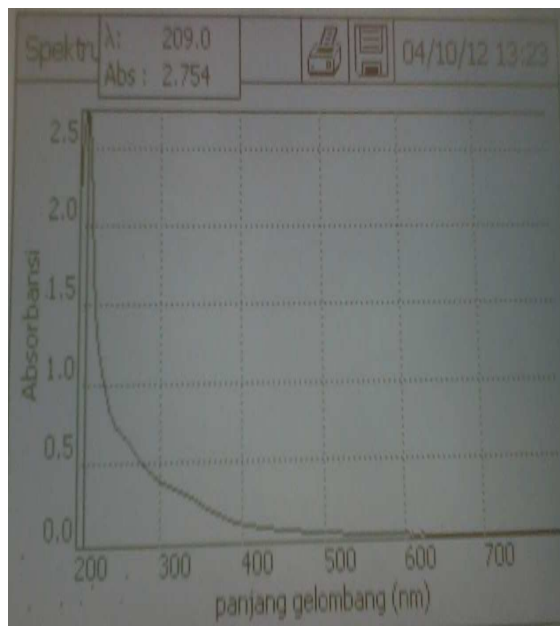
Setelah penyemprotan dengan pereaksi LB yang dilanjutkan dengan pemanasan diperoleh bercak warna hijau dari kedua totalan ekstrak batang pisang Ambon. Proses KLT analitik dilakukan secara berulang untuk memperoleh hasil yang baik dengan nilai Rf yang diperoleh 0,275-0,375.

Setelah proses KLT analitik menunjukkan hasil yang positif maka dilakukan proses isolasi dengan KLT preparatif untuk memperoleh isolat. Eluen yang digunakan sama yaitu campuran pelarut kloroform : metanol : air (13:7:2) lapisan bawah. Dalam proses KLT preparatif digunakan lempeng preparatif silika gel 60 F₂₅₄ Merck agar jumlah isolat banyak. Setelah lempeng terelusi hingga batas atas, dilakukan pengamatan di bawah lampu UV 254 menunjukkan bercak noda gelap yang sama seperti pada hasil KLT analitik. Untuk lebih memperjelas bercak dari senyawa saponin hasil pemisahan, pada bagian tepi kiri dan kanan lempeng

sekitar 1 cm dari tepi disemprotkan pereaksi LB kemudian dipanaskan dengan *hair dryer* untuk menimbulkan bercak. Daerah sekitar bercak kiri dan kanan dihubungkan dengan garis lurus. Bagian dalam garis dikerok dan dilarutkan dengan alkohol 95%. Larutan didiamkan dan setelah terlihat endapan silika, filtrat disaring sebagai isolat untuk diidentifikasi. Pada penelitian ini tidak digunakan baku pembanding saponin karena sulit untuk memperolehnya sehingga uji warna dengan pereaksi LB dijadikan dasar untuk mengisolasi senyawa saponin.

Identifikasi senyawa saponin dengan spektrofotometri UV-Vis

Dalam proses identifikasi pada penelitian ini dengan spektrofotometri UV-Vis bertujuan untuk mengetahui nilai absorbansi senyawa saponin pada panjang gelombang maksimal yang terkandung dari filtrat hasil isolat. Filtrat diidentifikasi dengan spektrofotometer "Spectroquat Pharo 300" pada panjang gelombang 200-800 nm. Hasil identifikasi menunjukkan satu puncak dari garis gelombang yaitu pada 209 nm sebagai panjang gelombang maksimal dan memiliki nilai absorbansi 2,754.



Gambar. Hasil Identifikasi Senyawa Saponin dengan "Spectroquat Pharo 300"

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Senyawa saponin yang terkandung pada ekstrak metanol batang pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.) dapat diisolasi dengan metode KLT preparatif.
- Berdasarkan hasil identifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis, nilai absorbansi senyawa saponin yaitu 2,754 pada panjang gelombang maksimal 209 nm.

Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan tentang senyawa saponin secara kuantitatif untuk penentuan kadar atau formulasi sediaan dengan bahan aktif senyawa saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim. 2011. *Antiseptik Alami dari Batang Pisang*. <http://www.surabayapost.co.id/?mnu=berita&act=view&id=52dee84f39254939be8a3f2fe51646a6&jenis=e4da3b7fbbce2345d7772b0674a318d5>[15 April 2012]
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Edisi II. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung
- Jaya, Ara Miko. 2010. *Isolasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin dari Akar Putri Malu (*Mimosa pudica*)* [skripsi]. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang

- Sarker, Satyajit dan Lutfun Nahar. 2009 .
Kimia untuk Mahasiswa Farmasi.
Pustaka Belajar, Yogyakarta
- Sirait, Midian. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi.* Penerbit ITB, Bandung
- Sjahid, Landyyun Rahmawan. 2008.
Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.) [skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Suyanti dan Ahmad Supriyadi. 2008.
Pisang, Budi Daya, Pengolahan dan Prospek Pasar. Edisi Revisi. Penebar Swadaya, Jakarta
- Wijaya, Arief Riza. 2010. *Getah Pisang sebagai Obat Alternatif Tradisional Penyembuh Luka Luar Menjadi Peluang sebagai Produk Industri.* Jurnal.