

Isolasi Senyawa Aktif Lignan dari Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) dan Daun Sirih (*Piper betle* L.)

*Elfahmi, Komar Ruslan Wirasutisna, Heipy Ketrin Desyane

Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

Abstrak

Buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) telah banyak digunakan secara tradisional untuk mengobati beberapa jenis penyakit. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada kedua tanaman tersebut diduga bertanggungjawab terhadap efek farmakologi, salah satu golongan metabolit sekunder tersebut adalah lignan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa lignan dari buah lada dan daun sirih. Serbuk simplisia dari daun sirih dan buah lada hitam diekstraksi dengan ekstraksi sinambung menggunakan pelarut metanol. Ekstrak difraksinasi dengan ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut air-diklorometan (1:1) dan kromatografi cair vakum. Pemurnian dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif. Isolat dikarakterisasi dengan menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa (KG-SM). Dari buah lada hitam telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dua senyawa lignan berupa hinokinin dan satu senyawa lignan lain yang memiliki ciri fragmen 135 dan 286 pada KG-SM. Sedangkan daun sirih memberikan data kromatografi untuk golongan lignan tetapi belum dapat dikonfirmasi dengan data KG-SM.

Kata kunci : buah lada hitam, daun sirih, lignan, tanaman obat Indonesia

Abstract

Black pepper fruits and betel leaves are widely used traditionally to cure several illnesses. Secondary metabolites of both plants are believed to be responsible for their pharmacological effect; one of the secondary metabolites groups is lignan. The goal of this research is to isolate lignans from betel leaves and black pepper fruits. Crude drugs of betel leaves and pepper fruits were extracted with Soxhlet apparatus, using methanol. The extract was fractionated by liquid-liquid extraction using dichloromethane-water (1:1) and vacuum liquid chromatography. Purification was conducted by preparative thin layer chromatography. Isolated compounds were characterized by gas chromatography-mass spectra (GC-MS). Two lignans were isolated from black pepper fruits and identified with GCMS. First known as hinokinin, and another has MS fragment 135 and 268, which are specific for lignan compounds. Betel leaves showed chromatography data to lignan groups but cannot confirm yet by GC-MS.

Keywords: black pepper fruits, betel leaves, *lignan*, Indonesian Medicinal Plant

Pendahuluan

Tanaman *Piper nigrum* L. atau lebih dikenal sebagai lada dikenal masyarakat sebagai bumbu dapur atau penambah rasa dan aroma makanan. Selain itu, lada juga dikenal masyarakat sebagai obat perut kembung, tekanan darah tinggi, sesak nafas dan peluruh keringat (Ditjen POM Depkes RI 2007).

Tanaman *Piper betle* L. atau yang sering dikenal dengan nama sirih telah dikenal masyarakat sejak lama. Sirih biasanya digunakan untuk obat hidung berdarah, batuk, sakit mata, bisul dan sariawan (Ditjen POM Depkes RI 2007).

Beberapa penelitian tentang kedua tanaman tersebut telah dilakukan. Penelitian tersebut diantaranya tentang efek farmakologi untuk membuktikan pemakaian tradisional dan tentang kandungan kimia dari senyawa kedua tanaman tersebut.

Salah satu metabolit sekunder yang terbukti memiliki aktivitas farmakologi adalah lignan. Beberapa

diantaranya telah dikembangkan sebagai bahan obat, salah satu contohnya adalah podofilotoksin dan turunannya yang memiliki aktivitas antikanker dan antitumor (Koulman 2003).

Informasi tentang kandungan lignan dalam tanaman *Piper nigrum* L. dan *Piper betle* L. masih sangat terbatas. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui lebih dalam mengenai kandungan lignan dalam tanaman sirih, *Piper nigrum* L. dan lada *Piper betle* L.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa lignan dari buah lada hitam dan daun sirih sehingga diperoleh senyawa baru yang memiliki efek farmakologi tertentu. Hasil isolasi ini diharapkan dapat dijadikan acuan dalam pengembangannya sebagai obat herbal yang berkualitas.

*Penulis korespondensi. E-mail: elfahmi@fa.itb.ac.id

Percobaan

Bahan

Daun sirih, buah lada hitam, aqua destilata, n-heksan, diklorometan, metanol, etanol (95%), toluen, eter, kloroform, asam asetat, natrium hidroksida, asam sulfat, serbuk magnesium, amil alkohol, gelatin 1%, aluminium (III) klorida, asam klorida, bismut (III) nitrat, asam nitrat, kalium iodida, besi (III) klorida, formaldehid, asam asetat anhidrida, asam sulfat, pereaksi vanilin sulfat, etil asetat, silika gel GF254, silika gel H60, Kloral hidrat 70%, air – gliserin, kertas saring biasa, kertas saring bebas abu.

Alat

Penggiling simplisia, mikroskop, kaca obyek, oven, kaca penutup, pisau tipis, gabus penjepit, krus porselen, krustang, kompor listrik, batu didih, neraca analisis, seperangkat alat penentuan kadar air, botol timbang dangkal bertutup, eksikator, labu bersumbat, cawan datar dasar rata, mortar, stemper, tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, gelas piala, penangas air, corong pisah, corong, batang pengaduk, seperangkat alat soxhlet, pelat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pralapis, bejana kromatografi, alat penyemprot pereaksi, lampu UV (DESAGA), seperangkat alat kromatografi cair vakum, penguap vakum putar, labu erlenmayer, kaca arloji, gelas ukur, labu ukur, pelat tetes, spatula, dan kromatografi gas-spektroskopi massa (varian 3900–Saturn 2000).

Penyiapan Bahan Tanaman

Bahan yang digunakan adalah buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) yang diperoleh dari Lampung dan daun sirih (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Subang. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Buah lada hitam dan daun sirih dipisahkan dari pengotornya, kemudian digiling sehingga didapatkan serbuk simplisia.

Prosedur

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan steroid/triterpenoid.

Ekstraksi dan pemantauan ekstrak

Serbuk simplisia buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) diekstraksi dengan cara panas yaitu ekstraksi sinambung menggunakan alat soxhlet dengan pelarut metanol. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan alat penguap putar vakum pada suhu 35-40°C. Pemantauan ekstrak pekat metanol menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ pra salut dan pengembang n-heksana-etil asetat (2:1).

Kromatogram diamati di bawah sinar UV pada λ 254 nm dan 366 nm, serta digunakan penampak bercak asam sulfat 10% dalam metanol.

Fraksinasi dan pemantauan fraksi

Ekstrak pekat metanol ditambahkan campuran air-diklorometana (1:1) dan dilakukan fraksinasi secara ekstraksi cair-cair (ECC).

Fraksi diklorometan diambil dan dipantau. Fraksi dipantau dengan cara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan plat silika gel GF254 pralapis dan pengembang n-heksana-etil asetat (1:1) untuk fraksi lada dan heksana-etil asetat (7:4) untuk fraksi sirih. Kromatogram diamati di bawah sinar UV pada λ 254 nm dan 366 nm, serta digunakan penampak bercak asam sulfat 10% dalam metanol.

Fraksinasi kedua dilakukan terhadap fraksi pekat ECC menggunakan metode kromatograficair vakum (KCV) menggunakan fase diam silika gel 60 H dan eluen berupa komposisi pelarut n-heksan-diklorometana-metanol.

Subfraksi yang diperoleh dipantau kembali secara KLT dengan plat silika gel GF254 pralapis dan pengembang toluena-aseton (50:1) dan toluena-aseton (25:7) untuk subfraksi lada. Serta pengembang toluena-aseton (7:3) untuk subfraksi sirih. Kromatogram diamati di bawah sinar UV pada λ 254 nm dan 366 nm, serta digunakan penampak bercak vanilin sulfat.

Pemurnian

Subfraksi yang diperkirakan mengandung lignan dimurnikan dengan KLT preparative menggunakan adsorben silika gel GF254 dengan penyangga kaca dan pengembang toluena-aseton (50:1) untuk subfraksi lada dan toluena-aseton (7:3) untuk subfraksi sirih. Pita hasil KLT preparatif yang diinginkan dikerok, dilarutkan dalam metanol kemudian disaring.

Karakterisasi isolat

Isolat dikarakterisasi secara KG-SM untuk mengetahui spektrum massa khas yang terdapat di dalam isolat tersebut.

Hasil dan Pembahasan

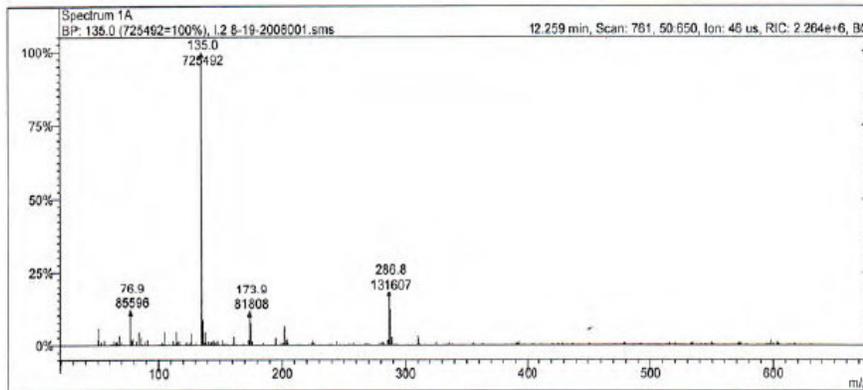
Penapisan fitokimia dilakukan untuk menentukan golongan kimia dari simplisia yang akan digunakan. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa daun sirih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, kuinon, dan steroid-triterpenoid. Sedangkan pada buah lada menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid.

Ekstrak metanol dan ekstrak diklorometana dari kedua simplisia dipantau secara KLT. Hasil pemantauan ekstrak ini tidak digunakan penampak bercak spesifik lignin, namun dilakukan penyemprotan dengan asam sulfat 10% dalam methanol yang bertujuan untuk mengetahui berapa senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Bercak yang diduga senyawa lignan adalah bercak yang memberikan warna gelap pada UV λ 254 nm dan UV λ 366 nm serta memberikan warna ungu setelah disemprot dengan penampak bercak H₂SO₄ dan vanilin sulfat.

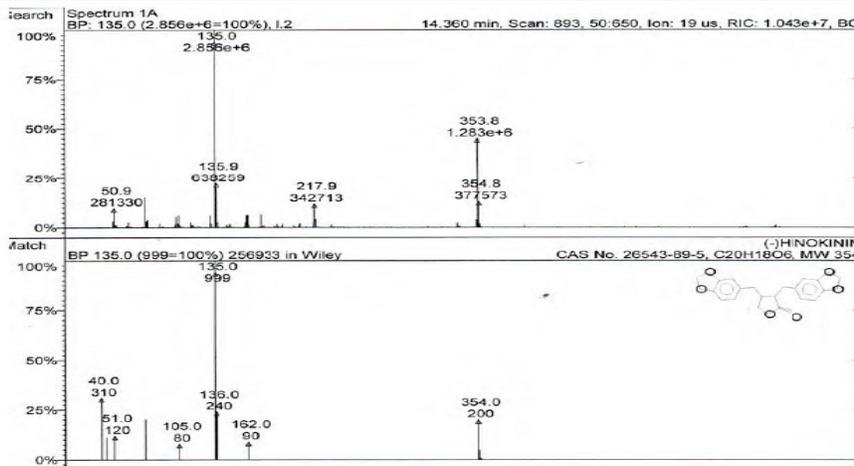
Ekstrak diklorometana dilanjutkan dengan kromatografi cair vakum (KCV). Dari hasil pemantauan fraksinasi kedua terlihat bercak berwarna ungu pada fraksi ke-11 sampai fraksi ke-13 pada daun sirih, serta pada fraksi ke-8, 10, 13 pada buah lada. Kemudian fraksi-fraksi ini dimurnikan menggunakan KLT prepatatif dengan fasa diam silika gel GF254 menggunakan penyangga kaca dan pengembang

toluena-aseton (50:1) untuk subfraksi lada, serta pengembang toluena-aseton (7:3) untuk subfraksi sirih. Pada pita yang diinginkan dikerok dan dilarutkan ke dalam metanol kemudian disaring. Diperoleh beberapa isolat yang siap untuk dikarakterisasi.

Karakterisasi isolat dilakukan menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa (KG-SM) varian 3900 Saturn 2000 dengan kolomkapiler VF-5ms 30m x 0,25mm ID. Dipilihnya metode KG-SM untuk karakterisasi senyawa lignan karena senyawa lignan memiliki spektrum massa, m/z, yang khas yaitu fragmen massa, m/z, 135, 151, 165, 181. Dari hasil karakterisasi, diperoleh subfraksi no. 10 buah lada diduga mengandung dua senyawa lignan yaitu hinokinin yang memiliki spektrum massa khas dengan fragmen (m/z) 135 dan 354, serta senyawa lignan dengan fragmen khas 135 dan 286. Kromatogram dapat dilihat pada Gambar 1.



(a)



(b) **Gambar 1.** Kromatogram hasil KG-SM: (a) salah satu senyawa lignan dengan fragmen massa khas 135 dan 286, (b) senyawa hinokinin dengan fragmen massa khas (m/z) 135 dan 354.

Kesimpulan

Isolat buah lada hitam yang diperoleh merupakan senyawa hinokinin yang memiliki fragmen khas 135 dan 354, serta senyawa lignan dengan fragmen khas 135 dan 286. Sedangkan daun sirih memberikan data kromatografi untuk golongan lignan tetapi belum dapat dikonfirmasi dengan KG-SM.

Daftar Pustaka

Ditjen POM Depkes RI, 2000, Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Depkes RI, Jakarta, 183–184, 273-274.

Koulman A, 2003, Podophyllotoxin, A Study of Biosynthesis, Evolution, Function and Use of Podophyllotoxin and Related Lignans, Rijksuniversiteit, Groningen, 16-18.