

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ASAM FENOLAT PADA DAUN KATU (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

Sri Harsodjo Wijono S

Jurusan Farmasi, FMIPA, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta 12640, Indonesia

Abstrak

Untuk meningkatkan obat tradisional menjadi sediaan obat fitofarmaka diperlukan penelitian mengenai kandungan kimia tumbuhan obat. Pada studi ini telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa asam fenolat yang terdapat di dalam daun katu yaitu daun yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional. Dari ekstrak etanol 95% daun katu dapat diisolasi senyawa asam fenolat dengan cara fraksinasi sinambung menggunakan ether, dengan dan tanpa proses hidrolisis. Fraksi eter kemudian dianalisis dengan menggunakan kromatografi kertas dua dimensi dengan larutan pengembang pertama asam asetat 2 % dalam air dan larutan pengembang kedua benzene-asam asetat-air (60 : 22 : 1,2) dengan penampak bercak sinar ultra violet, larutan diazo p-nitroanilin, sedangkan untuk memperjelas hasil disemprot dengan natrium karbonat 15%. Dari hasil identifikasi diperoleh asam fenolat, asam para hidroksi benzoate, asam ferulat, asam kafeat dan asam vanilat. Kecuali itu masih ditemukan lebih dari 7 bercak yang diduga sebagai asam fenolat. Setelah dilakukan analisis kuantitatif dengan menggunakan spektrofotodensitometer terhadap 4 jenis asam fenolat yang teridentifikasi, maka diketahui bahwa asam p-hidroksibenzoat mempunyai prosentase tertinggi.

Abstract

Isolation and Identification of Fenolic Acid in Katu Leaves (*Sauropus Androgynus* (L.) Merr.). To improve traditional drugs in changing to fitofarmaka studies should be conducted on the chemical content of plants used as drugs. In this study, fenolic acid compounds in katu leaves, which are used for traditional medicine, were isolated and identified. From 95% ethanol extracts of katu leafs could be isolated a fenolic acid compound through continuous fraction using ether, with or without hydrolysis process. The ether fraction was then separated with the two dimension paper chromatography. The first solution developed was 2% acetic acid in water, and the second was benzene-acetic acid-water (60 : 22 : 1,2). Spots were identified with ultraviolet light, diazo p-nitroaniline solution and to enhance the color 15% sodium carbonate was sprayed. After separation p-hydroxy benzoid acid, ferulic acid, cafeic acid and vanilic acid were identified. In addition more than 7 spots were found which were supposed to be fenolic acids. Quantitative analysis was done using the spectrophotodensitometer for 4 kinds of identified fenolic acids. The highest percentage in katu leafs was p-hydroxibenzoid acid.

Keywords: two dimension paper chromatography, katu leaf, Sauropus androgynus (L.) Merr, fenolic acids.

1. Pendahuluan

Sauropus androgynus (L.) Merr atau yang terkenal dengan nama daerah katuk (Sunda), babing, katu, katukan (Jawa), semani (Minang), cekop manis, memata (Indonesia), atau, karakur (Madura) adalah salah satu tumbuhan dari suku Euphorbiaceae yang tumbuh tersebar di daerah Asia Tenggara serta di beberapa daerah yang beriklim tropik dan subtropik, terutama yang mempunyai curah hujan yang tinggi ^{1,2}.

Di Indonesia tumbuhan ini umumnya ditanam sebagai tumbuhan pagar di sepanjang jalan atau tumbuh liar, walaupun kadang-kadang ada yang ditanam di sela-sela tanaman lain. Tumbuhan ini kemungkinan berasal dari India, kemudian menyebar ke Malaysia dan Indonesia. Tumbuh baik pada daerah dengan ketinggian 1.300 m di atas permukaan laut ^{3,4,5}.

Secara tradisional tumbuhan ini digunakan untuk makanan yaitu sebagai sayuran dan pewarna makanan, juga untuk obat bisul, demam, frambusia, diuretik, obat luar dan memperlancar air susu^{6,7,8}.

Dari hasil penelitian telah dilaporkan bahwa daun katu mengandung protein 9,1% dengan 15 jenis asam amino, papaverina 0,6 %, β -karoten, tiamin, riboflavin, vitamin C, niosin, asam lemak, dan senyawa steroid golongan sterol^{4,5,7,9}.

Penelitian kandungan kimia daun katu belum banyak dilakukan di Indonesia. Untuk menunjang program pemerintah dalam peningkatan obat tradisional menjadi sediaan obat fitofarmaka, maka diperlukan penelitian kandungan kimia tumbuhan obat yang selama ini telah digunakan untuk obat tradisional.

Kualitas obat tradisional sangat ditentukan oleh bahan baku (simplisia) yang menyusunnya, dengan mengetahui jumlah dan jenis kandungan senyawa kimia di dalam simplisia, maka akan dapat diketahui kualitas dari simplisia tersebut. Disamping itu bahan kimia tertentu di dalam simplisia dapat digunakan sebagai zat penanda (sidik jari) dari simplisia tersebut. Sehingga ada tidaknya simplisia dalam suatu formula obat tradisional dapat diketahui dari ada tidaknya zat kimia yang merupakan ciri khas dari simplisia yang bersangkutan.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat jenis senyawa asam fenolat yang terdapat pada daun katu, yang mungkin bermanfaat dalam pengobatan tradisional, atau sebagai zat penanda (ciri khas) dari daun katu, sehingga dapat untuk mendeteksi ada tidaknya daun katu dalam suatu formula obat tradisional.

2. Metode Penelitian

Daun katu (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) diambil dari tanaman yang terdapat di kebun budidaya PT. Kimia Farma Bandung, pada waktu tumbuhan tersebut sedang berbunga. Setelah dibersihkan dari bagian tumbuhan lain, dari bahan organik asing dan pengotor lainnya, daun dikeringkan secara alami di udara dengan tidak dikenai sinar matahari langsung, kemudian digiling dan diayak dengan ayakan nomor 6, sehingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu¹⁰.

Ekstraksi dilakukan secara maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut mula-mula n-heksana kemudian etanol 95%.

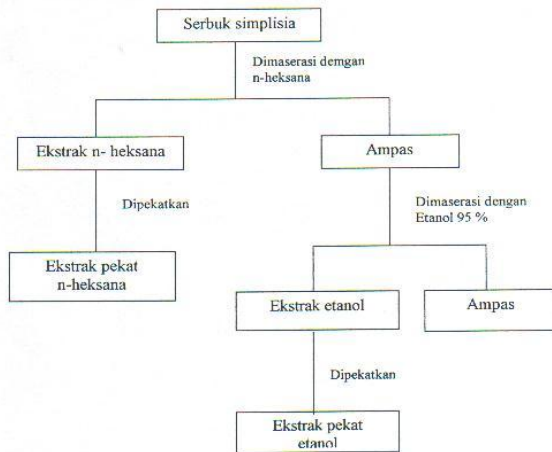
Sejumlah 1 kg serbuk kering Daun Katu pertama-tama diekstraksi dengan n-heksana berkali-kali sampai filtrat jernih. Ampas dikeringkan kemudian diekstraksi dengan etanol 95% berkali-kali hingga filtrat jernih. Masing-masing ekstrak dipekatkan dengan penguap putar vakum. Sehingga diperoleh ekstrak kental. Pada penelitian ini yang digunakan adalah ekstrak etanol^{11,12}.

Bagan ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 1.

Isolasi golongan asam fenolat dikerjakan terhadap 125 g ekstrak ethanol kental. Kedalam ekstrak ethanol kental ditambahkan air panas secukupnya, diaduk sampai benar-benar larut dan disaring, kemudian larutan filtrat dibagi 3 bagian. Masing-masing larutan tersebut digunakan untuk isolasi asam fenolat. Larutan I untuk isolasi asamfenolat tanpa hidrolisis, larutan II untuk isolasi asam fenolat dengan hidrolisis asam, dan larutan III untuk isolasi asam fenolat dengan hidrolisis basa. Bagan isolasi dapat dilihat pada Gambar 2, Gambar 3 dan Gambar 4.

Isolat yang diperoleh berupa larutan dalam methanol, kemudian dianalisis dengan cara kromatografi kertas,

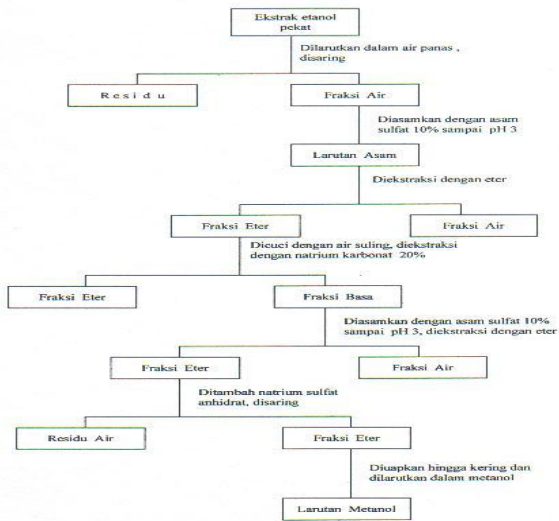
Lampiran 1



Gambar II.1. Bagan ekstraksi sinabung

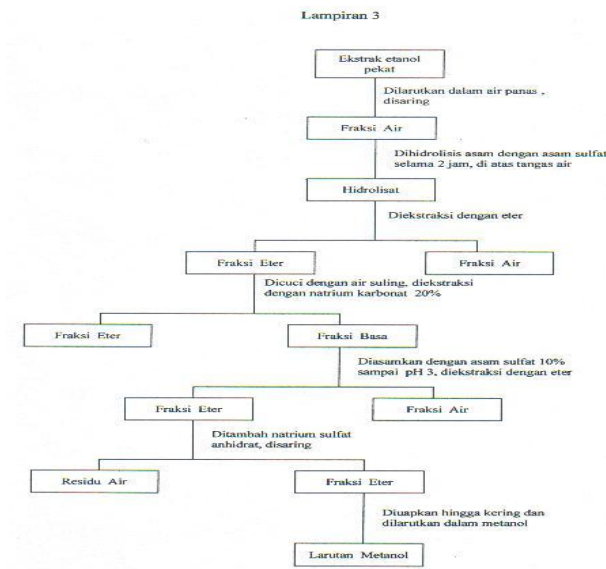
Gambar 1. Bagan Ekstraksi Sinabung

Lampiran 2



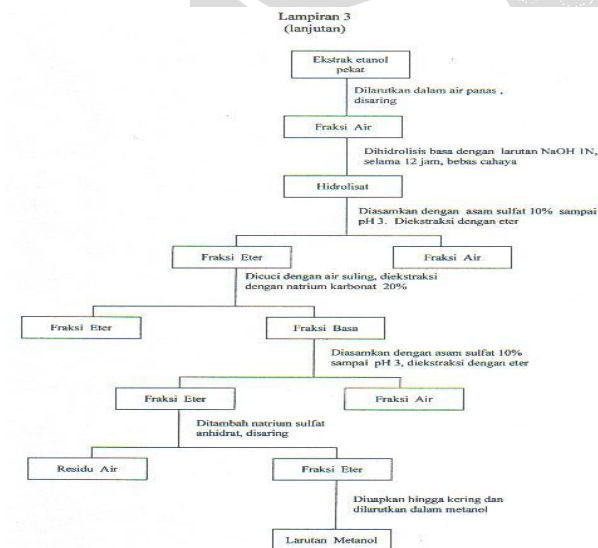
Gambar II.2 : Bagan isolasi senyawa asam fenolat dari ekstrak etanol tanpa hidrolisis

Gambar 2. Isolasi asam fenolat dari ekstrak etanol tanpa hidrolisis



Gambar II.3 : Bagan isolasi senyawa asam fenolat dari ekstrak etanol dengan hidrolisis asam

Gambar 3. Isolasi asam fenolat dari ekstrak etanol dengan hidrolisis asam



Gambar II.4 : Bagan isolasi senyawa asam fenolat dari ekstrak etanol dengan hidrolisis basa

Gambar 4. Isolasi asam fenolat dari ekstrak etanol dengan hidrolisis basa

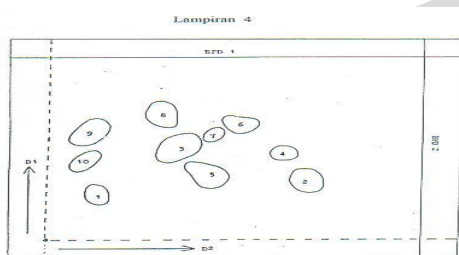
fase diam kertas Whatman No. I, pengembangan dengan teknik menaik dua dimensi, larutan pengembang pertama asam asetat 2 % dalam air, dan larutan pengembang kedua adalah benzen – asam asetat – air (60 : 22 : 1,2), jarak rambat 15 cm, penampak bercak sinar ultraviolet, larutan diazo p-nitroanilin dan untuk lebih memperjelas warna disemprot lagi dengan larutan natrium karbonat 15%. Sebagai pembanding digunakan berbagai senyawa asam fenolat baku. Selain analisis secara kualitatif, dilakukan juga analisis secara kuantitatif, yaitu dengan cara mengukur bercak asam fenolat hasil elusi pada lempeng kroma-tografi lapis tipis dengan menggunakan alat *spektro-fotodensitometer*. Dengan demikian akan diketahui jumlah kandungan asam fenolat per 100 g serbuk simplisis daun katu.

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi senyawa golongan asam fenolat dilakukan dengan tanpa hidrolisis dan dengan hidrolisis dengan menggunakan asam dan basa.

Isolasi asam fenolat tanpa hidrolisis dimaksudkan untuk menarik golongan asam fenolat bebas, sedangkan hidrolisis asam untuk membebaskan asam fenolat dalam bentuk glikosida, dan hidrolisis basa untuk membebaskan asam fenolat dalam bentuk ester.

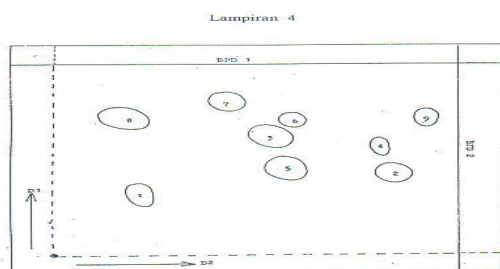
Dari penelitian ini telah diidentifikasi asam fenolat yang terdiri atas asam para-hidroksi benzoat, asam ferulat, asam kafeat dan asam fanilat. Disamping itu dijumpai pula beberapa bercak dominan yang kemungkinan senyawa asam fenolat, tetapi karena keterbatasan pembanding standar asam fenolat yang dimiliki, maka bercak-bercak tersebut belum dapat diidentifikasi. Dari ekstrak etanol tanpa hidrolisis didapatkan 6 (enam) bercak dominan yang kemungkinan asam fenolat,



Gambar III.1 : Kromatogram 2 dimensi asam fenolat yang diisolasi dari ekstrak etanol tanpa hidrolisis
 Keterangan : D1/D2 = arah pengembangan dimensi I dan II
 BPD1/BPD2 = Batas pengembangan dimensi I dan II
 1 = asam kafeat; 2 = asam ferulat; 3 = asam p-hidroksi benzoat; 4 = asam vanilat; 5 = bercak berwarna biru; 6 = bercak berwarna merah muda; 7 = bercak berwarna ungu; 8 = bercak berwarna hijau kuning kebiruan; 9 = bercak berwarna kuning kehijauan; 10 = bercak berwarna ungu kecoklatan
 Fase diam : kertas whatman 1
 Pengembang : D1 = asam asetat 2%
 D2 = benzena - asam asetat - air (60 : 22 : 1,2)
 Penampak bercak : sinar UV, p-nitroanilina terdiazotasi dan natrium karbonat 15%

Gambar 5. Kromatogram 2 dimensi asam fenolat yang diisolasi dari ekstrak etanol tanpa hidrolisis

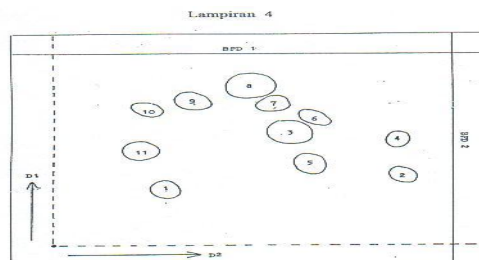
Keterangan : D1/D2 = arah pengembangan dimensi I dan II
 BPD1/BPD2 = Batas pengembangan dimensi I dan II
 1 = asam kafeat; 2 = asam ferulat; 3 = asam p-hidroksi benzoat; 4 = asam vanilat; 5 = bercak berwarna biru; 6 = bercak berwarna merah muda; 7 = bercak berwarna ungu; 8 = bercak berwarna hijau kuning kebiruan; 9 = bercak berwarna kuning kehijauan; 10 = bercak berwarna ungu kecoklatan
 Fase diam : kertas whatman 1
 Pengembang : D1 = asam asetat 2%
 D2 = benzena - asam asetat - air (60:22:1.2)
 Penampak bercak : sinar UV, p-nitroanilina terdiazotasi dan natrium karbonat 15%



Gambar III.2 : Kromatogram 2 dimensi asam fenolat yang diisolasi dari ekstrak etanol dengan hidrolisis basa.
Keterangan
 D1/D2 = arah pengembangan dimensi I dan II
 BPD1/BPD2 = Batas pengembangan dimensi I dan II
 1 = asam kafeat; 2 = asam ferulat; 3 = asam p-hidroksi benzoat; 4 = asam vanilat; 5 = bercak berwarna biru; 6 = bercak berwarna biru; 7 = bercak berwarna hijau kekuningan; 8 = bercak berwarna kuning; 9 = bercak berwarna merah muda.
 Fase diam : kertas whatman 1
 Pengembangan : D1 = asam asetat 2%
 : D2 = benzena – asam asetat – air
 (60 : 22 : 1,2)
 Penampak bercak : sinar UV, p-nitroanilina terdiazotasi dan natrium karbonat 15%

Gambar 6. Kromatogram 2 dimensi asam fenolat yang diisolasi dari ekstrak etanol dengan hidrolisis basa

Keterangan : D1/D2 = arah pengembangan dimensi I dan II
 BPD1/BPD2 = Batas pengembangan dimensi I dan II
 1 = asam kafeat; 2 = asam ferulat; 3 = asam p-hidroksi benzoat; 4 = asam vanilat; 5 = bercak berwarna biru; 6 = bercak berwarna biru; 7 = bercak berwarna hijau kekuningan; 8 = bercak berwarna kuning; 9 = bercak berwarna merah muda.
 Fase diam : kertas whatman 1
 Pengembangan : D1 = asam asetat 2%
 : D2 = benzena – asam asetat – air
 (60:22:1,2)
 Penampak bercak: sinar UV, p-nitroanilina terdiazotasi dan natrium karbonat 15%



Gambar III.3 : Kromatogram 2 dimensi asam fenolat yang diisolasi dari ekstrak etanol dengan hidrolisis asam.
Keterangan
 D1/D2 = arah pengembangan dimensi I dan II
 BPD1/BPD2 = Batas pengembangan dimensi I dan II
 1 = asam kafeat; 2 = asam ferulat; 3 = asam p-hidroksi benzoat; 4 = asam vanilat; 5 = bercak berwarna biru; 6 = bercak berwarna biru; 7 = bercak berwarna ungu; 8 = bercak berwarna hijau kekuningan; 9 = bercak berwarna ungu; 10 = bercak berwarna ungu kecoklatan; 11 = bercak berwarna ungu kecoklatan.
 Fase diam : kertas whatman 1
 Pengembangan : D1 = asam asetat 2%
 : D2 = benzena – asam asetat – air
 (60 : 22 : 1,2)
 Penampak bercak : sinar UV, p-nitroanilina terdiazotasi dan natrium karbonat 15%

Gambar 7. Kromatogram 2 dimensi asam fenolat yang diisolasi dari ekstrak etanol dengan hidrolisis asam

Keterangan : D1/D2 = arah pengembangan dimensi I dan II
 BPD1/BPD2 = Batas pengembangan dimensi I dan II
 1 = asam kafeat; 2 = asam ferulat; 3 = asam p-hidroksi benzoat; 4 = asam vanilat; 5 = bercak berwarna biru; 6 = bercak berwarna biru; 7 = bercak berwarna ungu; 8 = bercak berwarna hijau kekuningan; 9 = bercak berwarna ungu; 10 = bercak berwarna ungu kecoklatan; 11 = bercak berwarna ungu kecoklatan.
 Fase diam : kertas whatman 1
 Pengembangan : D1 = asam asetat 2%
 : D2 = benzena – asam asetat – air
 (60:22:1,2)
 Penampak bercak : sinar UV, p-nitroanilina terdiazotasi dan natrium karbonat 15%

Tabel 1. Kandungan asam fenolat daun Katu

| Asam Fenolat | Kandungan (%) |
|----------------------------|---------------|
| 1. Asam p-hidroksi benzoat | 0,0130 |
| 2. Asam vanilat | 0,0054 |
| 3. Asam ferulat | 0,0034 |
| 4. Asam kafeat | 0,0007 |

ekstrak etanol yang dihidrolisis dengan asam 7 (tujuh) bercak dan ekstrak etanol yang dihidrolisis dengan basa 5 (lima) bercak. Hasil penelitian kandungan asam fenolat pada daun katu dapat dilihat pada Gambar 5, Gambar 6 dan Gambar 7.

Dari hasil analisis kuantitatif asam fenolat dapat diketahui bahwa asam p-hidroksibenzoat mempunyai prosentase yang paling besar diantara keempat jenis asam fenolat yang teridentifikasi, hasil analisis kuantitatif asam fenolat dapat dilihat pada Tabel 1.

Kesulitan yang dijumpai pada penentuan kadar asam fenolat dengan spektrofotodensitometer adalah sulitnya untuk mendapatkan bercak kromatografi lapis tipis yang dapat memisah dengan sempurna, serta mempunyai diameter dan intensitas pendaran yang cukup untuk pengukuran. Oleh karena itu analisis asam fenolat dalam tumbuhan obat

kemungkinan lebih mudah dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) atau Kromatografi Gas (GC).

4. Kesimpulan

Dari ekstrak etanol 95% simplisia daun katu telah diisolasi senyawa-senyawa asam fenolat yang diidentifikasi sebagai asam p-hidroksibenzoat, asam ferulat, asam vanilat dan asam kafeat. Hasil analisis kuantitatif menunjukkan bahwa asam p-hidroksibenzoat mempunyai prosentase yang tertinggi diantara keempat jenis asam fenolat yang telah diidentifikasi.

Disamping itu terdapat paling sedikit 7 (tujuh) bercak lain yang belum teridentifikasi, dan kemungkinan besar senyawa tersebut adalah asam fenolat.

Disarankan untuk mengidentifikasi asam fenolat yang bercaknya terlihat nyata, dan dilanjutkan penentuan kandungan dari senyawa tersebut secara kuantitatif.

Ucapan Terima Kasih

Atas selesainya penelitian ini ucapan terima kasih disampaikan kepada Jurusan Farmasi FMIPA Institut Teknologi Bandung khususnya Bidang Biologi Farmasi, Prof. Kosasih Padmawinata, PhD, Dr. Soediro Soetarno, PT Kimia Farma Bandung, Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan Depkes Jakarta, Pusdiknakes Departemen Kesehatan Jakarta, yang telah memberikan sumbangsih sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

Daftar Acuan

1. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, *Materia Medika Indonesia*. Ed. 5. Jakarta: Departemen Kesehatan, 1989.
2. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Ed. 3. Jakarta: Departemen Kesehatan, 1983.
3. Baker CA, Van den Brink RCB. *Flora of Java, Spermatophyta Only*. Groningen: Wolters-Noordhoff NV, 1988: 441-442, 447-448, 471.
4. Ramachandran C, Peter KV, Gopalakhrisnan PK. *Chekurmanis Sauropus Androgynus a Multivitamine Leafy Vegetable, Indian Hortic.* New Delhi: Thakur Dass, 1980; 25 (1): 17-18.
5. Zanariah J, Rehan AN, Rosnah O. Protein and amino acid compositions of Malaysian vegetables. *MARDI Res Bull* 1986; 14 (2): 140-147.
6. Giri J, Bhuvanewari V, Rajaswari D. Change in the Nutritive Value of Chekkur-Menis at Different Stage of Growth. *The Indian J. Nutr. Diet* 1984; 21 (11): 419-423.
7. Heyne K. Tumbuhan Berguna Indonesia. Edisi 2. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya Departemen Kehutanan, 1987: 1144.
8. Padmavathi P, Ptabhakara Rao M. Nutritive Value of Saurupus Androgynus Leaves. *Plant Foods Human Nutrition* 1990; 40: 107-113.
9. Sustini K, Irfansyah N. *Isolasi Kandungan Kimia Daun Sauropus androgynus (L) Merr?*. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, 1988.
10. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan, 1985.
11. Farnsworth NR. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *J Pharm Sci* 1966; 55 (3): 243-269.
12. Harborne JB. *Phytochemical Methode*. London: Chapman and Hall, 1973.

