ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN KARAKTERISASI ALKALOID DARI KULIT KAYU JOHAR (*Cassia siamea Lamk.*)

Oleh : Yuni Astuti*), M. Anwar Nur**), Hendra Adijuwana**)

ABSTRACT

This purpose of this research is to isolate, to identify and to charactirize the content of alkaloid of the bark of *Cassia siamea* Lamk.

The bark of *Cassia* is used traditionally for curing the disturbancy of stomach and purgative agent. Supposing that bark of *Cassia* contains alkaloids. The alkaloid from the issolation makes orange precipitation with Dragendorf reagent, white-yellow precipication with Meyer reagent and chocelate precipitation with Wagner reagent.

Thin layer chromatography method to this alkaloid gives orange spots with the Dragendorf reagent, yellow with iod vapor, and green-yellow with sulfuric acid 10 %. The ultraviolet absorption of this alkaloid has maximum absorption at the wave length of 225.0 nm, 252.0 nm, and 337.5 nm. The infrared absorption shows the content of the OH, C = O, C - N, N - H, C - H, and aromatic groups.

From this ultraviolet absorption shows that this alkaloid has rings of benzena.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tumbuhan dan diduga mempunyai sekitar 20.000 jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sejak jaman dahulu banyak orang telah memanfaatkan tumbuhan untuk keperluan hidupnya, diantaranya untuk bahan makanan, bahan bakar, bahan bangunan dan lain-lain. Salah satu pemanfaatan tumbuhan yang penting adalah untuk pengobatan. Banyak tumbuhan yang secara tradisional digunakan untuk obat. Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan adalah johar (*Cassia siamea* Lamk).

Johar merupakan salah satu tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia. Secara tradisional air rebusan daun johar digunakan untuk obat demam malaria, obat cuci luka, dan perangsang nafsu makan. Kayunya digunakan untuk pemberi warna dan bahan bangunan, sedangkan kulit kayu dan akarnya digunakan untuk mengobati gangguan lambung dan sebagai pencahar. Untuk mengetahui senyawa apa yang terdapat pada tumbuhan sehingga tumbuhan mempunyai khasiat tertentu maka banyak dilakukan penelitian terhadap tumbuhan yang ada. Penelitian ini biasanya meliputi : pengumpulan

---

*) Alumni Jurusan Kimia FMIPA IPB

**) Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA IPB

informasi mengenai tumbuhan yang akan diteliti, pemeriksaan keaktifan biologi, isolasi, dan identifikasi senyawa yang didapat (Verpoorte, 1989). Penelitian untuk mendapatkan senyawa aktif bisa dilakukan terhadap tumbuhan secara acak atau dapat dilakukan dengan pendekatan terhadap kegunaan tumbuhan sebagai obat tradisional.

Dari beberapa penelitian yang pernah dilakukan diketahui bahwa kandungan kimia tumbuhan johar antara lain pada daunnya terdapat sitosterol, lignin, asam para kumarat, dan kuinon. Selain itu ketahui pula bahwa ekstrak daun johar dapat mematikan pertumbuhan Plasmodium falciparum (*Greassor*, 1989), dan alkaloid yang terdapat pada daunnya memiliki berbagai keaktifan farmakologis (Arunlakshana, 1949). Kandungan alkaloid yang ditemukan dalam daun johar adalah alkaloid yang berfluoresensi dari golongan isokuinolina dengan nama siamin, siamin A, siamin B, dan siamin C. Selain pada daun alkaloid juga ditemukan pada bagian tumbuhan johar lainnya, diantaranya pada kulit kayu dan polong. Di Filipina terjadi kematian babi yang diberi makan ranting muda dan polong tumbuhan ini. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya alkaloid pada bagian tumbuhan tersebut yang bersifat racun.

TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengisolasi alkaloid dari kulit kayu tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) dan identifikasi serta karakterisasi alkaloid yang didapat dalam penelitian ini.

HIPOTESIS

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah bahwa kulit kayu tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) mengandung alkaloid seperti dalam daunnya.

TINJAUAN PUSTAKA

Johar (*Cassia siamea* Lamk.)

Klasifikasi tumbuhan adalah sebagai berikut :

Divisi	:	Spermatophyta
Anak divisi	:	Angiosperma
Kelas	:	Dicotyledonae
Anak kelas	:	Dialypetalae
Bangsa	:	Rosales
Suku	:	Leguminoceae
Anak Suku	:	Caesalpiniceae
Marga	:	Cassia
Jenis	:	*Cassia siamea* Lamk.

Alkaloid

Penyebaran Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu golongan senyawa organik yang utama. Diantara golongan senyawa organik alkaloid merupakan golongan senyawa yang terbesar jumlahnya baik jumlah senyawa maupun penyebarannya dalam dunia tumbuhan (Achmad, 1986). Penelitian alkaloid ini dilakukan sejak tahun 1807 yaitu ketika ditemukannya morfina yang berupa garam dan berbentuk kristal oleh Serturner. Penemuan ini selanjutnya diikuti oleh beberapa penemuan lain diantaranya : narkotika oleh Robequet pada tahun 1817, koniina oleh Ladenburg pada tahun 1886, antipirina oleh Knorr pada tahun 1887 (Degering, 1950)

Alkaloid ditemukan pada tumbuhan dan hewan (Henry, 1913). Pada tumbuhan alkaloid ditemukan pada *ranunculaceae*, *rubbiaceae*, *papaveraceae*, *fumariaceae*, *solanaceae*, *leguminoceae*, *apocynaceae*, *rosaceae*, *graminaceae* dan *labiateae* (Henry, 1913). Kehadiran alkaloid pada tumbuhan telah diketahui pada 40 suku dari tumbuhan berbunga. Pada umumnya suku tumbuhan tersebut termasuk kelas dikotil dan hanya sedikit pada monokotil. Kandungan alkaloid tumbuhan angiospermae lebih besar dibandingkan pada tumbuhan gymnospermae, begitu pula kandungan alkaloid tumbuhan yang berbunga lebih besar daripada tumbuhan yang tidak berbunga (Henry, 1913).

Alkaloid ditemukan pada hampir semua bagian tumbuhan. Secara umum tidak mungkin mengatakan bahwa kandungan alkaloid suatu bagian tumbuhan lebih besar dibandingkan bagian lainnya. Pada awal pertumbuhan alkaloid tersebar merata pada seluruh jaringan tumbuhan. Dengan bertambahnya usia tumbuhan maka alkaloid akan mengalami proses translokasi kebagian tertentu dari tumbuhan dan menumpuk pada bagian tersebut. Biasanya alkaloid ini terkonsentrasi pada kulit kayu, daun, akar dan bakal buah. Beberapa tumbuhan dapat menghasilkan dua atau lebih jenis alkaloid. Begitu pula suatu jenis alkaloid tidak hanya ditemukan pada satu jenis tumbuhan, misalnya berberina ditemukan pada 6 anak suku, yaitu : berberidaceae, papaveraceae, ranunculaceae, rutaceae, menispermaceae dan annonaceae (Henry, 1913). Ada juga tumbuhan yang tidak mengandung alkaloid. Hal ini disebabkan karena memang tumbuhan tersebut tidak mengasilkan alkaloid atau tumbuhan menghasilkan alkaloid tetapi terdegradasi menjadi senyawa lain.

Klasifikasi Alkaloid

Klasifikasi alkaloid berdasarkan strukturnya sulit dilakukan, karena alkaloid, karena alkaloid mempunyai struktur yang jenisnya banyak. Sehingga sampai saat ini belum ada suatu klasifikasi alkaloid yang dapat digunakan secara seragam. Alkaloid yang terdapat pada daun johar berdasarkan kerangka utamanya termasuk alkaloid isokuinolina. Bila dilihat berdasarkan bentuk atom nitrogen dan biosintesisnya, maka alkaloid daun johar termasuk alkaloid sejati. Alkaloid sejati ini bersifat basa, berasal dari asam amino, ditemukan pada tumbuhan sebagai garam dari asam organik, dan mengandung atom nitrogen dalam bentuk heterosiklik.

Sifat Fisik dan Kimia Alkaloid

Sebagian besar alkaloid mempunyai kerangka polisiklik yang mengandung atom karbon, oksigen, nitrogen, hidrogen dan substituen yang tidak terlalu beragam. Golongan senyawa ini dapat berupa padatan, amorf dan cairan yang hampir semuanya tidak berwarna. Alkaloid yang berstruktur kompleks dan aromatik mempunyai warna, seperti berberina dan betanina yang berwarna kuning (Henry, 1913).

Pada umumnya alkaloid bersifat basa dan larut dalam pelarut organik. Sifat basa ini tergantung pada : ketersediaan pasangan elektron bebas pada nitrogen gugus fungsi yang berikatan dengan nitrogen dan kearomatikan cincin heterosiklik yang mengandung nitrogen. Atom nitrogen pada alkaloid hampir semuanya berada dalam bentuk $-NR_2$ (amina) atau $-CO-NR_2$ (amida) dan tidak pernah dalam bentuk $-NO_2$ (nitro) dan -N=N- (diazo). Sifat fisik dan kimia alkaloid ini akan menentukan prosedur isolasi dan pemurnian suatu alkaloid (Achmad, 1986).

Kegunaan Alkaloid

Hampir semua alkaloid mempunyai keaktifan farmakologi tertentu, ada yang beracun ada pula yang berguna dalam pengobatan. Selain berguna bagi manusia alkaloid juga berguna bagi tumbuhan itu sendiri. Fungsi alkaloid bagi tumbuhan diduga adalah untuk : (Henry, 1913).

1. Bahan yang digunakan tumbuhan dalam metabolisme.
2. Melindungi tumbuhan dari serangan hewan (serangga), tumbuhan pengganggu, mikroorganisma pengganggu dan parasit.
3. Mempercepat atau menghambat pertumbuhan tumbuhan.
4. Pelindung dari jamur dan bakteri.

Bagi manusia alkaloid dapat digunakan untuk : mengurangi rasa sakit, menurunkan panas, menurunkan tekanan darah tinggi, menghambat tumor (Schlitter, 1971).

Alkaloid Johar (*Cassia siamea* Lamk.)

Isolasi alkaloid dari tumbuhan dilakukan dengan memanfaatkan sifat alkaloid. Alkaloid pada umumnya ditemukan pada tumbuhan sebagai garam dari asam malat, oksalat, suksinat, tanat, dan asam tumbuhan lain.

Alkaloid tumbuhan johar yang pernah diisolasi yaitu alkaloid dari daun tumbuhan ini. Alkaloid yang terdapat pada daun johar termasuk golongan alkaloid isokuinolina, yaitu siamin, siamin A, siamin B, dan siamin C.

Menurut hasil penelitian terhadap daun johar, diketahui bahwa alkaloid yang terkandung dalam daun johar memiliki berbagai keaktifan farmakologi (Arunlakshana, 1949). Alkaloid dalam daun johar kadarnya relatif lebih banyak dibandingkan organ tumbuhan lainnya (Metta, 1971). Isolat alkaloid daun johar yang telah diuji pada tikus, menunjukkan adanya keaktifan penekanan syaraf pusat, menambah tekanan darah, menambah percepatan urinasi, sedangkan proses respirasi tidak dipengaruhi secara nyata (Arunlakshana, 1949).

BAHAN DAN METODA

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Pusat Penelitian dan Pengembangan Kimia Terapan (P3KT) LIPI, Puspiptek, Serpong dari bulan April sampai Juli 1994.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Kulit kayu tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.), metanol, kloroform, kalium iodida, iodium, bismut subnitrat, asam asetat 5%, natrium karbonat, benzena, aseton, etil asetat, etanol, dan asam sulfat pekat.

Peralatan yang digunakan adalah : rotavapor, pelat kromatografi lapis tipis silika gel 60 dengan ketebalan 0,2 mm dan berukuran 20x20 cm, labu Erlenmeyer, labu takar, pipet Mohr, pipet volumetrik, gelas piala, tabung reaksi dan peralatan gelas lain yang umum digunakan serta alat spektrofotometer infra merah Perkin Elmer 16 PC, dan Spektrometer ultraviolet U 2000 Hitachi.

METODA PENELITIAN

Pembuatan Pereaksi alkaloid

a. Pereaksi Wagner

Diambil 10 ml air suling kemudian ditambah 2,54 gram iodium dan 2 gram kalium iodida lalu dilarutkan dan diencerkan menjadi 200 ml dengan menggunakan labu takar.

b. Pereaksi Mayer

Sejumlah 1,36 gram $HgCl_2$ ditambah dengan 0,5 gram kalium iodida lalu dilarutkan dan diencerkan menjadi 100 ml dengan menggunakan labu takar.

c. Pereaksi Dragendorf

Sejumlah 0,85 gram bismut subnitrat ditambah 10 ml asam asetat dan 40 ml air. Larutan ini dicampur dengan larutan yang dibuat dari 8 gram kalium iodida dalam 20 ml air. Sebelum digunakan 1 volum larutan ini diencerkan dengan 2,3 volum campuran 20 ml asam asetat glasial dan 100 ml air.

Persiapan Contoh

Kulit kayu johar diambil dari ranting-ranting dan batang tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) yang sudah cukup tua dan tumbuh di kawasan Puspiptek Serpong. Kulit kayu ini kemudian dikeringudarakan tanpa cahaya matahari dan digiling sampai halus.

Pengujian Pendahuluan

Penentuan Kadar Air

Ditimbang 3 gram serbuk kulit kayu johar yang telah dikeringudarakan. Serbuk dimasukkan ke dalam wadah yang telah dikeringkan dalam oven dan telah ditimbang beratnya. Kemudian serbuk kulit kayu johar ini dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105° C selama dua jam. Berat contoh setelah dihilangkan kadar airnya ditimbang. Kadar air didapat dengan cara membagi selisih berat contoh setelah dihilangkan kadar airnya dengan berat contoh awal dan dikalikan 100 %.

Penentuan Kadar Abu

Ditimbang 2 gram serbuk kulit kayu johar yang telah dikeringudarakan. Serbuk dimasukkan ke dalam cawan porselen yang telah dikeringkan pada 600° C selama 30 menit dan telah ditimbang. Contoh dimasukkan ke dalam tanur 600° C selama 30 menit. Berat abu yang didapat ditimbang. Kadar abu dihitung dengan cara membagi berat abu yang didapat dengan berat contoh dan dikalikan 100 %.

Pengujian Adanya Alkaloid

Sejumlah 2 gram serbuk kulit kayu johar ditambah dengan 10 ml kloroform dan beberapa tetes amoniak lalu diaduk sampai homogen dan disaring. Filtrat ditambbah dengan 1ml asam sulfat 2N dan diaduk. Fase air digunakan untuk uji dengan ketiga pereaksi alkaloid di atas dengan cara meneteskan masing-masing pereaksi kedalam tiga tabung reaksi yang sudah berisi fase air dari tahap sebelumnya.

Selain cara di atas pengujian adanya alkaloid juga dilakukan dengan cara kromatografi lapis tipis. Sejumlah 10 gram bahan kering direndam dengan 50 ml metanol dan disaring. Filtrat yang didapat dievaporasi dan ekstraknya diasamkan dengan asam asetat 5%. Larutan asam ini kemudian diekstraksi dengan kloroform dan fase airnya diasakan dengan menggunakan natrium karonat sampai pH 10. Fase air kemudian diekstraksi dengan menggunakan kloroform. Fase organik dievaporasi dan ekstrak yang didapat dilarutkan dengan sedikit metanol. Larutan ini kemudian diuji dengan kromatografi lapis tipis dengan eluen kloroform-metanol (9:1) dan dengan pereaksi Dragendorf.

Isolasi Alkaloid

Proses Isolasi

Serbuk halus kulit kayu johar diekstraksi dengan cara maserasi (direndam) dengan menggunakan metanol sampai seluruh serbuk terendam. Serbuk direndam selama 1 malam dan perendaman diulang sebanyak 3 kali. Filtrat metanol ini kemudian disaring dan dievaporasi pada suhu 40° C sampai bebas metanol. Ekstrak yang didapat diasamkan dengan menggunakan asam asetat 5 % dan disaring. Filtrat ini kemudian di ekstraksi dengan menggunakan kloroform. Ekstraksi dilakukan sampai fase organik tidak berwarna. Fase air kemudian dibasakan dengan cara menambah natrium karbonat sampai pH larutan menjadi 10. Larutan yang sudah basa ini diekstraksi dengan menggunakan kloroform. Ekstraksi dilakukan sampai fase air negatif terhadap uji dengan pereaksi alkaloid. Fase organik kemudian dievaporasi pada suhu 40° C sampai didapat ekstrak yang tidak mengandung kloroform. Ekstraksi dilakukan kembali pada ekstrak yang didapat untuk mendapatkan ekstrak kasar alkaloid yang cukup murni.

Pengujian Ekstrak Kasar Alkaloid

Sedikit ekstrak dari tahap isolasi diatas dilarutkan dengan sedikit metanol dan diteteskan pada pelat kromatografi lapis tipis. Pelat kemudian dielusi dengan beberapa sistem pelarut untuk mendapatkan sistem pelarut dengan pemisahan yang terbaik. Pewarnaan dilakukan dengan pereaksi Dragendorf dan uap iodium. Sistem pelarut yang akan dicoba pada tahap ini adalah : (Cordell, 1981)

a. kloroform-metanol (9:1)
b. kloroform-etil asetat-metanol (2:2:1)
c. etil asetat-metanol (4:1)
d. kloroform-aseton (5:4)

Ekstrak kasar yang didapat diekstraksi kembali untuk mendapatkan isolat alkaloid yang cukup murni.

Kromatografi Lapis Tipis Isolat Alkaloid

Sedikit isolat dilarutkan dalam metanol dan diteteskan pada pelat kromatografi. Pelat kromatografi ini kemudian dielusi dengan sistem pelarut yang sudah dijenuhkan. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan pereaksi Dragendorf, uap iodium dan asam sulfat 10%. Untuk meyakinkan kemurniah lebih lanjut maka dilakukan uji kromatografi lapis tipis dengan beberapa sistem pelarut yang berbeda. Sistem pelarut yang digunakan yaitu : (Cordell, 1981)

1. kloroform-etanol (9:1)
2. etil asetat-etanol (9:1)
3. kloroform-aseton (5:4)
4. benzena-metanol (9:1)
5. kloroform-etanol-etil asetat-aseton (6:2:2:1)
6. benzena-kloroform-metanol (7:3:2)
7. kloroform-etil asetat-metanol (2:2:1)

Hasil yang menunjukkan satu noda untuk semua sistem pelarut dan semua pereaksi penampak yang digunakan menunjukkan bahwa isolat yang didapat benar-benar murni. Selain dengan kromatografi lapis tipis satu dimensi, maka dilakukan juga kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan sistem pelarut etil asetat-metanol (4:1) untuk elusi pertama dan kloroform-metanol (9:1) untuk elusi kedua. Pereaksi penampak yang digunakan adalah pereaksi Dragendorf.

Karakteristik dan Identifikasi

Uji Terhadap Pereaksi Alkaloid

Sedikit isolat dengan noda tunggal dilarutkan dengan beberapa tetes asam sulfat 2N. Larutan ini kemudian diuji dengan ketiga pereaksi alkaloid dengan cara satu tetes larutan isolat ditambah dengan satu tetes pereaksi alkaloid. Timbulnya endapan putih kekuningan dengan pereaksi Mayer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorf menunjukkan bahwa isolat yang didapat adalah alkaloid.

Pembuatan Spektrum Ultraviolet

Sejumlah 2 mg isolat dilarutkan dalam 100 ml metanol p.a dengan menggunakan labu takar. Larutan ini kemudian diukur serapan ultravioletnya dengan pembanding metanol.

Pembuatan Spektrum Inframerah

Sedikit isolat diambil lalu dicampurkan dengan KBr dan digerus. Campuran ini kemudian diuat pelet tipis dan diukur serapan inframerahnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Pendahuluan

Dari kulit kayu johar yang telah dikeringkan dan dihaluskan didapat serbuk halus seberat 950 gram. Pada serbuk kulit kayu johar ini dilakukan pemeriksaan pendahuluan meliputi kadar air, kadar abu, dan pemeriksaan adanya alkaloid. Kadar air serbuk kulit kayu johar yang didapat yaitu 12 % dan kadar abunya 7 %. Kadar air dan kadar abu ini dihitung berdasarkan berat contoh yang telah dikeringudarakan.

Untuk pemeriksaan ada atau tidaknya alkaloid pada kulit kayu johar dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan penambahan pereaksi alkaloid dan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Pada pemeriksaan alkaloid dengan pereaksi alkaloid, pereaksi yang digunakan adalah pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf. Ketiga pereaksi ini dapat digunakan untuk uji adanya alkaloid, karena ketiga pereaksi ini dapat bereaksi dengan alkaloid dan menimbulkan endapan yang khas. Prinsip kerja dari pereaksi- pereaksi ini adalah : pereaksi Mayer dan Dragendorf akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk hasil adisi yang tidak larut yang berwarna putih kekuningan dengan pereaksi Mayer dan jingga dengan pereaksi Dragendorf, sedangkan pereaksi Wagner akan membentuk senyawa kompleks dengan alkaloid yang berupa endapan berwarna coklat. Ketiga pereaksi ini disimpan dalam botol coklat karena pereaksi ini mudah rusak bila terkena cahaya.

Pemeriksaan serbuk kulit kayu johar dengan ketiga pereaksi alkaloid ini menunjukkan hasil yang positif, yaitu terbentuknya warna putih kekuningan dengan pereaksi Mayer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorf. Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa serbuk kulit kayu johar mengandung alkaloid. Untuk meyakinkan bahwa kulit kayu johar ini benar-benar mengandung alkaloid maka dilakukan uji dengan kromatografi lapis tipis.

Pada uji ini digunakan sistem pereaksi kloroform-metanol (9:1), karena pereaksi ini merupakan pereaksi yang sangat umum untuk semua jenis alkaloid. Untuk pereaksi penampak digunakan pereaksi Dragendorf, karena dari ketiga pereaksi alkaloid yang dibuat hanya pereaksi Dragendorf yang dapat digunakan untuk pereaksi penampak kromatografi lapis tipis. Hasil yang diperoleh setelah pelat kromatografi disemprot dengan pereaksi Dragendorf adalah noda yang berwarna jingga dengan nilai Rf 0,22. Noda jingga ini menunjukkan adanya alakaloid pada kulit kayu johar.

Dari hasil pemeriksaan pendahuluan ini dapat diketahui bahwa kulit kayu johar mengandung aklkaloid sehingga isolasi terhadap alkaloid dari kulit kayu johar ini dapat dilakukan.

Isolasi alkaloid

Proses Isolasi

Sejumlah 950 g serbuk kulit kayu johar yang telah positif mengandung alkaloid ini diekstraksi dengan cara maserasi, yaitu dengan cara merendam serbuk dengan pelarut organik. Pelarut yang digunakan yaitu metanol. Ekstrak metanol yang didapat disaring untuk menghindari adanya serbuk kulit kayu johar pada ekstrak metanol. Ekstrak metanol yang berwarna hijau kecoklatan ini kemudian dievaporasi pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut. Evaporasi dilakukan pada 40°C untuk menghindari kerusakan alkaloid, karena beberapa alkaloid mudah rusak pada suhu yang tinggi. Hasil yang didapat adalah ekstrak berwarna hijau kecoklatan. Ekstrak ini kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40° C selama 48 jam agar didapat ekstrak yang benar-benar tidak mengandung metanol. Ekstrak kering yang didapat seberat 100 gram.

Ekstrak yang didapat ini tidak hanya mengandung alkaloid, karena banyak senyawa lain dari kulit kayu johar yang ikut terekstraksi oleh metanol. Untuk memisahkan alkaloid dari senyawaan tersebut maka pada ekstrak yang didapat ditambah asam asetat 5 %. Penambahan asam dilakukan sampai larutan yang didapat negatif terhadap uji dengan pereaksi alkaloid atau mempunyai intensitas endapan yang sama dengan penambahan asam asetat sebelumnya. Asam yang ditambahkan ini akan bereaksi dengan alkaloid menghasilkan garam alkaloid dan asam organik. Warna larutan yang didapat setelah penambahan asam adalah coklat dan warnanya menjadi lebih muda pada penambahan asam berikutnya. Garam alkaloid yang dihasilkan larut dalam air sehingga dapat dipisahkan dari senyawa lain yang larut dalam fase organik dengan cara mengekstraksi larutan ini dengan pelarut organik. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi adalah kloroform. Ekstraksi ini dilakukan berulang kali sampai fase organik yang didapat tidak berwarna, hal ini dilakukan agar yang terdapat pada fase air hanya senyawa alkaloid, sedangkan senyawa organik lainnya terekstraksi oleh kloroform. Fase air yang didapat berwarna coklat.

Untuk menarik alkaloid dari bentuk garam alkaloid, maka ke dalam fase air ini ditambah basa. Basa yang digunakan dapat NH_3, NH_4OH, Na_2Co_3 dan lain-lain. Pada penelitian ini basa yang digunakan adalah natrium karbonat, karena penggunaan amoniak dapat menyebabkan terbentuknya alkaloid yang merupakan hasil reaksi. Penambahan basa dilakukan sampai pH larutan 10, karena pada pH 10 hampir semua alkaloid yang ada dapat terekstraksi. Larutan yang telah ditambah basa ini berwarna coklat kemerahan. Larutan ini kemudian diekstraksi dengan pelarut organik, karena alkaloid dalam bentuk bebas akan larut dalam pelarut organik. Pelarut yang digunakan adalah kloroform. Kloroform merupakan pelarut alkaloid yang baik sehingga diharapkan hampir semua alkaloid yang ada akan larut dalam kloroform. Ekstraksi dengan kloroform ini dilakukan sampai fase air negatif terhadap uji alkaloid. Pengujian fase air dengan ketiga pereaksi alkaloid menunjukkan hasil yang negatif, artinya fase air tidak megandung alkaloid. Fase organik kemudian dievaporasi pada suhu 40^{o} C untuk menguapkan kloroform. Ekstrak yang didapat berwarna coklat.

Pengujian Ekstrak Kasar Alkaloid

Pada ekstrak yang didapat dilakukan uji kromatografi lapis tipis. Pereaksi penampak yang digunakan adalah pereaksi Dragendorf dan uap iodium. Untuk setiap pelat kromatografi yang dielusi dengan sistem pelarut yang sama dan dengan pereaksi penampak yang berbeda, elusi dilakukan secara bersamaan. Hal ini dimaksudkan untuk memberi kondisi yang sama pada pelat yang dielusi dengan sistem pelarut yang sama. Hasil yang didapat pada pemeriksaan ini adalah : pada semua pelat kromatografi yang disemprot dengan pereaksi Dragendorf dihasilkan hanya satu noda yang berwarna jingga untuk semua sistem pelarut yang dicoba. Nilai Rf dari noda tersebut dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 1. Daftar nilai Rf ekstrak kasar alkaloid dengan pereaksi Dagendorf

Pelarut	Rf	Warna noda
a	0,43	jingga
b	0,61	jingga
c	0,47	jingga
d	0,22	jingga

keterangan :
a = kloroform-metanol (9:1)
b = kloroform-etil asetat-metanol (2:2:1)
c = etil asetat-metanol (4:1)
d - kloroform-aseton (5:4)

Semua noda yang dihasilkan ini menunjukkan warna jingga sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat yang didapat mengandung senyawa alkaloid. Pewarnaan dengan pereaksi uap iodium menghasilkan kromatogram dengan banyak noda. Salah satu noda yang dihasilkan mempunyai bentuk dan nilai Rf yang sama dengan noda yang dihasilkan dengan pereaksi Dragendorf. Noda tersebut adalah yang mempunyai nilai Rf 0,48 dengan pelarut etil asetat-metanol (4:1), 0,22 dengan pelarut kloroform-aseton (5:4), 0,43 dengan pelarut kloroform-metanol (9:1), dan 0,61 dengna pelarut kloroform-etil asetat-metanol (2:2:1). hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang didapat hanya mengandung satu jenis alkaloid, karena dari sekian banyak noda yang dihasilkan dengan pereaksi uap iodium, hanya satu noda yang positif dengan pereaksi Dragendorf. Noda lain yang tampak dengan pereaksi uap iodium merupakan senyawa non alkaloid yang masih ada pada ekstrak alkaloid. Pemisahan dan pemurnian ekstrak dengan kromatografi kolom tidak dilakukan, karena ekstrak yang didapat hanya mengandung satu jenis alkaloid.

Untuk menghilangkan senyawaan non alkaloid tersebut sehingga yang ada hanya senyawa alkaloid maka pada ekstrak kasar alkaloid dilakukan ekstraksi kembali. Ekstraksi yang dilakukan sama prosesnya dengan yang dilakukan pada ekstrak yang pertama didapat dari ekstraksi dengan metanol, yaitu dengan menambahkan asam, basa dan ekstraksi dengan kloroform. Pada ekstraksi kedua didapat fase organik ini kemudian dievaporasi pada suhu 40° C. Ekstrak yang didapat berupa serbuk yang berwarna kuning dengan berat 70 mg (0,007%). Pada serbuk ini kemudian dilakukan identifikasi dan karakterisasi. Nilai Rf dengan pereaksi uap iodium dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 2. Daftar nilai Rf ekstrak kasar alkaloid dengan pereaksi uap iodium

Pelarut	Rf					Warna noda
a	0,43	0,66	0,81	0,86	0,91	kuning
b	0,61	0,78	0,94	0,97		kuning
c	0,48	0,74	0,80	0,85	0,93	kuning
d	0,22	0,47	0,73	0,77	0,82	kuning
	0,90					

keterangan :
a = kloroform-metanol (9:1)
b = kloroform-etil asetat-metanol (2:2:1)
c = etil asetat-metanol (4:1)
d = kloroform-aseton (5:4)

Kromatografi Lapis Tipis Isolat Alkaloid

Pada uji dengan kromatografi lapis tipis ini digunkan tujuh sistem pelarut dan tiga pereaksi pewarna, yaitu uap iodium, pereaksi Dragendorf dan asam sulfat 10 %. Hal ini bertujuan untuk meyakinkan bahwa isolat yang didapat mempunyai kemurnian yang tinggi. Untuk semua sistem pelarut yang sama, elusi dilakukan secara bersamaan dengan tujuan agar kondisi untuk sistem pelarut yang sama adalah sama. Hasil yang didapat pada uji ini adalah pada semua kromatografi dengan sistem pelarut dan pereaksi penampak yang berbeda didapatkan hanya satu noda. Nilai Rf noda tersebut untuk eluen benzena-metanol (9:1) adalah : 0,52 dengan pereaksi Dragendorf, 0,53 dengan pereaksi uap iodium dan 0,54 dengan pereaksi penampak asam sulfat. Nilai Rf dari sistem pelarut lain dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3. Daftar nilai Rf isolat alkaloid dengan beberapa sistem pelarut dan pereaksi penampak

Pelarut	bentuk noda	Rf		
		Dg	iodium	H_2SO_4
1	lonjong	0,51	0,52	0,50
2	lonjong	0,23	0,24	0,23
3	lonjong	0,20	0,20	0,20
4	bulat	0,52	0,53	0,54
5	lonjong	0,52	0,52	0,52
6	bulat	0,61	0,61	0,60
7	lonjong	0,33	0,34	0,34

keterangan :
1 = kloroform-etanol (9:1)
2 = etil asetat-etanol (4:1)
3 = kloroform-aseton (5:4)
4 = benzena-metanol (9:1)
5 = kloroform-etanol-etil asetat-aseton (6:2:2:1)
6 = benzena-kloroform-metanol (7:3:2)
7 = kloroform-etil asetat-metanol (2:2:1)

Dari hasil yang didapat yaitu satu noda untuk semua sistem pelarut dan pereaksi penampak yang digunakan menunjukkan bahwa isolat yang didapat hanya mengandung satu jenis alkaloid. Nilai Rf yang dihasilkan oleh sistem pelarut yang sama dan pereaksi penampak yang berbeda menunjukkan nilai yang tidak jauh berbeda. Nilai Rf tersebut adalah Rf dari senyawa yang sama. Bentuk noda yang dihasilkan tidak semuanya sama. Noda ada yang berbentuk lonjong dan ada yang bulat. Noda yang dihasilkan dengan pelarut benzena-kloroform-metanol (7:3:2) dan benzena-metanol (9:1) berbentuk bulat, sedangkan dengan pelarut lainnya berbentuk lonjong. Warna noda yang dihasilkan dengan pereaksi Dragendorf adalah jingga, dengan uap iodium kuning, dan dengan asam sulfat kuning kehijauan. Pada pewarnaan dengan pereaksi Dragendorf dan uap iodium noda dapat langsung dilihat, sedangkan pada pewarnaan dengan asam sulfat warna noda baru dapat dilihat setelah pelat kromatografi dipanaskan pada suhu 100^{o} C.

Noda yang berbentuk lonjong mungkin mengandung lebih dari satu senyawa yang tidak dapat dipisahkan. Untuk meyakinkan kemurnian isolat yang didapat dilakukan kromatografi lapis tipis dua dimensi. hasil yang didapat pada elusi pertama menunjukkan satu noda yang berwarna kuning muda dan berbentuk lonjong dengan nilai Rf 0,29. Untuk mengetahui apakah noda yang berbentuk panjang ini terdiri dari satu senyawa atau tidak, maka setelah kering pelat kromatografi ini dielusi kembali dengan sistem pelarut yang kedua. Hasil yang diperoleh setelah pewarnaan dengan pereaksi Dragendorf adalah satu noda yang berwarna jingga dan berbentuk lonjong dengan nilai Rf 0,63. Pewarnaan hanya dilakukan setelah elusi yang kedua. Dari hasil yang didapat menunjukkan bahwa isolat alkaloid yang didapat mempunyai kemurnian yang tinggi.

Identifikasi dan Karakterisasi

Uji Dengan Pereaksi Alkaloid

Pada isolat dilakukan uji dengan pereaksi alkaloid. Hal ini bertujuan untuk meyakinkan bahwa isolat yang didapat benar-benar alkaloid. Pada pengujian ini didapatkan hasil berupa endapan berwarna jingga pada penambahan dengan pereaksi Dragendorf, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan putih kekuningan dengan pereaksi Mayer. hasil ini menunjukkan bahwa isolat yang didapat benar-benar alkaloid.

Pembuatan Spektrum Ultraviolet

Spektrum ultraviolet yang didapat dari isolat berwarna kuning ini mempunyai panjang gelombang maksimum pada 225,0 nm, 252,0 nm dfan 337,5 nm. Serapan yang dihasilkan pada 252,0 nm menunjukkan serapan dari cincin benzena dengan transisi $\pi \rightarrow \pi^{R}$ Spektrum ultraviolet isolat dapat dilihat pada lampiran.

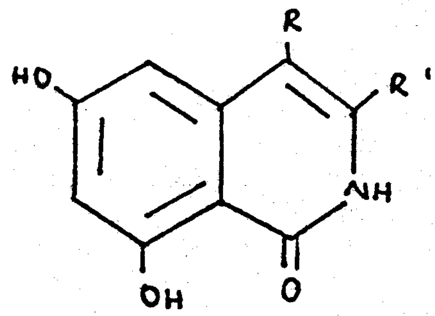
Pembuatan Spektrum Inframerah

Spektrum infra merah yang dihasilkan mempunyai nilai panjang gelombang maksimum pada: 3394 cm^{-1}, 2951 cm^{-1}, 2917 cm^{-1}, 2825 cm^{-1}, 2740 cm^{-1}, 2680 cm^{-1}, 2571 cm^{-1}, 1853 cm^{-1}, 1663 cm^{-1}, 1617 cm^{-1}, 1500 cm-1 dan 1435 cm^{-1}. Di daerah sidik jari (900-1400 cm^{-1}) isolat banyak memberikan spektrum yang sulit untuk diidentifikasi (Sudjadi, 1983). Serapan yang dihasilkan pada 2951, 2917 dan 2825 cm^{-1} menunjukkan bahwa isolat alkaloid yang didapat merupakan senyawa aromatik. Serapan khas pada 1663 cm^{-1} menunjukkan bahwa isolat mempunyai gugus karbonil. Serapan yang dihasilkan di sekitar 1400-1660 cm^{-1} adalah serapan yang disebabkan oleh adanya ikatan C=C. Serapan disekitar 1266-1342 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C-N, serapan pada 3394 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus N-H sekunder, sehingga dapat diduga bahwa atom nitrogen alkolaid berada dalam bentuk amida, karena adanya serapan gugus karbonil. Dari spektrum yang didapat dapat dikatakan bahwa alkaloid ini mengandung gugus hidroksil karena adanya serapan khas hidroksil disekitar 2500-3500 cm^{-1}. Data panjang gelombang dan dugaan gugus fungsi alkaloid kulit kayu johar dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 4. Panjang gelombang serapan infra merah dan dugaan gugus fungsi isolat alkaloid kulit kayu johar.

Panjang gelombang (cm^{-1})	Dugaan Gugus Fungsi
3394	N-H
2500-3500	O-H
2951, 2917, 2825	C-H aromatik
1663	C = O
1400-1600	C = C
1266-1342	C-N

Data serapan inframerah dari isolat, menunjukkan adanya gugus N- H, O-H, C=O, C=C, C-N dan C-H aromatik. Pada alkaloid siamin, siamin A, siamin B, dan siamin C atom nitrogen berada dalam bentuk amida dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid-alkaloid ini juga mempunyai dua gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena, Ketiga alkaloid tersebut mempunyai struktur yang mirip; perbedaannya hanya pada gugus alkil. Struktur alkaloid dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 1. Struktur Molekul Alkaloid

1. siamin : R=H, R'=CH_3
2. siamin A : R=R'=CH_3
3. siamin B : R=R'=H
4. siamin C : R=Ch_3,R'=H

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil yang didapat maka dapat disimpulkan bahwa kulit kayu johar (*Cassia siamea* Lamk.) mengandung alkaloid seperti pada daunnya. Alkaloid ini memberikan endapan berwarna putih kekuningan dengan pereaksi Mayer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorf. Kromatografi lapis tipis isolat menunjukkan satu noda berwarna jingga dengan pereaksi Dragendorf, kuning dengan uap iodium dan kuning kehijauan dengan asam sulfat 10%.

Alkaloid yang dapat diduga mempunyai atom nitrogen yang berbentuk amida, merupakan senyawa aromatik, mempunyai gugus hidroksil, dan sistem cincin benzena. Diduga alkaloid yang didapat masih merupakan campuran alkaloid siamin, siamin A, siamin B, dan siamin C yang sulit untuk dipisahkan karena mempunyai struktur molekul yang mirip.

Saran

Pada penelitian ini identifikasi yang dilakukan belum dapat digunakan untuk menentukan struktur kimia alkaloid. Untuk melengkapi hasil penelitian ini maka disarankan:

Perlu dilakukan pemeriksaan dengan HPLC unutk mengetahui apakah alkaloid yang didapat benar-benar sudah murni atau belum dan karakterisasi lebih lanjut untuk menentukan struktur molekul alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A. 1986. Kimia Organik Bahwa Alam. Dept. P dan K. Univ. Terbuka. Jakarta.

Arunlakshana, D. 1949. Pharmacologycal Study of The Leaves of *Cassia siamea*. Siriraj Hospital Gazette. 1:434-444.

Cordell, G.A. 1978. Alkaloid in Other. Encyclopedia of Chemical Technology. 3rd ed. Vol 1. John Willey and Son. New York.

______________________. 1981. Introduction to Alkaloid. A Biogenetic Approach. John Willey and Sons. New York.

Degering, F. 1950. an Outline of Organic Nitrogen Compound. Univ. Lithopainters. Minchigan.

Evans, W.C. and J.F. Lampard. 1972. Alkaloid of *Datura suavelolens*. Phytochemistry. 11:3293-3297. Pergamon Press. Inggris.

Farid, M. 1990. Isolasi dan Karakterisasi Salah Satu Alkaloid Dari Daun *P. montana*. Univ. Padjajaran. Bandung.

Greassor, M. 1989. Anti Malarial Effects of African Medicinal Plants. J. of Ethnopharmacologi. 25:115-118.

Hendry, T.A. 1913. The Plants. Alkaloid. J & A Churchil. London.

Kasahara, S. 1986. Indeks Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia. PT. Eisai. Jakarta.

Metta, S.S. 1971. Isolasi Alkaloid dari *Cassia siamea*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Noller, C.R. 1958. Textbook of Organic Chemistry. 2rd ed. W.B. Sanders Company. Philadelphia.

Schlittler, E. 1970. Pharmacologically Interesting Clinically Useful Alkaloids. Vol 1. January 1969-June 1970.

Silverstein; Bassler and Morrill. 1986. Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik. Terjemahan A.J. Hartono. Erlangga. Jakarta.

Sudjadi. 1983. Penentuan Struktur Senyawa Organik. Ghalia Indonesia. Jakarta.

Tetrawati, D.W. 1990. Isolasi Alkaloid dari Daun Johar (*Cassia siamea* Lamk.) Leguminosae. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Verpoorte, R. 1989. Some Phytochemical Aspect of Medicinal Plant Research. J. of Ethnopharmacology. 25:43-59.

Waller, G.R. and E.K. Nowacki. 1978. Alkaloid Biology Metabolisme in Plant. Plenum Press. New York.