

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ALIFATIK TAK JENUH DARI KULTUR AKAR BESARAN (*Morus Cathayana*)

Ni Luh Putu Yuniantari^{1*}, Euis Holisotan Hakim²

¹Program Studi D-4 Pengembangan Produk Agroindustri, Jurusan Pertanian, Politeknik Negeri Banyuwangi, Jalan Raya Jember No. KM13, Kawang, Labanasem, Kec. Kabat, Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur 68461

²Kelompok Keahlian Kimia Organik Bahan Alam, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung Jl. Ganesa No. 10. Coblong, Kota Bandung, Jawa Barat Indonesia 40132

*E-mail: yuniantari@poliwangi.ac.id

Riwayat Article

Received: 03 January 2025; Received in Revision: 18 February 2025; Accepted: 2 March 2025

Abstract

Moraceae is a plant that is widely distributed in Asia and the Indopacific Islands. One of the genera belongs to Moraceae that has been widely investigated which contains some bioactive compounds is *Morus*, namely *M. cathayana*. The aim of this research is determining the diversity of secondary metabolites of root cultures of *Morus cathayana*. Isolation of secondary metabolites from *Morus cathayana* root cultures was using several chromatographic techniques and eluents combination are *n*-hexane, acetone, chloroform, ethyl acetate and methanol. The compound KMAC-4 was one of the isolated in this work. Characterization of the KMAC-4 compound using the FTIR ONE Perkin-Elmer spectrophotometer showed that the KMAC-4 compound had an absorption at wave number (cm⁻¹): 3654.97; 3650.45; 2936.87; 1718.71; 1465.76; 1381.56; 1049.50. Based on IR spectrum data that has been interpreted, analyzed and studied according to the phytochemical of the *Morus*, it can be concluded that the KMAC-4 is an unsaturated aliphatic compound which belongs to the steroid or terpenoid group.

Keywords: *Morus Cathayana*, Root Culture, Steroid, Terpenoid

Abstrak

Moraceae adalah salah satu family tumbuhan yang tersebar secara meluas, sebagian besar spesies tumbuhan ini terdapat di daerah tropis yakni Asia dan Kepulauan Indopasifik. Salah satu genus dari family Moraceae yang telah banyak diteliti dan diketahui senyawa bioaktifnya adalah genus *Morus* yakni *M. cathayana*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada kultur akar *Morus cathayana*. Isolasi metabolit sekunder dari kultur akar *Morus cathayana* dilakukan dengan menggunakan beberapa teknik kromatografi yakni kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi lapis tipis (KLT), dan kromatografi radial dengan kombinasi eluennya adalah *n*-heksana, aseton, kloroform, etil asetat, dan metanol. Salah satu senyawa yang dapat diisolasi pada penelitian ini adalah senyawa KMAC-4. Karakterisasi senyawa KMAC-4 dengan menggunakan spektrofotometer FTIR ONE Perkin-Elmer didapatkan data bahwa senyawa KMAC-4 memiliki serapan pada bilangan gelombang (cm⁻¹): 3654,97; 3650,45; 2936,87; 1718,71; 1465,76; 1381,56; 1049,50. Berdasarkan data spektrum IR yang telah diinterpretasikan dan dianalisis serta dikaji menurut kelaziman fitokimia tumbuhan genus *Morus* dapat disimpulkan bahwa senyawa KMAC-4 adalah senyawa jenis alifatik tak jenuh yang termasuk golongan steroid atau terpenoid.

Kata Kunci: Kultur Akar, *Morus Cathayana*, Steroid, Terpenoid

1. Introduction

Moraceae adalah salah satu family tumbuhan yang tersebar secara meluas, sebagian besar spesies tumbuhan ini terdapat di daerah tropis yakni Asia dan Kepulauan Indopasifik tepatnya dari Asia Selatan, Asia Tenggara sampai kepulauan Solomon, kepulauan Pacific, Australia Utara, dan Amerika Tengah. Family tumbuhan Moraceae memiliki 60 genus dan 1400 spesies (Hakim, 2011; Zerega et al., 2005; Berg, 2001). Salah satu genus dari family Moraceae yang telah banyak diteliti dan diketahui senyawa bioaktifnya adalah genus *Morus*. Tumbuhan *Morus* terdiri dari 16 spesies dan 11 spesies terdapat di Cina, lima diantar 11 spesies yang terdapat di Cina merupakan tumbuhan endemik Cina (Zhekun & Gilbert, 2003). Sebagian besar dari bagian tumbuhan *Morus* seperti daun, kulit akar, cabang, dan buah dikatakan sebagai bahan obat dalam farmakope China

(1985) sedangkan bagian lainnya seperti getah dan kulit kayu juga dimanfaatkan secara luas (R & Chauhan, 2008). Beragamnya manfaat dari tumbuhan *Morus* disebabkan adanya metabolit sekunder yang dihasilkan dari biosintesis tumbuhan tersebut. Hal ini dibuktikan dengan oleh beberapa penelitian. Salah satunya Nomura, 1976 melaporkan telah berhasil mengisolasi 3 senyawa baru turunan flavanon yakni morusin, siklomorusin, dan senyawa A yang diusulkan sebagai senyawa baru turunan flavanon serta belum diberikan nama spesifik berhasil diisolasi dari akar *Morus alba L.* (Nomura *et al.*, 1976).

Salah satu spesies *Morus* yang telah diteliti metabolit sekundernya adalah *M. cathayana*.



Gambar 1. Tanaman *M. cathayana*

Beberapa penelitian yang telah berhasil mengisolasi metabolit sekunder dari akar *M. cathayana* diantaranya isolasi senyawa cathayanon A, cathayanon B, sanggenon C, dan sanggenon O. Uji bioaktivitas terhadap sel BAEC HL-60 menunjukkan bahwa cathayanon A dan B dapat menghambat pertumbuhan sel tersebut masing-masing 44,72 dan 39,02% (Shen & Lin, 2001). Empat senyawa baru golongan 2-arilbenzofuran berhasil diisolasi dari akar *M. cathayana* yakni cathafuran A, B, C, dan D. Dimana cathafuran B dan C menunjukkan aktivitas menengah dalam menghambat aktivitas 5 jenis sel kanker manusia dengan rentang nilai IC_{50} senyawa tersebut adalah antara 6,17 hingga 9,60 $\mu\text{g/mL}$. Adapun 5 jenis sel kanker yang digunakan adalah sel kanker paru-paru, kanker hati, kanker perut, kanker usus besar, dan sel kanker ovarium (Ni *et al.*, 2009). Selain itu Ni, 2010 melaporkan bahwa berhasil mengisolasi enam senyawa baru yakni cathayanon F-J, cathayanin A dan dua senyawa yang telah diketahui yakni cathayanin B-C. Uji bioaktivitas terhadap 5 jenis sel kanker manusia yakni sel kanker paru-paru, kanker hati, kanker perut, kanker usus besar, dan sel kanker ovarium menunjukkan bahwa cathayanon F-J dan cathayanin B memiliki nilai IC_{50} yang berkisar antara 4,7 hingga 9,8 mg/ml, dimana nilai IC_{50} mengindikasikan bahwa biokativitas senyawa tersebut lemah (Ni *et al.*, 2010). Ayurini, 2011 melaporkan telah berhasil mengisolasi senyawa *adduct* Diels-Alder yaitu calkomorasin dari kultur tunas *M. cathayana*, dalam penelitian tersebut dilaporkan pula bahwa calkomorasin (9) memiliki nilai IC_{50} sebesar 4,4 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel murine leukemia P-388 (Ayurini, 2011).

Beragamnya bioaktivitas dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan *M. cathayana* menyebabkan metabolit sekunder tumbuhan ini sangat berpotensi untuk diisolasi metabolit sekundernya untuk mengetahui keberagaman metabolit sekunder yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi keragaman dan kemiripan metabolit sekunder dari kultur akar *M. cathayana* dengan akar dari tumbuhan alaminya. Dimana dengan dikembangkannya kultur akar *M. cathayana* dapat menjadi salah satu alternatif untuk mendapatkan metabolite sekunder yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi *prodrug* dalam jumlah maksimal dan dalam waktu singkat.

2. Methodology

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Bahan Alam Institut Teknologi Bandung dengan menggunakan kultur akar *M. cathayana* yang telah dikeringkan dan selanjutnya difraksinasi dan

dimurnikan dengan menggunakan berbagai teknik kromatografi dan kombinasi eluen n-heksana, kloroform, EtOAc, dan metanol

a. Bahan

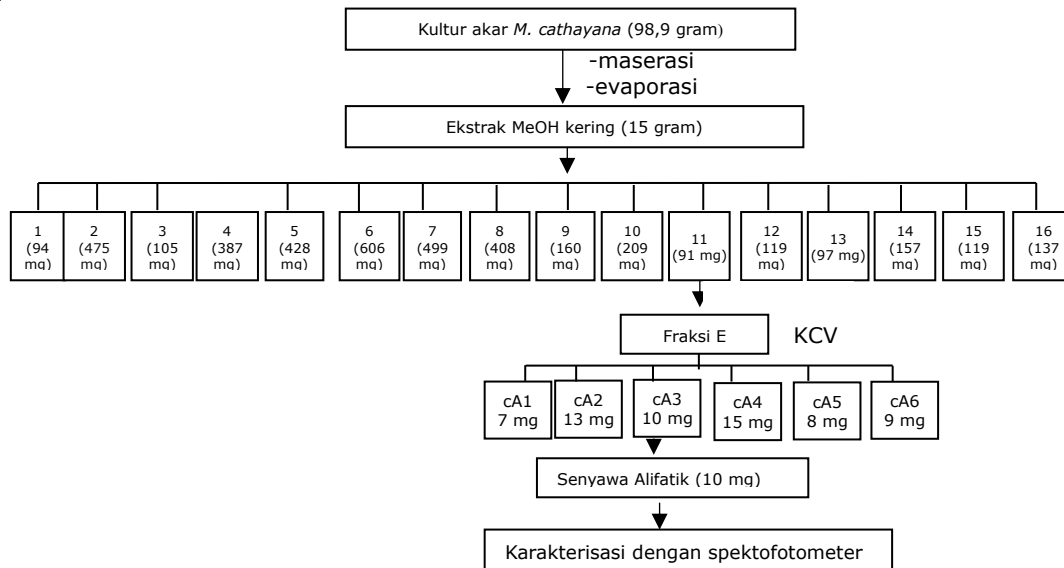
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur akar *M. cathayana*, pelarut organik (*n*-heksana, aseton, kloroform, etil asetat, dan metanol) pelarut yang digunakan adalah pelarut teknis dan pelarut pro analisis, pelat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), silika *gel*, aluminium foil, kertas saring, dan pereaksi penampak noda (larutan cerium sulfat).

b. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat peralatan gelas, rotary evaporator, kromatotron, spektrofotometer FTIR ONE *Perkin- Elmer*, dan neraca analitik.

c. Prosedur

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Institut Teknologi Bandung. Prosedur dalam penelitian ini diawali dengan menyiapkan sampel kultur akar *M. cathayana* yang telah kering sebanyak 98,9 gram. Sampel tersebut kemudian dihaluskan sehingga berbentuk serbuk dan dimaserasi dengan menggunakan metanol selama 3x24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh berat ekstrak MeOH kering sebesar 14,5 gram. Selanjutnya ekstrak MeOH kering difraksinasi dengan menggunakan metode KVC dengan sistem eluen *n*-Heksana: etil asetat. Metode KVC adalah metode kromatografi yang menggunakan kolom dengan bantuan tekanan vakum untuk dapat mempartisi ekstrak kering. Pada metode pemisahan dengan KVC, senyawa yang kurang berinteraksi dengan pori-pori silika akan terelusi pada fraksi awal, sedangkan senyawa-senyawa yang berinteraksi dengan silika pada kolom KVC akan terelusi pada fraksi berikutnya. Fraksi yang didapatkan kemudian dimurnikan dengan teknik kromatografi radial menggunakan eluen EtOAc, Kloroform, *n*-heksana, dan metanol pada berbagai perbandingan. Setelah mendapatkan senyawa yang diduga sebagai senyawa murni maka dilakukan dengan uji 3 eluen dan kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR ONE *Perkin- Elmer*.

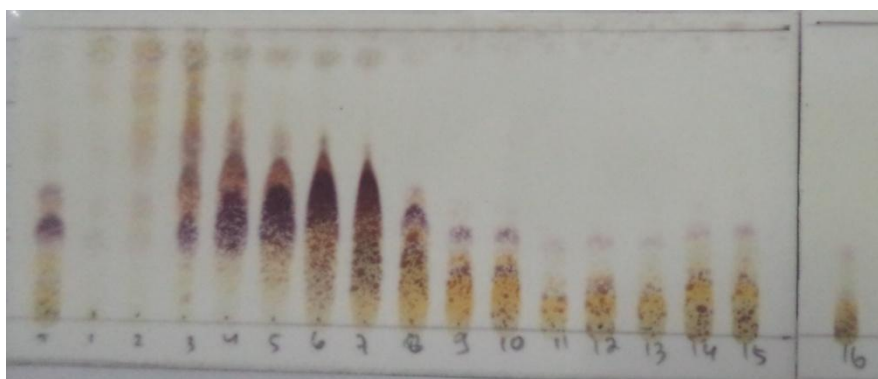


Gambar 2. Prosedur Penelitian Isolasi dan Karakterisasi KMAC-4

Dalam penelitian ini menggunakan sampel kultur akar *M. cathayana*. Kultur akar yang telah panen kemudian dicuci dengan air kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan setiap 3 hari ditimbang untuk memastikan bahwa kandungan air yang terdapat dalam sampel telah mencapai batas minimum dan dibolak balik untuk menghindari tumbuhnya jamur pada sampel. Pengeringan dilakukan hingga diperoleh berat kering sampel yang konstan yakni sebesar 98,9 gram. Dalam proses pengeringan hanya diangin-anginkan dan sampel tidak terkena sinar matahari. Hal ini untuk mencegah rusaknya metabolit sekunder yang terdapat pada sampel, mengingat senyawa organik adalah senyawa yang mudah terdegradasi pada suhu tinggi. Selanjutnya sampel yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan alat penghalus sehingga sampel berupa serbuk. Penghalusan sampel dilakukan untuk memaksimalkan luas

bidang sentuh sampel dengan pelarut organik pada proses maserasi. Maserasi dilakukan 3x24 jam dan sampel di tutup dengan menggunakan plastik. Pada penelitian ini, maserasi menggunakan pelarut metanol karena sifat pelarut metanol yang merupakan pelarut polar dan memiliki harga yang terjangkau, dimana diharapkan dengan dilakukannya maserasi selama 3x24 jam dan menggunakan pelarut metanol maka sebagian besar metabolit sekunder yang terdapat pada sampel telah terekstrak. Dalam proses maserasi, peneliti memastikan bahwa sampel terendam dengan metanol. Peneliti menutup wadah tempat maserasi untuk menghindari penguapan metanol karena metanol mudah menguap. Proses selanjutnya adalah mengeringkan filtrat hasil ekstraksi dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak metanol (MeOH) kering dengan berat konstan seberat 15 gram.

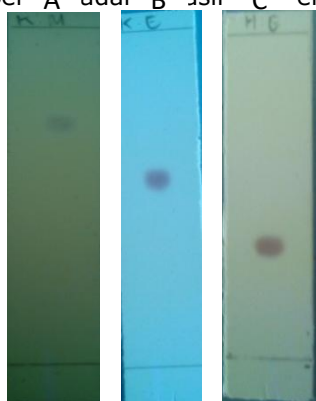
Tahap selanjutnya, setelah mendapatkan ekstrak MeOH kering adalah melakukan fraksinasi dengan kromatografi vakum cair (KVC) dan pemurnian dengan menggunakan kromatografi radial. Setelah tahap fraksinasi maka didapatkan 16 fraksi yang memiliki kenampakan spot pada kromatogram KLT (Kromatografi Lapis Tipis) sebagai berikut.



Gambar 3. Kromatogram hasil KVC ekstrak kultur akar *M. cathayana*

3. Results and Discussion

Pemurnian senyawa KMAC-4 diawali dengan memilih fraksi no 11 dengan massa 91 mg. fraksi no 11 dipilih karena dari kenampakan spot KLT hasil fraksinasi dengan KVC menunjukkan spot yang sederhana. Fraksi no 11 kemudian dimurnikan dengan menggunakan kombinasi eluen *n*-heksana dan etil asetat (EtOAc). Dari pemurnian yang dilakukan maka didapatkan senyawa tunggal KMAC-4 sebanyak 10 gram. Untuk memastikan bahwa senyawa yang didapatkan adalah senyawa murni maka senyawa KMAC-4 diuji dengan sistem 3 eluen. Sistem 3 eluen yang digunakan adalah kombinasi dari kloroform: metanol (9:1), kloroform: EtOAc (8:2), *n*-heksana: EtOAc (4:6). Ber A adal B asil C -eluen senyawa KMAC-4.

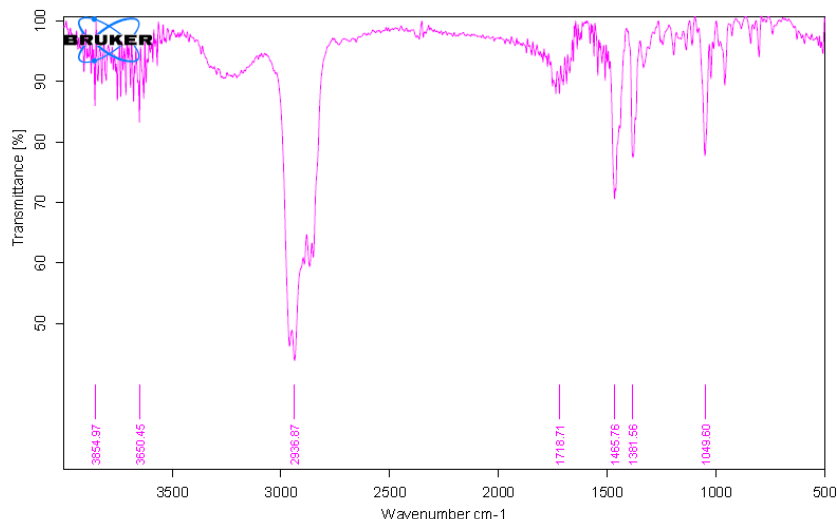


Gambar 4 Kromatogram KMAC-4 dalam 3 sistem eluen

Berdasarkan hasil uji 3 eluen didapatkan bahwa senyawa KMAC-4 membentuk spot tunggal sehingga dapat dipastikan senyawa KMAC-4 adalah senyawa murni. Pengujian dengan menggunakan sistem 3 eluen untuk memastikan bahwasanya senyawa tersebut murni, hal ini didasarkan pada pemahaman bahwa suatu zat dapat membentuk spot tunggal di satu kombinasi

pelarut namun apabila senyawa tersebut dapat memisah jika menggunakan kombinasi pelarut yang lain maka senyawa tersebut bukan senyawa murni namun merupakan campuran dari beberapa senyawa yang memerlukan proses pemurnian lebih lanjut.

KMAC-4 kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Spektrofotometer FTIR digunakan untuk dapat mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa KMAC-4. Adapun spektrum IR dari senyawa KMAC-4 dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5 Spektrum IR senyawa KMAC-4 dalam KBr

Berdasarkan spektrum IR senyawa KMAC-4 dalam KBr dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

Spektrum IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3654,97; 3650,45; 2936,87; 1718,71; 1465,76; 1381,56; 1049,50. KMAC-4 berupa serbuk putih.

Karakterisasi senyawa KMAC-4 dipreparasi dengan menggunakan KBr saat pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer IR. Hal ini disebabkan karena KBr dapat digunakan pada rentang bilangan gelombang 5000–400 cm^{-1} , pada rentang bilangan gelombang tersebut diharapkan dapat melewati daerah sidik jari seluruh gugus fungsi senyawa organik (Larkin, 2017). Pada spektrum IR senyawa KMAC-4 dapat dilihat terdapat puncak serapan pada bilangan gelombang 3954,97 cm^{-1} dan 3650,45 cm^{-1} yang merupakan ciri khas adanya gugus hidroksil, dimana pada rentang bilangan gelombang tersebut diidentifikasi sebagai daerah vibrasi untuk regangan (ulur) ikatan O-H. Menurut Larkin, 2017 bilangan gelombang 3000–3700 cm^{-1} adalah daerah sidik jari untuk regangan gugus O-H (Larkin, 2017). Dugaan adanya gugus hidroksil pada senyawa KMAC-4 diperkuat dengan adanya serapan tajam dengan intensitas kuat pada panjang gelombang 1049,50 cm^{-1} yang merupakan ciri khas adanya regangan ikatan C-OH. Kemudian adanya serapan pada bilangan gelombang 2936,87 cm^{-1} menunjukkan adanya CH-alifatik, dimana pada panjang gelombang tersebut adalah vibrasi regangan CH- alifatik. Keberadaan C-H gugus alkil dan C-H bending diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk pada daerah bilangan gelombang 1465,76 dan 1381,56 cm^{-1} . Pita yang muncul di daerah 1381,56 cm^{-1} dengan kenampakan satu puncak yang agak melebar diduga merupakan sinyal dari *gem*-dimetil. Pada spektrum IR KMAC-4 terdapat pula serapan pada daerah 1718,71 cm^{-1} . Dimana daerah bilangan gelombang 1600–1700 cm^{-1} merupakan daerah khas yang menunjukkan adanya ikatan karbon sp^2 (C=C) (Fessenden, 1982). Senyawa KMAC-4 tidak berpendar dibawah UV sehingga dapat diidentifikasi bahwa senyawa KMAC-4 adalah senyawa yang tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi ataupun termasuk golongan senyawa alifatik tak jenuh.

Berdasarkan data spektrum yang didapatkan dari spektrofotometer IR, dapat dipastikan senyawa KMAC-4 adalah senyawa yang memiliki gugus -OH yakni senyawa golongan alkohol dan bukan senyawa golongan asam karboksilat. Hal ini disebabkan karena tidak munculnya pita di daerah bilangan gelombang 1640–1820 cm^{-1} yang merupakan sidik jari gugus karbonil, selain itu tidak muncul pita yang melebar di daerah bilangan gelombang 3330 cm^{-1} . Pita yang melebar pada

bilangan gelombang tersebut disebabkan karena senyawa asam karboksilat akan membentuk *dimer* karena adanya ikatan hidrogen.

Berdasarkan karakterisasi, senyawa KMAC-4 adalah senyawa yang tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi ataupun termasuk kelompok senyawa alifatik tak jenuh. Berdasarkan analisis data spektrum diatas dan kelaziman kajian fitokimia maka diduga senyawa KMAC-4 adalah senyawa yang masuk ke dalam golongan steroid atau golongan terpenoid. Untuk memastikan struktur senyawa KMAC-4 dan golongannya maka diperlukan karakterisasi lebih lanjut dengan menggunakan spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR) yakni H-NMR dan C-NMR.

4. Conclusion

Pada penelitian ini yakni isolasi metabolit sekunder dari kultur akar *M. cathayana* dari fraksi non-polar didapatkan senyawa KMAC-4. Karakterisasi yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR ONE Perkin- Elmer didapatkan data bahwa senyawa KMAC-4 memiliki serapan pada bilangan gelombang (cm^{-1}): 3654,97; 3650,45; 2936,87; 1718,71; 1465,76; 1381,56; 1049,50. Berdasarkan data spektrum IR yang telah diinterpretasikan dan dianalisis serta dikaji menurut kelaziman fitokimia tumbuhan genus *Morus* dapat disimpulkan bahwa senyawa KMAC-4 adalah senyawa jenis alifatik tak jenuh yang termasuk golongan steroid atau terpenoid.

Struktur dan golongan senyawa KMAC-4 belum dapat diketahui secara pasti oleh karena itu diperlukan karakterisasi dengan menggunakan NMR yakni H-NMR dan C-NMR. Selain itu, untuk mengetahui kebermanfaatan senyawa KMAC-4, diperlukan uji bioaktivitas lebih lanjut.

References

- Ayurini, M. (2011): Senyawa Fenol Type Adduct Diels-Alder dari Kultur Tunas *Morus Cathayana*, Skripsi Program Sarjana, Institut Teknologi Bandung. 64–65.
- Berg, C. C. (2001). *Moreae, Artocarpeae, and Dorstenia (Moraceae)*. Published for the Organization for Flora Neotropica by the New York Botanical Garden.
- Fessenden, R. J. JS Fessenden. (1982). *Organic Chemistry. 2nd. ed.* Prindle: Weber & Schmidt Publishers.
- Hakim, A. (2011). Keanekaragaman Metabolit Sekunder Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Nusantara Bioscience*, 2, 146–156.
- Larkin, P. (2017). *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. Elsevier.
- Ni, G., Zhang, Q. J., Wang, Y. H., Chen, R. Y., Zheng, Z. F., & Yu, D. Q. (2010). Chemical constituents of the stem bark of *Morus cathayana*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 12(6), 505–515. <https://doi.org/10.1080/10286020.2010.489817>
- Ni, G., Zhang, Q. J., Zheng, Z. F., Chen, R. Y., & Yu, D. Q. (2009). 2-Arylbenzofuran derivatives from *Morus cathayana*. *Journal of Natural Products*, 72(5), 966–968. <https://doi.org/10.1021/np800789y>
- R, V. K., & Chauhan, S. (2008). Mulberry : Life enhancer. *J. Med. Plants Res.*, 2(10), 271–278.
- Shen, R. C., & Lin, M. (2001). Diels-Alder type adducts from *Morus cathayana*. *Phytochemistry*, 57(8), 1231–1235. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00171-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00171-6)
- Zerega, N. J. C., Clement, W. L., Datwyler, S. L., & Weiblen, G. D. (2005). Biogeography and divergence times in the mulberry family (Moraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(2), 402–416. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.07.004>
- Zhekun, Z., & Gilbert, M. G. (2003). *Moraceae: Flora of China* vol. 5. Flora of China Editorial Committee. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.