

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KAWISTA (*Limonia acidissima* L.)

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ETHANOL EXTRACT OF KAWISTA STEM BARK (*Limonia acidissima* L.)

Listyana Dewi Prastiwi¹, Haryoto^{1*}

¹Magister Farmasi, Sekolah Pasca Sarjana, Universitas Muhammadiyah Surakarta,
Surakarta, Indonesia

Jl. Ahmad Yani Tromol Pos 1, Pabelan, Kartasura, Surakarta 57102

*Email Corresponding: har254@ums.ac.id

Submitted: 28 January 2023

Revised: 20 March 2023

Accepted: 24 March 2023

ABSTRAK

Kawista (*Limonia acidissima* L.) merupakan tumbuhan berhabitus pohon, dapat tumbuh setinggi 9 meter. Batangnya relatif kecil dengan cabang dan ranting yang ramping, serta memiliki kebiasaan meluruhkan daunnya. Cabang pohon kawista berkulit batang kasar dan berduri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi kandungan senyawa pada isolat kulit batang kawista. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, fraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair, isolasi menggunakan kromatotron, identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Berdasarkan hasil maserasi diperoleh rendemen sebesar 16,53%, fraksinasi diperoleh rendemen etil asetat 28% dan n-heksan 22%. Hasil isolasi diperoleh 2 spot yang berbeda yaitu isolat 1 dan isolat 2. Hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis kedua isolat menandakan bahwa isolat yang dibaca positif mengandung flavonoid golongan flavonol. Hasil FTIR senyawa isolat 1 dan 2 memiliki spektrum senyawa flavonol yaitu dengan adanya gugus karboksil pada bilangan gelombang 1651,83 cm⁻¹ dan 1706,08 cm⁻¹.

Kata kunci : *Limonia acidissima* L., Isolasi, Spektrofotometer UV-Vis, FTIR

ABSTRACT

Kawista (*Limonia acidissima* L.) is a tree-loving plant, can grow up to 9 meters high). The trunk is relatively small with slender branches and twigs, and has a habit of shedding its leaves. Kawista tree branch, rough and thorny bark. The purpose of this study was to identify the compound content in kawista stem bark isolate. The extraction method used was maceration, fractionation using the liquid-liquid partition method, compound identification using a UV-Vis and FTIR spectrophotometer. Based on the results of maceration, yields of 16.53% were obtained, fractionation obtained yields of 28% ethyl acetate and 22% n-hexane. The results of chromatotron isolation obtained 2 different spots, namely isolate 1 and isolate 2. The results of UV-Vis spectrophotometer identification of the two isolates indicated that the isolates read positively contained flavonols. The FTIR results of isolates 1 and 2 have spectra that are suspected to contain flavonol compounds, namely in the presence of carboxyl groups at wave numbers 1651.83 cm⁻¹ and 1706.08 cm⁻¹.

Keywords: *Limonia acidissima* L., Isolation, UV-Vis Spectrophotometer, FTIR.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu daripada negara tropis yang mempunyai berbagai macam keanekaragaman hayati yang tinggi serta aset yang bisa dijadikannya sebagai bahan obat-obatan. Salah satu tanaman yang memiliki potensi dalam dijadikannya sebagai obat ialah tanaman Kawista (*Limonia acidissima* L.). Kawista ialah sebuah tanaman yang termasuk ke dalam anggota dari Rutaceae. Spesies tersebut sudah cukup dikenal sebagai tanaman yang dijadikan sebagai obat-obatan kuno di zaman Romawi serta Yunani dan jadi tanaman obat yang paling terpenting di negara India. Didasarkan pada riset sebelumnya, disebutkan bahwasanya kulit batang pohon Kawista memiliki kandungan metabolit sekunder golongan flavonoid, fenol, terpenoid, serta juga saponin (Fikayuniyar, 2017) dimana senyawa flavonoid diduga berpotensi untuk berbagai macam terapi salah satunya antidiabetes dengan mekanisme menghambat enzim alfa amilase karena adanya senyawa bioaktif dan antioksidan (Srivastava and Mishra, 2020). Kandungan antioksidan dalam batang kawista bisa memberikan bantuan dalam melakukan pencegahan terhadap timbulnya stres oksidatif, dimana adanya stress oksidatif tersebut bisa membuat terjadinya patogenesis diabetes mellitus (Sarian et al., 2017).

Salah satu senyawa yang dapat dijadikan sebagai antioksidan adalah flavonoid, yang mana bisa memodulasi stres oksidatif dalam tubuh dengan menetralkan efek spesies nitrogen dan oksigen, sehingga bisa mencegah penyakit diabetes mellitus (Hossain et al., 2016). Aktivitas antidiabetes dari flavonoid mendukung regulasi pencernaan terhadap pensinyalan insulin, karbohidrat, pengambilan glukosa, sekresi insulin, serta juga deposisi adiposa dengan menargetkannya berbagai macam molekul yang ada didalam regulasi di berbagai jalur, layaknya menstimulasi sekresi insulin, meningkatkan proliferasi sel β , menurunkan hiperglikemia dengan cara melakukan pengaturan terhadap metabolisme glukosa yang ada di dalam hati (Al-Ishaq et al., 2019). Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan riset terhadap identifikasi senyawa isolat dari ekstrak etanol kulit batang kawista (*Limonia acidissima* L.).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Berbagai macam alat yang dipergunakan pada riset maupun penelitian ini ialah alat-alat kaca (Iwaki dan Pyrex), oven, blender, timbangan analitik (Ohaus), maserator, corong *buchner*, *waterbath*, *rotary evaporator* (Heidolph), chamber, corong pisah, kromatotron, kompor listrik, kuvet, Spektrofotometri UV-Vis, serta juga spektrofotometri *Fourier-transform infrared spectroscopy* (FT-IR) (PerkinElmer).

Berbagai bahan yang dipergunakan pada riset ini ialah kulit batang kawista (*Limonia acidissima* L.) yang diperoleh dari Kec. Rembang, Kota Rembang. Etanol 96%, asam klorida p.a (Merck), NaOH, n-heksan p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), *silica gel* GF254 (Merck), aseton, natrium karbonat, *aquadest*, dapar fosfat dan *silica gel* 60 PF254 *gypsum p.a* (Merck).

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi

Ekstraksi secara maserasi, menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:5 selama 3 hari di dalam wadah yang tidak terpapar cahaya sambil dengan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserat diuapkan dengan mempergunakan alat *rotatory evaporator* suhu 60°C serta juga residukan dengan *waterbath* dengan suhu <65°C hingga didapatkan ekstrak etanol kental.

2. Fraksinasi

Ekstrak kental kulit batang kawista dimasukkannya ke dalam corong pisah, lalu diberikan penambahan *aquadest* sebanyak 25 mL serta pelarut n-heksan dengan jumlah sebanyak 50 mL. kemudian dikocok sampai larut serta lalu didiamkan sampai dengan memisah dengan sendirinya. Fraksi tidak larut n-heksan difraksinasi dengan cara mempergunakan etil asetat dengan jumlah sebanyak 50 mL yang lalu dikocok sampai dengan larut, kemudian didiamkan serta juga dipisahkan antara fraksi etil asetat dan fraksi

- n-Heksan. Direplikasi dengan sebanyak 3 kali. Hasil fraksi lalu diuapkan dengan cara mempergunakan *rotary evaporator* (Syafi'i *et al.*, 2018).
3. Isolasi kromatografi sistem radial
Pemurnian mempergunakan kromatotron yang diawalinya dengan mengaktifkan lempeng kromatotron ke dalam oven bersuhu 50°C selama 30 menit. Ketebalan plat mencapai 2.0 mm. Sebelum dilakukannya pengelusan terhadap sampel, lempeng dielusi terlebih dulu dengan mempergunakan eluen yang berupa n-heksan hingga tetesan yang pertama menuju keluar. Sesudah itu, tutuplah kran eluen dan tunggu selama 15 menit. Sampel fraksi yang dilarutkan dengan eluen (n-heksan : etil asetat) tiap elusi sebanyak 40 ml. Setelahnya kran eluen dibuka kembali dengan pengelusi. Tampung cairan yang keluar sesuai pada bercak yang terlihat dengan cara mempergunakan bantuan dari UV *portable*. Hasil tampungan diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum dan diidentifikasi dengan menggunakan KLT. Fraksi kromatotron yang mempunyai bercak tunggal diidentifikasi secara spektroskopi.
 4. Identifikasi Isolat dengan spektrofotometri UV-Vis
Isolat hasil isolasi dilarutkannya ke dalam pelarut, yang lalu dimasukkan ke dalam kuvet yang sudah dibilas dengan mempergunakan larutan sampel. Kemudian absorbansi larutan sampel diukur di panjang gelombang 200 sampai dengan 800 nm (Maryam *et al.*, 2020).
 5. Identifikasi Isolat dengan FTIR
Identifikasi isolat secara spektrofotometri IR dilakukan dengan cara melarutkannya sampel yang lalu ditetaskan ke dalam spektrofotometer inframerah dan juga diukur absorbansi yang ada di dalamnya pada frekuensi 4000 sampai dengan 400 cm⁻¹ (Maryam *et al.*, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kental kulit batang kawista yang dihasilkan secara maserasi diperoleh dengan jumlah sebanyak 241,36 g dengan nilai persentase rendemen sejumlah 16,53%. Hasil tersebut didapat dari filtrat yang telah dipekatkan dengan mempergunakan *vaccum rotary evaporator* di suhu yang mencapai 60°C. Ekstrak etanol kulit batang kawista yang dihasilkan berwarna hitam kecoklatan dan berbentuk kental dengan aroma khas kawista.



Gambar 1. Tanaman Kawista (Sumber Pribadi, 2022)

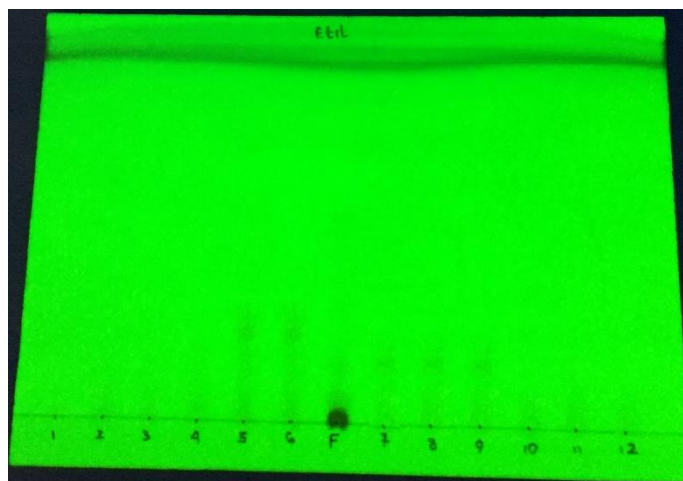
Fraksinasi ekstrak kental kulit batang kawista dilakukan menggunakan metode ekstraksi cair-cair yang didasarkan pada adanya perbedaan kelarutan maupun koefisien partisi senyawa yang ada di antara 2 macam pelarut yang tidaklah saling tercampur. Pelarut yang

dipergunakan ialah etil asetat serta juga n-heksan. Tujuannya memisahkan kelompok senyawa yang kepolarannya rendah ke pelarut n-heksana (Ritna *et al.*, 2016). Senyawa yang dituju yaitu flavonoid yang memiliki sifat larut dalam pelarut polar sehingga dalam penelitian ini digunakan fraksi etil asetat. Pelarut n-heksan yang digunakan akan memisahkan senyawa-senyawa nonpolar seperti klorofil, triterpen, lemak, dan senyawa non polar lainnya sehingga memudahkan untuk mendapatkan senyawa flavonoid (Ritna *et al.*, 2016). Hasil rendemen fraksinasi pada masing-masing pelarut dapat dilihat pada **Tabel I** yang ada di bawah ini.

Tabel I. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Batang Kawista

Fraksi	Berat Fraksi (gram)	Rendemen (%)
N-Hexan	5,5	28
Etil Asetat	7	22

Fraksi etil asetat diisolasi menggunakan kromatotron. Sebelum dilakukan proses isolasi ditentukan eluen yang akan digunakan. Penentuan eluen dilakukan dengan cara KLT yang memiliki tujuan teruntuk melakukan pencarian eluen yang sesuai guna pemisahan pada tahapan yang berikutnya. Hasil KLT eluat hasil tampungan isolasi kromatotron dengan eluen etil asetat : n-heksan (1:9) ditunjukkan pada **Gambar 2**.

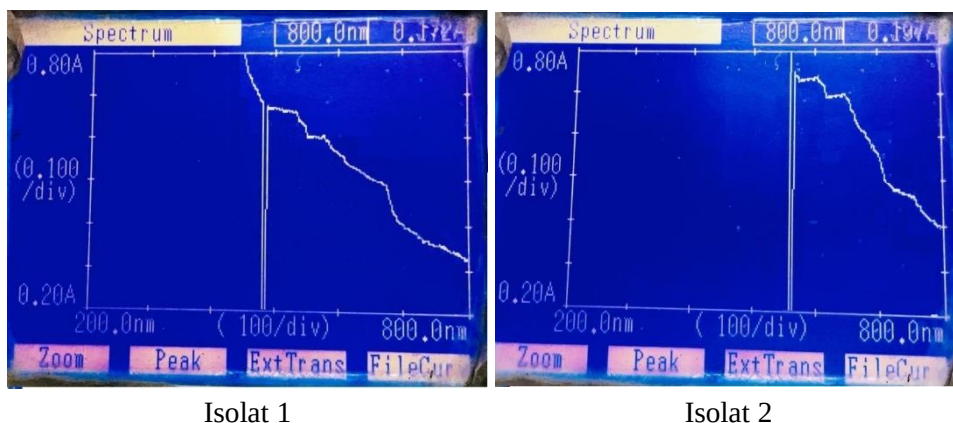


Gambar 2. KLT Hasil Eluat Isolasi Kromatotron

Berdasarkan hasil isolasi kromatotron dielusi menggunakan eluen etil asetat:n-heksan dimulai dari perbandingan (1:9) kemudian dilanjutkan dengan kenaikan kepolaran (2:8) dan (3:7) sebanyak 50 mL. Sampel dimasukkan dengan cara dialirkan kemudian diikuti dengan eluen hingga menghasilkan pita-pita komponen berupa lingkaran sepusat. Pita-pita pada tepi plat akan keluar dengan gaya sentrifugal (Atun, 2014). Isolasi yang diperoleh sebanyak 12 tampungan eluat, tampungan eluat ditampung berdasarkan pita warna yang tampak dibawah sinar lampu UV kemudian dimonitoring dengan KLT. Proses pengujian KLT mempergunakan fase gerak etil asetat:n-heksan dengan perbandingan (1:9). Spot yang tampak sejajar ditampung jadi satu yaitu pada vial 5-6 didapatkan nilai R_f 0,4 dan pada vial 7-9 didapatkan nilai R_f 0,3. Berdasarkan nilai R_f yang diperoleh termasuk dalam rentang nilai R_f yang baik yakni pada rentang 0,2 sampai dengan 0,8 (Bakkareng & Usman, 2021).

Metode yang dipergunakan teruntuk melakukan pengidentifikasian yakni metode spektrofotometer UV-Vis. Kedua isolat hasil KLT selanjutnya dibacakan dengan mempergunakan alat spektrofotometer UV-Vis yang menggunakan pelarut baku etil asetat. Dari kedua isolat itu, isolat yang pertama yang mempunyai hasil spektrum senyawa flavonoid yakni flavonol seperti yang dapat diketahui pada

Gambar 3.



Isolat 1

Isolat 2

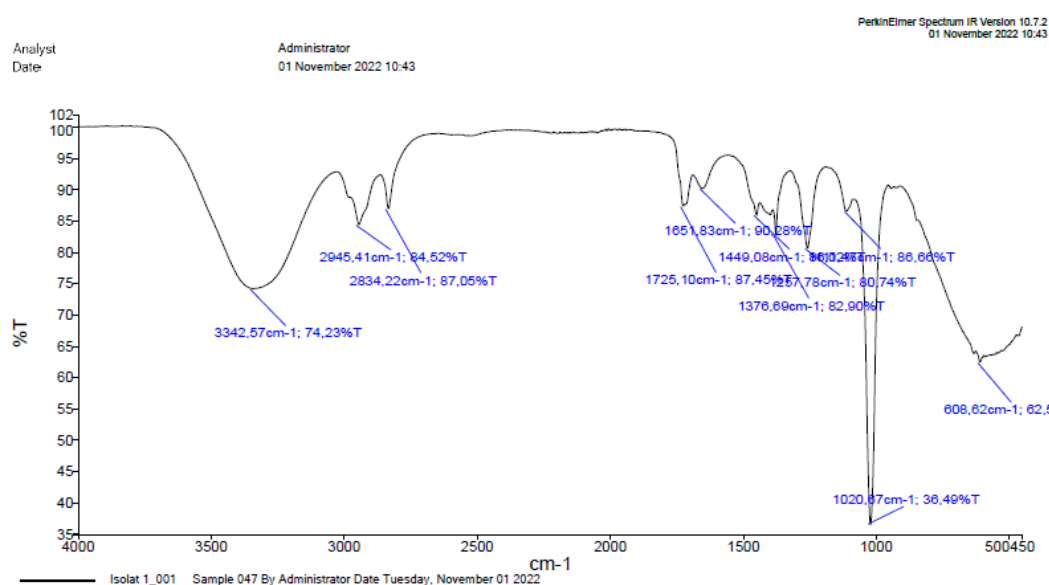
Gambar 3. Spektrofotometer UV-Vis Isolat

Berdasarkan hasil spektrum yang tampak, pada isolat 1 terdapat dua pita pertama yaitu pada panjang gelombang 654.0 nm pada absorbansi 0.507 serta pita yang ke-2 yaitu pada panjang gelombang 604.0 nm dengan absorbansi 0.464. Pada isolat 2 terdapat dua pita, pita yang pertama yaitu pada panjang gelombang 677.0 nm dengan absorbansi 0.360 serta juga pita yang ke-2 pada panjang gelombang 657.0 nm dengan absorbansi 0.111. didasarkan dari kedua isolat tersebut menandakan yakni isolat yang dibaca positif memiliki kandungan flavonol. Perihal demikian diperkuatnya oleh [Markham \(1988\)](#) yang mengemukakan bahwasanya rentang serapan spektrum flavonol memiliki panjang gelombang yang lebih dari 380 nm.

Identifikasi senyawa aktif mencakup diantaranya analisis dengan cara instrumentasi kimia yakni dengan mempergunakan spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*). Berdasarkan hasil identifikasi dari sampel isolat 1 dan isolat 2 bisa diketahui dengan cara melihat

Gambar 5 dan

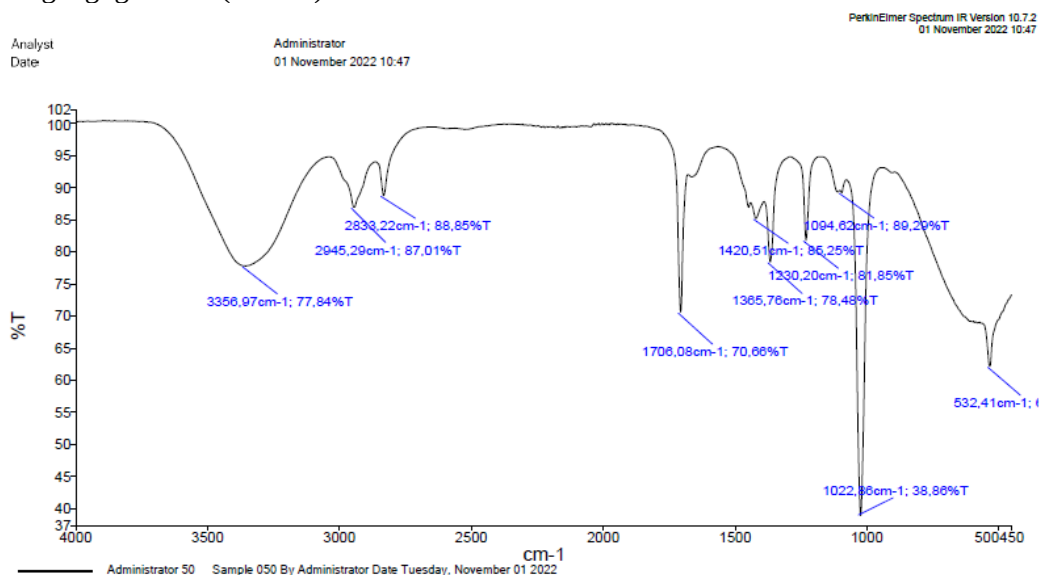
Gambar 6 serta pada **Tabel II** dan **Tabel III** yang ada di bawah.

**Gambar 4. FTIR Isolat 1**

Tabel II. Gugus Fungsi Isolat 1

Peak Number	X (cm-1)	Y (%T)	Gugus
1	3342,57	74,23	O-H (Alkohol)
2	2945,41	84,52	C-H (Alkane)
3	2834,22	87,05	C-H (Alkane)
4	1725,10	87,45	C=O (acyclic)
5	1651,83	90,28	C=O (carboxylic)
6	1449,08	86,02	C-H (Alkana)
7	1376,69	82,90	C-H (Alkana)
8	1257,78	80,74	C-N (Amines, amides)
9	1111,47	86,66	C-N (Amines, amides)
10	1020,67	36,49	C-O (Alkohol)
11	608,62	62,52	C-H (Alkana)

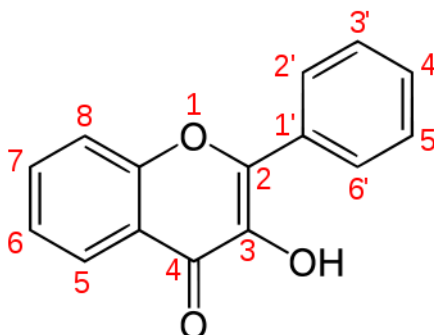
Hasil analisis pada Isolat 1 menggunakan spektrofotometri infra merah memberikan serapan dengan bilangan gelombang sebesar 3342,57 cm⁻¹ dengan transmittan 74,23% dinyatakan sebagai gugus O-H (Alkohol). Pada bilangan gelombang 2945,41 cm⁻¹ dan 2834,22 cm⁻¹ dengan transmittan 84,52% dan 87,05% dinyatakan sebagai gugus C-H (Alkana, alkana). Pada bilangan gelombang 1725,10 cm⁻¹ dan 1651,83 cm⁻¹ dengan transmittan 87,45% dan 90,28% dinyatakan sebagai gugus C=O (acyclic). Pada bilangan gelombang 1449,08 cm⁻¹ dan 1376,69 cm⁻¹ dengan transmittan 86,02% dan 82,90% dinyatakan sebagai gugus C-H (Alkana). Pada bilangan gelombang 1257,78 cm⁻¹ dan 1111,47cm⁻¹ dengan transmittan 80,74% dan 86,66% dinyatakan sebagai gugus C-N (*Amines, amides*). Pada bilangan gelombang 1020,67 cm⁻¹ dengan transmittan 36,49% dinyatakan sebagai gugus C-O (Alkohol). Pada bilangan gelombang 608,62 cm⁻¹ dengan transmittan 62,52% dinyatakan sebagai gugus C-H (Alkana).

**Gambar 5. FTIR Isolat 2**

Tabel III. Gugus Fungsi Isolat 2

Peak Number	X (cm-1)	Y (%T)	Gugus
1	3356,97	77,84	O-H (Alkohol)
2	2945,29	87,01	C-H (Alkana)
3	2833,22	88,85	C-H (Alkana)
4	1706,08	70,66	C=O (carboxylic)
5	1420,51	85,25	C-H (Alkana)
6	1365,76	78,48	C-H (Alkana)
7	1230,20	81,85	C-N (Amines, amides)
8	1094,62	89,29	C-N (Amines, amides)
9	1022,86	38,86	C-N (Amines, amides)
10	532,41	62,22	C-H (Alkana)

Hasil analisis pada Isolat 2 menggunakan spektrofotometri infra merah memberikan serapan dengan bilangan gelombang sebesar 3356,97cm⁻¹ dengan transmitan 77,84% dinyatakan sebagai gugus O-H (Alkohol). Pada bilangan gelombang 2945,29 cm⁻¹ dan 2833,22 cm⁻¹ dengan transmitan 87,01% dan 88,85% dinyatakan sebagai gugus C-H (Alkana). Pada bilangan gelombang 1706,08 cm⁻¹ dengan transmitan 70,66% dinyatakan sebagai gugus C=O (carboxylic). Pada bilangan gelombang 1420,51 cm⁻¹ dan 1365,76 cm⁻¹ dengan transmitan 85,25% dan 78,48% dinyatakan sebagai gugus C-H (Alkana). Pada bilangan gelombang 1230,20 cm⁻¹ , 1094,62 cm⁻¹ dan 1022,86 cm⁻¹ dengan transmitan 81,85% , 89,29% dan 38,86% dinyatakan sebagai gugus C-H (Alkana). Struktur dasar flavonol dapat dilihat pada

Gambar 6**Gambar 5.****Gambar 6. Flavonols**

Berdasarkan hasil spektrum infra merah dari senyawa isolat 1 dan 2 memiliki spektrum yang diduga mengandung senyawa flavonol yaitu dengan adanya gugus *carboxyl* pada bilangan gelombang 1651,83 cm⁻¹ dan 1706,08 cm⁻¹.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat kulit batang kawista (*Limonia acidissima* L.) diperoleh dua isolat. Hasil Analisa dengan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang maksimal isolat 1 yaitu 654.0 nm dan 604.0 nm. Pada isolat 2 panjang gelombang 677.0 nm dan 657.0 nm. Identifikasi menggunakan FT-IR mengandung gugus fungsi alkohol, karboksil, amin amida, sehingga dapat diprediksi bahwa kedua isolat tersebut merupakan senyawa flavonol.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Ishaq, R. K., Abotaleb, M., Kubatka, P., Kajo, K., & Büsselberg, D. (2019). Flavonoids and their anti-diabetic effects: Cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels. *Biomolecules*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/biom9090430>
- Atun, S. (2014). Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya*, 8(2), 53–61. <https://doi.org/10.33374/jurnalkonservasicagarbudaya.v8i2.132>
- Bakkareng, H. and Usman, Y. (2021). Perbandingan Jenis Flavanoid Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* .L) yang Berasal Dari Kabupaten Maros Dan Kota Makassar. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*. 6(1), 8-12. <https://doi.org/10.35892/jpsht.v6i1.510>.
- Fikayuniyar, L. (2017). Identifikasi Sederhana Metabotit Sekunder Kulit Batang Kawista (*Limonia Acidissima* L.). 2(1), 92–105.
- Hossain, M. K., Dayem, A. A., Han, J., Yin, Y., Kim, K., Saha, S. K., Yang, G. M., Choi, H. Y., & Cho, S. G. (2016). Molecular mechanisms of the anti-obesity and anti-diabetic properties of flavonoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4). <https://doi.org/10.3390/ijms17040569>
- Markham, K. R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Bandung: 10.29244/jji.v3i3.68ITB.
- Maryam, F., Subehan, S., & Musthainah, L. (2020). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(2), 6–11. <https://doi.org/10.33096/jffi.v7i2.647>
- Ritna, A., Anam, S., & Akhmad Khumaidi. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu(*Begonia* sp.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *GALENKA Journal of Pharmacy*, 2(2). 83-89.
- Sarian, M. N., Ahmed, Q. U., Mat So'Ad, S. Z., Alhassan, A. M., Murugesu, S., Perumal, V., Syed Mohamad, S. N. A., Khatib, A., & Latip, J. (2017). Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: A structure-activity relationship based study. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8386065>
- Srivastava, R and Mishra, N. and T. S. (2020). Effect Of Solvents On Antioxidant Activities Of Feronia Limonia Fruit. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 11(7), 3385–3391. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(7\).3385-91](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(7).3385-91)
- Syafi'i, M., Rohaeti, E., Wahyuni, W., Rafi, M. & Septaningsih, D. (2018). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga*). *Jurnal Jamu Indonesia*. 3. 109-115. 10.29244/jji.v3i3.68.