

Isolasi dan identifikasi senyawa alkaloid dari buah Pare (*Momordica Charantia* L) menggunakan metode asam basa

Yusriana Nusaputri

Program Studi Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
e-mail: ynusaptr@gmail.com

Kata Kunci:

Buah Pare (*Momordica Charantia* L); Alkaloid; Metode Asam Basa; Ekstraksi Ultrasonic; Isolasi

Keywords:

Bitter Melon (*Momordica Charantia* L); Alkaloids; Acid-Base Method; Ultrasonic Extraction; Isolation

ABSTRAK

Pare adalah buah yang memiliki batang yang bisa mencapai panjang hampir dua meter, dan merambat dengan bantuan alat sulur yang bengkok. Buah pare memiliki rasa pahit karena berasal dari senyawa alkaloid momordisin yang termasuk ke dalam cucurbitacine. Alkaloid ialah komponen aktif yang bekerja sebagai obat dan pengaktif sel kekebalan tubuh yang ampuh yang memiliki kemampuan untuk membasmi virus, bakteri, jamur, dan sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana hasil isolasi senyawa alkaloid buah pare (*Momordica charantia* L) menggunakan metode asam basa dan identifikasi senyawa alkaloid menggunakan UV-Vis. Hasil ekstraksi menggunakan metode sonikasi menghasilkan ekstrak etanol berwarna coklat kekuningan dengan massa ekstrak 2,6999 dan rendemen 2,69%.

Kemudian hasil isolasi menggunakan metode asam basa menggunakan pelarut dietil eter warna filtrat kecoklatan. Lalu menggunakan pelarut kloroform, warna filtrat menjadi coklat pudar dengan massa ekstrak sebesar 7,8280 g dan rendemen yang dihasilkan sebesar 7,82%. Uji fitokimia menggunakan reagen dragendoff dengan hasil endapan jingga dan menggunakan reagen mayer dengan hasil endapan kuning. Identifikasi senyawa alkaloid menggunakan spektrofotometer UV-Vis mempunyai panjang gelombang maksimum yaitu 270 nm.

ABSTRACT

Bitter melon is a fruit that has a stem that can reach almost two metres in length, and propagates with the help of a twisted vine. Bitter melon has a bitter taste because it comes from the alkaloid compound momordisin which is included in cucurbitacine. Alkaloids are active components that work as powerful drugs and immune cell activators that have the ability to eradicate viruses, bacteria, fungi, and cancer cells. This study aims to determine how the results of isolation of bitter melon (*Momordica charantia* L) alkaloid compounds using the acid-base method and identification of alkaloid compounds using UV-Vis. The results of extraction using the sonication method produced a yellowish brown ethanol extract with an extract mass of 2.6999 g and a yield of 2.69%. Then the results of isolation using the acid-base method using diethyl ether solvent brownish filtrate colour. Then using chloroform solvent, the filtrate colour became faded brown with a mass of extract weighing 7.8280 g and the resulting yield of 7.82%.



This is an open access article under the [CC BY-NC-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) license.

Copyright © 2023 by Author. Published by Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

Phytochemical tests using dragendoff reagent with orange precipitate results and using mayer reagent with yellow precipitate results. Identification of alkaloid compounds using UV-Vis spectrophotometer has a maximum wavelength of 270 nm.

Pendahuluan

Pare adalah buah yang memiliki batang yang bisa mencapai panjang hampir dua meter, dan merambat dengan bantuan alat sulur yang bengkok. Batangnya kecil, dengan beberapa cabang yang dibentuk olehnya. Charantin, insulin polipeptida-P, dan lektin adalah komponen pare yang membantu menurunkan kadar gula darah (Subahar & Lentera, 2004). Peptida, glikosida, alkaloid, hidroksitriptamin, dan vitamin A, B, dan C yang mirip insulin, semuanya ditemukan dalam pare dan membantu menurunkan kadar gula darah (Maghfoer dkk., 2019). Buah pare memiliki rasa pahit karena berasal dari senyawa alkaloid momordisin yang termasuk ke dalam cucurbitacine. Pada penelitian yang telah dilakukan Kandungan metabolit yang terkandung di dalam ekstrak pare adalah berupa alkaloid dan saponin (Komala dkk., 2012).

Golongan senyawaan terbesar dari produk metabolisme sekunder tumbuhan adalah alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang biasanya terdiri dari satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid sejati biasanya mengandung cincin heterosiklik, sedangkan protoalkaloid tidak mengandung cincin heterosiklik. Terpenoid, juga dikenal sebagai pseudoalkaloid, adalah alkaloid yang tidak dihasilkan dari asam amino, baik yang heterosiklik maupun tidak. Atom nitrogen dalam alkaloid sering kali berbentuk gugus amina ($-NR_2$) atau gugus amida ($-CO-NR_2$), dan hampir sama sekali tidak pernah berbentuk gugus diazo atau nitro (NO_2). Sebagian besar alkaloid memiliki gugus N-metil dan substituen oksigen, yang sering ditemukan sebagai gugus fenol ($-OH$), metoksi ($-OCH_3$), atau metilendioksi ($-O-CH_2-O$) (Lenny, 2006).

Ekstraksi asam basa adalah ekstraksi yang dapat memisahkan campuran zat dengan bantuan larutan asam-basa. Prinsip dari metode ini yaitu alkaloid yang terdapat pada sampel sebagai suatu garam yang akan terlepas dari ikatan garam dan menjadi alkaloid bebas selama proses pengasaman. Akibatnya, basa yang lebih kuat daripada basa alkaloid ditambahkan ke dalamnya. Beberapa pelarut, seperti etil asetat, dapat dimanfaatkan untuk mengekstrak alkaloid bebas. Umumnya, alkaloid diekstrak dari bahan menggunakan air yang diasamkan, yang dibuat menjadi asam dengan menambahkan HCl. Proses ini berupaya mengambil alkaloid, merubahnya sebagai garam amina alkaloid, dan menjadikan alkaloid lebih mudah larut dalam air. Garam alkilamonium tercipta ketika asam kuat bergabung dengan amina alkaloid. Amina dipisahkan dari senyawa asam, netral, dan senyawa yang larut dalam air menggunakan reaksi semacam ini. Ketika NaOH ditambahkan, garam alkaloid yang diasamkan akan menjadi basa dan menciptakan basa tanpa alkaloid (Robinson, 1995).

Pembahasan

Preparasi Sampel Buah Pare

Tujuan dari preparasi sampel buah pare yaitu dimana proses penyerbukan untuk meningkatkan luas permukaan sampel untuk memaksimalkan efisiensi proses ekstraksi. Ukuran sampel yang lebih kecil akan menghasilkan permukaan yang lebih luas dan interaksi yang lebih besar antara pelarut dan komponen kimia dari sampel, sehingga proses ekstraksi menjadi lebih cepat dan efisien (Andriyanto dkk., 2016). Sampel buah pare dibersihkan, dikeringkan, dan diserbukan selama proses persiapan sampel. Sampel pare yang terkumpul dibersihkan dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran, debu, atau kontaminan lain yang dapat menghalangi proses ekstraksi. Tahapan preparasi sampel meliputi pembersihan, pengeringan, dan penyerbukan. Proses pengeringan dilakukan didalam oven dengan suhu 100-110°C sehingga didapatkan sampel yang kering yang kemudian diayak untuk meratakan ukuran bubuk.

Ekstraksi menggunakan Metode Sonikasi

Metode sonikasi digunakan untuk mengekstrak bahan kimia aktif. Ekstraksi sonikasi bertujuan untuk mengekstrak senyawa aktif dalam buah pare dengan bantuan gelombang ultrasonik. Kavitasi dan tekanan mekanis adalah konsep dasar ekstraksi ultrasonik. Sumber tekanan mekanis adalah gelombang ultrasonik yang merambat di sekitar sampel, menyebabkannya menjadi partikel-partikel kecil. Efek kavitasi yang dihasilkan dari gelombang ini memecah dinding sel, memungkinkan pelarut berdifusi di dalam sel dan mengekstrak senyawa aktif di dalamnya (Torres dkk., 2017). Pada ekstraksi menggunakan sampel buah pare yang sudah halus sebanyak 100 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 500 mL.

Pertama-tama serbuk buah pare ditimbang sebanyak 100 gram lalu dimasukan kedalam labu Erlenmeyer lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 500 mL dengan rasio sampel:pelarut sebesar 1:5. Kemudian ditutup menggunakan alumunium foil. Sample diekstraksi selama 20 menit. Kemudian disaring ekstrak menggunakan corong buchner. Setelah itu filtrat yang didapatkan dimasukan ke dalam vial dan dipekatkan menggunakan vacum rotary evaporator dengan kecepatan 80 rpm pada suhu 40-50°C.

Ekstrak dipekatkan dengan cara filtrat diuapkan dengan menggunakan vacuum rotary evaporator. Pompa vakum dari proses penguapan akan membantu menurunkan tekanan permukaan, memungkinkan pelarut menguap di bawah titik didihnya yang khas dan mencegah konstituen ekstrak rusak akibat panas berlebih (Tukiran dkk., 2020).

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Kasar Buah Pare

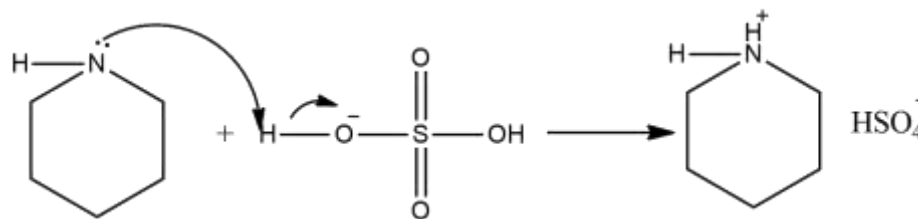
Pelarut	Warna Filtrat	Massa Ekstrak Kasar (G)	% Rendemen
Etanol	Coklat Kekuningan	2,6999	2,69

Berdasarkan tabel 1. menunjukkan bahwa pada ekstraksi yang menggunakan pelarut etanol menghasilkan ekstrak etanol berwarna coklat kekuningan dengan massa ekstrak sebesar 2,6999 g dan didapatkan rendemen sebesar 2,69 %.

Isolasi Alkaloid Metode Asam Basa

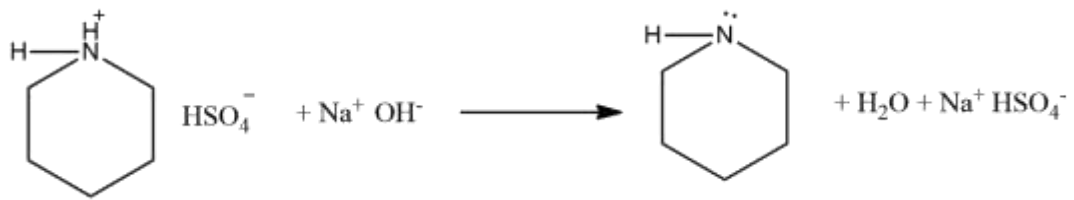
Isolasi alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode ekstrak cair-cair secara asam basa. Ekstrak pekat dibuat lebih mudah larut dalam air dengan membentuk garam alkaloid darinya dengan cara mengasamkannya dengan 2% H_2SO_4 hingga pH larutan mencapai 3. Asam kuat akan bereaksi dengan alkaloid menghasilkan garam alkaloid. Garam alkaloid mudah larut dalam air, sehingga memungkinkan pemisahannya dari konstituen lain. Dua puluh mililiter dietil eter digunakan untuk membagi garam alkaloid yang dihasilkan dalam corong pemisah. Kocok ke arah yang sama setelah menambahkan dietil eter untuk memastikan kontak penuh antara larutan dan larutan asam. Corong pemisah tetap dibiarkan di tempatnya hingga terbentuk dua lapisan yang berbeda, satu di atas (lapisan dietil eter hijau) dan satu lagi di bawah (lapisan asam transparan) yang tidak bercampur. Dietil eter ditambahkan ke dalam garam alkaloid (larutan asam) untuk menghilangkan komponen lemak dan lilin. Untuk mengekstrak molekul secara menyeluruh dengan karakteristik yang sebanding dengan dietil eter, tiga putaran ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dietil eter. Adapun reaksi yang terjadi ketika penambahan H_2SO_4 dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut ini :

Gambar 1. Dugaan reaksi alkaloid H_2SO_4



Sumber : Robinson, 1995

Setelah itu dilakukan proses penambahan basa dengan menggunakan NaOH 25% hingga terbentuknya suatu endapan dan pH dari larutan berkisar antara 9-10. Lapisan asam yang terkumpul jadi satu kemudian dilakukan proses pembasaan menggunakan NaOH 25% hingga membentuk endapan dan pH larutan berkisar antara 9-10. Adapun penambahan NaOH tersebut berfungsi untuk pembebasan alkaloid dari garamnya sehingga terbentuk alkaloid bebas bahwa reaksi amina terhadap asam kuat akan menghasilkan garam amina, yang mana amina ini dapat dilepaskan dari garamnya dengan cara dibasakan dengan basa lemah seperti NaOH (Robinson, 1995). Reaksi pembasaan amina dengan basa lemah dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Gambar 2. Dugaan reaksi alkaloid dengan NaOH

Sumber : Robinson, 1995

Selanjutnya kloroform digunakan untuk mengekstrak larutan sebanyak tiga kali setelah basa ditambahkan. Kloroform ditambahkan, dan ini menarik alkaloid yang tidak terikat oleh garam. Hal ini karena, berbeda dengan garam alkaloid, alkaloid bebas mudah larut dalam pelarut organik. Pengocokan dilakukan setelah menambahkan kloroform untuk memastikan kontak dan penyebaran alkaloid bebas yang lebih cepat di dalam kloroform. Sampai terbentuk dua lapisan yang tidak bercampur, biarkan corong pemisah tetap di tempatnya. Lapisan organik (kloroform) berada di bagian bawah dan lapisan air di bagian atas. Evaporator putar vakum digunakan untuk menguapkan pelarut (kloroform) hingga pelarut terpisah setelah lapisan kloroform diekstraksi dan dikumpulkan.

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Kasar Buah Pare

Pelarut	Warna Filtrat	Massa Ekstrak Kasar (G)	% Rendemen
Dietil eter	Kecoklatan	-	-
Kloroform	Coklat pudar	7,8280	7,82

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa menggunakan pelarut dietil eter warna filtrat yaitu kecoklatan. Kemudian menggunakan pelarut dietil eter warna filtrat yaitu coklat pudar dengan massa ekstrak sebesar 7,8280 g dan rendemen yang dihasilkan sebesar 7,82%.

Uji Fitokimia

Salah satu metode kualitatif untuk mengetahui berapa banyak bahan kimia aktif dalam sampel adalah uji fitokimia. Uji Dragendorff dan Mayer adalah dua metode yang dapat digunakan dalam analisis fitokimia untuk zat alkaloid. Reaksi pengujian warna (uji bercak) dan busa dengan pereaksi warna menjadi dasar penyelidikan ini (Kristanti dkk.,2006). Ketika pereaksi Mayer diaplikasikan pada senyawa alkaloid, hasil positif akan menghasilkan endapan putih kekuningan, dan ketika pereaksi Dragendorff ditambahkan, endapan berwarna jingga akan terjadi. Karena alkaloid merupakan senyawa basa, maka alkaloid sering diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang mengandung asam, oleh karena itu HCl 2% disertakan dalam uji alkaloid (Harborne, 1987).

Gambar 3. Hasil Uji Fitokimia dengan Reagen Dragendorff dan Mayer



Sumber : *Penelitian Pribadi*

Bahan kimia alkaloid positif terdapat dalam ekstrak buah pare, menurut uji fitokimia. Endapan yang terbentuk merupakan hasil dari senyawa kompleks yang terbentuk antara senyawa alkaloid dengan ion logam dari pereaksi (Harborne, 1987). Alkaloid dapat digunakan untuk membuat ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam karena mengandung atom nitrogen dengan pasangan elektron tunggal (Vogel, 1990). Endapan putih kekuningan dihasilkan dari uji alkaloid dengan pereaksi Mayer. Diperkirakan alkaloid kalium yang mengendap akan terbentuk ketika nitrogen pada kompleks alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II). Ketika bereaksi dengan pereaksi ini, sebagian besar alkaloid tidak membedakan antara gugus alkaloid. Munculnya endapan jingga menunjukkan bahwa alkaloid yang direaksikan dengan pereaksi Dragendorff memberikan hasil yang positif. Alkaloid kalium adalah endapannya. Garam tetraiodobismuth yang berwarna jingga dihasilkan ketika zat alkaloid bereaksi dengan pereaksi Dragendorff (Setyowati dkk., 2014).

Monitoring menggunakan KLTA

Hasil dari uji fitokimia dengan reagen ekstrak buah pare dinyatakan positif mengandung komponen alkaloid. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis untuk mendukung temuan ini. Berdasarkan variasi distribusi molekul komponen antara dua fase (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorben), kromatografi lapis tipis merupakan teknik pemisahan secara fisikokimia. Fase diam pada plat yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 2 cm x 10 cm GF254 (Merck). Pemakaian silika karena silika secara umum dipergunakan untuk memisahkan senyawa asam amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Plat KLT silika gel F254 diaktifasi dulu pada suhu 105 °C selama 30 menit agar air yang terdapat pada plat dapat menguap.

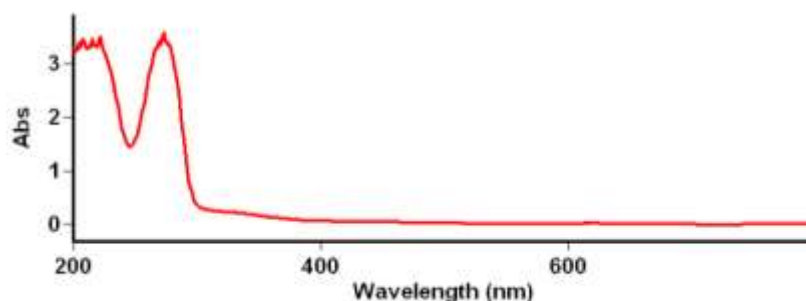
Gambar 4. Hasil KLTA senyawa alkaloid

Sumber : *Penelitian Pribadi*

Pemeriksaan kandungan senyawa alkaloid dengan kromatografi lapis tipis analitik dilakukan untuk mencari eluen yang paling baik dalam pemisahan senyawa alkaloid. Eluen yang digunakan yaitu kloroform, methanol, dan ammonia. Eluen yang dipergunakan berasal dari penelitian-penelitian terdahulu yang sudah mengidentifikasi berbagai ekstrak. Bercak KLT yang terbentuk selanjutnya dianalisis dengan sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm, hal ini dilakukan untuk melihat komponen senyawa sebagai bercak gelap atau bercak berpendar terang pada fasa diam yang berfluoresensi seragam (Gritter dkk., 1991). Nilai R_f yang didapatkan yaitu sebesar 0,65 jika dibandingkan dengan penelitian Hayati (2012) alkaloid pada tanaman anting anting yaitu 0,56-0,8. Penelitian Abraham (2014) Nilai R_f yang didapatkan yaitu sebesar 0,08-0,76 dan nilai R_f alkaloid menurut Harborne (1987) yaitu sebesar 0,07-0,62.

Identifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Identifikasi menggunakan UV-Vis digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum senyawa alkaloid. Analisis dilakukan antara 200 dan 800 nm dalam panjang gelombang. Spektra alkaloid yang dihasilkan ditunjukkan pada Gambar 5.

Gambar 5. Spektra UV-Vis Alkaloid dari Buah Pare

Sumber : *Penelitian Pribadi*

Tabel 3. Panjang Gelombang Maksimum Senyawa Alkaloid Buah Pare

Senyawa	Panjang Gelombang (nm)	Transisi elektron
Alkaloid	270	$\pi \rightarrow \pi^*$

Pada Tabel 4.3 menunjukkan alkaloid memiliki panjang gelombang maksimum yaitu 270 nm yang mengalami transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. Jika membandingkan antara hasil penelitian Kapondo & Jayanti (2020) yang menunjukkan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 265 nm - 275 nm menunjukkan hasil percobaan yang dilakukan positif mengandung alkaloid.

Kesimpulan dan Saran

Isolasi senyawa alkaloid dari buah pare (*Momordica charantia* L) menggunakan metode asam basa dengan pelarut dietil eter ekstrak yang dihasilkan berwarna kecoklatan dan dengan pelarut kloroform ekstrak yang dihasilkan berwarna coklat pudar dengan massa ekstrak 7,8280 dan didapatkan rendemen sebesar 7,82%. Hasil monitoring senyawa alkaloid dari buah pare (*Momordica charantia* L) menggunakan KLTA menggunakan eluen kloroform:methanol:ammonia (85:15:1) menghasilkan R_f sebesar 0,65. Hasil identifikasi senyawa alkaloid menggunakan UV-VIS mempunyai panjang gelombang maksimum 270 nm yang mengalami transisi $\pi \rightarrow \pi^*$.

Daftar Pustaka

- Abraham, A., Fasya, A. G., Fauziyah, B., & Adi, T. K. (2014). Uji Antitoksoplasma Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulau (*Alstonia scholaris*, (L.) R. BR) terhadap Mencit (*Mus musculus*) BALB/C yang Terinfeksi *Toxoplasma Gondii* Strain Rh. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 67–75.
- Andriyanto, B. E., Ardiningsih, P., & Idiawati, N. (2016). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(4). <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmpa/article/view/16453>
- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., & Schwarting, A. E. (1991). Pengantar kromatografi. Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne, J. (1987). *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Hayati, E. K., Jannah, A., & Ningsih, R. (2012). Identifikasi senyawa dan aktivitas antimalaria in vivo ekstrak etil asetat tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.). *Molekul*, 7(1), 20–32.
- Kapondo, G. L., & Jayanti, M. (2020). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Dan Uji Efektivitas Penghambatan Dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *eBiomedik*, 8(2).

- Komala, O., Sari, B. L., & Sakinah, N. (2012). Uji efektivitas ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antibakteri *Salmonella typhi*. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(1), 36–41.
- Lenny, S. (2006). *Senyawa flavonoida, fenil propanoida dan alkaloida*. Medan : FMIFA USU
- Maghfoer, M. D., Yurlisa, K., Aini, N., & Yamika, W. S. D. (2019). *Sayuran Lokal Indonesia: Provinsi Jawa Timur*. Malang : Universitas Brawijaya Press.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan Oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB.
- Setyowati, E., Agustina, W., & Damayanti, D. R. (2014). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Pendidikan Sains IV*.
- Subahar, T. S., & Lentera, T. (2004). *Khasiat & Manfaat Pare*. Jakarta : AgroMedia.
- Torres, M. N., Talavera, T., Andrews, H., Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47.
- Tukiran, Miranti, M. G., Dianawati, I., & Sabila, F. I. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Dan Buah Bit (*Beta Vulgaris* L.) Sebagai Bahan Tambahan Minuman Suplemen. *Jurnal Kimia Riset*, 5(2).
- Vogel. (1990). *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro*. Jakarta: Kalman Media Pusaka.