

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF DARI FRAKSI N-HEKSANA DAUN GAHARU (*AQUILARIA MALACCENSIS* L) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI GAS – SPEKTROSKOPI MASA (GC-MS)

Afghani Jayuska*, Puji Ardiningsih, Lia Destiarti dan Tiara Puteri

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. Hadari Nawawi Pontianak Kalimantan Barat

Email korespondensi : ganipontianak05@yahoo.co.id

Abstrak

Tulisan ini menyajikan isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif dari fraksi n-heksana daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L Famili Thymelaceae) menggunakan kromatografi gas spektrometri massa. Komposisi kimia dari fraksi n-heksana daun gaharu *A. Malaccensis* yang diselidiki menggunakan Perkin-Elmer Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), selanjutnya spektrum massa senyawa yang ditemukan dalam fraksi n-heksana disesuaikan dengan *Library* Institut Nasional Standar dan Teknologi (NIST). Sebanyak 3 kg daun gaharu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan metanol didapatkan 146 g ekstrak total. Kemudian ekstrak total di partisi menggunakan n-heksana dan etil asetat. Sehingga didapatkan berat fraksi n-heksana (8,9 g). Analisis GC-MS dari fraksi n-heksana daun gaharu mengungkapkan adanya senyawa *Trans-Squalene* (68%), *Stigmast-4-en-3-one* (14,52%), *Stigmast-5-en-3-ol* (5,27%), *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester* (5,01%), dan *Hexadecanoic acid, methyl ester* (1,17%). Berdasarkan hasil penelitian ini daun gaharu (*A. malaccensis*) bisa dijadikan dasar digunakan sebagai herbal untuk pengembangan sediaan antioksidan.

Kata kunci : Gaharu, *Aquilaria malaccensis*, Thymelaceae, komponen kimia, GC-MS, antioksidan.

PENDAHULUAN

Tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp) merupakan salah satu tanaman hutan penting di Indonesia dan dunia internasional. Dalam perdagangan dunia, gaharu dikenal dengan nama agarwood, aloewood, eaglewood, karena aromanya yang harum, sehingga termasuk komoditi mewah untuk keperluan industri, parfum, komestik, dupa, kemenyan, bahan baku obat-obatan, dan teh (Wu *et al*, 2014; Sumarna, 2002; Tamuli *et al*, 2005).

Adapun kandungan metabolit sekunder memberikan kontribusi dalam pemanfaatan tersebut yaitu kelompok senyawa terpenoid berupa turunan senyawa sesquiterpen, dan kelompok senyawa fenolik baik berupa turunan kromon (Mei *et al*, 2013; Naef, 2011) maupun berupa turunan lignan (Wu *et al*, 2014). Begitu juga senyawa bioaktif yang terkandung dalamnya baik sebagai antimikroba, antikanker, antiinflamasi dan antimalaria (Feng *et al*, 2011; Huang *et al*, 2009).

Rata-rata kuota ekspor gaharu untuk Indonesia sebanyak 300 ton per tahun, tetapi hanya dapat terpenuhi 10 % atau sekitar 30 ton setiap tahunnya. Gaharu kualitas

super dan *double super* dihargai mulai dari 5 juta rupiah sampai 150 juta rupiah ditingkat internasional mencapai \$ 100.000 per kg (Turjaman dan Santoso, 2013).

Dewasa ini permintaan gaharu di pasaran dunia semakin meningkat, sedangkan produsen menemui kendala dalam memperolehnya, karena petani sendiri kesulitan dalam mencari dan mengumpulkan gaharu, disebabkan semakin langkanya tanaman ini, dan sedikit sekali masyarakat membudidayakan tanaman ini. Menurut CITES (Convention on International Trade of Endangered Species) pada konvensi yang ke IX di Florida Mei 1995, bahwa tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp) dimasukkan dalam appendix II, artinya penebangan dan ekspornya harus dibatasi dalam kuota dan berlaku pada semua negara dimana suatu jenis tanaman ini ditemukan (CITES, 2003; Barden *et al*, 2000), sehingga perlu dilakukan usaha pelestarian plasma nutfah tanaman penghasil gaharu. Disamping itu usaha yang sangat penting dilakukan bagaimana supaya tanaman penghasil gaharu alam yang telah berumur diatas 20 tahun dapat berproduksi, selama ini tanaman yang berumur lanjut tersebut hanya 10 % peluang untuk berproduksi, bahkan ada kemungkinannya tidak dapat berproduksi.

Maka dalam mendukung upaya konservasi dan membina kesinambungan produksi, serta upaya mengantisipasi perkembangan nilai guna serta permintaan pasar yang terus meningkat, pembatasan dan larangan perdagangan gaharu dari genus *Aquilaria* spp dan *Gyrinops* sp dapat dicabut apabila produksi bersumber dari hasil pembudidayaan. Kemudian dalam budidaya membutuhkan waktu 8-10 tahun, begitu banyak sumber daya yang terbuang yaitu daun gaharu. Belakangan ini ada upaya memanfaatkan daun gaharu sebagai teh baik sebagai minuman juga memberikan khasiat sebagai antidiabet. Sehingga penelitian untuk mengungkapkan kandungan senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah aquades, Na₂SO₄ anhidrat, kertas saring *Whatman* No.1, dan daun gaharu yang berasal dari desa Korek Kecamatan Sui Ambawang Kabupaten Kubu Raya Kalimantan Barat. yang telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense Puslit Biologi LIPI.

Alat-alat yang digunakan antara lain labu ukur neraca analitik merk OHAUS Adventurer, oven, termometer, seperangkat alat destilasi uap dan alat GC-MS merk Shimadzu QP2010.

Prosedur Kerja

Sampling dan preparasi sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gaharu (*A. Malaccensis* L) Sampel ini dibersihkan kemudian dipotong-potong.

Isolasi dan Partisi.

Sebanyak 3 kg daun jeruk sambal yang masih dalam keadaan segar. Kemudian, dirajang dan dilakukan isoalsi menggunakan metode maserasi dengan metanol 3 x 20 L. Hasil dari maserasi dievaporasi dan selanjutnya dipartisi dengan berbagai pelarut secara bertingkat yakni n-heksan, etil asetat (Lampiran 2 Skema Kerja). Selanjutnya dihitung berat dan rendemen masing masing total ekstrak dan fraksi. Berikut ini rumus untuk mencari rendemen ekstrak dan fraksi:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{massa minyak atsiri (g)}}{\text{massa daun (g)}} \times 100\%$$

Analisis GC-MS dan Identifikasi komponen

Fraksi n-heksana dari daun gaharu (*A. Malaccensis* L) dianalisis menggunakan alat GC-MS. Kemudian hasilnya berupa kromatogram komponen-komponen penyusunnya dipisahkan oleh alat GC. Kemudian hasil pemisahan ini selanjutnya masuk kebagian alat MS didapatkan *output* berupa spektrum massa berupa fragmentasi dari setiap molekul. Sehingga komponen penyusun fraksi n-heksana daun gaharu bisa diidentifikasi komponennya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah daun tumbuhan gaharu (*Aquilaria malaccensis*), diperoleh dari perkebunan gaharu-karet Kabupaten Kubu Raya Kalimantan Barat. Spesimen dari sampel dikirim ke Herbarium Bogor (Cibinong) Pusat Penelitian Biologi LIPI untuk diidentifikasi (Hasil identifikasi dalam Lampiran 1).



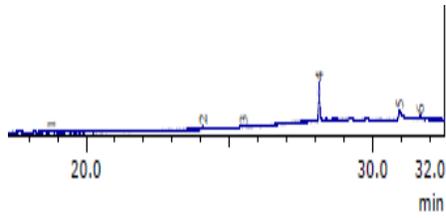
Gambar 1. Daun dan tumbuhan gaharu (*Aquilaria malaccensis*)

Ekstraksi daun gaharu dan Partisi ekstrak Metanol daun gaharu

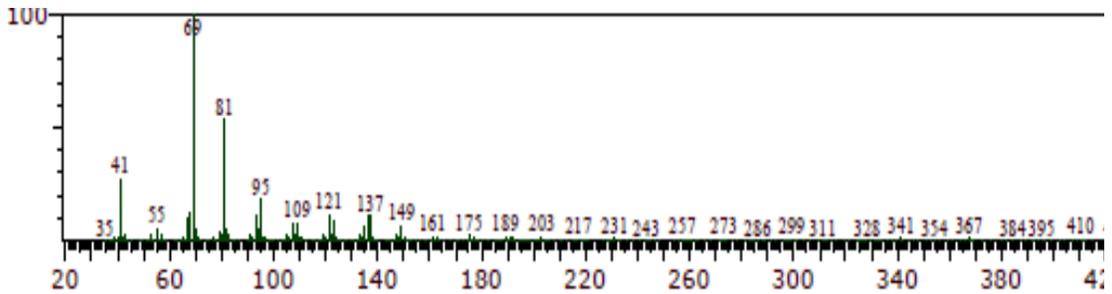
Serbuk kering daun (3 kg) dimaserasi dengan metanol (3 x 20 L) pada temperatur kamar selama tiga hari. Setelah pelarut diuapkan dari ekstrak metanol pada tekanan rendah diperoleh ekstrak metanol berupa gum berwarna hijau kecoklatan (146 g, Rendemen [r] = 4,87 %). Ekstrak metanol kemudian di partisi dengan n-heksan dan etil asetat, dihasilkan fraksi n-heksan 8,9 g (r = 6,1 %) dan fraksi etil asetat 18,1 g (r= 12,4%) serta fraksi metanol 101,3 g (69,4%).

Analisis fraksi n-Heksana dengan GC- MS

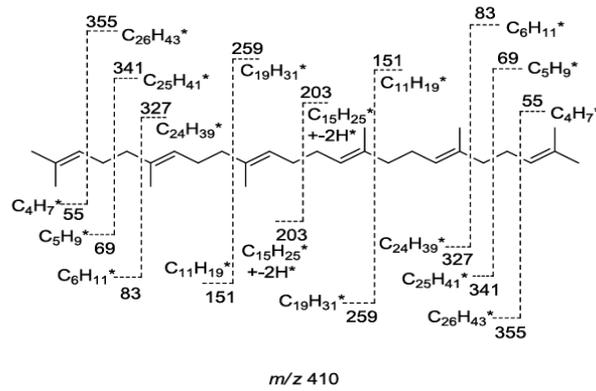
Fraksi n-heksana yang diperoleh, selanjutnya di analisa menggunakan GC-MS. Pada kromatogramnya di dapatkan enam *peak* atau ada enam senyawa yang teridentifikasi. Pada *peak* ke empat (RT = 28.13 min) teridentifikasi senyawa 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (trans squalena) dengan SI = 98% (Gambar 2) dan pola fragmentasi dari dapat dilihat pada Gambar 3 dan analisis fragmen pada gambar 4.



Gambar 2. Kromatogram dari GC fraksi n-Heksana



Gambar 3. Spektrum MS dari peak 4 fraksi n-Heksana



Gambar 4. Pola fragmentasi dari senyawa squalen (Oyugi *et al*, 2011)



Gambar 5. Struktur dari trans Squalena (Triterpenoid)

Squalena (Gambar 5) masuk kelompok senyawa terpenoid (triterpenoid). Ini bisa menjawab keberadaan senyawa-senyawa lain yang teridentifikasi. Karena squalena merupakan tahapan awal dari biosintesis dari turunan steroid terutama stigmasterol (pada peak 5 dan 6).

Tabel 1. Hasil analisis GC-MS dari fraksi n-heksan daun gaharu

| Puncak | Waktu Retensi (menit) | Luas Area (%) | SI (%) | Rumus Molekul | Dugaan Komponen |
|--------|-----------------------|---------------|--------|-------------------|---|
| 1. | 18,78 | 1,17 | 96 | $C_{17}H_{34}O_2$ | <i>Hexadecanoic acid , methyl ester</i> |
| 2. | 24,06 | 5,01 | 94 | $C_{22}H_{42}O_4$ | <i>Hexanadioic acid, bis (2-ethylhexyl) Ester</i> |
| 3. | 25,48 | 6,04 | - | - | <i>Tidak teridentifikasi</i> |
| 4. | 28,13 | 68,00 | 98 | $C_{30}H_{50}$ | <i>Squalene</i> |
| 5. | 30,94 | 14,52 | 89 | $C_{29}H_{48}O$ | <i>Stigmast-4-en-3-one</i> |
| 6. | 31,65 | 5,27 | 84 | $C_{47}H_{82}O_2$ | <i>Stigmast-5-en-3-ol</i> |

Tabel 1. menunjukkan bahwa ada 6 komponen yang terkandung pada fraksi n-heksan daun gaharu dan ada 5 yang bisa teridentifikasi. Penyusun mengandung senyawa alifatik, terpenoid berupa triterpen dan steroid. Jika dilihat dari luas area (%), terdapat senyawa mayor yaitu squalene dan selebihnya adalah senyawa minor. Hasil identifikasi ini sesuai dengan data *Library: NIST08.LIB*.

Squalene ini merupakan senyawa bioaktif yang telah banyak digunakan terutama berasal dari minyak ikan atau minyak hati ikan hiu. Menurut Huang *et al*, 2009, *squalene* memiliki sifat antioksidan yang tinggi dan bisa digunakan sebagai bahan untuk kosmetik dan obat.

KESIMPULAN

1. Senyawa kimia yang terdapat pada fraksi n-heksana pada daun gaharu (*A. Malaccensis* L) dari hasil identifikasi menggunakan GC-MS menunjukkan terdapat 5 komponen adanya senyawa *Trans-Squalene* (68%), *Stigmast-4-en-3-one* (14,52%), *Stigmast-5-en-3-ol* (5,27%), *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester* (5,01%), dan *Hexadecanoic acid, methyl ester* (1,17%). Komponen mayor yaitu squalen,
2. Berdasarkan hasil penelitian ini daun gaharu (*A. malaccensis*) bisa dijadikan dasar digunakan sebagai herbal untuk pengembangan sediaan antioksidan.
3. Nilai tambah pada produksi gaharu dapat dilakukan dengan memanfaatkan daunnya sebagai sumber senyawa obat.

DAFTAR PUSTAKA

Barden, A., N.A., Anak, T. Mulliken, M. Song, 2000. Heart of Matter : Agarwood Use and Trade and CITES Implementation for *Aquilaria Malaccensis*. Traffic International Cambridge, UK. Barden, A., N.A., Anak, T. Mulliken, M. Song, 2000. Heart of Matter : Agarwood Use and Trade and CITES Implementation for *Aquilaria Malaccensis*. Traffic International Cambridge, UK.

- CITES. 2003. Review of significant trade *Aquilaria malaccensis* [http/ www.cites.org/eng/cttee/pe/14/ E.PC 14.09.02.02.Az.pdf](http://www.cites.org/eng/cttee/pe/14/E.PC.14.09.02.02.Az.pdf) diakses 7 juli 2015.
- Feng J, Yang X-W, and Wang F-R, 2011, Bio-assay guided isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from the leaves of *Aquilaria sinensis*, *Phytochemistry*, Vol 72 (2–3), 242-247.
- Huang, R-Z., Lin, K-Y., and Fang, Y-J., 2009, Review Biological and Pharmacological Activities of Squalene and Related Compounds: Potential Uses in Cosmetic, *Molecules*, 14, 540-554.
- Mei, Wen-Li., Yang, De-Lan., Wang, Hao., Yang, Jin-Ling., Zeng, Yan-Bo., Guo, Zhi-Kai., Dong, Wen-Hua., Wei Li ., and Hao-Fu Dai., 2013, Characterization and Determination of 2-(2-Phenylethyl) chromones in Agarwood by GC-MS, *Molecules*, 18, 12324-12345.
- Naef, R. 2011. The volatile and semi-volatile constituents of agarwood, the infected heartwood of *Aquilariaspecies*: A review., *Flavour Fragr. J.* 26, 73-89.
- Oyugi A. D, Ayorinde O. F, Gugssa A, Allen A, Izervbigie B. E, Eribo B, and Anderson A. W, 2011, Biological activity and mass spectrometric analysis of *Vernonia amygdalina* fractions, *J. Biosci Tech*, Vol 2(3), 287-304.
- Sumarna, Yana, 2002. *Budidaya Gaharu*. Cet. Ke-1. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Tamuli P, Boruah P, Nath C.S, and Leclercq P, 2005, Essential Oil of Eaglewood Tree: a Product of Pathogenesis, *J. Essent. Oil Res.*, 17, 601-604.
- Tarigan. 2004. *Profil Pengusahaan (Budidaya) Gaharu*. Pusat Bina Penyuluhan Kehutanan Departemen Kehutanan Dalam Pengembangan HHBK Jenis Gaharu (*Aquilaria Malaccensis*) Di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. Dinas Kehutanan Bangka Belitung. Diakses dari [http://: workshopHHBK09_BaBel. Pdf. Com//](http://workshopHHBK09_BaBel.Com/) [23 Maret 2015].
- Turjaman M dan Santoso E, 2013, *Rekayasa produksi gaharu dengan induksi Jamur Fusarium solani*, Kementerian Kehutanan, Jakarta.

Wu Y, Liu C, Li F-H, Sun B-J, Li Y-Y, Gu W, Wang D-Y, Liu G-J, Hu L-Y 2014, A novel neolignan glycoside from *Aquilaria sinensis*, Biochemical Systematics and Ecology, Vol 55, 41–45.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil identifikasi sampel tumbuhan



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website: www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 9 Juni 2015

Nomor : 842/IPH.1.01/IF.07/VI/2015
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth,
Bpk./Ibu/Sdr(i), **Afgani Jayuska, M.Si.**
Univ. Tanjungpura
Lembaga Penelitian
Jalan Imam Bonjol Pontianak
78124

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

| No. | No. Kol. | Jenis | Suku |
|-----|----------|-----------------------------------|---------------|
| 1 | Gaharu | <i>Aquilaria malaccensis</i> Lam. | Thymelaeaceae |

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setiyo Rahajoe
NIP. 196706241993032004