

**PENGUKURAN KANDUNGAN SKOPOLETIN PADA BEBERAPA TINGKAT KEMATANGAN
BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* Linn) DENGAN
METODE KLT DENSITOMETRI**

Diana Nurus Sholehah

Fakultas Pertanian Universitas Trunojoyo
Kampus Unijoyo PO BOX 2 Telang Kamal Bangkalan Madura

ABSTRACT

Morinda citrifolia fruit has been used as remedies in Indonesia because many diseases could be healed. Scopoletin, one of major component of *Morinda citrifolia* was chosen as marker compound because of its various activities such as hypotensive, antiinflammatory and antihistamine. The research aimed to determine scopoletin in some maturation stages of *Morinda citrifolia* fruit in order to get best fruit for traditional medicine and phytopharmaca with optimal therapeutic effect. A simple and reliable TLC-Densitometry which has been validated before, was chosen to this aim. Fruit at stage 1, 2, 3 and 4 were taken 20, 45, 105 and 120 days after flowering. TLC was held on silica gel plates as stationary and ether : toluene : acetic acid 10 % (58:45:0,4) as mobile phase of fruit at stage 1, 2 and 4 and also ether : toluene : acetic acid 10 % (58:45:0,8) as mobile phase of fruit at stage 3. Mean concentration of scopoletin at stage 1 was found to be (10,72±0,45) ppm, stage 2 was found to be (19,19±0,68) ppm, stage 3 found to be (57,94±0,79) ppm and stage 4 (14,11±0,39) ppm respectively.

Kata kunci : *Morinda citrifolia* fruit, scopoletin, maturation stage, TLC-Densitometry

ABSTRAK

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) telah digunakan untuk pengobatan tradisional di Indonesia karena kemampuannya menyembuhkan berbagai macam penyakit. Skopoletin adalah salah satu komponen utama mengkudu yang dipilih sebagai senyawa marker yang memiliki aktivitas anti hipertensi, antiinflamasi dan antihistamin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar skopoletin pada berbagai tingkat kematangan buah mengkudu, yang dapat digunakan untuk mendapatkan buah yang tepat untuk bahan baku industri obat tradisional dan fitofarmaka. Penelitian dilakukan dengan metode KLT-Densitometri yang telah divalidasi sebelumnya. Sampel yang digunakan adalah buah 1, 2, 3 dan 4 diambil pada umur buah berturut-turut 20, 45, 105 dan 120 hari setelah berbunga. KLT menggunakan fase diam menggunakan silika gel GF 254 dan fase gerak eter : toluen : asam asetat 10 % (58:45:0,4) untuk buah 1, 2 dan 4, sedangkan untuk buah 3 menggunakan eter : toluen : asam asetat 10 % (58:45:0,8). Konsentrasi skopoletin rata-rata buah 1 adalah (10,72±0,45) ppm, buah 2 adalah (19,19±0,68) ppm, buah 3 adalah (57,94±0,79) ppm dan buah 4 adalah (14,11±0,39) ppm.

Kata kunci : buah (*Morinda citrifolia*), skopoletin, tingkat kematangan, KLT Densitometer

PENDAHULUAN

Buah mengkudu telah digunakan secara luas oleh masyarakat Indonesia untuk obat tradisional sejak lama. Dengan baunya yang khas, banyak penyakit yang dapat diobati dengan buah mengkudu seperti: batuk, diare, radang tenggorokan, asma, tekanan darah tinggi dan diabetes (Sjabana dan Bahalwan, 2002). penggunaannya cukup sederhana yaitu dengan cara direbus, diperas atau dicampur dengan gula. Selain itu tanaman ini mudah dibudidayakan dan dapat tumbuh dimana saja.

Dengan peluang tersebut, secara komersial, jus atau sari buah mengkudu mulai dikembangkan pada akhir tahun 1990 dan mulai digemari secara luas pada tahun 1995 (Purbaya, 2002). Setidaknya 900 juta liter sari mengkudu terjual setiap bulan. Puncaknya, pada tahun 2001 bisnis ini mencapai omzet 40 miliar rupiah (Tadjoedin dan Siswanto, 2002).

Ada berbagai pendapat mengenai buah mengkudu yang baik untuk pengobatan. Purbaya (2002) menyatakan pendapat beberapa ahli, Dr. Ralph Heinecke dan Dr. Neil Solomon menyatakan buah mengkudu yang masih hijau paling berkhasiat, Dr. Jan Tunbenaggen menganjurkan agar memanfaatkan buah yang sudah matang tetapi memiliki serat buah yang masih keras. Dalam Standard ASEAN of Herbal Medicine, buah mengkudu muda hingga tua dapat dimanfaatkan untuk obat tradisional.

Senyawa aktif terpilih dalam penelitian ini adalah skopoletin. Senyawa ini merupakan golongan hidroksi kumarin yang memiliki efek anti hipertensi, antiinflamasi dan antialergi. Menurut hasil penelitian pada buah *Libanotis dolichostyla*, kandungan senyawa hidroksi

kumarin tergantung pada tingkat kematangan buah (Zgorka dan Gowniak, 1999).

Skopoletin dalam tanaman dapat diukur dengan berbagai macam metode. Dalam penelitian ini, metode yang dipilih adalah KLT-Densitometri. Metode ini banyak dipakai dalam identifikasi dan pengukuran senyawa kimia dalam ekstrak tanaman (Pecsok, et all, 2001). Baik dari bagian akar, batang, biji dan buah. Metode ini lebih ekonomis, cepat, mudah dioperasikan dan reproduibel (Fried and sherma, 1994).

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh data mengenai kandungan skopoletin pada berbagai tingkat kematangan buah, sehingga dapat dipilih buah yang tepat untuk pengobatan maupun bahan baku sediaan fitofarmaka dari buah mengkudu. Dengan demikian diharapkan akan diperoleh efek terapi yang optimal dari buah skopoletin berdasarkan kandungan skopoletin.

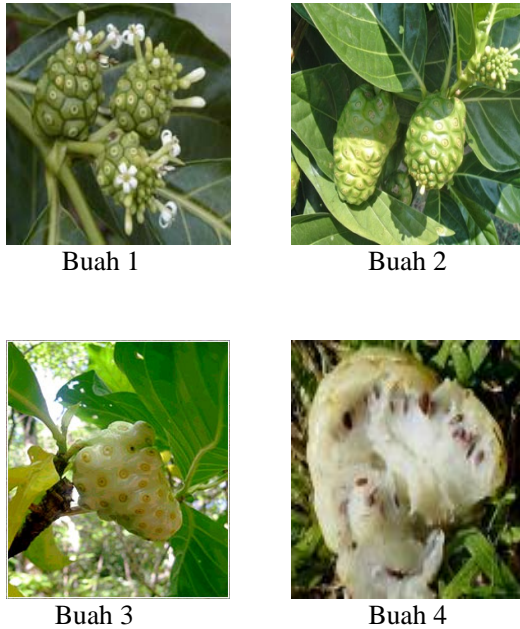
METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

1. Bahan Uji

Buah mengkudu diambil dari satu pohon yang diperoleh dari Kabupaten Bangkalan. Buah yang digunakan terbagi dalam 4 tingkat kematangan yang ditandai dengan umur dan struktur buah yaitu: Buah A (berumur 20 hari, kulit buah hijau dan tidak berbiji), Buah B (berumur 45 hari, kulit buah hijau dan berbiji), Buah C (berumur 105 hari, kulit buah berwarna putih - putih kekuningan dan daging buahnya keras), Buah D (berumur 120 hari, kulit buahnya berwarna putih transparan-putih kecoklatan, daging buah lunak, berair dan mengeluarkan aroma yang khas).

Masing-masing kelompok dikeringkan dengan oven pada suhu 39° C sampai beratnya konstan dan kemudian diserbuk.



Gambar 1. Sampel Buah Mengkudu

2. Bahan Kimia
Standar skopoletin (ALDRICH), Metanol p.a, eter, toluen, asam asetat 10 %, etanol 96%, lempeng KLT silika GF 254.
3. Alat
Densitometer (*TLC Scanner*), oven, maserator dan pengaduk, rotavapor, sonikator, timbangan analitik, bejana kromatografi dan socorex.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan alkohol 96 %. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotavapor.

Pengukuran Kandungan Skopoletin

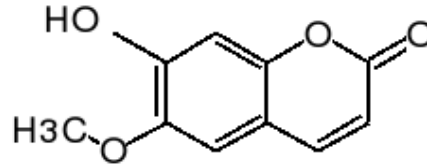
Pengukuran kandungan skopoletin menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) – Densitometri yang telah divalidasi sebelumnya. Dalam metode ini, menggunakan fase diam yaitu silika gel GF 254 dan fase gerak yaitu eter : toluen : asam asetat 10 % dengan perbandingan yang

berbeda-beda untuk masing-masing kelompok sampel. Dalam penelitian ini, pengukuran kandungan skopoletin terbagi dalam beberapa tahap yaitu:

1. Preparasi sampel
100 mg ekstrak + metanol ad 5 ml.
Dengan replikasi 10 kali
2. Eluasi dengan fase gerak
Sampel ditotolkan pada lempeng silika lalu dieluasi. Masing-masing di eluasi dengan eter: toluen:asam asetat 10% dengan perbandingan yang berbeda-beda untuk masing-masing sampel: A) 55:45:0,8 B) 45:55:0,8 C) 58:45:0,4 D) 56:45:0,8
3. Pengamatan lempeng hasil eluasi
Lempeng silika yang telah dieluasi diamati dibawah lampu uv untuk pengamatan warna noda dan dipayar dibawah densitometer untuk pengamatan kromatogram. Kemudian dibandingkan hasil pengamatan sampel dan skopoletin standar.
4. Pengukuran dengan densitometer
Lempeng yang telah eluasi, dianalisis dengan KLT Densitometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan ekstrak



Gambar 2. Struktur Skopoletin

Tabel 1. Hasil Pembuatan Ekstrak Mengkudu

Berat (g)	Buah			
	1	2	3	4
Basah	454,6	623,1	5499,6	1760
Kering	70	100	802,3	158
Ekstrak	8	13	229	56

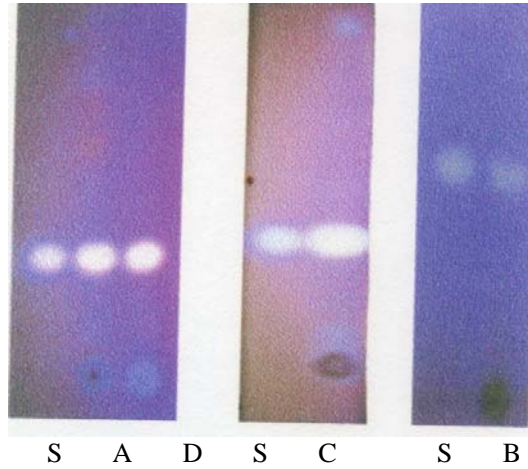
Metode ekstraksi yang dipilih adalah adalah maserasi yang berulang-ulang dengan pelarut yang selalu baru. Hal ini dilakukan untuk mencegah kejenuhan pelarut sehingga senyawa dapat terekstraksi secara optimal. Pelarut pengestraksi yang digunakan adalah etanol 96% yang memiliki kemampuan tinggi dalam mengekstraksi senyawa kandungan tanaman yang larut didalamnya, termasuk skopoletin. Dalam tabel 1 dapat dilihat berat ekstrak yang dihasilkan dari keempat kelompok sampel. Proses pengeringan menyebabkan penyusutan berat. Setelah mengalami proses pengeringan, buah 1-3 memiliki berat kering 14-16 % dari berat segar, sedangkan buah 4 menghasilkan 8 % dari berat segar. Hal ini

terjadi karena buah 4 yang berumur 120 hari Memiliki kandungan air yang paling tinggi. Sedangkan ekstraksi menghasilkan berat ekstrak 1-4 % dari berat segar.

2. Hasil eluasi

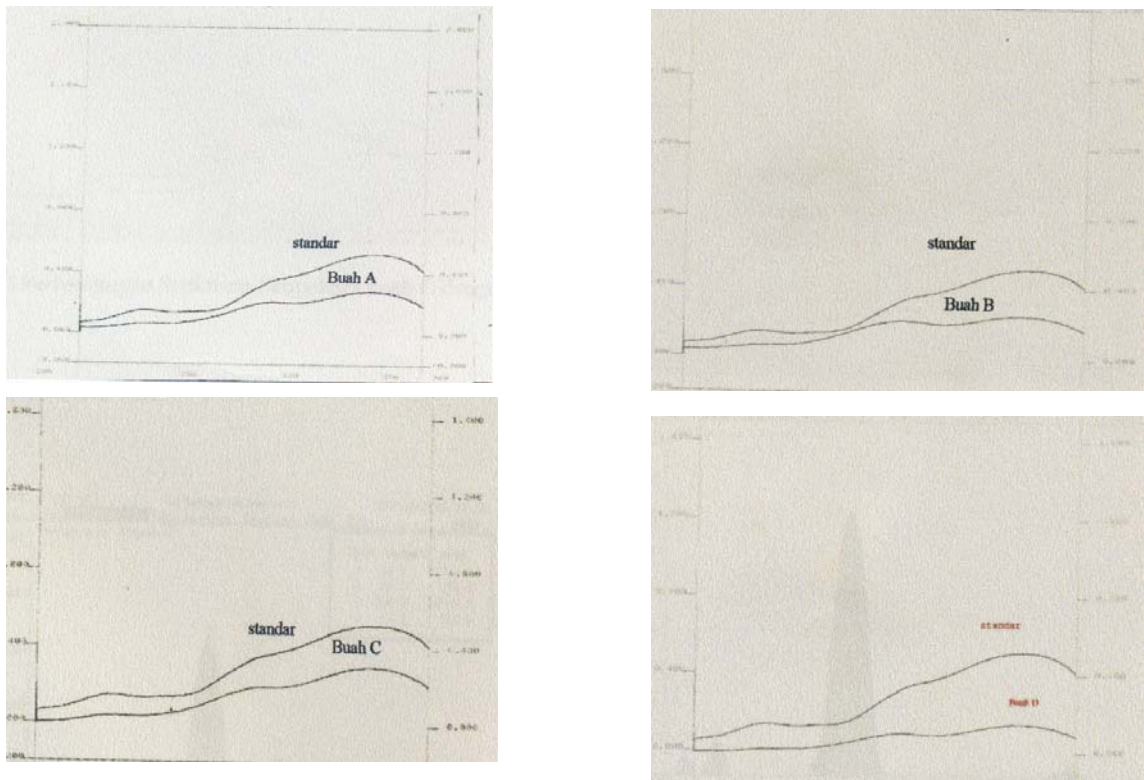
Lempeng KLT yang telah dieluasi dengan fase gerak diamati di bawah lampu uv. Warna noda standar dan sampel di bawah lampu uv dapat dilihat dalam gambar 2 yaitu biru berfloresensi.

Selain itu, lempeng KLT yang telah dieluasi dipayar dengan densitometer. Kromatogram sampel yang diperoleh dibandingkan dengan kromatogram skopoletin standar hasilnya dapat dilihat dalam gambar 3. Pengamatan tersebut dilakukan sebagai bagian dari uji kualitatif untuk membandingkan skopoletin dalam ekstrak dengan standar.



Keterangan:
 S : Skopoletin standar
 1 : Ekstrak buah 1
 2 : Ekstrak buah 2
 3 : Ekstrak buah 3
 4 : Ekstrak buah 4

Gambar 2. Hasil Pengamatan Lempeng di Bawah Lampu uv



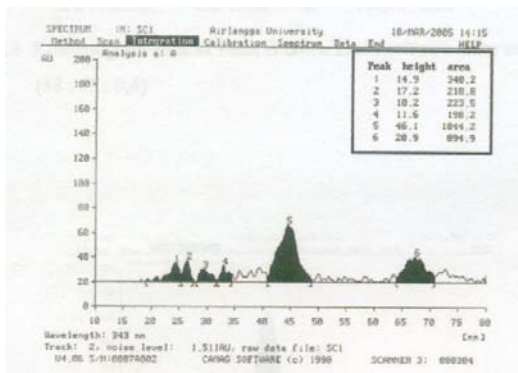
Gambar 3. Perbandingan Kromatogram Sampel Terhadap Standar

3. Kadar skopoletin

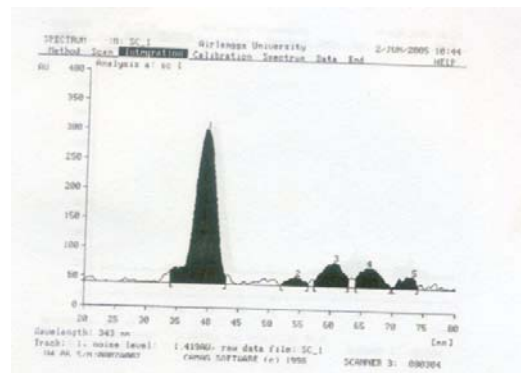
Kelebihan metode KLT – Densitometri adalah spesifitasnya tinggi, dapat digunakan untuk menganalisis senyawa murni maupun dalam campuran, pengerjaannya relatif mudah, murah dan ekonomis.

Lempeng yang telah diekspose dipaparkan dengan densitometer. Kromatogram yang diperoleh dapat diamati pada Gambar 3.

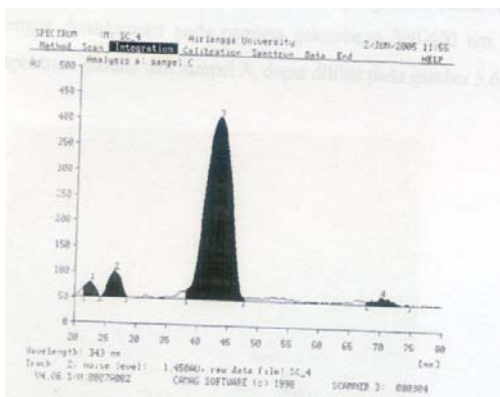
Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan adanya perbedaan bermakna kadar skopoletin pada keempat sampel. Kadar skopoletin pada buah 1,2,3 dan 4 dapat dilihat pada tabel 1,2,3 dan 4. Pada tabel dapat diketahui bahwa kandungan skopoletin yang paling tinggi terdapat pada buah 3 yang berumur 105 hari dengan ciri – ciri, kulit buah berwarna putih-putih kekuningan dan dagingnya masih keras.



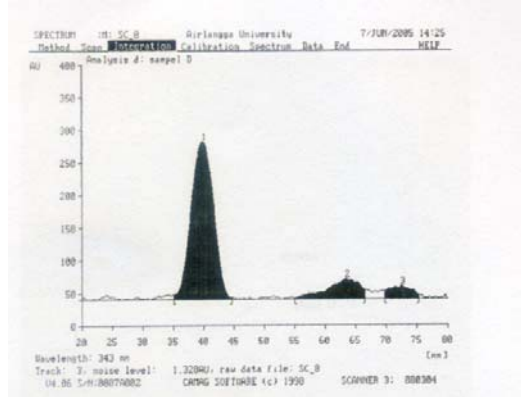
Buah 1



Buah 2



Buah 3



Buah 4

Gambar 3. Kromatogram skopoletin dalam ekstrak buah mengkudu

Dari hasil penelitian, tampak bahwa kadar skopoletin meningkat dengan bertambahnya umur atau meningkatnya kematangan buah dan mencapai puncaknya pada umur 105 hari, kemudian mengalami penurunan setelah melewati usia tersebut. Buah mengkudu yang sangat masak yaitu buah 4 yang berumur 120 hari, kulitnya putih transparan, dagingnya lunak, berair dan mengeluarkan bau yang khas, mengalami penurunan kandungan skopoletin. Sebaliknya kandungan senyawa lainnya justru meningkat dengan bertambahnya kematangan buah, seperti kandungan air yang meningkat hingga mencapai 52 % (Bangun dan Sarwana, 2002), kandungan senyawa asam didalamnya juga meningkat yaitu

asam kaprilat dan asam kaproat yang menimbulkan bau khas (keju busuk) pada buah mengkudu masak (Suriawiria, 2002).

Berdasarkan strukturnya, skopoletin adalah golongan senyawa ester siklik atau lakton. Senyawa ester akan mengalami hidrolisis pada kondisi air berlebih dalam suasana asam. Kadar air berlebih dan kandungan asam menyebabkan hidrolisis skopoletin membentuk 6 – metoksi asam p- kumarat (Fessenden and Fessenden, 1995 ; ojala, 2001). Enzim esterase dan cahaya matahari selama proses pematangan buah menyebabkan penguraian senyawa fenolik seperti skopoletin sehingga menurunkan kadarnya dalam buah (Ojala, 2001 ; Wijesekera, 1991).

Tabel 1. Hasil pengukuran kandungan skopoletin pada Buah 1

Penimbangan sampel (mg)	Area	Kandungan skopoletin dalam ekstrak (ppm)	Kandungan skopoletin dalam buah (ppm)
201,3	3995,3	585,69	10,31
200,1	4034,1	598,69	10,53
200,6	4082,4	608,42	10,71
200,9	4214,3	639,42	11,25
200,3	3878,3	560,01	9,86
200,6	4125,4	618,79	10,89
201,6	4192,1	631,75	11,12
200,6	4125,5	618,79	10,89
200,6	4207,4	638,68	11,12
201,6	4015,9	589,43	10,37
Kandungan rata-rata			(10,72 ± 0,72 ppm)

Tabel 2. Hasil pengukuran Kandungan skopoletin pada Buah 2

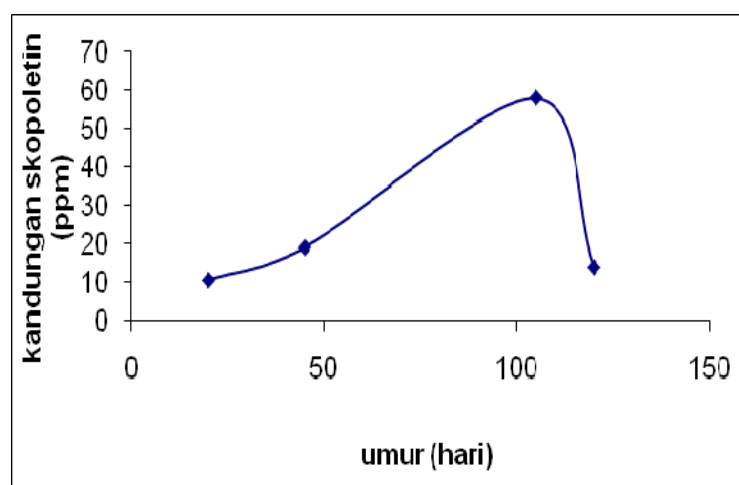
Penimbangan sampel (mg)	Area	Kandungan skopoletin dalam ekstrak (ppm)	Kandungan skopoletin dalam buah (ppm)
200,7	4039,4	976,16	20,40
200,8	3790,6	897,72	18,76
201,6	3893,3	926,21	19,36
201,0	3926,9	939,49	19,64
200,5	3844,0	915,82	19,14
200,1	3804,1	905,10	18,92
201,9	3769,6	886,28	18,52
200,5	3866,5	922,88	19,29
200,6	3679,2	863,67	18,05
206,6	3949,2	948,48	19,82
Kandungan rata-rata			(19,19 ± 0,68)ppm

Tabel 3. Hasil Pengukuran Kandungan Skopoletin pada Buah 3

Penimbangan sampel (mg)	Area	Kandungan skopoletin dalam ekstrak (ppm)	Kandungan skopoletin dalam buah(ppm)
200,6	5381,0	1416,16	58,96
200,2	5199,0	1370,63	57,07
202,2	5266,4	1374,79	57,24
201,7	5330,6	1395,14	58,09
200,7	5289,2	1391,11	57,92
200,0	5281,9	1394,03	58,04
200,8	5178,2	1360,99	56,67
210,0	5599,6	1408,18	58,64
200,2	5260,5	1386,95	57,75
199,9	5368,3	1417,74	59,03
Kandungan rata-rata			(57,94 ± 0,79)ppm

Tabel 4. Hasil Pengukuran Kandungan Skopoletin Pada Buah 4

Penimbangan sampel (mg)	Area	Kandungan skopoletin dalam ekstrak (ppm)	Kandungan skopoletin dalam buah(ppm)
200,7	4039,4	459,64	14,62
200,8	3790,6	455,07	14,48
201,6	3893,3	424,23	13,50
201,0	3926,9	441,65	14,05
200,5	3844,0	434,20	13,82
200,1	3804,1	449,19	14,29
201,9	3769,6	431,61	13,73
200,5	3866,5	434,89	13,84
200,6	3679,2	460,12	14,64
200,6	3949,6	444,72	14,15
Kandungan rata-rata			(14,11 ± 0,39)ppm



Gambar 4. Kurva Umur buah Mengkudu terhadap Kandungan Skopoletin

KESIMPULAN

1. Kadar skopoletin yang diperoleh dari buah 1 adalah (10,72 ±0,45) ppm, buah 2 adalah (19,19±0,68) ppm, buah 3 adalah (57,94±0,79) ppm dan buah 4 adalah (14,11±0,39) ppm.
2. Ada perbedaan kandungan skopoletin yang bermakna dalam berbagai tingkat kematangan buah mengkudu yaitu buah 1 (umur 20 hari), buah 2 (umur 45 hari), buah 3 (umur 105 hari) dan buah 4 (umur 120 hari).

SARAN

1. Buah 3 dengan ciri-ciri umur 105 hari, kulit buah berwarna putih - putih kekuningan dan dagingnya keras, adalah buah yang memiliki kadar skopoletin tertinggi dianjurkan untuk bahan obat tradisional maupun sediaan fitofarmaka.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kondisi lingkungan, patogen dan iklim bagi kadar skopoletin pada buah mengkudu.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 1993. Standard of ASEAN Herbal Medicine, Jakarta: ASEAN Countries
 Bangun A.P. dan Sarwana, B., 2002. Khasiat dan Manfaat Buah Mengkudu, Jakarta: Agromedia Pustaka.

Fessenden and Fessenden, 1991, Kimia organik. Jakarta : penerbit Airlangga
 Fried, B and Sherma, J, 1994. Thin Layer Chromatography Tehniques and Aplication, 3th edition, New York : Marcel Dekker, Inc
 Ojala, T., 2001. Biological Screening of Plant Coumarins, Diambil dari <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/mat/farma/vk/ojala/biologic.pdf>, diakses tanggal 18 januari 2005
 Pecsok, L. R., Shield, D.L., Cairns, T., and William, M.G.I., 1968. Modern Methods of Chemical Drug Analysis, New York : John Wiley & sons
 Purbaya, R.J., 2002. Mengenal dan memanfaatkan Buah Mengkudu. Bandung : Pionir Jaya
 Sjabana, D dan Bahalwan, R. R., 2002. Mangkudu, Jakarta : Salemba Medika
 Suriawiria, u. 2002. 10 Tanaman Berkhasiat Sebagai Obat, Jakarta: Papas Sinar Winanti
 Tadjoedin , H.T. dan Siswanto, H., 2002. Mengebunkan Mengkudu Secara Intensif. Jakarta : Agromedia Pustaka
 Wijesekera , R.O.B., 1991. The Medicinal Plant Industry, New York: CRS Press
 Zgorcka, G. And Gowniak, K., 1999. Simultaneous Determination of Phenolic Acid and Linear Furanocoumarins in Fruits of *Libanotis dolichostyla* by Solid-phase Extraction and High Liquid Cromatography, diambil dari <http://www3.interscience.wiley.com> di akses tanggal 18 januari 2005