

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI RIMPANG TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES FROM RHIZOMES OF TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

Yuwinda Panggabean¹, Eva Marlina^{2*}, Rita Hairani³, Swandari Paramita⁴, Sjarif Ismail⁵

^{1,2,3} Program Studi S1 Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman

Jl. Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, Indonesia

^{4,5} Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

Jl. Krayan, Gunung Kelua, Samarinda, Indonesia

*Corresponding Author: eva_samarinda@yahoo.com

ABSTRACT

Isolation and identification of secondary metabolites from ethyl acetate fraction of rhizomes of Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) have been done. The separation of ethyl acetate fraction and further separation were performed using gravity column chromatography with *n*-hexane and ethyl acetate (9.5:0.5-3:7) as solvent systems to obtain the isolate (oil; 0.0216 g). Based on UV analysis of isolate, the result showed 1 peak at λ 206.14 nm. In addition, the FT-IR spectra indicated the presence of functional groups of OH, aliphatic C-H, C=O and C-O. According to the result of the UV and FT-IR spectra, the isolate can be identified as terpenoid.

Keywords: *Terpenoids, Isolation, Curcuma aeruginosa* Roxb.

PENDAHULUAN

Temu hitam (*C. aeruginosa* Roxb.) merupakan jenis tanaman herbal di Indonesia dari famili Zingiberaceae. Senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung seperti flavonoid, saponin, triterpenoid dan polifenol sering dimanfaatkan sebagai obat herbal [1,2]. Tanaman ini juga mengandung beberapa senyawa kimia yang telah berhasil diisolasi, seperti *zedoalactone* A, *zedoalactone* B, *isofuranodiene*, *furanodiene*, *furanodienone*, *dehydrocurdione*, kurkumin, *13-hydroxygermacrone* dan *zedoanol*, seskuiterpen dan *guaianolide zedoarondiol* [3,4]. Temu hitam (*C. aeruginosa* Roxb.) telah banyak digunakan untuk perawatan kulit, sebagai obat batuk, asma, penambah nafsu makan dan anthelmentik [5]. Penelitian yang telah dilakukan oleh Amalia (2018) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat temu hitam memiliki daya hambat sedang sebagai antioksidan karena banyak mengandung senyawa aktif antioksidan seperti flavanoid, fenolik dan alkaloid [6].

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dalam penelitian yaitu kolom kromatografi, lampu UV, neraca analitik, botol vial, seperangkat alat destilasi, alat-alat gelas, spektrofotometer ultraviolet (UV) *Thermo Scientific Evolution* 201 dan spektrofotometer inframerah (FT-

IR) *Shimadzu*. Bahan dalam penelitian adalah metanol, *n*-heksana, etil asetat, aseton, kloroform, serum (IV) sulfat, vanilin, asam sulfat, silika gel 60 (70-230 mesh) dan plat KLT Merck Keisegel 60 F₂₅₄.

Sampel yang digunakan adalah rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). Sampel telah diidentifikasi di Laboratorium Anatomi dan Sistemika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Samarinda, Kalimantan Timur.

Sebanyak 2.096 kg sampel dimaserasi menggunakan pelarut metanol selama 2×24 jam. Ekstrak hasil maserasi disaring lalu filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C sampai diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak pekat metanol difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, kemudian dilanjutkan dengan pelarut etil asetat. Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan kembali menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat fraksi etil asetat, *n*-heksana dan metanol sisa.

Fraksi etil asetat dianalisa dengan KLT menggunakan eluen *n*-heksana:aseton (7:3) dan *n*-heksana:etil asetat (8:2). Hasil KLT diamati menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm serta menggunakan pereaksi penampak noda larutan serum sulfat. Eluen dengan hasil pemisahan terbaik yang akan digunakan

sebagai fasa gerak pada kromatografi kolom dari fraksi etil asetat.

Fraksi etil asetat tanaman temu hitam dilakukan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel G 60 (70-230 mesh). Ekstrak temu hitam diimpregnasi menggunakan silika gel G 60 (70-230 mesh) lalu dikeringkan dan dilakukan kromatografi kolom secara gradien dengan meningkatkan kepolaran menggunakan eluen campuran *n*-heksana:etil asetat (9,5:0,5-3:7). Fraksi hasil pemisahan ditampung dalam vial dan diuapkan. Setelah kering dianalisa menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan fraksi-fraksi dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi. Fraksi yang berpotensi mengandung senyawa tunggal dianalisa dengan uji kemurnian.

Uji kemurnian dilakukan dengan KLT menggunakan fasa gerak yaitu *n*-heksana, kloroform, etil asetat dan aseton. Jika isolat menunjukkan adanya noda tunggal yang terdapat pada plat kromatogram dari fasa gerak berbeda menunjukkan isolat relatif murni. Noda tunggal dari uji kromatografi lapis tipis tersebut menunjukkan telah didapatkan senyawa yang memiliki tingkat kemurnian tinggi [7].

Senyawa metabolit sekunder yang telah diperoleh dari hasil isolasi kemudian diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV untuk mengetahui nilai panjang gelombang maksimal dan

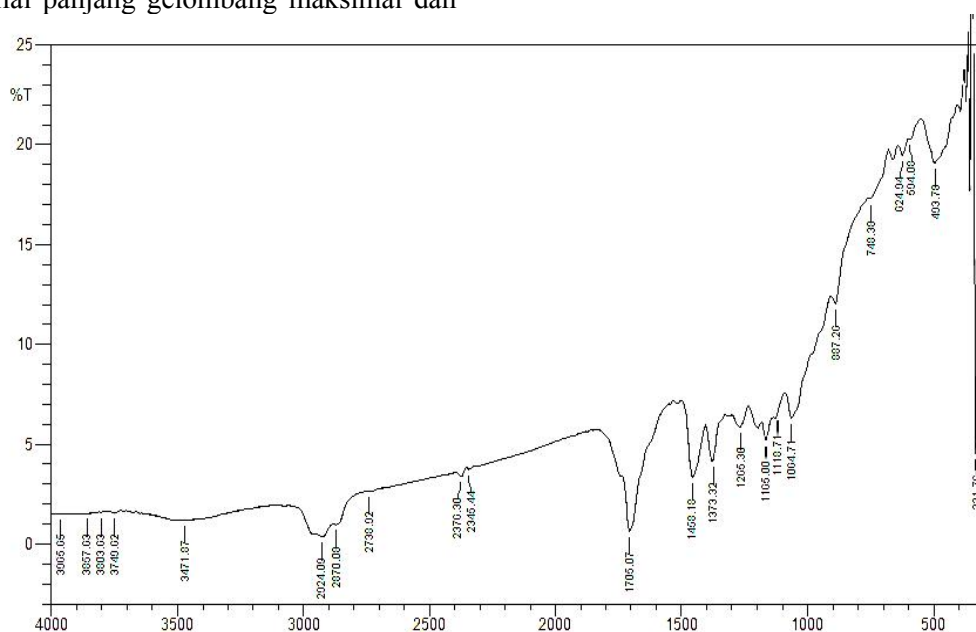
spektrofotometer IR untuk menentukan gugus-gugus fungsional dari senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat yang diperoleh berupa minyak berwarna kuning sebanyak 0,0216 gram. Uji kemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis menunjukkan nilai *R_f* isolat dalam pelarut *n*-heksana, kloroform, aseton dan etil asetat masing-masing adalah 0; 0,76; 0,6 dan 0,8. Semua kromatogram menunjukkan noda tunggal sehingga isolat dapat dinyatakan relatif murni. Berdasarkan pengamatan dengan lampu UV λ 254 nm dan 366 nm dan penampak noda vanillin sulfat terlihat pada plat KLT isolat terdapat noda tunggal berwarna biru. Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa yang terkandung pada adalah senyawa terpenoid [8]

Isolat diidentifikasi berdasarkan spektra UV dan FT-IR. Spektra UV isolat dalam pelarut metanol menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 206,14 nm dengan absorbansi 0,216 mengindikasikan bahwa isolat mempunyai ikatan rangkap tidak terkonjugasi [9]. Serapan khas untuk senyawa terpenoid memiliki ikatan rangkap tidak terkonjugasi [10].

Berikut merupakan spektrum FT-IR isolat hasil karakterisasi dan tabel interpretasi.



Gambar 1. Spektrum FT-IR Isolat

Tabel 1. Interpretasi Spektrum FT-IR Isolat

| Pustaka (Sastrohamidjojo,1992) | | | (Rita, 2010) | (Atmoko, 2018) | Senyawa D ₃ | |
|--------------------------------|------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------|------------------------|------------------|
| Tipe vibrasi | | Frekuensi (cm ⁻¹) | Intensitas | (cm ⁻¹) | (cm ⁻¹) | |
| O-H | Alkohol | 3600-3300 | Medium | 3425,58 | 3487,30 | 3471,87 |
| | | 769-650 | Medium | - | 690,52 | 748,38 |
| C-H | Alifatik (ulur) Alkana | 3000-2850 | Kuat | 2924,09 | 2927,94 | 2924,09 |
| | | Alifatik (tekuk) Alkana | 1465-1375 | Medium | 1450,47 | 1462,04 |
| | Alifatik (ulur) Alkena | 3100-3000 | Medium | - | 3061,03 | - |
| | | Alifatik (tekuk) Alkena | 1000-650 | Kuat | - | 993,34 860,25 |
| C=C | Alkena | 1680-1600 | Medium-Lemah | 1620,21 | 1635,64 | - |
| C=O | Keton | 1725-1705 | Kuat | 1728,22 | 1708,93 | 1705,07 |
| C-O | Alkohol | 1300-1000 | Kuat | 1242,16 | 1238,30 | 1265,30 |

Spektra FT-IR menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus -OH pada bilangan gelombang 3471,87 cm⁻¹ dan diperkuat dengan adanya serapan OH pada bilangan gelombang 748,38 cm⁻¹. Serapan pada bilangan gelombang 2924,09 cm⁻¹ merupakan gugus C-H alifatik (ulur) alkana yang didukung dengan adanya vibrasi tekuk C-H alifatik alkana pada bilangan gelombang 1458,18 cm⁻¹. Gugus karbonil atau keton (C=O) ditunjukkan pada bilangan gelombang 1705,07 cm⁻¹. Terdapat vibrasi tekuk C-O alkohol pada daerah serapan bilangan gelombang 1265,30 cm⁻¹. Menurut Jayanti *et al.*, (2012) dari hasil spektrum IR senyawa yang memiliki gugus fungsi hidroksil OH, C-O alkohol, C-H alifatik, C=C alifatik dan C=O diindikasikan sebagai senyawa terpenoid [10]. Berdasarkan hasil dari interpretasi spektrum UV dan FT-IR diduga bahwa senyawa yang terdapat pada isolat rimpang temu hitam adalah golongan terpenoid.

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder telah berhasil diisolasi dari rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) berupa minyak kuning dengan massa 0,0216 gram. Hasil identifikasi senyawa berdasarkan data spektrum UV menunjukkan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 206,14 nm merupakan ikatan rangkap tidak terkonjugasi. Pada spektrum FT-IR menunjukkan gugus fungsi hidroksi O-H alkohol, C-O alkohol, C-H alifatik alkana dan C=O keton. Berdasarkan interpretasi data dari hasil analisa dengan menggunakan spektrum UV dan FT-IR diduga isolat berupa senyawa terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kitamura, C., T. Nagoe, M. S. Prana, A. Agusta, K. Ohashi, H. Syibuya. (2007). Comparison sp. In Yakusima with *C. aeruginosa* and *C. zedoaria* in Java by trnK Gene Sequence, RAPD Pattern and Essential Oil Component. *J. Nat. Med.* 6, 239-243.
- [2] Thomas, Td. dan Jose, S. (2014). Comparative phytochemical and anti-bacterial studies of two indigenous medicinal plants *Curcuma caesia* Roxb. and *Curcuma aeruginosa* Roxb. *International Journal of Green Pharmacy*.
- [3] Sirait, H.M., Jamil, S. dan Rahman, A.A. (1998). Sesquiterpenes from *Curcuma aeruginosa*. *Planta Med.*, 64, 584-585.
- [4] Takano, I., Yasuda, I., Takeya, K. dan Itokawa, H. (1995). Guaiane sesquiterpene lactones from *Curcuma aeruginosa*. *Phytochemistry*, 40 (4), 1197-1200.
- [5] Baharun, K., Rukmi, I., Lunggani, A.T., dan Fachriyah, E. (2013). Daya Antibakteri Berbagai Konsentrasi Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* roxb.) Terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* Secara Invitro. *Jurnal Biologi*, Volume 2 No 4, 16-24.
- [6] Amalia, D. (2018). Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman.
- [7] Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*, Volume 8, No 2, 53-61.

- [8] Alen, Y., Agresa, F.L., Yuliandra, Y. (2017). Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 3(2), 146-152.
- [9] Santoni.(2015). Isolasi Dan Elusidasi Struktur Senyawa Triterpenoid Dari Kulit Batang Ambacang. *J. Ris. Kim*. 9(1), 1–8.
- [10] Jayanti, Nolika Wiji, Maria Dewi Astuti, Noer Komari, dan Kholifatu Rosyidah. (2012). Isolasi Dan Uji Toksisitas Senyawa Aktif Dari Ekstrak Metilena Klorida (MTC) Lengkuas Putih (*Alpinia Galanga* (L) Willd). *Chem.Prog* 5(2), 100–1086.