

# ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK METANOL AKAR TUMBUHAN TUNJUK LANGIT (*Helminthostachys zeylanica*)

Novia Rahim<sup>1\*</sup>, Hilwan Yuda Teruna<sup>2</sup>, Jasril<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup>Pascasarjana Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

<sup>2,3</sup>Universitas Riau, Panam Simpang Baru, Pekanbaru, 28293 Indonesia

e-mail : novia.rahim@grad.unri.ac.id

## ABSTRAK

*Helminthostachys zeylanica* merupakan tumbuhan dari famili *Ophioglossaceae* yang dikenal dengan nama tumbuhan tunjuk langit. Akar tumbuhan ini digunakan sebagai obat batuk 100 hari, disentri, penyakit hidung dan penyakit paru-paru. Tumbuhan ini mengandung saponin, flavonoid dan fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan karakterisasi senyawa flavonoid dari akar tumbuhan tunjuk langit ini. Metode isolasi yang digunakan adalah metode fraksinasi kepolaran. Akar tumbuhan tunjuk langit sebanyak 7,5 kg dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 17 L selama 3x24 jam kemudian diultrasonik selama 1 jam. Ekstrak kental sebanyak 100 gr kemudian dipartisi dengan campuran metanol dan n-heksan 2:1. Fraksi metanol dari hasil partisi di kentalkan kemudian di kromatografi vacum cair (VLC) dalam 12 fraksi (n-heksan, etil asetat dan metanol). Senyawa flavonoid didapat setelah hasil VLC pada fraksi 5 dan 6 digabung kemudian di *flash chromatography*. Senyawa flavonoid berupa kristal kuning pada vial 19 diberi kode sebagai HZ19. Uji kemurnian menggunakan KLT dan HPLC serta penentuan titik leleh kemudian dilanjutkan dengan penentuan struktur menggunakan alat spektroskopi UV, inframerah (IR). Berdasarkan data spektroskopi HZ19 diketahui bahwa senyawa flavonoid merupakan jenis flavon yang di golongan ugonin.

**Kata kunci :** Flavonoid, *Helminthostachys zeylanica*, ugonin.

## ABSTRACT

*Helminthostachyszeylanica* is a plant of the family *ophioglossaceae* known as the tunjuk langit plant. The roots of this plant is used as a 100 days cough remedy, dysentery, nasal disease and lung disease. This plant contains saponins, andflavonoids. This study aims to isolate and characterizethe flavonoid compounds from the root of tunjuk langit. Isolation methods used polar fractionation method. Some 7.5 kg oftunjuk langit wasmacerated with methanol17 L for 3x24 hours later ultrasonicatide for 1 hour. Extract thick about 100 gr then partioned with methanol mixture and *n*-hexan 2:1. Methanol fraction of partition result thickened then in chromatography liquid vacuum (VLC) in 12 fraction (*n*-hexane – etilacetate – methanol). Flavonoid compound obtained after VLC result on fraction 5 and 6 is combined then in flash chromatography. Flavonoid compound such yellow crictal on vial 19 is coded as HZ19. The purity of this compound was analized by TLC and HPLC as well as determination of the melting point range. Structure of pure compound was determined using spectroscopy method including UV-Vis, infrared (IR). Based on spectroscopic data HZ19 known that flavonoid is a Flavon kind in ugonin group.

**Keywords :** Flavonoids, *Helminthostachys zeylanica*, ugonin.

## PENDAHULUAN

Kondisi alam Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati mempengaruhi pola hidup masyarakat kita. Salah satunya metode pengobatan yang dipakai masyarakat awam untuk mengatasi suatu penyakit. Metode pengobatan dengan memanfaatkan khasiat suatu tumbuhan masih terus berkembang untuk mengatasi penyakit dengan kronis ataupun tidak. Salah satunya seperti bagi masyarakat Melayu, tumbuhan tunjuk langit ini dikenal dengan nama rawu bekubang. Akar tumbuhan ini digunakan sebagai obat batuk 100 hari, disentri, penyakit hidung dan penyakit

paru-paru. Tumbuhan ini mengandung saponin, flavonoid dan fenolik (Fitrya dan Anwar, 2009).



Gambar 1. Tumbuhan paku tunjuk langit (*Helminthostachys zeylanica*).

Huang *et al.*, (2003) melaporkan telah berhasil mengisolasi delapan flavonoid yaitu ugonin E-L dari ekstrak etanol rimpang *H.zeylanica*, beberapa diantaranya berpotensi sebagai antioksidan. Hasil uji secara *in vivo* menunjukkan ekstrak etanol akar tunjuk langit memiliki potensi sebagai penurun kadar asam urat darah (Fitrya dan Muharni, 2014). Bagi masyarakat Taiwan, rimpang *H. zeylanica* disebut “daodi-ugon”, dalam obat tradisional Cina digunakan sebagai antipiretik (Huang *et al.*, 2003).

Berdasarkan permasalahan tersebut, diketahui bahwa akar tumbuhan tunjuk langit memiliki potensi sebagai bahan alam dengan berbagai bioaktivitas. Namun, belum banyak terdapat penelitian isolasi dan karakterisasi metabolit sekunder akar tunjuk langit yang berasal dari Riau. Untuk itu, perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi dari senyawa murni hasil isolasi ekstrak metanol akar tunjuk langit ini.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat peralatan destilasi, *rotary evaporator*, ultrasonicator, lumpang, neraca analitik, satu set alat kromatografi vakum cair, satu set alat kromatografi kolom flash, satu set alat lampu ultraviolet, spektrofotometer UV-Visible, HPLC, lampu UV, alat penentu titik leleh Fisher Johns, chamber, spatula, pipa kapiler, hot plat, dan peralatan gelas yang biasa dipakai di laboratorium kimia.

Bahan yang digunakan adalah akar tunjuk langit, metanol, *n*-heksana, etilasetat, plat KLT GF<sub>254</sub>, silika gel 60 GF<sub>254</sub>, silika gel G (230-400 mesh), silika gel 60 PF<sub>254</sub> (Merck, No. Kat. 1.07749.1000), aluminium foil, aqua DM, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, FeCl<sub>3</sub>, Logam Mg, pereaksi Liebermann-Burchard,

### Penanganan sampel

Bahan tanaman yang digunakan adalah Akar tumbuhan tunjuk langit (*Helminthostachys zeylanica*) yang berasal dari Kecamatan Rakit Kulim, Kabupaten Indragiri Hulu, Provinsi Riau. Akar tunjuk langit dibersihkan dan disimpan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau. kemudian akar tumbuhan tunjuk langit dibersihkan dan dikering-anginkan tanpa terkena sinar matahari. Setelah kering kemudian ditumbuk hingga halus. Sebagian akar yang sudah halus di secara fitokimia.

### Ekstraksi

Ekstraksi akar tunjuk langit dilakukan dengan metode maserasi. Akar tunjuk langit sebanyak 7,5 kg dihaluskan dan ditimbang kemudian direndam di dalam bejana ekstraksi dengan pelarut metanol (17 L dalam 3 kali pengulangan) selama 3x24 jam pada suhu kamar. Setelah 3x24 jam, diultrasonikasi lebih kurang 1 jam. Proses maserasi ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Maserat yang didapat diuapkan pelarutnya menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga didapat maserat total metanol. Maserat total metanol dipartisi dengan pelarut *n*-heksana dan metanol. Pisahkan antara ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol. Kemudian ekstrak metanol di *rotary evaporator* dan uji dengan KLT. Selanjutnya kromatografi vakum cair (VLC).

Ekstrak metanol dipisahkan dengan kolom kromatografi vakum cair. Kolom dielusi secara bergradien menggunakan pelarut *n*-heksana, etilasetat dan metanol sehingga didapatkan 12 fraksi. Masing-masing fraksi diuapkan pelarutnya menggunakan alat *rotary evaporator* dan uji dengan KLT.

Fraksi hasil VLC digabungkan, kemudian dilanjutkan pemisahan dengan kromatografi cepat. Kolom diisi dengan silika gel G (230-400 mesh) (Merck). Fraksi gabungan dipreadsorpsi dan dimasukkan ke dalam kolom. Kemudian dielusi secara

bergradien menggunakan pelarut *n*-heksana : etilasetat sampai etilasetat : metanol. Semua hasil fraksinasi yang keluar ditampung dalam vial yang telah diberi nomor. Padatan yang didapat pada vial kemudian uji dengan KLT.

Hasil rekristalisasi diuji dengan KLT dengan berbagai macam eluen, jika dihasilkan satu noda berarti padatan yang diperoleh sudah murni. Uji kemurnian yang lain dengan melakukan HPLC pada sampel dan melihat titik lelehnya menggunakan alat penentu titik leleh *Fisher Johns*. Pembacaan titik leleh dimulai saat kristal mulai meleleh hingga meleleh semuanya. Jika selisih titik lelehnya kecil atau sama dengan 2°C maka senyawa tersebut telah murni.

#### Karakterisasi

Senyawa murni yang diperoleh dilakukan karakterisasi dengan spektroskopi GENESYS 10S UV-Vis dan IR Shimadzu prestige-21 .

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil

Hasil uji fitokimia akar tumbuhan *H.zeylanica* terhadap kandungan Flavonoidnya dengan pereaksi HCl dan logam Mg (metode Wilstate) menghasilkan warna merah. Hasil maserasi didapat 250,15 gr ekstrak kental yang kemudian di partisi dengan campuran metanol dan *n*-heksan.

Fraksi metanol hasil partisi yang sudah di *rotari evaporator* kemudian di kromatografi vacum cair (VLC) dalam 12 fraksi (*n*-heksana, etil asetat, metanol) dan dikentalkan kembali dengan *rotari evaporator*. Tahap selanjutnya ekstrak kental dari VLC di uji KLT dengan hasil yang terlihat pada **Tabel 1**.

Berdasarkan kesamaan pola noda, bentuk dan puncak noda yang sama dari hasil KLT di atas, maka fraksi 5 dan fraksi 6 digabung. Hasil uji KLT dari fraksi 5-6 terlihat 3 noda. Oleh karena itu selanjutnya dilakukan kromatografi cepat.

**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia ekstrak metanol akar *H. zeylanica*.

No	Golongan senyawa	Pereaksi	Pengamatan	Ket
1	Alkaloid	Meyer	Tidak ada perubahan	(-)
		Dragendorff	Tidak ada perubahan	(-)
2	Flavonoid	NaOH	Terbentuk warna kuning	(+)
		HCl dan Logam Mg	Terbentuk warna merah	(+)
3	Terpenoid	Lieberman Burchad	Terbentuk warna merah	(+)
4	Steroid	Lieberman Burchad	Tidak ada perubahan	(-)
5	Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	Terbentuk warna ungu	(+)
6	Saponin	H <sub>2</sub> O	Terbentuk busa stabil	(+)

**Tabel 2.** Uji KLT fraksigabungan 5-6 dengan eluenetilasetat : *n*-heksana ( 7:3)

Fraksi	Harga Rf (cm)	Keterangan
5-6	0,125; 0,25; 0,95	3 noda

Hasil kromatografi cepat menghasilkan padatan pada vial 19-25. Pada masing-masing vial diuji KLT dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (5:5). Hasil uji KLT pada vial 19 diberi kode HZ19. Selanjutnya dilakukan pemurnian dengan cara rekristalisasi.

**Tabel 3.** Uji KLT vial hasil kromatografi cepat

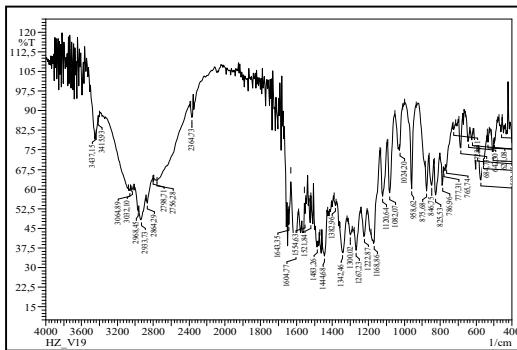
No vial	Harga Rf (cm)	Keterangan
19	0,625; 0,75	2 noda
20	0,6	1 noda
21	0,65; 0,8	2 noda
22	0,6	1 noda
23	0,575	1 noda
24	0,575	1 noda
25	0,55	1 noda

Hasil rekristalisasi diperoleh dengan bentuk padatan kuning dan selanjutnya dilakukan uji KLT dengan eluen DCM : EtOAc (6 : 4). Dari hasil uji KLT diperoleh 1 noda dengan nilai Rf 0,62 dengan berat 23,20 mg. Analisis kemurnian dengan cara uji titik leleh menggunakan alat *Fisher Johns*. Ini dilakukan untuk meyakinkan padatan yang diperoleh benar-benar sudah murni. Dari hasil uji diketahui titik leleh dari senyawa HZ19 adalah sekitar 229 -231°C.

### Spektroskopi UV

Spektrum ultraviolet senyawa HZ19 dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 215 nm, 265 nm dan 335 nm.

### Spektroskopi Inframerah



Gambar 2. Spektrum IR HZ19

Spektrum inframerah senyawa pada vial 19 menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) yaitu  $3437 \text{ cm}^{-1}$ ,  $2933 \text{ cm}^{-1}$ ,  $2864 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1643 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1604\text{-}1554 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1082 \text{ cm}^{-1}$ .

### PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia akar tumbuhan *H.zeylanica* terhadap kandungan Flavonoidnya dengan pereaksi HCl dan logam Mg (metode Wilstate) menghasilkan warna merah. Warna jingga hingga merah menunjukkan adanya flavon (Soerya, 2005) Hasil pengujian menunjukkan *H.zeylanica* positif mengandung Flavonoid. Pada hasil uji KLT hasil VLC didapat pola dan tinggi puncak noda yang sama pada fraksi 5 dan fraksi 6, sehingga kedua fraksi digabung dan di uji KLT kembali dan didapat 3 noda dengan

nilai Rf (0,125; 0,25; 0,95). Kemudian fraksi gabungan yang sudah telah di kromatografi cepat, terdapat padatan kuning pada vial 19-25. Padatan vial 19 dimurnikan dan di uji KLT dalam DCM :MeOH = 6:4 sehingga diperoleh 1 noda dengan nilai Rf 0,62. Massa akhir kristal yang didapat setelah reksristalisasi adalah sebesar 23,20 mg. padatan pada vial 19 ini dikodekan sebagai HZ19.

Analisis spektrum ultraviolet senyawa HZ19 dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 215 nm, 265 nm dan 335 nm, hal ini merupakan indikasi adanya flavone (Markham, 1988). Spektrum inframerah senyawa HZ19 menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) yaitu 3437 (hidroksil – OH), 2933 (C-H aromatik), 2864 (C-H alifatik), 1643 (C=O aromatik), 1604-1554 (C=C),  $1082 \text{ cm}^{-1}$  (C-O-C) dimana puncak-puncak ini khas untuk senyawa flavone (Fitrya *et al.*, 2010). Peak tajam pada 6 puncak spektrum IR ini dapat menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat pada vial 19 atau dikode dengan HZ19 adalah senyawa flavon golongan ugonin.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis karakterisasi spektroskopi UV, dan IR, terhadap senyawa hasil isolasi ekstrak metanol tumbuhan *H.zeylanica* dapat diambil **SIMPULAN** bahwa senyawa dengan simbol HZ19 merupakan satu senyawa Flavonoid jenis flavon golongan ugonin.

### DAFTAR PUSTAKA

- Fitrya dan Anwar L. 2009. Uji aktivitas antikanker secara in vitro dengan sel murine p-388 senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat akar tumbuhan tunjuk langit (*Helminthostachys zeylanica* (Linn) Hook). *J. Penelitian Sains*. 12(1).
- Huang, Y.L., Yeh, P.Y., Shen, C.C. dan Chen, C.C. 2003. Antioxidant flavonoid from the rhizomes of *Helminthostachys zeylanica*. *phytochemistry*. 64: 1277-1283.
- Fitrya dan Muharni. 2014. An Antihyperuricemia effect of ethanol extract of tunjuk langit rhizome (*helminthostachys zaylanica* linn hook) on swiss male mice. *Traditional Medicine Journal*. 19 (1): 14-18.

Fitrya, Anwar, L. dan Sari, F. 2010. Identifikasi Flavonoid dari Buah Tumbuhan Mempelas. *Indo. J. Penelitian Sains*. 12 (3): 1-5

Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung. ITB

Huang, Y.C., Hwang, T.L., Yang, Y.L., Wu, S.H., Hsu, M.H., Wang, J.P., Chen, S.C., Huang, L.J. dan Liaw, C.C. 2010. Acetogenin and prenylated flavonoids from *Helminthostachys zeylanica* with inhibitory activity on superoxide generation and elastase release by neutrophils. *J.Planta Med.* 76: 447-453.