



Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Safira^a, Enny Fachriyah^{a*}, Dewi Kusriani^a

^a Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: enny.fachriyah@live.undip.ac.id

Article Info

Keywords:
Zingiber cassumunar Roxb., flavonoid, isolation, identification, toxicity test

Kata kunci:
Zingiber cassumunar Roxb., flavonoid, isolasi, identifikasi, uji toksisitas

Abstract

Isolation, identification and toxicity test of flavonoid compounds from ethyl acetate extract of bingle rhizome (*Zingiber cassumunar* Roxb.) have been performed. From the results, it was obtained the yield of methanol extract as much as 5.75% came from maceration of bingle rhizome powder using methanol. The methanol extract obtained was then extracted using ethyl acetate and obtained an ethyl acetate extract of 4.8%. The results of phytochemical screening of bingle rhizome and ethyl acetate extract showed that both contained flavonoid compounds, saponins, steroids and triterpenoids. Then the separation of flavonoid compounds from ethyl acetate extract was undertaken using column chromatography and preparative TLC. From column chromatography result, 8 fractions (FA-FH) were obtained. The results of preparative TLC fraction D showed the presence of two flavonoid compounds. The result of identification using UV-Vis with addition of Shif reagent, it was found the flavonoid class of flavonol (3-OH free) ie 3,5,6,4' tetrahydroxy flavonoid flavonoid auron group that is 6,7,4' trihidroksi auron. Toxicity test results on the methanol fraction, ethyl acetate fraction and fraction D yields each had a LC₅₀ values of 41.645 ppm; 56.603 ppm; 143.384 ppm hence these three results had a potency as anti-bacterial.

Abstrak

Telah dilakukan isolasi, identifikasi, dan uji toksisitas senyawa flavonoid dari ekstrak etil asetat rimpang bengle (*Zingiber cassumunar* Roxb.). Dari hasil penelitian, didapatkan rendemen ekstrak metanol sebanyak 5.75% berasal dari maserasi serbuk rimpang bengle menggunakan metanol. Ekstrak metanol yang didapat selanjutnya diekstraksi menggunakan etil asetat dan didapatkan ekstrak etil asetat sebanyak 4.8%. Hasil penapisan fitokimia rimpang bengle dan ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa pada keduanya mengandung senyawa flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid. Kemudian dilakukan pemisahan senyawa flavonoid dari ekstrak etil asetat menggunakan kromatografi kolom dan KLT preparatif. Dari hasil kromatografi kolom didapatkan 8 fraksi (FA-FH). Hasil KLT preparatif fraksi D menunjukkan adanya dua senyawa flavonoid. Hasil identifikasi menggunakan UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser diperoleh flavonoid golongan flavonol (3-OH bebas) yaitu 3,5,6,4' tetrahidroksi flavonol flavonoid golongan auron yaitu 6,7,4' trihidroksi auron. Hasil uji toksisitas terhadap fraksi metanol, fraksi etil asetat dan hasil kolom fraksi D masing-masing memiliki nilai LC₅₀ berturut-turut 41,645 ppm; 56,603 ppm; 143,384 ppm sehingga ketiga hasil tersebut memiliki potensi sebagai anti bakteri.

1. Pendahuluan

Bengle atau *Zingiber cassumunar* Roxb. merupakan salah satu tanaman obat yang dapat tumbuh subur di

wilayah Indonesia. Manfaat rimpang bengle antara lain: aromatikum, obat demam, menutup luka, obat cacing, penenang pada anak kecil, stimulan, karminatif,

penghangat badan [1], anti radang [2], obat asma, mengurangi rasa sakit atau bersifat analgetik, obat beriberi [3], sebagai anti oksidan [4, 5]. Selain manfaat yang telah disebutkan di atas *Zingiber cassumunar* Roxb. juga merupakan salah satu tanaman yang berfungsi sebagai anti bakteri. Efek farmakologis dari bangle ini kemungkinan disebabkan oleh salah satu atau gabungan beberapa senyawa kimia yang terkandung di dalamnya, seperti: saponin, tannin, terpenoid, flavonoid, fenil butenoid, dan minyak atsiri [6].

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang ditemukan di alam dan hampir dapat ditemukan pada setiap jenis tumbuhan. Flavonoid yang terkandung pada rimpang bangle diduga merupakan salah satu senyawa yang ikut berperan dalam proses pengobatan. Hal ini dikarenakan pada flavonoid mempunyai gugus-gugus aktif yang berperan dalam proses tersebut. Penelitian dan publikasi mengenai senyawa flavonoid yang terdapat pada rimpang bangle belum banyak ditemukan. Oleh karena itu perlu adanya penelitian untuk mengetahui senyawa flavonoid yang terdapat pada rimpang tersebut. Dengan diketahuinya senyawa flavonoid dan toksisitas dari rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), maka rimpang tersebut dapat lebih bermanfaat untuk kesehatan manusia.

2. Metode Penelitian

Alat & Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi: satu set alat maserator, satu set alat evaporator putar *Buchii*, neraca analitis, batang pengaduk, gelas beaker, botol vial, corong pisah, labu ukur, plat tetes, pipet tetes, pipet mikro, gelas ukur, tabung reaksi, satu set KLT, satu set kromatografi kolom, dan spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle yang dibeli di pasar Johar Semarang. Bahan kimia yang digunakan adalah metanol teknis, etil asetat, Pereaksi Libermann–Burchard (anhidrida asam asetat p.a, asam sulfat pekat p.a), Pereaksi Meyer (merkuri klorida p.a, kalium iodida p.a), larutan 1% ferri klorida, asam klorida pekat, serbuk magnesium, amil alkohol p.a, amonia 25% teknis, kloroform p.a, n-heksana, aquades, natrium hidroksida 2M, aluminium klorida 5%, natrium asetat, asam borat, telur *Artemia salina*, garam, dan aquades.

Cara Kerja

Serbuk rimpang bangle dimaserasi menggunakan metanol selama 7 x 24 jam. Ekstrak yang didapat dikentalkan menggunakan evaporator putar *Buchii*. Ekstrak metanol yang didapatkan dipartisi menggunakan etil asetat. Selanjutnya ekstrak etil asetat dievaporasi menggunakan evaporator. Ekstrak etil asetat yang didapat kemudian dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan eluen campuran yaitu: metanol: kloroform: n-heksan (1:2:6). Fraksi yang keluar dari kromatografi kolom ditampung dalam botol vial. Dari fraksi yang menghasilkan intensitas warna paling kuat pada uji flavonoid kemudian dilakukan KLT preparatif menggunakan campuran eluen n-heksan:etil asetat (2:1). Setelah didapatkan noda-noda

pada plat KLT, kemudian diuji kembali ada tidaknya flavonoid. Senyawa flavonoid pada noda tersebut, kemudian dikerok. Noda yang dihasilkan ternyata belum murni, selanjutnya dilakukan pemisahan kembali menggunakan KLT preparatif dengan eluen n-heksan:kloroform (2:9). Kemudian noda yang intensitas flavonoidnya paling kuat dilakukan preparatif ke-3 menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (8:5). Dari Hasil KLT preparatif diidentifikasi menggunakan UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser (NaOH, AlCl₃, HCl, NaOAc, H₃BO₃). Uji toksisitas terhadap ekstrak metanol, ekstrak etil asetat, dan fraksi D hasil kolom dilakukan dengan metode BSLT.

3. Hasil Dan Pembahasan

Isolasi Flavonoid dalam Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Hasil maserasi 500gram serbuk rimpang bangle menggunakan metanol didapatkan ekstrak metanol sebanyak 28,76 gram. Hasil ekstraksi menggunakan etil asetat diperoleh ekstrak etil asetat sebanyak 24gram. Dari hasil uji fitokimia didapatkan bahwa pada ekstrak etil asetat mengandung flavonoid. Hasil pemisahan terhadap ekstrak etil asetat menggunakan kromatografi kolom dengan eluen metanol: kloroform: n-heksan (1:2:6) didapatkan 8 fraksi (A-H) seperti yang dipaparkan pada tabel 1.

Secara kualitatif dari intensitas warna menunjukkan bahwa FD mengandung flavonoid. Dilanjutkan pemisahan menggunakan KLT preparatif didapatkan dua noda yang intensitas warna flavonoidnya paling kuat, yaitu pada noda ke-2 (biru kekuningan) dikerok kemudian diidentifikasi yang disebut isolat A dan noda ke-1 (kuning kehijauan) dilakukan pemisahan kembali menggunakan KLT preparatif menggunakan campuran n-heksan:kloroform (2:9) didapatkan 4 noda. Pada noda ke-1 dilakukan preparatif kembali menggunakan eluen campuran n-heksan:etil asetat (8:5). Didapatkan 4 noda. Noda ke-2 (kuning) dikerok kemudian diidentifikasi yang disebut isolat B.

Tabel 1: Hasil uji fitokimia flavonoid dari fraksi hasil kromatografi kolom

Fraksi	Botol	Uji flavonoid
A	1-16	-
B	17-28	++
C	29-55	+
D	56-108	+++
E	109-114	+
F	115-121	+
G	122-129	+
H	130-144	+

Ket: - : tidak mengandung flavonoid

+ : mengandung flavonoid

Identifikasi Flavonoid dalam Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Hasil analisis isolat A dengan spektrofotometer uv dapat diketahui bahwa terjadi absorpsi cahaya pada panjang gelombang 270 nm dan 257 nm pada pita II dan 377nm pada pita I. Menurut Markham [7] senyawa flavonoid pada rentang 250-280nm (pita II) dan 350-

385nm (pita I) merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol (3 OH bebas), sehingga dimungkinkan isolat A adalah flavonoid golongan flavonol (3 OH bebas). Pola oksigenasi atau kemungkinan letak gugus hidroksi pada kerangka flavonol (3 OH bebas) diperoleh dari perubahan panjang gelombang setelah penambahan pereaksi geser (NaOH, AlCl₃, HCl, NaOAc, H₃BO₃). Dari hasil pergeseran panjang gelombang dapat disimpulkan bahwa kemungkinan adalah 3,5,6,4' tetrahidroksi flavonol. Spektra UV-Vis sebelum dan setelah penambahan pereaksi geser ditabulasikan pada tabel 2.

Tabel 2: Data spektra UV-Vis isolat A sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser

	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pergeseran Pita I (nm)
Metanol	377	270;257	-
+NaOH	402,5	-	25.5
+NaOH 5 menit	403	-	26
+AlCl ₃	391,5	257	14
+AlCl ₃ +HCl	394,5	257.5	17.5
+NaOAc	377	271,5; 257,5	-
+NaOAc + H ₃ BO ₃	377	270,5; 257,5	-

Berdasarkan data hasil analisis isolat B dengan spektrofotometer uv dapat diketahui bahwa terjadi absorpsi cahaya pada panjang gelombang 259,5 nm pada pita II dan 421 nm pada pita I. Menurut Markham [7] senyawa flavonoid pada rentang 230-270 nm (pita II) dan 380-430 nm (pita I) merupakan senyawa flavonoid golongan auron, sehingga dimungkinkan isolat B adalah flavonoid golongan auron. Sama halnya pada isolat A, pada isolat B dilakukan penambahan pereaksi geser untuk mengetahui pola oksigenasinya. Dari hasil pergeseran panjang gelombang dapat disimpulkan bahwa kemungkinan adalah 6,7,4' trihidroksi auron. Spektra UV-Vis sebelum dan setelah penambahan pereaksi geser ditabulasikan pada tabel 3.

Tabel 3: Data spektra UV-Vis isolat B sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser

	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pergeseran Pita I (nm)
Metanol	421	259,5	-
+NaOH	460	258	39
+NaOH 5 menit	456,5	258	35,5
+AlCl ₃	448,5	259	27,5
+AlCl ₃ +HCl	443	259	22
+NaOAc	423	259	2
+NaOAc+H ₃ BO ₃	422,5	259	1,5

Uji Toksisitas Ekstrak Metanol, Ekstrak Etil Asetat, dan Fraksi D Hasil Kromatografi Kolom

Uji toksisitas ekstrak metanol, ekstrak etil asetat dan fraksi D hasil kromatografi kolom ini dilakukan dengan metode BSLT (*brine shrimp letality test*). Hasil uji toksisitas fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi D hasil kromatografi kolom didapatkan hasil seperti yang dipaparkan pada tabel 4.

Tabel 4: Hasil uji toksisitas

Fraksi	LC ₅₀
metanol	41,645
etil asetat	56,603
hasil kolom fraksi D	143,384

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada tabel 4 diketahui bahwa ekstrak metanol, ekstrak etil asetat dan fraksi D hasil kromatografi kolom ketiga hasil tersebut memiliki potensi sebagai anti bakteri.

4. Kesimpulan dan Saran

Dari hasil isolasi ekstrak etil asetat rimpang bengle didapatkan isolat A dimungkinkan senyawa flavonoid golongan flavonol (3 OH bebas) yaitu 3,5,6,4-tetrahidroksi flavonol, dan isolat B dimungkinkan senyawa flavonoid golongan auron yaitu 6,7,4' trihidroksi auron. Hasil uji toksisitas terhadap ekstrak metanol, ekstrak etil asetat dan fraksi D hasil kromatografi kolom memiliki potensi sebagai anti bakteri.

5. Daftar Pustaka

- [1] AG Kartasapoetra, Budidaya tanaman berkhasiat obat, PT. Bina Aksara, 1988.
- [2] Y Ozaki, N Kawahara, M Harada, Anti-inflammatory Effect of Zingiber cassumunar ROXB. and Its Active Principles, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 39, 9, (1991) 2353-2356 <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.39.2353>
- [3] Anchana Chanwitheesuk, Aphiwat Teerawutgulrag, Nuansri Rakariyatham, Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand, *Food Chemistry*, 92, 3, (2005) 491-497 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.035>
- [4] R. R. Hafidh, A. S. Abdulamir, F. A. Bakar, F. Abas, F. Jahanshiri, Z. Sekawi, Antioxidant research in Asia in the period from 2000-2008, *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4, 3, (2009) 56-74
- [5] Shinta Julia Marennu, Identifikasi dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rimpang Bengle (Zingiber Cassumunar Roxb.) menggunakan Metode DPPH, Departemen Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [6] S Majaw, J Moirangthem, Qualitative and quantitative Analysis of Clerodendron colebrookianum walp. leaves and Zingiber cassumunar Roxb. Rhizomes, *Ethnobotanical Leaflets*, 2009, 5, (2009) 3
- [7] KR Markham, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, ITB, Bandung, 1988.