

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA DALAM EKSTRAK ETANOL TEMU KUNCI DENGAN METODE DPPH

ISOLATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY OF TEMU KUNCI ETHANOLIC EXTRACT BY THE DPPH METHOD

Luthfi Fitri Frindryani, Sri Atun*

Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

*Atun_1210@yahoo.com

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang temu kunci dan melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

Penelitian ini diawali dengan membuat ekstrak kental rimpang temu kunci dengan etanol, kemudian ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH dengan variasi konsentrasi sampel 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/mL dan 3,125 µg/mL. Selain diuji aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temu kunci juga dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dan pemurnian senyawa dengan rekristalisasi menggunakan pelarut etanol, n-heksan dan aseton selanjutnya senyawa hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan KLT, UV-Vis, IR dan H-NMR.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol rimpang temu kunci adalah 92,6404 µg/mL sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol rimpang temu kunci mempunyai tingkat aktivitas antioksidan dengan kategori kuat. Hasil isolasi senyawa ekstrak etanol temu kunci berdasarkan spektra UV-Vis mempunyai λ_{\max} 287,40 nm dan 214,20 nm, spektra IR menunjukkan serapan gugus C=C aromatik pada 1571,66 cm⁻¹, C=O karbonil pada 1639,37 cm⁻¹, dan serapan C-O pada 1153,35 cm⁻¹; 1299,93 cm⁻¹; 1377,93 cm⁻¹. Data spektra H-NMR memperkirakan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa flavonoid yaitu pinostrobin.

Kata Kunci : antioksidan, DPPH, etanol, rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*), pinostrobin.

Abstract

The research aimed was determine the antioxidant activity of ethanol extract of temu kunci rhizome and isolation of secondary metabolite in ethanol extract of temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) rhizome.

This research began with extraction temu kunci rhizome with ethanol 96%, then extract was tested antioxidant activity with DPPH in various concentrations of samples of 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 25 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 12.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 6.25 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and 3.125 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Besides that the research also isolate of secondary metabolites compound purification by recrystallization with ethanol, n-hexane and acetone then isolated compounds were characterized by TLC, UV-Vis, IR and H-NMR.

The test results showed that the antioxidant activity IC_{50} value of the ethanol extract of temu kunci rhizome was 92.6404 mg / mL . Furthermore, the ethanol extract of the temu kunci rhizomes have a activity levels of antioxidants with strong category. Isolated compounds ethanol extract based on UV-Vis spectra have λ_{max} 287.40 nm and 214.20 nm, the IR spectra showed absorption C = C aromatic group at 1571.66 cm^{-1} , C = O carbonyl at 1639.37 cm^{-1} , and the absorption of C-O at 1153.35 cm^{-1} ; 1299.93 cm^{-1} ; 1377.93 cm^{-1} . H-NMR spectra data estimate that the isolated compounds were flavonoid compounds as pinostrobin.

Key words : antioxidant, DPPH, ethanol, rhizome temu kunci (*Boesenbergia pandurata*), pinostrobin

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki sumber daya alam hayati yang beranekaragam. Salah satu keanekaragaman yang ditemukan di Indonesia adalah pada banyaknya jenis tumbuh-tumbuhan dimanfaatkan sebagai obat tradisional salah satunya adalah tanaman temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

Temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) merupakan tanaman obat tradisional yang biasa digunakan masyarakat sebagai obat nyeri, obat peluruh dahak, obat cacing, dan penambah nafsu makan. Temu kunci mudah didapatkan dengan harga yang murah dan mudah

dikembangbiakkan. Temu kunci termasuk dalam famili Zingiberaceae berdasarkan penelitian tanaman spesies *Zingiberaceae* memiliki senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi[1]. Penggunaan senyawa antioksidan kini semakin berkembang seiring berkembangnya teknologi dan pengetahuan. Dunia medis kini telah mengenal antioksidan sintesis, antioksidan sintesis memiliki efektivitas yang tinggi namun kurang aman bagi kesehatan sehingga penggunaannya diawasi secara ketat [2]. Studi

epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi buah dan sayuran yang cukup akan menurunkan resiko terkena penyakit seperti kanker dan kardiovaskuler, karena buah dan sayuran merupakan salah satu sumber antioksidan alami. Hal tersebut antara lain disebabkan adanya aktivitas antioksidan alami seperti vitamin C, E, betakaroten dan beberapa senyawa polifenol [3]

Ekstrak rimpang temu kunci diketahui memiliki kandungan utama senyawa flavonoid dan minyak atsiri. Banyak dari senyawa-senyawa tersebut yang telah dilaporkan sebagai antioksidan alami salah satunya adalah flavonoid yang merupakan senyawa metabolit sekunder dari sebuah tanaman.

Penelitian temu kunci berdasarkan analisis kristal ekstrak petroleum bensin didapatkan pinostrombin yang merupakan senyawa flavanoid tergolong flavon, keberadaannya yang melimpah dalam ekstrak petroleum bensin dapat menjadikan pinostrombin sebagai senyawa penanda analitik rimpang temu kunci[4]. Isolasi dan karakterisasi senyawa flavonoid dari

temu kunci berhasil memperoleh lima senyawa yaitu senyawa flavonoid pinostrombin, pinocebrim, alpinetin dan dua senyawa kalkan yaitu kardamonin dan pandurita A[5].

Berdasarkan penelitian diatas dapat dibuktikan bahwa temu kunci mengandung senyawa flavonoid yang bermanfaat untuk antioksidan alami, maka dari itu diperlukan penelitian lebih lanjut bagaimana cara mengekstrak temu kunci dengan metode yang lebih sederhana. Salah satunya dengan mengisolasi dan menguji aktivitas antioksidan dari rimpang temu kunci. Ekstrak rimpang temu kunci diperoleh dengan memaserasi serbuk kering rimpang temu kunci dengan etanol 96%. Ekstrak rimpang temu kunci diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH kemudian dilakukan pemisahan dan pemurnian ekstrak untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder.

METODE PENELITIAN

Alat

Spektroskopi	NMR,
Spektrofotometer	UV-Vis,

Spektrometer IR, Spectronic₂₀ genesys TM, Satu set evaporator buchi R-144, Chamber kromatografi, Plat KLT Merek Si gel 60 F254, Neraca analitik, Lampu UV CAMAG, Alat-alat gelas.

Bahan

Rimpang temu kunci, n-heksana teknis, Aseton terdestilasi, Etanol teknis, Etanol p.a, Metanol p.a, DPPH(2,2-diphenyl-1picrylhydrazyl)

Prosedur Kerja

Ekstraksi dengan maserasi

Temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) sebanyak 10 kg dicuci bersih, dikupas, dipotong kecil-kecil, dikeringkan dan dibuat serbuk dengan cara digiling. Kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol teknis hingga sampel terendam. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan wadah tertutup. Setelah 24 jam kemudian disaring, sehingga diperoleh ekstrak etanol. Hasil maserasi dievaporasi dengan evaporator Buchii.

Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Melarutkan DPPH 4,8 mg dalam etanol p.a 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi 0,12 mM.

Ekstrak etanol rimpang temu kunci dilarutkan dalam etanol sehingga didapatkan konsentrasi 100 µg/mL dan dilakukan pengenceran dengan berbagai konsentrasi yaitu sebesar 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL dan 3,125 µg/mL. Dari variasi konsentrasi tersebut kemudian diuji aktivitas antioksidannya secara kuantitatif. Ditambahkan larutan sampel pada larutan DPPH dalam tabung reaksi dihomogenkan dengan vortex dan dihindarkan dari sinar matahari selama 30 menit pada masing-masing larutan. Pengukuran absorbansi sampel dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan pada panjang gelombang 517 nm.

Isolasi Rimpang Temu Kunci

Pemurnian senyawa dilakukan dengan cara rekristalisasi menggunakan pelarut etanol, n-heksan dan aseton. Serbuk hasil kemudian diuji dengan KLT kemudian dilanjutkan identifikasi senyawa dengan spektroskopi Uv-Vis, IR, dan NMR.

HASIL DAN DISKUSI

Ekstrak kental hasil ekstraksi seberat 47,621 gram dari 3 kg serbuk kering rimpang temu kunci. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) dan mengetahui metode isolasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Pengujian antioksidan dari ekstrak etanol temu kunci dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. DPPH adalah suatu radikal yang cukup stabil, ketika radikal DPPH bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan yang dapat mendonorkan radikal hidrogen, radikal DPPH akan terus tereduksi membentuk DPPH-H dan warna akan berubah dari ungu menjadi ungu pudar hampir berwarna kuning ketika elektron radikal bebas DPPH berpasangan dengan sebuah hidrogen penangkap radikal bebas dari suatu antioksidan.

Tabel 1. Data Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

Konsentrasi sampel ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata Absorbansi	% Inhibisi
100	0,257	57,03125
50	0,503	21,40625
25	0,561	12,34375
12,5	0,584	8,750
6,25	0,606	5,3125
3,125	0,610	4,6874

Absorbansi blanko : 0,000,

Absorbansi Kontrol : 0,640

Hasil yang diperoleh didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,530x + 0,845$ dengan $R^2 = 0,9717$.

Persamaan regresi linier, digunakan untuk menghitung besarnya IC_{50} , sehingga diperoleh besarnya nilai IC_{50} untuk ekstrak etanol rimpang temu kunci adalah 92,6404 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa. Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi kemampuan antioksidan yang dimiliki senyawa tersebut. Hasil penelitian diketahui nilai IC_{50} ekstrak etanol rimpang temu kunci 92,6404 $\mu\text{g/mL}$ ini berarti tingkat aktivitas antioksidannya tergolong kuat. Hal tersebut didukung dengan harga R^2 atau koefisien determinasi

0,9717 yang kemungkinan terjadinya kesalahan pada hasil IC_{50} kecil.

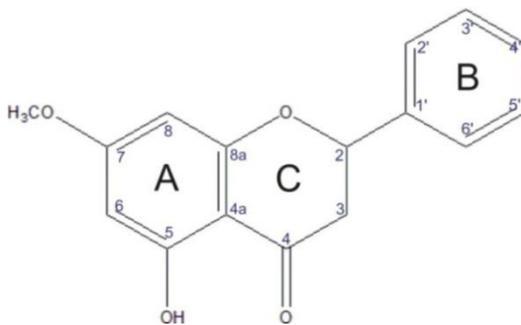
Isolasi Rimpang Temu Kunci

Dari data spektrum UV-Vis sampel yang diuji menunjukkan λ_{max} pada 287,40 nm dan 214,20 nm yang menandakan adanya gugus sinamol dan benzoil. Dari literatur spektra hasil UV-Vis sampel menunjukkan adanya senyawa golongan flavon yang memiliki ciri khusus yaitu panjang gelombang pada ± 225 nm yang menandakan gugus benzoil dan 275-290 nm yang menandakan gugus benzena[6]. Hasil spektra IR senyawa hasil isolasi menunjukan bahwa terdapat beberapa gugus fungsi yang di tunjukan dengan munculnya puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang 1639,37 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C=O karbonil, terdapat puncak pada bilangan gelombang 1571,66 cm^{-1} yang menunjukan adanya C=C aromatik, dan terdapat puncak pada bilangan gelombang 1377,93 cm^{-1} ; 1299,93 cm^{-1} ; 1153,35 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus fungsional C-O. Hasil spektrum H^1 -NMR menunjukkan adanya beberapa

sinyal proton. Sinyal proton pada daerah $\delta= 7,391 - 7,437$ ppm (5H, m) menunjukkan adanya gugus benzena monosubtitusi. Sinyal proton pada daerah aromatik $\delta=6,069$ ppm, $\delta= 6,079$ ppm (2H, m) menunjukkan adanya proton H dengan kopling meta menunjukkan adanya cincin benzena tetra substitusi. Sinyal proton pada daerah $\delta= 12,029$ ppm (1H, s) menunjukkan adanya gugus hidroksil yang bersebelahan dengan dengan gugus karbonil. Sinyal proton pada daerah $\delta= 3,781$ (3H, s) menunjukkan adanya gugus metoksi. dan adanya Sinyal proton pada daerah daerah alifatik $\delta=5,434$ ppm (1H, dd), $\delta= 2,805$ dan $\delta=2,845$ (2H, dd).

Dalam spektrum UV-Vis diketahui bahwa gugus kromofor yang memberikan panjang gelombang maksimal pada 214,20 nm dan 287,40 nm adalah ciri dari gugus benzoil. dari spektrum IR diketahui adanya gugus karbonil, gugus aromatik dan gugus C-O, spektroskopi H^1 -NMR memperkuat adanya gugus aromatik pada hasil isolasi, spektroskopi H^1 -NMR dapat memberikan informasi mengenai

atom-atom hidrogen dalam molekul organik sehingga dari spektrum ini dapat diketahui jenis proton dan banyaknya jenis proton dalam suatu molekul. Dari spektrum H^1 -NMR diketahui adanya gugus metoksi dan gugus hidroksil yang tersubstitusi dalam molekul sehingga struktur molekul senyawa hasil isolasi dapat diprediksikan seperti pada Gambar 1.



Gambar1. Prediksi senyawa hasil isolasi.

diketahui dari identifikasi yang dilakukan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa golongan flavanon yaitu 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (Pinostrobin).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan. Tingkat aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) tergolong kuat dengan

nilai IC_{50} sebesar 92,6404 $\mu\text{g/mL}$. Hasil isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) adalah 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (Pinostrobin).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada Prof. Dr. Sri Atun dan Prof. Dr. Nurfina Aznam, Apt selaku pembimbing utama dan penguji utama.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sri Atun., Nurfina Aznam, Retno Arianingrum, dan Sri Nurestri. (2011). Uji Aktivitas Antiviral Beberapa Rimpang Tumbuhan Zingiberaceae. *Jurnal Penelitian Saintek*. 16 (1), 9-22.
- [2] Triana Hertiani, Abdul Rohman, dan Panatun Nihlati A. (2012). Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechth) Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- [3] Markham, K. R. (1988). Cara Mengidentifikasi Flavonoid. (Alih bahasa : Kosasih Padmawinata) Bandung: Penerbit ITB.

[4] Veronika Agata Dyah Widiyati Karyantini. (2011) Senyawa Penanda Analitik dari Rimpang Temu Kunci (*Bosenbergia pandurata* (Roxb.) Schelecht). *Skripsi*. Universitas Gajah Mada.

[5] Ching, A. Y. L, Wah, T. S., Sukari, M. A., Lian, G. E. L. Rahmani, M., dan Khalid, K. (2007). Characterization Of Flavonoid Derivatives from *Boesenbergia rotunda* (L). *The Malayssian Journal of Analytical Science*. 11(1): 154-159

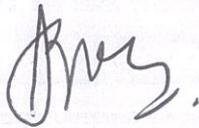
[6] Kristanti, A.N., N.S. Aminah, M. Tanjung dan B. Kurniadi. (2008).

Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press.

[7] Hardjono S. (2001). Spektroskopi. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.

[8] Erawati. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *garniadaedalanthera Pierre* dengan metode DPPH (*1,1-difenil pikrilhidrazil*) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Paling Aktif. *Skripsi* FMIPA Universitas Indonesia : Jakarta.

Artikel ini telah disetujui untuk diterbitkan oleh Pembimbing Utama pada tanggal



Prof. Dr. Sri Atun
NIP. 19651012 199001 2 001

Artikel ini telah disetujui untuk diterbitkan oleh Penguji Utama pada tanggal



Prof. Dr. Nurfina Aznam, Apt.
NIP. 19561206 198103 2 002