

ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIOKSIDAN RIMPANG GANDASULI (*HEDYCHIUM CORONARIUM*)

Aris Suhardiman*, Asep Roni, Ayu Erizka Dwi Febrianty
Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl Soekarno Hatta No 754 Cibiru Bandung, Indonesia
Email: aris.suhardiman@stfb.ac.id

Received: 29 November 2018; Revised: November 2018; Accepted: December 2018; Available online: January 2019

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can inhibit the formation of free radicals and protect the body from various degenerative diseases and cancer. One of the plants of Zingiberaceae tribe that could potentially be an antioxidant is *Hedychium coronarium*. This plant grows in several countries in Asia and Africa, has been widely used to treat various diseases. This study aims to isolate the antioxidant active compound from *Hedychium coronarium*. The sample was extracted by maseration using 96% ethanol. The fractionation was carried out by liquid-liquid extraction using *n*-hexane and ethyl acetate. The fractionation fraction of ethyl acetate continued with vacuum liquid chromatography (VLC) method. Purification by preparative thin layer chromatography. Purity test was done with single development with three different eluents and two dimensional thin layer chromatography. Identification of isolate using UV-Vis and infrared spectrophotometry. Testing of antioxidant activity of isolate was done qualitatively using DPPH free radical reduction method. Pure isolates were obtained from the fraction number 6 of VLC yields and has antioxidant activity with yellow spot after being sprayed with 0.2% DPPH in metanol. The isolate has a maximum wavelength of 262 nm and 270 nm and the isolate contains O-H, C-H, and C=C groups.

Keywords: *hedychium coronarium*, antioxidant, isolation.

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas dan melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit degeneratif. Salah satu tanaman dari suku Zingiberaceae yang berpotensi sebagai antioksidan adalah rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*). Rimpang gandasuli merupakan tanaman yang tumbuh di beberapa negara di Asia dan Afrika, telah banyak digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Penelitian ini bertujuan mengisolasi senyawa aktif antioksidan rimpang gandasuli. Rimpang gandasuli diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96%. Fraksinasi dilakukan dengan ekstraksi cair-cair menggunakan nheksan dan etil asetat. Fraksi etil asetat difraksinasi lanjutan dengan metode kromatografi cair vakum (KCV). Pemurnian dengan kromatografi lapis tipis preparatif. Uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis pengembangan tunggal dengan tiga pengembang berbeda dan dua dimensi. Identifikasi isolat menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan inframerah. Pengujian aktivitas antioksidan isolat dilakukan secara kualitatif dengan metode peredaman radikal bebas DPPH. Isolat murni diperoleh dari fraksi 6 hasil KCV dan memiliki aktivitas antioksidan ditandai dengan bercak kuning setelah disemprot DPPH 0,2% dalam metanol. Isolat mempunyai panjang gelombang maksimum 262 nm dan 270 nm dan isolat mengandung gugus O-H, C-H, dan C=C.

Kata kunci: *hedychium coronarium*, antioksidan, isolasi.

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sangat reaktif dan tidak stabil, untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus menerus dalam tubuh, dan menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel, bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Kikuzaki *et al*, 2002).

Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan (Inggrid dan Santoso, 2014). Antioksidan berfungsi menetralisasi radikal bebas, sehingga atom dan elektron yang tidak berpasangan mendapatkan pasangan elektron dan menjadi stabil. Keberadaan antioksidan dapat melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit degeneratif dan kanker (Winarsi, 2007).

Menurut Atta-ur-rahman dan Choudhary (2001), beberapa senyawa dapat berpotensi sebagai antioksidan yang diantaranya flavonoid, fenolat dan alkaloid. Salah satu tanaman dari suku Zingiberaceae yang dapat berpotensi sebagai antioksidan adalah rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*). Menurut Singh *et al* (2013), skrining fitokimia ekstrak metanol gandasuli menunjukkan hasil gandasuli mengandung senyawa komponen fenolik, flavonoid, protein, steroid dan triterpenoid, glikosida kardiak, diterpenoid, saponin dan minyak atsiri. Potensi antioksidan juga telah dilakukan terhadap ekstrak metanol, air dan minyak dari bagian daun dan rimpang gandasuli dengan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Dari hasil perbandingan, aktivitas antioksidan yang paling baik ditunjukkan oleh ekstrak air daun dan ekstrak metanol rimpang, yaitu dalam konsentrasi 1 mg/mL menunjukkan hasil 98.1% dan 95.5% secara berurutan (Ching Ho, 2011).

Penelitian dilakukan untuk melakukan isolasi senyawa aktif antioksidan yang terkandung dari rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*).

METODE PENELITIAN

Pengumpulan dan Penyiapan Bahan.

Rimpang gandasuli diperoleh dari Kebun Manoko Lembang, Kabupaten Bandung. Bahan yang telah dicuci dan disortasi lalu dirajang dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C.

Penapisan Fitokimia.

Pada simplisia dan ekstrak meliputi pemeriksaan golongan alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan kuinon.

Ekstraksi.

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan alat penguap berputar hampa udara (*rotary evaporator*).

Fraksinasi dan Pemantauan.

Fraksinasi dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Fraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan. Kemudian Pemantauan dilakukan pada ekstrak dan fraksi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang sesuai. Fraksi dipantau menggunakan penampak dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol dan penampak bercak spesifik lainnya.

Fraksinasi Lanjutan.

Dilakukan setelah mendapatkan fraksi yang menunjukkan aktivitas antioksidan paling baik dengan menggunakan kromatografi cair vakum. Kemudian dipantau dengan kromatografi lapis tipis.

Pemurnian dan Kemurnian.

Dilakukan dengan KLT preparatif dan uji kemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis pengembangan tunggal dengan tiga macam pengembang berbeda dan kromatografi lapis tipis dua dimensi.

Identifikasi Isolat.

Isolat murni yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri inframerah. Data spektrum kemudian dibandingkan dengan pustaka atau isolat standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui golongan besar senyawa kimia yang terkandung di dalam simplisia rimpang gandasuli. Hasil yang diperoleh dapat digunakan sebagai informasi awal untuk mengetahui senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam simplisia rimpang gandasuli. Hasil penapisan fitokimia rimpang gandasuli dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Penapisan Fitokimia Rimpang Gandasuli

Golongan senyawa	Kesimpulan
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+
Kuinon	-
Steroid/ Triterpenoid	+

+ = mengandung senyawa yang diuji

- = tidak mengandung senyawa yang diuji

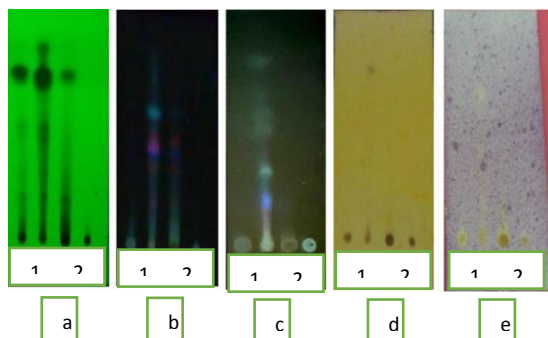
Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk simplisia rimpang gandasuli sebanyak 1000 g dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstraksi cara dingin dipilih untuk menghindari kerusakan senyawa dari rimpang gandasuli yang belum diketahui. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam.

Pemilihan etanol sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik sebagian besar senyawa dan pilihan yang baik untuk kandungan senyawa yang belum diketahui pada gandasuli. Ekstrak disaring dan dipekatkan dengan alat penguap berputar hampa udara (*rotary vaporator*) dengan prinsip menurunkan titik didih pelarut agar pelarut dapat menguap dibawah titik didih pelarutnya dan agar senyawa didalam ekstrak tidak rusak karena pemanasan berlebihan. Hasil rendemen ekstrak gandasuli adalah 5,132 %.

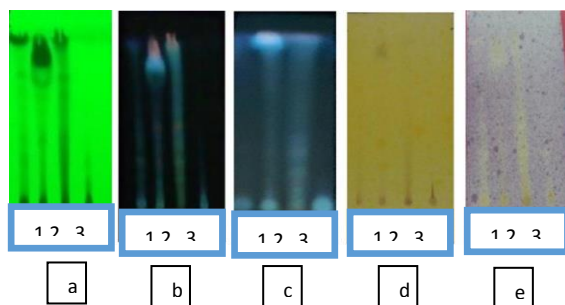
Selanjutnya dilakukan fraksinasi untuk memisahkan komponen senyawa dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya. Ekstrak kental 20 g dilarutkan metanol 20% dalam air lalu diekstraksi cair-cair dalam corong pisah dengan pelarut n-heksan dan etil asetat secara bertahap. Diperoleh fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air. Ketiga fraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh fraksi n-heksan sebanyak 5,1 g, fraksi etil asetat sebanyak 6,6 g, dan fraksi metanol-air sebanyak 5,6 g.

Selanjutnya dilakukan pemantauan ekstrak dan fraksi dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ pra salut dengan pengembang n-heksan-etil asetat (9:1), kloroform-metanol (9,5:0.5) dan etil asetat-metanol (1:1) dengan penampak AlCl₃ 5% dalam metanol, FeCl₃ 10% dalam air dan untuk mengetahui adanya senyawa aktif antioksidan digunakan penampak bercak DPPH 0,2% dalam methanol.



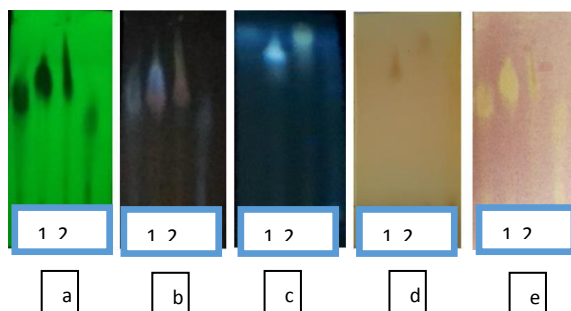
Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak dan fraksi pengembang non polar.

Fase diam silika gel GF₂₅₄ pra salut dan pengembang n-heksan ; etilasetat (9:1) Ekstrak etanol, (2) fraksi n-heksan, (3) fraksi etilasetat, (4) fraksi metanol-air. Sinar UV λ 254 nm, (b) sinar UV λ 366 nm, (c) penampak bercak AlCl₃ 5 % (d) penampak bercak FeCl₃ 10% dalam air, (e) penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol



Gambar 2. Kromatogram KLT ekstrak dan fraksi pengembang semi polar.

Fase diam silika gel GF₂₅₄ pra salut dan pengembang kloroform-metanol (9.5:0.5), (1) ekstrak etanol, (2) fraksi n-heksan, (3) fraksi etil asetat, (4) fraksi metanol-air, (a) dibawah sinar UV λ 254 nm, dibawah sinar UV λ 366 nm, (c) penampak bercak AlCl₃ 5% dibawah sinar UV λ 366 nm, (d) penampak bercak FeCl₃ 10% dalam air, (e) penampak bercak DPPH 0.2% dalam metanol



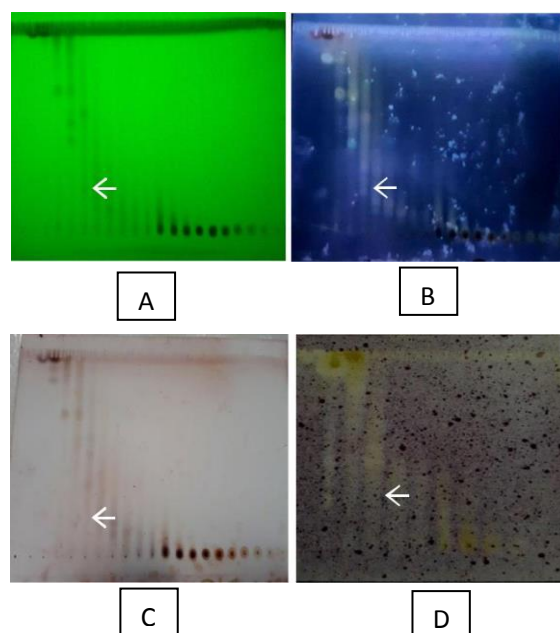
Gambar 3. Kromatogram KLT ekstrak dan fraksi pengembang polar.

Fase diam silika gel GF₂₅₄ pra salut dan pengembang etil asetat-metanol (1:1), (1) ekstrak etanol, (2) fraksi n-heksan, (3) fraksi etil asetat, (4) fraksi metanol-air, (a) sinar UV λ 254 nm, (b) sinar UV λ 365 nm, (c) penampak bercak AlCl₃ 5% dibawah sinar UV 366 nm, (d) penampak bercak FeCl₃ 10% dalam air, (e) penampak bercak DPPH 0.2% dalam metanol.

Dari hasil pemantauan ekstrak dan fraksi menunjukkan reaksi positif terhadap penampak bercak AlCl₃ yang menunjukkan reaksi positif flavonoid dan penampak bercak FeCl₃ menunjukkan reaksi positif ekstrak dan fraksi mengandung senyawa polifenol. Ekstrak dan fraksi juga menunjukkan bercak kuning berlatar belakang ungu setelah disemprot dengan penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol yang menunjukkan ekstrak dan fraksi memiliki aktivitas antioksidan. Untuk proses fraksinasi lanjutan dipilih fraksi etil asetat dengan pertimbangan ekstrak lebih banyak terlarut pada pelarut etil asetat dan diduga senyawa target berada pada fraksi etil asetat serta memiliki aktivitas antioksidan dengan memberikan hasil positif bercak kuning setelah disemprot DPPH 0,2% dalam metanol.

Fraksinasi Lanjutan

Fraksi etil asetat sebanyak 3 g difraksinasi dengan kromatografi cair vakum menggunakan fase gerak sistem elusi gradien dari n-heksan, etil asetat, dan metanol serta fase diam silika gel 60. Fraksi yang diperoleh sebanyak 21 fraksi. Dari hasil pemantauan fraksi no 6 dipilih untuk dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif.

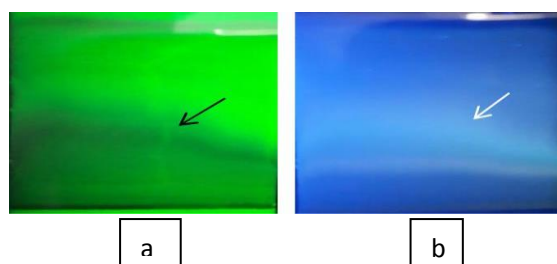


Gambar 4. Kromatogram KLT fraksi hasil KCV. Fase diam silika gel GF₂₅₄ pra salut dan pengembang kloroform-metanol (9.5:0.5), (1-21) no fraksi hasil KCV, (a) penampak bercak dibawah sinar UV λ 254 nm, (b) penampak bercak H₂SO₄ 10% dibawah sinar UV λ 366 nm, (c) penampak bercak H₂SO₄ 10% sniar tampak, (d) penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol.

Berdasarkan data kromatogram fraksi hasil KCV, fraksi No. 6 menunjukkan hasil reaksi positif dengan bercak kuning berlatar belakang ungu dan memiliki pemisahan senyawa yang paling baik sehingga dipilih untuk dilakukan pemurnian.

Pemurnian Dan Uji Kemurnian

Fraksi No 6 yang dimurnikan memiliki bobot 50 mg. Metode pemurnian yang dilakukan adalah kromatografi lapis tipis preparatif dengan menggunakan silika gel GF₂₅₄ dan pengembang N-Heksan : Etilasetat (6:4).



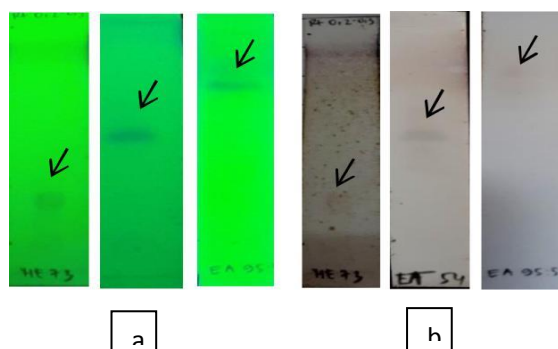
Gambar 5. Kromatogram KLT Preparatif.

Fase diam silika gel 60 GF₂₅₄ pra salut, pengembang N-Heksan : Etilasetat (6:4),

- a. Penampak bercak sinar UV λ 254 nm
- b. Penampak bercak sinar UV λ 366 nm

Pada proses pemurnian diperoleh pita kemudian pita dikerok, dilarutkan dengan metanol, disaring dan diuapkan. Kemudian hasil dipantau dengan KLT.

Selanjutnya untuk memastikan kemurnian isolate dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan kromatografi lapis tipis pengembangan tunggal dengan tiga macam pengembang berbeda dan kromatografi lapis tipis dua dimensi.



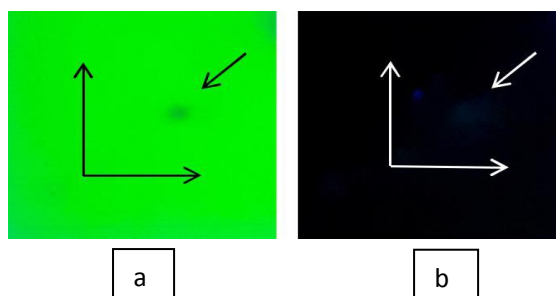
Gambar 6. Kromatogram isolate KLT tiga pengembang berbeda.

Fase diam silica gel GF254 pra salut, pengembang 1 (N-Heksan:Etilasetat) (7:3), pengembang 2 (Etilasetat : Toluena) (5:4), pengembang 3 (Etilasetat:Aseton) (9,5:0,5).

- Penampak bercak sinar UV λ 254 nm
- Penampak bercak sinar H₂SO₄ 10% dalam metanol

Berdasarkan gambar 6 dapat dilihat bahwa isolat diduga telah murni ditunjukkan dengan adanya satu bercak pada setiap KLT. Pada pengembang N-Heksan:Etilasetat (7:3) diperoleh R_f 0,2, pada pengembang etilasetat:toluena (5:4) diperoleh R_f 0,5 dan pada pengembang etilasetat:aseton (9,5:0,5) diperoleh R_f 0,7.

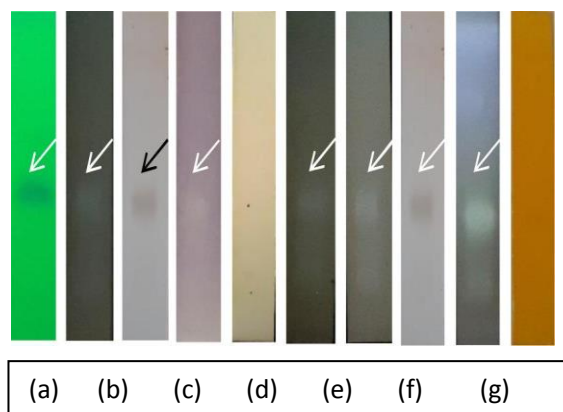
Selanjutnya dilakukan uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan fase diam silica gel GF254 pra salut dan pengembang menggunakan N-heksan:etilasetat (6:4) dan pengembang kedua menggunakan etilasetat:toluena (5:5). Kromatogram dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 7. Kromatogram Isolat KLT dua dimensi. Fase diam silica gel GF254 pra salut, pengembang 1 n-heksan:etilasetat (6:4), pengembang 2 etilasetat:toluena (5:5).

- Penampak bercak sinar UV λ 254 nm
- Penampak bercak sinar UV λ 366 nm

Dari hasil uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi diketahui isolat telah murni, ditunjukkan dengan adanya satu bercak



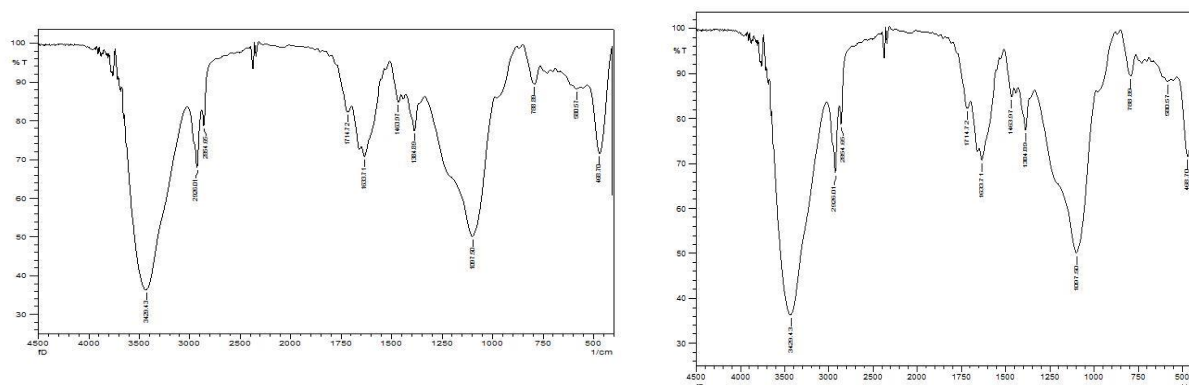
Gambar 8. Kromatogram KLT identifikasi isolate fase diam silica gel GF₂₅₄ pra salut, pengembang n-heksan-etilasetat (6:4).

- a. Penampak bercak sinar UV λ 254 nm
- b. Penampak bercak sinar UV λ 366 nm
- c. penampak bercak H₂SO₄ 10% dalam metanol
- d. penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol
- e. penampak bercak FeCl₃ 10% dalam air
- f. penampak bercak AlCl₃ 5% dalam metanol dibawah sinar UV λ 366 nm
- g. penampak bercak sitroborat dibawah sinar UV λ 366 nm
- h. penampak bercak anisaldehyd dibawah sinar UV λ 366 nm
- i. penampak bercak Liebermann-Burchard
- j. penampak bercak Dragendorff

Dari hasil kromatogram dapat dilihat bahwa isolate memberikan warna gelap pada sinar UV λ 254 nm, berwarna kecoklatan dengan penampak bercak H₂SO₄ 10% dalam metanol. Isolate bereaksi positif kuning setelah disemprot dengan DPPH 0,2% dalam metanol dan menunjukkan isolat memiliki aktivitas antioksidan.

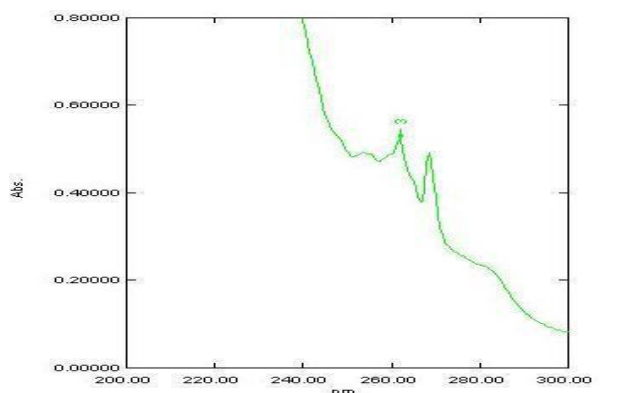
Identifikasi Isolat

Identifikasi isolat menggunakan spektrofotometer ultraviolet sinar tampak dan spektrofotometer inframerah. Identifikasi isolat dengan spektrofotometer UV-VIS menggunakan pelarut metanol pro analysis. Sebagian isolat dilarutkan dalam pelarut metanol pro analysis kemudian dibaca spektrumnya pada panjang gelombang 200-800 nm.



Gambar 9. Spektrum serapan ultraviolet isolat dalam metanol.

Berdasarkan hasil pengukuran isolat dengan spektrofotometer UV-Vis, diperoleh panjang gelombang maksimum pada 262 nm dan 270 nm dalam pelarut metanol. Kemudian isolat diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometri inframerah untuk mengetahui gugus fungsi yang dimiliki oleh isolat. Spektrum inframerah dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 10. Spektrum serapan inframerah isolat

Dari hasil identifikasi isolat dengan spektrofotometer inframerah terdapat pita di daerah $3429,43\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus OH (alkohol fenol), frekuensi regang di daerah $2926,01\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-H (alkana), pita absorpsi di daerah $2854,65\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-H alkil. Pita di daerah $1633,71\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C, pita di daerah $1463,97\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C aromatik dan pita di daerah $1384,89\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-H (alkana).

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*) memiliki aktivitas antioksidan ditandai dengan adanya bercak kuning setelah disemprot DPPH 0,2% dalam metanol. Isolat mempunyai absorbansi pada panjang gelombang maksimum 262 nm dan 270 nm serta mengandung gugus O-H, C-H dan C=C.

DAFTAR PUSTAKA

1. Atta-ur-rahman dan Choudhary, M. I. 2001. Bioactive Natural Products as A Potential Source of New Pharmacophores. A Theory of Memory. *Pure Appl. Chem. Vol 73 No. 3*, 555-560.
2. Ching Ho, J. 2011. Antimicrobial, Mosquito Larvicidal and Antioxidant Properties of the Leaf and Rhizome of *Hedychium coronarium*. *Journal of Chinese Chemical Society Vol. 58*, 563-567.
3. Ingrid, H. M., dan Santoso, H. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan*, 1.
4. Kikuzaki, et al. 2002. Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *Journal Agriculture Food Chemical*, 50, 2161-2168.
5. Singh, K. L. 2013. Comparative Study of Phytochemical Constituents and Total Phenolic Content in The Extracts of Three Different Species of Genus *Hedychium*. *International Journal of PharmTech Research*, 601-606.
6. Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius.