

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN
SESKUITERPEN YANG BERPOTENSI UNTUK STANDARISASI
SIMPLISIA *Curcuma xanthorrhiza*

SELESAI

PAMERAN

16 JUN 1997

Ketua Peneliti :

Dra. Nanik Siti Aminah

Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1995/1996

SK.Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Nomor : 34

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN
SESKUITERPEN YANG BERPOTENSI UNTUK STANDARISASI
SIMPLISIA *Curcuma xanthorrhiza***

Ketua Peneliti :

Dra. Nanik Siti Aminah

Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam



3000389963141-8

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1995/1996

SK.Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Nomor : 34

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN
SESKUITERPEN YANG BERPOTENSI UNTUK STANDARISASI
SIMPLISIA *Curcuma xanthorrhiza***

Tim Peneliti :

**Dra. Nanik Siti Aminah
Dr. Ami Soewandi J.S.
Dra. Ni Nyoman Tri Puspaningsih
Dra. Sri Sumarsih
Drs. Mulyadi Tanjung**

3000 389 96 3141



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1995/1996

SK.Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Nomor : 34

	halaman
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Hasil Penelitian	25
4.2. Pembahasan	38
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	43
5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	47

RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Seskuitерpen Yang Berpotensi Untuk Standarisasi Simplisia *Curcuma xhantor-rhiza*

Ketua Peneliti : Nanik Siti Aminah

Anggota Peneliti : Ami Soewandi J.S.
Ni Nyoman Tri Puspaningsih
Sri Sumarsih
Mulyadi Tanjung

Fakultas/ Puslit : FMIPA

Sumber Biaya : DIP-OPF Universitas Airlangga
Tahun 1995/1996 SK. Rektor Nomor 8907/
PT 03.H/N/1995 Tanggal 24 Agustus 1995

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan telah banyak berjasa dalam meningkatkan kesejahteraan umat manusia, seperti obat-obatan, pestisida, insektisida dan sebagainya yang memberikan hasil yang tak ternilai. Adanya indikasi senyawa metabolit sekunder seperti jenis alkaloid, arilpropanoid, flavonoid, isoprenoid mempunyai berbagai senyawa bioaktif dan senyawa toksin. Tidak berlebihan jika senyawa metabolit sekunder dipandang sebagai *chemical messenger*, misalnya senyawa seskuitерpen jenis furanoseskuitерpen menunjukkan aktivitas biologis sebagai antitumor dan antiviral (Dey, 1991; Levin, 1976). *Curcuma xhantorrhiza* (Jawa : temulawak) adalah salah satu spesies tanaman dari genus *Curcuma*, familia Zingiberaceae merupakan tanaman asli Indonesia dan banyak digunakan masyarakat sebagai obat analgesik, antiinflamasi, antipiretik dan sebagainya (Ozaki, 1989; Yasni, 1993). Mengingat *Curcuma xhantorrhiza* menduduki urutan terbesar sebagai simplisia perusahaan Jamu, sehingga perlu kontrol kualitas produk yang mengandung *Curcuma xhantorrhiza* untuk penetapan standarisasi simplisia. Dari latar belakang masalah di atas, maka permasalahan yang timbul adalah senyawa golongan seskuitерpen apakah yang terdapat dalam rimpang *Curcuma xhantorrhiza* yang dapat digunakan sebagai penentuan standarisasi dalam simplisia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa golongan seskuitерpen yang terdapat dalam rimpang *Curcuma xhyantorrhiza* sehingga dapat digunakan sebagai pengembangan standarisasi simplisia dan fitofarmaka. Ekstrak n-heksana dari rimpang *Curcuma xhantorrhiza* dianalisis dengan GC-MS, untuk mengetahui senyawa total dalam ekstrak sebagai standarisasi relatif. Hasil kromatogram menunjukkan adanya 10 puncak dengan waktu retensi (t) : 17,10; 17,448;

19,36; 21,36; 21,51; 22,47; 22,53; 23,33; 23,52; dan 25,11. Pemisahan komponen dalam ekstrak n-heksana dilakukan dengan kromatografi vakum cair dengan pelarut n-heksana dan campuran n-heksana - etilasetat. Fraksi kedua, hasil kromatografi vakum cair, dikristalisasi dengan metanol sehingga diperoleh padatan berwarna putih dengan titik leleh 53 - 55°C. Senyawa ini memberikan reaksi negatif terhadap pereaksi Erlich yang menunjukkan bahwa senyawa seskuiterpen bukan jenis furanoseskuiterpen, tetapi memberikan reaksi positif terhadap pereaksi Liebermann-Bouchard. Analisis Spektroskopi Ultraviolet dalam etanol, menunjukkan $\lambda_{maks.} = 247 \text{ nm}$ yang merupakan ciri khas keton lingkaran dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Analisis Spektroskopi inframerah memberikan puncak serapan pada bilangan gelombang 2920,49; 2851,05; 17440,39; 1380,45; 1090,63; dan 735,95 cm^{-1} . Analisis Spektrofotometer massa memberikan massa molekul relatif (M_r) = 218, dengan fragmentasi $m/e = 203, 189, 175, 161, 150, 135, 121, 107, 93, 79, 67, 59, 53$ dan 41. Puncak dasar 121.

Dari analisis spektroskopi dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi termasuk jenis seskuiterpen dengan nama germakron. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk memberikan konfirmasi pengewasan mutu dan kadar produk yang mengandung *Curcuma xanthorrhiza*.

Mengingat kandungan senyawa yang terdeteksi pada Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa hanya mampu mendeteksi komponen utama, sehingga sangat sulit mendeteksi senyawa-senyawa yang sangat sedikit, oleh karena itu perlu dicari metode pengukuran secara kuantitatif yang sesuai sehingga dapat ditentukan standarisasi senyawa seskuiterpen secara kuantitatif.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah S.W.T. yang telah memberikan rahmatNya, sehingga penelitian kami yang berjudul Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Seskuitерpen Yang Berpotensi Untuk Standarisasi Simplisia Curcuma xhantorrhiza dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini, kami mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk melaksanakan penelitian ini;
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan dan fasilitas penelitian;
3. Ketua Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia Universitas Airlangga yang telah memberi pengarahan dan saran penelitian;
4. Semua pihak yang telah membantu hingga selesainya penelitian ini.

Kami menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi kami berharap penelitian ini bermanfaat bagi dunia ilmu pengetahuan.

Surabaya, Maret 1996

Tim Peneliti

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. Tumbuhan Temulawak (<i>Curcuma khantoroehua</i> Roxb.)	8
Gambar 2. Kerangka Utama Seskuitерpen	12
Gambar 3. Rumus Seskuitерpen	13
Gambar 4. Bagan Biogenesis Beberapa Jenis Seskuitерpen	16
Gambar 5. Kromatogram Gas Kromatografi ekstrak n-heksana	28
Gambar 6. Kromatogram 3-D Gas Kromatografi Ekstraks n-heksana	29
Gambar 7. Spektrum massa pada waktu retensi 17,10	30
Gambar 8. Spektrum massa pada waktu retensi 17,48	30
Gambar 9. Spektrum massa pada waktu retensi 19,36	31
Gambar 10. Spektrum massa pada waktu retensi 21,36	31
Gambar 11. Spektrum massa pada waktu retensi 21,51	32
Gambar 12. Spektrum massa pada waktu retensi 22,47	32
Gambar 13. Spektrum massa pada waktu retensi 22,53	33
Gambar 14. Spektrum massa pada waktu retensi 23,33	33
Gambar 15. Spektrum massa pada waktu retensi 23,52	34
Gambar 16. Spektrum massa pada waktu retensi 25,11	35
Gambar 17. Spektrum ultraviolet fraksi kedua	36
Gambar 18. Spektrum inframerah fraksi kedua	37
Gambar 19. Spektrum massa fraksi kedua	38
Gambar 20. Pola fragmentasi spektrum massa senyawa germakron	42

	halaman
Gambar 21. Spektrum massa standar sineol	47
Gambar 22. Spektrum massa standar borneolasetat	47
Gambar 23. Spektrum massa standar α -zingiberen	48

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang permasalahan

Indonesia dengan iklim tropisnya, dikenal sebagai salah satu pusat penyebaran berbagai ragam tumbuhan tropis. Diperkirakan di seluruh Kepulauan Nusantara terdapat 20.000 spesies tumbuhan, diantaranya mewakili spesies yang ada di permukaan bumi, dan spesies yang hanya khusus tumbuh di Indonesia. Namun sebagian besar belum dimanfaatkan secara maksimal kegunaannya, salah satu diantaranya senyawa metabolit sekunder (Achmad, 1994; Zaini, 1995).

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan telah banyak berjasa dalam meningkatkan kesejahteraan umat manusia, seperti obat-obatan, pestisida, insektisida, dan sebagainya yang memberikan hasil yang tak ternilai.

Adanya indikasi senyawa metabolit sekunder seperti jenis alkaloid, arilpropanoid, flavonoid, isoprenoid dan sebagainya mempunyai berbagai ragam senyawa bioaktif dan senyawa toksin. Tidak berlebihan senyawa metabolit sekunder dipandang sebagai *chemical messenger*. Dalam pengertian senyawa tersebut digunakan sebagai alat komunikasi dalam proses interaksi sesama atau berlainan jenis yang mempengaruhi metabolisme baik secara positif (menstimulasi) maupun negatif (menolak/inhibisi). Misalnya senyawa

- 1 -



seskuiterpen jenis furanoseskuiterpen menunjukkan aktivitas biologis sebagai antitumor dan antiviral (Dey, 1991; Levin, 1976).

Tanaman Zingiberaceae merupakan jenis tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bumbu masak dan pengobatan tradisional. Famili tanaman ini mengandung berbagai senyawa aroma dan aromatik yang mempunyai sifat kimia dan biologi yang berguna. Senyawa aroma yang dihasilkan famili tanaman ini antara lain, monoterpen, seskuiterpen, dan aril propanoid yang mempunyai bau yang khas. Sedangkan senyawa aromatik antara lain flavonoid dan polifenol (Itokawa, 1981; Wollen Weber, 1981; Yukihiro, 1990).

Curcuma merupakan salah satu genus tanaman dari famili Zingiberaceae. Salah satu spesies tanaman dari genus *Curcuma*, *Curcuma xhantorrhiza* dengan nama daerah temulawak. Tanaman ini merupakan tanaman asli Indonesia dan banyak digunakan masyarakat sebagai pengobatan tradisional. Secara tradisional tanaman ini digunakan sebagai pengobatan analgesik, antiinflamasi, antipiretik dan sebagainya (Ozaki, 1989; Yasni, 1993).

Mengingat *Curcuma xhantorrhiza* menduduki urutan terbesar sebagai simplisia di perusahaan jamu diantara kencur, kedawung, lengkuas, jahe dan lain-lain, maka perlu

kontrol kualitas produk yang mengandung *Curcuma xhantorrhiza*. Kontrol kualitas tersebut diperlukan untuk penetapan standarisasi simplisia, sehingga memberikan informasi yang tepat dan membantu pengawasan mutu produk kimia yang terkandung di dalamnya, diantaranya senyawa golongan seskuiterpen.

1.2. Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, perlu dilakukan penelitian senyawa golongan seskuiterpen apakah yang terdapat dalam rimpang *Curcuma xhantorrhiza* yang dapat digunakan sebagai penentuan standarisasi dalam simplisia.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa golongan seskuiterpen yang terdapat dalam rimpang *Curcuma xhantorrhiza* sehingga dapat digunakan sebagai pengembangan standarisasi simplisia dan fitofarmaka.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat bermanfaat untuk memberikan konfirmasi pengawasan mutu dan kadar produk yang mengandung *Curcuma xhantorrhiza*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan *Curcuma xanthorrhiza*

Tanaman Zingiberaceae merupakan tanaman yang tersebar di daerah tropis dan sub-tropis, salah satu diantaranya genus *Curcuma*. *Curcuma xanthorrhiza* termasuk tanaman budidaya di Jawa, dan sering ditemukan tumbuh liar di dalam hutan gugur. Tanaman ini merupakan tumbuhan asli Indonesia dan hampir tidak ada di luar negeri, kecuali di Penisula, Malaysia. Rimpang tanaman ini banyak digunakan masyarakat sebagai pengobatan tradisional Indonesia, baik secara sendiri maupun bersama simplisia lainnya. Secara tradisional rimpang *Curcuma xanthorrhiza* digunakan untuk mengobati sakit lever, sembelit, diare berdarah, desentri dan sebagainya dengan menggunakan rimpang segar atau rebusan rimpang kering (Sostromidjojo, 1967; Yasni, 1993).

Di Indonesia, *Curcuma xanthorrhiza* dikenal sebagai temulawak atau Javanese turmeric. Menurut Heyne (1987), sistematika tanaman ini adalah sebagai berikut,

Divisi : Spermatophyta
Sub-divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Bangsa : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Marga : *Curcuma*
Spesies : *Curcuma xanthorrhiza*

Simplisia *Curcuma xanthorrhiza* telah dilaporkan mengandung kadar air 40 - 50 %, kadar abu 7 - 7,4 %, minyak atsiri 7 - 30 %, karbohidrat 30 - 40 %, aromatik kurkumin 0,02 - 2 %, dan senyawa seskuiterpen 0,30 - 0,35 % (Uchara, 1990; Yasni, 1993).

2.1.1. Morfologi tumbuhan temulawak

Morfologi tumbuhan temulawak secara lengkap diambil dari buku seri pustaka tanaman obat yang disusun oleh Sidik, dkk.

Temulawak termasuk terna berbatang semu yang batangnya berasal dari pelepah-pelepah daun yang saling menutup membentuk batang. Batang semu ini tumbuh dari rimpang. Tinggi tumbuhan dapat mencapai 2 meter, berwarna hijau coklat. Tiap tumbuhan berdaun antara 2 hingga 9 helai, bentuk daunnya bulat memanjang atau lanset. Daun berwarna hijau terang sampai hijau gelap dengan ukuran panjang antara

31 hingga 84 cm, lebar antara 10 hingga 18 cm. Daun termasuk tipe daun sempurna, artinya tersusun dari pelepah daun, tangkai daun dan helai daun. Kadang-kadang terdapat lidah daun (ligula). Pada sisi kiri dan kanan ibu tulang daun, terdapat semacam pita memanjang dengan warna merah keunguan.

Perbungaan bersifat lateral dengan tangkai yang ramping, berbulu dan bersisik. Sisik berbentuk garis, berambut halus, ukuran panjang 4 - 12 cm, lebar 2 - 3 cm. Ditinjau dari segi perbungaan, temulawak termasuk tipe eksanta, yaitu jenis temu yang bunganya keluar dari rimpang. Bunga berbentuk bulir, bulat panjang dengan ukuran 9 cm hingga 23 cm, lebar 4 - 6 cm mempunyai banyak daun pelindung yang panjangnya sebanding dengan panjang mahkota bunga atau kadang-kadang lebih panjang. Bunga berwarna merah, merah ungu atau putih merah dengan sebagian ujungnya berwarna ungu. Kelopak bunga berwarna putih, berambut dengan ukuran panjang kelopak antara 8 hingga 13 cm. Mahkota bunga berbentuk tabung dengan panjang 4,5 cm. Helaiian bunga berbentuk bulat telur atau lonjong, berwarna merah dengan ukuran panjang antara 1,25 hingga 2 cm, lebar 1 cm. Bibir bunga berbentuk bulat atau bulat sungsang, berukuran panjang 1,4 - 2 cm; lebar 1,4 - 1,8 cm. Benang sari berwarna kuning muda dengan ukuran panjang 1,2 - 1,6 cm, lebar 1,0 - 1,5 cm. Tangkai sari mempunyai ukuran panjang 3,0 - 4,5 cm, dengan

lebar antara 0,25 hingga 0,45 cm. Kepala sari berwarna putih dengan panjang sekitar 0,6 cm. Tangkai putik mempunyai ukuran panjang 0,3 cm hingga 0,7 cm. Kepala sari matang satu jam sebelum bunga mekar sampai saat bunga mulai mekar. Kepala putik matang hampir pada saat yang bersamaan.

Dari hasil pengamatan di berbagai daerah di Indonesia, diketahui bahwa temulawak umumnya berbunga sekitar 2 - 4 bulan sesudah musim hujan. Di Pulau Jawa., musim berbunga umumnya terjadi sekitar bulan Januari hingga Maret. Biasanya munculnya bunga didahului dengan berkembangnya pertumbuhan vegetatif, namun kadang-kadang dalam keadaan luar biasa dapat juga perbungaan terjadi bersamaan dengan munculnya daun, bahkan kadang-kadang perbungaan terjadi lebih dahulu daripada bagian vegetatifnya. Bunga muncul secara bergiliran dari kantung-kantung daun pelindung. Umumnya bunga mekar pada pagi hari dan layu beberapa jam kemudian.

Sistem perakaran berupa rimpang yang berbuku dan beruas berwarna jingga. Buku dilindungi selapis selaput atau sisik. Rimpang terdiri atas rimpang induk dan rimpang cabang. Rimpang induk berbentuk jorong atau gelendong. Rimpang cabang berupa akar yang menggelembung pada bagian ujungnya. Rimpang induk tumbuh dan terbentuk dekat permukaan tanah pada kedalaman sekitar 35 cm.

Berikut ini adalah gambar tumbuhan temulawak secara lengkap.



Gambar 1. Tumbuhan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb)

2.1.2. Kandungan kimia temulawak

Kandungan kimia rimpang temulawak menurut Sidik dkk. (1993), terbagi atas tiga kelompok, yaitu :

a. Fraksi Pati

Fraksi ini dalam rimpang temulawak merupakan kandungan dalam jumlah terbesar. Pati temulawak dapat dikembangkan sebagai bahan makanan.

b. Fraksi Kurkuminoid

Fraksi kurkuminoid merupakan komponen yang memberi warna kuning pada rimpang temulawak. Selain dapat digunakan sebagai zat warna dalam makanan, minuman atau kosmetika, komponen kurkuminoid diketahui mempunyai berbagai aktivitas biologik dalam spektrum yang luas.

c. Fraksi minyak atsiri

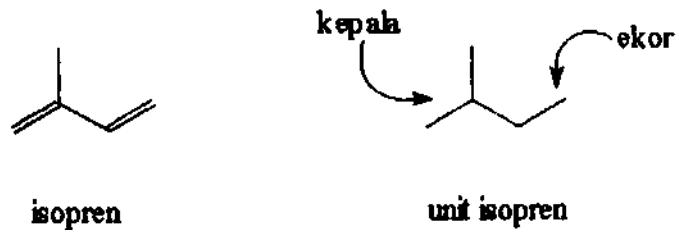
Fraksi minyak atsiri dalam rimpang temulawak, terdiri dari senyawa turunan monoterpen dan seskuiterpen. Seperti halnya komponen kurkuminoid, fraksi minyak atsiri asal rimpang temulawak ini mempunyai aktivitas biologis dalam spektrum luas yang dalam beberapa hal bekerja sinergistik dengan fraksi kurkuminoid.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan simplisia *Curcuma xanthorrhiza* mengandung kadar air 40 - 50%, kadar abu 7,0 - 7,4%, minyak atsiri 7 - 30%, karbohidrat 30 - 40%, aromatik kurkumin 0,02 - 2% dan

senyawa seskuiterpen 0,30 - 0,35% (Uehara, 1990; Yasni, 1993).

2.2. Tinjauan Terpenoid

Terpenoid merupakan salah satu jenis golongan senyawa metabolit sekunder, yang tersusun atas unit isoprenoid. Secara biosintesis, senyawa golongan terpenoid berasal dari isopren ($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$) dan kerangka karbonnya merupakan penggabungan kepala ke ekor. Keteraturan mengenai struktur terpenoid ini disebut dengan kaidah isopren (Achmad, 1986).



Senyawa terpenoid diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya (Manitto, 1992).

Tabel 1. Klasifikasi terpenoid

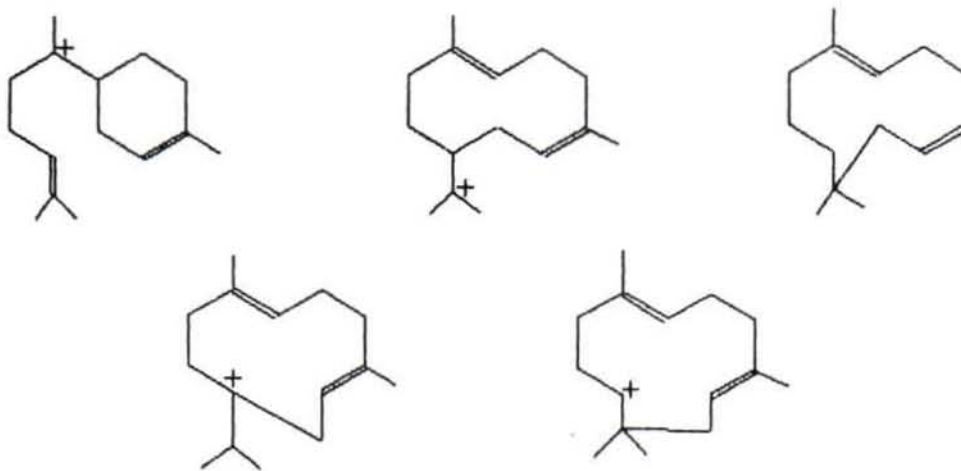
Jumlah atom C	Kelompok	Sumber
5	hemiterpen	jarang
10	monoterpen	minyak atsiri
15	seskiterpen	minyak atsiri
20	diterpen	resin
25	sesterpen	jarang
30	triterpen	damar
40	tetraterpen	karoten
>40	politerpen	karet alam

Senyawa terpenoid dengan jumlah atom karbon 10 (monoterpen) dan 15 (seskiterpen) lebih dikenal dengan sebutan minyak atsiri. Pada umumnya, komponen minyak atsiri ini diperoleh dengan destilasi uap, akan tetapi langkah ini saat sekarang jarang dilakukan karena dikhawatirkan terbentuknya senyawa jadian pada suhu yang dinaikkan (Harborne, 1987). Minyak atsiri bukanlah senyawa murni, akan tetapi merupakan campuran senyawa organik yang kadangkala terdiri dari lebih dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Penyelidikan kimia menunjukkan bahwa sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang hanya mengandung karbon dan nitrogen atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak aromatik (Achmad, 1986).

Seskuiterpen dengan jumlah atom karbon sebanyak 15 (tersusun atas 3 unit isopren) yang dikenal terdapat beberapa ribu yang berstruktur jelas dan kira-kira termasuk ke dalam 200 jenis kerangka. Secara kimia, seskuiterpen dipilah-pilah berdasarkan kerangka karbon dasarnya. Adapun kerangka yang umum ialah asiklik (misalnya farnesol), monosiklik (misalnya bisabolena), atau bisiklik (misal β -selinena). (Harborne, 1987).

Struktur selengkapnya terdapat pada gambar 3

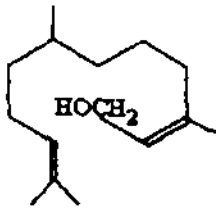
Klasifikasi lain dari seskuiterpen didasarkan atas dasar prinsip biogenesis. Secara biogenesis, struktur golongan seskuiterpen digolongkan atas lima kerangka utama (Manitto, 1992)



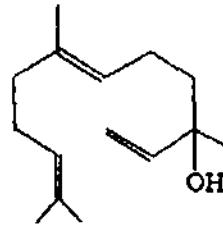
Gambar 2. Kerangka utama Seskuiterpen

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Asiklik

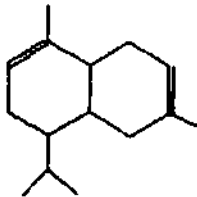


farnesol

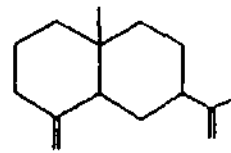


nerolidol

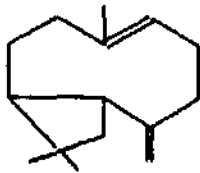
Bisiklik



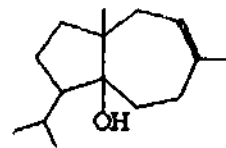
α-kadinena



β-selinena

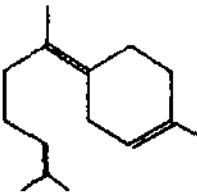


kariofilena

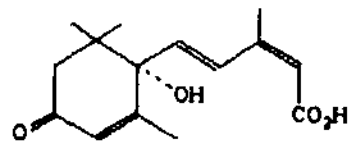


karotol

Monosiklik

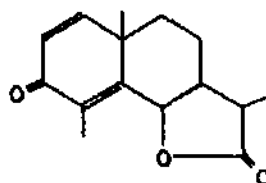


γ-bisabolena



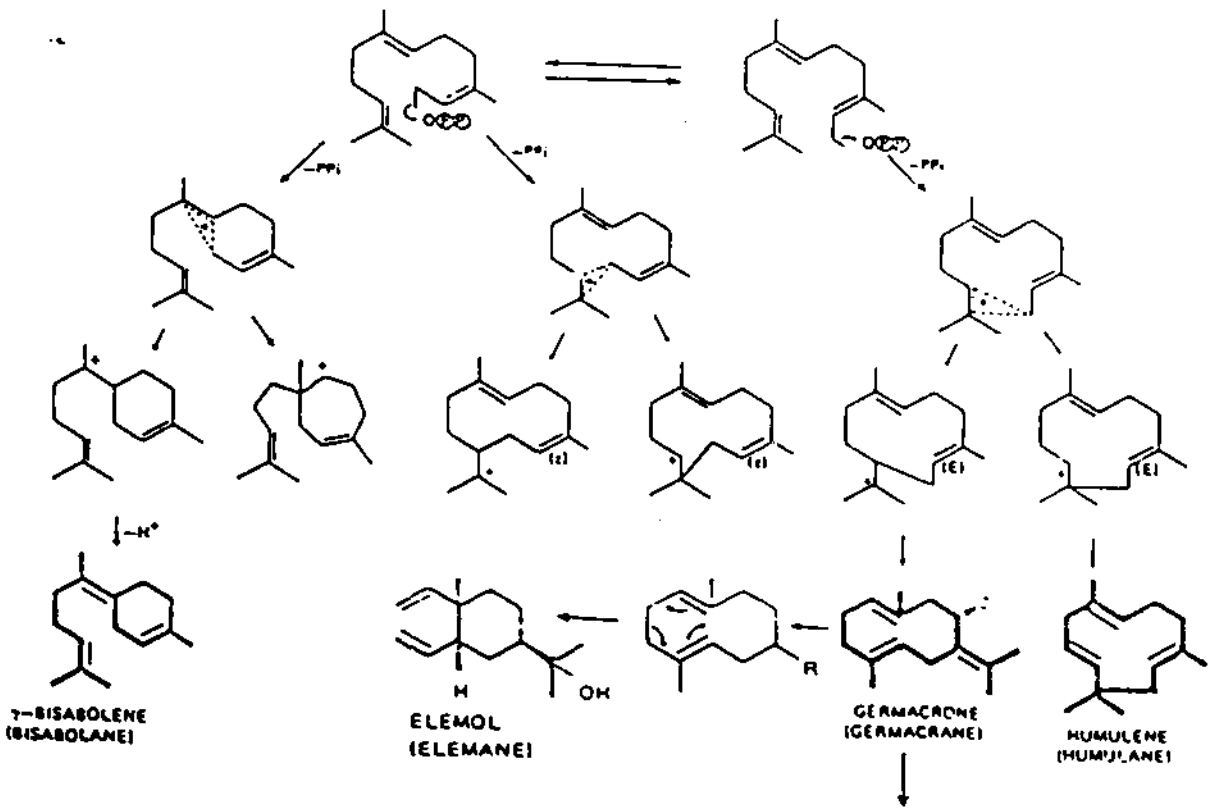
absisat

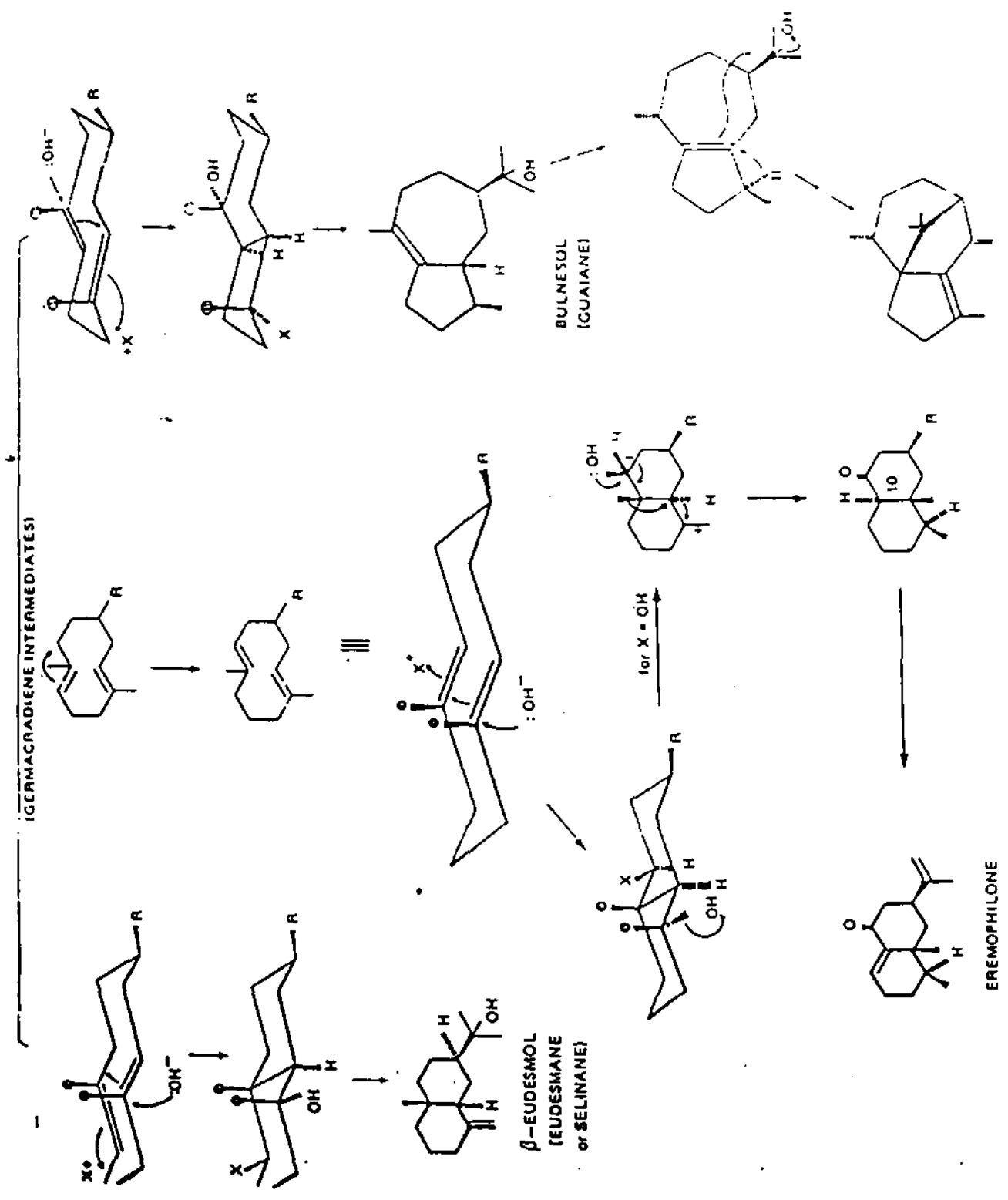
Seskuiterpen lakton

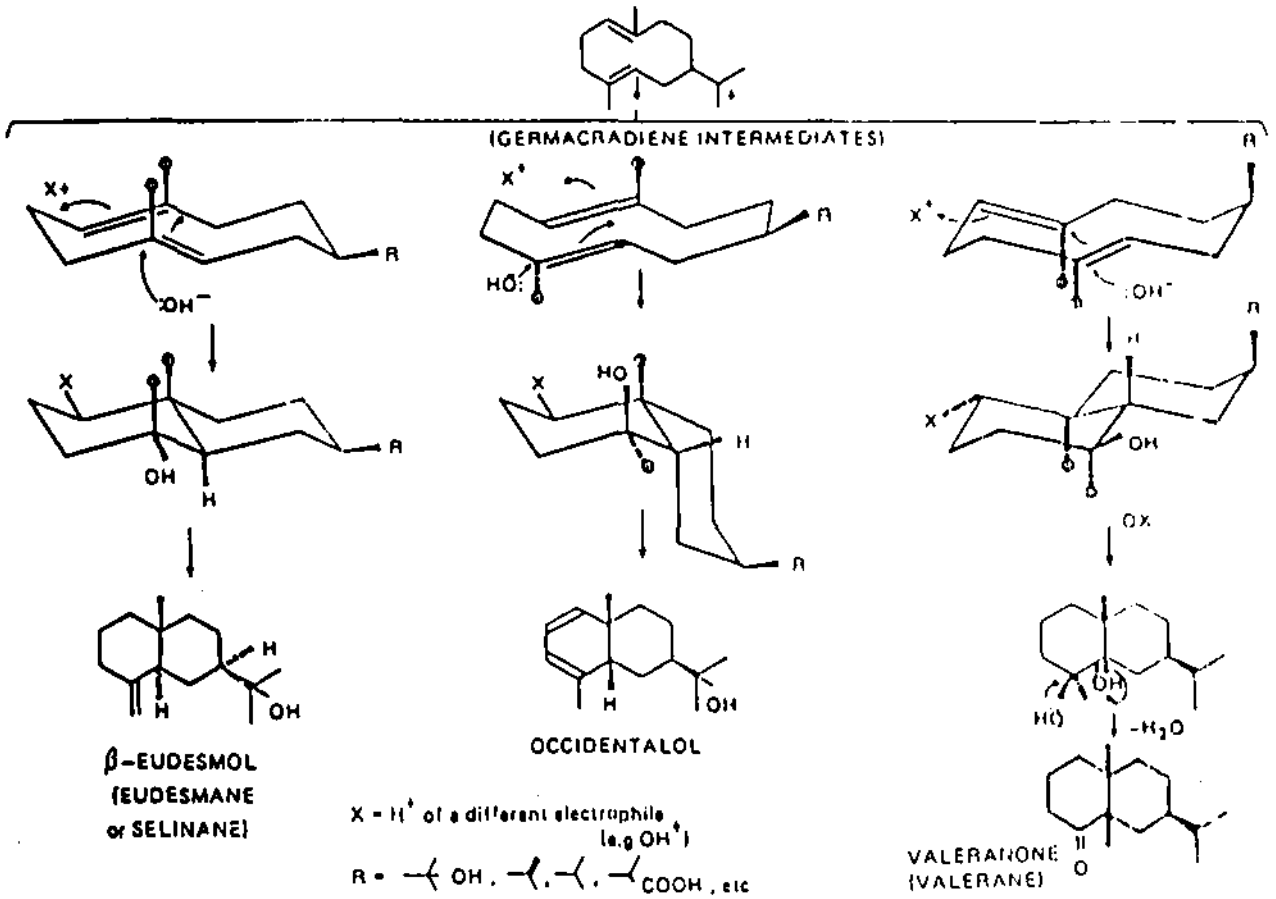


santonin

Adapun mekanisme biogenesis dari seskuiterpen-seskuiterpen tersebut di atas dapat digambarkan sebagai berikut (Manitto, 1992):







Gambar 4. Biogenesis beberapa jenis seskiterpen

Fungsi fisiologis senyawa golongan seskuiterpen antara lain adalah pencegah peradangan, spasmolitik, anti tumor, anti bakteri, hormon dan sebagainya (Manitto, 1992).

2.3. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan substansi dari campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ragam ekstraksi tergantung tekstur dan kandungan senyawa yang diisolasi (Gritter, 1991).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut segar terhadap bahan segar atau bahan kering. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar, sedangkan senyawa non-polar diekstraksi dengan pelarut non-polar. Proses ekstraksi tergantung dari kestabilan senyawa yang akan diisolasi.

Untuk mengisolasi senyawa seskuiterpen dari jaringan tanaman, pada umumnya dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi dan maserasi-perkolasi pada suhu kamar, destilasi uap serta destilasi super kritik. Karena senyawa seskuiterpen umumnya kurang stabil terhadap pemanasan, sehingga senyawa hasil isolasi merupakan senyawa artifact, maka dianjurkan menggunakan cara ekstraksi pada suhu kamar (Harborne, 1987).

2.4. Kromatografi

Kromatografi merupakan cara pemisahan berdasarkan distribusi cuplikan antara fasa gerak dan fasa diam.

Crude extract yang diperoleh dari proses ekstraksi dianalisis lebih lanjut dengan kromatografi. *Crude extract* dapat dipisahkan kandungannya dengan cara pengocokan atau dapat langsung dikromatografi kolom (Hostettman, 1986).

Pemisahan senyawa seskuiterpen sering dijumpai bersama senyawa monoterpen, sehingga pemisahan campuran senyawa tersebut sangat sukar. Pada umumnya senyawa seskuiterpen tersebut berwujud minyak, untuk pemisahan dapat digunakan kromatografi cair kinerja tinggi preparatif. Sedangkan senyawa seskuiterpen yang berwujud padatan dapat dipisahkan dengan menggunakan kromatografi kolom atau kromatografi vacum cair (Takano, 1995).

2.5. Analisis Spektroskopi

Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan cara gabungan kimia dan spektrometri. Sebelum diidentifikasi senyawa harus murni. Pada umumnya diuji dulu titik lelehnya dan kromatografi lapis tipis dengan berbagai larutan pengembang. Apabila senyawa tersebut mempunyai rentang titik lelehnya 1 - 3°C dan menunjukkan satu noda, maka senyawa tersebut dapat dianggap murni (Harborne, 1987).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Sampel Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini, rimpang *Curcuma xanthorrhiza* (temulawak) yang diperoleh di Pasar Keputran, Surabaya. Bahan tanaman diidentifikasi di Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan Jawa Timur. Sebelum dilakukan ekstraksi, rimpang tanaman dibersihkan kemudian dipotong-potong kecil lalu dikeringkan di udara terbuka sampai memenuhi berat kering simplisia. Bahan yang sudah kering ditumbuk halus dan diayak.

3.2. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan untuk keperluan ekstraksi digunakan bahan berkualitas teknis yang telah didestilasi, sedangkan untuk keperluan analisis, bahan berkualitas pro-analisa (p.a.). Bahan Kimia yang digunakan yaitu n-heksana, etilasetat, khloroform, metanol, silika gel G 60 GF254 untuk kromatografi vacum cair, dan pelat silika GF254 untuk kromatografi lapis tipis.

3.3. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut: bejana kromatografi, corong pisah, erlenmeyer, gelas piala, penguap tekanan rendah, Spektrofotometer UV-VIS Beckman DV-7500, Spektrofotometer FT-IR 5300.

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Penentuan Kadar Abu

Bahan segar rimpang *Curcuma xanthorrhiza* sebanyak 5 gram dipanaskan pada suhu 300°C selama 3 jam, dengan replikasi tiga kali dengan kondisi yang sama.

3.4.2. Ekstraksi

Bahan segar rimpang *Curcuma xanthorrhiza* sebanyak 2 kg dikeringkan pada udara terbuka sampai memenuhi persyaratan simplisia, 1,1 kg bahan kering (40%). Bahan yang sudah ditumbuk halus dimasukkan ke dalam alat perkolator, selanjutnya direndam pada suhu kamar dengan n-heksana. Proses ekstraksi diulangi beberapa kali sampai perkolat yang keluar negatif terhadap pereaksi Liebermann-Bouchart. Ekstrak n-heksana yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan alat penguap tekanan rendah, sehingga dihasilkan ekstrak total berwarna kuning kecoklatan.

3.4.3. Isolasi dan pemurnian senyawa seskuiterpen

Untuk mengetahui jumlah komponen senyawa aktif dalam fraksi n-heksana yang diisolasi, dilakukan kromatografi lapis tipis. Eluen yang digunakan sebagai fasa gerak antara lain: n-heksana, khloroform, etil asetat, metanol; campuran n-heksana - etil asetat, dan n-heksana - khloroform. Dari hasil kromatografi lapis tipis yang dilakukan, campuran n-heksana - etilasetat (8:2) merupakan eluen yang memberikan pemisahan paling baik. Penampak noda senyawa dideteksi dengan lampu ultraviolet dan pereaksi $CeSO_4$.

Ekstrak kental n-heksana sebanyak 5 gram dilarutkan dengan khloroform, kemudian diteteskan pada silika gel G60 sebanyak 10 gram lalu digerus sampai ekstrak n-heksana terabsorpsi pada silika gel. Senyawa yang diisolasi dimasukkan ke dalam kolom yang telah disiapkan terlebih dahulu dengan absorben silika gel GF254 dengan panjang kolom 5,5 cm dan diameternya 5 cm. Senyawa yang difraksinasi dielusi dengan menggunakan n-heksana, campuran n-heksana - etilasetat secara gradien dengan berbagai perbandingan. Pelarut sebanyak 50 ml dimasukkan ke dalam kolom, pelarut yang mengelusi senyawa disedot menggunakan pompa vakum. Masing-masing fraksi yang mempunyai harga R_f yang sama digabung. Kromatografi kolom diulangi sebanyak tiga kali dengan perlakuan kondisi yang sama.

Sampel sebanyak 1 mgr dilarutkan dengan etanol sampai volumenya 10 ml, kemudian diukur panjang gelombang maksimum ($\lambda_{maks.}$) menggunakan Spektrofotometer ultraviolet.

Sampel digerus dengan KBr, kemudian dibuat pelet KBr, kemudian diukur bilangan gelombang untuk mengetahui gugus fungsi senyawa menggunakan spektrofotometer inframerah. Untuk mengetahui berat molekul dan pola fragmentasi senyawa ditentukan dengan spektrofotometer massa.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

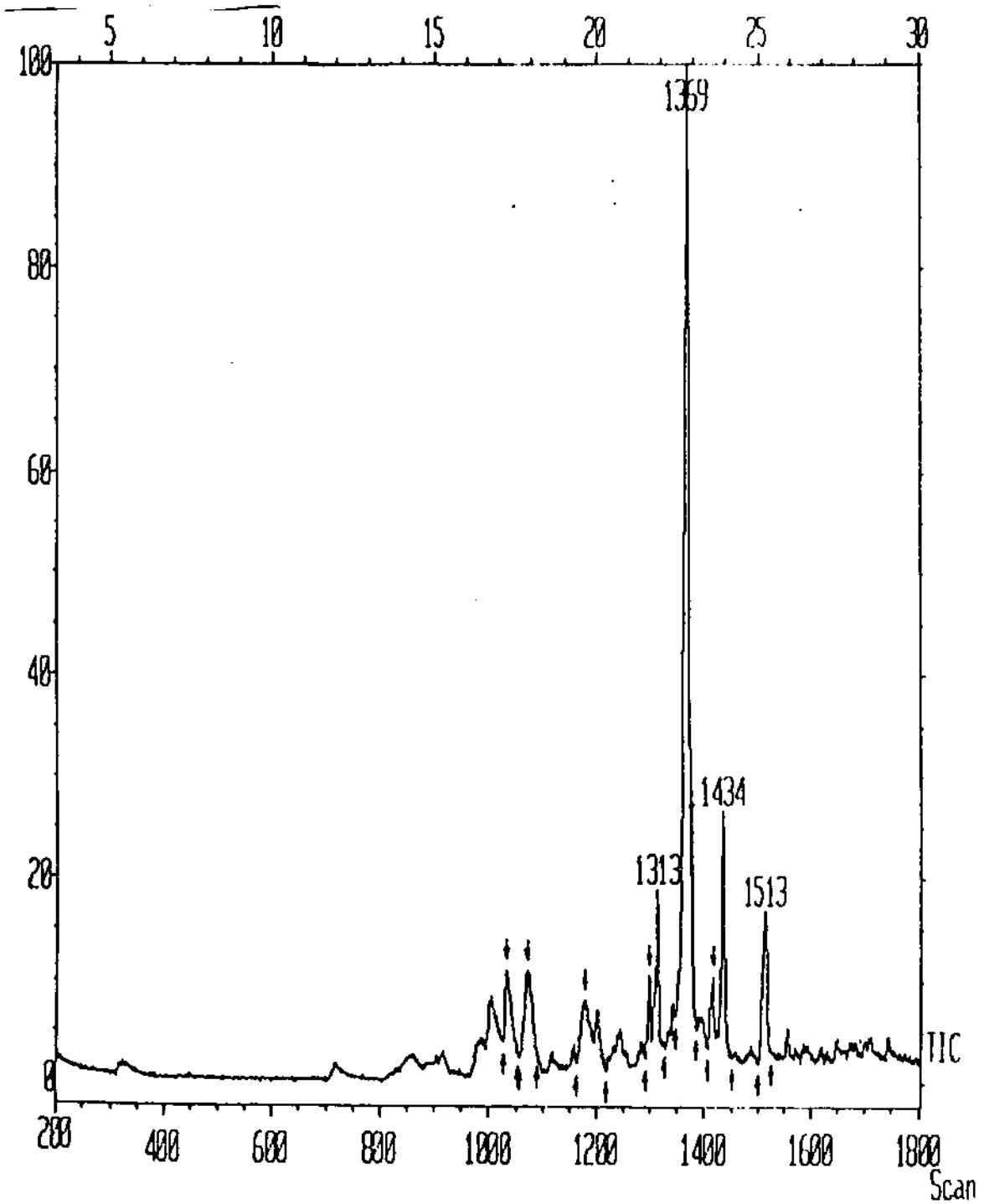
4.1. Hasil Penelitian

Bahan rimpang *Curcuma xanthorrhiza* RoxB. diekstraksi dengan n-heksana pada suhu kamar, untuk mengetahui jumlah komponen senyawa dalam ekstrak n-heksana dengan menggunakan berbagai eluen, dengan tujuan mencari eluen yang sesuai untuk pemisahan selanjutnya. Dari hasil percobaan, campuran n-heksana - etilasetat (8:2) memberikan pemisahan yang terbaik. Jumlah noda dalam ekstrak n-heksana dideteksi dengan lampu ultraviolet dan pereaksi CeSO_4 . Kadar abu diperoleh sebesar 7%.

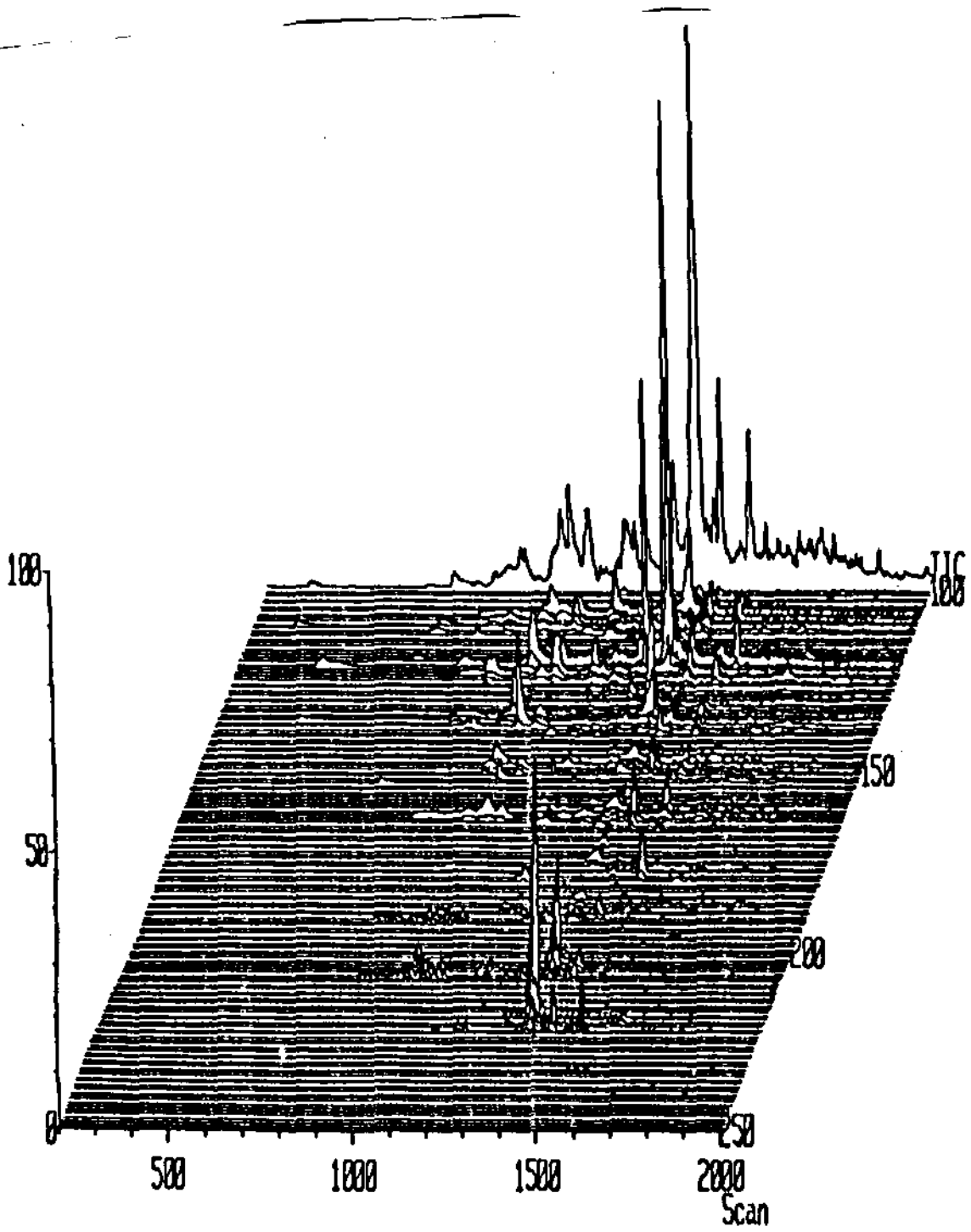
Ekstrak n-heksana selanjutnya dianalisis dengan gas kromatografi-spektrum massa (GC-MS), untuk mengetahui senyawa total dalam ekstrak n-heksana sebagai standarisasi relatif, dengan kondisi alat sebagai berikut :

Kolom	: Supel cowax-10
Panjang kolom	: 25 m
Diameter internal:	0,25 mm
Tebal lapisan	: 0,25 μm
Suhu injektor	: 250 $^{\circ}\text{C}$
Suhu kolom	: 70 - 250 $^{\circ}\text{C}$ (8 $^{\circ}\text{C}/\text{menit}$)
Suhu Ion Source	: 150 $^{\circ}\text{C}$
Energi	: 70 eV, 300 μA

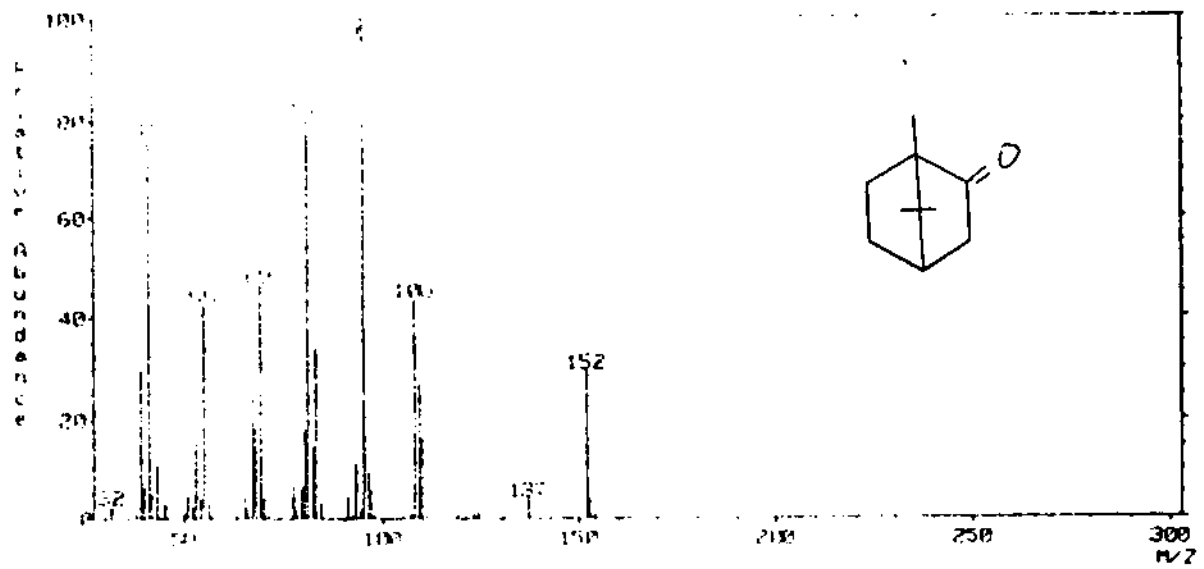
Analisis Spektrofotometer Massa memberikan massa molekul relatif ($M_r = 218$) dengan fragmentasi pada $m/e = 203, 189, 175, 161, 150, 135, 121, 107, 93, 79, 67, 59, 53$ dan 41 (Gambar 15).



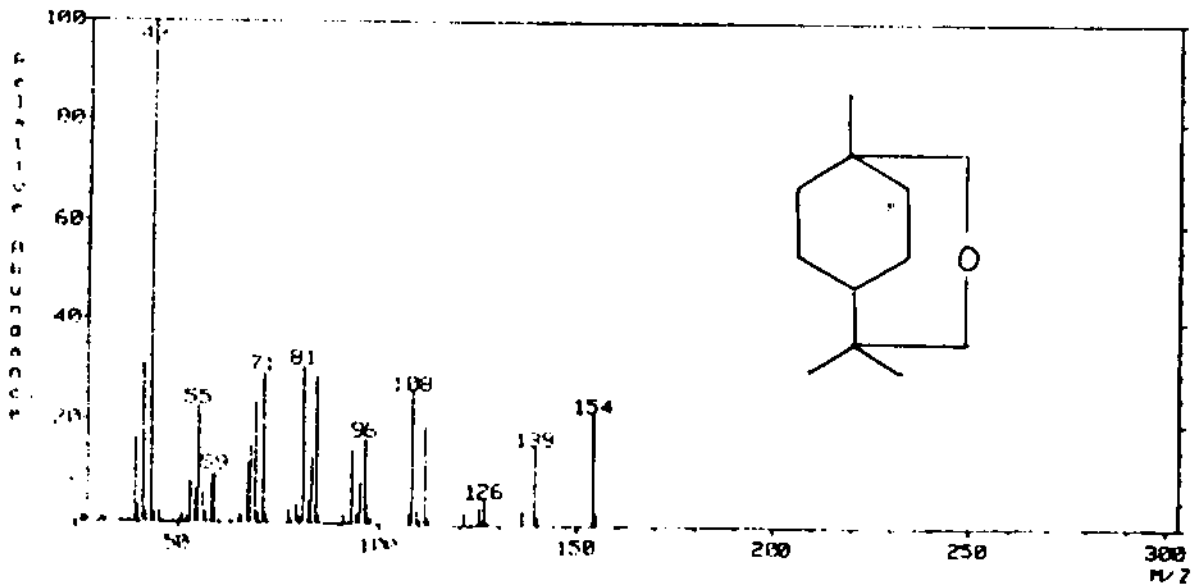
Gambar 5. Kromatogram Gas Kromatografi ekstrak n-heksana



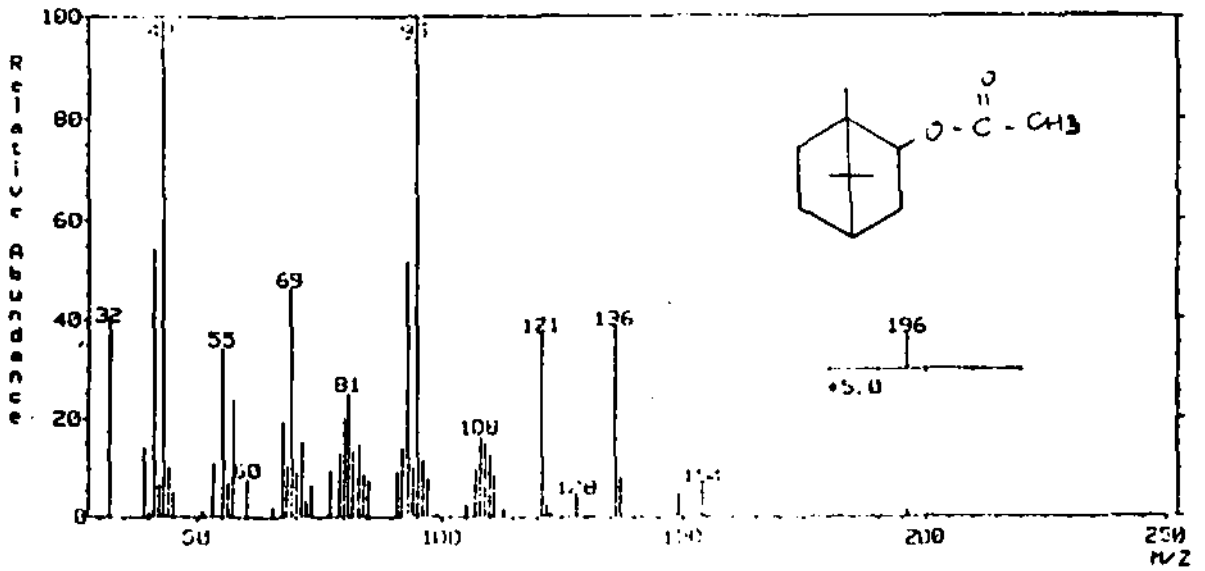
Gambar 6. Kromatogram 3-D Gas Kromatografi ekstrak n-heksana



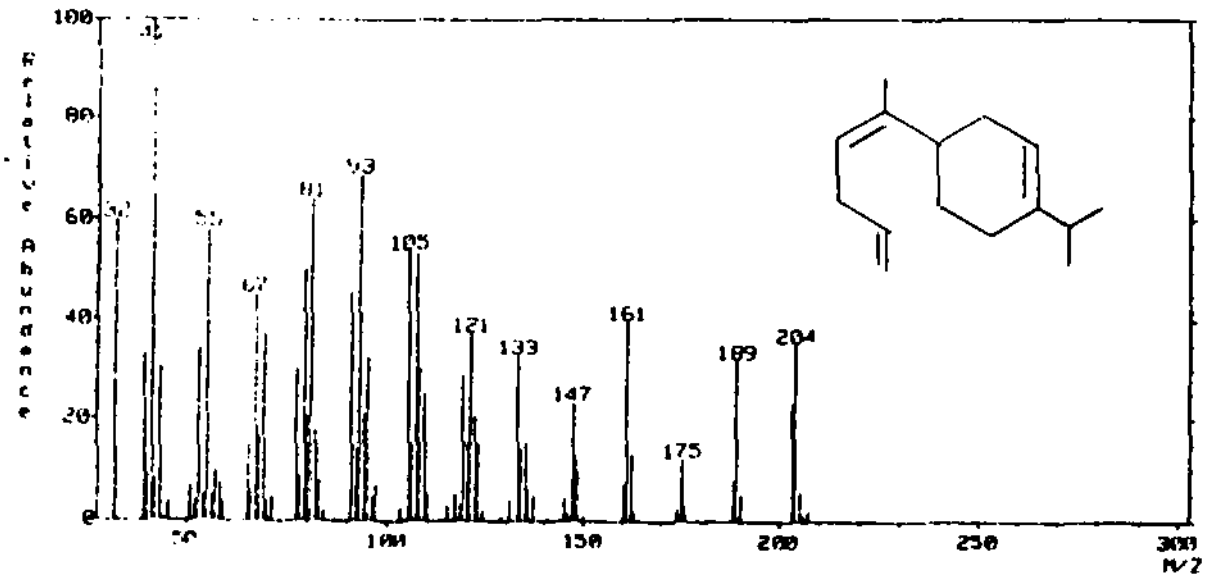
Gambar 7. Spektrum massa pada waktu retensi 17,10



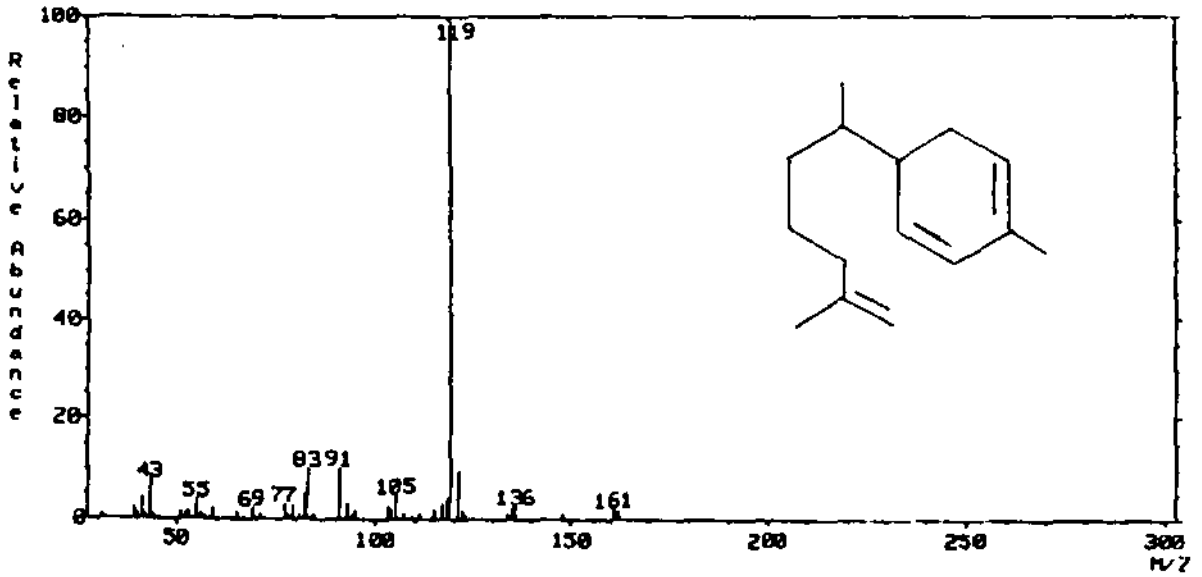
Gambar 8. Spektrum massa pada waktu retensi 17,48



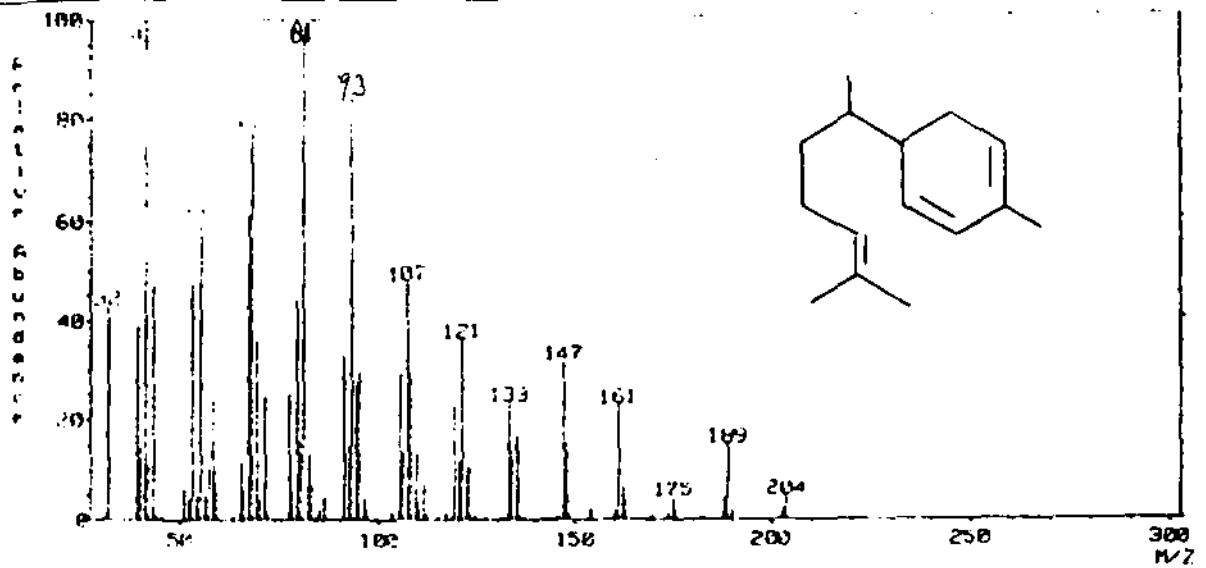
Gambar 9. Spektrum massa pada waktu retensi 19,36



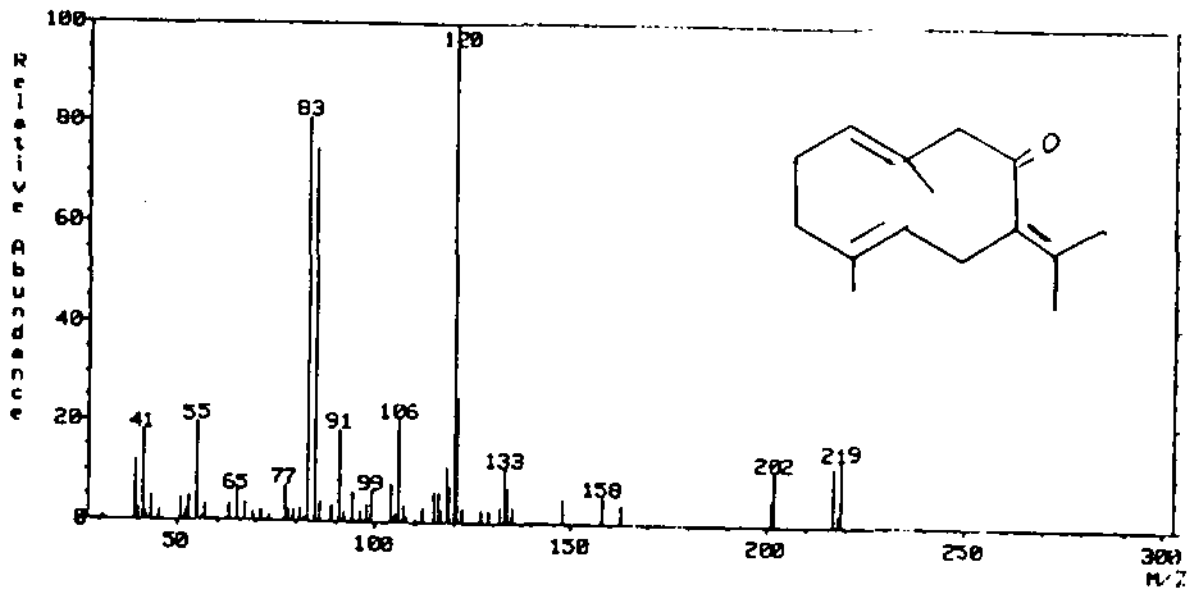
Gambar 10. Spektrum massa pada waktu retensi 21,36



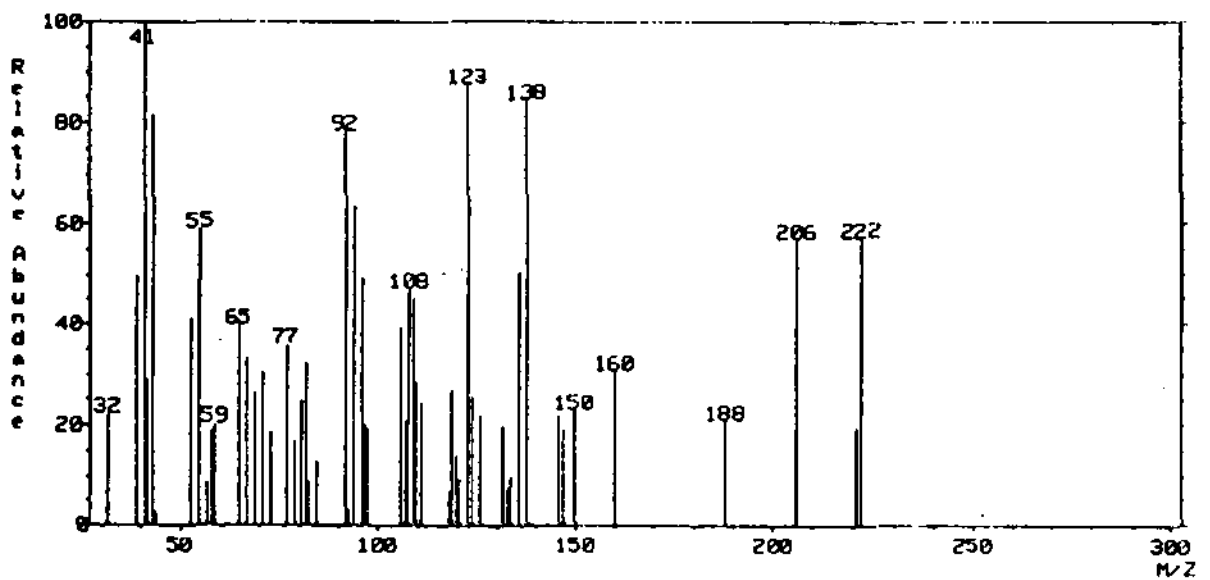
Gambar 11. Spektrum massa pada waktu retensi 21,51



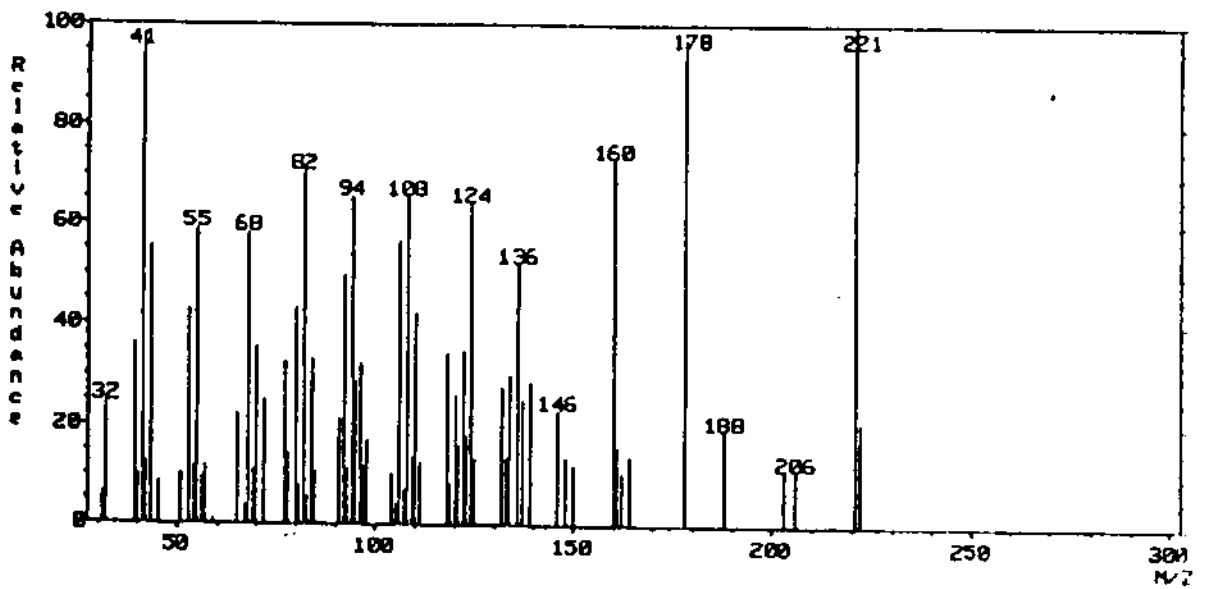
Gambar 12. Spektrum massa pada waktu retensi 22,47



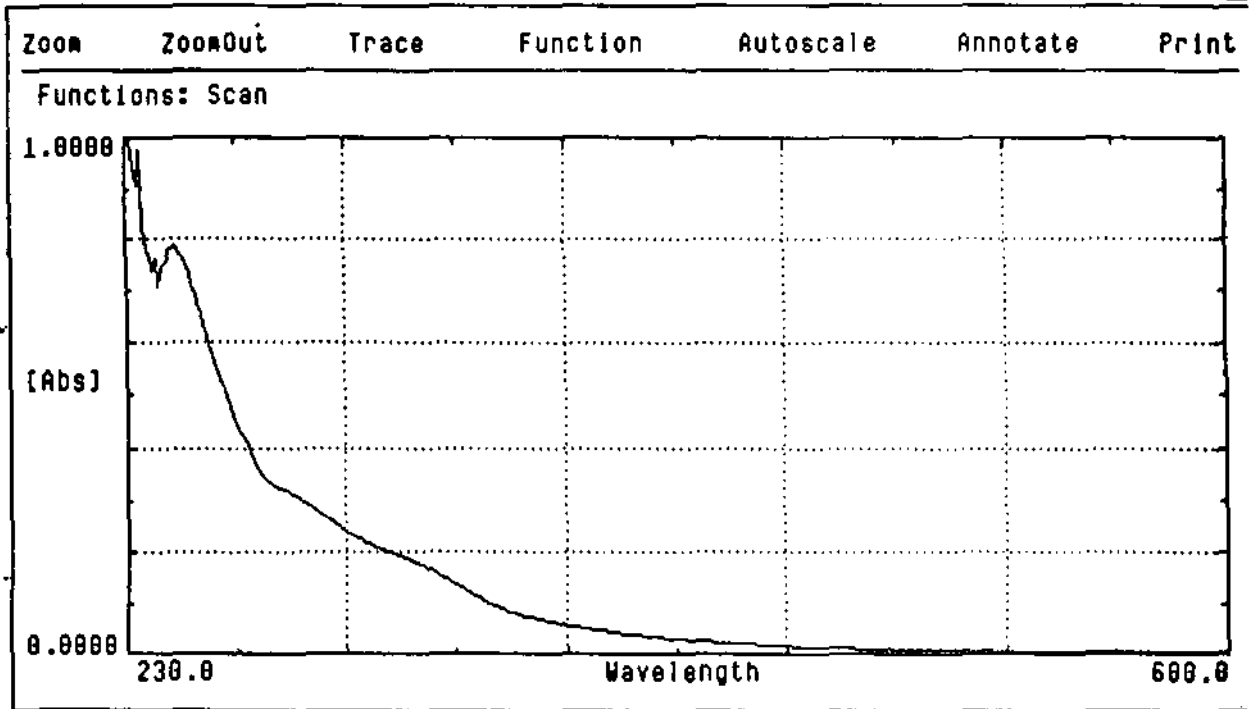
Gambar 13. Spektrum massa pada waktu retensi 22,53



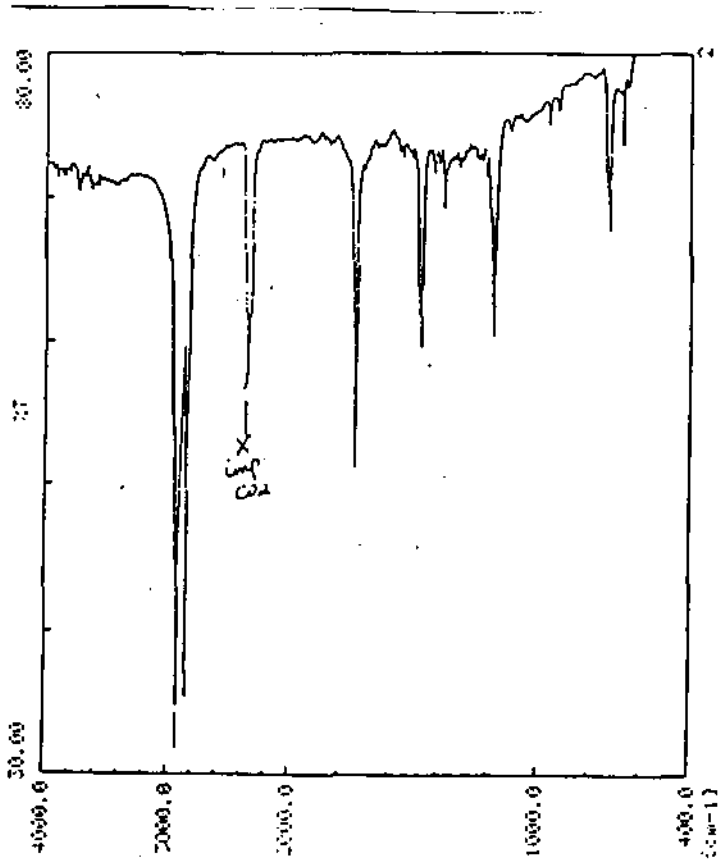
Gambar 14. Spektrum massa pada waktu retensi 23,33



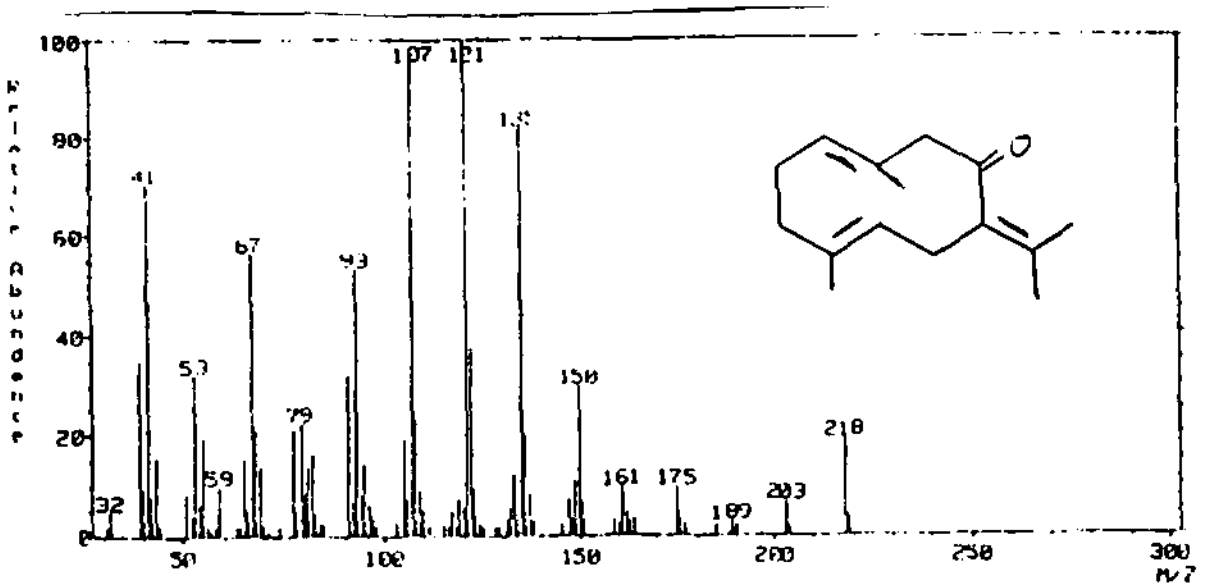
Gambar 16. Spektrum massa pada waktu retensi 25,11



Gambar 17. Spektrum ultraviolet fraksi kedua



Gambar 18. Spektrum inframerah fraksi kedua

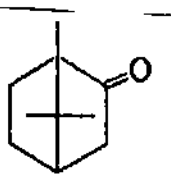


Gambar 19. Spektrum massa fraksi kedua

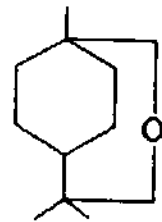
4.2. Pembahasan

Hasil kromatogram dari gas kromatografi memberikan gambaran bahwa senyawa ekstrak n-heksana terdiri dari 10 puncak kromatogram. Jumlah total luas area dari kromatogram memberikan gambaran kadar relatif senyawa untuk standarisasi senyawa yang terdapat dalam ekstrak n-heksana dari rimpang *Curcuma xanthorrhiza* RoxB. Dari masing-masing puncak kromatogram dibuat spektrum massanya. Hasil spektrum massa dapat diketahui senyawa ekstrak n-heksana terdiri dari 3 senyawa monoterpen dan 7 senyawa seskuiterpen. Jenis komponen masing-masing ditentukan dengan membandingkan berat molekul senyawa yang terdapat dalam pustaka atau dengan

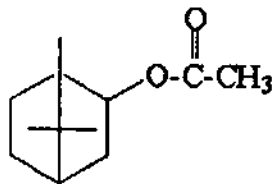
menggunakan PBM (Probability Based Matching). Dari hasil spektrum massa hanya 7 senyawa yang dapat diketahui, yakni 3 senyawa monoterpen dan 4 senyawa seskiterpen. Senyawa tersebut antara lain kamfer, sineol, borneolasetat, β -farnesan, α -zingiberen, α -kurkumen, dan germakron (Guenther, 1972; Firman, 1991; Ozaki, 1990; Pranowo, 1991; Yasni, 1994).



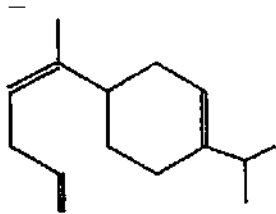
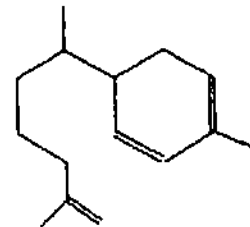
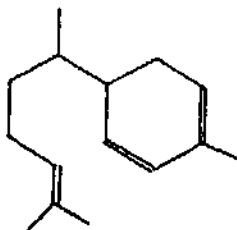
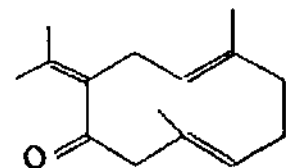
Kamfer



Sineol



Borneol asetat

 β -Farnesan α -zingiberen α -kurkumen

germakron

Tabel 2. Waktu retensi, berat molekul, dan prosentasi senyawa dalam ekstrak n-heksana.

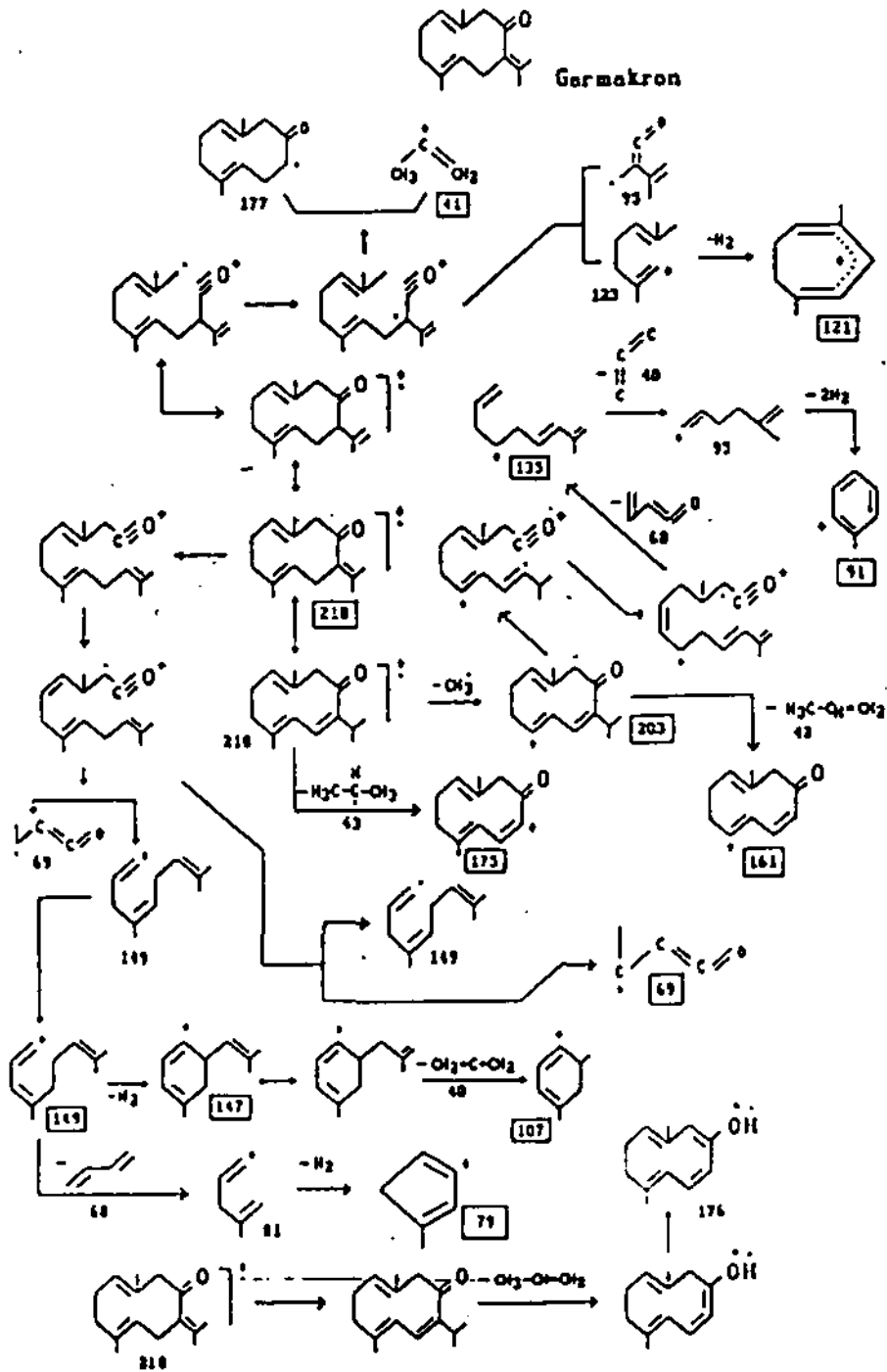
waktu retensi	BM	Senyawa	Jenis	%komponen
17,10	152	Kamfer	Monoterpen	4,03
17,48	154	Sineol	Monoterpen	5,62
19,36	196	Borneol-asetat	Monoterpen	9,00
21,36	204	β -farnesan	Seskuiterpen	2,45
21,51	204	α -zingiberin	Seskuiterpen	5,40
22,47	204	α -kurkumen	Seskuiterpen	50,30
22,53	219	germakron	Seskuiterpen	3,58
23,33	222	?	Seskuiterpen	2,89
23,52	222	?	Seskuiterpen	9,64
25,11	222	?	Seskuiterpen	7,07

Dari hasil Kromatografi Gas diperoleh senyawa golongan seskuiterpen dengan kadar yang sangat kecil, oleh karena itu senyawa ini tidak bisa digunakan untuk standarisasi simplisia *Curcuma xanthorrhiza*.

Hasil Kolom Kromatografi Vakum Cair menghasilkan 5 fraksi, dimana fraksi kedua menghasilkan padatan putih melalui kristalisasi dengan metanol 4 kali dengan titik leleh 53 - 55°C. Analisis spektroskopi ultraviolet dalam etanol, menunjukkan λ_{maks} = 247 nm yang merupakan ciri khas keton lingkaran yang mempunyai 1 ikatan rangkap terkonjugasi.

Analisis spektroskopi inframerah memberikan pita serapan pada bilangan gelombang 1740 cm^{-1} merupakan ciri khas vibrasi ulur dari gugus keton. Analisis spektroskopi massa memberikan informasi massa molekul relatif ($M_r = 180$) dengan puncak dasar 121. Dari analisis spektroskopi massa dapat diketahui senyawa hasil isolasi termasuk jenis seskuiterpen dengan nama germakron (Firman, 1991; Ozaki, 1990).

Dari hasil spektrum massa dapat diungkapkan jalur fragmentasi germakron, seperti yang disajikan pada Gambar 20



Gambar 20. Pola fragmentasi spektrum massa senyawa germakron

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diuraikan, maka dapat disimpulkan :

1. Berdasarkan Gas Kromatografi - Spektroskopi Massa dapat ditentukan kadar relatif senyawa seskuiterpen dari ekstrak n-heksana, senyawa β -farnesan 2,45%, α -zingiberen 5,440%, α -kurkumen 50,30% dan germakron 3,58% dalam simplisia *Curcuma xanthorrhiza* RoxB.
2. Ekstrak n-heksana dapat dipisahkan senyawa germakron melalui kolom kromatografi vakum cair.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan :

Mengingat kandungan senyawa yang terdeteksi pada gas kromatografi - spektroskopi massa hanya mampu mendeteksi komponen utama , sehingga sangat sulit mendeteksi senyawa-senyawa yang sangat sedikit, oleh karena itu perlu dicari metode pengukuran secara kuantitatif yang sesuai sehingga dapat ditentukan standarisasi senyawa seskuiterpen secara kuantitatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. , 1994, *Chemical Perspecting Tumbuhan Lauraceae*, Hibah Bersaing, ITB. , Bandung
- Achmad, S.A. , 1986, *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*, Modul 1 - 6, Penerbit "Karunika", Jakarta.
- Dey, P.M. and Mabry, T.J., 1991. *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press, London
- Firman, K., et al., 1991, *Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Rimpang Temu giring*, UNESCO Unair, Surabaya
- Gritter, R.J., et al., 1991, *Pengantar Kromatografi*, edisi kedua, ITB, Bandung
- Guenther, E., 1972, *The Essential Oils*, Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, ITB, Bandung
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta
- Hostetman, K., et al., 1986, *Preparative Chromatography Technique*, Springer Verlag Berlin Heidelberg, New York
- Ilyas, I dan Purba, A.V.T., 1994, *Standarisasi dan Validasi*

Sediaan Fitofarmaka dari Kaempferia galanga. Pokjanas
TOI, Unpad, Bandung

Itokawa, H., 1981, *Phenolic Compounds the Rhizomes of
Alpinia speciosa*, *Phyt.*, 20, 2503 - 2506

Kemp, W., 1979, *Organic Chemistry*, The Macmillan Press,
London

Levin, D.A., 1976, *The Chemical Defences of Plants to
Pathogens and Herbivores*, *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 7.

Manitto, P., 1992, *Biosynthesis of Natural Product*, John
Wiley and Sons, New York

Ozaki, Y., 1990, *Antiinflammatory Effect of Curcuma
xanthorrhiza RoxB and Its Active Principles*, *Chem.
Pharm. Bull.*, 38(4).

Pranowo, dan Anwar, C., 1991, *Isolasi Minyak Atsiri dari
Jahe*, Unesco, Unair, Surabaya

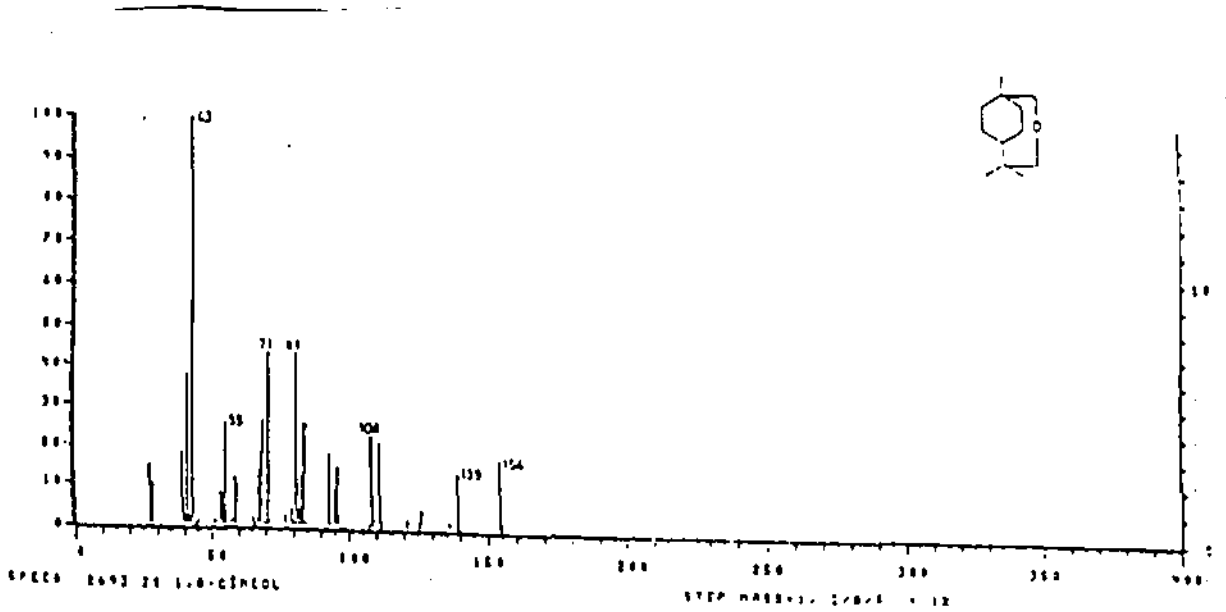
Sidik, dkk. , 1993, *Temulawak* , *Seri Pustaka Tanaman Obat*,
Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam, Phyto Medica.

Silverstein, et al., 1981, *Spectrometric Identification of
Organic Compounds*, John Wiley and Sons, New York

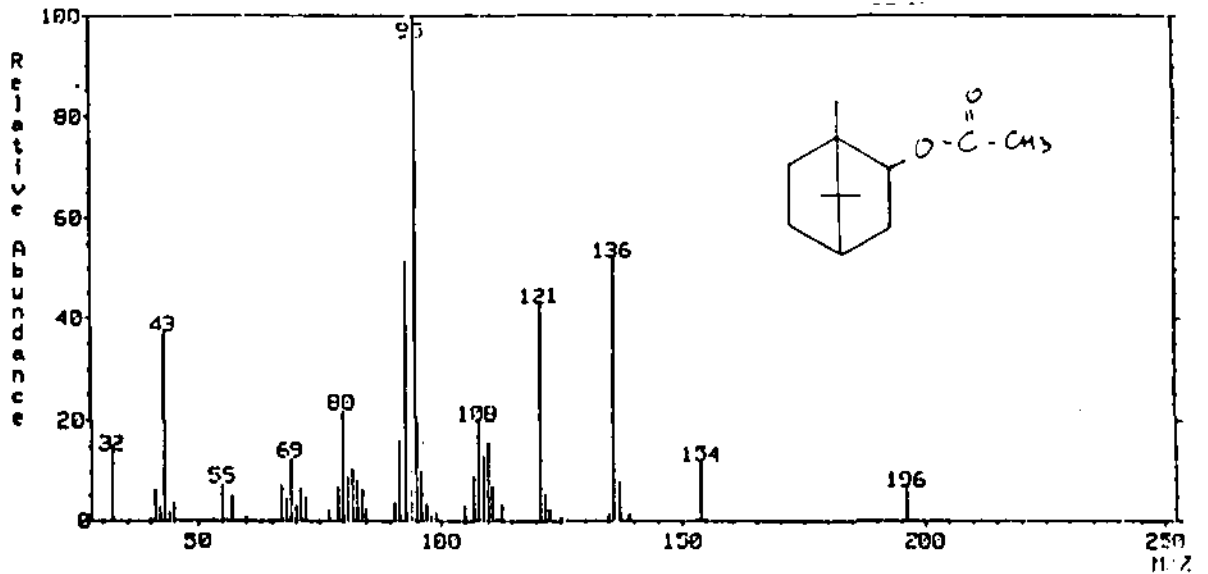
Uehara, S., et al., 1990, *New Bisabolane Sesquiterpenoids
from The Rhizomes of Curcuma xanthorrhiza*, *Chem. Pharm.
Bull.*, 38(11)

- Wollenweber, E. and Dietz, N.H., 1981, *Occurrence and Distribution of Free Flavonoid Aglycones in Plants*, *Phyt.*, 20, 869 - 932
- Yasni, S., et al., *Identification of an Active Principle in Essential Oils and Hexane Soluble Fractions of Curcuma xanthorrhiza RoxB showing Triglyceride Lowering Action in Rats*, *Fd Chem. TOXIC*, 32(3)
- Zaini, N.M., 1995, *Pengembangan Penelitian Tumbuhan Obat Indonesia di Universitas Airlangga*, Raker Penelitian Obat Indonesia, Unair, Surabaya

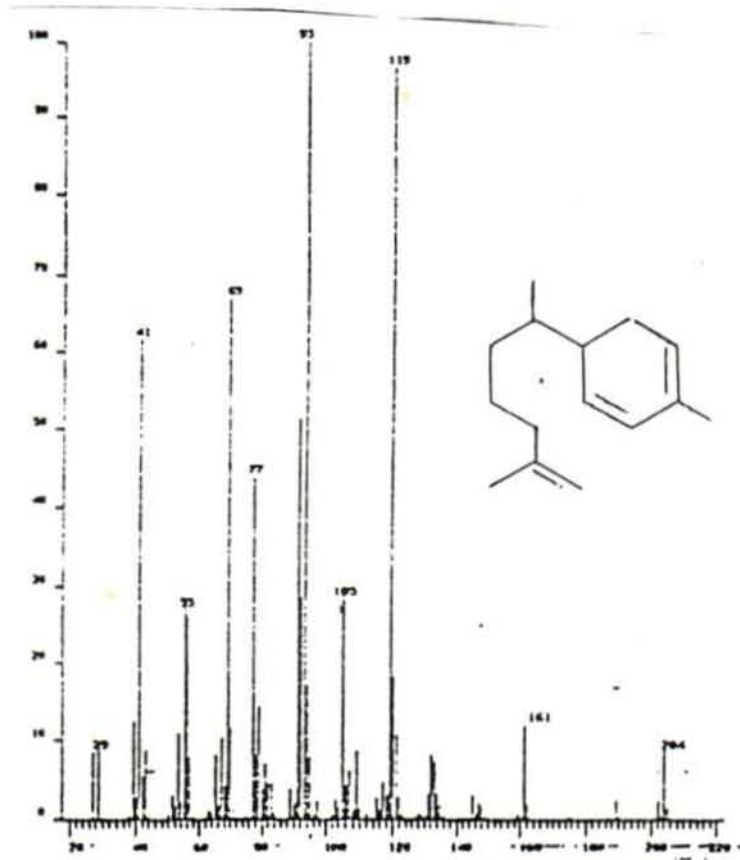
LAMPIRAN



Gambar 21. Spektrum massa standar cineol



Gambar 22. Spektrum massa standar borneolasetat



Gambar 23. Spektrum massa standar α -zingiberen

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA