

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF BATANG COMBRANG (*Nicolaia speciosa* Horan)

Sri Sutji Susilowati*, Santi Nur Handayani
Jurusan Kimia, Program Sarjana MIPA Unsoed
Jl. dr. Soeparno, Karangwangkal, Purwokerto, 53188

ABSTRAK

Indonesia terkenal sebagai negara yang memiliki banyak tanaman obat seperti familia *Zingiberaceae*. *Nicolaia speciosa* Horan yang dikenal dengan nama combrang merupakan salah satu tanaman kelompok familia *Zingiberaceae*. Combrang berpotensi digunakan sebagai obat tradisional karena combrang mengandung senyawa metabolit sekunder. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi komponen bioaktif pada kulit batang combrang dan melakukan identifikasi dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. Isolasi senyawa bioaktif pada kulit batang combrang dilakukan dengan maserasi menggunakan n-heksan sebagai solven dilanjutkan dengan kloroform dan etil asetat. Skrining senyawa bioaktif pada kulit batang combrang menggunakan reagen warna menunjukkan adanya golongan senyawa nitrogen, flavonoid dan saponin. Golongan senyawa yang terekstraksi dengan kloroform adalah alkaloid, flavonoid, dan fenolik sedangkan yang terekstraksi dengan etil asetat adalah fenolik, flavonoid, dan saponin. Ekstrak kloroform selanjutnya diidentifikasi dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak kloroform mengandung 32 puncak dengan waktu retensi yang berbeda. Lima puncak dengan % area tertinggi diidentifikasi dan hasilnya adalah dodecanol, desil asetat, 9-dekanal, tridesil vinil eter, dan 14-(2 metil butil) bisiklo (10,3,0) pentadeka-13-ol.

Kata kunci: isolasi, identifikasi, kulit batang combrang, senyawa bioaktif

ABSTRACT

Indonesia is known as a country that has many medicinal plants, such as *Zingiberaceae* family. *Nicolaia speciosa* Horan that is called combrang is one of *Zingiberaceae* family's plant. Combrang is potentially used as traditional medicine because it contains secondary metabolite compounds. The aims of this research are to isolate bioactive compounds on the bark combrang and identifying with *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. Isolation of bioactive compounds on the bark of combrang has been conducted by maseration using n-hexane as solvent followed by chloroform and ethyl acetate with continued.

Screening yield of bioactive compounds on combrang bark using colour reagent showed that were nitrogen compounds, flavonoid and saponin. Chloroform extract showed that were alkaloid, flavonoid and fenolic compounds. Ethyl acetate extract showed that fenolic compounds, flavonoid and saponin. Then chloroform extract was identified by

Gas Chromatography–Mass Spectrometry. The result showed that extract of chloroform contained 32 peaks with different retention time. Five peaks with higher % area was identified and the result as dodecanol, desyl acetate, 9-decenal, tridesyl vinyl eter and 14-(2' metil butil) bisiklo (10,3,0) pentadeca-13-ol.

Key words: Isolation, Identification, Combrang bark, Bioactive compounds

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai Negara yang kaya akan berbagai tumbuhan obat, terutama dari suku *Zingiberacea*. Pemerintah perlu mengoptimalkan pemanfaatan sumber daya alam tanaman obat di Indonesia dan membantu pemerintah dalam pengadaan bahan baku obat yang semakin sulit didapat, maka perlu digali lebih banyak lagi informasi ilmiah melalui penelitian-penelitian pemanfaatannya sebagai bahan obat tradisional.

Pemanfaatan tumbuhan obat oleh masyarakat sebagai alternatif pemakaian obat sintetik karena dianggap memiliki efek samping yang lebih kecil jika dibandingkan dengan obat sintetik, harganya terjangkau oleh masyarakat luas serta sumber bahan obatnya terutama sumber bahan nabati banyak terdapat di Indonesia.

Nicolaia speciosa Horan atau lebih dikenal dengan nama daerah

combrang merupakan satu tanaman yang termasuk dalam suku *Zingiberacea*, yang bermanfaat dan cukup potensial untuk dikembangkan dan dibudi dayakan.

Penggunaan sebagai bahan obat masih merupakan penggunaan secara tradisional belum didasarkan pada penemuan ilmiah (Widiyartini *et al.*, 1996). Dari keenam species *Nicolaia* yang paling banyak digunakan adalah *N. speciosa* Horan.

N. speciosa Horan (combrang) telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayuran atau sebagai bahan obat tradisional. Penggunaan sebagai obat antara lain ialah bunga dan daun untuk menghilangkan bau (deodoran), air perasan batang untuk obat ambeien, untuk membasahi tubuh mayat agar mudah diatur posisinya, untuk menghilangkan bau tak sedap dan rimpang untuk bahan pewarna kuning pada anyaman hasil kerajinan (Heyne, 1987; Tampubolon, 1983). Namun saat

ini batang combrang belum banyak digunakan.

Di beberapa daerah di Indonesia khususnya di kabupaten Banyumas tanaman ini selain digunakan sebagai sayuran juga digunakan untuk mengobati rematik atau encok dan bagian yang dimanfaatkan adalah bagian batang. Sebagai obat rematik atau encok mungkin disebabkan perasan batang combrang ini dapat menghilangkan rasa sakit dan pembengkakan yang ditimbulkan oleh penumpukan asam urat pada persendian atau dengan mekanisme lain yang belum diketahui secara pasti. Pemanfaatan dan penggunaan sebagai obat masih berupa pengetahuan turun temurun dan belum ada penelitian yang mengkaji aktivitas farmakologi senyawa bioaktif pada batang combrang yang dapat menunjang penggunaannya.

METODE PENELITIAN

Bahan

Batang combrang (*Nicolai spesiosa* Horan), n-Heksana (E.Merck), Kloroform (E.Merck), Etil asetat (E.Merck), plat KLT silika gel GF 254, pipa kapiler, Na₂SO₄ anhidrat, Aquades, Bismuth nitrat, Asam asetat, Kalium

iodida, Vanilin, HCl pekat, NH₄OH, KMnO₄, dan Ammonia.

Alat

Beker gelas, corong, gelas ukur, pengaduk gelas, gelas arloji, lampu UV 254 dan 366, neraca analitik, dan evaporator Buchii, Spektrofotometer GC-MS QP2010S Shimadzu.

Cara kerja

Sebanyak 50 gram serbuk halus batang combrang dimaserasi dengan menggunakan n-heksana 250 mL selama 24 jam, selanjutnya disaring untuk memperoleh filtrat dan serbuk bebas lemak. Filtrat yang diperoleh ditambah NaSO₄ anhidrat secukupnya, lalu didekantir dan diuapkan pelarutnya. Serbuk di angin-anginkan untuk menguapkan sisa pelarut dan selanjutnya dimaserasi kembali dengan pelarut kloroform selama 24 jam, disaring untuk memperoleh filtratnya ditambahkan NaSO₄ anhidrat secukupnya, didekantir, lalu diuapkan. Serbuk diangin-anginkan dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat selama 24 jam, disaring dan filtrat ditambahkan NaSO₄ anhidrat secukupnya, lalu didekantir dan dievaporasi. Selanjutnya filtrat hasil evaporasi selanjutnya dinamakan ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform dan

ekstrak etil asetat batang combrang. Kemudian dilakukan skrining adanya alkaloid, flavonoid, saponin dan senyawa fenol menggunakan pereaksi Dragendorff 132 (Cannel, 1998), pereaksi vanillin-HCl (Markham, 1988), larutan FeCl_3 5% arutan KMnO_4 1%, HCl 2 M dan NH_4OH 1 M (Uji Maüle) (Harborne, 1996). Uap ammonia spesifik dapat digunakan untuk membedakan golongan flavonoid. Timbulnya warna kekuningan menunjukkan adanya flavon dan flavonol. Isoflavon, katekhin dan flavanon tidak berwarna bila dikenai uap ammonia. Uji busa untuk menunjukkan adanya saponin.

Uji dengan pereaksi warna dilakukan terhadap semua hasil ekstrak yang diperoleh baik ekstrak n-heksana, kloroform dan etil asetat batang combrang, sedangkan identifikasi dengan GC-MS hanya terhadap ekstrak kloroform, menggunakan kromatografi gas-spektrofotometer massa QP2010S Shimadzu, kolom Rtx-5MS panjang kolom 30 m dan ID 0,25 m.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi senyawa bioaktif batang combrang

Isolasi senyawa bioaktif dari batang combrang dilakukan dengan cara maserasi selama satu malam dengan pelarut-pelarut n-heksana, kloroform dan etil asetat secara terpisah. Hasil maserasi dengan pelarut-pelarut n-heksana, kloroform dan etil asetat disajikan dalam Tabel 1. Dengan memvariasikan kepolaran dari pelarut pengestrak, maka diharapkan dapat mengisolasi senyawa-senyawa bioaktif yang ada dalam batang combrang berdasarkan tingkat kepolarannya.

Tahap selanjutnya dilakukan uji pendahuluan dengan cara skrining atau penjaringan senyawa-senyawa bioaktif dengan menggunakan pereaksi warna antara lain: menggunakan pereaksi Dragendorff, Vanilin-HCl, FeCl_3 5 %, KMnO_4 1%- HCl 2 M- NH_4OH 1 M, uap amonia dan penambahan H_2O lalu dikocok

Tabel 1. Hasil maserasi batang combrang dengan berbagai pelarut

Berat sampel yang diekstrak (gram)	Pelarut	Berat ekstrak (gram)	Warna ekstrak
50	n-Heksana	2,514	Kuning kecoklatan
	Kloroform	3,301	Hijau
	Etil asetat	2,254	Hijau

Skrining senyawa Bioaktif Ekstrak Batang Combrang dengan Pereaksi Warna

Hasil skrining menggunakan pereaksi Dragendorff 132 terhadap ekstrak batang combrang dengan pelarut n-heksana dan etil asetat menghasilkan endapan oranye, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut mengandung alkaloid dan senyawa nitrogen lain (Cannell, 1988). Sedangkan dalam pelarut etil asetat tidak memberikan hasil positif adanya alkaloid.

Ekstrak n-heksana yang hanya memberikan hasil positif terhadap uji warna dengan pereaksi Vanilin-HCl memberikan warna merah yang menunjukkan adanya senyawa katekin atau proantosianidin. Senyawa katekin dan proantosianidin merupakan salah satu golongan senyawa flavonoid yang

lebih spesifik. Sedangkan ekstrak n-heksana, kloroform dan etil asetat memberikan hasil positif terhadap uji warna menggunakan pereaksi KMnO_4 1%- HCl 2 M- NH_4OH 1 M dan uap ammonia yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Namun dengan menggunakan pereaksi tersebut masih belum spesifik untuk menentukan golongan dari senyawa flavonoid yang ada.

Ekstrak n-heksana, kloroform dan etil asetat dari batang combrang memberikan hasil positif terhadap uji warna dengan FeCl_3 5% yang menunjukkan adanya senyawa fenolat.

Sedangkan uji adanya saponin terhadap ekstrak n-heksana dan etil asetat memberikan hasil positif. Hasil uji skrining disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Uji skrining senyawa bioaktif dari ekstrak batang combrang dengan pereaksi warna

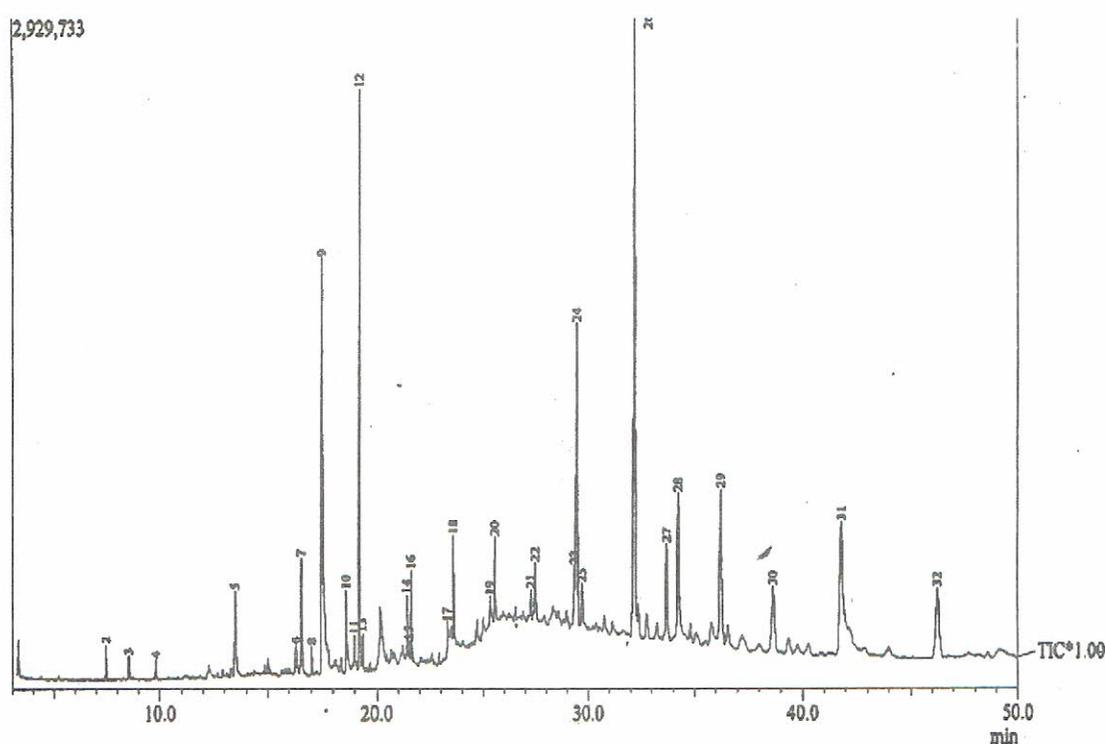
Uji warna	n-Heksana	Kloroform	Etil asetat
Dragendorff 132	Oranye (+)	Oranye (+)	Hijau (-)
Vanilin-HCl	Merah (+)	Hijau (-)	Hijau (-)
FeCl_3 5 %	Hijau kecoklatan (+)	Hijau kecoklatan (+)	Hijau kecoklatan (+)
KMnO_4 1%- HCl 2 M- NH_4OH 1 M	Coklat (+)	Coklat (+)	Coklat (+)
Uap amonia	Kuning kecoklatan (+)	Hijau (+)	Hijau (+)
H_2O dan dikocok	Busa stabil (+)	Busa tak stabil (-)	Busa stabil (+)

Analisis Ekstrak Kloroform Dengan Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa (GC-MS)

Analisis dengan GC-MS bertujuan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang diperoleh dari hasil isolasi ekstrak batang combrang dengan pelarut kloroform. .

Analisis GC-MS terhadap ekstrak kloroform batang combrang

menghasilkan 32 puncak, namun dalam analisis pola fragmentasi dipilih 5 puncak yang memiliki % area terbesar. Adapun hasil kromatogram dari senyawa hasil isolasi batang combrang dengan pelarut kloroform dapat dilihat pada Gambar 2. Adapun waktu retensi dan % area masing-masing puncak dari kromatogram GC-MS disajikan pada Tabel 3.



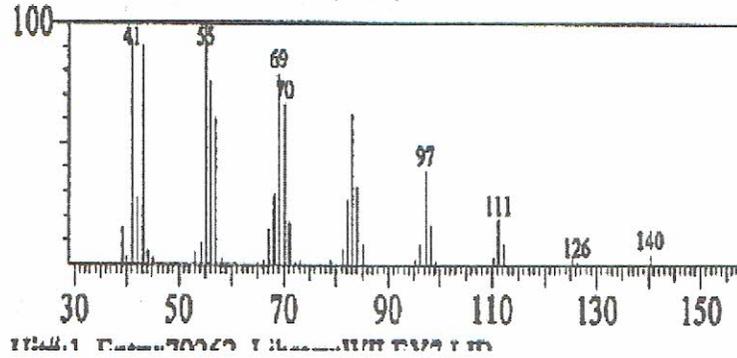
Gambar 2. Kromatogram GC-MS hasil isolasi batang combrang dengan pelarut kloroform

Tabel 3. Data waktu retensi dan % area dari 5 puncak dengan % kelimpahan relatif yang terbesar dari data kromatogram GC-MS

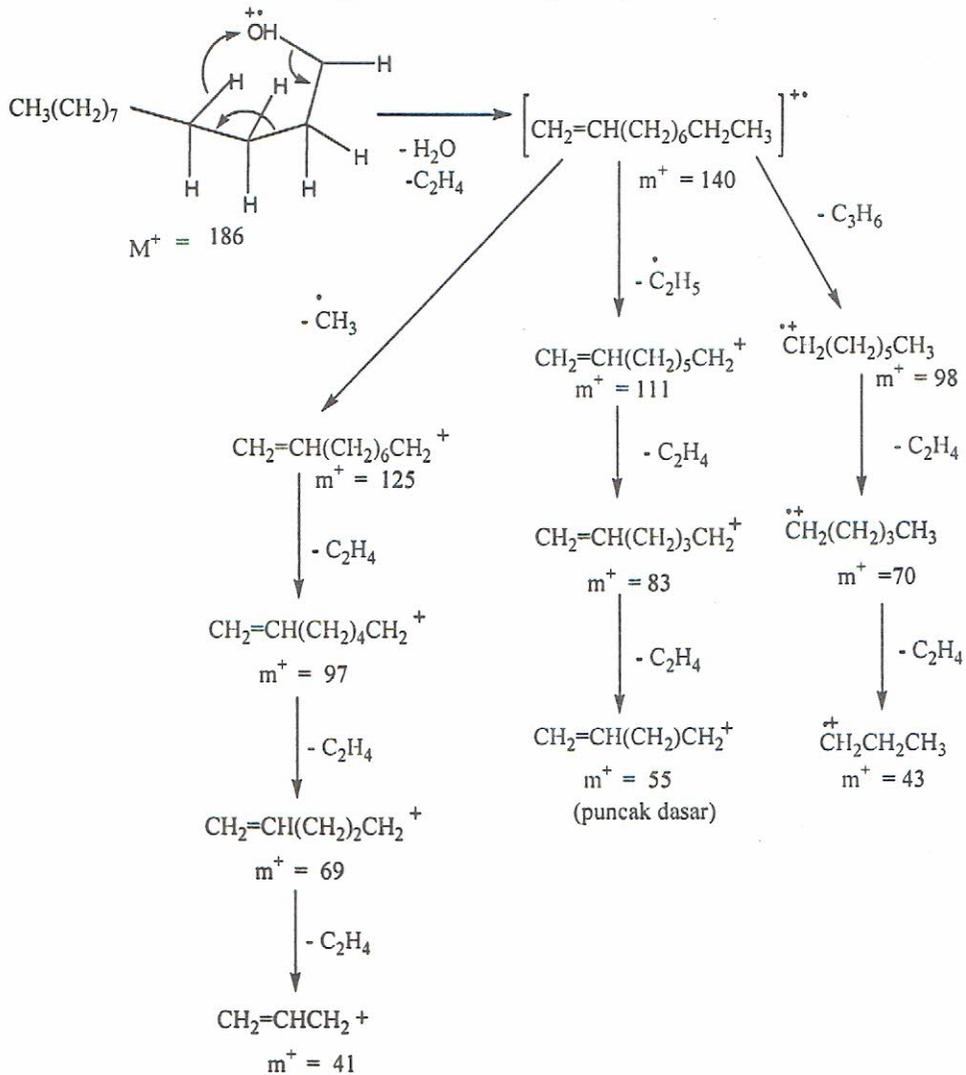
Puncak ke	Waktu retensi (menit)	% area
9	17,479	13,52
12	19,222	9,78
24	29,454	7,87
26	32,173	19,45
31	41,794	6,79

<< Target >>

Line#:9 R.Time:17.475(Scan#:1714) MassPeaks:39
 RawMode:Single 17.475(1714) BasePeak:55.10(188704)
 BG Mode:Peak Start 17.417(1707)



Gambar 3. Spektrum MS senyawa puncak 9



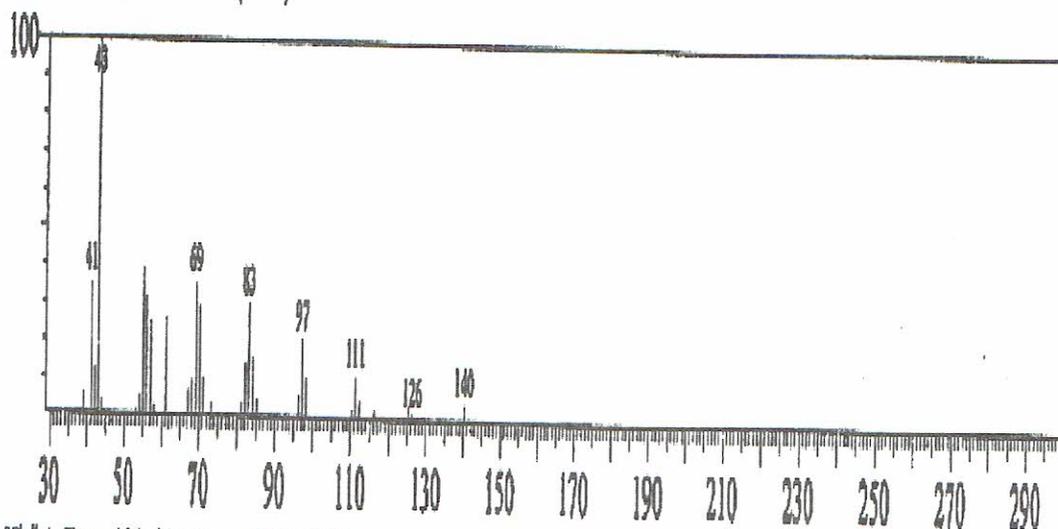
Gambar 4. Pola fragmentasi senyawa puncak 9

<<Target>>

Line#:12 R.Time:19.225(Scan#:1924) MassPeaks:34

RawMode:Single 19.225(1924) BasePeak:43.10(467500)

BG Mode:Peak Start 19.158(1916)



Hit#:1 Entry:131488 Library:WILEY7.LIB

Gambar 5. Spektrum MS senyawa puncak 12

Dari hasil kromatogram pada puncak 9 dengan waktu retensi 17, 479 menit dan dengan persen area 13,52 % yang berdasarkan hasil spektogram massanya diduga senyawa tersebut merupakan puncak dari dodecanol (berdasarkan library). Analisis lebih lanjut dari fragmentasi massanya menghasilkan puncak $m/z = 140$ Sedangkan ion molekuler ($M^+ = 186$) tidak nampak, hal ini dimungkinkan ion tersebut tidak stabil dan ion tersebut langsung melepaskan molekul H_2O dan C_2H_4 . Fragmen tersebut diperoleh

berdasarkan dari Budzkiewicz *et al.*, (1967) karena ada atom H yang berada pada posisi γ . Adapun fragmentasi selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4. Pola fragmentasi dari spectrum massa tersebut juga sesuai dengan spectrum massa dari dodekanol standar. Sedangkan puncak dasar $m/z = 55$ diperoleh dari serangkaian pelepasan molekul etilen (C_2H_4).

Berdasarkan interpretasi dari Gambar 5 bahwa kromatogram dengan puncak 12 mempunyai luas area 9,78 % dan waktu retensi 19,222 menit yang diduga

berdasarkan spektromassanya berupa senyawa desil asetat ($M^+ = 200$), namun puncak ion molekuler tidak nampak. Ion molekuler desil asetat selanjutnya terjadi pelepasan molekul asetat ($M^+ - 60$) sehingga diperoleh $m/z = 140$. Dengan serangkaian pelepasan molekul netral maupun radikal sehingga diperoleh

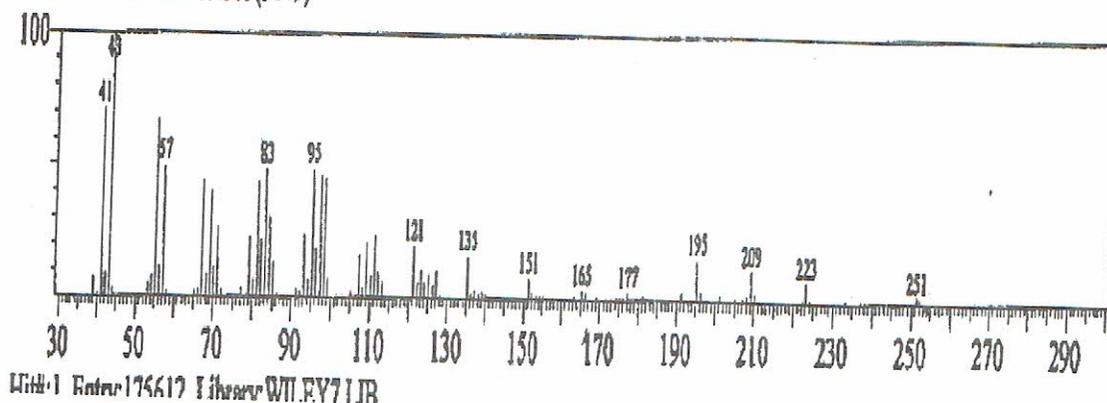
puncak dasar $m/z = 43$. Puncak dasar ini juga dapat diperoleh dari pemutusan homolitik berupa radikal $(\cdot O(CH_2)_9CH_3$. Sedangkan transfer hidrogen pada posisi β sehingga diperoleh $m/z = 61$ yang menghasilkan ion asilum. Adapun hasil fragmentasi lengkapnya dapat dilihat pada Gambar 7.

<< Target >>

Line#:24 R.Time:29.450(Scan#:3151) MassPeaks:92

RawMode:Single 29.450(3151) BasePeak:43.10(98071)

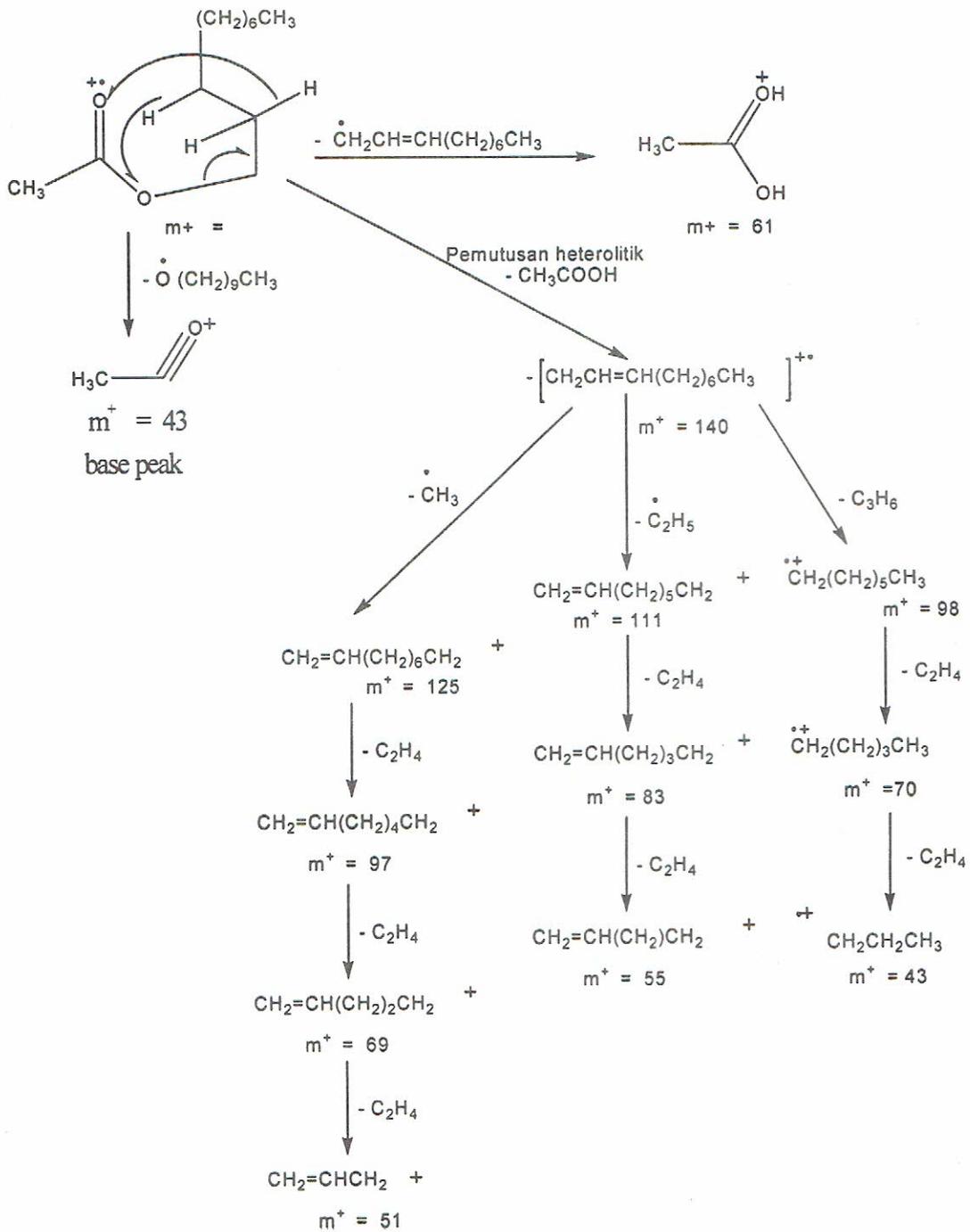
BG Mode:Peak Start 29.383(3143)



Gambar 6. Spektrum MS senyawa puncak 24

Berdasarkan interpretasi dari Gambar 6 bahwa kromatogram dengan puncak 24 mempunyai luas area 7,87 % dan waktu retensi 29,454 menit yang diduga berdasarkan spektromassanya merupakan senyawa 9-heksadecenal yang diperoleh t ($M^+ - 1 = 251$) yang

diperoleh dari pemutusan α dengan pelepasan 1 atom H. Puncak dasar $m/z = 43$ diperoleh dari pelepasan radikal 7-pentadekena, sedangkan $m/z = 41$ diperoleh dari ion $+CH_2CH=CH_2$. Adapun hasil fragmentasi lengkapnya dapat dilihat pada Gambar 9.

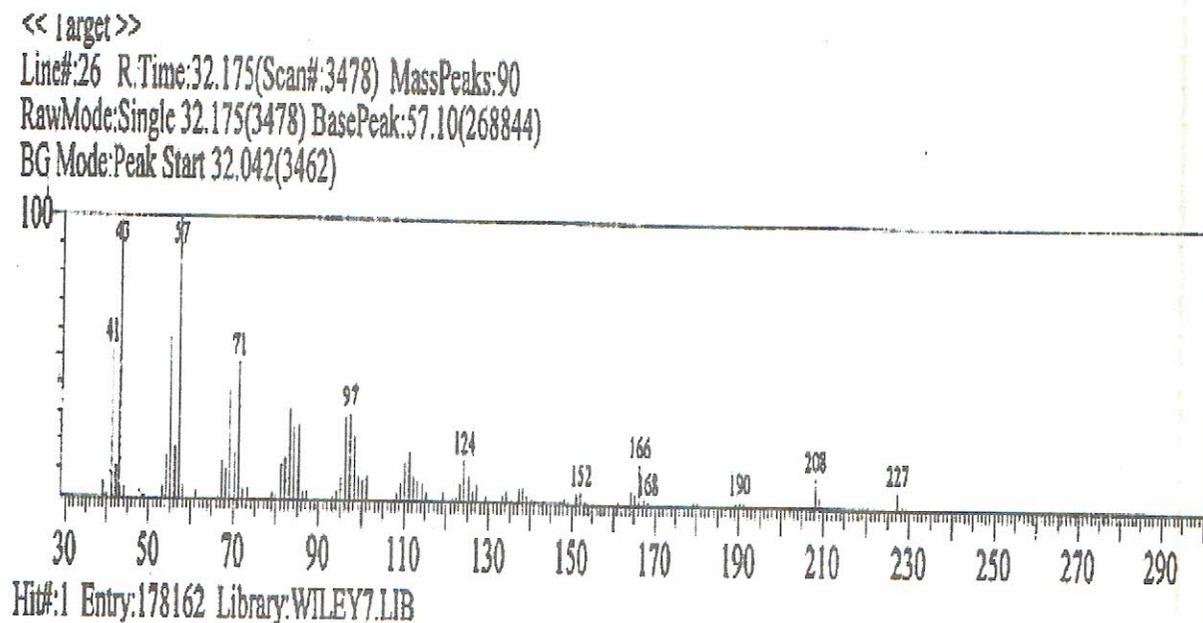


Gambar 7. Pola fragmentasi senyawa puncak 12

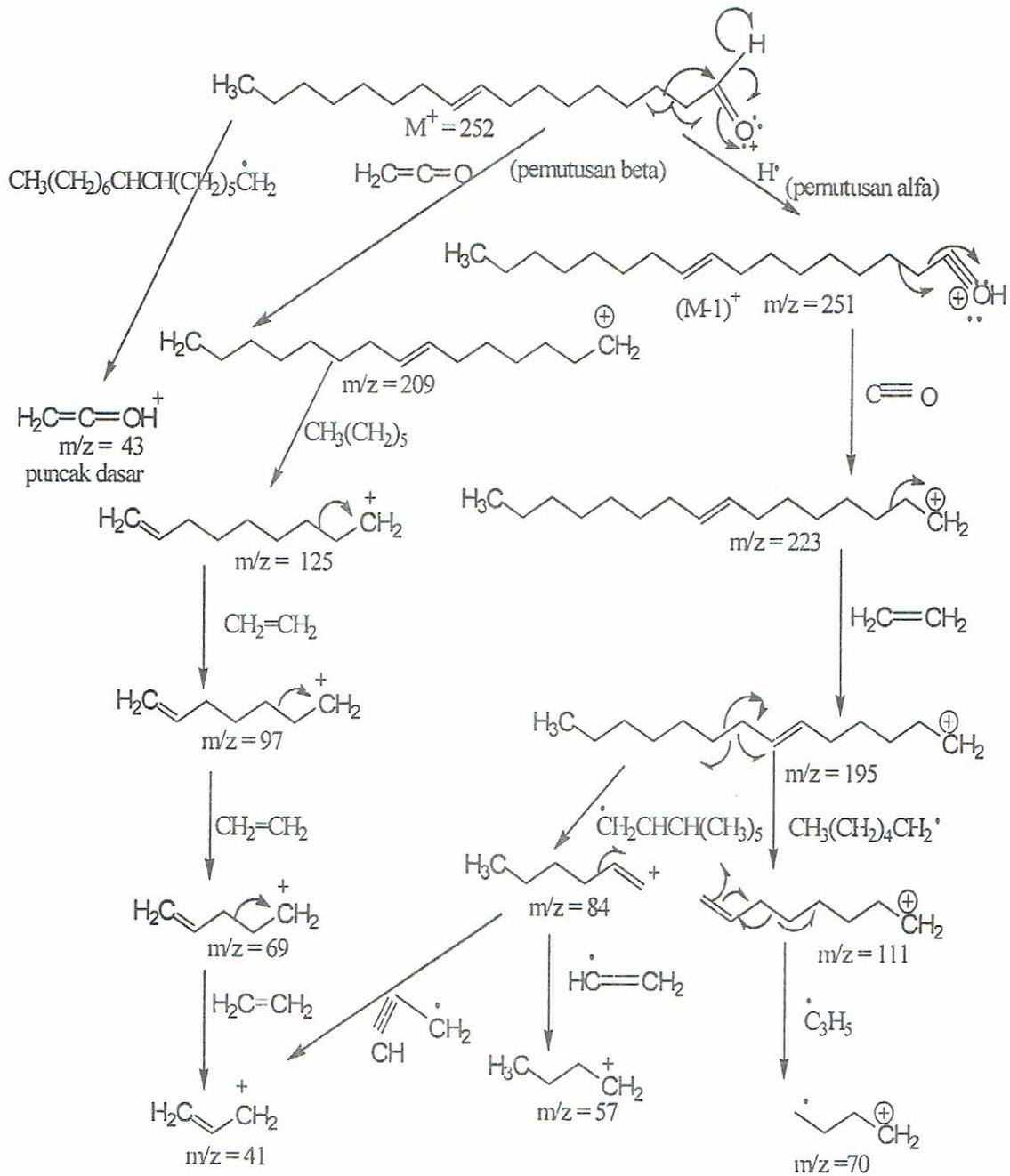
Berdasarkan interpretasi dari Gambar 8 bahwa kromatogram dengan puncak 26 mempunyai luas area 19,45 % dan waktu retensi 32,173 menit yang diduga berdasarkan spektromassanya merupakan senyawa tridesil vinil eter. Berdasarkan dari ion molekuler ($M^+ = 227$).

Senyawa ini dapat mengalami

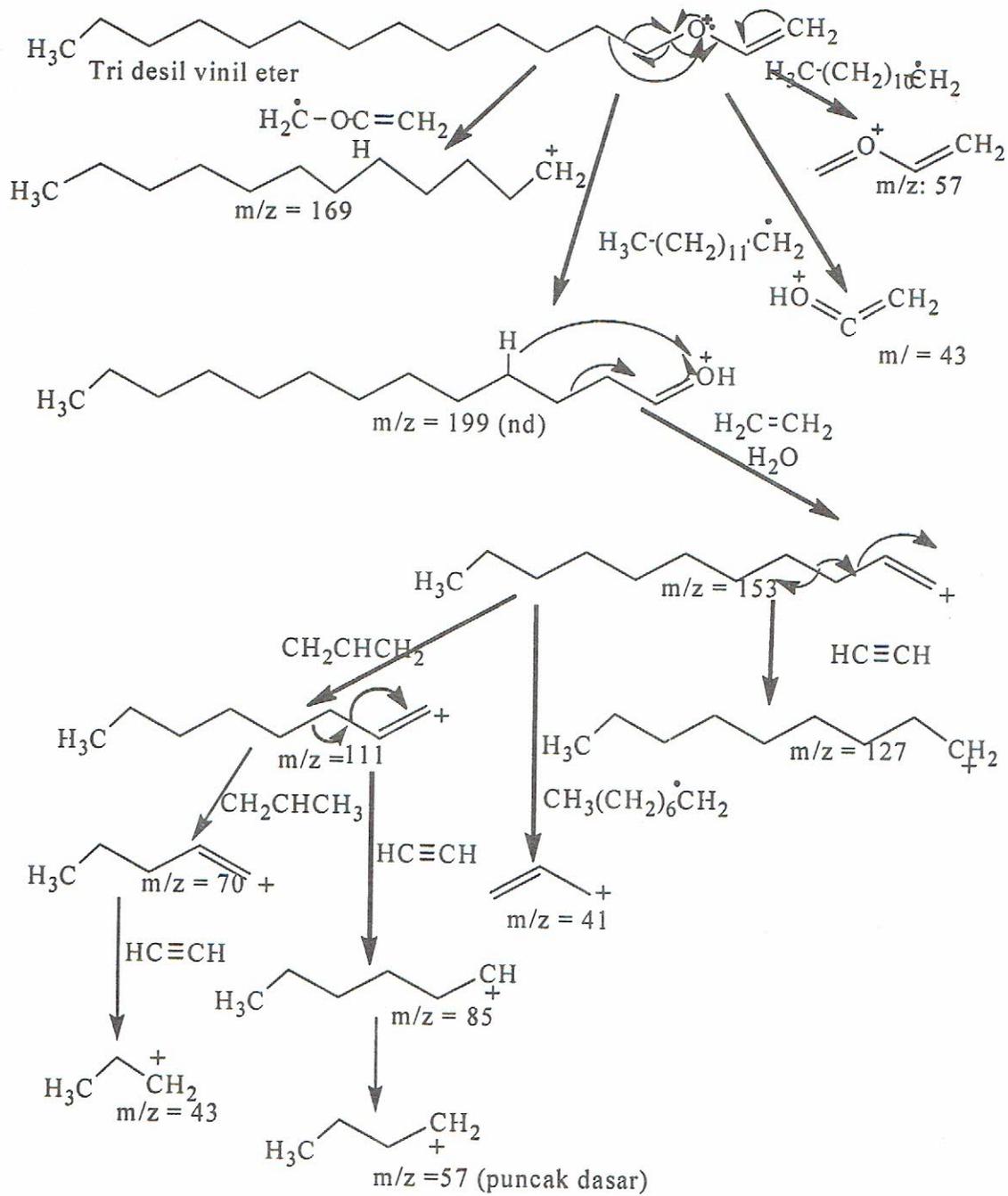
berbagai pemecahan menghasilkan beberapa ion alkil yang cukup stabil yang diantaranya merupakan ion $CH_3CH_2CH_2^+$ ($m/z = 43$), sedangkan $CH_3CH_2CH_2CH_2^+$ merupakan puncak dasar dengan $m/z=57$. Adapun hasil fragmentasi lengkapnya dapat dilihat pada Gambar 10.



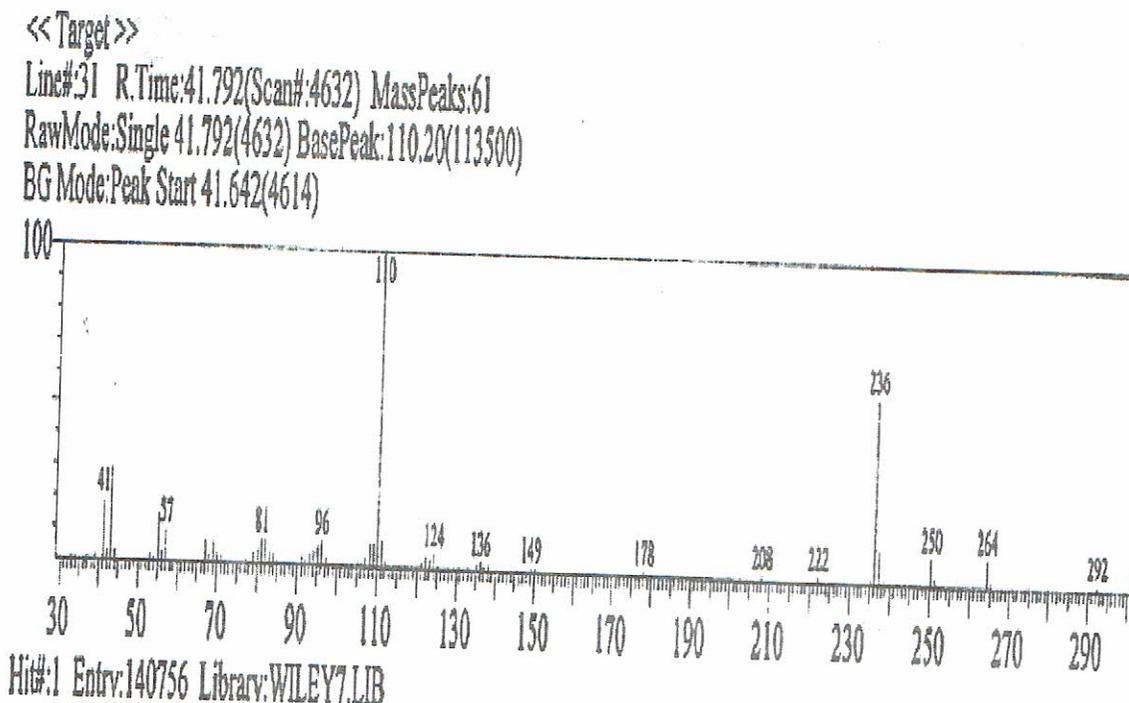
Gambar 8. Spektrum MS senyawa puncak 26



Gambar 9. Pola fragmentasi senyawa puncak 24



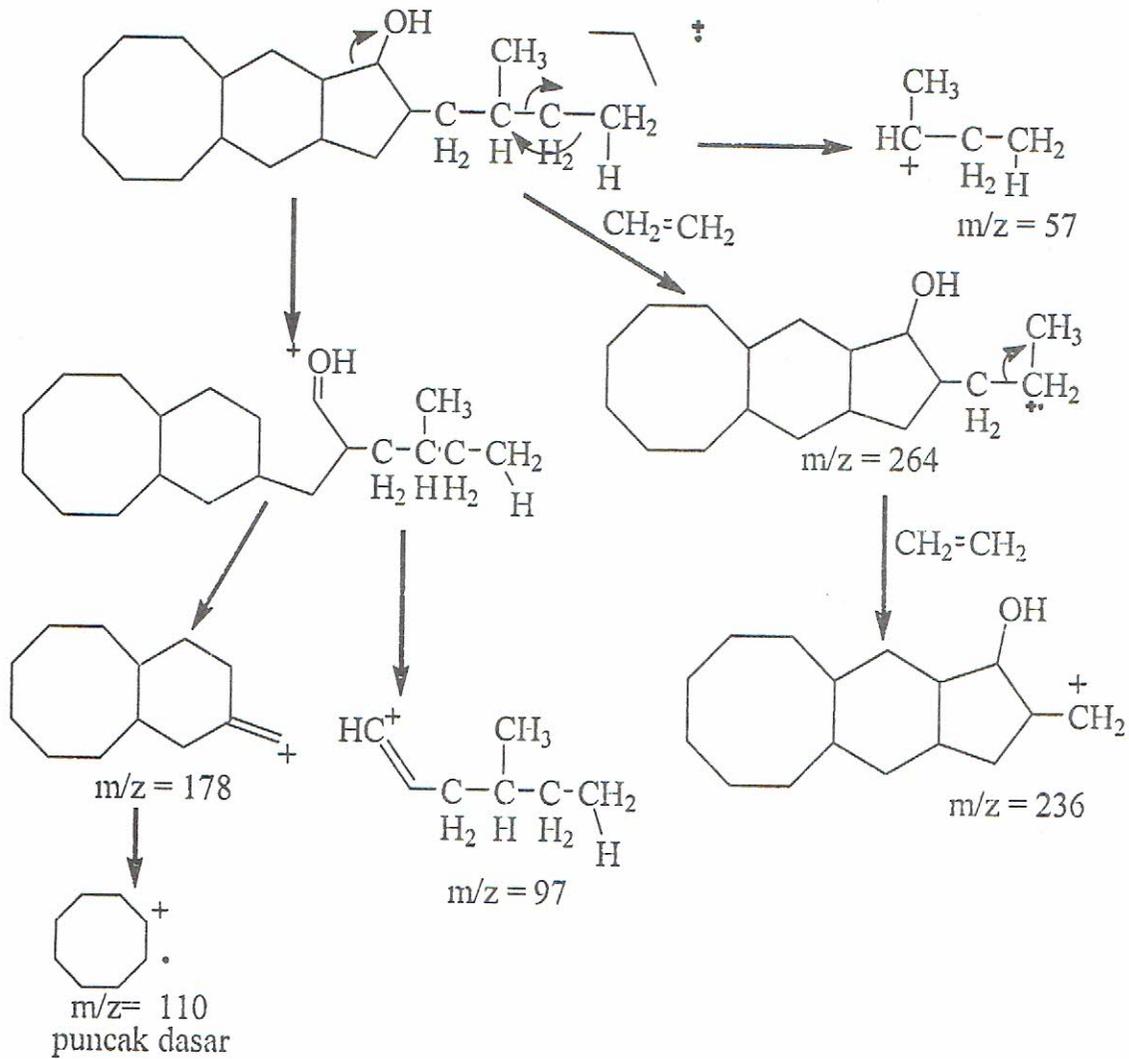
Gambar 10. Pola fragmentasi senyawa puncak 26



Gambar 11. Spektrum MS senyawa puncak 31

Berdasarkan interpretasi dari Gambar 11 bahwa kromatogram dengan puncak 31 mempunyai luas area 6,76 % dan waktu retensi 41,794 menit yang diduga berdasarkan spektromassanya merupakan senyawa 14-(2'-metil butil) bisiklo (10,3,0) pentadeka-13-ol. Berdasarkan dari ion molekuler ($M^+ = 292$). Senyawa ini dapat mengalami

berbagai pemecahan menghasilkan beberapa ion alkil yang cukup stabil yang diantaranya merupakan puncak dasar dengan $m/z = 110$ dari radikal positif siklooktana, sedangkan $CH_3CH_2CH^+CH_3$ merupakan puncak dengan $m/z = 57$. Adapun hasil fragmentasi lengkapnya dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Pola fragmentasi senyawa puncak 31

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Skrining senyawa bioaktif dari ekstrak batang combrang dalam pelarut n-heksana menggunakan pereaksi warna mengindikasikan positif adanya senyawa yang mengandung nitrogen, senyawa fenolat, flavonoid khususnya katekin atau antosianidin dan saponin.
2. Skrining bioaktif dari ekstrak batang combrang dengan pelarut kloroform pereaksi warna mengindikasikan positif adanya alkaloid, flavonoid dan senyawa fenolat.
3. Skrining senyawa bioaktif dari ekstrak batang combrang dalam pelarut etil asetat menggunakan pereaksi warna mengindikasikan positif adanya senyawa fenolat, senyawa flavonoid, dan saponin.
4. Identifikasi senyawa ekstrak kloroform batang combrang menggunakan GC-MS yang diperoleh 32 puncak. Namur hanya 5 puncak dengan luas areanya terbesar diantaranya puncak 9 diduga merupakan senyawa dodekanol, puncak 12 diduga merupakan senyawa desil asetat, puncak 24 diduga merupakan senyawa 9-dekenal, puncak 26 diduga

merupakan senyawa tri desil vinil eter dan puncak 31 diduga merupakan puncak 14-(2'-metil butil) bisiklo (10,3,0) pentadeca-13-ol.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memisahkan senyawa bioaktif yang ada dalam masing-masing pelarut, agar bisa diidentifikasi lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Budzkiewicz, H., C, Djerassi, & D.H, William. 1967. *Mass Spectrometry of Organik Compound*. Holden-Day Inc. San Diego
- Cannell, R.J.R. 1998. *Natural Product Isolation*. Human Press New Jersey.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Mengnalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua*. ITB Bandung
- Heyne, K. 1987. *Tumbuh-Tumbuhan Berguna di Indonesia*. Terjemahan. Yayasan Sarana Warna, Jakarta : 565-567
- Markham, K.R. 1988, *Cara Mengidentifika si Flavonoid*. Penerbit ITB. Bandung
- Tampubolon, O.T. 1983. Penelitian Pendahuluan Kandungan Kimia *N. speciosa* Horan . *Risalah Tumbuh an Obat III*. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta : 450 - 459.

Widiyartini,D.S., E. Sudiana, W.
Herawati. 1996. *Analisis
Filogeni Marga N. speciosa
Horan Horan Yang Berpotensi*

*Sebagai Penghasil Bahan
Rempah Di Daerah Purwokerto.*
Fakultas Biologi UNSOED,
Purwokerto.