

Isolasi Dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi *n*-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz)

Maria Dewi Astuti^{1*}, Evi Mintowati Kuntorini², Farah Eka Putri Wisuda³

¹Program Studi Kimia, ²Program Studi Biologi, ³Program Studi Farmasi
FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

Jl. A. Yani Km 36 Kampus UNLAM Banjarbaru Kalimantan Selatan

*Email: astuti_md17@yahoo.co.id

Abstrak

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang diisolasi dari fraksi *n*-butanol ekstrak metanol herba lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz). Ekstrak metanol diperoleh secara maserasi dan difraksinasi berturut-turut dengan petroleum eter, etil asetat, dan *n*-butanol. Fraksi *n*-butanol difraksinasi dengan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel dihasilkan fraksi A, B, C, dan D. Fraksi B dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif pada silika gel dihasilkan isolat B₁. Isolat B₁ berupa padatan tidak berwarna dan berfluoresensi putih di bawah lampu UV 366 nm. Panjang gelombang maksimum pada spektra UV isolat B₁ adalah 225 nm dan 272.5 nm yang menunjukkan adanya ikatan rangkap tak terkonjugasi. Spektra IR isolat B₁ menunjukkan adanya gugus C=C, -OH, C=O laktone, -CO, C-H ulur, dan C-H tekuk. Spektra ¹H-NMR isolat B₁ menunjukkan sinyal proton pada ikatan rangkap, proton -OH, proton pada -CH₂ yang terikat atom oksigen, serta proton gugus metil -CH₃. Berdasarkan data spektra UV, IR, dan ¹H-NMR maka isolat B₁ disarankan sebagai turunan senyawa triterpenoid hopan-laktone.

Kata kunci : *diplazium esculentum* Swartz, fraksi *n*-butanol, triterpenoid hopan-laktone

Abstract

The research aims to identify chemical compounds isolated from *n*-butanol fraction methanol extract of lampasau herbs (*Diplazium esculentum* Swartz). The methanol extract was obtained by maceration and fractionated by petroleum ether, ethyl acetate, and *n*-butanol. *n*-butanol fraction was fractionated using column chromatography on silica gel produced fractions A, B, C, and D. Fraction B was purified by preparative thin layer chromatography on silica gel produced isolate B₁. Isolate B₁ was colorless solid and has white fluorescent under UV lamp 366 nm. The maximum wavelength on UV spectra of B₁ are 225 nm and 272.5 nm indicates the unconjugated double bond. IR spectra of B₁ showed the vibration of C=C, -OH, C=O lactone, -CO, C-H stretching and C-H bending. Signals of ¹H-NMR spectra of B₁ showed the proton of double bond, -OH proton, -CH₂ proton bounded on oxygen atom, and -CH₃ methyl proton. Based on data of spectra UV, IR, and ¹H-NMR, isolate B₁ suggested as a hopan triterpen derivative.

Keywords : *diplazium esculentum* Swartz, *n*-butanol fraction, hopan-lactone triterpene

1. PENDAHULUAN

Diplazium esculentum Swartz atau disebut lampasau oleh masyarakat Kalimantan Tengah merupakan kelompok tumbuhan paku (Pteridophyta) yang termasuk dalam famili Polypodiaceae. Secara empiris herba lampasau sudah digunakan masyarakat setempat sebagai obat pereda nyeri. Kaushik *et al.* (2011)

menyebutkan bahwa kandungan kimia yang terkandung dalam *Diplazium esculentum* Swartz meliputi steroid, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid.

Irianti (2011) melaporkan bahwa fraksi *n*-butanol ekstrak metanol herba lampasau memiliki aktivitas analgetik terbesar pada dosis 500 mg/kg BB. Fraksi *n*-butanol merupakan fraksi yang mengandung senyawa-senyawa

seperti flavonoid (Asih and Setiawan 2008), alkaloid, tanin (Dewi 2009), terpenoida (Damayanti 1986), dan saponin (Puspita 1988). Oleh sebab itu, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk melakukan identifikasi senyawa kimia yang diisolasi dari fraksi *n*-butanol ekstrak metanol herba lampasau (*D. esculentum* Swartz) asal Kapuas Kalimantan Tengah.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap spesies lain dari genus ini yaitu *Diplazium subsinuatum* dilaporkan bahwa telah diisolasi dan dikarakterisasi triterpenoid hopan lakton (17.24-dihidroksihopan (28.22-olida) dan senyawa glikosida (17-hidroksihopan-28,22-olida) (Tanaka *et al.* 1986). Inatomi *et al.* (2000) melaporkan bahwa terdapat glikosida triterpenoid hopan-lakton (Diplaziosida V-VII) dan 6''-O-asetat dari diplaziosida VII dari *D. subsinuatum*.

Berdasarkan teori kekerabatan tumbuhan (Venkataraman 1976) mengemukakan bahwa spesies tumbuhan dalam genus yang sama dari suatu famili tertentu akan mengandung senyawa-senyawa kimia yang sama atau kerangka struktur yang sama, hanya saja intensitasnya bisa berbeda tergantung tantangan alam yang dihadapi oleh spesies tersebut.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat maserasi (maserator), ayakan, *blender*, botol vial, *chamber*, corong kaca, corong pisah, *cutter*, destilator, gelas beker, gelas ukur, kolom kromatografi diameter 4.5 cm dan tinggi 50 cm, lampu UV 254 nm dan 366 nm, oven (Finco Inc), penjepit klem, pipet ukur, plat kaca untuk kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), propipet, *rotary evaporator* (Buchi), spatula, spektrofotometer ¹H-NMR (JEOL type JNM-ECA 500) spektrofotometer IR (Shimadzu prestige 21), spektrofotometer UV-Visible (Hitachi u-2100), sudip, sentrifuge, statif, tabung sentrifuge, timbangan analitik, dan *waterbath* (Memmert).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah herba lampasau, air suling, aluminium foil, aseton p.a., etil asetat teknis yang telah didistilasi, *n*-butanol p.a., *n*-heksana yang telah didistilasi, kapas, kertas

saring, kloroform p.a., metanol yang telah didistilasi, metanol p.a., petroleum eter yang telah didistilasi, plat KLT (Macherey Nagel D-5160 Duren), silika gel 60 *for coloum* (70-230 mesh), silika gel 60 GF₂₅₄, dan tisu gulung.

Pembuatan Serbuk Herba Lampasau

Sampel berupa herba lampasau dicuci hingga bersih dan dirajang. Setelah dirajang, sampel dikeringanginkan dan dihaluskan sehingga didapatkan serbuk herba lampasau.

Isolasi

Serbuk kering herba lampasau dimaserasi dengan pelarut metanol selama 4 x 24 jam sambil sesekali diaduk sebanyak 3 kali sehari. Setiap 24 jam campuran disaring kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dikentalkan di atas *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak metanol. Selanjutnya ekstrak metanol disuspensikan dengan air suling dan difraksinasi berturut-turut dengan dengan pelarut petroleum eter, etil asetat dan *n*-butanol. Lapisan *n*-butanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* kemudian dikentalkan di atas *waterbath* hingga mengental sehingga diperoleh fraksi *n*-butanol. Kemudian fraksi *n*-butanol dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi dengan fase diam Silika gel 60 menggunakan eluen *n*-heksana: etil asetat dengan perbandingan 1:2; 1:3; 1:4; 1:6; dan terakhir menggunakan etil asetat. Hasil dari isolasi dengan kromatografi kolom tersebut ditampung dalam vial berkapasitas 15 mL kemudian dipantau dengan KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (1:6). Hasil isolasi dengan pola/nilai R_f yang sama digabungkan sehingga diperoleh 4 fraksi, yaitu fraksi A-D. Kemudian Fraksi B dipisahkan lebih lanjut dengan KLT preparatif silika gel GF254 menggunakan eluen etil asetat menghasilkan 3 fraksi yaitu B₁, B₂, dan B₃. Fraksi B₁ dilakukan uji kemurnian dengan 3 macam eluen (*n*-heksana : kloroform (6:4), *n*-heksana : etil asetat (15:1), dan *n*-heksana : aseton (9:1)) dan dengan KLT dua dimensi (*n*-heksana : kloroform (7:3) dan etil asetat). Semua kromatogram KLT menunjukkan noda tunggal dan berfluoresensi dibawah lampu UV 366 nm.

Identifikasi Isolat B1 dengan UV-Vis, IR dan ¹H-NMR

Isolat B₁ yang telah dinyatakan murni kemudian diidentifikasi dengan UV-Vis, IR, dan ¹H-NMR.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif isolat B₁ dengan pereaksi Liebermann-Buchard menunjukkan warna merah. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat B₁ merupakan senyawa triterpenoid.

Spektra UV isolat B₁ menunjukkan serapan panjang gelombang maksimum pada 225 nm dan 272.5 nm. Penelitian Zetra & Prasetya (2007) terhadap *Beilschmiedia roxburghiana* (Lauraceae) menunjukkan dua serapan maksimum pada panjang gelombang 229 nm dan 272.5 nm. Panjang gelombang tersebut menunjukkan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang merupakan serapan spektra UV khas untuk senyawa triterpenoid yang memiliki kromofor berupa ikatan rangkap yang tak terkonjugasi.

Adanya ikatan rangkap pada isolat B₁ diperkuat oleh adanya vibrasi C=C pada bilangan gelombang 1606.70 cm⁻¹. Selain itu didukung pula oleh adanya sinyal pada pergeseran kimia ^1H (ppm) 7.76 (1H, dd, $J=9.1$) dan 7.67 (1H, dd, $J=9.1$) menunjukkan adanya dua proton atau gugus -CH yang terdapat pada ikatan rangkap di cincin sikloheksana triterpenoid, diduga ikatan rangkap berada pada cincin C kerangka triterpenoid.

Munculnya serapan pada bilangan gelombang 2953.02 cm⁻¹; 2924.09 cm⁻¹; dan 2856.58 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H yang mengindikasikan adanya gugus metil (CH₃) dan metilena (CH₂) yang diperkuat dengan adanya vibrasi C-H tekuk pada bilangan gelombang 1460.11 cm⁻¹ dan 1377.17 cm⁻¹. Serapan tersebut mengindikasikan adanya gugus *gem dimetil* sebagai ciri khas dari senyawa triterpenoid. Adanya sinyal pada pergeseran kimia pada ^1H (ppm) 0.89 (3H, s); 1.19 (3H, s); 1.30 (3H, s); dan 2.09 (3H, s) mencirikan masing-masing adanya gugus metil (-CH₃) dan pergeseran kimia pada ^1H (ppm) 1.9 (6H, s) menunjukkan dua buah gugus -CH₃ *gem dimetil*.

Pada spektra inframerah juga menunjukkan adanya serapan yang melebar pada bilangan gelombang 3373.50 cm⁻¹ yang khas untuk gugus -OH dan diperkuat dengan

adanya vibrasi C-O pada bilangan gelombang 1074.35 cm⁻¹. Adanya -OH pada isolat didukung oleh pergeseran kimia yang muncul pada ^1H (ppm) 2.14 (1H, s) menunjukkan adanya gugus -OH. Selain itu terdapat pergeseran kimia yang muncul pada ^1H (ppm) 4.24 (2H, dtd, $J=34.35$) menunjukkan adanya gugus -CH₂ yang terikat pada atom oksigen. Ini didukung oleh pergeseran kimia ^1H (ppm) 3.99 (1H, dd, $J=8.45$) yang menunjukkan adanya gugus -OH. Dari data tersebut dapat dipasangkan menjadi unit struktur -CH₂-OH yang terikat pada kerangka triterpenoid.

Terdapat pula vibrasi gugus C=O lakton pada bilangan gelombang 1730.15 cm⁻¹, seperti yang dilaporkan Inatomi *et al.* (2000) terdapat karbonil lakton pada bilangan gelombang 1732 cm⁻¹ pada senyawa glikosida hopanlakton triterpenoid dari *Diplazium subsinuatum*. Adanya vibrasi karbonil lakton pada isolat B₁ mengindikasikan bahwa isolat B₁ diduga juga merupakan senyawa triterpenoid dengan kerangka dasar hopan lakton atau glikosida.

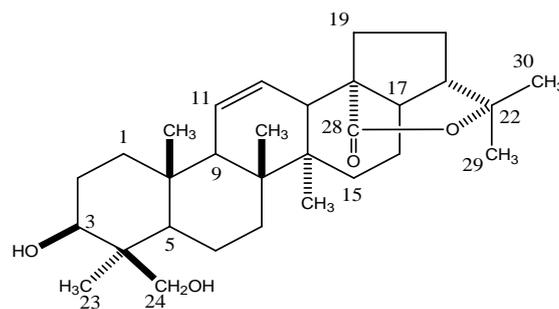
Berdasarkan data spektra UV, IR dan ¹H-NMR maka diduga isolat B₁ merupakan triterpenoid kerangka hopan-lakton seperti yang lazim ditemukan pada genus *Diplazium* (Inatomi *et al.* 2000; Tanaka *et al.* 1982). Perbandingan data ¹H-NMR isolat B₁ dengan senyawa Diplaziosida V yang memiliki kerangka glikosida triterpenoid hopan lakton (Inatomi *et al.* 2000) (Tabel 1).

Tabel 1 memperlihatkan bahwa isolat B₁ memiliki beberapa gugus metil (3H,s) dan 2 gugus metil (6H,s) yang berada pada posisi gem dimetil yang lazim ditemukan pada senyawa triterpenoid. Adanya sinyal pada ^1H (ppm) 7.76 (1H, dd, $J=9.1$) dan 7.67 (1H, dd, $J=9.1$) menunjukkan bahwa terdapat ikatan rangkap pada kerangka triterpenoid hopan lakton, diduga pada posisi C11. Adanya ikatan rangkap ini membedakan isolat B₁ dengan senyawa pembanding/triterpenoid hopan lakton lainnya. Tidak ditemukannya sinyal-sinyal yang khas untuk proton-proton yang terdapat pada unit gula pada pergeseran kimia proton 4-5 pada spektra ¹H-NMR memastikan bahwa isolat B₁ bukan merupakan senyawa glikosida triterpenoid.

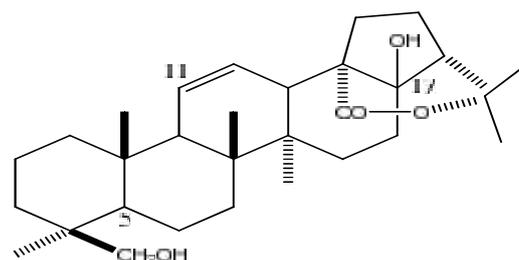
Tabel 1. Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ isolat B_1 dengan diplaziosida V

Posisi proton (H)	H(ppm) senyawa pembeding (Inatomi <i>et al.</i> 2000)	H(ppm) isolat B_1
3	3,46 (1H, dd, 11,7;4,2)	2,14 (1H, s)
11	1,45 1,13	7,76 (1H, dd, $J=9,1$)
12	2,75 (1H, dddd, 13,2,13,2, 13,2, 4,2) 1,74 (1H, br d)	7,67 (1H, dd, $J=9,1$)
23	1,36 (3H, s)	2,09 (3H, s)
24	4,32 (1H, d, 10,8) 3,38 (1H, d, 11,4)	4,24 (2H, dtd, $J=34,35$)
24-OH	4,36 (1H, d, 11,4)	3,99 (1H, dd, $J=8,45$)
25	0,66 (3H, s)	0,89 (3H, s)
26	0,92 (3H,s)	1,19 (3H, s)
27	1,10 (3H,s)	1,30 (3H, s)
29	1,39 (3H,s)	1,29 (6H, s)
30	1,19 (3H,s)	1,29 (6H,s)
3-O-Glc	4,89 (1H,d,7,8)	-
1'	4,09 (1H,dd,7,8;9,0)	-
2'	4,29 (1H,dd,9,0;9,0)	-
3'	4,17 (1H,dd,9,0;9,0)	-
4'	3,94	-
5'	(1H,ddd,9,0;5,4;2,4) 4,59	-
6	(1H,dd,11,7;2,4)	-
2'-O-Glc1''	5,54 (1H,d,7,8)	-
2''	4,10 (1H,dd,7,8;9,0)	-
3''	4,20 (1H,dd,9,0;9,0)	-
4''	4,38 (1H,dd,9,0;9,0)	-
5''	3,74 (1H,ddd,9,0;2,4;2,4)	-
6''	4,34	-

Berdasarkan data $^1\text{H-NMR}$ dan struktur senyawa-senyawa yang telah diisolasi dari tumbuhan *Diplazium* maka ada beberapa kemungkinan struktur isolat B_1 . Kemungkinannya adalah isolat B_1 memiliki kerangka seperti Diplaziosida V (Inatomi *et al.* 2000), tetapi tidak mengikat gugus gula pada C3 melainkan OH, dan terdapat $-\text{CH}_2\text{OH}$ pada posisi C4, dan terdapat ikatan rangkap pada cincin C (posisi C11) (1). Kemungkinan lainnya isolat B_1 memiliki OH yang terikat pada C17, terdapat $-\text{CH}_2\text{OH}$ pada C4 seperti senyawa yang dilaporkan Tanaka *et al.* (1982), tetapi mengandung ikatan rangkap pada C11 (2).



(1)



(2)

Gambar 1. Struktur isolat B_1

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis spektra UV, IR, dan $^1\text{H-NMR}$ dan literatur diduga isolat B_1 merupakan senyawaturunan triterpenoid hopan-lakton.

Daftar Pustaka

- Asih, I.A.R.A., I.M.A. Setiawan, 2008, Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak n-Butanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.). Jurnal Kimia., 2 (2): 111-116.
- Damayanti, R., 1986, Penelitian Pendahuluan Senyawa Saponin dalam Kulit Buah Lengkek, Penelitian Tanaman Obat Di Beberapa Perguruan Tinggi Di Indonesia, Jakarta.
- Dewi, R.C., 2009, Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.), <http://digilib.uns.ac.id/abstrak.pdf.php?id=10455>.
- Kaushik, A., J.J. Kaushik, A. Das, S. Gemal, & D. Gaim, 2011, Preliminary Studies on Anti-Inflammatory Activities of *Diplazium Esculentum* in Experimental Animal Models. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research., 2(5): 1251-1253.

- Inatomi, Y., A. Inada, H. Murata, M. Nishi, & Ts. Nakanishi, 2000, Constituents of a Fern, *Diplazium subsinuatum*. III. Four New Hopane-Triterpene Lactone Glycosides. *Chem. Pharm. Bull.*, 48(12): 1930-1934.
- Irianti, M.W., 2011, Aktivitas Analgetik Fraksi n-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum Swartz*) pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Diinduksi Asam Asetat, Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru. (tidak dipublikasikan).
- Puspita, H. 1988. Penjajagan Awal Senyawa Saponin dalam Kulit Buah Jengkol (*Pithecellobium lobatum Benth.*). Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia Buku IV.
http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/pt/buku04.pdf
- Tanaka, N., Yamauchi K, Murakami T, Saiki Y, Chen C.M. 1982. *Chem. Pharm. Bull.* 30: 3632-3639
- Venkataraman, K. 1976. Recent Work On Some Natural Phenolic Pigments. *Phytochemistry* 1571-1586
- Zetra, Y. & P. Prasetya. 2007. Isolasi Senyawa - Amirin dari Tumbuhan *Beilschmiedia roxburghiana* (Medang) dan Uji Bioaktivitasnya. *Akta Kimindo.* 3(1): 27-32.