

**SENYAWA FLAVONOID DARI EKSTRAK METANOL BATANG  
*Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn dan UJI AKTIVITAS  
PENDAHULUAN ANTIOKSIDAN**

**FLAVONOID COMPOUND from METANOL EXTRACT Of *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn FERN'S STEM and PRELIMINARY TEST AS ANTI-OXIDANT**

**Emmy Rinda Intan Pradita dan Suyatno\***

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya  
Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

\*email: suyatno\_kimunesa@yahoo.com

**Abstrak.** Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui struktur senyawa flavonoid dari ekstrak metanol bagian batang tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn dan aktivitasnya sebagai antioksidan. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, pemisahan dengan teknik kromatografi, dan penentuan struktur molekul dengan metode spektroskopi. Uji aktivitas pendahuluan antioksidan isolat flavonoid dilakukan dengan menggunakan 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat flavonoid yang diperoleh adalah 2'-hidroksi-4'-metoksi-dihidroalkon-6'-O- $\alpha$ -L-arabinopiranosil (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida. Isolat tersebut positif pada uji pendahuluan antioksidan menggunakan DPPH.

**Kata kunci:** *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn, flavonoid, aktivitas antioksidan, 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil (DPPH)

**Abstract.** The aim of research is to know the structure of flavonoid compound from methanole extract of *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn steam and antioxidant activity's. Extraction was carried out by maceration, separation by chromatography techniques, and determination of molecular structure by spectroscopic method. Antioxidant activity of isolat carried out with 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil (DPPH). The results of research showed that flavonoid isolat obtained was identified as 2'-hidroksi-4'-metoksi-dihidroalkon-6'-O- $\alpha$ -L-arabinopiranosil (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida. It showed positive in antioxidant activity carried out DPPH.

**Key words:** *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn, flavonoid, antioxidant activity, 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil (DPPH)

## PENDAHULUAN

Gaya hidup yang tidak sehat menimbulkan efek samping yang buruk terhadap kesehatan, misalnya munculnya penyakit degeneratif. Salah satu penyebab terbesar timbulnya penyakit degeneratif adalah adanya radikal bebas [1]. Radikal

bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron-elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya [2]. Untuk mencegah akibat peristiwa radikal bebas maka dibutuhkan suatu zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi

radikal bebas, yang dikenal dengan antioksidan [1].

Beberapa tahun terakhir terjadi peningkatan minat untuk mendapatkan antioksidan alami karena adanya kekhawatiran akan timbulnya efek samping terhadap antioksidan sintetik [3]. Senyawa-senyawa yang umumnya terdapat dalam antioksidan alami adalah fenol, polifenol dan yang paling umum adalah flavonoid (flavonol, isoflavon, flavon, katekin, flavanon), turunan asam sinamat, tokoferol serta asam organik polifungsi.

Pteridophyta (tumbuhan paku) merupakan salah satu divisi tumbuhan yang tumbuh di kawasan Indonesia dan menjadi salah satu kekayaan alam hayati Indonesia yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Tumbuhan paku yang banyak ditemukan di Indonesia salah satunya adalah dari genus *Nephrolepis*. Tumbuhan paku dengan genus *Nephrolepis* mempunyai manfaat sebagai bahan pembuatan obat cacung, dapat mengobati kanker perut, dan sebagai sayur-sayuran. Kandungan kimia dari tumbuhan paku genus *Nephrolepis* antara lain mengandung saponin, kardenolin, flavonoid, dan tanin [4]. Namun manfaat dan kandungan kimia tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn belum banyak dilaporkan. Sebelumnya telah dilakukan penelitian yang menemukan senyawa flavonoid ekstrak *n*-heksan jenis 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (pinostrobin) [5]. Mengingat masih kurangnya informasi tentang kandungan kimia dan bioaktivitasnya dari tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* maka kami akan melaporkan uji pendahuluan aktivitas antioksidan hasil isolasi senyawa flavonoid dari tumbuhan paku *Nephrolepis radican* (Burm.) Kuhn.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Seperangkat alat gelas (gelas kimia, gelas ukur, gelas vial kecil, gelas vial besar, Erlenmeyer, dan corong kaca), bejana maserasi, seperangkat alat penyaring Buchner, *rotary vacuum evaporator* (Heidolph laborata 4001), timbangan

digital, seperangkat alat kromatografi cair vakum, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat kromatografi kolom tekan, seperangkat alat kromatografi lapis tipis preparatif, pelat tetes, pipa kapiler, Fisher John *melting point apparatus*, penyemprot, lampu UV 254 dan 365 nm (Desaga Heidelberg), spektrofotometer UV (Shimadzu Pharma Spec-1700), spektrofotometer IR (Buck 500 Scientific), spektrometer massa (Mariner Biospectrometry), kromatografi cair (LC) (Hitachi L 6200).

### Bahan

Bahan yang digunakan meliputi bahan tanaman yang berupa batang tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn yang dikumpulkan dari desa Karangtalun, kecamatan Kalidawir, kabupaten Tulungagung, Jawa Timur. Sementara itu bahan kimia yang digunakan berupa metanol p.a. dan teknis, kloroform p.a., aseton p.a., pelat KLT silika gel 60 Merck F-254, kieselgel 60 F-254, silika gel G 60 Merck (0,063-0,200 mm), HCl pekat p.a., H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat p.a, larutan FeCl<sub>3</sub> 5%, pita Mg, NaOH, aluminium klorida, natrium asetat, asam borat, dan 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil (DPPH) (Sigma).

## Prosedur Penelitian

### Isolasi

Sebanyak 980 gram serbuk halus batang tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 3 kali masing-masing selama 24 jam pada suhu kamar. Hasil maserasi kemudian disaring secara *vacuum* menggunakan penyaring Buchner dan filtratnya diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sampai terbentuk ekstrak pekat.

Ekstrak pekat yang diperoleh diuji dengan FeCl<sub>3</sub> dan *shinoda test* sebagai uji pendahuluan bahwa ekstrak yang diperoleh merupakan senyawa flavonoid. Ekstrak pekat yang positif dalam uji FeCl<sub>3</sub> dan *shinoda test* diimpregnasi dalam sesedikit mungkin dengan silika gel G 60 63-200 μm (Merck) kemudian dipisahkan dengan cara

kromatografi cair vakum (*vacuum liquid chromatography*) menggunakan fasa diam kieselgel Merck G60 F-254 dengan eluen campuran kloroform-metanol yang dinaikkan kepolarnya secara bertahap. Hasil pemisahannya dimonitor dengan KLT. Hasil pemisahan bila belum sempurna, yang ditandai dengan adanya beberapa spot yang tidak bisa terpisah, maka dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi cepat. Kemurnian senyawa hasil isolasi diuji dengan KLT tiga sistem eluen dan penentuan titik leleh. Isolat murni yang diperoleh diuji sifat kimianya dengan menggunakan larutan  $\text{FeCl}_3$  dan *shinoda test* kembali dengan tujuan untuk mengetahui bahwa senyawa hasil isolasi adalah tergolong senyawa flavonoid. Struktur molekul senyawa flavonoid tersebut dapat dianalisis dengan melakukan pengujian secara instrumen menggunakan UV-Vis, spektrofotometer IR, spektrometer MS untuk menentukan berat molekul ( $M_r$ ).

#### Tahap Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Senyawa Hasil Isolasi

Proses pengujian aktivitas pendahuluan antioksidan dilakukan dengan DPPH menggunakan metode KLT autografi. Sebanyak satu mg isolat dilarutkan dalam satu ml metanol. Campuran larutan ditotolkan pada pelat kromatografi lapis tipis, lalu kromatogram disemprot dengan larutan DPPH 0,004% dalam metanol. Uji ini positif terhadap aktivitas antioksidan jika diperoleh bercak kuning berlatar ungu pada kromatogram.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Penentuan Struktur Molekul Isolat Flavonoid

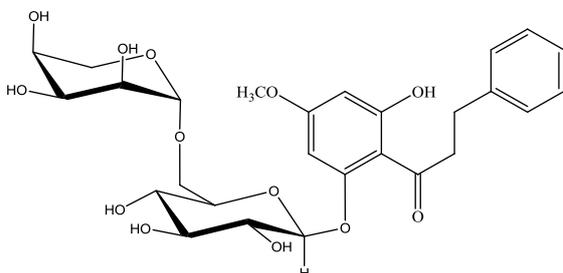
Dari ekstrak etil asetat bagian batang tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn telah berhasil dipisahkan senyawa flavonoid berwarna kuning sebanyak 8 mg. Isolat menunjukkan satu noda pada kromatografi lapis tipis dengan sistem tiga eluen yaitu  $R_f$  berturut-turut 0,20; 0,36; dan 0,38 untuk eluen kloroform-aseton = 7:3, kloroform-aseton = 5:5, dan kloroform-metanol = 9:1. Pada

kromatodrafi cair juga menghasilkan satu puncak dengan  $R_t = 2,1$  menit. Spektrum UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  280 dan 333 (bh) nm; (MeOH + NaOH): 289, 350 (bh) nm; (MeOH+ $\text{AlCl}_3$ ): 281, 360 (bh) nm; (MeOH+ $\text{AlCl}_3$ +HCl): 282, 358 (bh) nm; (MeOH+NaOAc): 282, 355 (bh) nm; (MeOH+NaOAc+ $\text{H}_3\text{BO}_3$ ): 280, 355 (bh) nm. Spektrum IR (KBr) maks : 3222 (OH), 2930 (C-H alkil), 1633 (C=O), 1513, 1460 (C=C aromatik), 1385 (tekuk C-H alkil), 1269 (-C-O-C-), 1026 (C-O simetris), 666,3  $\text{cm}^{-1}$  (lentur pendukung aromatik). Spektrum massa menunjukkan puncak ion molekul semu ( $M + 1$ ) pada  $m/z$  567.

Isolat menunjukkan hasil positif pada uji dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  dan tes shinoda ( $\text{Mg} + \text{HCl}$ ) mendukung bahwa isolat merupakan senyawa golongan fenolik jenis flavonoid. Adanya gugus fenol juga didukung oleh munculnya puncak dalam spektrum IR pada daerah 3222,5  $\text{cm}^{-1}$  (vibrasi ulur OH) dan 1513,4; 1460,9  $\text{cm}^{-1}$  (vibrasi ulur C=C aromatik).

Hasil pengukuran spektrum UV isolat dalam pelarut metanol yang menunjukkan serapan maksimum pada  $\lambda_{\text{maks}}$  280,3 nm (pita II) dan bahu pada daerah 333 nm (pita I), mendukung bahwa isolat merupakan flavonoid jenis dihidroalkon [6]. Serapan OH (3222,5  $\text{cm}^{-1}$ ), C-H alkil (2930,1  $\text{cm}^{-1}$ ), C=O terkelasi (1633,3  $\text{cm}^{-1}$ ), C=C aromatik (1513,4  $\text{cm}^{-1}$ , 1460,9  $\text{cm}^{-1}$ ) dalam spektrum IR mendukung bahwa isolat merupakan flavonoid jenis dihidroalkon. Tidak adanya pergeseran batokromik yang berarti pada penambahan pereaksi NaOH dan NaOAc mendukung bahwa isolat tidak memiliki gugus OH bebas pada atom C-4'. Pada pita II juga tidak terjadi pergeseran batokromik pada penambahan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  mendukung adanya gugus OH bebas pada C-6'. Penambahan pereaksi  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$  dan NaOAc +  $\text{H}_3\text{BO}_3$  tidak menyebabkan pergeseran batokromik pita II. Hal tersebut mendukung tidak adanya gugus orto-dihidroksi pada cincin A dalam isolat flavonoid. Hasil pengukuran spektrum massa menunjukkan bahwa isolat memiliki massa molekul relatif 566 yang sesuai untuk rumus molekul  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{13}$ . Berdasarkan hasil analisis data spektroskopi

diduga isolat merupakan senyawa 2'-hidroksi-4'-metoksi-dihidroalkon-6'-O- $\alpha$ -L-arabinopiranosil (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida.



Gambar 1. Struktur senyawa 2'-hidroksi-4'-metoksi-dihidroalkon-6'-O- $\alpha$ -L-arabinopiranosil (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida

#### Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan

Senyawa hasil isolasi yang telah diketahui struktur dan jenisnya kemudian diuji dengan DPPH menggunakan metode KLT autografi yang menunjukkan hasil positif terhadap aktivitas antioksidan. Hal ini ditunjukkan dari adanya bercak atau noda berwarna kuning dengan latar belakang ungu pada pelat KLT. Timbulnya noda berwarna kuning pada plat KLT menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi mampu meredam aktivitas radikal bebas dari DPPH [5].



Gambar 2. Kromatogram uji pendahuluan sebagai antioksidan menggunakan DPPH

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi dari tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn diduga merupakan senyawa flavonoid 2'-hidroksi-4'-metoksi-dihidroalkon-6'-O- $\alpha$ -

L-arabinopiranosil (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida. Isolat tersebut berpotensi sebagai antioksidan berdasarkan hasil uji pendahuluan menggunakan DPPH.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada bapak Wardaya, S.P. dari LIPI Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur, yang telah membantu dalam identifikasi sampel tumbuhan paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn. Selain itu, ucapan terima kasih juga disampaikan kepada ibu Puspa Dewi dari PUSPITEK LIPI Serpong, Tangerang yang telah membantu dalam analisis menggunakan LC-MS.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Tapan, E., 2005, *Kanker, Antioksidan & Terapi Komplementer*. PT Elex Media Komputindo, Jakarta.
2. Fessenden, R. J., dan Fessenden, J. S., 1982, *Kimia Organik. Jilid 1*. Edisi II. Penerjemah A.H. Pudjaatmaka dan N. M. Surdiana. Erlangga, Jakarta.
3. Sunarni, T., Pramono, S., & Asmah, R., 2007, Antioxidant-free radical scavenging of flavonoid from The Leaves of *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th. *Majalah Farmasi Indonesia*. 18 (3) 111-116.
4. Anonim, 2009, *Nephrolepis sp.* [arifbio.wordpress.com/2009/12/09/nephrolepis-sp/](http://arifbio.wordpress.com/2009/12/09/nephrolepis-sp/). Diakses tanggal 2 Januari 2012.
5. Liyaningsih, R., 2011, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid dari Batang Tumbuhan Paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kuhn dan Uji Aktivitas Pendahuluan sebagai Antioksidan. *Skripsi* yang tidak dipublikasikan, Universitas Negeri Surabaya.
6. Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung.