

## Isolasi Kandungan Senyawa Kimia dari Pakis Simpei (*Cibotium barometz*) serta Uji Bioaktivitas Antioksidan, Uji Toksisitas (BSLT) dan Antidiabetes

### *Isolation of Chemical Compounds of Pakis Simpei (Cibotium barometz) and Bioactivity Test of Antioxidant, Toxicity (BSLT) and Antidiabetes*

Sri Hartati<sup>1</sup>, Rugayah<sup>2</sup>, Titien Ngatinem Praptosuwiryo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Kimia – LIPI, Kawasan PUSPIPTEK Serpong, Tangerang Selatan, Indonesia

<sup>2</sup>Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI, Cibinong Science Center, Bogor, Indonesia

<sup>3</sup>Pusat Konservasi Tumbuhan-Kebun Raya Bogor – LIPI, Jl. Ir. H. Juanda No. 13 Bogor, Indonesia

Corresponding author: [elzariana@yahoo.com](mailto:elzariana@yahoo.com)

#### ARTICLE INFO

##### Article history

Received date : 22 December 2015

Revised date : 9 February 2016

Accepted date : 10 June 2016

Available online at :

<http://kimia.lipi.go.id/inajac/index.php>

##### Kata kunci:

*Cibotium barometz*, antioksidan, metil dodekanoat,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitosterol-*O*-glukopiranosida dan 2,3,4,5,6-pentahidroksi sikloheksan asam karboksilat.

##### Keywords:

*Cibotium barometz* L., antioxidant, methyl dodecanoate, *S*-sitosterol, *S*-sitosterol-*O*-glucopyranoside and 2,3,4,5,6-pentahydroxy cyclohexane carboxylic acid

#### Abstrak

*Cibotium barometz* (L.) J. Sm. (*Cibotiaceae*) merupakan salah satu jenis tumbuhan paku pohon komoditi ekspor yang memiliki nilai ekonomi tinggi karena kandungan kimianya yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional maupun modern. Penelitian ini ditujukan pada isolasi kandungan kimia dan evaluasi anti oksidan, antidiabetes dan toksisitas ekstrak rimpang dan bulu *C. barometz* terhadap larva udang *Artemia salina* L. (BSLT). Hasil uji antioksidan ekstrak metanol bulu dan rimpang serta hasil fraksionasi dengan menggunakan metoda *radical scavenger* DPPH (Diphenyl Picryl Hidrazyl), bahwa fraksi etil asetat dan butanol menunjukkan aktivitas berturut-turut dengan  $IC_{50}$  27,53 dan 46,24 ppm dan ekstrak metanol rimpang dan ekstrak metanol bulu dinyatakan kurang aktif dengan  $IC_{50}$  183,43 dan 126,10 ppm. Hasil uji toksisitas dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dinyatakan tidak toksik dan hasil uji anti diabetes dengan metoda  $\alpha$ -glukosidase juga tidak aktif. Hasil isolasi senyawa kimia ekstrak rimpang dan bulu *C. barometz* dengan metoda kromatografi kolom gravitasi dan diidentifikasi berdasarkan data-data spektra IR dan RMI proton dan karbon serta LC-MS, ekstrak *n*-heksana rimpang dan ekstrak metanol bulu *C. barometz*, diperoleh senyawa metil dodekanoat (A),  $\beta$ -sitosterol (B), *S*-sitosterol-*O*-glukopiranosida (C) dan 2,3,4,5,6-pentahidroksi sikloheksan asam karboksilat (D).

#### Abstract

*Cibotium barometz* (L.) J. Sm. (*Cibotiaceae*) is a tree fern which have high economic value as export commodities because of its chemical content that can be used as traditional and modern medicine. This study aim to isolate the chemical compounds and to evaluate the antioxidant, antidiabetic and *Brine Shrimp Lethality Test* (BLLT) activities of extracts rhizome and hairs of *C. barometz*. The antioxidant activity results using the method of radical scavenger DPPH (Diphenyl Picryl Hidrazyl) in methanol extract of *C. barometz* and rhizome showed that the ethyl acetate and butanol fraction had anti oxidant activity with  $IC_{50}$  27.53 and 46.24 ppm respectively, while the methanol extract of rhizomes and hairs was lest active with  $IC_{50}$  183.43 and 126.10 ppm respectively. The toxicity test using the methode BSLT showed that the extract of *C.barometz* were no toxic to the shrimp. This extracts also not active as antidiabetes which assayed using  $\alpha$ -glucosidase inhibition method. Isolation of chemical compounds from rhizomes and fern of *C. barometz* extracts by gravity column chromatography and identification base on data FT-IR spectra, proton and carbon NMR and LC-MS, resulting methyl dodecnoate (A),  $\beta$ -sitosterol (B), *S*-sitosterol-*O*-glucopyranoside (C) and 2,3,4,5,6-pentahydroxy cyclohexane carboxylic acid (D).

## 1. PENDAHULUAN

*Cibotium barometz* merupakan salah satu jenis tumbuhan paku pohon anggota suku *Cibotiaceae*<sup>[1]</sup>. Jenis ini termasuk tumbuhan tropik dan subtropik yang tersebar dari India Utara bagian timur sampai Cina bagian selatan, Taiwan, termasuk seluruh daratan Asia Tenggara, dan dari Sumatra, Jawa dan Philippina ke utara hingga Kepulauan Ryukyu<sup>[2,3]</sup>. Jenis ini tumbuh pada lereng-lereng bukit terbuka dan pinggiran-pinggiran sungai di hutan-hutan tropis pada ketinggian 500-800 m dpl dan juga di hutan pegunungan pada ketinggian 1000-1600 m dpl. <sup>[1,3,4]</sup>*Cibotium barometz* yang dikenal dengan nama daerah pakis simpei ini telah lama dikenal sebagai bahan obat tradisional dan telah dijadikan sebagai bahan obat modern di berbagai negara seperti Cina, Jepang dan Prancis <sup>[3]</sup> Bulu dan rimpang dari jenis ini berkhasiat sebagai obat hati dan ginjal, memperkuat otot dan tulang belakang, mengurangi ngilu di lutut, mengeluarkan angin dan pembeku darah <sup>[3,5]</sup>. Qu (1992)<sup>[6]</sup> dan Yao (1996)<sup>[7]</sup> melaporkan bahwa di China *C. barometz* dihargai sebagai tanaman kebun atau tumbuhan obat. Diyakini bahwa tumbuhan ini dapat mengobati hati dan ginjal, memperkuat tulang dan otot. Uji-uji fitokimia terhadap *C. barometz* akhir-akhir ini membuktikan bahwa *C. barometz* merupakan bahan obat modern potensial untuk masa depan. Rimpang *C. barometz* sebagai anti inflamasi dan menghilangkan rasa sakit pada encok atau sakit pinggang dan reumatik, ekstrak bulu *C. barometz* potensial sebagai sumber antioksidan dan antibakterial alami. H.-Y. Lai dkk.<sup>[8]</sup> Lai dan Lim<sup>[9]</sup> melaporkan bahwa ekstrak metanol *C. barometz* memperlihatkan kandungan fenol total yang tinggi (di atas 2000 mg GAE/100 g daun segar) dan berpotensi sebagai antioksidan. Hasil uji herbal rimpang *C. barometz* yang dilakukan Wen dkk.<sup>[10]</sup> memberikan dugaan kuat bahwa *C. barometz* berpotensi untuk terapi anti-sindrom pernafasan akut yang parah atau *severe acute respiratory syndrome* (SARS) yang disebabkan oleh coronavirus (SARS-CoV). Wen dkk.<sup>[10]</sup> melaporkan bahwa ekstrak rimpang kering *C. barometz* memperlihatkan hambatan nyata terhadap aktivitas protease 3CL SARS-CoV dengan nilai 39 µg/ml. Dari studi

baru-baru ini disimpulkan bahwa ekstrak rimpang *C. barometz* berpotensi sebagai obat alternatif untuk mencegah dan mengobati osteoporosis paska-menopous<sup>[11]</sup>. Senyawa hasil isolasi dari ekstrak metanol rimpang *C. barometz* antara lain: cibotiumbaromesides A; cibotiumbaromesides B; cibotiglycerol; R= 9Z,12Z-Oktadekadienoil. R= 9Z,12Z-Oktadekadienoil. Senyawa 2-5 menunjukkan inhibisi osteoclast.<sup>[11]</sup> Cuong.<sup>[12]</sup> telah mengisolasi senyawa –senyawa dari ekstrak metanol rimpang *C. barometz* antara lain onitin, onitin glukopiranosida; cyatenosin A; cybotinocyde. Wu and Yang<sup>[13]</sup> juga telah mengisolasi senyawa sesquiterpen yang tidak biasa yaitu memiliki inti 1-indone dan asam protacfehuic. Xu dkk.<sup>[14]</sup> juga telah mengisolasi komponen 4-O-cafeoyl-D-glukopyranosa dari ekstrak rimpang *C. barometz* dengan metoda HPLC. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kandungan senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam rimpang dan bulu *C. barometz* yang di ambil dari Propinsi Sumatra Barat. Mengacu dari hasil penelitian tersebut diatas bahwa ekstrak daun *C. barometz* adalah sumber fenol sebagai antioksidan, maka dilakukan uji antioksidan terhadap ekstrak rimpang dan ekstrak bulu *C. barometz*, serta uji bioaktivitas lainnya yaitu uji toksisitas dan antidiabetes.

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1. Bahan dan Peralatan

#### 2.1.1. Bahan Tumbuhan

Bahan rimpang dan bulu *C. barometz* dikumpulkan pada bulan September 2013 dari hutan sekunder di dua lokasi di Kabupaten Lima Puluh Kota, Prop. Sumatra Barat, yaitu dari Bukit Soriak, Jorong Tarantang, Nagari Tarantang, Kec. Harau dan Bukit Sikek, Jorong Air putih, Nagari Sari Lamak, Kec. Harau. Jenis dideterminasi dengan menggunakan kunci identifikasi jenis untuk tumbuhan paku pohon menurut Holttum (1963) dan dicocokkan dengan spesimen yang tersimpan di Herbarium Bogoriense (BO). Spesimen bukti disimpan di Herbarium Kebun Raya Bogor (BOHB).

#### 2.1.2. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut organik *n*-heksana, etil asetat, metanol, *n*-butanol dan diklorometan teknis yang didestilasi. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dari Sigma, Dimetil sulfoksida (DMSO) E-Merck,  $\text{CDCl}_3$ , Silika gel G<sub>60</sub> 70-230 mesh E-Merck 1.07734 Plat silika gel GF<sub>254</sub> E-Merck 05554, Sephadex LH-20 Amersham.

### 2.1.3. Peralatan

Spektrofotometer UV-Vis Merck Hellet Pakard (HP) 8453, FT-IR Prestige-21, Shimadzu, Spektroskopi RMI 500 MHz Inova Plus, Unity.

## 2.2. Metode

### 2.2.1. Metode Isolasi

Bahan rimpang *C. barometz* yang telah kering digiling atau dihaluskan dengan *grinder* lalu di timbang, selanjutnya di masukkan kedalam maserator. Sampel dalam maserator ditambahkan metanol teknis (hasil destilasi) sampai terendam. Setelah 24 jam filtrat disaring diuapkan dalam *vakum rotary evaporator*, selanjutnya residu direndam ulang sampai filtrat jernih atau diperkirakan ekstrak sudah terekstraksi maksimal kurang lebih 5 kali maserasi. Ekstrak yang di peroleh di kumpulkan kemudian di timbang. Ekstrak metanol yang diperoleh dilakukan partisi, pertama dengan pelarut *n*-heksana (teknis hasil destilasi) dikocok dengan air (1 : 1) di kocok dalam corong pisah kemudian didiamkan sampai terpisah 2 fase ( air dan *n*-heksana), fase bawah (air) dipisahkan dari *n*-heksana. Selanjutnya pada fase air ditambahkan kembali *n*-heksana baru, dilakukan proses seperti diatas sampai jernih atau diperkirakan senyawa non polar sudah terekstraksi maksimal ( 3 s/d 5 x partisi). Fraksi *n*-heksana yang diperoleh di gabung selanjutnya diuapkan, dan akan diperoleh fraksi *n*-heksana. Residu air sisa *n*-heksana selanjutnya di partisi dengan etil asetat (hasil destilasi) (etil asetat: air = 1:1) dengan perlakuan yang sama seperti diatas akan diperoleh fraksi etil asetat. Residu air sisa etil asetat selanjutnya di partisi dengan *n*-butanol (*n*-butanol : air = 1:1) dengan perlakuan yang sama seperti diatas, diperoleh fraksi *n*-butanol. Residu akhir air kemudian dikeringkan di oven vacum 50° C

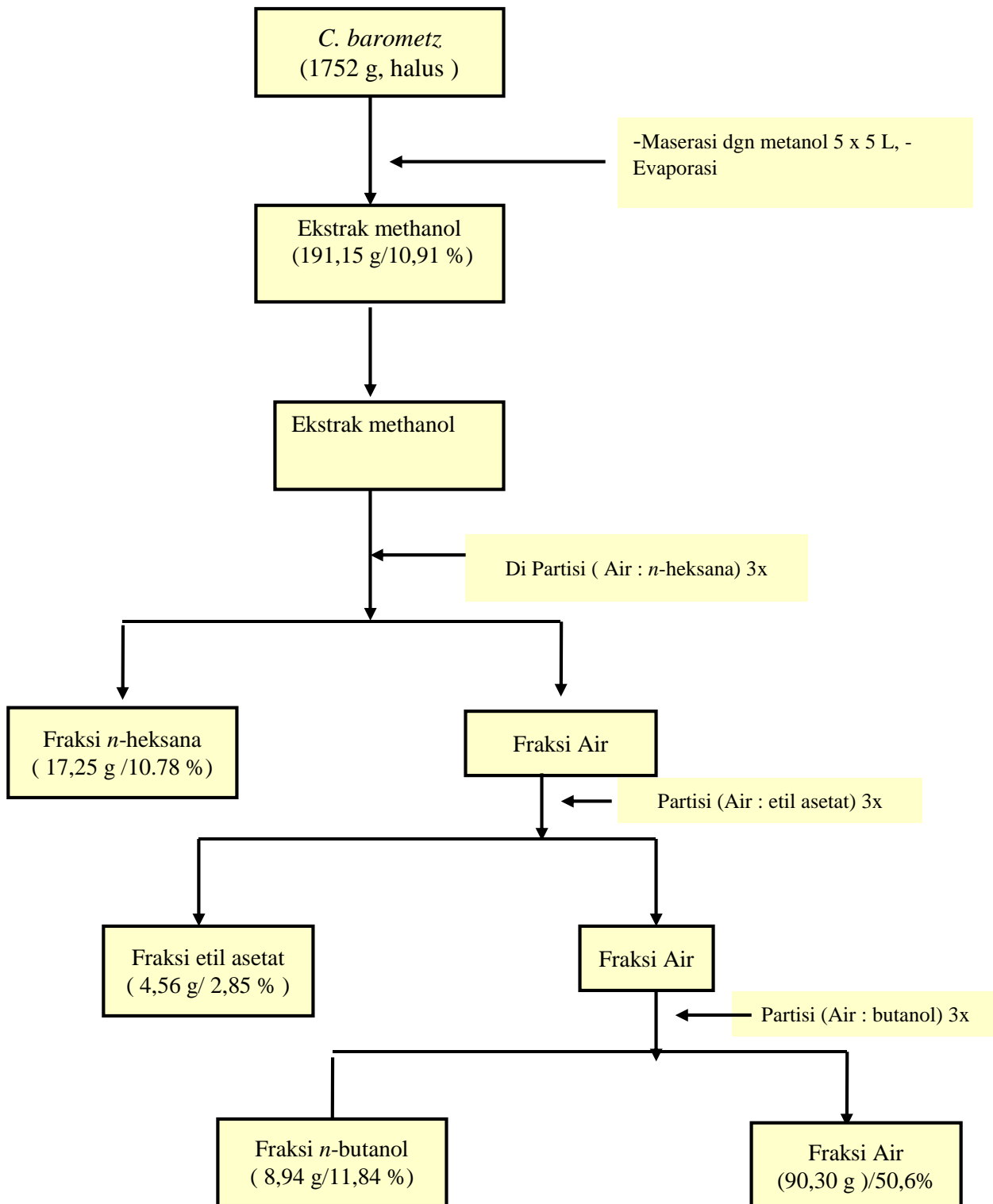
akan diperoleh fraksi air. Masing-masing fraksi (*n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan air) yang diperoleh ditimbang untuk selanjutnya dilakukan fraksionasi dengan metoda kromatografi kolom dengan fase diam silika gel G<sub>60</sub> E Merck 1.07734 (0.0063 – 0,200 mm). Bagan Isolasi dapat dilihat di Gambar 1. Ekstrak metanol dan hasil fraksionasi dilakukan uji antioksidan, toksisitas dan uji antidiabetes.

### 2.2.2. Isolasi senyawa rimpang *C. barometz* dalam fraksi *n*-heksana

Isolasi rimpang *C. barometz* fraksi *n*-heksana hasil partisi ekstrak metanol dilakukan dengan cara fraksionasi dengan metoda kolom kromatografi dengan fasa diam silika gel G<sub>60</sub> ukuran sedang (0,062-0,200 mm) sebagai fasa gerak dievaluasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol secara gradient, fraksi-fraksi yang diperoleh masing-masing dipekatkan atau dievaporasi dengan *vacuum rotary evaporator* pada temperatur 50°C. Fraksi-fraksi pekat tersebut dikumpulkan selanjutnya masing-masing dilakukan KLT. Hasil KLT dengan penampakan bercak yang sama di gabung atau dikelompokkan. Hasil pengamatan KLT dari fraksi 17 sampai fraksi 21 umumnya berupa minyak, namun hanya terlihat 1(satu) bercak yaitu pada fraksi 18 dan fraksi 20. Bercak tersebut kemudian digabung selanjutnya dilakukan pengamatan TLC dua dimensi, dari pengamatan KLT dua dimensi menunjukkan satu bercak, selanjutnya dilakukan pengukuran dengan FT-IR, RMI proton dan karbon. Dari hasil isolasi tersebut dinamakan senyawa **A**. Dari fraksi 31 sampai fraksi 69 fraksi campuran ini terdapat endapan putih, dimana endapan putih sukar larut di pelarut methanol sedangkan campuran senyawa lainnya mudah larut. Kemudian dilakukan pencucian secara dekantasi dengan pelarut metanol sampai endapan putih terpisah dari senyawa lainnya. Selanjutnya endapan dikeringkan dan filtratnya diuapkan, masing di KLT dan ditimbang berat keringnya. Hasil KLT yang berupa endapan putih diperkirakan murni disebut sebagai senyawa **B**. Pada fraksi 22 terdapat koloid berwarna putih dimana koloid tersebut sukar larut dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan sedikit larut di pelarut metanol, maka dilakukan dekantasi dengan pelarut-pelarut tersebut. Hasil

dekantasi kemudian dilakukan KLT, dikeringkan selanjutnya di timbang dan di dianalisis berdasarkan data-data spektra dari hasil pengukuran spektroskopi RMI proton,

karbon, FT-IR dan LC-MS. Selanjutnya dielusidasi berdasarkan data-data tersebut dan hasil analisis disebut senyawa C.



**Gambar 1.** Bagan alir ekstraksi dan partisi *Cibotium barometz*

### 2.2.3. Isolasi senyawa kimia dari ekstrak metanol bulu *Cibotium barometz*

Sampel bulu *C. barometz* di timbang selanjutnya dimaserasi dengan metanol untuk diambil ekstraknya, ekstrak yang diperoleh dikumpulkan selanjutnya dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh di kumpulkan dan ditimbang. Karena ekstrak metanol hasil maserasi tidak banyak, maka tidak dilakukan partisi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan air. Hasil ekstrak metanol kasar (*crude*) selanjutnya dilakukan fraksionasi untuk memisahkan fraksi atau komponen-komponennya dengan metoda kromatografi kolom gravitasi dengan fasa diam silika gel G60 ukuran sedang (0,062-0,200 mm) dengan eluen *n*-heksana, etil asetat dan metanol secara gradien. Hasil fraksionasi dalam fraksi 17 dan fraksi 19 terdapat edapan putih kemudian pada keduanya dilakukan dekantasi, sehingga diperoleh edapan murni yang dapat di lihat dari hasil KLT. Untuk selanjutnya dari fraksi 17 diperoleh serbuk kuning pucat disebut senyawa **D** dan dari fraksi 19 diperoleh serbuk putih disebut senyawa **E**. Keduasenyawa tersebut di elusidasi berdasarkan data-data spektra hasil pengukuran spektroskopi RMI proton dan karbon, FT-IR dan LC-MS.

### 2.2.4. Uji Anti Oksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak metanol bulu *C. barometz*, ekstrak metanol rimpang *C. barometz*, fraksi – fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dan *n*-butanol rimpang dengan menggunakan metoda *radical scavenger* DPPH (Diphenyl Picryl Hidrazyl) (Yen & Chen, 1995)<sup>[15]</sup> yang dimodifikasi oleh Artanti, 2003<sup>[16]</sup>. Senyawa pembanding sebagai blangko positif adalah kuercetin. Langkah-langkah pengujian dilakukan sebagai berikut : contoh yang akan diuji dibuat larutan dengan pelarut DMSO pada konsentrasi 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm dan 200 ppm. Selanjutnya masing-masing ekstrak ditambahkan DPPH kemudian diinkubasi pada temperatur 37°C selama 30 menit. Perubahan

warna yang terjadi pada DPPH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. Nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel tersebut dinyatakan dengan persen inhibisi (% inhibisi) yang dapat dihitung dengan rumus persamaan 1.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{sampel}})}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

*Abs kontrol* = Absorbansi kontrol setelah 30 menit

*Abs sampel* = Absorbansi sampel setelah 30 menit

### 2.2.5. Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) (Meyer et al., 1982)<sup>[17]</sup>

Telur *A. salina* Leach diinkubasi dalam air laut selama 48 jam dan menetas menjadi larva udang. Sebanyak 10 larva dimasukkan kedalam *microplate* kemudian ditambahkan ekstrak yang dilarutkan kedalam air laut dengan konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm, diinkubasi selama 24 jam. Toksisitas diukur berdasarkan jumlah larva *A. salina* yang mati setelah inkubasi. LD<sub>50</sub> adalah konsentrasi sampel yang diperlukan sebagai penyebab 50% kematian larva. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LD<sub>50</sub> < 1000 µg/mL.<sup>[18]</sup>

### 2.2.6. Uji Antidiabet ( $\alpha$ -glukosidase) (Kim Y-M, et al, 2005)<sup>[19]</sup>

Sebanyak 0,25 mg  $\alpha$ -glukosidase dilarutkan dalam 10 mL buffer fosfat (pH 7) yang mengandung 20 mg bovine serum albumin. Larutan enzim di encerkan 10 kali sebelum di gunakan. Sistem reaksi enzim terdiri atas campuran 250 µL 20 mM p-nitro phenil- $\alpha$ -glukopiranoside, 495 µL 100 nM buffer fosfat (pH 7) dan 5 µL larutan sampel dalam DMSO (kadar 1%, 0.5%, dan 0.25%). Campuran reaksi diinkubasi pada 37°C selama 5 menit, selanjutnya pada campuran ditambahkan 250 µL larutan enzim dan diinkubasi selama 15 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan penambahan 1 mL 200 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Senyawa p-nitrophenol sebagai hasil reaksi diukur

dengan membaca absorbansi campuran reaksi pada  $\lambda$  400 nm. Sebagai kontrol positif, digunakan larutan 1% kuercetin. Ekstrak dinyatakan aktif apabila nilai  $IC_{50} < 25$  ppm<sup>[20]</sup>.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi dengan metanol (lihat Gambar 1) dari sampel rimpang *C. barometz* 1753 g, diperoleh 191,15 g (10,91%) ekstrak metanol. Dari 160 g ekstrak metanol yang di partisi diperoleh 17,25 g (10,78 %) ekstrak *n*-heksana; 4,56 g (2,85%) ekstrak etil asetat; 18,94 g (11,84%) ekstrak *n*-butanol dan 90,30 g (50,60%) ekstrak air.

#### 3.1 Hasil Uji Anti Oksidan

Hasil uji antioksidan dari sampel – sampel ekstrak metanol *C. barometz* rimpang dan bulu serta hasil partisi ekstrak metanol rimpang yaitu fraksi *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan fraksi air dengan metoda DPPH, dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil fraksi etil asetat dan fraksi butanol menunjukkan aktivitas yang sedang dengan  $IC_{50}$  berturut-turut 27,53 dan 46,24 ppm dan ekstrak metanol rimpang dan ekstrak metanol bulu dinyatakan kurang aktif dengan  $IC_{50}$  183,43 dan 126,10 ppm.

**Tabel 1.** Data hasil pengujian antioksidan ekstrak metanol bulu dan ekstrak metanol rimpang serta fraksi *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan ar rimpang *C. barometz*.

No	Sampel	LC <sub>50</sub> (ppm)
	Blangko (Vitamin C)	4,17
1	Ekstrak metanol rimpang	183,43
2	Ekstrak metanol bulu	126,09
3	Fraksi <i>n</i> -heksana rimpang	245,96
4	Fraksi etil asetat rimpang	<b>27,53</b>
5	Fraksi <i>n</i> -butanol rimpang	<b>46,24</b>
6	Fraksi air rimpang	206,08

#### 3.2 Hasil Uji BSLT

Dari hasil pengamatan uji toksisitas dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach menunjukkan ekstrak-ekstrak metanol bulu dan rimpang *C. barometz* dan hasil fraksionasi *n*-heksana, etil asetat, *n*-

butanol dan air dapat dilihat pada Tabel 2. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa  $LC_{50}$  yang dibawah ( $<1000$  ppm) adalah fraksi etil asetat dan fraksi butanol dari rimpang *C. barometz* dengan  $LC_{50}$  masing-masing 724 dan 955 ppm. Bahwa ekstrak dinyatakan toksik bila  $LC_{50} < 1000$  ppm jadi fraksi etil asetat dan fraksi butanol dapat dikatakan sedikit toksik. Bila dibandingkan dengan ekstrak metanol bulu dan rimpang *C. barometz* serta fraksi *n*-heksana dan fraksi *n*-butanol rimpang dinyatakan tidak toksik karena  $LC_{50}$  masing-masing diatas ( $>1000$  ppm).

**Tabel 2.** Data hasil pengamatan Uji BSLT ekstrak metanol bulu dan ekstrak metanol rimpang serta fraksi *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan air rimpang *C. barometz*.

No	Sampel	LC <sub>50</sub> (ppm)
1	Ekstrak metanol rimpang	1513,56
2	Ekstrak metanol bulu	20417,37
3	Fraksi <i>n</i> -heksana rimpang	1995,26
4	Fraksi etil asetat rimpang	724,43
5	Fraksi <i>n</i> -butanol rimpang	954,99
6	Fraksi air rimpang	1995,26

#### 3.3 Hasil Uji Antidiabetes

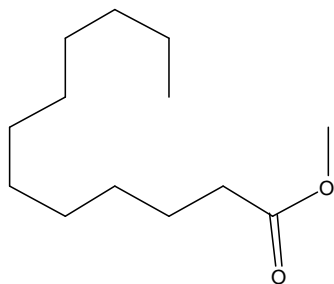
Dari hasil pengamatan uji antidiabetes dengan metoda  $\alpha$ -glukosidasemenunjukkan ekstrak-ekstrak metanol rimpang dan bulu *C. barometz* dan hasil fraksionasi *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan air dapat dilihat pada Tabel 3. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa  $IC_{50}$  masing-masing menunjukkan aktivitas  $> 25$  ppm yaitu 203,60; 256,68; 155,60; 192,55; 197,32 dan 345,97 ppm. Jadi dapat dinyatakan bahwa ekstrak metanol rimpang dan bulu *C. barometz* serta hasil fraksionasinya tidak aktif sebagai antidiabetes.

**Tabel 3.** Hasil pengamatan uji Antidiabetes ( $\alpha$ -Glukodidase) ekstrak rimpang dan bulu serta fraksi *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan air rimpang *C. barometz*.

No	Sampel	LC <sub>50</sub> (ppm)
	Blangko pelarut	-
1	Ekstrak metanol rimpang	203,60

2	Ekstrak metanol bulu	256,68
3	Fraksi <i>n</i> -heksana rimpang	155,60
4	Fraksi etil asetat rimpang	192,549
5	Fraksi <i>n</i> -butanol rimpang	197,317
6	Fraksi air rimpang	345,968

### 3.4 Senyawa A (Metil dodekanoat)

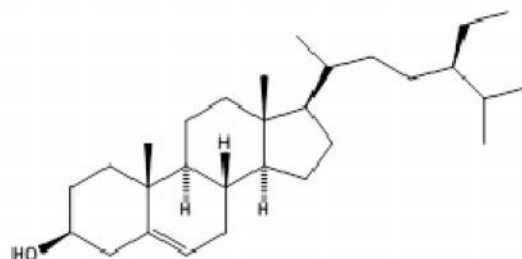


Senyawa A = metil dodekanoat

Senyawa A berbentuk minyak warnanya bening/jernih, diisolasi dari fraksi *n*-heksana rimpang *C. barometz* melalui proses pemurnian secara kolom kromatografi. Hasil pengamatan IR (KBr) menunjukkan adanya gugus karbonil ester jenuh ( $-C=O$ ) pada serapan bilangan gelombang ( $\epsilon$ )  $1743\text{ cm}^{-1}$  (tajam); menunjukkan adanya ikatan  $-C-H$ ;  $-CH_3$  alifatik pada daerah serapan  $2852$ ;  $2922$  dan  $3005\text{ cm}^{-1}$  (tajam). Dari hasil pengukuran massa  $[m/z]$   $215,347$   $[M+H^+]$  dengan rumus molekul  $C_{13}H_{26}O_2$ . Hasil pengamatan spektrum NMR proton  $^1H$  (500 MHz) menunjukkan adanya gugus metil triplet ( $CH_3-CH_2-$ ), triplet pada daerah pergeseran kimia ( $\delta$ )  $0,86$  ppm yang didukung oleh spektrum RMI karbon  $^{13}C$  (125 MHz) pada pergeseran kimia  $14,26$  ppm, menunjukkan adanya gugus metoksi atau metil ester ( $CH_3-O$ ); pada pergeseran kimia  $3,65$  ppm didukung oleh karbon NMR pada  $\delta$   $51,62$  ppm, menunjukkan adanya 2 gugus metan ( $-CH_2-$ ) triplet pada  $\delta$   $1,60$  dan  $2,39$  ppm; adanya metilen yang bertetangga dengan karbonil ester (H pada C-2 dan H pada C-3) didukung oleh RMI karbon pada  $\delta$   $34,28$  dan  $34,20$  ppm, menunjukkan adanya kelompok gugus-gugus metan yang tumpang tindih ( $-CH_2-CH_2-$ ) pada daerah pergeseran kimia rentang  $1,23 - 1,28$  ppm (16 H) dan rentang  $29,30 - 29,82$  ppm untuk  $\delta$  karbon. Adanya gugus karbonil ditunjukkan pada  $\delta$   $174,62$  ppm. Dari hasil prediksi

penggambaran struktur dengan *chem draw* dan dengan prediksi angka-angka  $\delta$  proton dan karbon serta sifat fisik dapat disimpulkan bahwa senyawa A adalah metil dodekanoat. Hasil studi beberapa pustaka tentang isolasi dari *C. barometz*, belum ada senyawa tersebut yang dilaporkan atau ditemukan dari tumbuhan ini. Senyawa metil dodekanoat dalam *C. barometz* ini pertama kali dilaporkan. Metil dodekanoat dialam biasanya terdapat pada buah anggur, melon, nenas, black berry, cabe merah, dan buah-buahan lainnya. Nama lain metil dodekanoat adalah metil laurat (DNP. 2015).

### 3.5 Senyawa B. (S-sitosterol)

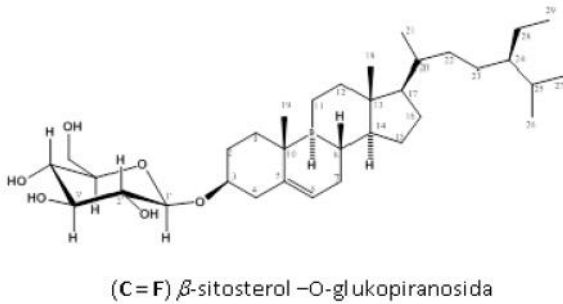


Senyawa B = S-sitosterol

Senyawa B diisolasi dari fraksi *n*-heksana rimpang *C. barometz*. Hasil pengamatan awal sifat-sifat fisika, warna putih dan bentuk serbuk sukar larut dalam pelarut polar dan hasil KLT dibandingkan dengan standar S-sitosterol menunjukkan kesamaan nilai  $R_f$  dan warna bercak.

Senyawa B dapat ditetapkan sebagai S-sitosterol. Senyawa S-sitosterol dan stigmasterol adalah senyawa yang sangat umum ditemukan dari bahan alam tumbuhan, tetapi  $\beta$ -sitosterol dari *C. barometz* baru pertama kali dilaporkan.

### 3.6 Senyawa C (S-sitosterol -O-glukopiranosida)



Senyawa **C** yang diisolasi dari fraksi *n*-heksana rimpang *C. barometz*, merupakan serbuk putih sukar larut dipelarut-pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Jika dilarutkan berbentuk koloid. Hasil pengukuran massa (LC-MS/ *m/z*) menunjukkan berat massa molekul adalah 577 [ $M+H^+$ ] dengan rumus molekul  $C_{35}H_{60}O_6$ .

Dari hasil pengukuran IR [KBr] menunjukkan adanya gugus-gugus hidroksi (-OH) pada serapan bilangan gelombang ( $\nu$ ) 3194- 33-56  $cm^{-1}$ . Hal ini menunjukkan adanya gugus metil (-CH<sub>3</sub>) dan metilen (=CH<sub>2</sub>) pada daerah serapan 2872 dan 2933  $cm^{-1}$ . Hasil pengamatan spektrum RMI proton <sup>1</sup>H dan karbon (Tabel. 4) dalam pelarut DMSO D<sub>6</sub> (500 MHz) menunjukkan sinyal-sinyal karakteristik dari 3 gugus metil steroid (metil skuder) pada  $\delta$  0,80 ppm (3H, *d*, *J* = 3,2 Hz); 0,83 ppm (3H, *d*, *J* = 3,2 Hz) dan 0,90 ppm (3 H, *s*), dan proton metin pada  $\delta$  5,33 ppm adalah/ merupakan proton ikatan rangkap pada C6.

Adanya proton metin pada  $\delta$  3,45 ppm (1H, *m*) menunjukkan adanya proton pada C-3 pengikat oksigen yang menjembatani gugus gula dengan steroid. Hal ini menunjukkan ciri glikosida dengan adanya proton anomerik pada  $\delta$  4,22 ppm (1H, *d*, *J* = 7,8 Hz) dan karbon glikosidik pada  $\delta$  100,77 ppm.

Dari hasil penyusunan spektra RMI proton, karbon satu dan dua dimensi, korelasi HMQC dan HMBC dapat disimpulkan bahwa senyawa **C** adalah suatu glikosida steroid yaitu *S*-sitosterol glukopiranosida. Senyawa *S*-sitosterol-*O*-glukopiranosida ini juga baru pertama kali dilaporkan dalam *C. barometz*.

### 3.7 Senyawa **D** (2,3,4,5,6-pentahidroksi

### sikloheksan asamkarboksilat)

Senyawa berupa serbuk kuning pucat, hasil pengukuran LC-MS (*m/z*) menunjukkan massa = 192 dengan rumus molekul  $C_7H_{12}O_6$ . Dari hasil pengukuran IR (KBr) terlihat adanya gugus hidroksi (-OH) pada daerah serapan dengan bilangan gelombang 3560; 3456; 3313; dan 3250  $cm^{-1}$ (tajam). Hal ini menunjukkan adanya gugus karbonil (-C=O) pada daerah serapan  $\nu$ 1791 $cm^{-1}$  (tajam), dengan puncak-puncak serapan tajam pada daerah serapan  $\nu$  berkisar antara 1000 - 1320  $cm^{-1}$  yang menunjukkan adanya vibrasi regang gugus -C-O dari alkohol dan asam karboksilat.

**Tabel 4.** Data NMR Proton, Karbon dan HMBC Senyawa C

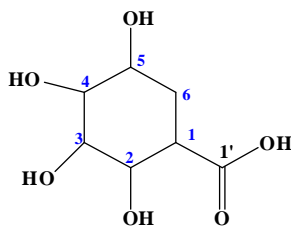
No	<sup>1</sup> H (ppm)	<sup>13</sup> C (ppm)	HMBC
1	1,78 (m); 1,80 (m)	36,86	
2	1,51 (m)	31,41	
3	3,45 (m)	75,49	
4	2,36 ( <i>d,d</i> ; <i>J</i> 2,35; 2,35 Hz)	38,31	
5	-	140,6	
6	5,33 ( <i>b</i> )	121,27	C-1, C-4, C-7, C-8 C- 10
7	1,38 (m); 1,40 (m)	31,44	
8	1,47 ( <i>b</i> )	31,41	
9	0,99 ( <i>b</i> )	49,62	
10	-	36,23	
11	1,36 (m); 1,51 (m)	20,62	
12	1,16 (m, <i>b</i> )	39,25	
13	-	41,88	
14	1,09 ( <i>m</i> )	56,20	
15	1,53 ( <i>m</i> )	23,91	
16	1,78 ( <i>m</i> ); 1,63 ( <i>m</i> )	29,29	
17	1,03 ( <i>m</i> )	55,43	
18	0,65 ( <i>s</i> )	11,72	C-13, C-14, C-17
19	0,95( <i>s</i> )	18,95	C-5, C-7, C-8, C-9
20	1,80 ( <i>m</i> )	36,86	
21	0,90 ( <i>s</i> )	18,65	C-15,C-17, C-21
22	1,02 ( <i>m</i> )	33,36	
23	1,15 ( <i>m</i> )	25,41	
24	0,91 ( <i>s</i> )	45,15	
25	1,63 ( <i>m</i> )	28,70	
26	0,80 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 3,2 Hz)	19,14	C-24, C-25, C-27
27	0,83 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 3,2 Hz)	19,76	C-26, C29
28	1,25 ( <i>m</i> )	22,63	
29	0,82 ( <i>t</i> )	11,82	C-26, C-28
1'	4,22 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8 Hz)	100,77	C-2', C-3'



2'	3,11 (m)	76,79	C4'
3'	3,47 (m)	76,91	C-1', C-4'
4'	3,06 (m)	70,11	
5'	3,47 (m)	76,91	
6'	3,64 (m) ; 3,39 (m)	61,10	C-4'

Hasil pengukuran RMI proton  $^1\text{H}$  dalam pelarut metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) (Tabel. 5) menunjukkan ada 7 proton pada  $\delta$  4,70 ppm (1H, t); 3,98 ppm (1 H, t); 3,71 (1H, m); 2,47 (1H d,  $J = 11,25$  Hz); 2,23 ppm (1 H, m); 2,03 (1H, m) dan 1,87 ppm (1 H, t).

Hasil spektra RMI karbon  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) menunjukkan 7 puncak dimana pada daerah  $\delta$  179,57 ppm menunjukkan adanya karbon kuartener dari C karbonil, adanya puncak-puncak pada  $\delta$  77,97; 73,19; 67,42; 66,94 ppm menunjukkan adanya puncak-puncak karbon alkohol skunder dan 2 puncak alkohol skuder yang *shielding* dekat dengan karbonil pada  $\delta$  40,23 dan 37,93 ppm. Dari hasil penelusuran dan prediksi puncak-puncak  $\delta^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  dari *Chem Draw*, dapat di prediksi bahwa senyawa **D** tersebut adalah 2,3,4,5,6-pentahidroksi sikloheksan asamkarboksilat.



(D). 2,3,4,5, -tetrahidroksi sikloheksan asam karboksilat.

**Tabel 5.**Data NMR Proton dan Karbon Senyawa D

No	$u^1\text{H}$ (ppm)	$u^{13}\text{C}$ (ppm)
1	2,22 (1 H, t)	40,23
2	4,70 (1 H, t)	66,94
3	3,98 (1H, t)	77,97
4	3,71 (1H, q)	73,19
5	2,47 (1 H, d, $J = 11,05$ Hz)	67,42
6	1,87 (1H, t) 2,02 (1H, q)	37,93
1'	-	179,57

#### 4. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

- 1) Hasil isolasi kandungan senyawa kimia fraksi *n*-heksana rimpang *C. barometz* diperoleh senyawa metil dodekanoat (metil laurat) (A), S-sitosterol (B) dan S-sitosterol -O-glukopiranosida (C).
- 2) Hasil isolasi kandungan senyawa kimia ekstrak metanol bulu *C. barometz* diperoleh senyawa 2,3,4,5,6-pentahidroksi sikloheksan asam karboksilat (D) dan S-sitosterol glukopiranosida.
- 3) Hasil uji antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi butanol rimpang *C. barometz* menunjukkan aktivitas sedang dengan  $\text{IC}_{50}$  berturut-turut 27,53 ppm dan 46,24 ppm. Untuk ekstrak methanol rimpang dan ekstrak metanol bulu *C. barometz* dinyatakan kurang aktif dengan  $\text{IC}_{50}$  berturut-turut 183,43 ppm dan 126,10 ppm.
- 4) Dari hasil uji toksisitas dan antidiabetes ekstrak methanol dan hasil partisi dari ekstrak metanol rimpang dan bulu *C. barometz* dinyatakan kurang aktif.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini disokong oleh dana penelitian Program Kompetitif LIPI TA 2013-2014 melalui Pusat Penelitian Biologi-LIPI dan Program Unggulan LIPI TA 2015 melalui Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. BKSDA Sumatra Barat telah mendukung penelitian ini dengan mempermudah perijinan koleksi material dan memberikan bantuan teknis lapang. Kami mengucapkan terima kasih kepada Destri, M.Si., staf peneliti Kebun Raya Cibodas-LIPI dan para anggota tim teknis proyek penelitian *Cibotium barometz* di Lembah Harau, Kec. Harau, Kab. Lima Puluh Kota, Sumatra Barat, yang telah membantu dalam pengumpulan dan penanganan bahan simplisia. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Lia Meliawati, Pusat Penelitian Kimia-LIPI, yang telah membantu teknis penelitian di laboratorium.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. R. Smith, K.M. Pryer, E. Schuettpelz, P. Korall, H. Schneider, P. G. Wolf. A classification for extant fern. *Taxon* 55: 705-731 (2006)

- [2] R. E. Holttum, Cyatheaceae. *Flora Malesiana* Ser. II. Vol. 1. (2): 165.(1963)
- [3] T. Ng. Praptosuwiryo, *Cibotium barometz*. (L.) J. Smith. In W.P. de Winter and V. B. Amoroso (Eds.) Pp. 79-82. *Plant Resources of South-East Asia* 15 (2) (2003)
- [4] T. Ng. Praptosuwiryo, D. O. Pribadi, D. M. Puspitaningtyas, S. Hartini, Inventorying of the tree fern genus *Cibotium* of Sumatra: Ecology, population size and distribution in North Sumatra. *Journal Biodiversities* Vol. 12 (4): 204 – 211 (2011)
- [5] Dalimarta, Setiawan, Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5. *Pustaka Bunda*, pp 124 – 126 (2008)
- [6] D. M. Yao (chief editor), Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Public Health, P.R. China, A Coloured Atlas of the Chinese *Materia Medica* Specified in *Pharmacopoeia* of the People's Republic of China (1995 edition), Guangdong Sciences and Technology Press, Guangzhou. (1996)
- [7] M. Ou (chief editor), Chinese-English Manual of Common-used Traditional Chinese, Medicine. Guangdong Science and Technology Press, Guangzhou (1992)
- [8] H.-Y. Lai and Y.-Y. Lim and S. P. Tan, Antioxydative , Tyrosinase Inhibiting and Antibacterial of leaf extracts from medicinal ferns, *Biocsi. Biotechnol. Biochem.*, 73 (^), 1362-1366, (2009)
- [9] H.-Y. Lai and Y.-Y. Lim, Antioxidant Properties of Some Malaysian Ferns. 3rd *International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering*. IPCBEE IACSIT Press, Singapore. vol.20 Pp. 8-12. (2011)
- [10] C. C. Wen, L. F. Shyur, J. T. Jan, P. H. Liang, C. J. Kuo, P. Arulselvan, J. B. Wu, S. C. Kuo, N. S. Yang. Traditional Chinese medicine herbal extracts of *Cibotium barometz*, *Gentiana scabra*, *Dioscorea batatas*, *Cassia tora*, and *Taxillus chinensis* inhibit SARS-CoV replication. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* Vol. 1 No. 1: 44-50 (2011)
- [11] X. Zhao, Z -X. Wu, Y. Zang, Y – B. Yan, Q. He, P. C. Cao and W. Lei, Anti-Osteoporosis Activity of *Cibotium barometz* Extract on Ovariectomy-induced bone loss in rats. *J of Ethnopharmacology*, 137, 1083-1088 (2011)
- [12] N-X. Cuong, C-V. Minh, P-V. Kiem, H-T. Huong, N-K. Ban, N-X. Nhiem, N-H. Tung, J-W. Jung, H-j. Kim, S-Y. Kim, J-A. Kim, Y-H.Kim, , *J. Nat. Product. Sep*; 1673- 1677 (2009)
- [13] Q. Wu and X. W. Yang, The constituents of *Cibotium barometz* and their permeability in the human Caco-2 monolayer cell model. *J Ethnopharmacol. Sep* 25;125 (3):417-22 (2009)
- [14] N. I. Xu, Y. Cao , Y. N. Shi, X. Zhong, T. Z. Jia . New hydrolysable tannin from *Cibotium barometz*, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. Mar; 38(5):698-702 (2013)
- [15] G. Yen and H. Chen, Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity, *J. Agric. Food Chem.* 43: 27-32 (1995)
- [16] N. Artanti, R. Seksiati, A. F. Rochman, Jamilah, P. D. L. Lotulung, M. Hanafi dan L. B. S. Kardono, Study of an Indonesian Mistletoe, The *Dendrophthoe pentandra* ( L.) Miq. Grown on Star Fruit and Manggo as host Trees, *International Symposium on Biomedicine*, Bogor, September 18-19 (2003)
- [17] B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putham, L. B. Jacobsen, D. E. Nochols and J. L. McLaughlin, “*Brine Shrim A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents Planta Medica*”, *Medical Plant Research* Vol 45, Departemen of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, West Lafayett, 31-34 (1992)
- [18] L. M. Jerry, C.-J. Chan and D. L. Smith, “*Bioassay For The Discovery of Natural Product : An Update “ Workshop On Brine shrim and Potato Disc Bioassay*”, Universitas Bidang Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung, hal 3-6 (1990)
- [19] J. H. Kim, H. J. Kim, H. W., S. H. Youn, D. Y. Choi, C. S. Shin , Development of inhibitory against lipase and  $\alpha$ -glucosidase fro derivatives of monascus pigmen, *FEMS Microbial Lett.* 276: 93-98 (2007)
- 10| “Isolasi Kandungan Senyawa Kimia ...”: S. Hartati, Rugayah, T.N. Praptosuwiryo

