

# Identifikasi Flavonoid dari Buah Tumbuhan Mempelas

FITRYA, LENNY ANWAR, DAN FITRIA SARI

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

**INTISARI:** Telah dilakukan identifikasi senyawa flavonoid dari fraksi diklorometana buah tumbuhan mempelas (*Tetracera indica*). Ekstraksi tumbuhan dilakukan dengan metode maserasi dan pemisahan senyawa dilakukan menggunakan teknik kromatografi. Hasil pemisahan diperoleh kristal berbentuk jarum berwarna kuning kehijauan seberat 4,2 mg dengan titik leleh 195 - 197°C. Munculnya puncak serapan pada spektrum UV pada 274 nm mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai ikatan rangkap terkonyugasi yang lazimnya merupakan cincin aromatis. Spektrum IR memberikan puncak absorpsi pada bilangan gelombang 3065 cm<sup>-1</sup> (C-H aromatik), 2926 - 2855 cm<sup>-1</sup> (C-H alifatik), 1659 - 1580 cm<sup>-1</sup> (C=C aromatik), 1738 cm<sup>-1</sup> (C=O) dan 1078 cm<sup>-1</sup> (C-O-C). Berdasarkan spektrum MS, berat molekul senyawa flavonoid adalah 284 gr/mol. Spektrum <sup>13</sup>C-NMR menunjukkan pergeseran kimia yang sangat mirip dengan wogonin (5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon). Berdasarkan data-data spektroskopi dan dibandingkan dengan data pada literatur dapat disimpulkan bahwa struktur senyawa flavonoid adalah 5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon.

**KATA KUNCI:** *Tetracera indica*, flavonoid, 5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon

**ABSTRACT:** Flavonoid identification from dichloromethane extract of mempelas fruit (*Tetracera indica* Merr.) was done. The extraction was done by maceration method and separation of isolated compound was conducted by chromatographic technique. Isolation result is yellow greenish crystal 4.2 mg and 195 - 197°C melting point. Peak on 274 nm at UV spectrum indicated that on isolated compound have conjugated double bond which is connected to aromatic rings. IR spectrum gave absorption peak on 3065 cm<sup>-1</sup> (C-H aromatic), 2926 - 2855 cm<sup>-1</sup> (C-H aliphatic), 1659 - 1580 cm<sup>-1</sup> (C=C aromatic), 1738 cm<sup>-1</sup> (C=O) and 1078 cm<sup>-1</sup> (C-O-C). Based on MS spectrum molecule weight of flavonoid is 284 gr/mol. <sup>13</sup>C-NMR spectrum of isolated compound showed almost same chemical shift with wogonin (5,7-dihydroxy-8-methoxyflavon). Based on data and compared with literature data can be concluded that isolated compound is (5,7-dihydroxy-8-methoxyflavon).

**KEYWORDS:** *Tetracera indica*, flavonoid, 5,7-dihydroxy-8-methoxyflavon.

September 2009

## 1 PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid adalah tumbuhan *Tetracera indica* Merr yang berasal dari famili *Dilleniaceae* dan dikenal dengan nama umum mempelas<sup>[1]</sup>. Tumbuhan jenis *Tetracera* hidup subur di kawasan hutan Asia mulai dari Malaysia, Indonesia, Thailand, Vietnam, China sampai Guiana. Dengan keanekaragaman spesiesnya, secara umum tumbuhan itu memiliki kegunaan dan manfaat yang sama yaitu sebagai anti inflamatori, antioksidan dan memiliki aktifitas hepatoprotektif; terkait dengan kandungan kimia yang terkandung di dalamnya.

Umumnya, kandungan tumbuhan *Tetracera* adalah flavonoid dan derivatnya seperti *kuersetin*, *kaempferol*, *apigenin*, *luteolin*, *mirisetin*, *ramnetin*, *isorhamnetin*, dan *azaleatin*<sup>[2]</sup>. Adapun kegunaan mempelas seba-

gai obat tradisional adalah akarnya direbus dan airnya diminum untuk menurunkan tekanan darah tinggi dan suhu badan ketika diserang demam panas. Selain itu, daunnya bisa dijadikan obat untuk penyakit gatal-gatal pada kulit<sup>[3]</sup>. Masyarakat melayu di Malaysia menggunakan serbuk dari daun mempelas kering untuk merawat radang. Selain kegunaannya sebagai obat, buah mempelas juga bisa dijadikan sebagai cuka yang digunakan dalam masakan. Batangnya yang kuat juga bisa dijadikan tali. Tumbuhan ini juga dapat dijadikan sebagai obat bagi penderita diabetes mellitus dan penderita bau mulut, tapi belum disebutkan bagian mana dari tumbuhan ini yang bisa digunakan untuk mengobati penyakit itu<sup>[4]</sup>.

Uji fitokimia terhadap buah tumbuhan mempelas menunjukkan positif flavonoid sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa yang terkandung dalam buah tumbuhan mempelas. Pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan teknik kro-

matografi.

## 2 METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, sejak bulan Januari sampai dengan Juni 2008. Pengukuran spektrum UV, IR,  $^{13}\text{C}$ -NMR dilakukan di Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong dan spektrum GC-MS dilakukan di Laboratorium Forensik dan Kriminal Mabes POLRI Jakarta.

### 2.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan terdiri dari berbagai alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, rotari evaporator R-114 Buchi dengan sistem vakum Buchi B-169, alat pengukur titik leleh Fisher Jhon, lampu UV 254 nm dan 366 nm, spektrofotometer Ultraviolet Beck DU-7500, spektrofotometer IR Shimadzu Prestige 21 dan spektrofotometer GC-MS Accilent 6890-5973, spektrofotometer  $^{13}\text{C}$ -NMR GEOL JNME 125 MHz.

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah bubuk kering buah tumbuhan mempelas (*Tetracera indica Merr.*), pelarut teknis, plat KLT silika gel G 60 F 254, silika gel G 60 (70-230 mesh), silika vakum 60 (230-400 mesh), serum sulfat 1,5 % dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N.

### 2.3 Ekstraksi Buah Tumbuhan Mempelas

Sampel buah tumbuhan mempelas di ambil dari sekitar kampus Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Sumatera Selatan pada bulan Mei 2007 dan diidentifikasi di Herbarium Anda Universitas Andalas. Sebanyak 2 kg bubuk kering buah tumbuhan mempelas dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian difraksinasi berturut-turut dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana dan etil asetat.

### 2.4 Isolasi dan Identifikasi Fraksi Diklorometana Buah mempelas

Selanjutnya dilakukan isolasi untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak pekat diklorometana. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom vakum. Eluen yang digunakan *n*-heksana dan diklorometana (8:2) yang ditingkatkan kepolarannya sampai diklorometana 100%, kemudian dilanjutkan dengan campuran eluen diklorometana : etil asetat (9:1) sampai etil asetat 100% selanjutnya dengan campuran eluen etil asetat : metanol

(9:1) sampai metanol 100%. Eluat yang terbentuk ditampung ke dalam vial-vial yang bervolume  $\pm 30$  ml. Masing-masing vial dicek dengan menggunakan KLT dan di monitor di bawah sinar UV 254 nm dan pereaksi penampak noda serum sulfat. Vial-vial yang memberikan pola noda yang sama kemudian dikelompokkan menjadi satu fraksi, sehingga dihasilkan 4 fraksi. Berdasarkan pola noda pada KLT, noda utama yang akan dipisahkan lebih lanjut adalah fraksi  $F_3$ .

Fraksi  $F_3$  sebanyak 195 mg dipisahkan dengan menggunakan kromatografi kolom flas dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (7:3). Eluat yang dihasilkan di tampung ke dalam vial-vial. Pola noda di monitor dengan KLT pada panjang gelombang 254 nm. Pola noda yang sama dikelompokkan menjadi satu fraksi.  $F_{3.1}$  (vial 1 - 16),  $F_{3.2}$  (vial 17 - 41),  $F_{3.3}$  (vial 42 - 64),  $F_{3.4}$  (vial 65 - 75),  $F_{3.5}$  (vial 76 - 80),  $F_{3.6}$  (vial 81 - 102),  $F_{3.7}$  (vial 103 - 108),  $F_{3.8}$  (vial 109 - 149),  $F_{3.9}$  (vial 150 - 159),  $F_{3.10}$  (vial 160 - 193).

Fraksi  $F_{3.3}$  selanjutnya dikromatografi kolom dengan eluen *n*-heksana : diklorometana : aseton (5:4:1). Hasil pemisahan tersebut menghasilkan kristal berbentuk jarum berwarna kuning kehijauan.

Kemurnian senyawa hasil isolasi diuji dengan pola noda pada KLT dan uji titik leleh. Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan spektrofotometer UV, IR, GC-MS,  $^{13}\text{C}$ -NMR.

## 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia memperlihatkan bahwa buah mempelas mengandung senyawa flavonoid. Ekstraksi terhadap 2 kg bubuk kering buah mempelas menghasilkan 142,83 g ekstrak kasar. Ekstrak kasar kemudian difraksinasi secara bertahap menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana dan etil asetat. Fraksi diklorometana diuji dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penampak noda serum sulfat. Hasil uji menunjukkan adanya noda berwarna kuning yang mengindikasikan adanya flavonoid.

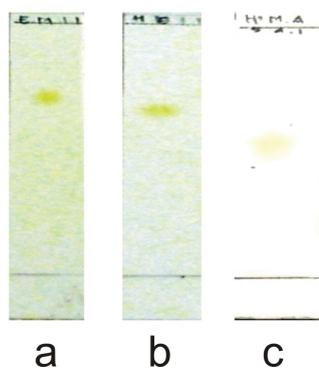
Penentuan fraksi berdasarkan hasil KLT didapatkan empat buah fraksi yakni  $F_1$  (vial 1),  $F_2$  (vial 2 - 20),  $F_3$  (vial 21 - 45) dan  $F_4$  (vial 46 - 85). Pengelompokkan fraksi ini didasarkan dari pola noda yang dihasilkan pada KLT, dari keempat fraksi,  $F_3$  merupakan fraksi yang menjadi prioritas sehingga dilakukan pemisahan lebih lanjut. Pemilihan fraksi  $F_3$  ini didasarkan dari pola noda KLT yang merupakan noda dominan serta terbentuknya noda berwarna kuning pekat setelah disemprot dengan pereaksi serum sulfat yang mengindikasikan senyawa tersebut termasuk dalam golongan flavonoid.

Fraksi  $F_3$  (195 mg) selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom flash menggunakan perbandingan eluen *n*-heksana : etil asetat (7:3). Berdasarkan pola noda pada KLT dengan menggunakan penampak noda

serium sulfat maka eluat dikelompokkan  $F_{3.1}$  sampai  $F_{3.10}$ .

Pemisahan selanjutnya adalah pemisahan fraksi  $F_{3.3}$  karena dari pola noda yang dihasilkan berbentuk bulat dan terdapat dua noda dominan yaitu noda atas berwarna kuning dan noda bawah berwarna merah setelah di semprot dengan pereaksi semprot serium sulfat. Untuk memisahkan 2 noda ini dilakukan kromatografi kolom gravitasi. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan perbandingan eluen *n*-heksana : diklorometana : aseton (5:4:1) dan menghasilkan 34 vial, kemudian dicek KLT. Hasil KLT menunjukkan senyawa dengan pola noda yang sama terdapat pada vial nomor 8 - 30. Vial-vial tersebut digabungkan sehingga menghasilkan kristal berbentuk jarum dan berwarna kuning kehijauan dengan berat 4,2 mg.

Uji kemurnian pertama dilakukan dengan melihat pola noda yang dihasilkan pada KLT dengan menggunakan variasi eluen. Kristal tersebut dikatakan murni apabila pola noda yang dihasilkan pada KLT menunjukkan satu noda. Hasil KLT setelah diberi pereaksi penampak noda serium sulfat memberikan noda berwarna kuning pada plat KLT sehingga kristal ini diduga kuat merupakan senyawa flavonoid. Uji warna memperlihatkan kromatogram KLT berwarna kuning gelap pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan tidak tampak pada panjang gelombang 366 nm.



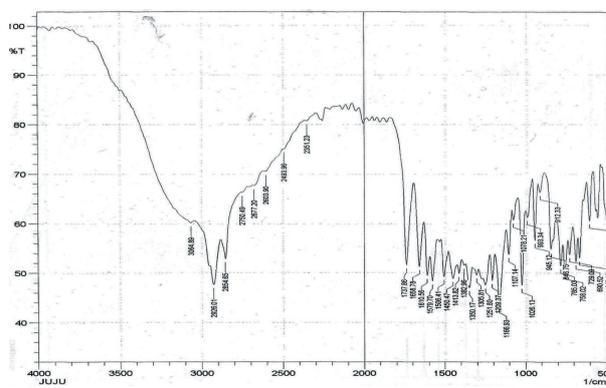
GAMBAR 1: Kromatogram uji kemurnian senyawa hasil isolasi dengan penampak noda serium sulfat; a) dengan eluen etil asetat : diklorometana (1:1), b) dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (1:1), dan c) dengan eluen *n*-heksana : diklorometana : aseton (5:4:1)

Uji kemurnian dengan pengukuran titik leleh yang memberikan nilai 195 - 197 °C dengan jarak sempit ( $\leq 2^\circ\text{C}$ ) mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi sudah murni. Kristal hasil kolom  $F_{3.3}$  selanjutnya dianalisa dengan spektroskopi UV, IR,  $^{13}\text{C}$ -NMR dan GC-MS.

### 3.1 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

Pada spektrum UV senyawa hasil isolasi muncul puncak serapan pada 274 nm yang mengindikasikan adanya ikatan rangkap terkonjugasi yang lazimnya merupakan cincin aromatik. Hal ini diperkuat dengan munculnya sinyal pada bilangan gelombang 1659-1580  $\text{cm}^{-1}$  yang berasal dari regang C=C dan 3065  $\text{cm}^{-1}$  (C-H aromatik) pada spektroskopi infra merah. Pita I spektrum UV senyawa hasil isolasi tidak terukur, hal ini mungkin dikarenakan terjadinya kesalahan atau ketidaktepatan dalam pengukuran.

Pengukuran serapan senyawa hasil isolasi dengan spektroskopi IR menunjukkan serapan karakteristik pada bilangan gelombang seperti terlihat pada Gambar 2.

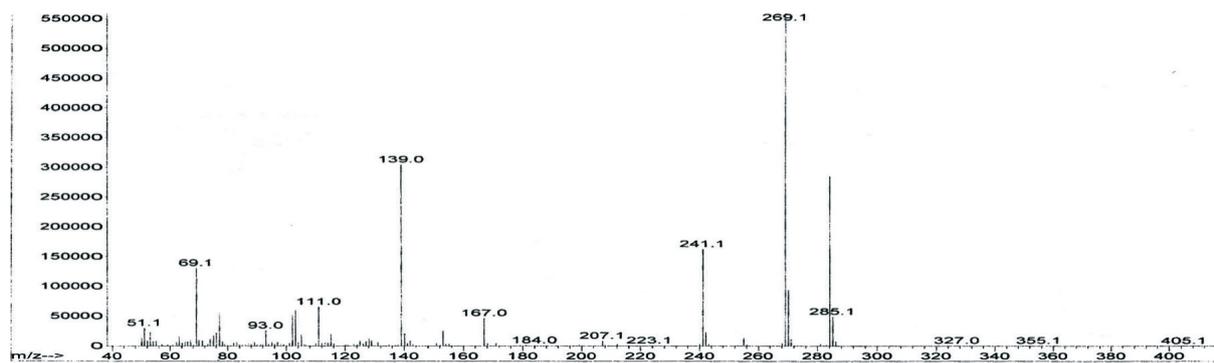


GAMBAR 2: Spektrum IR senyawa hasil isolasi

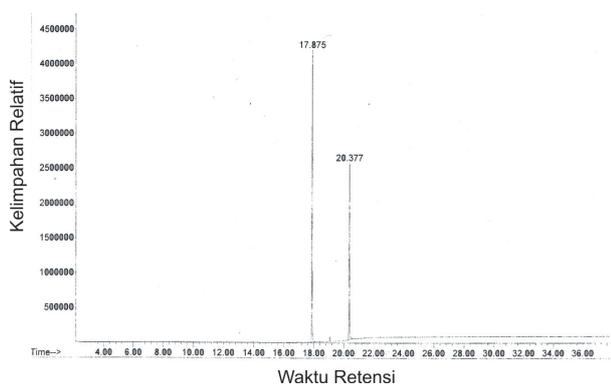
Spektrum IR memberikan informasi adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1659 sampai 1580  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus C=C aromatik dan munculnya serapan 3065  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus C-H aromatik. Pita serapan pada bilangan gelombang 1738  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus karbonil. Adanya gugus C-O-C ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 1078  $\text{cm}^{-1}$ . Pita serapan pada bilangan gelombang 2926-2855  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya regang C-H alifatik. Hal ini mengindikasikan adanya rantai alifatik, dimana rantai alifatik ini berasal dari senyawa pengotor.

Spektrum GC senyawa hasil isolasi menunjukkan 2 puncak dominan pada waktu retensi 17,875 menit dan 20,377 menit. Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat senyawa flavonid belum murni. Database hasil spektrum GC-MS menunjukkan puncak dengan waktu retensi 20,377 menit merupakan puncak dari senyawa flavonoid dan puncak pada 17,875 menit merupakan puncak ester asam lemak yaitu asam heksanadioat, bis(2-etilheksil) ester dengan nama lainnya asam adipat, bis(2-etilheksil) ester.

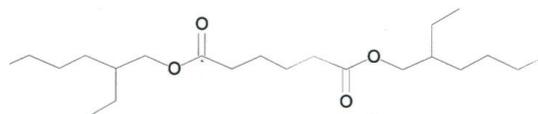
Sinyal-sinyal  $^{13}\text{C}$ -NMR ester asam lemak ini yang muncul pada daerah C-H alifatik yaitu pada daerah



GAMBAR 5: Spektrum Massa senyawa hasil isolasi



GAMBAR 3: Spektrum GC senyawa hasil isolasi



GAMBAR 4: Struktur asam heksanadioat, bis(2-etilheksil) ester

11,1662 sampai 38,8941 ppm sehingga tidak mempengaruhi sinyal  $^{13}\text{C-NMR}$  senyawa flavonoid yang umumnya muncul pada daerah C-H aromatik yaitu pada 62,2248 - 182,6558 ppm.

Spektrum massa untuk puncak dengan waktu retensi 20,377 menit memperlihatkan adanya puncak ion ( $M^{+1}$ ) pada  $m/z$  285. Pecahan cincin A dan B pada senyawa flavon menghasilkan  $A_1$   $m/z$  182 dan  $B_1$   $m/z$  102.

Hilangnya  $-\text{CH}_3$  (massa 15) sehingga menghasilkan  $m/z$  167 dari puncak  $m/z$  182 mengindikasikan adanya pola oksigenasi  $-\text{CH}_3$  pada senyawa flavon. Selain itu, muncul puncak dasar  $m/z$  139 yang terbentuk dengan hilangnya molekul  $\text{C}=\text{O}$  (massa 28) dari puncak  $m/z$  167. Hal ini lebih memperkuat dugaan bahwa terdapat gugus metoksi pada  $\text{C}_8$ .

Perbandingan geseran kimia spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$  senyawa hasil isolasi (5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon)

TABEL 1: Perbandingan sinyal  $^{13}\text{C-NMR}$ , wogonin dan senyawa isolat

Atom C	Wogonin <sup>[5]</sup> (ppm)	Senyawa Isolat (ppm)
$\text{C}_2$	130,8	131,4063
$\text{C}_3$	105,0	106,0535
$\text{C}_4$	182,0	182,6558
$\text{C}_5$	157,4	157,9420
$\text{C}_6$	99,1	99,0523
$\text{C}_7$	156,2	155,4906
$\text{C}_8$	128,3	127,0378
$\text{C}_9$	149,6	149,0618
$\text{C}_{10}$	103,7	105,4430
$\text{C}_{1'}$	163,0	163,7126
$\text{C}_{2'}$	129,2	129,4510
$\text{C}_{3'}$	126,3	126,3892
$\text{C}_{4'}$	132,1	132,1980
$\text{C}_{5'}$	126,3	126,3892
$\text{C}_{6'}$	129,2	129,4510
O- $\text{CH}_3$	61,0	62,2248

dengan geseran kimia wogonin dapat dilihat pada Tabel 1.

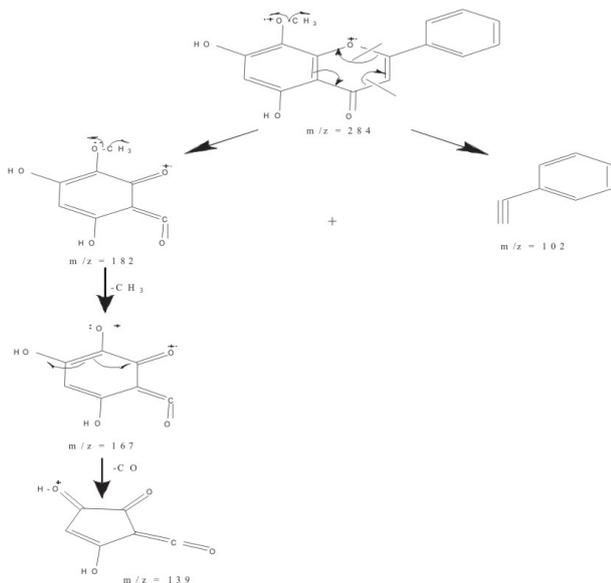
Spektrum massa untuk puncak dengan waktu retensi 20,377 menit memperlihatkan adanya puncak ion ( $M^{+1}$ ) pada  $m/z$  285. Pecahan cincin A dan B pada senyawa flavon menghasilkan  $A_1$   $m/z$  182 dan  $B_1$   $m/z$  102.

Hilangnya  $-\text{CH}_3$  (massa 15) sehingga menghasilkan  $m/z$  167 dari puncak  $m/z$  182 mengindikasikan adanya pola oksigenasi  $-\text{CH}_3$  pada senyawa flavon. Selain itu, muncul puncak dasar  $m/z$  139 yang terbentuk dengan hilangnya molekul  $\text{C}=\text{O}$  (massa 28) dari puncak  $m/z$  167. Hal ini lebih memperkuat dugaan bahwa terdapat gugus metoksi pada  $\text{C}_8$ .

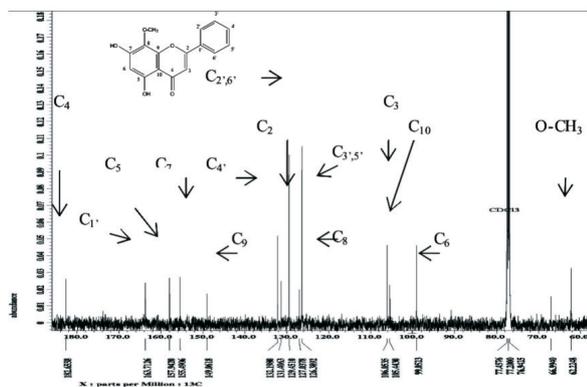
Perbandingan geseran kimia spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$

senyawa hasil isolasi (5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon) dengan geseran kimia wogonin dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan perbandingan geseran kimia <sup>13</sup>C-NMR antara wogonin dan senyawa hasil pemisahan, didapat bahwa geseran kimia antara keduanya hampir sama. Perbedaan yang ada tidak terlalu signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa struktur senyawa hasil isolasi adalah 5-7-dihidroksi-8-metoksiflavon.



GAMBAR 6: Pola fragmentasi senyawa hasil isolasi

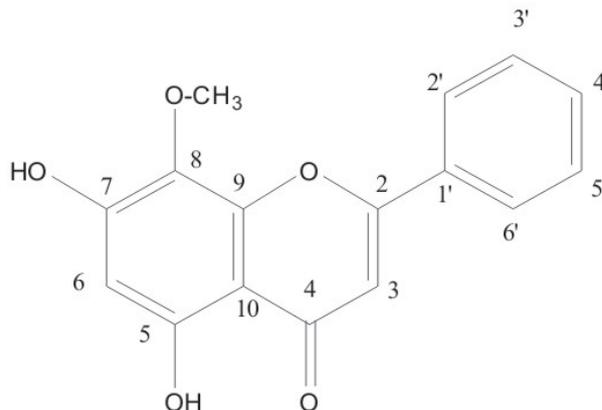


GAMBAR 7: Pergeseran kimia atom C senyawa isolat pada spektrum <sup>13</sup>C-NMR

#### 4 SIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak diklorometana buah mepelas dapat disimpulkan bahwa:



GAMBAR 8: Struktur senyawa wogonin

1. Ekstrak diklorometana sebanyak 25,7818 gr yang dipisahkan dengan teknik kromatografi menghasilkan senyawa berupa kristal berbentuk jarum berwarna kuning kehijauan seberat 4,2 mg dan memiliki titik leleh 195 - 197°C.
2. Berdasarkan uji fitokimia dan data spektroskopi dibandingkan, kuat dugaan bahwa senyawa hasil identifikasi dengan waktu retensi 20,377 menit yang memiliki berat molekul 284 gr/mol adalah flavonoid 5,7-dihidroksi-8-metoksiflavon, dengan stuktur seperti pada Gambar 8

##### 4.2 Saran

Perlu dilakukan teknik pemurnian lanjutan untuk menghasilkan senyawa hasil isolasi yang benar-benar murni dan bebas dari pengotornya dan terhadap senyawa tersebut dapat dilakukan uji aktivitas.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] \_\_\_\_\_, 2008, Nama Ilmiah Jenis Tumbuhan, [www.karantinaadisucipto.blogspot.com](http://www.karantinaadisucipto.blogspot.com), diakses tanggal 14 Agustus 2008
- [2] \_\_\_\_\_, 2005, Structure and Antiinflammatory Activity Relationships of Wogonin Derivatives, *Arch Pharm Re Pharms*, Vol 28, No 8, hal. 877-884,
- [3] \_\_\_\_\_, 2008, *Ubatan Hijau*, [www.pkukmweb.ukm.my/~achmad/tugasan/s2.99/a58721.htm](http://www.pkukmweb.ukm.my/~achmad/tugasan/s2.99/a58721.htm), diakses tanggal 14 Agustus 2008
- [4] \_\_\_\_\_, 2008, My Herba, [www.melur.com](http://www.melur.com), diakses tanggal 14 Agustus 2008
- [5] \_\_\_\_\_, 2007, Wogonin Prevents Glucocorticoid-Induced Thymocyte Apoptosis Without Diminishing Its Anti-inflammatory Action, *J. Pharmacol Sci.*, 104, hal. 355-365