

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FLAVONOID DARI BATANG *BAUHINIA EXCELSA*

Tanjung, M. dan Tjahjandarie, T.S.

Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

E-mail: mulyadi_t@fst.unair.ac.id

ABSTRAK

Dua senyawa flavonoid yakni 6C,7-O-dimetil aromadendrin (1) dan ploretin (2) telah berhasil diisolasi dari batang *Bauhinia excelsa*. Struktur senyawa ini ditetapkan berdasarkan spektrum UV, IR, MS, 1D dan 2D NMR. Uji aktivitas antioksidan senyawa 6C,7-O-dimetil aromadendrin (1) dan ploretin (2) terhadap radikal DPPH menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 1512,1 dan 638,6 μ M. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa kedua senyawa tidak aktif terhadap radikal DPPH

Kata kunci: C-metil dihydroflavonol, 6C,7-O-dimetil aromadendrin, ploretin, *Bauhinia excelsa*, Antioksidan.

ABSTRACT

Two flavonoids, 6C,7-O-dimethyl aromadendrin (1) and ploretin (2) have been isolated from the bark of *Bauhinia excelsa*. The structure of 6C,7-O-dimethyl aromadendrin (1) and ploretin (2) have been elucidated based on its spectroscopic data, including UV, MS 1D and 2D NMR spectra. The activity of radical scavenging against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), showing their IC_{50} were 1512.1 μ M. The results indicate that as 6C,7-O-dimethyl aromadendrin and phloretin were inactive

Key words: C-methyl dihydroflavonol, 6C,7-O-dimethyl aromadendrin, phloretin, *Bauhinia excelsa*, Antioxidant.

PENDAHULUAN

Bauhinia merupakan salah satu genus dari famili Leguminosae yang terdiri 300 spesies dan tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Di Indonesia tumbuhan *Bauhinia* hanya terdiri 10 spesies (Heyne, 1987). Profil fitokimia tumbuhan *Bauhinia* menghasilkan senyawa metabolit fenolik yakni senyawa golongan flavonoid dan stilbenoid (Boonphong *et al.*, 2007; Maillard *et al.*, 1991). Senyawa flavonoid dan stilbenoid dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antikanker, antimalaria, antidiabetes, antibiotik, antiinflamasi, dan antioksidan (Boonphong *et al.*, 2007; Maillard *et al.*, 1991; Salatino *et al.*, 1999; Yadava and Tripathi, 2000). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid dari batang *Bauhinia excelsa* yang sampai saat ini belum ada laporan kajian fitokimia dari tanaman ini. Dua senyawa flavonoid yakni 6C,7-O-dimetil aromadendrin (1) dan ploretin (2) telah berhasil dipisahkan dari batang *Bauhinia excelsa*. Selain kajian fitokimia, penelitian ini menguji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dari senyawa flavonoid yang berhasil diisolasi.

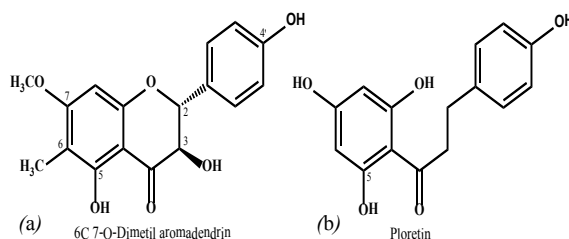
METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kromatografi vakum cair, kromatotron, spektrometer UV-Vis Shimadzu, FTIR merk Shimadzu 5300, spektrometer Agilent 500 yang beroperasi pada 500 MHz (1H) dan 125 MHz (^{13}C), dan spektrometer Waters LCT XE ESI-TOF (*Electro Spray Ionization-Time of Flight*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etilasetat, *n*-heksana, aseton, metanol, kloroform, plat KLT Kieselgel 60 GF₂₅₄ 0,25 mm (Merck), silika gel 60PF₂₅₄ (Merck), silika gel 60 GF₂₅₄ (Merck), pereaksi $CeSO_4$, pereaksi DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil), asam askorbat, dan buffer asetat

Isolasi Flavonoid dari batang *Bauhinia excelsa*

Serbuk batang *Bauhinia excelsa* (2,5 kg) diekstraksi dua kali dengan menggunakan metanol pada suhu kamar dengan cara maserasi. Ekstrak metanol, selanjutnya dipartisi dengan *n*-heksana dan etilasetat. Pemisahan dan pemurnian ekstrak etilasetat dengan kromatografi cair vakum. Eluen yang digunakan adalah *n*-heksana-etilasetat 9:1 memberikan tiga fraksi A-C. Pemisahan fraksi B dengan kromatografi kolom tekan dan pemurnian dengan kromatografi radial menggunakan eluen *n*-heksana:aseton 7:3 diperoleh senyawa 6C,7-O-dimetil aromadendrin (1) sebanyak 4,6 mg. Selanjutnya pemisahan fraksi C dengan kromatografi kolom tekan dengan eluen *n*-heksana:aseton 7:3 menghasilkan tiga subfraksi, C₁-C₃. Pemurnian subfraksi C₂ dengan kromatografi radial menggunakan eluen kloroform, kloroform-metanol 9,5:0,5 dan 9:1 diperoleh senyawa ploretin (2) sebanyak 23 mg.



Gambar 1. Senyawa flavonoid hasil isolasi

6C,7-O-dimetil aromadendrin (1), padatan kuning, UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 293,5 nm (4,27) dan 338,5 nm (3,61), (MeOH + NaOH) λ_{max} (log ϵ): 294 nm (4,43) dan 384,5 nm sh (3,28), (MeOH + $AlCl_3$) λ_{max} (log ϵ): 313,5 nm (4,34) dan 384,5 sh nm (3,28), (MeOH + $AlCl_3$ + HCl) λ_{max} (log ϵ): 293 nm (4,27) dan 426 sh nm (3,79). Spektrum HRESIMS: pada m/z 317,1016. Spektrum 1H dan ^{13}C NMR (500 MHz, aseton- δ_6) dapat dilihat pada Table 1.

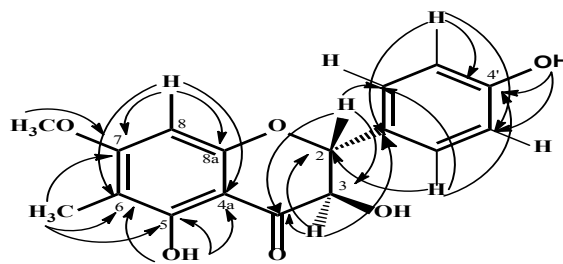
Ploretin (2), padatan kuning, UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 204 (4,53), 226,4 (3,86); dan 287,1 (3,97) nm. Spektrum HRESIMS: pada m/z 275,1667. Spektrum 1H NMR (400 MHz, aseton- δ_6) δ_H ppm: 13,91 (2H, s, 2'/6'-OH), 7,18 (2H, d, J = 8,6 Hz, H-2/6); 6,83 (2H,

$d, J = 8,6$ Hz, H-3/5); 6,00 (2H, *s*, H-3'/5'); 3,26 (2H, *t*, 7,7 Hz, H- α) dan 2,88 (2H, *t*, 7,7 Hz, H- β). Spektrum ^{13}C NMR (100 MHz, aseton- δ_6) δ_{H} (ppm): 205,4 (C=O), 166,7 (C-4'), 162,1 (C-2'/6'), 156,6 (C-4), 131,7 (C-1), 129,4 (C-2/6), 115,3 (C-3/5), 105,1 (C-1'), 94,5 (C-3'/5'), 45,3 (C- α), 29,7 (C- β).

Uji aktivitas antioksidan: Penentuan uji aktivitas antioksidan dari 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin (**1**) terhadap radikal DPPH diukur dengan spektrometer UV (Kodama, 2011). Penentuan aktivitas antioksidan masing-masing senyawa 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin dan ploreitin dilarutkan dengan 1 mL metanol dalam berbagai konsentrasi selanjutnya ditambahkan larutan 1 mL 0.1 M buffer asetat (pH 5.5) dan ditambahkan 0,5 mL DPPH 5.10^{-4} M, dan diinkubasi selama 30 menit dalam suhu ruang, selanjutnya diukur dengan spektrometer UV pada λ 517 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin (**1**) berwujud padatan kuning dengan rumus molekul $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_6$ yang menunjukkan suatu ion kuasimolekul positif $[\text{M}+\text{H}]^+$ pada m/z 317,1016; Δ -2,8 ppm menurut hasil pengukuran spektrum massa ionisasi elektrosprey resolusi tinggi (HRESIMS). Spektrum UV (MeOH) memberikan serapan λ_{maks} (log ϵ): 213 (4,19), 293,5 (4,35) dan 331,5 sh (4,08) nm serta memberikan efek batokromik dengan penambahan NaOH. AlCl_3 dan AlCl_3+HCl . Analisis spektrum ^1H NMR memperlihatkan sepasang sinyal *doublet* ($J = 11,8$ Hz) pada δ_{H} 5,11 dan 4,68 ppm yang mengindikasikan senyawa λ merupakan senyawa turunan dihidroflavonol (Tanjung, *et al.*, 2012). Sementara itu, sepasang sinyal *doublet ortho* ($J = 8,4$ Hz) pada δ_{H} 7,44 dan 6,91 ppm yang merupakan ciri sinyal proton dari *p*-hidroksi benzen yang lazim ditemukan pada cincin B. Selain itu, sinyal *singlet* pada δ_{H} 6,17 ppm sinyal proton aromatis di cincin A. Sinyal proton yang terikat pada cincin A antara lain satu sinyal *singlet* dari substituen OCH_3 pada δ_{H} 3,92 ppm dan satu sinyal *singlet* dari substituen CH_3 pada δ_{H} 1,97 ppm yang mengindikasikan substituen metil dan metoksi terikat di C-6 dan C-7. Analisis spektrum ^{13}C NMR memperlihatkan adanya 15 sinyal karbon yang mewakili 17 sinyal karbon. Hal ini disebabkan adanya dua sinyal karbon yang simetris. Sinyal karbon karbonil terkonyugasi pada δ_{C} 199,3 ppm dan dua sinyal oksikarbon pada δ_{C} 83,6 dan 72,1 ppm merupakan ciri khas kerangka dihidroflavonol. Adanya empat sinyal karbon oksiaril pada δ_{C} 165,8; 161,4; 159,7 dan 158,3 ppm merupakan ciri khas sinyal karbon senyawa turunan aromadendrin. Berdasarkan data analisis spektrum ^1H dan ^{13}C NMR menegaskan bahwa struktur senyawa **1** adalah 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin (Sinkkonen; 2005). Bukti yang mendukung hasil isolasi adalah senyawa 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin didukung oleh spektrum 2D NMR yakni berdasarkan pengukuran HMQC dan HMBC. Analisis spektrum HMBC memperlihatkan korelasi proton pada δ_{H} 11,96 ppm dengan tiga sinyal atom karbon kuartener pada δ_{C} 159,7 (C-5), 104,06 (C-4a), dan 104,79 ppm (C-6), hal ini memperkuat bahwa kedudukan substituen metil CH_3 di C-6. Korelasi yang signifikan yang mendukung senyawa 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin (**1**) dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Spektrum HMBC yang penting pada 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin (**1**)

Tabel 1. Data NMR 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin dalam $\text{DMSO}-\delta_6$

No. C	δ_{H} (multiplicitas, J)	δ_{C}	HMBC
2	5,04 (<i>d</i> , 11,6 Hz)	83,6	C-3, C-4
3	4,59 (<i>d</i> , 11,6 Hz)	72,1	C-4, C-1'
4	-	199,3	-
4a	-	101,4	-
5	-	159,7	-
6	-	104,8	-
7	-	165,8	-
8	6,17 (<i>s</i>)	91,7	-
8a	-	161,4	-
1'	-	128,0	-
2'/6'	7,28 (<i>d</i> , 8,6 Hz)	130,2	C-2, C2'/6', C-4', C-1', C3'/5', C-4'
3'/5'	6,74 (<i>d</i> , 8,6 Hz)	115,4	-
4'	-	158,3	-
6-CH ₃	1,86 (<i>s</i>)	7,5	C-5, C-6, C-7
7-OCH ₃	3,77 (<i>s</i>)	56,7	C-7
3-OH	5,77 (<i>d</i> , $J = 6,2$ Hz)	-	-
5-OH	11,78 (<i>br, s</i>)	-	C-4a, C-5, C-6
4'-OH	9,52 (<i>br, s</i>)	-	C-4', C-3'/5'

Senyawa ploreitin (**2**) berwujud padatan kuning dengan rumus molekul $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_5$ yang menunjukkan suatu ion kuasimolekul positif $[\text{M}+\text{H}]^+$ pada m/z 275,1667; Δ 1,3 ppm menurut hasil pengukuran spektrum massa ionisasi elektrosprey resolusi tinggi (HRESIMS). Analisis spektrum ^1H NMR memperlihatkan sepasang sinyal *triplet* ($J = 7,7$ Hz) pada δ_{H} 3,26 dan 2,88 ppm mengindikasikan ^1H NMR senyawa turunan dihidroalkon (Syah *et al.*, 2009). Sepasang sinyal proton aromatik, yakni sinyal *doublet ortho* ($J = 8,6$ Hz) pada δ_{H} 7,18 dan 6,83 ppm merupakan ciri sinyal proton aromatik yang tersubstitusi pada C-4 di cincin B. Adanya dua buah sinyal *singlet* yang masing-masingnya mewakili dua proton yakni δ_{H} ppm: 13,91 dan 6,00 ppm menunjukkan adanya dua buah proton yang simetris di cincin A. Analisis spektrum ^{13}C NMR memperlihatkan adanya 15 sinyal karbon yang mewakili 11 sinyal karbon yang disebabkan adanya empat karbon yang simetris sesuai dengan yang diperlihatkan pada spektrum ^1H NMR. Berdasarkan data spektrum HRESIMS, ^1H dan ^{13}C NMR maka senyawa **2** adalah 4,2',4',6'-tetrahidroksi-dihidroalkon atau dikenal dengan nama ploreitin (Qin *et al.*, 2003).

Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH senyawa 6C,7-*O*-dimetil aromadendrin (**1**) dan ploreitin (**2**) menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 1512,1 dan 638,6 μM . Berdasarkan nilai tersebut menunjukkan bahwa senyawa kedua senyawa flavonoid hasil isolasi mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Prof. Yana M. Syah, Prodi Kimia FMIPA Institut Teknologi Bandung atas pengukuran spektra NMR dan HRESIMS

SIMPULAN

Dua senyawa flavonoid, 6C,7-O-dimetil aromadendrin (**1**) dan ploretin (**2**) telah berhasil diisolasi dari batang *Bauhinia exelsa*. Struktur senyawa ditetapkan berdasarkan data spektroskopi UV, MS, 1D dan 2D NMR. Dengan ditemukan substituen 6C-metil pada senyawa 6C,7-O-dimetil aromadendrin (**1**) yang jarang ditemukan pada tanaman lain maka memberi peluang ditemukannya senyawa flavonoid baru pada genus *Bauhinia*.

DAFTAR PUSTAKA

- Boonphong, S., Puangsambat, P., Baramée, A., Mahidol, C., Ruchirawat, S. & Kitakoop, P. 2007, Bioactive Compounds from *Bauhinia purpurea* Possessing Antimalarial, Antimycobacterial, Antifungal, Anti inflammatory, and Cytotoxic Activities, *J. Nat. Prod.*, 70: 795-801.
- Heyne, K., 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Terjemahan Badan Litbang Kehutanan, Jilid III, Cetakan ke satu, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Jakarta: Departemen Kesehatan, .
- Kadoma, Y., & Seiichiro, F., 2011, Radical-Scavenging Activity of Dietary Polyphenols in Combination with co-Antioxidants Using the Induction Period Method, *Molecules*, 16, 10457-10470.
- Maillard, M. P., Recio, M. C., Saadou, M., Stoeckli E. H., and Hostettmann, K., 1991, Novel Antifungal Tetracyclic Compounds from *Bauhinia rufescens* Lam, *Helvetica Chimica Acta* 74 (77): 791-799.
- Qin, X.D. & Liu, J.K., 2003. A New Sweet Dihydrochalcone Glucoside from Leaves of *Lithocarpus pachyphyllus* (Kurz) Rehd. (Fagaceae), *Z. Naturforsch.*, 58: 759-761.
- Salatino, A., Blatt, C.T.T., Dos Santos, D.Y.A.C. & Vaz, A.F., 1999, Foliar Flavonoids of Nine Species of *Bauhinia*, *Revista Brasileira de Botânica*, 22: 17-20.
- Sinkkonen, J., Liimatainen, J., Karonen, M. & Pihlaja, K. 2005, A New Dihydroflavonol from *Pinus sylvestris* L., *Magn. Reson. Chem.*, 43: 348-349.
- Syah, Y.M., Hakim, E.H., Achmad, S.A., Hanafi, M. & Ghisalberty, E.L. 2009, Isorpenylated Flavanones and Dihydrochalcones from *Macaranga trichocarpa*, *J. Nat. Prod. Comm.*, 4: 1137-1140.
- Tanjung, M., Hakim, E.H., Elfahmi, Latif, J. & Syah, Y.M., 2012, Dihydroflavonol and Flavonol Derivatives from *Macaranga recurvata*., *Nat. Prod. Comm.*, 7 (10): 1309-1310.
- Yadava, R. N. & Tripathi, P. 2000, A Novel Flavone Glycoside from the Stem of *Bauhinia purpurea*, *Fitoterapia*, 71: 88-90.