



dapat diakses melalui <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>



Isolasi Senyawa Flavonoid Pada Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*)

Cindy C. Satolom^{a*}, Max R. J. Runtuwene^a, Jemmy Abidjulu^a

^aJurusan Kimia, FMIPA, Unsrat, Manado

KATA KUNCI

Pinang Yaki
Flavonoid
Afzelekin

ABSTRAK

Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*) adalah tanaman endemik Sulawesi Utara yang berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa biji dan kulit Pinang Yaki mengandung flavonoid (Samosir *et al.*, 2012; Mamonto *et al.*, 2014). Sekarang akan dilaporkan Isolasi Senyawa Flavonoid dari biji Pinang Yaki. Metoda yang dilakukan sebagai berikut: Ekstrak metanol difraksinasi dengan *n*-heksan, etil asetat dan air. Fraksi etil asetat dimurnikan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Kresgel G₆₀ F₂₅₄ dan Kromatografi Kolom dengan berbagai pelarut, setiap pemisahan dipandu dengan AlCl₃ 5% dalam etanol yang menampilkan warna khas dari flavonoid. Isolat murni yang didapatkan selanjutnya dikarakterisasi dengan menggunakan metode spektroskopi UV dan H-NMR. Isolat murni yang diperoleh diduga adalah Afzelekin.

KEYWORDS

Pinang Yaki
Flavonoid
Afzelechin

ABSTRACT

Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*) is a endemic plant of North Sulawesi that efficacious for various disease treatment. Same research reported that Pinang Yaki seed and skin seed contain Flavonoid compound (Samosir *et al.*, 2012; Mamonto *et al.*, 2014). This research reported isolation of Flavonoid compound from Pinang Yaki seed, The methods is: methanol ekstrak fractionating with *n*-hexane, ethyl acetate dan aquades. Ethyl acetate fraction was purified by Thin Layer Chromatography Kresgel G₆₀ F₂₅₄ method and Column Chromatography with various solvent, every separation guided by 5% AlCl₃ in ethanol which reveals the typical colour of Flavonoid compound. After that, the obtained pure isolates was characterized by various UV-Spectroscopy and H-NMR methods. The structure of isolate compound predicted as Afzelechin..

TERSEDIA ONLINE

10 Februari 2015

1. Pendahuluan

Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa fenolik yang di alam memiliki potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat (Rohyami, 2009). Menurut Suryanto (2012) menyatakan bahwa biji buah pinang mengandung senyawa-senyawa fenolik dan mempunyai aktivitas sebagai penangkal radikal bebas.

Samosir *et al.* (2012) mengatakan kandungan total flavonoid yang terkandung pada ekstrak biji

Pinang Yaki segar sebanyak 7,573 mg/kg. Total flavonoid ekstrak metanol kulit biji Pinang Yaki dari metode sokletasi didapatkan sebanyak 2,56 mg/kg (Mamonto *et al.*, 2014). Sekarang akan dilaporkan isolasi flavonoid dari biji buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*).

2. Metode

2.1. Material

Alat yang digunakan dalam penelitian, plat kromatografi lapis tipis (KLT) Kieselgel 60 GF₂₅₄

*Corresponding author: Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115; Email address: cindysatolom@yahoo.com

0,25 mm (Merck), plat oktadesilsilan (ODS) (Merck), spektrofotometer Shimadzu UV-160A, dan JOEL JNM-FX500. Bahan yang digunakan adalah sampel biji buah Pinang Yaki, berbagai pelarut, silika gel 60 for column chromatography.

2.2. Preparasi

Buah Pinang Yaki dipisahkan kulit buah, daging buah dan biji buah. Bagian biji dikering anginkan, setelah kering dipisahkan dari kulit bijinya. Biji kemudian dikeringkan lagi menggunakan oven bersuhu 40 °C, sehingga diperoleh kadar air kurang dari 10%. Sampel biji yang telah kering dihaluskan sehingga diperoleh ukuran 65 mesh.

2.3. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan menurut metode Rohyami (2009) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 900 g serbuk biji buah dimaserasi menggunakan pelarut *n*-heksana 1000 mL selama 1×24 jam. Residu dimaserasi kembali dengan menggunakan pelarut metanol 80% selama 3×24 jam. Filtrat yang diperoleh digabung dan diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental, kemudian dipanaskan dalam oven dengan suhu 40 °C selama 24 jam sehingga didapat ekstrak kering.

Proses fraksinasi dilakukan dengan cara partisi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, air. Sebanyak 73,8 g ekstrak kering hasil proses maserasi dilarutkan dalam 100 mL air. Larutan selanjutnya dipartisi dengan menambahkan 100 mL *n*-heksana.

Lapisan air sisa dari proses partisi *n*-heksana kemudian dipartisi lebih lanjut dengan etil asetat, sehingga diperoleh fraksi etilasetat dan fraksi air..

2.4. Identifikasi Total Flavonoid

Kandungan total flavonoid ekstrak biji pinang yaki ditentukan menurut metode Meda *et al* (2005).. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai mg ekvalen kuersetin/kg ekstrak.

2.5. Isolasi Senyawa Flavonoid

Isolasi dan Pemurnian dilakukan menurut Kurniati (2010) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 8,25 g dari fraksi etil asetat biji Pinang Yaki di kromatografi kolom, dengan fasa diam silika gel 60 GF₂₅₄ dan fasa gerak yaitu *n*-heksana : etil asetat. Tiap fraksi yang dihasilkan dilakukan KLT, dilihat noda yang ada dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. AlCl₃ 5% untuk mengetahui ada/tidaknya senyawa flavonoidnya. Setiap fraksi yang memiliki pola noda dan nilai R_f yang sama digabung. Kemudian di Re-kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel 60 GF₂₅₄ dan fasa gerak eluen yaitu *n*-heksana : etil asetat. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) tiap fraksi yang

dihasilkan, puncak noda dibaca menggunakan lampu UV 254 dan 365 nm. Penyemprotan AlCl₃ 5% dilakukan untuk mengetahui ada/tidaknya senyawa flavonoid.. Setiap fraksi yang memiliki pola noda dan R_f yang sam digabung. Kemudian dire-kromatografi kolom dengan fasa diam sikia gel GF₂₅₄ dan fasa gerak yaitu *n*-heksana : etil asetat. Tiap fraksi yang sama disemprot AlCl₃ 5%. Fraksi yang teridentifikasi mengandung flavonoid dilakukan kromatografi kolom dengan fasa terbalik ODS RP-18 dan fasa gerak H₂O : MeOH. Tiap fraksi yang dihasilkan diuji KLT dan kemudian disemprot dengan AlCl₃ 5%, H₂SO₄ 10%. Penyemprotan dengan H₂SO₄ dimaksudkan untuk melihat kemurnian isolat yang dihasilkan (isolat murni).

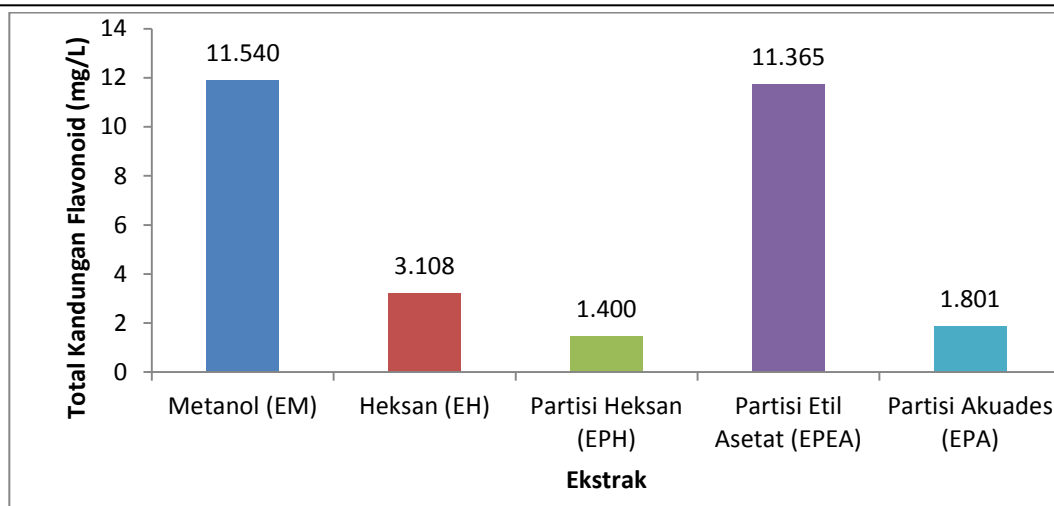
Isolat murni yang diperoleh kemudian diidentifikasi strukturnya dengan menggunakan spektrofotometer Ultra Violet (UV), dan Proton Resonansi Inti Magnet (H-NMR).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Penentuan Total Flavonoid

Total flavonoid masing-masing ekstrak dan fraksi dipaparkan pada Gambar 1. Kandungan total flavonoid dari EM dan EPEA adalah yang paling tinggi dibanding ekstrak yang lain. Menurut Markham (1988). Flavonoid aglikon seperti isoflavan, flavanon dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih larut dalam pelarut yang semi polar seperti eter, kloroform, etil asetat dan *n*-butanol, sedangkan flavonoid glikosida lebih larut dalam pelarut yang lebih polar seperti air. Untuk pelarut *n*-heksana yang bersifat non polar tidak terlalu efektif untuk melarutkan flavonoid. Jadi dari hasil ini dapat menunjukkan bahwa dalam ekstrak partisi etil asetat banyak mengandung senyawa flavonoid aglikon atau flavonoid yang tidak terikat dengan gula.

Flavonoid adalah senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang bertindak sebagai penangkal radikal bebas untuk itu perlu diketahui kandungan total flavonoid dalam suatu sampel. Struktur dasar flavonoid pada cincin A membentuk senyawa kompleks dengan Al³⁺ pada gugus hidroksi yang dapat menghasilkan warna kuning, keton dicincin C yang bsertetangga dan pada orto-dihidroksi dicincin B (Meda *et al.*, 2005). Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai mg kuersetin/L.

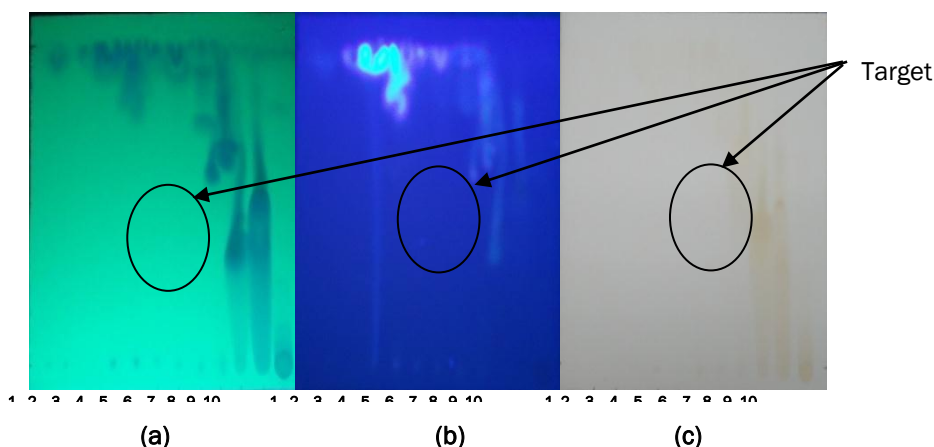


Gambar 1. Diagram Flavonoid dari ekstrak metanol (EM), ekstrak *n*-heksana (EH), ekstrak partisi *n*-heksana (EPH), ekstrak partisi etil asetat (EPEA), dan ekstrak partisi akuades (EPA)

3.2. Pemisahan dan Pemurnian

Sebanyak 8,252 g fraksi etil asetat dimurnikan menurut Kurniati (2010). Fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom, dilakukan analisis menggunakan metode KLT dengan fasa diam silika

gel $G_{60}F_{254}$ dan eluen *n*-heksana : etil asetat. Hasil analisis fraksi-fraksi dari kolom dapat dilihat pada Gambar 2.

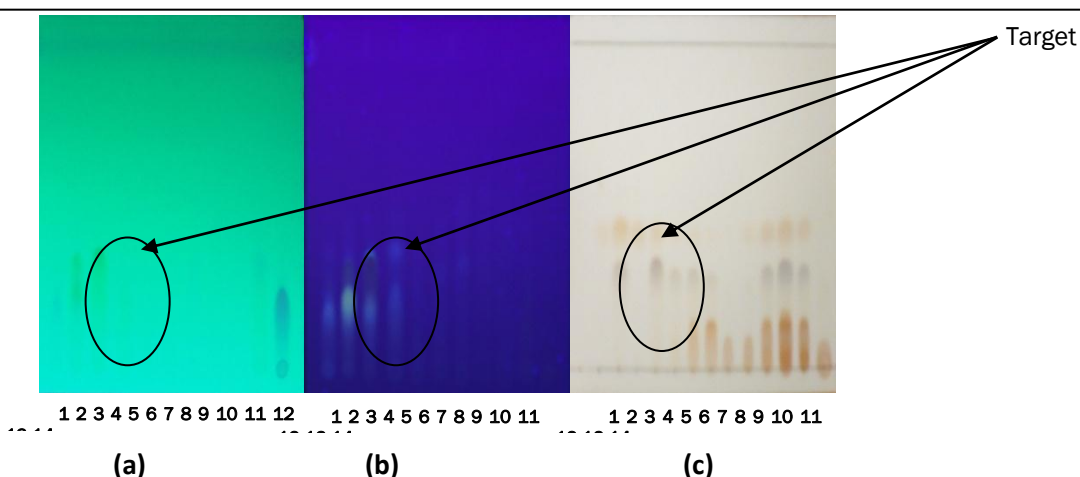


Gambar 2. Hasil kromatografi Lapis Tipis dinamakan Fraksi F-1(12) dengan fasa diam silika gel $G_{60}F_{254}$ dan eluen *n*-heksana dan etil asetat (1:1) : (a) disinari UV λ 254 nm, (b) disinari UV λ 365 nm dan (c) setelah disemprot 5% $AlCl_3$ dalam EtOH.

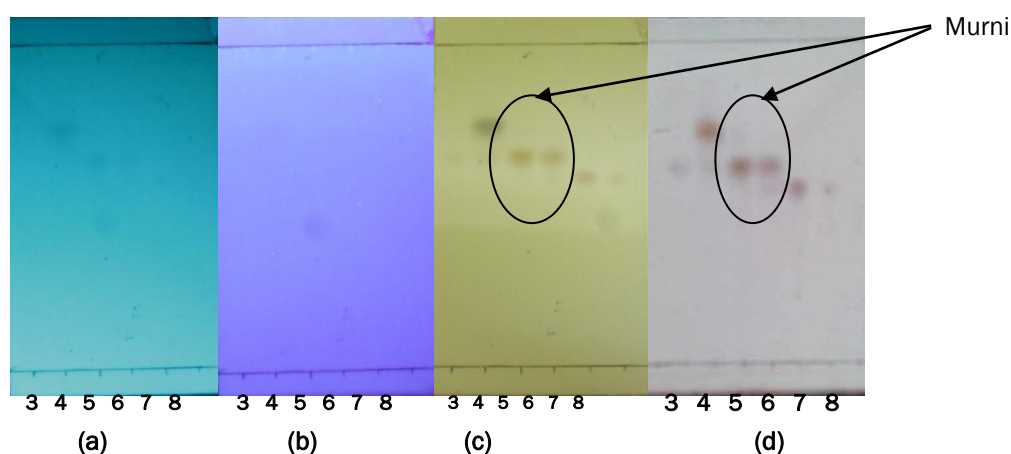
Berdasarkan hasil kolom fraksi etil asetat pada Gambar 2, diketahui bahwa fraksi F-11 memiliki masa paling banyak 9,0019 g dan pada saat di semprotkan 5% $AlCl_3$ dalam EtOH menampakkan noda warna kuning, hal ini, menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam fraksi tersebut (Markham, 1988). Selanjutnya Fraksi-11 di kromatografi kolom kembali. Hasil re-kromatografi (kromatografi ke-2), kemudian dianalisis menggunakan KLT dengan fasa diam silika gel $G_{60}F_{254}$ dan eluen *n*-heksana-etil asetat dapat dilihat el noda pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa fraksi F-1; 2; 3; dan 4 mempunyai pola noda yang sama sehingga dapat digabung. Selanjutnya fraksi gabungan direkromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel ODS (100-200 mesh) dan fasa gerak air dan metanol.

Fraksi yang dihasilkan, kemudian dianalisis menggunakan KLT dengan fasa diam silika gel ODS dan fasa gerak air - methanol. Fraksi F-5 dan F-6 mempunyai noda tunggal dan memiliki R_f yang sama (0,64) (Gambar 4).



Gambar 3. Hasil kromatografi Lapis Tipis dinamakan Fraksi F-1(-14) dengan fasa diam silika gel $G_{60}F_{254}$ dan eluen *n*-heksana dan etil asetat (3:7) : (a) disinari UV λ 254 nm, (b) disinari UV λ 365 nm dan (c) setelah disemprot 5% $AlCl_3$ dalam EtOH.



Gambar 4. Hasil kromatografi Lapis Tipis dinamakan Fraksi F-3(8) dengan fasa diam silika gel $G_{60}F_{254}$ dan eluen air dan metanol (1:1) : (a) disinari UV λ 254 nm, (b) disinari UV λ 365 nm dan (c) setelah disemprot 5% $AlCl_3$ dalam EtOH dan (d) setelah disemprot H_2SO_4 10%.

Gambar 4 menunjukkan bahwa fraksi F-5 dan F-6 adalah Isolat murni, Selanjutnya dikarakterisasi menggunakan spektrometer UV-Vis dan 1H -NMR.

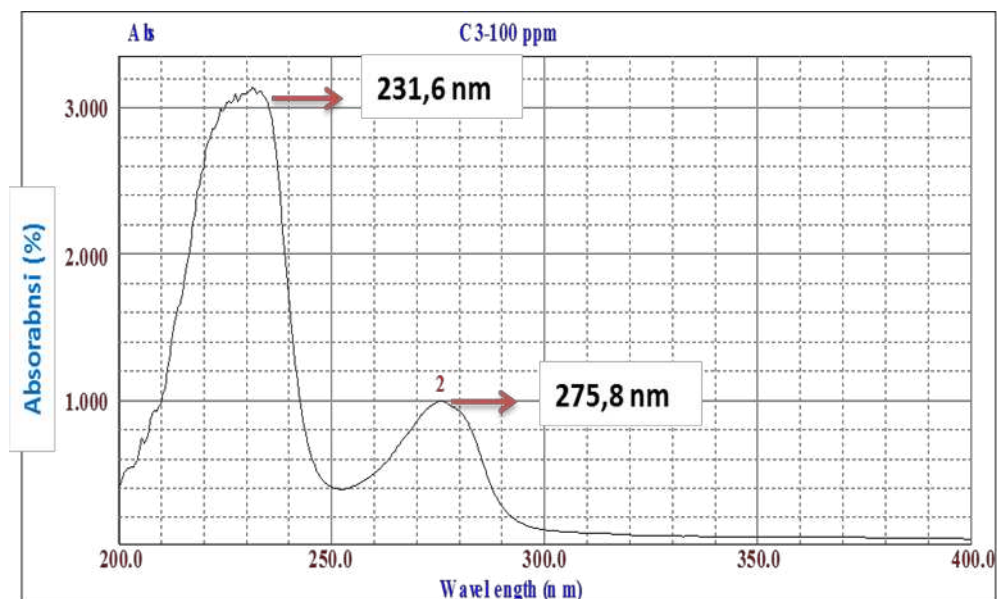
3.3. Identifikasi Spektrometer UV-Vis

Hasil spektrum UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 5. Puncak pertama 231,6 dan puncak kedua 275,8 nm, kedua puncak pada Gambar 5, membuktikan bahwa senyawa tersebut yaitu flavonoid. Menurut Supratman (2010) menyatakan bahwa pada pita benzena memiliki karakteristik untuk spektra molekul aromatik dan heteroaromatik akan menunjukkan pita serapan yang lebar mengandung puncak yang banyak pada daerah ultraviolet dekat antara 230-270 nm.

3.4. Identifikasi dengan H-NMR

Spektrum 1H -NMR isolate murni dapat dilihat pada Gambar 6. Data spektrum 1H -NMR senyawa isolat memperlihatkan 6 sinyal proton aromatik. Empat sinyal proton menunjukkan adanya sistem

A_2B_2 pada δ_H 7,22 (2H; d; 8,4); dan 6,79 (2H; d; 8,4). Multiplisitas dari sinyal tersebut merupakan ciri adanya sistem A_2B_2 dari aromatik. Hal ini diperkuat dengan adanya proton δ_H 7,22 dan δ_H 6,79 yang mempunyai *coupling constant* sebesar 8,4 Hz. Tetapan ini menandakan bahwa proton δ_H 7,22 berjodoh dengan proton δ_H 6,79, sehingga posisi dari keempat proton tersebut pada posisi orto dalam satu cincin aromatik. Sedangkan nilai $J = 1,9$ Hz pada proton δ_H 5,93 dan 5,84 ppm menunjukkan bahwa kedua proton tersebut saling berposisi meta pada cincin aromatik. Adanya sinyal multiplet yang δ_H 4,58 ppm cenderung teroksidasi; δ_H 4,60 ppm memiliki proton yang terkonjugasi dan ada dua sinyal proton dengan nilai $J = 16,2$ Hz pada proton δ_H 2,90 ppm dan proton δ_H 2,53 ppm menunjukkan bahwa kedua proton tersebut merupakan proton geminal pada posisi trans.



Gambar 5. Hasil spektrum UV-Vis senyawa isolat yang memiliki panjang gelombang pada puncak pertama yaitu 231,6 dan puncak kedua 275,8 nm.

Data $^1\text{H-NMR}$ yang diperoleh dibandingkan dengan data $^1\text{H-NMR}$ senyawa Afzelekin (Saraswahty dan Vidhya, 2012) adalah sama dapat

(Tabel 1). Dengan demikian isolate murni yang diperoleh diduga adalah Afzelekin suatu senyawa flavanoid.

Tabel 1. Data $^1\text{H-NMR}$ Senyawa isolat dan Afzelekin

δ_{H} (Int, mult, J =Hz)	
Senyawa Isolat 500 MHz	Afzelekin 400 MHz
-	-
4,60 (1H;d)	4,61 (1H;d)
4,58 (1H;m)	4,0 (1H;m)
2,90 (1H;dd; 16,2 & 5,8)	2,90(1H; dd; 16,0 & 5,6)
2,53 (1H;dd; 16,2 & 8,4)	2,52 (1H; dd; 16,0 & 8,4)
-	-
5,91 (1H;d; 1,9)	5,95 (1H;d;2,0)
-	-
5,82 (1H;dd; 1,9)	5,86 (1H;d;2,0)
-	-
-	-
-	-
7,22 (1H;d; 8,4)	7,23(1H;d;8,8)
6,79 (1H;d; 8,4)	6,80 (1H;d;8,8)
-	-
6,79 (1H;d; 8,4)	6,80 (1H;d;8,8)
7,22 (1H;d; 8,4)	7,23(1H;d;8,8)

4. Kesimpulan

Kandungan senyawa flavonoid yang terkandung di dalam biji *Areca vestiaria Giseke* yaitu senyawa flavonoid yang merupakan golongan flavan-3-ol.

Daftar Pustaka

- Kurniati, D., 2010. Senyawa 4', 6, 6', 8-Tetrahidroksi-3-metoksi flavon yang beraktivitas toksik dan antioksidan dari buah Merah (pandanus conoideus Lam.) [skripsi]. FMIPA UNPAD, Jatinangor.
- Mamonto, I. S., M. R. J. Runtuwene., dan F. Wehantouw. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Biji Buah Pinang Yaki (*Areca Vestiaria Giseke*). *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. **3**: 263-272.
- Markham, K.R. 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoida*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. ITB Press, Bandung.
- Meda, A., C.E. Lamien., M. Romito., J. Milliogo., dan G.O. Nacoulina. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid, and proline content in Burkina fasan money, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. **91**: 571-577
- Rohyami, Y. 2009. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl). *International Standard Serial Number*. **1**: 1-8.
- Samosir, P.A., M.R.J. Runtuwene., dan C. Gayatri. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Total Flavonoid pada Ekstrak Etanol Pinang Yaki (*Areca vestiaria*). *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. **2**: 1-6.
- Supratman, U. 2010. *Struktur Organik. Metode spektroskopi untuk penentuan struktur senyawa organik*. Widya Padjadjaran, Bandung.