

2, 4, 6-Trihidroksi Benzofenon dari Kulit Batang *Garcinia balica* Miq

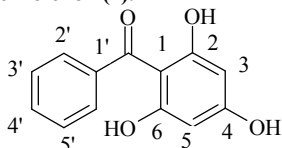
Retno Purbowati dan Taslim Ersam

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: paktichem@gmail.com

Abstrak—Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat kulit batang *Garcinia balica* Miq. Proses ekstraksi dengan pelarut etil asetat didapatkan fraksi kering, kemudian difraksinasi menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dan dilanjutkan dengan metode Kromatografi Eksklusi Ukuran. Senyawa yang diisolasi berupa padatan amorf berwarna kuning kecoklatan dengan titik leleh sebesar 215-216°C. Penentuan struktur senyawa dilakukan dengan analisis UV, IR, ^1H dan ^{13}C NMR. Senyawa yang diisolasi diketahui merupakan senyawa 2, 4, 6-trihidroksi benzofenon (1).



Kata Kunci—*Garcinia balica*; benzofenon.

I. PENDAHULUAN

INDONESIA memiliki hutan tropis yang sangat luas dan kaya dengan aneka ragam spesies tumbuhan [1]. Keanekaragaman ekosistem dalam hutan tropis mempunyai hubungan langsung dengan tingginya keanekaragaman hayati dan tingkat endemik [2]. *Garcinia* merupakan salah satu genus tumbuhan tropis dari famili Clusiaceae. Tumbuhan ini merupakan salah satu genus terbesar dengan 400 spesiesnya tersebar luas di kawasan tropis Asia, Kaledonia Baru dan Polinesia [3]. Penelitian mengenai kandungan kimia dari genus *Garcinia* telah banyak dilakukan, diantaranya adalah guttiferones Q-S [4], 5'-bromo-2'-hidroksi-4, 4; 6'-trimetoksi chalkon [5], dulcisoflavin [6]. Genus ini dilaporkan banyak kandungan senyawa santon teroksigenasi dan terprenilasi [7]. Tetapi beberapa diantaranya juga menghasilkan senyawa benzofenon terprenilasi, biflavonoid dan kumarin [8].

Garcinia balica Miq, salah satu spesies dari genus *Garcinia* merupakan tumbuhan endemik yang dapat ditemukan di Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur. *Garcinia balica* Miq dikenal dengan nama daerah yaitu mundu alas. Tumbuhan ini digunakan secara tradisional sebagai obat kulit, antibengkak, antimalaria, dan antihipertensi [9]. Hasil penelitian sebelumnya mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan ini diantaranya adalah senyawa 5,7-dihidroksi-8-(1,2-dihidroksi-3-metilbutenil-3)-4-fenilkumarin dari ekstrak etil asetat pada bagian batang yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, 5-hidroksi 4-fenilkumarin dan 7-hidroksi 4-fenilkumarin.

Hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan *G. balica* Miq mempunyai banyak kandungan senyawa metabolit

sekunder aktif. Bagian-bagian tertentu pada tumbuhan biasanya berpeluang untuk mendapatkan senyawa yang sama atau bahkan berbeda sehingga dibutuhkan penelitian lebih lanjut terhadap *G. balica* ini.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Fraksinasi

Sebanyak 603.0 mg fraksi kering ekstrak etil asetat kulit batang *G. balica* dilakukan pemisahan menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi. Pemisahan menggunakan pelarut etil asetat: n-heksana dengan peningkatan kepolaran sebesar 40%, 50%, 70%, etil asetat 100% dan metanol 100%.

Hasil dari pemisahan ini ditampung pada vial 100 mL sebanyak 27 vial dengan volume tampungan sekitar 50 mL. Selanjutnya dilakukan pemantauan noda pada semua vial dengan mengelusi plat KLT menggunakan pelarut etil asetat: n-heksana 80% dengan memilih vial bernomor genap.

Proses selanjutnya dilakukan penggabungan vial berdasarkan gabungan Rf yang sama pada plat KLT. Hasilnya didapatkan lima fraksi yaitu A, B, C, D dan E.

Setelah didapatkan lima fraksi, dilakukan pemisahan fraksi B menggunakan metode sephadex LH-20 dengan eluen metanol: diklorometana 1:1 menghasilkan 10 subfraksi yaitu B1-B10. Selanjutnya dilakukan pemantauan noda senyawa menggunakan KLT. Profil noda dengan Rf yang sama digabungkan menghasilkan BG1(0.7 mg), BG2(2 mg), BG3(.3 mg), BG4(4 mg) dan BG5(10.5 mg). Dari hasil KLT, BG5 menunjukkan spot noda tunggal yang mengindikasikan bahwa subfraksi tersebut sudah murni.

B. Proses Pemurnian dan Uji Kemurnian

Pada proses uji kemurnian, dilakukan pengujian 3 eluen berbeda dengan menggunakan perbedaan kepolaran eluen. Proses ini menggunakan campuran eluen yaitu metanol: diklorometana 20%, etil asetat: n-heksana 80%, dan etil asetat: kloroform 70%. Proses ini untuk mengetahui profil noda tunggal pada posisi atas, tengah, dan bawah.

C. Pengujian Spektrofotometer UV

Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a. dan digunakan sebagai larutan stok dalam pengujian. Larutan metanol-sampel diukur absorbansinya pada λ 200-600 nm dengan menggunakan blanko metanol. Larutan sampel yang sama ditambah 3 tetes NaOH dan diukur absorbansinya.

Larutan sampel yang baru ditambah 6 tetes AlCl_3 dan diukur pula absorbansinya. Dilakukan hal yang sama untuk larutan sampel yang telah ditambah AlCl_3 dan 3

tetes HCl. Kemudian diambil larutan sampel baru dan ditambah ± 100 mg CH_3COONa lalu diukur pula absorbansinya. Prosedur yang sama dilakukan untuk larutan sampel yang telah ditambah CH_3COONa dan ± 100 mg H_3BO_3 .

D. Pengujian Spektrofotometer IR

Senyawa hasil isolasi diambil ± 1 mg dan digerus dalam KBr sampai homogen. Dibuat pelet dengan ketebalan ± 1 mm dan diukur serapannya pada bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1} .

E. Pengujian Spektrofotometer NMR

Sebanyak 20 mg senyawa hasil isolasi dilarutkan dalam aseton- d_6 . Selanjutnya sampel yang sudah dilarutkan tersebut diinjeksikan ke dalam tabung NMR dan dianalisis untuk mendapatkan data spektra ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi dan Fraksinasi

Fraksi kering berbentuk serbuk kasar berwarna kuning dengan massa yaitu 601.0 mg. Sebelum dilakukan proses pemisahan, terlebih dahulu dilakukan uji eluen untuk mengetahui eluen yang tepat pada proses pemisahan. Fraksi kering diambil ± 1 mg dan diuji kelarutannya. Dari hasil uji kelarutan, diketahui bahwa fraksi ini larut pada metanol dan etil asetat dan tidak larut pada diklorometana dan n-heksana. Selanjutnya, fraksi yang larut dipindahkan ke dalam vial berukuran 10 ml dan ditambahkan metanol sampai konsentrasinya tidak terlalu pekat. Dilakukan pengujian eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu etil asetat-diklorometana 50%, etil asetat-n-heksana 70%, dan metanol-diklorometana 50%. Pemisahan yang bagus didapat dengan menggunakan eluen etil asetat-n-heksana 70%, maka untuk proses pemisahan selanjutnya akan digunakan eluen tersebut dengan tingkat kepolaran yang bervariasi dimulai dari kepolaran yang rendah. Hal ini bertujuan agar senyawa-senyawa di bagian atas dapat terelusi terlebih dahulu.

Proses pemisahan menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi untuk mendapatkan hasil pemisahan yang baik, karena senyawa target berjarak sangat dekat dengan senyawa lainnya. Eluen yang digunakan yaitu etil asetat: n-heksana 40%, 50%, 70%, etil asetat 100%, dan metanol 100%. Pemisahan ditampung pada vial 100 ml dengan menampung sekitar 70% volume. Setiap peningkatan kepolaran, dilakukan monitoring terlebih dahulu apakah noda yang muncul sudah mulai berkurang intensitasnya. Dari hasil tersebut, didapatkan sebanyak 27 vial. Selanjutnya, semua hasil tampungan tersebut dilakukan uji KLT untuk mengetahui profil noda. Pengujian dilakukan pada vial bernomor genap.

Profil noda yang sama kemudian digabung dan diperoleh subfraksi A (98.3 mg), B (110 mg), C (150.33 mg), D (81.5 mg), E (98.9 mg) (Gambar 4.3). Dilakukan proses pemisahankembali menggunakan sephadex LH-20 pada subfraksi B yang menghasilkan B1 (0.2 mg), B2(0.5 mg), B3 (0.99), B4 (1.01 mg), B5 (0.09 mg), B6 (0.21 mg), B7 (1.35 mg), B8 (2.65 mg), B9 (9.5 mg), B10 (1 mg). Dari hasil pemisahan menggunakan sephadex LH-20, dilakukan uji KLT untuk mengetahui profil noda dengan R_f yang sama. Berdasarkan hasil

monitoring KLT, subfraksi B1-B10 digabung menghasilkan subfraksi BG1 (0.7 mg), BG2 (2 mg), BG3 (0.3 mg), BG4 (4 mg) dan BG5 (10.5 mg).nDilakukan pemantauan kembali untuk mengetahui profil noda. Hasilnya didapat bahwa profil noda BG5 tunggal. Karena noda terlihat tunggal, maka dilakukan uji tiga eluen dengan tingkat kepolaran berbeda untuk mendapatkan hasil noda tunggal pada tiga titik yaitu atas, tengah dan bawah.

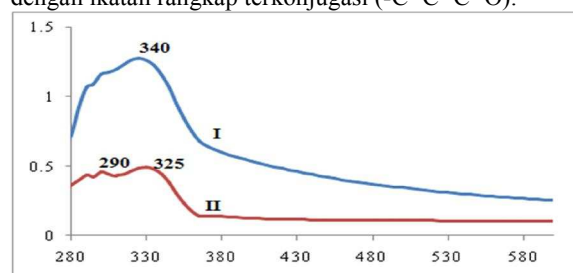
B. Proses Pemurnian dan Uji Kemurnian

Dari uji tiga eluen, untuk noda tunggal posisi atas didapat dengan menggunakan eluen metanol-diklorometana 20%. Noda tunggal pada posisi atas menunjukkan bahwa sudah tidak terdapat senyawa lain di posisi bawah senyawa tersebut. Untuk noda tunggal posisi tengah, didapat dengan eluen etil asetat-diklorometana 80%. Posisi noda tunggal di tengah menunjukkan bahwa sudah tidak terdapat senyawa lain di posisi atas dan bawah senyawa tersebut. Pada posisi noda tunggal bawah, eluen yang digunakan yaitu etil asetat-kloroform 70%. Posisi noda tunggal bawah menunjukkan bahwa tidak terdapat senyawa lain di atas senyawa tersebut.

Setelah dilakukan uji 3 eluen, maka dilakukan uji titik leleh. Padatan hasil isolasi senyawa berbentuk serbuk halus kecoklatan dengan massa sebesar 10.5 mg. Uji titik leleh mendapatkan hasil yaitu sebesar 215-216 $^{\circ}\text{C}$. Hasil tersebut sesuai dengan indikator senyawa murni yang mulai meleleh sampai meleleh seluruhnya dengan rentang $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

C. Penentuan Struktur

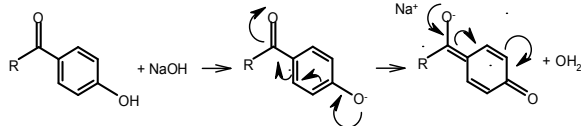
Spektrum UV-Vis (Gambar 1) menunjukkan spektrum UV-Vis dengan dua puncak serapan pada 290 nm (pita II) dan 325 nm (pita I). Pada penelitian ini, spektrum pada pita II berada pada panjang gelombang 290 nm. Hal ini mengindikasikan adanya eksitasi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ yang merupakan kromofor khas sistem ikatan rangkap terkonjugasi ($-\text{C}=\text{C}=\text{C}-$) pada cincin aromatik. Pada pita I dengan panjang gelombang 325 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari $n \rightarrow \pi^*$ yang merupakan kromofor khas untuk sistem terkonjugasi dari heteroatom dengan ikatan rangkap terkonjugasi ($-\text{C}=\text{C}=\text{C}=\text{O}$).



Gambar 1. Spektrum UV-Vis senyawa 1 dalam MeOH dan MeOH+NaOH

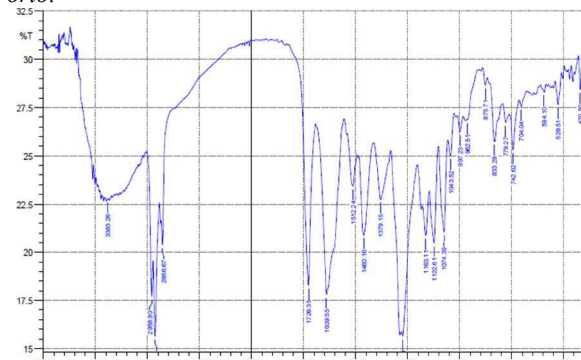
Setelah ditambahkan NaOH terjadi pergeseran batokromik pada pita I sebesar 15 nm dari panjang gelombang 325 nm menjadi 340 nm. Hal ini terjadi karena pengaruh auksokrom. Auksokrom merupakan gugus fungsi yang tidak menyerap energi cahayanya sendiri akan tetapi dapat meningkatkan intensitas warna yang diserap kromofor karena terdapat ikatan rangkap terkonjugasi, seperti gugus $-\text{OH}$ [10]. Gugus hidroksi merupakan pendorong elektron yang kemudian

mengalami kesetimbangan keto-enol dengan gugus karbonil yang terletak pada posisi *para* (Gambar 1) [11].



Gambar 2. Kesetimbangan keto-enol dengan NaOH

Pada saat penambahan AlCl_3 tidak terjadi pergeseran batokromik maupun hipsokromik. Tetapi ketika ditambahkan HCl terjadi pergeseran batokromik sebesar 50 nm pada pita I. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa senyawa ini mempunyai gugus OH khelat tapi tidak tersubstitusi posisi *orto*. Ketika ditambahkan CH_3COONa tidak menunjukkan adanya pergeseran batokromik tetapi pada saat ditambahkan H_3BO_3 terjadi pergeseran batokromik. Hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa ini tidak memiliki substituen hidroksi pada posisi *orto*.



Gambar 3. Spektrum senyawa 1 dalam plat KBr

Analisis selanjutnya adalah spektrofotometer IR pada bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1} yang menunjukkan beberapa pita khas dari suatu gugus fungsi. Pita-pita serapan yang khas diantaranya adalah 3383 cm^{-1} , 2926 cm^{-1} , 2856 cm^{-1} , 1726 cm^{-1} dan 1639 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 3100-3500 cm^{-1} melebar menunjukkan adanya gugus hidroksi (-OH). Bilangan gelombang 1639 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil terkhelet dengan didukung bilangan gelombang pada 3383 cm^{-1} yang mencirikan gugus hidroksi yang terikat [12]. Selanjutnya bilangan gelombang 2926 cm^{-1} dan 2856 cm^{-1} menunjukkan C-H alifatik. Sedangkan serapan pada panjang gelombang 1512 cm^{-1} merupakan serapan khas untuk ikatan cincin aromatik, dimana data ini menguatkan data dari spektrum UV [13].

Analisis struktur berikutnya menggunakan NMR, baik ^1H -NMR maupun ^{13}C -NMR. Proses analisis menggunakan pelarut aseton- d_6 dan diukur pada frekuensi 500 MHz dan 125 MHz. Data yang diperoleh berupa pergeseran (δ) ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR yang berisi informasi tentang jenis lingkungan proton maupun karbon, multiplisitas dan jumlah proton atau integritas. Dalam ^1H -NMR juga dikenal data berupa konstanta kopling yang memberikan informasi berupa jarak antara 2 pergeseran pada serapan proton yang sama.

Pada spektrum ^1H -NMR, diketahui terdapat sinyal proton pada pergeseran (δ , ppm) 12,34 ppm (1H, brs) menunjukkan gugus OH yang terkhelet dengan karbonil. Data ini menguatkan analisis spektrum UV-Vis bahwa terdapat gugus karbonil terkhelet. Sinyal-sinyal proton pada 7,07 ppm dan 6,74 ppm (1H, *d*, $J=7,6$ Hz) menunjukkan sinyal proton aromatis. Pada 12,34 ppm

menunjukkan adanya gugus karbonil terkhelet, sedangkan pada sinyal 6,90 ppm menunjukkan gugus OH bebas.

Tabel 1.

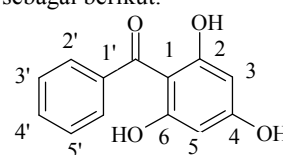
Data perbandingan pergeseran (δ) ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa 1 dan senyawa 10

NO	δ_{H} (ppm)		δ_{C} (ppm)	
	(1)	(10)	(1)	(10)
1			101,96	105,83
2	12,34 (s)	10,59 (s, 1H)	161,00	161,71
3	5,92 (s)	5,83 (s, 2H)	94,89	95,75
4			164,25	164,37
5	5,98 (s)	5,83 (s, 2H)	96,01	95,75
6			163,33	161,71
1'			145,59	145,13
2'	6,74 (<i>d</i> , $J=7,6$ Hz)	7,68 (<i>d</i> , $J=8,2$ Hz, 2H)	129,02	129,47
3'	5,71 (<i>d</i> , $J=11,8$ Hz)	7,89 (<i>d</i> , $J=8,2$ Hz, 2H)	128,71	133,17
4'			84,12	114,35
5'			119,89	119,53
6'			128,71	133,17
C=O			197,76	197,09

Analisis selanjutnya yaitu spectrum ^{13}C -NMR. Terdapat sinyal-sinyal pada pergeseran kimia (δ_{C} , ppm) yaitu Pergeseran pada 197,6 ppm menunjukkan adanya gugus karbonil terkhelet dari suatu benzofenon [14]. Data tersebut menguatkan data analisis spektra UV-Vis dan IR pada pembahasan sebelumnya.

Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR dari senyawa 1 kemudian dibandingkan dengan 4-(2,4,6-trihydroxybenzoyl) benzonitrile (senyawa 10). Dari data perbandingan spektrum, diketahui bahwa senyawa perbandingan mempunyai gugus CN dengan pergeseran ^{13}C -NMR pada 114,35 ppm sedangkan pada senyawa 1 tidak muncul pada pergeseran tersebut sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa 1 tidak mempunyai substituen CN. Perbandingan kedua senyawa tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Sesudah membandingkan data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR antara senyawa 1 dengan senyawa 10 serta analisis UV dan IR sehingga senyawa 1 dapat digambarkan sebagai berikut:



IV. KESIMPULAN

Dari isolasi ekstrak etil asetat batang *Garcinia balica* Miq didapatkan senyawa 2, 4, 6-trihidroksi benzofenon (1). Senyawa ini berupa *powder* berwarna kuning kecoklatan dengan titik leleh sebesar 215-216°C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada tim penelitian Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis, Jurusan Kimia FMIPA ITS serta semua pihak yang turut membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Steinlin dkk. 1988. *Menuju Kelestarian Hutan Edisi Pertama*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- [2] Ersam, T. (2001). *Senyawa Kimia Mikromolekuler Beberapa Tumbuhan Artocarpus Hutan Tropika Sumatera Barat*. Disertasi, PPs, ITB, Bandung.
- [3] Merza, J. (2004). *Prenylated Xanthon and Tocotrienol from Garcinia virgate*. *Phytochemistry*. 65: 2915-2920.
- [4] Nguyen, Hiep D., Trinh, Bihn T.D., Nguyen*, Lien-Hoa D. (2011). *Guttiferones Q-S, cytotoxic polyisoprenylated benzophenones from the pericarp of Garcinia cochinchinensis*. *Phytochemistry Letters* 4. 129-133.
- [5] Ilyas*, M., Perveen^a, Mehtab, Shafiullah^b, Ahmad^a, Syed M. (2002). *A novel chalcone from Garcinia nervosa*. *J. Chem. Research (S)*. 231-233.
- [6] Deachathai, S., Mahabusakaraman, W., Phongpaichit, S., Taylor, W.C. (2005). *Phenolic Compounds from Garcinia dulcis*. *Phytochemistry*. 23. 130-137.
- [7] Peres, V., Nagem, T.J. Oliveira, F.F. (2000), *Trioxxygenated Naturally Occuring Xanthones*. *Phytochemistry*. 55. 684-710.
- [8] Ali, S., Goundar, R., Sotheeswaran, S., Beaulieu, C., Spine, C. (2000). *Benzophenones of Garcinia pseudoguttifera*. *Phytochemistry*. 53. 281-284.
- [9] Sari, R. dan Hanan, A. (2000). *Garcinia (Clusiaceae) di Kebun Raya Bogor: Fisiognomi, Keanekaragaman dan Potensi*. Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional. Kebun Raya Bogor
- [10] Cairns, Donald. (2008). *Intisari Kimia Farmasi, Edisi 2*. Jakarta: EGC.
- [11] Ito, C., Miyamoto, Y., Nakayama, M., Kawai, Y. (1997). A Novel Depsidone and Some New Xanthones from *Garcinia* Species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 45 (9), 1403-1413.
- [12] Nedialkov, P.T. Kitanov, G.M. (2000). *Two benzophenone- α -arabinosides and a Chromone from Hypericum annulatum*. *Phytochemistry*. 59. 867-871
- [13] Chin, Yi-Ping, Huang, Wei-Jan, Hsu, Feng-Lin, Lin, Yuh-Ling, Ling, Mei-Hsuang. (2011). *Synthesis and Evaluation of Antibacterial Activities of 5,7-Dihydroxycoumarin Derivatives*. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci*. 11. 386-393