

**HUBUNGAN SENYAWA
FLAVONOID DARI KULIT BATANG
Erythrina Fusca L. DENGAN UJI
AKTIVITASNYA SEBAGAI
SUNSCREEN**

**Fatmawati, N., Anggreini, N., Firmansyah, M.,
Y., Erdityo, C., W., Yunilawati E.,**

Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas
Airlangga,
Kampus C UA, Surabaya, Indonesia

Abstract

*The Objective of this research to isolate and identify phenolic compounds from the stem bark of *Erythrina fusca L.* and determine sunscreen activity, yielded pterocarpin compound, sandwicensin. This compound isolated and purified by various chromatographic techniques, such as liquid vacuum chromatography, flash column chromatography, and radial chromatography. Structure of sandwicensin was elucidated based on spectrophotometric method such as UV, IR, HR-ESIMS, ¹H and ¹³C NMR also 2D NMR (HMOC and HMBC). Sunscreen activity of sandwicensin obtained by calculating % T eritema and % T pigmented from the UV Spectrophotometre showing a sunscreen activity.*

Keywords: *Flavonoid compound,
Sandwicensin, *Erythrina fusca L.*,
Sunscreen*

1. PENDAHULUAN

Indonesia termasuk negara yang berada di daerah tropis yang beruaca rata-rata panas. Kondisi iklim ini terlihat dari intensitas sinar matahari yang terpancar cukup tinggi. Penyinaran matahari mempunyai efek yang menguntungkan juga mempunyai efek yang merugikan bagi manusia.

Seiring dengan terjadinya kerusakan lingkungan dan penipisan lapisan ozon, maka sinar matahari memiliki dampak yang merugikan bagi manusia. Selain dapat membantu pembentukan vitamin D yang dibutuhkan oleh tulang, matahari juga dapat berbahaya bagi kulit jika terlalu lama beraktivitas sehingga dapat mengakibatkan

penyakit kulit salah satunya adalah kanker kulit.

Sunscreen merupakan suatu sediaan yang memiliki aktivitas untuk memperbaiki sel yang rusak dikarenakan paparan sinar UV yang berlebih. Sediaan *sunscreen* ini digunakan untuk menyerap gelombang UV sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit kulit karena cahaya matahari. *Sunscreen* memiliki dua mekanisme utama yaitu mengabsorpsi sinar UV dan mengubahnya menjadi bentuk panas, serta menghamburkan dan memantulkan energi sinar UV.

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia setelah Brazil dengan sekitar 30 ribu spesies tanaman yang berkhasiat dalam pengobatan. Tanaman yang berkhasiat obat baru sekitar 180 spesies oleh industri obat tradisional (Herlina, 2006). Tumbuhan endemik yang ada di Indonesia yang telah digunakan sebagai obat tradisional salah satunya berasal dari genus *Erythrina*. *Erythrina* merupakan salah satu tumbuhan yang termasuk famili Leguminosae terdiri dari 110 spesies yang tersebar di wilayah tropis dan subtropis (Masaaki Ozawa, et.al. 2010). Dari 110 spesies *Erythrina*, hanya terdapat beberapa spesies yang diteliti di Indonesia, diantaranya *Erythrina variegata*, *Erythrina subumbrans*, dan *Erythrina cristagalli*.

Tumbuhan *Erythrina* banyak dimanfaatkan secara tradisional diantaranya untuk mengobati demam, sakit kepala, obat cuci mata, dan melancarkan haid (Heyne, 1987). Selain karakteristik biologi, dan kegunaannya, tanaman *Erythrina* telah menjadi objek kajian fitokimia yang akhir-akhir ini banyak menarik minat para peneliti.

Belakangan ini selain menghasilkan senyawa-senyawa golongan alkaloid, tanaman *Erythrina* juga menghasilkan senyawa metabolit sekunder lainnya diantaranya flavonoid, kumarin, kromon, asam sinamat dan stilbenoid. Golongan flavonoid yang dihasilkan dari tanaman *Erythrina* antara lain dari turunan flavanon, kalkon, flavon, pterokarpan, isoflavanon, isoflavan, dan isoflavan yang telah diketahui bioaktivitasnya sebagai antimalaria, antikanker, antimikroba, dan antioksidan.

Penelitian kali ini diharapkan dapat mengisolasi senyawa flavonoid dari *Erythrina fusca* L. yang sampai saat ini belum ada laporan kajian fitokimia yang berasal dari kulit batang tanaman ini serta menentukan struktur molekulnya dan uji aktivitas *sunscreen*.

2. METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat kromatografi kolom vakum cair, seperangkat alat kromatografi flash, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat kromatografi sentrifugal, *rotary vacum eevaporator*, lampu UV, timbangan analitik, pipet tetes, Spektrometer UV-Vis Shimadzu, **Ekstraksi dan Pemurnian Senyawa Flavonoid**

Serbuk kulit batang *Erythrina fusca* L. sebanyak 2,5 kg diekstraksi dengan metanol dan pelarut metanol diuapkan dengan *rotary vacum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak metanol. Selanjutnya, ekstrak metanol diekstraksi dengan *n*-heksana. Senyawa alkaloid yang terdapat dalam ekstrak metanol ditambahkan asam sitrat 5% sampai pH 3-4 bertujuan untuk menggaramkan senyawa alkaloid agar tidak terekstraksi dengan pelarut etil asetat.

Fasa asam selanjutnya dipartisi dengan etil asetat sehingga diperoleh ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol. Pada ekstrak etil asetat pelarut etil asetat diuapkan menggunakan *rotary vacum evaporator* menghasilkan ekstrak etil asetat berwarna coklat sebanyak 19.50 gram yang mengandung senyawa flavonoid. Ekstrak etil asetat sebanyak 18.00 gram selanjutnya dilakukan pemisahan dengan kromatografi vakum cair menggunakan eluen *n*-heksana-etil asetat = 8:2; 7:3 dan 1:1 menghasilkan tiga fraksi utama, yaitu fraksi A-C.

Fraksi A sebanyak 300 mg dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom tekan menggunakan eluen *n*-heksana-etilasetat (9:1 ; 8:2 dan 7:3) menghasilkan tiga subfraksi A₁-A₃. Selanjutnya pemisahan subfraksi A₂

Spektrometer FTIR Perkin Elmer, Spektrometer Massa LCT XE ESI-TOF (*Elektro Spray Ionization-Time of Flight*) Waters, Spektrometer NMR Agilent 500 yang beroperasi pada 500 MHz (¹H) dan 125 MHz (¹³C) baik secara 1D (pengukuran proton dan karbon) dan 2D.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kulit batang *Erythrina fusca* L., metanol, etil asetat, *n*-heksana, kloroform, aseton, isopropanol, etanol, pelat KLT Kieselgel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm (Merck) untuk keperluan KLT, silika gel 60 PF₂₅₄ (Merck), dan silika gel 60 GF₂₅₄, pereaksi cerium sulfat.

menggunakan kromatografi radial dengan eluen *n*-heksana : diisopropileter (9:1 ; 8:2 dan 7:3) sehingga menghasilkan senyawa murni sanwisensin berwujud padatan putih sebanyak 63,3 mg.

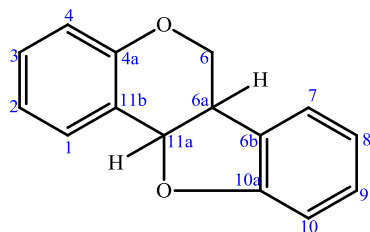
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Data Fitokimia

Senyawa sanwisensin berwujud padatan berwarna putih dan spektrum UV senyawa memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} (log ϵ): 287 (4,37) yang merupakan ciri khas senyawa turunan fenol dan menunjukkan efek batokromik pada penambahan NaOH sehingga diperoleh λ_{maks} (log ϵ): 288 (4,46). Spektrum IR senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya gugus fungsi pada bilangan gelombang maksimum ν_{maks} (cm⁻¹): 3402 (vibrasi ulur hidroksi OH), 2864 dan 2948 (vibrasi ulur CH), 1620 dan 1450 (vibrasi ulur C=C aromatik), dan 1265 (vibrasi ulur C-O-C eter). Spektrum massa senyawa hasil isolasi memperlihatkan massa ion kuasi molekul negatif m/z 339.1642 yang sesuai dengan rumus molekul C₂₁H₂₃O₄ (perhitungan [M-H]⁻ 339.1596).

Spektrum ¹H-NMR senyawa pterokarpan EF1 dalam CDCl₃ (400 MHz) memperlihatkan empat sinyal proton pada pergeseran kimia δ_H (ppm) yakni sinyal *triplet* pada δ_H 3,65 ($J = 11,0$ Hz); sinyal *doublet doublet* pada δ_H 4,22 (1H, *dd*, $J = 11,0$ dan 5,1

Hz); sinyal *multiplet* pada δ_H 3,51 dan sinyal *doublet* pada δ_H 5,45 ($J = 6,8$ Hz) merupakan ciri khas dari kerangka struktur senyawa pterokarpan pada H-6, H-6a dan H-11a (Nguyen, 2010).



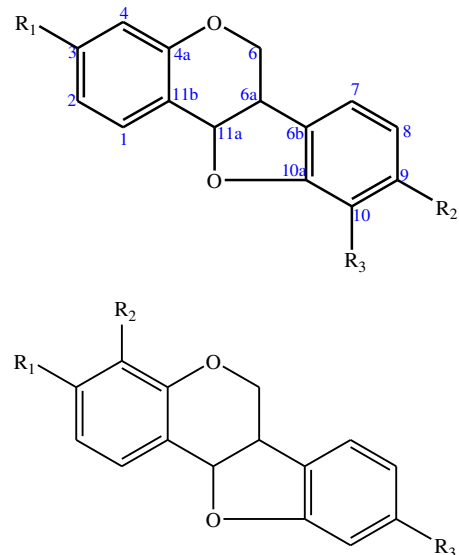
Gambar 4.1. Kerangka struktur senyawa pterokarpan

Berdasarkan kerangka struktur pterokarpan, kedua sinyal proton aromatik pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ memperlihatkan salah satu sinyal proton aromatik adanya pterokarpan EF1

Analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$ memperlihatkan sinyal proton yang lain antara lain sinyal *singlet* metoksi $-\text{OCH}_3$ pada δ_H 3,80 ppm dan sinyal proton isoprenil (C_5) yakni sinyal metin pada δ_H 5,24 (t , $J = 7,2$ Hz); sinyal metilen pada δ_H 3,30 (2H, d , $J = 6,8$ Hz); dan dua sinyal *singlet* metil pada δ_H 1,76 dan δ_H 1,66 ppm. Analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa EF1 hasil isolasi terlampir pada Lampiran-4. Berdasarkan analisis spektrum IR, HRESIMS dan $^1\text{H NMR}$ maka senyawa pterokarpan EF1 mempunyai substituen hidroksi $-\text{OH}$, metoksi $-\text{OCH}_3$, dan isoprenil (C_5) yang tersubstitusi di C-3/9/10 atau C-3/4/9.

Analisis spektrum APT $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) senyawa EF1 hasil isolasi (Lampiran-5) memperlihatkan 21 sinyal karbon yang terpisah secara sempurna. Berdasarkan spektrum APT $^{13}\text{C-NMR}$ diketahui senyawa EF1 mempunyai sembilan atom kuartener (termasuk empat karbon oksiaril pada δ_C

sepasang sinyal *doublet* ($J = 8,1$ Hz) pada 6,41 dan 7,01. Sinyal proton aromatik yang lain memperlihatkan tiga sinyal proton berupa sistem ABX pada δ_H 7,40 (1H, d , $J = 8,4$ Hz); δ_H 6,54 (dd , $J = 2,4$ dan $8,4$ Hz) dan 6,40 (d , $2,4$ Hz). Berdasarkan sinyal proton kedua aromatik tersebut maka senyawa pterokarpan EF1 tersubstitusi pada C-3/9/10 atau C-3/4/9 seperti terlihat pada Gambar-4.2.



Gambar 2. Pola substitusi senyawa 158,6; 158,5; 157,1 dan 156,6 ppm), delapan karbon metin CH, dua karbon metilen CH_2 dan dua metil CH_3 .

Untuk memastikan posisi ketiga substituen hidroksi $-\text{OH}$, metoksi $-\text{OCH}_3$, dan isoprenil (C_5) di C-3/9/10 atau C-3/4/9 ditentukan berdasarkan analisis 2D NMR yakni menggunakan spektrum HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*) dan HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*). Berdasarkan analisis spektrum HMQC (korelasi antara proton dengan karbon yang berada dalam satu ikatan) maka masing-masing posisi proton dan karbon dalam satu ikatan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Sebagai contoh, sinyal proton metilen di H-6 yakni sinyal dengan multiplisitas *triplet* pada δ_H 3,65 ($J = 11,0$ Hz); sinyal *doublet doublet* pada δ_H 4,22 (1H, dd , $J = 11,0$ dan $5,1$ Hz) memperlihatkan adanya korelasi dengan atom karbon pada δ_C 66,6 ppm. Hal ini berarti sinyal proton di H-6 mempunyai sinyal

karbon pada δ_C 66,6 ppm. Analisis spektrum HMQC terlampir pada Lampiran-6. Analisis spektrum HMBC merupakan korelasi antara proton dengan karbon yang berada dalam dua/tiga ikatan dan sekaligus menentukan masing-masing posisi karbon senyawa yang belum teridentifikasi pada spektrum HMQC terutama kedudukan atom karbon kuartener.

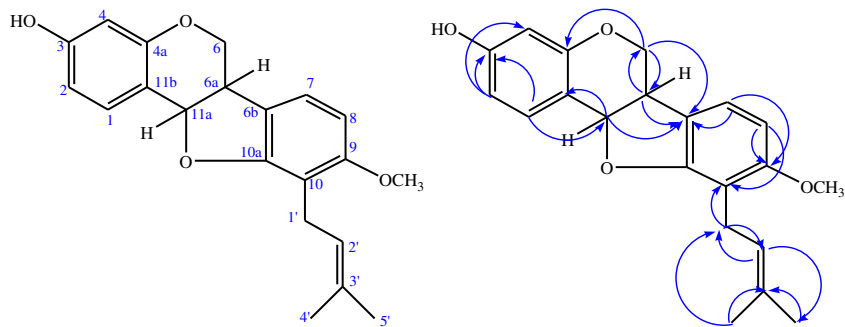
Berdasarkan analisis spektrum 2D-NMR (Lampiran-6) yaitu dengan percobaan HMQC (korelasi satu ikatan ^1H - ^{13}C) dan HMBC (korelasi dua atau tiga ^1H - ^{13}C) memperlihatkan bahwa senyawa pterokarpan (EF_{13}) hasil isolasi merupakan senyawa sandwicensin. Hal ini karena pada spektrum HMBC, terdapat sinyal proton pada δ_H 3,30 (2H, *d*, $J=6,4$ Hz, H-1') yang memperlihatkan korelasi dengan tiga sinyal karbon kuartener δ_H 158,5 (C-9), 158,6 (C-10a), 122,4 (C-2'),

dan satu sinyal karbon metin δ_C 131,8 (C-3') yang menunjukkan adanya gugus prenil pada C-10. Selain itu, pada spektrum HMQC terdapat sinyal proton δ_H 3,79 (3H, *s*) yang memiliki korelasi dengan δ_C 56,1 yang menunjukkan adanya gugus metoksi.

Korelasi antara proton pada δ_H 3,51 (1H, *m*, H-6a) dengan karbon pada δ_C 66,7 (C-6) dan 119,4 (C-6b) serta proton pada δ_H 5,46 (1H, *dd*, $J=6,8$ Hz, H-11a) dengan karbon pada δ_C 156,6 (C-4a), 66,7 (C-6), 119,4 (C-6b), dan 113,0 (C-11b) juga mendukung struktur senyawa sandwicensin hasil isolasi. Tabel 3.3 berikut menunjukkan data ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, dan korelasi HMBC yang mendukung struktur senyawa sandwicensin.

Tabel 3. Data spektrum NMR senyawa sandwicensin hasil isolasi

No.C	δ_H (mult, <i>J</i> Hz)	δ_C	HMBC
1	7,40 (<i>d</i> , 8,4)	132,5	C-3; C-4
2	6,53 (<i>dd</i> , 8,4; 2,4)	109,9	C-3; C-4; C-11b
3	-	157,5	-
4	6,40 (<i>d</i> , 2,4)	103,2	C-2; C-3; C-11b
4a	-	156,6	-
6	4,23 (<i>dd</i> , 11,0; 5,1) 3,65 (<i>t</i> , 11,0)	66,6	C-4a; C-6a; C-6b; C-10a
6a	3,51 (<i>m</i>)	40,0	C-6; C-6b; C-7; C-10a
6b	-	119,4	-
7	7,01 (<i>d</i> , 8,1)	121,7	C-6a; C-9; C-10a
8	6,41 (<i>d</i> , 8,1)	103,6	C-6b; C-10; C-10a
9	-	158,6	-
10	-	113,0	-
10a	-	158,5	-
11a	5,45 (<i>d</i> , 6,8)	78,0	C-1; C-3; C-6; C-6b; C-10
11b	-	113,4	-
1'	3,30 (<i>d</i> , 6,8)	22,9	C-10; C-10a; C-2'; C-3'
2'	5,24 (<i>t</i> , 7,2)	122,4	C-10, C-2', C-3'; C-4'; C-5'
3'	-	131,8	-
4'	1,76 (<i>s</i>)	17,9	C-2'; C-3'; C-5'
5'	1,66 (<i>s</i>)	25,9	C-2'; C-3'; C-4'
9-OCH ₃	3,80 (<i>s</i>)	56,1	C-9



Gambar 3. Korelasi HMBC yang penting pada senyawa sanwisensin

Uji aktivitas Sunblok dan Sunscreen

Hasil uji aktivitas sunscreen senyawa hasil isolasi disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas sunscreen senyawa hasil isolasi

Konsentrasi (ppm)	% T eritema	% T Pigmentasi
100	0,861	0,826
50	0,883	0,845
25	0,736	0,697
15	0,842	0,843

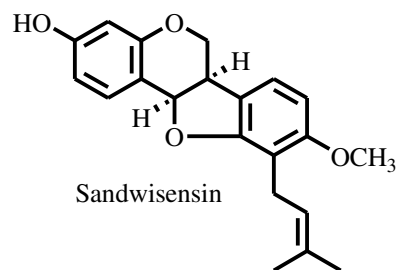
Dimana senyawa dikatakan memiliki aktivitas *sunscreen* jika %T eritema < 1% dan %T pigmentasi 3-40%. Sehingga dari keempat konsentrasi diatas, senyawa hasil isolasi memiliki aktivitas *sunscreen* pada konsentrasi 25 ppm.

5. REFERENSI

- Andriyani, L., 2012. Isolasi dan Uji Antioksidan Flavonoid Terprenilasi dari Daun *Erythrina crista-galli*, skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Harborne, J.B., 1987, Metode Fitokimia, diterjemahkan Padmawinata, ITB, Bandung.
- Innok, P., Rukachaisirikul, T., and Suksamrarn, A., and Kuroda, C., and Ohsaki, A., 2010, Structures of New Erythrinan Alkaloids and Nitric Oxide Production Inhibitors from *Erythrina crista-galli*. *Chem. Pharm. Bull.* 58(8), 1119-1122.

4. KESIMPULAN

Satu senyawa pterocarpan terisoprenilasi telah berhasil dipisahkan dari kulit batang *Erythrina fusca* L., yakni senyawa sanwisensin. Struktur senyawa pterocarpan terisoprenilasi hasil isolasi ditetapkan berdasarkan data pengukuran spektroskopi UV, MS, HRESIMS, 1D dan 2D NMR.



Uji aktivitas sebagai sunscreen senyawa hasil isolasi pada empat konsentrasi menunjukkan memiliki aktivitas *Sunscreen*.

- Nguyen, P.H., Nguyen, T.N.A., Dao, T.T., Kang, H.W., Ndinteh, D.T., Mbafor, J.T., and Oh, W.K., 2010, AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) Activation by Benzofurans and Coumestans Isolated from *Erythrina abyssinica*, *J. Nat. Prod.* Vol 73, 598–602.
- Ozawa, M., Kawamata, S., Etoh, T., Hayashi, M., Komiyama, K., Kishida, A., Pterocarpan from the Bark of *Erythrina fusca*. *Chem. Pharm. Bull.* 57(9), 993-996.
- Rukachaisirikul, T., Innok, P., and Suksamrarn, A., 2008, Erythrina Alkaloids and a Pterocarpan from the Bark of *Erythrina subumbrans*. *J. Nat. Prod.* 71, 156-158.

Tanaka, H., Hirata, M., Etoh, H., Watanabe, N., Shimizu, H., Ahmad, M., Terada, Y., and Fukai, T., 2002, Two Diphenylpropan-1,2-diol Syringates from the Roots of *Erythrina variegata*. *J. Nat. Prod.*, 65, 1933-1935.