

## ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FLAVONOID DARI BATANG *BAUHINIA EXELSA*

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 ploreitin (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 ploreitin (2) terhadap radikal DPPH menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 1512,1 dan 638,6  $\mu$ M. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa kedua senyawa tidak aktif terhadap radikal DPPH

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

### ABSTRACT

Two flavonoids, 6C,7-O-dimethyl aromadendrin (1) and ploreitin (2) have been isolated from the bark of *Bauhinia excelsa*. The structure of 6C,7-O-dimethyl aromadendrin (1) and ploreitin (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  $\mu$ M. The results indicate that as 6C,7-O-dimethyl aromadendrin and ploreitin were inactive

**Key words:** C-methyl dihydroflavonol, 6C,7-O-dimethyl aromadendrin, ploreitin, *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 ploreitin (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.

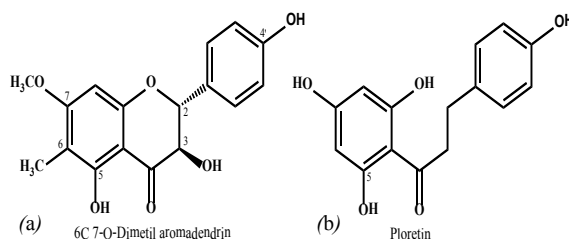
### METODE PENELITIAN

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 GF<sub>254</sub> 0,25 mm (Merck), silika gel 60PF<sub>254</sub> (Merck) silika gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck), pereaksi CeSO<sub>4</sub>, pereaksi DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil), 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*-heksan-etilasetat 9:1 memberikan tiga fraksi A-C. Pemisahan fraksi B dengan kromatografi kolom tekan dan pemurnian dengan kromatografi radial menggunakan eluen *n*-heksan: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*-heksan:aseton 7:3 menghasilkan tiga subfraksi, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>. Pemurnian subfraksi C<sub>2</sub> dengan kromatografi radial menggunakan eluen kloroform, kloroform-metanol 9,5:0,5 dan 9:1 diperoleh senyawa ploreitin (2) sebanyak 23 mg.



Gambar 1. Senyawa flavonoid hasil isolasi

**6C,7-O-dimetil aromadendrin (1)**, padatan kuning, UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ): 293,5 nm (4,27) dan 338,5 nm (3,61), (MeOH + NaOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ): 294 nm (4,43) dan 384,5 nm *sh* (3,28), (MeOH + AlCl<sub>3</sub>)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ): 313,5 nm (4,34) dan 384,5 *sh* nm (3,28), (MeOH + AlCl<sub>3</sub> + HCl)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ): 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- $\delta_6$ ) dapat dilihat pada Table 1.

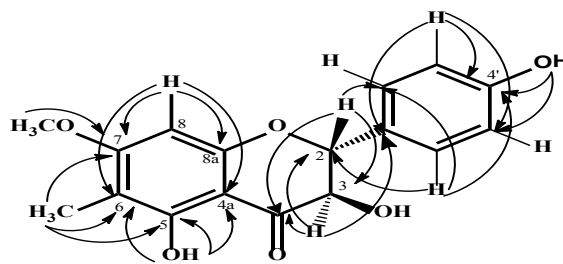
**Ploreitin (2)**, padatan kuning, UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ): 204 (4,53), 226,4 (3,86); dan 287,1 (3,97) nm. Spektrum HRESIMS: pada *m/z* 275,1667. Spektrum  $^1H$  NMR (400 MHz, aseton- $\delta_6$ )  $\delta_H$  ppm: 13,91 (2H, s, 2'/6'-OH), 7,18 (2H, *d*, *J* = 8,6 Hz, H-2/6); 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- $\alpha$ ) dan 2,88 (2H, *t*, 7,7 Hz, H- $\beta$ ). Spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, aseton- $\delta_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  (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- $\alpha$ ), 29,7 (C- $\beta$ ).

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  $\lambda$  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,  $\Delta$ -2,8 ppm menurut hasil pengukuran spektrum massa ionisasi elektrosprey resolusi tinggi (HRESIMS). Spektrum UV (MeOH) memberikan serapan  $\lambda_{\text{maks}}$  (log  $\epsilon$ ): 213 (4,19), 293,5 (4,35) dan 331,5 sh (4,08) nm serta memberikan efek batokromik dengan penambahan NaOH,  $\text{AlCl}_3$  dan  $\text{AlCl}_3+\text{HCl}$ . Analisis spektrum  $^1\text{H}$  NMR memperlihatkan sepasang sinyal *doublet* ( $J = 11,8$  Hz) pada  $\delta_{\text{H}}$  5,11 dan 4,68 ppm yang mengindikasikan senyawa  $\lambda$  merupakan senyawa turunan dihidroflavonol (Tanjung, *et al.*, 2012). Sementara itu, sepasang sinyal *doublet ortho* ( $J = 8,4$  Hz) pada  $\delta_{\text{H}}$  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  $\delta_{\text{H}}$  6,17 ppm sinyal proton aromatis di cincin A. Sinyal proton yang terikat pada cincin A antara lain satu sinyal *singlet* dari substituen  $\text{OCH}_3$  pada  $\delta_{\text{H}}$  3,92 ppm dan satu sinyal *singlet* dari substituen  $\text{CH}_3$  pada  $\delta_{\text{H}}$  1,97 ppm yang mengindikasikan substituen metil dan metoksi terikat di C-6 dan C-7. Analisis spektrum  $^{13}\text{C}$  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  $\delta_{\text{C}}$  199,3 ppm dan dua sinyal oksikarbon pada  $\delta_{\text{C}}$  83,6 dan 72,1 ppm merupakan ciri khas kerangka dihidroflavonol. Adanya empat sinyal karbon oksiaril pada  $\delta_{\text{C}}$  165,8; 161,4; 159,7 dan 158,3 ppm merupakan ciri khas sinyal karbon senyawa turunan aromadendrin. Berdasarkan data analisis spektrum  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  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  $\delta_{\text{H}}$  11,96 ppm dengan tiga sinyal atom karbon kuartener pada  $\delta_{\text{C}}$  159,7 (C-5), 104,06 (C-4a), dan 104,79 ppm (C-6), hal ini memperkuat bahwa kedudukan substituen metil  $\text{CH}_3$  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	$\delta_{\text{H}}$ (multiplicitas, $J$ )	$\delta_{\text{C}}$	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	C-4'
4'	-	158,3	-
6-CH <sub>3</sub>	1,86 ( <i>s</i> )	7,5	C-5, C-6, C-7
7-OCH <sub>3</sub>	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;  $\Delta$  1,3 ppm menurut hasil pengukuran spektrum massa ionisasi elektrosprey resolusi tinggi (HRESIMS). Analisis spektrum  $^1\text{H}$  NMR memperlihatkan sepasang sinyal *triplet* ( $J = 7,7$  Hz) pada  $\delta_{\text{H}}$  3,26 dan 2,88 ppm mengindikasikan  $^1\text{H}$  NMR senyawa turunan dihidroalkon (Syah *et al.*, 2009). Sepasang sinyal proton aromatik, yakni sinyal *doublet ortho* ( $J = 8,6$  Hz) pada  $\delta_{\text{H}}$  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  $\delta_{\text{H}}$  ppm: 13,91 dan 6,00 ppm menunjukkan adanya dua buah proton yang simetris di cincin A. Analisis spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR memperlihatkan adanya 15 sinyal karbon yang mewakili 11 sinyal karbon yang disebabkan adanya empat karbon yang simetris sesuai dengan yang diperlihatkan pada spektrum  $^1\text{H}$  NMR. Berdasarkan data spektrum HRESIMS,  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  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  $\text{IC}_{50}$  sebesar 1512,1 dan 638,6  $\mu\text{M}$ . 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 ploreitin (**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 Phytochemicals 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.