

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FLAVONOID FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BATANG DURIAN KLAHING (*Durio graveolens* Becc.)

Hana Soraya^{1*}, Puji Ardiningsih¹, Rudiyanasyah¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*email: hanasoraya99@yahoo.com

ABSTRAK

Senyawa flavonoid telah diisolasi dari fraksi etil asetat kulit batang durian klawing (*D. graveolens* Becc.). Tahapan isolasi senyawa flavonoid adalah ekstraksi, fraksinasi, kromatografi vakum cair (KVC), dan kromatografi kolom gravitasi (KKG). Struktur senyawa ditentukan menggunakan proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) (500 MHz), carbon nuclear magnetic resonance (¹³C-NMR) (125 MHz), heteronuclear multiple bond correlation (HMBC) dan electro spray ionization-mass spectrometers (ESI-MS). Pergeseran kimia senyawa flavonoid (δ_H ppm) : 3,92 (3H, s, OCH₃); 6,34 (1H, d, J = 2,3 Hz, H-6); 6,54 (1H, d, J = 2,3 Hz, H-8); 7,14 (1H, d, J = 2,1 Hz, H-2'); 6,87 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-5'); 6,94 (1H, d, J = 8,2 Hz dan 2,1 Hz, H-6'); 8,12 (2H, 3'-OH dan 4'-OH); 8,19 (1H, s, 3-OH); 13,02 (1H, s, 5-OH), pergeseran kimia (δ_C ppm) : 154,5 (C-2); 124,2 (C-3); 181,7 (C-4); 163,5 (C-5); 98,7 (C-6); 166,6 (C-7); 92,9 (C-8); 158,8 (C-9); 106,7 (C-10); 123,4 (C-1'); 115 (C-2'); 145,6 (C-3'); 56,4 (OCH₃); 146,3 (C-4'); 117,1 (C-5'); 121,4 (C-6'), data ESITOFMS memiliki m/z 301,0736 [M + H]⁺ dan m/z 299,0583 [M - H]⁻. Berdasarkan kemiripan data spektrum dengan literatur, diketahui bahwa senyawa flavonoid tersebut adalah senyawa luteolin-7-metil eter atau 3',4',5-trihidroksi-7-metoksiflavan.

Kata Kunci : Luteolin-7-metil eter, fraksi etil asetat, *Durio graveolens* Becc.

PENDAHULUAN

Durian terdiri atas 28 spesies di dunia dan 20 spesiesnya tersebar di Indonesia. Persebaran utama spesies durian di Indonesia adalah pulau Kalimantan yang memiliki 19 spesies dan 14 diantaranya termasuk spesies endemik (Kostermans, 1992; Uji, 2007). Sejauh ini, penelitian mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan durian masih terbatas dan terus dikembangkan. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rudiyanasyah et al., (2015) melaporkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi dari 6 spesies *durio* yaitu (*Durio carinatus* Mast., *Durio kutejensis* (Hassk.) Becc., *Durio zibethinus* Murr., *Durio oxeleyanus* Griff., *Durio affinis* Becc. dan *Durio acutifolius*).

Insanu et al., (2011) telah berhasil mengisolasi senyawa flavonoid dari daun durian (*Durio zibethinus* Murr) yaitu golongan senyawa flavonol 3-OH tersubstitusi dengan gugus OH pada atom C-5, C-7, C-3', C-4' yang diduga merupakan turunan kuersetin dan senyawa golongan

flavon dengan gugus OH bebas pada atom C-5, C-7, C-4'.

Hingga saat ini, belum ada penelitian tentang kandungan senyawa flavonoid dari spesies *D. graveolens* Becc. Durian klawing merupakan durian yang memiliki sifat unik yaitu berduri panjang warna buah kuning dan berdaging merah. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder khususnya senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat pada kulit batang *D. graveolens* Becc. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kandungan flavonoid dari *D. graveolens* Becc. serta dapat dilakukan uji lebih lanjut terhadap bioaktivitas senyawa tersebut untuk digunakan dalam industri farmasi dan menambah orientasi ekonomi dari senyawa bioaktif yang dikandung.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan Tanaman

Bahan tanaman berupa kulit batang durian klawing (*D. graveolens*) yang berasal dari kawasan hutan di Desa Kelompu, Kecamatan Kembayan, Kabupaten

Sanggau, Provinsi Kalimantan Barat. Keakuratan spesies tumbuhan berdasarkan hasil determinasi di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah alat gelas, alat ekstraksi, alat evaporasi, alat kromatografi cair vakum, peralatan kromatografi, spektrometer NMR 500 MHz *agilent* dan HRMS ESI-TOF.

Bahan-bahan yang digunakan adalah berbagai jenis pelarut organik diantaranya: etil asetat, metanol, diklorometana, *n*-heksana, pereaksi untuk uji fitokimia, reagen CeSO_4 5%, plat KLT silika gel 60 F_{254} , silika gel 60-70 *mesh*, silika gel 60 (230-400 *mesh*), dan silika gel 60 G.

Preparasi Sampel Kulit Batang Durian Klawing

Sampel kulit batang durian klawing (*D. graveolens* Becc.) dibersihkan dari jamur dan lumut, dipotong-potong dan dikeringkan dalam ruangan. Sampel yang telah bersih kemudian diserbukkan di *Workshop of Wood* Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura Pontianak.

Maserasi dan Partisi

Sampel serbuk halus kulit batang durian sebanyak 3,4 kg di maserasi dengan pelarut metanol selama 3x24 jam pada suhu kamar. Filtrat dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh 406,78 g maserat metanol.

Maserat metanol dipartisi bertingkat menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana (DCM) dan etil asetat. Fraksi etil asetat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh 15,18 g fraksi etil asetat.

Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk golongan fenolik dan flavonoid. Uji golongan fenolik dilakukan dengan menambahkan FeCl_3 5% (dalam etanol *p.a*) ke dalam fraksi etil asetat sehingga dihasilkan warna spesifik kuning kehijauan. Uji golongan flavonoid dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan HCl dan sedikit logam Mg sehingga dihasilkan warna spesifik merah muda

Pemisahan dan Pemurnian Senyawa

Fraksi etil asetat (15,1717 g) difraksinasi dengan KVC. Sampel dielusi dengan kombinasi pelarut bergradien *n*-heksana:etil asetat (7:3), (1:1), (3:7), etil asetat 100% dan etil asetat:metanol (9:1), sehingga diperoleh 7 fraksi gabungan (A_1 - A_7). Fraksi A_3 dipilih untuk dilakukan pemurnian lanjutan dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG).

Fraksi A_3 (0,4447 g) difraksinasi dengan KKG. Sampel dielusi dengan kombinasi pelarut bergradien dari hasil analisis KLT yaitu adalah *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (9:1), (8:2), (7:3), (6:4), (3:7), etil asetat 100%, etil asetat:metanol (9:1) dan metanol 100%, sehingga diperoleh 23 fraksi gabungan ($A_{3.1}$ - $A_{3.23}$). Fraksi $A_{3.7}$ adalah fraksi yang memiliki kristal bening dengan pola pemisahan yang hampir murni sehingga fraksi $A_{3.7}$ didekantasi dengan DCM 100%. Uji kemurnian dilakukan dengan KLT satu dimensi menggunakan kombinasi eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4) dan KLT dua dimensi dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4) dan DCM:metanol (98:2), yang menunjukkan kemurnian yang cukup murni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Golongan Senyawa

Pewarnaan yang dihasilkan dari hasil uji fenolik fraksi etil asetat menunjukkan reaksi positif senyawa fenol dengan warna kuning kehijauan. Pewarnaan yang dihasilkan dari hasil uji flavonoid fraksi etil asetat menunjukkan reaksi positif adanya senyawa flavonoid. Intensitas warna yang pekat menandakan banyaknya kuantitas golongan senyawa (Cannel, 1998). Hasil uji fitokimia fraksi etil asetat ditunjukkan pada Gambar 1.

Hasil uji fitokimia juga menunjukkan intensitas warna yang lebih pekat pada golongan fenolik dibandingkan golongan flavonoid. Hal ini menandakan kuantitas senyawa golongan fenolik lebih besar dibandingkan senyawa golongan flavonoid. Dugaan senyawa fenolik yang terdapat dalam genus *durio* adalah senyawa lignan dan kumarin (Rudiyansyah and Garson, 2006; 2010).



Gambar 1. Hasil uji fitokimia golongan flavonoid dan fenolik pada fraksi etil asetat

Karakterisasi Struktur Senyawa

Senyawa metabolit sekunder dari fraksi A_{3.7} dianalisis menggunakan ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC dan ESI-MS. Data spektrum ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC dan MS dari fraksi A_{3.7} ditunjukkan pada Tabel 1.

Hasil analisis spektrum ¹H-NMR pada Tabel 1. memperlihatkan karakteristik untuk metoksi (OCH₃) pada δ_H 56,4 ppm yang tersubstitusi pada gugus aromatik. Menurut Han *et al.*, (2005) geseran kimia pada δ_H 13,00 ppm dengan karakteristik proton -OH terkelat karbonil merupakan ciri kerangka flavonoid. Penelitian tentang isolasi senyawa luteolin dari *Blumea balsamifera* DC, diketahui bahwa posisi proton pada (δ_H) 13,00 ppm merupakan posisi suatu hidroksi yang dekat dengan suatu karbonil (Saewan *et al.*, 2011). Sinyal proton pada δ_H 8,19 ppm menandakan adanya rantai propan sebagai penghubung dua gugus aromatik. Berdasarkan data HMBC, (δ_H) 8,19 ppm berkorelasi dengan karbon-karbon pada δ_C 123,4 (C-1'), 158,8 (C-9) dan 181,7 (C-4).

Data ¹³C-NMR pada Tabel 1. dari fraksi A_{3.7} menunjukkan senyawa tersebut adalah senyawa dari golongan flavonoid C₆-C₃-C₆ dengan pola substitusi satu metoksi. Substitusi satu atom C adalah metoksi (δ_C 56,4 ppm), 14 puncak atom karbon yang berada pada cincin aromatik yaitu pada δ_C 92,9; 98,7 106,7; 115; 117,1; 121,4; 123,4; 124,2; 145,6; 146,3; 154,5; 158,8; 163,5; 166,6 (ppm) serta satu puncak pada δ_C 181,7 ppm yang merupakan karbonil yang terkonjugasi dengan alkena.

Sinyal yang diprediksi merupakan ciri khas senyawa luteolin-7-metil eter, yaitu adanya lima geseran kimia untuk posisi proton aromatik, dua geseran kimia untuk posisi proton gugus hidroksi, satu geseran kimia untuk posisi proton -OH terkelat karbonil, satu geseran kimia untuk posisi proton metoksi. Jika dibandingkan dengan struktur senyawa luteolin-7-metil eter dari tumbuhan *Blumea balsamifera* DC (Saewan *et al.*, 2011), *Campylospermum calanthum* (Manga *et al.*, 2012), *Artemisia gmelini* Web. ex Stechm (Zeng *et al.*, 2014) dan *Daphne genkwa* (Park *et al.*, 2014), maka terdapat geseran kimia yang hampir sama dengan senyawa dari fraksi A_{3.7}. Perbandingan geseran kimia (δ) senyawa luteolin-7-metil eter dari tumbuhan *Blumea balsamifera* DC, *Campylospermum calanthum*, *Artemisia gmelini* Web. ex Stechm dan *Daphne genkwa* dengan fraksi A_{3.7} dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Spektrum ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan HMBC dari Fraksi A_{3.7}

Posisi	¹ H-NMR δ (ppm), J (Hz)	¹³ C-NMR δ (ppm)	HMBC δ (ppm)
2	-	124,2	-
3	8,19 (IH, s)	154,5	C-1', 9, 4
4	-	181,7	-
5-OH	13,02 (IH, s)	163,5	C-6, 10, 5, 7
6	6,34 (1H, d, J = 2,3 Hz)	98,7	C-8, 10, 5, 7
7	-	166,6	-
8	6,54 (1H, d, J = 2,3 Hz)	92,9	C-6, 10, 9, 7
9	-	158,8	-
10	-	106,7	-
1'	-	123,4	-
2'	7,14 (1H, d, J = 2,1 Hz)	117,1	C-6', 1', 4', 3', 2
3'	-	145,6	-
6'	6,94 (IH, d, J = 8,2 dan 2,1)	121,4	C-2', 1', 4', 2
4'	-	146,3	-
5'	6,87 (IH, d, J = 8,4 Hz)	115	C-1', 4'
3'-OCH ₃	3,92 (3H, s, OMe)	56,4	CH ₃ ; C-7
OH	8,12 (2H)	-	-

Tabel 2. Data Spektrum ^1H -NMR Senyawa Luteolin-7-Metil Eter dari Tumbuhan *Blumea Balsamifera* DC, *Campylospermum Calanthum*, *Artemisia Gmelini* Web. Ex Stechm dan *Daphne Genkwa* dengan Fraksi A_{3.7}

Posisi H	Pergeseran Kimia (δ ppm)				Fraksi A _{3.7}
	Luteolin-7-metil eter (I)	Luteolin-7-metil eter (II)	Luteolin-7-metil eter (III)	Luteolin-7-metil eter (IV)	
3	6,62	6,52	6,73	6,67	8,19
6	6,32	6,36	6,36	6,33	6,34
8	6,68	6,64	6,72	6,67	6,54
2'	7,52	7,35	7,44	7,40	7,14
5'	6,99	6,86	6,88	6,87	6,87
6'	7,49	7,31	7,45	7,41	6,94
OCH ₃ -7	3,93	3,82	3,86	3,84	3,91
OH-5	13,00	13,01	12,99	12,95	13,02

Ket :

(I)= ^1H NMR (Acetone- d_6 + DMSO- d_6) dari *Blumea balsamifera* DC (Saewan et al., 2011)(II)= ^1H NMR (400 MHz, CD₃COCD₃) dari *Campylospermum calanthum* (Manga et al., 2012)(III)= ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) dari *Artemisia gmelini* Web. ex Stechm (Zeng et al., 2014)(IV)= ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) dari *Daphne genkwa* (Park et al., 2014)Fraksi A_{3.7} = ^1H NMR (500 MHz, CD₃COCD₃)Tabel 3. Data Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa Luteolin-7-Metil Eter dari Tumbuhan *Blumea Balsamifera* DC, *Campylospermum Calanthum*, *Artemisia Gmelini* Web. Ex Stechm dan *Daphne Genkwa* dengan Fraksi A_{3.7}

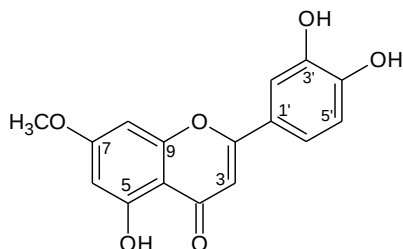
Posisi C	Pergeseran Kimia ^{13}C -NMR (δ ppm)				Fraksi A _{3.7}
	luteolin-7-metil eter (I)	luteolin-7-metil eter (II)	luteolin-7-metil eter (III)	luteolin-7-metil eter (IV)	
2	164,13	164,5	164,2	164,2	154,5
3	103,0	103,3	103,0	103,0	124,2
4	181,8	181,9	181,8	181,8	181,7
5	157,3	162,3	161,2	161,2	163,5
6	97,5	99,4	97,9	98,9	98,7
7	165,2	162,4	165,1	165,1	166,6
8	92,1	94,1	92,5	92,5	92,9
9	161,5	158,1	157,2	157,2	158,8
10	104,6	103,8	104,6	104,6	106,7
1'	121,3	119,4	121,4	121,4	123,4
2'	109,8	113,9	113,5	113,5	117,1
3'	148,1	146,4	145,7	145,8	145,6
OCH ₃	55,5	56,1	56,0	56,0	56,4
4'	151,2	149,9	149,8	149,9	146,3
5'	115,6	116,3	115,9	116,0	115
6'	120,6	120,3	119,1	119,1	121,4

Ket :

(I)= ^{13}C NMR (Acetone- d_6 + DMSO- d_6) dari *Blumea balsamifera* DC (Saewan et al., 2011)(II)= ^{13}C NMR (100 MHz, CD₃COCD₃) dari *Campylospermum calanthum* (Manga et al., 2012)(III)= ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) dari *Artemisia gmelini* Web. ex Stechm (Zeng et al., 2014)(IV)= ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) dari *Daphne genkwa* (Park et al., 2014)Fraksi A_{3.7} = ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃COCD₃)

Berdasarkan data pada Tabel 2 dan Tabel 3, nilai geseran kimia yang dimiliki fraksi $A_{3.7}$ memiliki banyak kesamaan dengan geseran kimia senyawa luteolin-7-metil eter dari tumbuhan *Blumea balsamifera* DC, *Campylospermum calanthum*, *Artemisia gmelini* Web. ex Stechm dan *Daphne genkwa*. Kesamaan nilai geseran kimia dari fraksi $A_{3.7}$ dengan geseran kimia yang menjadi ciri khas senyawa luteolin-7-metil eter yaitu pada posisi metoksi $-OCH_3$ pada atom karbon C-3', posisi hidroksi pada atom karbon C-5 terkelat karbonil. Kemudian terlihat pula geseran kimia pada posisi proton aromatik yang relatif sama dengan posisi proton aromatik fraksi $A_{3.7}$.

Berdasarkan data spektrum ESI-MS, fraksi $A_{3.7}$ memiliki m/z 301,0736 $[M + H]^+$ dan 299,0583 $[M - H]^-$. Hasil ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Saewan *et al.* (2011) bahwa luteolin-7-metil eter memiliki m/z 301 $[M + H]^+$. Berdasarkan hasil uji fitokimia dan data spektrum yang ada, fraksi $A_{3.7}$ disimpulkan sebagai luteolin-7-metil eter atau 3',4',5-trihidroksi-7-metoksiflavin. Struktur luteolin-7-metil eter dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur luteolin-7-metil eter

SIMPULAN

Isolasi senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat durian klawing (*D. graveolens* Becc.) menghasilkan isolat relatif murni yaitu $A_{3.7}$ berupa kristal bening sebanyak 7,7 mg. Berdasarkan perbandingan pergeseran kimia proton dan karbon serta nilai m/z antara fraksi $A_{3.7}$ dengan spektrum senyawa luteolin-7-metil eter menunjukkan bahwa fraksi $A_{3.7}$ merupakan senyawa luteolin-7-metil eter.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada staf Laboratorium Kimia Institut Teknologi Bandung yang telah membantu pengukuran 1H -NMR, ^{13}C -NMR, HMBC dan ESI-MS. Serta, staf Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong yang telah mengidentifikasi sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Cannel, R. J. P., 1998, *Method In Biotechnology: Natural Products Isolasi*, Human Press Inc, Totowa New Jersey.
- Han, Q.B., Lee, S.F., Qiao, C.F., He, Z.D., Song, J.Z., Sun, H.D., Xu, H.X., 2005, "Complete Nmr Assignment of The Antibacterial Biflavonoid Gb1 from *Garcinia kola*", *Chem. Pharm. Bull* 33 (8) 1034-1036
- Herdiana, E., 2016, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Aquilaria microcarpa dan Uji Aktivitasnya sebagai Antikanker*, Universitas Airlangga (skripsi).
- Insanu, M., Ruslan, K., Fidrianny, I., Wijaya, S., 2011, *Isolasi Flavonoid dari Daun Durian (Durio zibethinus Murr., Bombacaceae)*, *Acta Pharm. Indonesia*, 36:1
- Kostermans, A.J.G.H., 1992, *Durio macrantha- Species nova (Bombaceae) from North Sumatra*, *Reinwardtia* 11(1):1-55
- Manga, S.S.E., Tih, A.E., Abderamane, B., 2012, *Flavonoid Glycosides and Their p-Coumaroyl Esters from Campylospermum calanthum Leaves*, *Z. Naturforsch*, 67:237
- Park, Sung-Hoon., Cui, X., Ahn, D., Lee, E.B., Cha, D.S., Jeon, H., Zee, O.P., Kim, Youn-Chul . and Kim, D.K., 2014, *Anti-oxidative Activities of 3' Hydroxygenkwanin from the Flower Buds of Daphne genkwa in Caenorhabditis elegans*, *Nat. Prod. Sci.*, 20:80-85
- Rudiyansyah and Garson, M.J., 2006, *Secondary Metabolites from the Wood Bark of Durio ziberthinus and Durio kutejensis*, *J. Nat. Prod.*, 69:1218-1221.

- Rudiyansyah and Garson, M.J., 2010, Lignans and Triterpenoids from the Bark of *D. carinatus* Mast. and *D. oxleyanus* Griff., *J. Nat. Prod.*, 73: 1649-1654.
- Rudiyansyah; Panthong; Kanda. and Garson, M.J., 2015, Chemistry and Pharmacognosy of the Genus *Durio.*, *Nat. Prod. Communications*, 10:1853-1860.
- Saewan, N., Koysomboon, S., Chantrapromma, K., 2011, Anti-tyrosinase and anti-Cancer Activities of Flavonoids from *Blumea balsamifera* DC, *J. Med. Plants Res.*, 6:1020
- Uji, T., 2007, Keanekaragaman Jenis Buah-Buahan Asli Indonesia dan Potensinya, *Biodiversitas*, 8:157-165.
- Zeng, W., Quesheng, Zhang, Q., Liang, H., 2014, Flavonoids from *Artemisia gmelinii* Web. ex Stechm., *J. Chin. Pharm. Sci.*, 23 (7):497.