

**ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR SENYAWA  
KUMARIN DARI BIJI BUAH SICEREK (*Clausena excavata*)**

**ARTIKEL**

**Oleh**

**Reny Salim**

**1021207002**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
PASCASARJANA UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2012**

ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR SENYAWA KUMARIN  
DARI BIJI BUAH SICEREK (*Clausena excavata*)

**Reny Salim<sup>1</sup>, Sanusi Ibrahim<sup>2</sup>, Adlis Santoni<sup>3</sup>**  
<sup>123</sup>**Jurusan kimia FMIPA, Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam**  
**Program Pascasarjana Universitas Andalas**  
**Padang 25163**

Email: [renyandra@yahoo.co.id](mailto:renyandra@yahoo.co.id)

**ABSTRAK**

Penelitian untuk memperoleh struktur senyawa kumarin dilakukan dengan cara mengekstraksi serbuk biji buah *Clausena excavata* dengan diklorometana kemudian dipisahkan dengan kolom kromatografi menggunakan metoda SGP. Fraksi dari hasil pemisahan, dimurnikan dengan KLT preparatif dan didapatkan senyawa hasil isolasi sebanyak 25,67 mg. Pengelusidasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR (HMBC dan HMQC), GC-MS, dan juga melalui penelusuran literatur maka diusulkan senyawa hasil isolasi adalah senyawa turunan kumarin dengan nama 7-hidroksi-6-metil-kumarin.

Kata kunci: *Clausena excavata*, kumarin, 7-hidroksi-6-metil-kumarin

**PENDAHULUAN**

*Clausena excavata* adalah salah satu spesies dari genus *Clausena*. Daerah penyebaran dari *Clausena excavata* meliputi Aceh (namanya Temung), Minangkabau (Sicerek), Melayu (Tikusan), Sunda (Ki Bajetah), Jawa Tengah (Tikusan), Malaysia (Cherek hitam), Cina bagian Selatan, India, Thailand (namanya San Soak). Bagian dari tumbuhan *Clausena excavata* telah dikenal di daerah penyebarannya sebagai obat; seperti di Jawa dimanfaatkan sebagai jus untuk mengobati sakit cacing, batuk, dan untuk penghangat tubuh (Takemura,dkk, 2000); di Yunnan daun dan kulit batang dimanfaatkan sebagai obat disentri, enteritis, dan infeksi uretra (Hong,dkk,200), di Thailand ekstrak kayu dimanfaatkan sebagai pengobatan kanker (Manosroi,dkk,2005). Kemampuan sebagai obat yang dimiliki oleh *Clausena excavata* disebabkan karena mengandung banyak senyawa fenolik seperti furanokumarin, flavonoid, dan

alkaloid karbazol (Sagrawat dan Khan, 2007). Berdasarkan data literatur, senyawa kumarin yang telah di isolasi dari *Clausena excavata* itu adalah yang berasal dari daun dan ranting (Takemura,dkk, 2000), daun dan kulit batang (Hong,dkk, 2000), dan daun (Lim Gin Keat,2005) sedangkan untuk biji buah belum ada maka untuk melengkapinya perlu dilakukan isolasi dan elusidasi struktur senyawa kumarin dari biji buah *Clausena excavata*.

## **BAHAN DAN METODA**

### **Bahan Tumbuhan**

Tumbuhan *Clausena excavata* diperoleh dari rumah penduduk di Jalan Alai Timur 1 RT 3, RW 8, kelurahan Alai Parak Kopi, Kecamatan Padang Utara. Tumbuhan *Clausena excavata* yang diperoleh diidentifikasi di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

### **Alat dan Bahan**

Peralatan yang digunakan adalah peralatan gelas yang umum dipakai pada penelitian kimia organik bahan alam, seperangkat alat destilasi pelarut, rotari evaporator Heidolp WB 2000, oven, plat KLT (silica gel 60

F<sub>254</sub>, merk KgaA Darmstadt Germany), aluminium foil, kromatografi kolom, pipa kapiler, melting point apparatus (Fisher John), spektrofotometer UV-Vis 1700 series, spektrofotometer IR Parkin Elmer 1600 series, GC-MS QP 2010 plus Shimadzu, Lampu UV untuk pengungkap noda model UV GL-58 UV 254 dan 365 nm, spektrofotometer JEOL 400 MHz JNM-ECS400 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, dan 2D-NMR (HMQC dan HMBC).

Bahan kimia yang diperlukan pada penelitian ini yaitu etil asetat destilasi, larutan natrium hidroksida 10%, n-hexane Merck KGaA, 64271 Darmstadt Germany, dichloromethane Merck KGaA 64271 Darmstadt Germany, kertas saring, silica gel 60 (0,063-0,200 mm) Merck KGaA 64271 Darmstadt Germany untuk kolom kromatografi.

### **Ekstraksi dan Isolasi Kumarin dari Biji Buah *Clausena excavata***

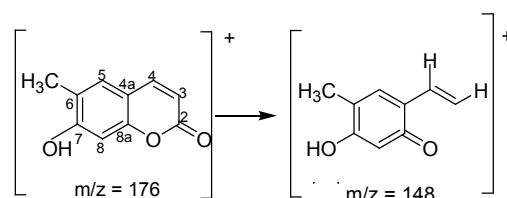
Serbuk biji buah *Clausena excavata* sebanyak 854,11 gram dimaserasi pertama kali dengan n-heksana diperoleh fraksi n-heksana sebanyak 2,68 gram (0,314%), setelah itu dengan diklorometana diperoleh

fraksi diklorometana sebanyak 22,67 gram (2,65%), dan terakhir dengan etil asetat diperoleh fraksi etil asetat sebanyak 7,25 gram (0,85%).

Sebanyak 1 ml ekstrak kental dari masing-masing fraksi diencerkan kemudian ditotolkan pada plat KLT untuk diuji kandungan kumarinnya dan fraksi yang mengandung kumarin adalah fraksi diklorometan dan fraksi etil asetat. Selanjutnya untuk pemisahan dan pemurnian dilakukan terhadap fraksi diklorometana dengan metoda kromatografi kolom. Pengelusian dilakukan secara bergradien dengan menggunakan komposisi pelarut dimulai dari n-heksana : diklorometana = 7:3; etil asetat 100% sampai dengan metanol : etil asetat = 6:4. Senyawa diperoleh pada fraksi diklorometan : etil asetat 7:3 sebanyak 25,67 mgram. Senyawa yang diisolasi diidentifikasi dan hasilnya adalah 7-hidroksi-6-metil-kumarin.

Senyawa yang diisolasi berbentuk kristal jarum berwarna putih mempunyai titik leleh 184-185<sup>0</sup>C dan berat molekul 176 hal ini diketahui dari ion molekul m/z. Dari data tersebut diprediksi senyawa ini mempunyai rumus molekul C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>.

Fragmentasi utama dari molekul senyawa yang diisolasi memperlihatkan berat molekul ion m/z adalah 148 dengan pengurangan molekul CO. Berikut pola fragmentasi senyawa yang diisolasi:



Gambar 1. Pola Fragmentasi senyawa hasil isolasi

Senyawa hasil isolasi mempunyai karakteristik sebagai berikut: hasil pengukuran UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ): 322,37 nm; IR (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3157,86 (O-H), 1679,69 (C=O), 1593,88 dan 1448,28 (C=C dan C-C dari aromatis), 1385,6 (C-H), 1270,86 (O-C=O), 1236,15  $\text{cm}^{-1}$  (C-OH); <sup>1</sup>H-NMR (kloroform-D<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 10,52 (1H, s, O-H); 6,71 (1H, s, H-8); 6,13 (1H, s, H-5); 6,80 (1H, d, H-4); 7,60 (1H, d, H-3); 2,37 ppm (3H, s, -CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (kloroform-D<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 161,58 (C-2); 160,71 (C-7); 155,27 (C-8a); 153,95 (C-4a); 102,60 (C-8); 112,45 (C-6); 110,69 (C-5); 127,03 (C-3); 113,27 (C-4); 18,45 (CH<sub>3</sub>).

## HASIL DAN DISKUSI

Senyawa turunan kumarin yang telah diisolasi dari fraksi

diklorometana adalah 7-hidroksi-6-metil-kumarin. Senyawa ini dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif dan penentuan struktur dengan metoda spektral dan diperbandingkan dengan data hasil penelusuran literatur. 7-hidroksi-6-metoksi-kumarin merupakan senyawa yang berbentuk kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 184-185<sup>0</sup>C. Spektrum UV memperlihatkan serapan maksimum pada 322,37 nm yang mengindikasikan adanya gugus dienon berkonjugasi (kerangka dasar kumarin). Data spektrum IR memperlihatkan serapan pada gugus hidroksil (3157,86cm<sup>-1</sup>), gugus enon (1679,69 cm<sup>-1</sup>), cincin aromatis (1593,88 cm<sup>-1</sup> dan 1448,28 cm<sup>-1</sup>), ikatan C-H dari CH<sub>3</sub> (1385,6 cm<sup>-1</sup>), ikatan C-O dari dienon berkonjugasi(1270,86 cm<sup>-1</sup>), dan ikatan C-O dari gugus alkohol (1236,15 cm<sup>-1</sup>).

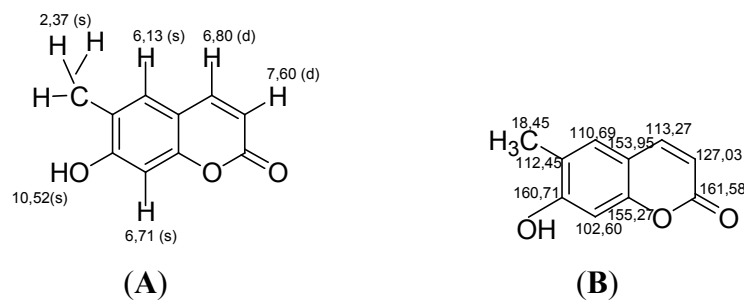
Data spektrum <sup>13</sup>C-NMR menunjukkan signal adanya 10 atom C dari senyawa yang diisolasi yaitu pada pergeseran 18,54 – 161,58 ppm. Dari kesepuluh atom karbon tersebut terdistribusi pada empat kelompok karbon, yaitu meliputi satu karbon karbonil ester siklik (161,58 ppm),

enam karbon aromatis (160,71; 155,27; 153,95; 102,60; 112,45; 110,69 ppm), dua karbon etilen (127,03 dan 113,27 ppm), satu karbon metil (CH<sub>3</sub>;18,45 ppm). Data ini mendukung bahwa senyawa yang diisolasi mempunyai kerangka dasar  $\alpha$ -benzopiran dengan substituen hidroksil dan metil. Data spektrum <sup>1</sup>H-NMR dari senyawa yang diisolasi memperlihatkan adanya 6 kelompok proton dengan integrasi proton 3:1:1:1:1:1 yaitu pergeseran kimia 10,52 ppm merupakan proton hidroksi yang terikat pada C-7; dan pergeseran kimia 6,71 ppm (1H, s) dan 6,13 ppm (1H,s) masing-masing merupakan proton aromatis yang terikat pada C-8 dan C-5; untuk pergeseran kimia pada 6,80 ppm (1H, d) dan 7,60 ppm (1H, d) masing-masing merupakan proton etilen dari cincin lakton yang terikat pada C-3 dan C-4. Kedua proton ini memberikan puncak doublet karena kedua proton mempunyai lingkungan kimia yang sama/bertetangga, dan untuk pergeseran kimia pada 2,37 ppm(3H,s) merupakan proton dari substituen metil yang terikat pada C-6. Untuk mempermudah pemahaman, **gambar 2** memperlihatkan nilai

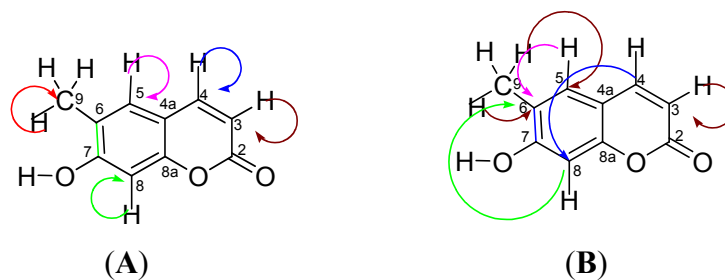
pergeseran kimia dari karbon dan proton senyawa hasil isolasi.

Untuk mendukung rumus struktur yang diusulkan dari senyawa yang diisolasi tersebut dilanjutkan dengan pengukuran dua dimensi yakni HMQC. Data spektrum HMQC senyawa hasil isolasi memperlihatkan bahwa masing-masing atom karbon cincin lakton mengikat 1H yaitu C-3 mengikat 1H( $\delta = 7,60$  ppm,d); dan C-4 mengikat 1H( $\delta = 6,80$  ppm,d) kemudian pada cincin aromatis ditemukan data yaitu C-5 mengikat

1H( $\delta = 6,13$  ppm,s) dan C-8 mengikat 1H( $\delta = 6,71$  ppm, s) (gambar 3A) dan data spektrum HMBC senyawa yang diisolasi memperlihatkan adanya korelasi proton H-9 dengan C-5 dan C-6; korelasi proton H-4 dengan C-8 dan C-6; korelasi proton H-5 dengan C-6; dan korelasi proton H-8 dengan C-6 (gambar 3B). Data pendukung untuk penentuan struktur senyawa yang diisolasi berasal dari data literatur (Soekamto et.al., 2008), diisolasi dari *Kleinhovia hospita* Linn (tabel 1)



Gambar 2. Nilai pergeseran kimia (ppm) proton (A) dan karbon (B) senyawa hasil isolasi



Gambar 3. Korelasi HMQC (A) dan HMBC (B) senyawa hasil isolasi

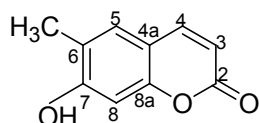
**Tabel 1.** Data pergeseran kimia  $^{13}\text{C}$ -NMR senyawa hasil isolasi, umbelliferon, scopoletin

| C  | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ (umbelliferon) | $\delta_{\text{C}}$ (scopoletin) |
|----|---------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 2  | 161,58 ppm          | 160,4 ppm                          | 161,66 ppm                       |
| 3  | 127,03 ppm          | 111,4 ppm                          | 113,58 ppm                       |
| 4  | 113,27 ppm          | 144,5 ppm                          | 143,51 ppm                       |
| 4a | 153,95 ppm          | 111,2 ppm                          | 111,66 ppm                       |
| 5  | 110,69 ppm          | 129,7 ppm                          | 107,6 ppm                        |
| 6  | 112,45 ppm          | 113,1 ppm                          | 144,16 ppm                       |
| 7  | 160,71 ppm          | 161,2 ppm                          | 149,84 ppm                       |
| 8  | 102,60 ppm          | 102,1 ppm                          | 103,35 ppm                       |
| 8a | 155,27 ppm          | 155,4 ppm                          | 150,41 ppm                       |
| 9  | 18,45 ppm           | -                                  | 56,57 ppm                        |

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan analisa spektroskopi UV, IR, GC-MS,  $^{13}\text{C}$ -NMR,  $^1\text{H}$ -NMR, 2D-NMR (HMOC dan HMBC), serta pengujian KLT yang dimonitor dengan lampu UV 365 nm, berfluorisensi dan bertambah terang dengan penambahan NaOH 10%, senyawa hasil isolasi dari fraksi diklorometana biji buah *Clausena excavata* adalah turunan dari senyawa kumarin dengan nama dan rumus struktur sebagai berikut:



Gambar 4. 7-hidroksi-6-metil-kumarin

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bioaktivitas dari senyawa kumarin hasil isolasi dari biji buah *Clausena excavata*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Hong, P.H., Yue M.S., Guo Y.Z., Wei M.Z., Xiao S.Y., Xiao J.H. 2000. Two New O-terpenoidal Coumarins, Excavacoumarin A and B from *Clausena excavata*. Chinese Chemical Letters Vol. 11, No. 6, pp. 539-542
- Lim G. K. 2005. Chemical Constituents and Biological

- Activity of *Clausena excavate* (Rutaceae); Universitas Putra Malaysia
- Manosroi, A., A. Saraphanchotiwitthaya, J. Manosroi. 2005. In Vivo Immunomodulating Activity of Wood Extracts from *Clausena excavata* Burm.f. Journal of ETHNOPHARMACOLOGY 102 (2005) 5-9
- Sagrawat, H., Y.M.Khan. 2007. Immunodulatory Plants. Pharmacognosy Reviews, 1, Issue 2
- Soekamto, N.H., A. Noor, I. Dini, Rudiyanasyah, M. Garson. 2008. Coumarin and steroid compound from stem bark of *Kleihonvia hospita* Linn. ISBN 978-979-18962-0-7.
- Takemura, Y., K. Nakamura, T. Hirusawa., M. Ju-Ichi, C. Ito., H. Furukawa. 2000. Four New Furanone-Coumarin from *Clausena excavata*. Chem Farm Bull 48(4)582-584