ISOLASI KAEFEROL-3-O-NEOHESPERIDOSA DAUN GAMAL (*Gliricidia maculata* H.B.K)

Bustanul Arifin

Laboratorium Kimia Organik Sintesis, Jurusan Kimia FMIPA
Universitas Andalas, Padang, 25163

INTISARI

Senyawa kaemferol-3-O-neohesperidosa telah diisolasi dari daun tumbuhan gamal (*Gliricidia maculata* H.B.K). Isolasi dilakukan dengan metoda maserasi menggunakan pelarut metanol. Pemisahan dilakukan melalui fraksinasi dengan kromatografi kolom dengan eluen campuran n-heksana, etil asetat, metanol yang kepolarannya dinaikkan secara bertingkat dan diikuti dengan kromatografi kertas preparatif. Hasilnya diperoleh suatu senyawa murni berupa bubuk berwarna kuning. Penentuan struktur dilakukan dengan spektroskopi ultraviolet, inframerah, resonansi magnit inti 1-H dan dibandingkan dengan spektrum standar.

Kata Kunci : kaemferol-3-O-neohesperidosa, Isolasi

ABSTRACT

Kaempferol-3-O-neohesperidoside had been isolated from *Gliricidia maculata* H.B.K. by maceration method using methanol. Purification of this compound by fractination, silica gel column chromatography using n-hexane, ethyl acetate, methanol and using eluent gradually of polarity system and preparative paper chromatography. The characterization of structure used ultraviolet spectroscopy, infrared spectroscopy, 1-H nuclear magnetic resonance and approved by standard spectra.

Keyword : Kaempferol-3-O-neohesperidosa, Isolation

PENDAHULUAN

Senyawa kaemferol sebagai glikosida banyak didapatkan pada famili Leguminosae. Dari 52 spesiesnya didapatkan 21 spesies mengandung kaemferol sebagai glikosida umumnya tersulih sebagai O-glikosida pada posisi 3 [1].

Salah satu spesies dari Leguminosea yang banyak tumbuh di Indonesia yaitu tanaman gamal (*Gliricidia maculata* H.B.K). Tanaman ini dapat digunakan untuk pemberantas alang-alang, memiliki daun yang rimbun dan tahan terhadap kebakaran[2].

Tanaman ini dapat digunakan sebagai pohon pelindung pada daerah tandus, bunganya sebagai sayur, daunnya dapat digunakan sebagai dan makanan ternak, khususnya yang sedang menyusui dan pupuk, dimana setiap 1500 kg daun segar sama nilainya dengan 25 kg N, 8 kg P dan 27 kg K. Daun gamal juga mengandung 9.2% air; 6.1% abu, 19.3% protein; 16.3% serat kasar; 4.59% lemak; 1.49% CaO dan 0.0014% HCN. Dari daun gamal juga telah berhasil diisolasi suatu senyawa 5,6-benzo-d-piron dan kaemferol-3-rutinosa[3,4].

METODOLOGI

Bahan kimia dan peralatan yang digunakan

Bahan kimia yang digunakan adalah n-heksana, metanol, etil asetat, yodium, anilin, asam ftalat, ammonium hidroksida, asam asetat, n-butanol, asam sitrat, asam borat, fenol, etanol, logam natrium, logam magnesium, aluminium klorida, natrium asetat, asam klorida, silika gel 60, plat silika gel F254, kertas kromatografi, glukosa, ramnosa dan kaemferol.

Peralatan yang digunakan rotari evaporator, oven vakum, kolom kromatografi, spektrofotometer ultraviolet, spektrofotometer inframerah dan spektrofotometer resonansi magnit inti 1-H.

Prosedur Kerja

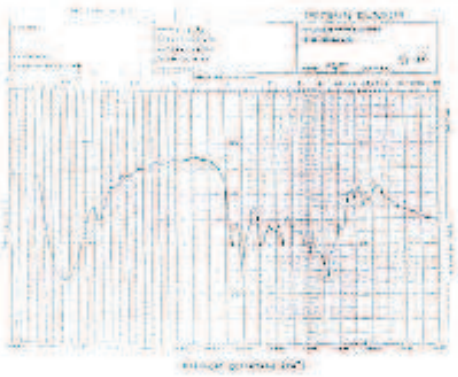
Daun segar (2 kg) yang telah dihaluskan direndam dengan metanol (15 L) selama 5 hari. Ekstrak dipekatkan dan difraksinasi dengan n-heksana. Fraksi metanol dipekatkan dan diperoleh ekstrak kasar 24 g. Ekstrak kasar sebanyak 5 g dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan absorben silika gel, eluen n-heksana, etil asetat dan metanol dengan meningkatkan kepolarannya. Hasil kromatografi kolom dimurnikan dengan kromatografi kertas preparatif menggunakan eluen BAA (n-butanol : asam asetat : air) dan diperoleh bubuk berwarna kuning (19 mg).

Hasil isolasi ditentukan harga Rf, ditarik spektrum inframerah, ultraviolet dengan berbagai pereaksi geser yaitu NaOMe, $AlCl_3$/HCl, Na-asetat H_3BO_3 dan spektrum ^{1}H-NMR. Senyawa hasil isolasi dihidrolisa dengan HCl 2N : MeOH (1 : 1) dan diekstraksi dengan etil asetat. Fraksi etil asetat digunakan untuk identifikasi aglikon dan fraksi air untuk identifikasi gula. Fraksi etil asetat ditentukan harga Rf, ditarik spektrum ultraviolet dengan beberapa pereaksi geser dan dibandingkan dengan kaemferol standar. Sedangkan fraksi air dilakukan kromatografi kertas dan dibandingkan dengan glukosa dan ramnosa standar, menggunakan eluen BAA, BEA (n-butanol : etil asetat : air) dan FA (fenol : air) dengan penampak noda anilin-ftalat.

HASIL DAN DISKUSI

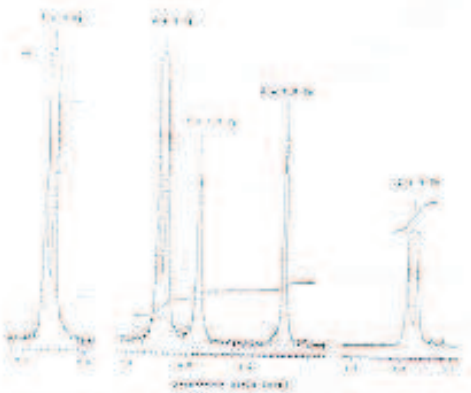
Hasil

Senyawa hasil isolasi berupa bubuk berwarna kuning, memberikan harga Rf dengan kromatografi kertas 0,53 dengan eluen BAA dan 0,68 dengan eluen asam asetat 15%. Berfluoresensi lembayung dengan UV 365 nm dan kuning dengan UV 365 nm setelah diberi uap NH_3. Spektrum inframerah memberikan serapan pada bilangan gelombang 3300; 2950; 1660; 1605; 1398; 1360; 1222; 1194 dan 1095 cm^{-1}.



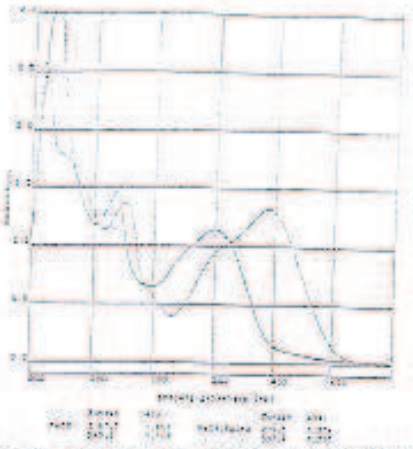
Gambar 1. Spektrum inframerah senyawa hasil isolasi

Spektrum resonansi magnit inti proton memberikan pergeseran kimia (ppm) pada 1,78 (d, J = 6 Hz); 3,4-3,8 (m); 5,079 (s); 5,099 (s); 6,482 (d, J = 1,8 Hz); 6,675 (d, J = 1,8 Hz); 6,885 (d, J = 9 Hz) dan 8,118 (d, J = 9 Hz).



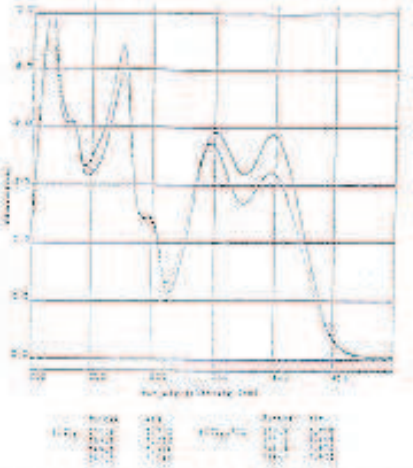
Gambar 2. Spektrum resonansi magnit inti senyawa hasil isolasi

Sedangkan spektrum ultraviolet memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 267,7 dan 349,6 nm dalam metanol. Menggunakan pereaksi geser NaOMe serapan maksimum menjadi 275,7 dan 393,2 nm. Penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ membuat serapan maksimum bergeser menjadi 275,6; 299,3; 349,3; dan 397,3 nm, dan penambahan HCl menggeser serapan menjadi 232,9; 275,9; 346,6 dan 391,6 nm. Sedangkan penambahan pereaksi geser natrium asetat memberikan serapan pada 267,6 dan 364,1 nm, dan setelah penambahan H_3BO_3 menjadi 267,6 dan 350,6 nm.

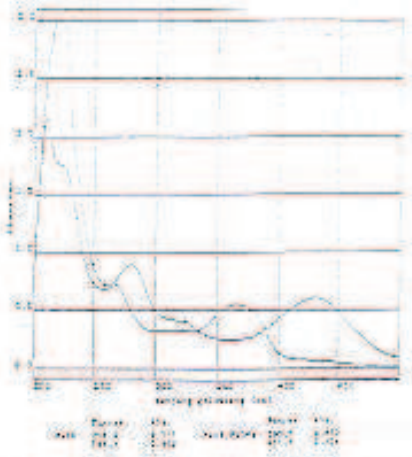


Gambar 3. Spektrum ultraviolet kaemferol-3-O-neohesperidosa dengan pereaksi geser NaOMe

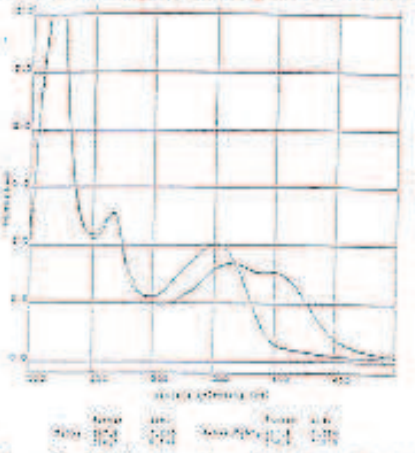
Setelah hidrolisa, senyawa hasil isolasi memberikan harga Rf 0,86 dengan eluen BAA dan 0,04 dengan eluen asam asetat 15%. Spektrum ultraviolet memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 268,0 dan 365,1 nm dalam metanol. Penambahan pereaksi geser NaOMe serapan maksimum menjadi 280,7 dan 431,1 nm. Menggunakan pereksi geser $AlCl_3$ serapan maksimum pada 271,1; 350,0 dan 424,8 nm, setelah penambahan HCl menjadi 225,8; 270,1; 350,0 dan 419,0 nm. Sedangkan penambahan pereaksi geser natrium asetat memberikan serapan pada 275,6 nm dan 369,0 nm, setelah penambahan H_3BO_3 menjadi 269,1 dan 369,0 nm. Spektrum ultraviolet kaemferol standar memberikan data yang identik.



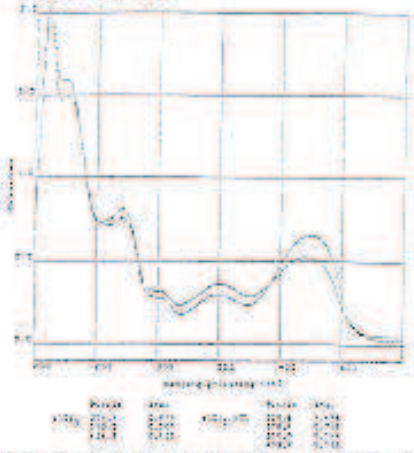
Gambar 4. Spektrum ultraviolet kaemferol-3-O-neohesperidosa dengan pereaksi geser $AlCl_3$ dan HCl



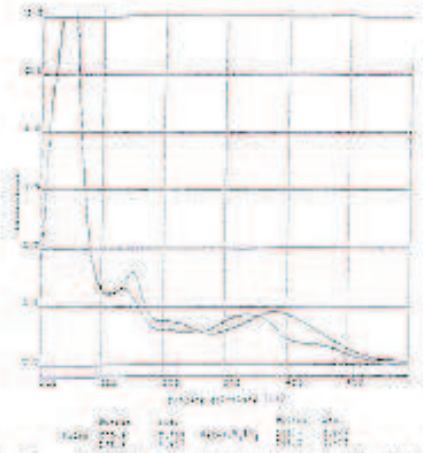
Gambar 6. Spektrum ultraviolet kaemferol dengan pereaksi geser NaOMe



Gambar 5. Spektrum ultraviolet kaemferol-3-O-neohesperidosa dengan pereaksi geser NaO Asetat dan H_3BO_3.



Gambar 7. Spektrum ultraviolet kaemferol dengan pereaksi geser $AlCl_3$ dan HCl



Gambar 8. Spektrum ultraviolet kaemferol dengan pereaksi geser NaO Asetat dan H_3BO_3

Senyawa gula hasil hidrolisa memberikan harga Rf 0,17 dan 0,41 dengan eluen BAA, Rf 0.14 dan 0,29 dengan eluen DEA dan Rf 0,28 dan 0,43 dengan eluen FA, menggunakan gula pembanding ramnosa dan glukosa memberikan harga Rf yang sama.

DISKUSI

Kromatogram dari kromatografi kertas sebelum dan sesudah hidrolisis mengalami perubahan. Harga Rf naik setelah hidrolisis dengan menggunakan eluen BAA dan turun menggunakan eluen asam asetat 15%. Perubahan harga Rf ini dapat digunakan untuk mengindikasikan flavonoid hasil isolasi merupakan O-glikosida. Flavonoid O-glikosida dapat terhidrolisa menjadi flavonoid dengan kepolaran semakin berkurang. Pengujian terhadap glikon yang dilakukan dengan kromatografi kertas ternyata mengandung dua jenis gula yaitu ramnosa dan glukosa dimana memberikan harga Rf yang sama dengan gula pembanding.

Spektrum ultraviolet senyawa flavonoid hasil isolasi dengan serapan maksimum 349,6 nm dengan penambahan pereaksi geser NaOMe serapan maksimum mengalami perubahan ke 393,2 nm dengan pelarut metanol. Data ini menunjukkan adanya gugus OH pada posisi 4. Penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ pita I mengalami penambahan serapan maksimum 47,7 nm relatif terhadap serapan dengan pelarut methanol. Perubahan ini menunjukan adanya gugus OH pada posisi 5. Penambahan HCl berikutnya, tidak mengalami perubahan serapan maksimum yang kuat, ini menunjukan tidak adanya gugus di-OH pada cincin A dan atau cincin B. Penambahan pereaksi geser natrium asetat, pita I mengalami peningkatan serapan maksimum 14,5 nm relatif terhadap serapan dengan pelarut methanol. Ini menunjukan adanya gugus OH pada posisi 7. Penambahan H_3BO_3 berikutnya, tidak mengalami perubahan serapan maksimum, menunjukan tidak ada gugus di-OH pada cincin A dan atau cincin B. Data spektrum ultraviolet ini diperkuat dari warna kromatogram flavonoid sebelum hidrolisa bewarna lembayung dengan UV 365 nm dan bewarna kuning setelah diberi uap NH_3. Indikasi ini menandakan flavonoid mempunyai gugus OH pada posisi 5,4 dan tersulih pada posisi 3.

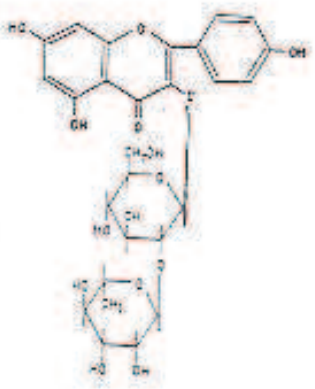
Spektrum ultraviolet flavonoid dari hasil hidrolisa dengan penambahan pereaksi geser NaOMe, serapan maksimum mengalami penambahan 66 nm relatif terhadap serapan dengan pelarut metanol pada pita I. Data ini menunjukan adanya gugus OH pada posisi 4. Penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ pada pita I mengalami penambahan serapan maksimum 59,7 nm relatif terhadap serapan dengan pelarut metanol. Perubahan ini menunjukan adanya gugus OH pada posisi 3 dan atau 5. Penambahan HCl berikutnya tidak mengalami perubahan serapan yang kuat, menandakan tidak adanya di-OH pada cincin A dan atau cincin B. Penambahan pereaksi geser natrium asetat, pita I mengalami penambahan serapan maksimum 24,3 nm relatif terhadap serapan dengan pelarut metanol. Ini menunjukan adanya gugus OH pada posisi 7. Penambahan H_3BO_3 selanjutnya tidak mengalami perubahan serapan maksimum, menunjukan tidak ada gugus di-OH pada cincin A dan atau cincin B. Data spektrum ultraviolet senyawa ini juga sama dengan spektrum ultraviolet senyawa kaemferol pembanding. Harga Rf dengan kromatografi kertas menggunakan eluen BAA dan asam asetat 15% memberikan harga yang sama.

Spektrum inframerah senyawa hasil isolasi menunjukan renggangan OH pada 3309 cm^{-1}, 2950 cm^{-1} renggangan C-H alifatis. Vibrasi C=C muncul pada 1610 cm^{-1} dan 1398 cm^{-1}. Renggangan C-O muncul pada 1222 cm^{-1} dan 1095 cm^{-1}.

Spektrum resonansi magnit inti 1H memberikan pergeseran kimia 1,178 ppm, konstanta kapling J = 6 Hz dan bentuk puncak dublet dengan integrasi 3 merupakan puncak CH3 pada ramnosil. Proton pada CH3 di kapling

oleh proton pada C5 dari gugus ramnosil. Pergeseran kimia antara 3.4-3.8 ppm, puncak multiplet dan integrasi 10 merupakan proton pada ramnoglukosil. Pergeseran kimia 5.079 ppm, puncak singlet dan integrasi 1 merupakan proton pada C1-ramnosil, pada 5.099 ppm, puncak singlet dan integrasi 1, merupakan proton pada C1 glukosil. Pergeseran kimia proton aromatis adalah 6.482 ppm menunjukan adanya kapling 3J dan integrasi 1, pada 6.765 ppm menunjukan adanya kapling 3J dan integrasi 1. Ini merupakan puncak dari proton pada C6 dan C8 yang saling mengkapling dengan konstanta kapling J = 1,8 Hz. Pergeseran kimia 6.885 ppm puncak dublet, konstanta kapling J = 9 Hz merupakan adanya kapling 3J dengan integrasi 2. Ini menunjukan proton pada atom C3 dan C5 dengan lingkungan yang sama. Pada pergeseran kimia 8.118 ppm, puncak dublet, konstanta kapling J = 9 Hz dan integrasi 2, merupakan proton pada C2 dan C6 dengan lingkungan yang sama.

Berdasarkan analisis data yang didapatkan dari senyawa hasil analisis dan senyawa pembanding serta membandingkan dengan literatur, bahwa senyawa flavonoid yang didapatkan adalah flavanol yang mengandung gugus OH pada posisi C3, C5, C7 dan C4 atau disebut kaemferol gugus OH pada C3 kaemferol tersulih dengan gula neohesperidosa (ramnoglukosil).



Gambar 9. Struktur molekul kaemferol-3-O-neohesperidosa

KESIMPULAN

Dari hasil isolasi yang telah dilakukan terhadap daun tanaman gamal (*Gliricida maculata* H.B.K) didapatkan suatu senyawa berupa bubuk dengan struktur kaemferol 3-O-neohesperidosa.

Ucapan Terima Kasih Kepada

Prof. Dr. Leen Maat dari Department of Organic Chemistry and Catalyst, DELF University of Technology Netherlands untuk pengukuran spektrum H-NMR, Dr. Sanusi Ibrahim untuk konsultasinya dan Dr. Hamzar Suyani Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas dalam pengukuran spektrum ultraviolet dan Drs. Mahyuddin Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas dalam pengukuran spektrum inframerah.

DAFTAR PUSTAKA

1. M. Rahman. Peranan ekologi dalam pengendalian gulma berwawasan lingkungan. Unand Padang (Pidato Pengukuhan Guru Besar Biologi Universitas Andalas (1995).
2. R. R. Bimantoro. Gamal (Gliricidia maculata H.B.K). Buletin Kebun Raya. 2,4,137, Bogor (1976).
3. S. Rangaswani, V.S. Lyer. Comparative Biochemistry of the Flavonoid. J. Current sci., 35, 364 (1996).
4. J. gasparic, J. Churecek. Laboratory Hand Book of Paper and thin Layer Chromatography. John Wiley & Sons. new York (1978).
5. J.B. Harbone. Comparative Biochemistry of the Flavonoid. Academic press Inc. Ltd. London (1967).
6. T.J. Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag. New York (1970).
7. K.R. Markham. Techniques of Flavonoid Identification. Cara mengidentifikasi Flavonoid., penerbit ITB, Bandung (terjemahan Padmawinata K) (1988).