

FLAVONOID GLIKOSIDA DARI KULIT BATANG GAMAL (*Gliricidia maculata* HBK)

Bustanul Arifin¹⁾

¹⁾ Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas

E-mail: ba_arifin@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi suatu senyawa flavonoid dari kulit batang Gamal (*Gliricidia maculata* HBK) dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol, selanjutnya difraksinasi dengan n-heksan, etil asetat dan n-butanol. Fraksi etil asetat dilakukan kolom kromatografi menggunakan eluen dengan cara kepolaran bertingkat dan dilanjutkan dengan kromatografi kertas preparatif. Senyawa hasil isolasi memberikan noda tunggal dengan beberapa eluen menggunakan kromatografi lapisan tipis (TLC). Kromatografi kertas dua arah didapatkan Rf 0,33 menggunakan eluen BAA (4:1:5) dan Rf 0,37 menggunakan eluen asam asetat 15%. Spektroskopi ultraviolet dengan menggunakan pelarut metanol memberikan serapan pada λ_{maks} 267,7 dan 349,6 nm. Menggunakan pereaksi geser NaOCH₃ serapan λ_{maks} 275,5 dan 393,2 nm, AlCl₃ serapan λ_{maks} 275,6; 299,5(bahu); 349,3 dan 397,3 nm, HCl serapan λ_{maks} 232,9; 275,9; 346,6 dan 396,1 nm, NaOOCCH₃ serapan λ_{maks} 267,6; 370,5 dan 405,5 nm dan H₃BO₃ serapan λ_{maks} 267,6; dan 350,5 nm. Spektroskopi infra merah (IR) memberikan serapan pada angka gelombang 3407,6; 2360,4; 1663,3; 409,8 cm⁻¹. Senyawa murni dilakukan hidrolisis dengan HCl 1% dan diekstraksi menggunakan etil asetat. Fraksi etil asetat memberikan noda tunggal dengan kromatografi kertas dua arah didapatkan Rf 0,78 menggunakan eluen BAA (4:1:5) dan Rf 0,08 menggunakan eluen asam asetat 15%. Spektroskopi ultraviolet dengan menggunakan pelarut metanol memberikan serapan pada λ_{maks} 268,0 dan 365,1 nm. Menggunakan pereaksi geser NaOCH₃ serapan λ_{maks} 280,7; 320,2 dan 420,0 nm, AlCl₃ serapan λ_{maks} 271,1; 308,5(bahu); 350,0 dan 424,8 nm, HCl serapan λ_{maks} 265,8; 304,3(bahu); 350,0 dan 419,2 nm, NaOOCCH₃ serapan λ_{maks} 275,6; 304,3 dan 389,4 nm dan H₃BO₃ serapan λ_{maks} 269,1; 320,4(bahu) dan 369,0 nm. Fraksi air dilakukan hasil uji kromatografi kertas mengandung gula rannosa dan glukosa. Berdasarkan data tersebut diperkirakan senyawa hasil isolasi dari kulit batang gamal (*Gliricidia maculata* HBK) adalah 3,5,4' trihiroksi 7-O rannoglukosil flavon (7-O-neohesperidosida kaemferol).

Kata kunci: flavonoid, glikosida, gamal, isolasi

1. PENDAHULUAN

Jenis dan jumlah senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan hasil metabolisme sekunder tidak sama dan umumnya sangat tergantung pada spesis tumbuhan. Begitu juga kegunaan dan struktur dari senyawa metabolisme sekunder pada berbagai spesis tumbuhan belum banyak diketahui dengan pasti.

Tumbuhan Gamal (*Gliricidia maculata* HBK) berasal dari Amerika Tengah dan diperkirakan dibawa ke Indonesia pada tahun 1870. Nama daerah tumbuhan ini beraneka ragam antara lain di Jawa Barat disebut dengan cep-byer, di Jawa Tengah dengan nama lirisida, di Yogyakarta disebut dengan johan bembiroloka dan Malang disebut dengan kelor wono.

Tumbuhan gamal merupakan tumbuhan yang mudah tumbuh di daerah tropis dengan ketinggian 0 -1200 meter diatas permukaan laut. Pohon berukuran sedang dengan ketinggian 8 – 15 meter, umumnya berbatang lurus, bercabang rendah 1 -1,5 meter dari permukaan tanah. Tanaman ini digunakan untuk penghijauan pada tanah yang sangat tandus dan gundul serta dapat digunakan untuk memberantas alang-alang. Daun gamal digunakan sebagai penyediaan dan sebagai pupuk organik. Bunganya sangat disenangi oleh lebah madu dan dapat digunakan sebagai pakan lebah.

Kandungan metabolisme sekunder dari daun gamal yang sudah diketahui adalah kumarin dan kaemferol 7-O-rutinosa merupakan glikosida pada fraksi polar. Dari hasil uji fitokimia dengan menggunakan pereaksi Sianidin test pada fraksi etil asetat didapatkan bahwa pada kulit batangnya juga terkandung senyawa flavonoid. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan isolasi senyawa flavonoid dari kulit batang gamal terhadap fraksi etil asetat.

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol. Kemudian difraksinasi dengan berbagai pelarut yaitu n-heksan, etil asetat dan n-butanol. Proses pemisahan senyawa flavonoid dilakukan

dengan kromatografi kolom, sedangkan pemurniannya dengan kromatografi kertas preparataif. Selanjutnya proses karakterisasi dilakukan dengan kromatografi kertas dua arah dan memperkirakan strukturnya dengan menggunakan spektroskopi IR dan UV dengan berbagai pereaksi geser.

2. METODOLOGI DAN BAHAN

a. Uji Fitokimia

Sampel segar kulit batang gamal sebanyak 2 gram dipotong halus, dimasukkan ke dalam sebuah tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan metanol dan dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit. Hasil maserasi dalam kondisi panas disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lainnya. Tambahkan beberapa tetes larutan HCl pekat dan beberapa butir bubuk Mg ke dalam ekstrak metanol. Terbentuknya warna merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

b. Isolasi dan Pemurnian

Kulit batang tumbuhan gamal (*Gliricidia maculata* HBK) dimaserasi pada temperatur kamar menggunakan pelarut metanol beberapa kali sampai ekstraksi sempurna. Hasil maserasi dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak pekat tersebut difraksinasi dengan n-heksana, kemudian dilanjutkan fraksi dengan etil asetat dan kemudian dengan n-butanol. Setiap fraksi yang didapatkan dilakukan uji terhadap senyawa flavonoid. Fraksi yang positif flavonoid (fraksi etil asetat) dipekatkan dengan rotary evaporator.

Ekstrak pekat dari fraksi etil asetat sebanyak 5 gram dilakukan kolom kromatografi menggunakan eluen n-heksana, etil asetat dan metanol dengan sistim kepolaran bertingkat. Hasil kromatografi kolom tersebut selanjutnya diuji dengan KLT dengan menggunakan pengungkap noda uap yodium. Untuk fraksi yang mempunyai pola noda dan harga Rf yang sama digabung menjadi satu fraksi dan selanjutnya dipekatkan dengan rotari evaporator. Fraksi yang

diperoleh dilakukan uji flavonoid dan dilakukan kromatografi kertas untuk menentukan adanya senyawa flavonoid. Fraksi yang positif terhadap uji flavonoid dimurnikan dengan kromatografi kertas preparatif menggunakan eluen n-butanol:asam asetat:air (4:1:5). Hasil isolasi senyawa yang didapatkan dilakukan karakterisasi untuk mengetahui strukturnya.

c. Karakterisasi

Untuk menentukan golongan flavonoid, hasil isolasi diperiksa dengan metoda kromatografi kertas 2 arah, dengan eluen campuran n-butanol, asam asetat, dan air (4 : 1 : 5) serta asam asetat 15 %. Kemudian dibandingkan dengan kromatogram standar. Untuk menentukan strukturnya digunakan analisis spektroskopi spektrofotometer ultraviolet dan infra merah. Khusus untuk spektrofotometer ultraviolet dilakukan penambahan pereaksi geser natrium metoksida (NaOCH_3), aluminium klorida/asam klorida (AlCl_3/HCl) dan natrium asetat/asam borat ($\text{NaOOCCH}_3/\text{H}_3\text{BO}_3$).

Senyawa hasil isolasi dihidrolisis dengan larutan HCl 2N : metanol (1:1) dan direfluk selama 1 jam. Hasil hidrolisis difraksinasi dengan etil asetat sehingga didapatkan dua fraksi yaitu fraksi air dan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat di keringkan pelarutnya dengan bantuan rotari evaporator. Untuk menentukan golongan flavonoid, hasil isolasi diperiksa dengan metoda kromatografi kertas 2 arah, dengan eluen campuran n-butanol, asam asetat, dan air (4:1:5) serta asam asetat 15 % kemudian hasilnya dibandingkan dengan spektrum standar. Selanjutnya dilakukan uji spektrofotometer ultraviolet dengan penambahan pereaksi geser natrium metoksida (NaOCH_3), aluminium klorida/asam klorida (AlCl_3/HCl) dan natrium asetat/asam borat ($\text{NaOOCCH}_3/\text{H}_3\text{BO}_3$). Fraksi air dilakukan pemeriksaan dengan kromatografi kertas menggunakan gula standar, sebagai pengelusi digunakan dengan eluen butanol, asam asetat, dan air (4:1:5). Hasil kromatografi kertas sebagai pengungkap noda digunakan anilin hidrogen ftalat.

3. HASIL DAN DISKUSI

Salah satu metabolit sekunder yang terdapat dalam kulit batang tumbuhan gamal (*Giricidia maculata* HBK) adalah flavonoid. Hal ini dibuktikan dengan Sianidin test menggunakan HCl pekat dan bubuk Mg menghasilkan warna merah muda. Fraksi etil asetat memberikan warna merah dengan pereaksi Mg/HCl berarti mengandung senyawa flavonoid.

Fraksi etil asetat dilakukan kolom kromatografi diperoleh 9 fraksi dan yang menandung flavonoid fraksi 5 (satu noda), fraksi 7 (satu noda) serta fraksi 8 (satu noda). Selanjutnya dilakukan pemurnian terhadap fraksi 8 dengan cara kromatografi kertas preparatif menggunakan eluen campuran n-butanol, asam asetat, dan air (4:1:5)

Senyawa hasil isolasi berbentuk bubuk berwarna kuning muda dan memberikan noda tunggal dengan eluen yaitu eluen etil asetat:metanol (5:5) Rf 0,58 dengan eluen etil asetat:metanol (3:7) Rf 0,76 dan eluen etil asetat:metanol (9:1) Rf 0,90. Hasil kromatografi kertas juga memberikan noda tunggal menggunakan eluen campuran n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) dengan harga Rf 0,33 dan eluen asam asetat 15% dengan harga Rf 0,37.

Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam pelarut metanol menunjukkan adanya dua serapan maksimum, yaitu 267,7 nm (pita II) dan 349,6 nm (pita I). Pola spektrum UV senyawa hasil isolasi mirip dengan pola spektrum golongan flavonol, dimana golongan flavonol berada pada daerah 350-385 nm (pita I) dan 250-280 nm (pita II).

Menggunakan percaksi geser NaOCH_3 serapan maksimum pada panjang gelombang 275,5 dan 349,6 nm. Pada pita I terjadi penambahan sebesar 7,8 nm, sedangkan pada pita II terjadi pergeseran batokromik sebesar 43,6 nm relatif terhadap spektrum UV dengan pelarut metanol. Hal ini menunjukkan adanya gugus hidroksi (OH) pada posisi C3 dan C4' kemungkinan adanya *orto*-diOH pada cincin A dan/atau cincin B.

Penambahan pereaksi geser AlCl_3 serapan maksimum pada panjang gelombang 275,5; 299,5; 349,3 dan 397,3 nm. Bila dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi geser HCl serapan maksimum pada panjang gelombang 275,5; 299,0; dan 397,32 nm. Penambahan pereaksi geser AlCl_3 mengakibatkan terjadinya pergeseran batokromik sebesar 31,85 nm pada pita I dan 46,5 nm pada pita II relatif terhadap spektrum dalam pelarut metanol. Sedangkan dengan penambahan pereaksi geser HCl relatif tidak mengalami pergeseran terhadap spektrum dengan pereaksi geser AlCl_3 . Berdasarkan data tersebut bahwa senyawa flavonoid tersubstitusi dengan gugus hidroksi pada posisi C_3 dan tidak ada gugus hidroksi pada posisi di-orto baik pada cincin A maupun cincin B.

Penambahan pereaksi geser NaOOCCH_3 serapan maksimum pada panjang gelombang 267,6; 370,5 dan 405,2 nm dan selanjutnya dengan penambahan H_3BO_3 serapan maksimum pada panjang gelombang 267,6 dan 350,5 nm. Penambahan NaOAc menyebabkan tidak terjadinya pergeseran pada pita I dan 20,5 nm dan muncul bahu pada pita II, hal ini mengindikasikan adanya tidak terdapatnya gugus OH pada posisi C_7 . Penambahan H_3BO_3 tidak terjadi pergeseran yang berarti yaitu batokromik sebesar 1,1 nm pada pita I dan 3,9 nm pada pita II, hal ini menunjukkan tidak ada *o*- diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8).

Sedangkan data spektrum inframerah memperlihatkan serapan maksimum pada angka gelombang 3407; 2360; 1663; 1611; 1562; 1521; 1450; 1382; 1319; 1260; 1170; 1014; 824; 669 dan 410 cm^{-1} . Spektrum infra merah senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya serapan maksimum pada 1611 cm^{-1} , hal ini mengindikasikan adanya pita serapan $\text{C}=\text{O}$. Selanjutnya serapan melebar pada 3407 cm^{-1} mengindikasikan adanya pita serapan $-\text{OH}$. Pita serapan $\text{C}=\text{C}$ aromatik ditunjukkan oleh serapan medium pada panjang gelombang 1663 cm^{-1} , hal ini didukung oleh adanya puncak serapan benzen pada 1562; 1521 dan 1450 cm^{-1} . Puncak serapan pada panjang gelombang 1170 dan 1014 cm^{-1} menunjukkan adanya pita serapan eter aromatik.

Senyawa hasil hidrolisis untuk fraksi etil asetat dengan KLT memberikan noda tunggal menggunakan beberapa jenis eluen yaitu eluen etil asetat : metanol (7:3) Rf 0,68, dengan eluen etil asetat : metanol (5 : 5) Rf 0,74, eluen etil asetat : metanol (3:7) Rf 0,86 dan eluen metanol Rf 0,88. Hasil kromatografi kertas juga memberikan noda tunggal menggunakan eluen campuran n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) dengan harga Rf 0,78 dan eluen asam asetat 15% dengan harga Rf 0,08.

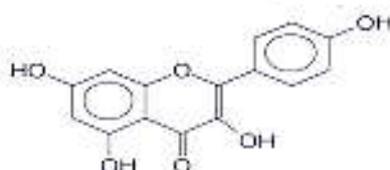
Spektrum UV senyawa hasil hidrolisis dalam pelarut metanol menunjukkan adanya dua serapan maksimum, yaitu 268,0 nm (pita I) dan 365,1 nm (pita I). Spektrum UV dengan menggunakan pereaksi geser NaOCH₃ serapan maksimum pada panjang gelombang 280,7; 340,5 dan 420,0 nm. Pada pita I terjadi penambahan sebesar 12,7 nm pada pita I, sedangkan pada pita II terjadi pergeseran batokromik sebesar 66 nm relatif terhadap spektrum dengan pelarut metanol. Hal ini menunjukkan adanya gugus hidroksi (OH) pada posisi C3 dan C4' kemungkinan adanya *o*-diOH pada cincin A dan/atau cincin B. Kemudian pada panjang gelombang 340,5 nm terlihatnya pita baru yang menunjukkan adanya OH pada posisi 7.

Penambahan pereaksi geser AlCl₃ serapan maksimum pada panjang gelombang 271,1; 308,5; 350,0 dan 424,8 nm. Bila dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi geser HCl serapan maksimum pada panjang gelombang 255,8; 304,3; 350,0 dan 419,2. Penambahan pereaksi geser AlCl₃ mengakibatkan terjadinya pergeseran batokromik sebesar 40,5 nm pada pita I dan 59,7 nm pada pita II relatif terhadap spektrum dalam pelarut metanol. Sedangkan dengan penambahan pereaksi geser HCl relatif tidak mengalami pergeseran terhadap spektrum dalam pereaksi geser AlCl₃. Berdasarkan data tersebut bahwa senyawa flavonoid tersubstitusi dengan gugus hidroksi pada posisi C₅.

Penambahan pereaksi geser NaOOCCH₃ serapan maksimum pada panjang gelombang 275,6; 304,3(bahu) dan 389,4 nm dan selanjutnya dengan penambahan H₃BO₃ serapan maksimum pada panjang gelombang 269,1; 320,4(bahu) dan 369,0 nm. Penambahan NaOAc menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik sebesar 36,3 nm pada pita I dan 24,3 nm pada pita II, hal ini mengindikasikan adanya gugus

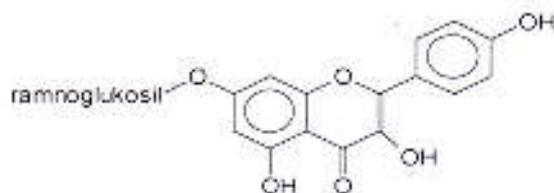
OH pada posisi C7. Penambahan H_3BO_3 terjadi pergeseran batokromik sebesar 1,1 nm pada pita I dan 3,9 nm pada pita II, hal ini menunjukkan tidak ada *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8).

Dari data di atas dapat ditentukan bahwa senyawa hasil isolasi kulit batang gamal (*Gliricidia maculata* HBK) adalah golongan flavonol yang tersubstitusi dengan gugus hidroksi pada atom C3, C5 C7 dan C4'. Senyawa flavonoid tersebut dapat dinyatakan dengan struktur molekul sebagai berikut:



Gambar 8. Struktur 3,5,7, 4' tetrahidroksi flavon (kaemferol)

Frakasi air hasil hirolisis dengan menggunakan kromatografi kertas menggunakan gula pembanding didapatkan dua jenis gula yaitu ramnosa dan glukosa. Masing harga R_f 0,62 dan 0,19 dengan menggunakan eluen BAA dan memberikan nilai R_f yang sama dengan gula pembanding. Berdasarkan literatur bahwa kedua gula tersebut terikat secara ramnoglukosil (neohesperidisida) secara O-glikosida.



Gambar 9. Struktur senyawa kaemferol 7-O-neohesperidisida

4. KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi dari kulit batang Gamal (*Gliricidia maculata* HBK) adalah 3,5,4' trihidroksi flavon (kaemferol) yang tersubstitusi 7-O-neoheperosida

Pada penelitian ini didapatkan senyawa-senyawa lain pada fraksi hasil kolom kromatografi dari gamal (*Gliricidia maculata* HBK). Maka dengan data tersebut dapat disarankan untuk mengisolasi senyawa flavonoid lainnya. Sedangkan untuk lebih tepatnya struktur hasil isolasi maka diperlukan data H-NMR, C-NMR dan MS.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gunawan, D. , Dj. Wahyono, I. A. Donatus, Taroenno dan Mulyono, 1983, *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*, Procceding : Simposium Penelitian Tumbuhan obat Indonesia, Yogyakarta, 12 – 15 September 1983, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
2. Achmad, S.A., E.H. Hakim dan L. Makmur, 1990, *Flavonoid dan Phyto Medica. Kegunaan dan Prospek*, Phyto Medica, Vol. I.
3. Cody, V., E. Middleton, J. B. Harborne and A. Berezt, 1987, *Flavonoids in Biology and Medicine II. Biochemical Cellular and Medicinal Properties*, Alam R. Liss, Inc., New York.
4. K.R. Markham, 1988, *Techniques of Flavonoid Identification (Cara mengidentifikasi flavonoid)*, diterjemahkan oleh Kosasih Padawinata, Penerbit ITB, Bandung.
5. T.J. Mabry, K.R. Markham and M.B. Thomas, 1970, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New York.
6. Harbone, J.B, 1987, *Metoda Fitokimia*, Terbitan ke-2 ITB, Bandung.
7. Bimantoro R.R, 1976, Gamal (*Gliricidia maculata* HBK), Buletin Kebun Raya,