

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FLAVONOID PADA FRAKSI ETIL ASETAT
DAUN *Macaranga lamellata* Whitmore**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF FLAVONOID COMPOUNDS FROM ETHYL
ACETATE FRACTION OF *Macaranga lamellata* Whitmore LEAVES**

Sherly Indah Puspita, Eva Marliana*, Daniel

Program Studi S1 Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: eva_samarinda@yahoo.com

Received: 04 September 2018, Accepted: 04 February 2019

ABSTRACT

Isolation and characterization of flavonoid compounds from ethyl acetate fraction of *Macaranga lamellata* Whitmore leaves have been done in this research. *Macaranga lamellata* Whitmore leaves was macerated using methanol and fractionated with n-hexane and ethyl acetate. The separation process of ethyl acetate fraction was conducted using gravity column chromatography by Step Gradient Polarity (SGP) method. The isolate was tested for its purity using thin layer chromatography with various eluents i.e. n-hexane, chloroform, methanol, acetone and ethyl acetate, with R_f values were 0; 0.7857; 0.8333; 0.9048 and 0.9286 respectively. The result indicated that the isolate was obtained as ML₁ (3 mg) belong to flavonoid compound in the form of oil. Analysis of ML₁ compound using UV displayed 2 peaks at λ 291 nm (band II) and 342 nm (band I). Analysis of ML₁ compound using FT-IR displayed functional groups -OH, C-H aromatic, C-H aliphatic, C=C aromatic, C=O, C-OH and C-O-C. Based on the results of UV and FT-IR spectra, ML₁ compound was suspected to contain flavonoid compound.

Keywords: *Flavonoid, isolation, Macaranga lamellata Whitmore*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu pusat penyebaran *Macaranga*, biasanya dikenal dengan tumbuhan “mahang-mahangan”. Umumnya *Macaranga* berupa pohon dan tempat tumbuh yang langsung terkena sinar matahari di hutan sekunder atau hutan yang telah rusak. Sehingga, *Macaranga* dikenal sebagai tumbuhan perintis dimana dapat mengembangkan kembali hutan yang telah rusak. Secara tradisional, *Macaranga* biasanya digunakan sebagai keperluan bahan bangunan dan pengobatan tradisional. Beberapa penggunaan tumbuhan *Macaranga* sebagai obat tradisional antara lain sebagai obat diare, luka, batuk dan lain sebagainya [1].

Dari penelusuran literatur diketahui bahwa *Macaranga* menghasilkan senyawa flavonoid yakni golongan flavonoid dan stilbenoid. Beberapa manfaat flavonoid yaitu sebagai antibiotik, anti-inflamasi, untuk melindungi struktur sel dan mencegah keropos tulang [2].

Senyawa flavonoid dari daun *Macaranga pearsonii* yang termasuk golongan flavonoid yaitu

diperoleh senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol, lonkokarpol A dan 4'-O-metil isoprenilnaringenin yang secara pengujian laboratorium diketahui bahwa memiliki aktivitas antioksidan alami [3] dan senyawa flavonoid dari daun *Macaranga hosei* menghasilkan senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol dan 6-isoprenileriodiktiol yang memiliki aktivitas sebagai antikanker [4].

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang terdapat pada fraksi etil asetat daun *Macaranga lamellata* Whitmore. Tumbuhan tersebut merupakan tanaman endemik Kalimantan, yang belum ada laporan penelitian kajian fitokimia dari tanaman tersebut. Berdasarkan uji pendahuluan, daun tumbuhan *Macaranga lamellata* Whitmore positif mengandung senyawa flavonoid.

Berdasarkan latar belakang, perlu dilakukan penelitian ini untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang terdapat pada tumbuhan *Macaranga lamellata* Whitmore. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah pada bidang kimia bahan alam

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu berupa alat gelas yakni ekstraktor maserasi, destilasi, kromatografi kolom, *chamber*, *rotary evaporator*, gelas ukur, gelas kimia, Erlenmeyer, corong kaca, pipa kapiler, corong pisah, spatula, pipet tetes, neraca analitik, botol vial, plat KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm, Spektrofotometer FT-IR Shimadzu IRTracer-100 dan Spektrofotometer UV *Thermo Scientific Evolution* 201.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun *Macaranga lamellata* Whitmore yang diperoleh dari hutan di Kecamatan Labanan Kabupaten Berau, Kalimantan Timur. Identifikasi sampel tumbuhan dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman. Pelarut yang digunakan adalah kualitas teknis yang terlebih dahulu diredestilasi dan pro analisis (p.a) untuk keperluan ekstraksi, pemisahan dan pemurnian. Pelarut yang digunakan antara lain metanol, *n*-heksana, etil asetat, kloroform dan aseton. Fase diam yang digunakan dalam pemisahan antara lain plat KLT Kieselgel 60 GF₂₅₄ (Merck) untuk keperluan KLT, silika gel 60 (70-230 mesh) untuk keperluan kromatografi kolom. Pereaksi yang digunakan untuk penampak noda menggunakan pereaksi serum sulfat dan vanilin sulfat.

Prosedur Penelitian

Persiapan sampel

Tumbuhan daun *Macaranga lamellata* Whitmore yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran menggunakan air mengalir. Kemudian sampel dikeringanginkan selama dua minggu, lalu sampel yang telah kering dihaluskan.

Ekstraksi sampel

Daun *Macaranga lamellata* Whitmore yang telah kering didapatkan sebanyak 960 gram, lalu dihaluskan dan dimaserasi dengan menggunakan metanol hingga seluruh sampel terendam. Maserasi dilakukan selama 2 x 24 jam lalu diaduk agar proses maserasi merata, kemudian dilanjutkan dengan penyaringan. Filtrat yang diperoleh lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat metanol.

Fraksinasi sampel

Ekstrak pekat metanol dilarutkan terlebih dahulu dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 125 mL, lalu difraksinasi dengan pelarut *n*-

heksana dan dilanjutkan dengan pelarut etil asetat. Kemudian hasil fraksinasi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan ditimbang setiap fraksi yang diperoleh.

Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk menentukan perbandingan eluen yang akan digunakan pada kromatografi kolom, menganalisis fraksi hasil kromatografi kolom, uji fitokimia dan untuk uji kemurnian senyawa murni yang didapatkan. Fraksi metanol sisa, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat daun *Macaranga lamellata* Whitmore dilakukan kromatografi lapis tipis (KLT). Eluen yang digunakan ada tiga perbandingan yaitu *n*-heksana:etil asetat masing-masing (7:3), (1:1) dan (3:7). Hasil KLT diamati pada sinar UV λ 254 nm dan 366 nm. Plat KLT masing-masing dicelupkan ke dalam *beaker glass* yang telah diisi larutan serum sulfat sebagai penampak noda. Sehingga fraksi yang mengandung senyawa flavonoid akan dilanjutkan dengan kromatografi kolom.

Kromatografi kolom dan pemurnian

Fraksi etil asetat dilakukan kromatografi kolom gravitasi menggunakan fase diam silika gel 60 (70-230 mesh) dan fase gerak *n*-heksana:etil asetat. Proses pemisahan kromatografi kolom gravitasi dilakukan dengan cara meningkatkan kepolaran secara gradien menggunakan eluen campuran *n*-heksana:etil asetat. Fraksi hasil pemisahan ditampung dalam vial dan diuapkan. Hasil kromatografi kolom dilakukan KLT dan fraksi-fraksi yang memiliki pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi, lalu di KLT kembali dan diberi penampak noda. Fraksi yang potensial positif mengandung senyawa flavonoid dilakukan kromatografi kolom lanjutan untuk mendapatkan senyawa murni. Uji kemurnian senyawa dilakukan dengan kromatografi lapisan tipis menggunakan berbagai macam eluen.

Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Senyawa metabolit sekunder hasil isolasi yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV *Thermo Scientific Evolution* 201 dan Spektrofotometer FT-IR Shimadzu IRTracer-100 untuk mengetahui gugus-gugus fungsional dari senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Senyawa Flavonoid Daun *Macaranga lamellata* Whitmore

Ekstrak pekat metanol berwarna hijau sebanyak 201 gram. Ekstrak pekat metanol diambil sebanyak 101 gram lalu dilarutkan dengan metanol kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana dimana *n*-heksana bersifat non polar. Fraksinasi kemudian dilanjutkan dengan etil asetat dimana etil asetat bersifat semi polar, sehingga dari proses fraksinasi didapatkan 3 fraksi yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol sisa.

Fraksi metanol sisa, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat dilakukan KLT untuk menentukan perbandingan eluen yang akan digunakan pada kromatografi kolom dan untuk menentukan fraksi mana yang berpotensi memiliki senyawa flavonoid. Pada hasil KLT dimana noda dengan pola pemisahan yang baik dan dapat memisahkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun *Macaranga lamellata* Whitmore terdapat pada perbandingan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) dan fraksi yang berpotensi memiliki senyawa flavonoid adalah pada fraksi etil asetat yang akan dilanjutkan ke tahap pemisahan dan pemurnian.

Kromatografi Kolom dan Pemurnian

Proses pemisahan fraksi etil asetat dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan fase gerak *n*-heksana:etil asetat dengan metode elusi *Step Gradient Polarity* (SGP) atau peningkatan kepolaran eluen secara gradien. Kromatografi kolom I menghasilkan 103 fraksi, kemudian dilakukan KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1) dan diamati pada sinar UV λ 254 nm dan 366 nm. Fraksi yang memiliki pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi, sehingga didapatkan 6 fraksi gabungan, yaitu fraksi A, fraksi B, fraksi C, fraksi D, fraksi E dan fraksi F.

Fraksi gabungan diKLT kembali dengan eluen kloroform:etil asetat (9:1) dan diberi penampak noda vanilin sulfat dan diperoleh bahwa setiap fraksi memiliki potensi senyawa flavonoid dimana ketika fraksi diberi penampak noda vanilin sulfat, noda menjadi berwarna merah keunguan yang menandakan adanya senyawa flavonoid. Akan tetapi fraksi yang akan dilanjutkan ke kromatografi kolom II adalah fraksi E dengan massa 135,8 mg.

Proses kromatografi kolom II pada fraksi E sebanyak 135,8 mg menggunakan eluen *n*-heksana:kloroform menghasilkan 12 fraksi, kemudian diKLT dengan eluen kloroform:etil asetat (9:1). Fraksi yang memiliki pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi dan diperoleh bahwa fraksi yang berpendar atau berfluoresensi ketika

dilihat pada lampu UV yaitu fraksi nomor 7-12 (fraksi E₁) dimana memiliki pola noda yang baik dan memiliki potensi senyawa flavonoid. Berdasarkan hasil tersebut, maka fraksi E₁ dengan massa 68,4 mg dilanjutkan kromatografi kolom III.

Proses kromatografi kolom III pada fraksi E₁ sebanyak 68,4 mg menggunakan eluen *n*-heksana:kloroform menghasilkan 19 fraksi, kemudian diKLT dengan eluen kloroform:etil asetat (9:1). Fraksi yang memiliki pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi dan diperoleh 3 fraksi gabungan. Fraksi nomor 7-12 (fraksi E_{1,2}) ketika diberi penampak noda serum sulfat noda menjadi warna coklat yang menandakan adanya senyawa flavonoid. Fraksi E_{1,2} dengan massa sebanyak 44,2 mg dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom.

Proses pemurnian dengan kromatografi kolom pada fraksi E_{1,2} sebanyak 44,2 mg menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat menghasilkan 42 fraksi, kemudian diKLT dengan eluen kloroform:etil asetat (9:1). Fraksi yang memiliki pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi dan diperoleh 3 fraksi dimana fraksi yang dilanjutkan ke tahap karakterisasi yaitu fraksi nomor 22-33 (fraksi E_{1,2,3}), hal ini karena pada fraksi tersebut noda yang diperoleh sudah tunggal. Pada fraksi E_{1,2,3} diperoleh isolat yang berupa senyawa flavonoid berbentuk minyak sebanyak 3 mg. Isolat fraksi E_{1,2,3} diKLT dengan berbagai eluen yaitu kloroform, etil asetat, metanol, *n*-heksana dan aseton. Nilai R_f kromatogram KLT dari isolat fraksi E_{1,2,3} (senyawa ML₁) dengan berbagai eluen yaitu sebagai berikut.

Tabel 1. Nilai R_f kromatogram KLT fraksi E_{1,2,3} (senyawa ML₁) dengan berbagai eluen

Eluen	Nilai R _f
Kloroform	0,7857
Etil asetat	0,9286
Metanol	0,8333
<i>n</i> -heksana	0
Aseton	0,9048

Pada hasil KLT berbagai eluen didapatkan nilai R_f dari masing-masing eluen dimana nilai R_f yang paling rendah yaitu pada eluan *n*-heksana dengan nilai R_f 0, hal ini dikarenakan *n*-heksana bersifat non polar sedangkan senyawa ML₁ bersifat semi polar sehingga senyawa ML₁ tidak terikat pada eluen *n*-heksana karena adanya perbedaan kepolaran. Sedangkan nilai R_f yang paling tinggi yaitu pada eluen etil asetat dengan nilai 0,9286, hal ini karena senyawa ML₁ dan etil asetat sama-sama bersifat semi polar sehingga senyawa ML₁ terikat pada eluen etil asetat. Isolat fraksi E_{1,2,3} (senyawa ML₁) kemudian

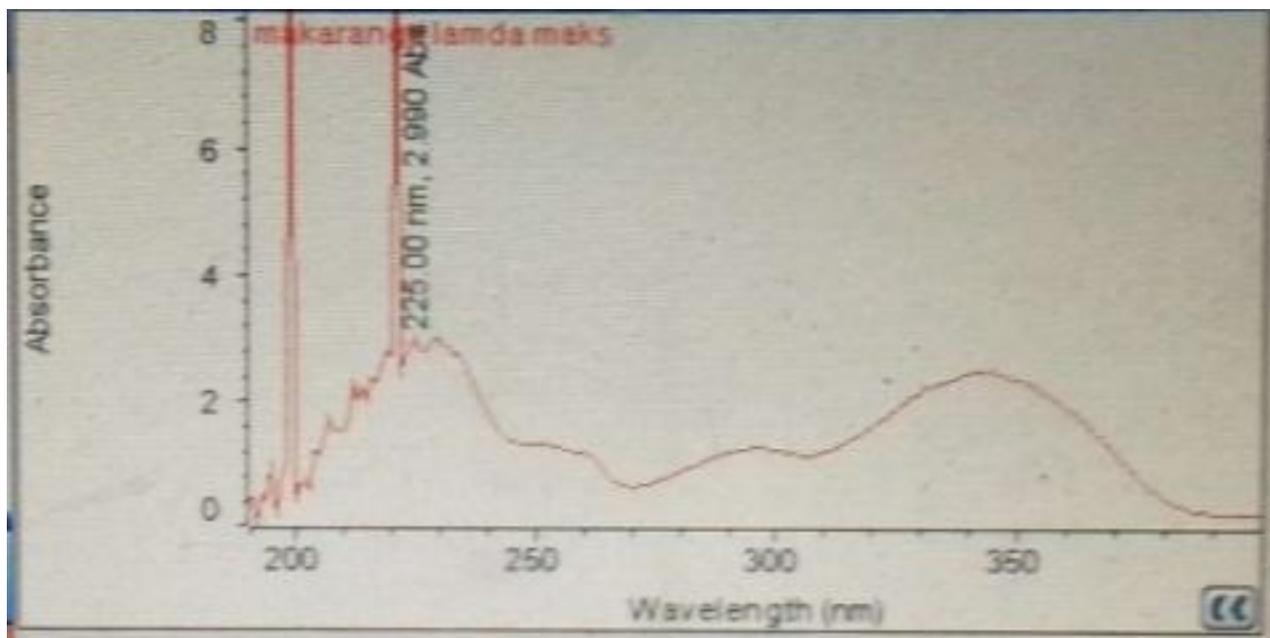
dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV dan spektrofotometer FT-IR.

Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

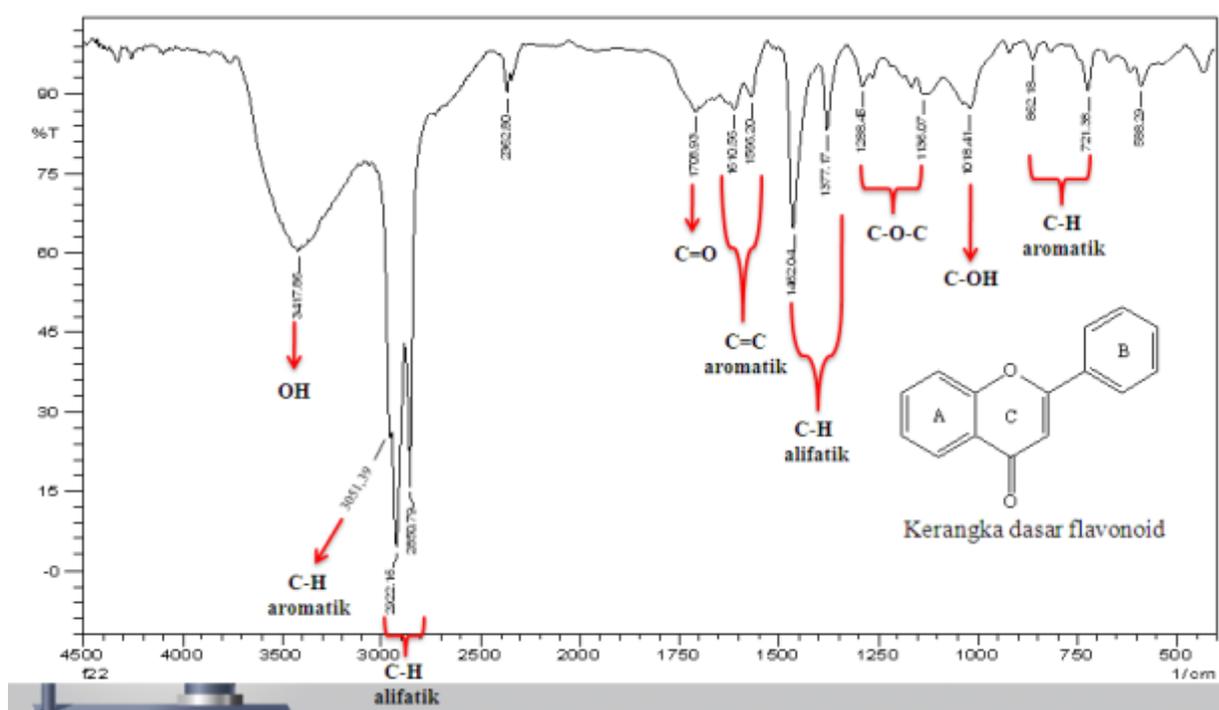
Karakterisasi senyawa ML_1 dengan spektrofotometer UV menggunakan pelarut metanol menghasilkan spektrum disajikan pada gambar 1. Berdasarkan spektrum UV senyawa ML_1 dengan pelarut metanol diperoleh 2 pita pada serapan λ_{maks} yaitu 291 nm (pita II) dan 342 nm (pita I) dimana berdasarkan [5] menunjukkan bahwa senyawa ML_1 termasuk dalam kelompok flavonoid yaitu senyawa flavon atau flavonol (3-OH tersubstitusi). Senyawa flavonoid umumnya memiliki 2 pita serapan yaitu pita I dan pita II, hal ini karena adanya resonansi yang melibatkan cincin B dan C (pita I) dimana memiliki gugus sinamoil dan cincin A (pita II) yang memiliki gugus benzoil. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa ML_1 tersebut termasuk dalam kelompok flavonoid yang memiliki gugus benzoil (cincin A) dan gugus sinamoil (cincin B dan C).

Karakterisasi senyawa ML_1 menggunakan spektrofotometer FT-IR ditunjukkan pada gambar 2. Berdasarkan spektrum FT-IR tersebut, menunjukkan bahwa pada senyawa ML_1 mengandung beberapa gugus fungsi diantaranya yaitu adanya pita melebar

pada bilangan gelombang $3417,86\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi ulur dari gugus hidroksil (OH) dan hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi pada bilangan gelombang $1018,41\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya C-OH. Gugus C-H aromatik (ulur) ditunjukkan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $3051,39\text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk C-H aromatik pada daerah serapan $862,18\text{ cm}^{-1}$ dan $721,38\text{ cm}^{-1}$. Pada bilangan gelombang $1610,56\text{ cm}^{-1}$ dan $1566,20\text{ cm}^{-1}$ terdapat gugus C=C aromatik yang menandakan adanya cincin aromatik. Selain terdapat gugus C-H aromatik, juga terdapat gugus C-H alifatik (ulur) yang ditunjukkan pada bilangan gelombang $2922,16\text{ cm}^{-1}$ dan $2850,79\text{ cm}^{-1}$ dimana C-H alifatik pada senyawa flavonoid cenderung terprenilasi yakni terikatnya jenis terpenoid pada inti aromatik antara lain jenis prenil (C_5), geranil (C_{10}), farnesil (C_{15}) dan geranil (C_{20}), hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $1462,04\text{ cm}^{-1}$ dan $1377,17\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya vibrasi tekuk C-H alifatik. Terdapat pula gugus C=O keton yang ditunjukkan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $1708,93\text{ cm}^{-1}$ dan diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk C-O-C eter pada daerah serapan $1018,41\text{ cm}^{-1}$.

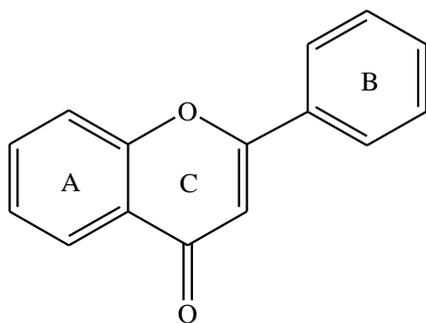


Gambar 1. Spektrum UV senyawa ML_1



Gambar 2. Spektrum FT-IR senyawa ML₁

Berdasarkan interpretasi data yang diperoleh dari analisa spektrum UV dan FT-IR maka diduga bahwa senyawa ML₁ pada fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid. Adapun kerangka dasar dari senyawa flavonoid ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Kerangka dasar senyawa flavonoid [5]

KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Senyawa ML₁ telah berhasil diisolasi dari daun *Macaranga lamellata* Whitmore berupa senyawa flavonoid dalam bentuk minyak sebanyak 3 mg.
2. Hasil identifikasi senyawa ML₁ berdasarkan spektrum UV menunjukkan adanya panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) pada 291 nm dan 342 nm. Pada spektrum FT-IR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C-H aromatik, C-H alifatik, C=C aromatik, C=O, C-OH dan C-O-C.

Berdasarkan dari hasil spektrum UV dan FT-IR maka senyawa ML₁ diduga senyawa flavonoid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini dan juga kepada Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman yang telah membantu dalam identifikasi tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid I*. Jakarta: Yayasan Sarana Wanajaya.
- [2] Muhammad, A. 2011. *Sarang Semut dan Buah Merah Pembasmi Ragam Penyakit Ganas*. Jakarta: Laksana.
- [3] Marliana, E., Tjahjandarie, T. S., Tanjung, M. 2016. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari *Macaranga pearsonii* Merr., *J. K. M.*, 13(2), pp. 97-100.
- [4] Marliana, E., Astuti, W., Kosala, K., Hairani, R., Tjahjandarie, T. S., Tanjung, M. 2018. Chemical composition and anticancer activity of *Macaranga hosei* leaves, *Asian J. Chem.*, 30(4), pp. 795–798. doi: 10.14233/ajchem.2018.21004.
- [5] Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.