

ISOLASI SENYAWA 5, 3',4' TRIHIDROKSI FLAVONOL DARI DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa* PERS.)

Asep Roni¹, Asep Gana Suganda², Rika Hartati²

¹Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno Hatta No. 754

²Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung

asep.roni@stfb.ac.id

ABSTRAK

Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) adalah salah satu tumbuhan obat yang tumbuh di Indonesia. Dalam pengobatan tradisional tanaman ini digunakan sebagai obat diabetes, biasanya digunakan dalam bentuk rebusan juga digunakan untuk mengobati kencing batu, tekanan darah tinggi, diare, disentri dan kencing darah. Daun bungur memiliki kandungan kimia, seperti saponin, flavonoid dan tanin. Namun penelitian kandungan kimia tumbuhan yang bermanfaat tersebut masih sedikit dilaporkan. Oleh karena itu, eksplorasi bahan alami yang mempunyai aktivitas biologis menjadi salah satu target para peneliti, berdasarkan beberapa penelitian yang telah dikembangkan, senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas farmakologi diantaranya adalah senyawa flavonoid, sehingga pada penelitian ini dilakukan isolasi, karakterisasi dan identifikasi flavonoid dari daun bungur. Ekstraksi dilakukan dengan alat Refluks menggunakan tiga pelarut dengan kepolaran meningkat (n-heksana, etil asetat, dan etanol). Ekstrak etil asetat daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) difraksinasi lanjut menggunakan kromatografi kolom dengan elusi landaian (n-heksana-etil asetat-metanol). Fraksi terpilih kemudian dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif sehingga didapatkan fraksi yang mengandung senyawa X. Setelah dimurnikan, senyawa X dikarakterisasi menggunakan penampak bercak spesifik, spektrofotometri UV. Berdasarkan hasil spektrum UV-sinar tampak panjang gelombang maksimum senyawa X adalah 361 nm dan 272 nm. Setelah penambahan pereaksi geser menimbulkan perubahan panjang gelombang maksimum (batokromik) setelah penambahan NaOH, asam borat/HCl. Dari ekstrak etil asetat daun bungur diperoleh senyawa X adalah suatu flavonoid, struktur yang diusulkan adalah 5,3',4' trihidroksi flavonol.

Kata Kunci : Flavonoid, Isolasi, *Lagerstroemia speciosa* Pers, Pereaksi geser

ISOLATION OF 5, 3',4' TRIHYDROXY FLAVONOL FROM BUNGUR LEAVES (*Lagerstroemia speciosa* Pers.)

ABSTRACT

Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) is the one of medicinal plant in Indonesia. Decoctions of bungur plant traditionally used to treat bladder stones, diabetes, high blood pressure, diarrhea, dysentriae and hematuria. Bungur leaves were known contain saponins, flavonoids and tannins. But, the research about chemical compound were limited. The aim of this research was to isolate, characterize and identify flavonoid compound from *Lagerstroemia speciosa* leaves. Extration was done using reflux method with increasing polarity solvent (n-hexane, ethyl acetate, and ethanol). The extract of ethyl acetate of bungur leaves (*Lagerstroemia*

speciosa Pers.) showed flavonoid compound and then separated using coloum chromatography with gradient elution from n-hexane-ethyl acetate-methanol, were than purified by using preparative thin layer chromatography. Compound X that has been isolated was charaterized using specific reagents, UV-Vis spectroscopy with shifting reagents. Based on UV-Visible spectroscopy result, compound X is having λ_{\max} at 361 and 272 nm. And when shifting reagents (NaOH, borate and aluminium chloride) was added, λ_{\max} shifting was observed. Compound X isolated is estimated as 5, 3', 4' trihydroxy flavonol.

Key words : Flavonoid, Isolation, *Lagerstroemia speciosa* Pers, shifting reagent

PENDAHULUAN

Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) adalah salah satu tumbuhan obat yang tumbuh di Indonesia. Dalam pengobatan tradisional daun bungur sering digunakan sebagai obat kening manis, yang biasanya digunakan dalam bentuk rebusan (Dalimartha, 2003).

Ekstrak air daun bungur menunjukkan aktivitas hipoglikemik pada tikus dengan dosis 0,2 g/200 g BB dan 0,5 g/200 g BB. Pada dosis 0,5 g/200 g BB, ekstrak air daun bungur menunjukkan aktivitas hipoglikemik yang tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan glibenklamid. Ekstrak air daun bungur menunjukkan aktivitas hipolipidemik pada tikus disemua dosis perlakuan yaitu, 0,1 g/200 g BB; 0,2 g/200 g BB dan 0,5 g/200 g BB (Hernawan, dkk., 2004). Menurut Kakuda dkk., (1996), ekstrak daun bungur mampu menekan peningkatan kadar gula darah secara signifikan pada tikus diabetes tipe 2 yang

dibandingkan dengan tikus kontrol. Hayashi, dkk (2002) telah meneliti tentang elagitanin pada fraksi aseton daun bungur yang dapat menurunkan kadar gula darah.

Dari daun bungur juga pernah dilaporkan telah diisolasi senyawa triterpenoid yang diidentifikasi yaitu asam virgatat, asam korosolat, asam ursolat dan glikosida β -sitosterol (Okada dkk., 2003). Dari ekstrak aseton daun bungur telah diisolasi enam senyawa monomer dan dimer *ellagitanins* (flosin A dan B, dan reginin A, B, C, dan D) (Xu, dkk., 1991).

Menurut Huang dkk., (2013) ada 14 senyawa yang teridentifikasi dari tumbuhan bungur. Terdiri dari 4 senyawa tritepen, 8 senyawa asam elagat, satu senyawa kumarin dan satu senyawa neolignan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Setiawan (2008), pada ekstrak n-butanol kulit batang bungur

diduga mengandung senyawa flavonoid golongan flavanon.

Berdasarkan latar belakang diatas, Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa flavonoid yang terkandung pada daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.)

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap utama yaitu tahap penyiapan bahan, karakterisasi simplisia, penapisan fitokimia, ekstraksi, fraksinasi, isolasi, dan karakterisasi isolat.

Penyiapan bahan meliputi pengumpulan bahan, determinasi tanaman dan pengolahan bahan. Pengolahan bahan meliputi sortasi basah, pencucian, pengeringan dan penggilingan.

Karakterisasi simplisia meliputi penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan abu tidak larut asam, dan penetapan abu larut air, penetapan kadar sari larut air dan penetapan sari larut etanol.

Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon,

tanin, dan steroid/triterpenoid yang terdapat dalam simplisia.

Ekstraksi daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) dilakukan dengan metode refluks, menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat berturut-turut n-heksan, etil asetat dan etanol untuk menyari komponen kimia dari dari daun bungur *L. speciosa*.

Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan teknik kromatografi yaitu kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis preparatif. Kemurnian senyawa yang diperoleh dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan beberapa sistem eluen berbeda.

Karakterisasi isolat dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi geser.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air. Hasil karakterisasi simplisia dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1 Hasil karakterisasi simplisia

Pemeriksaan	Kadar (% b/b)
Kadar abu total	7,5
Kadar abu larut air	4
Kadar abu tidak larut asam	0,75
Kadar sari larut air	9
Kadar sari larut etanol	7,5
Kadar air	8,5*)

*) v/b

Dari data diatas, simplisia yang dibuat memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan di farmakope Berdasarkan Kepmenkes RI Nomor 261/MENKES/SK/IV/2009 (Depkes RI., 2009 dan Depkes RI., 1994).

Tabel 2 Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak n-heksan	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak Etanol
Alkaloid	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Fenol	+	-	-	+
Tanin	+	-	-	+
Kuinon	+	-	-	+
Saponin	+	-	-	+
Steroid / Triterpenoid	+	+	+	+

Keterangan :

(+) = Mengandung senyawa yang diuji

(-) = Tidak mengandung senyawa yang diuji

Penapisan fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak n-heksana, etil asetat, etanol daun bungur meliputi penapisan golongan

alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, kuinon dan steroid/triterpenoid. Dari hasil penapisan fitokimia, diketahui bahwa simplisia dan ekstrak etanol daun bungur mengandung flavonoid, fenol, dan steroid/triterpenoid. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2

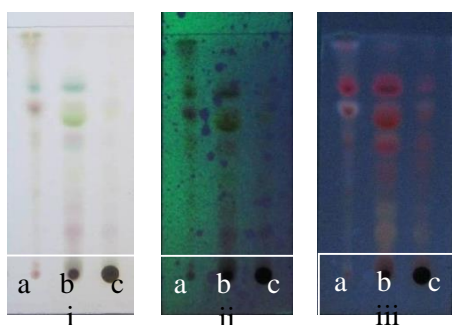
Dari hasil penapisan diatas, menunjukkan beberapa hasil yang sama seperti yang telah dilaporkan oleh (Dalimartha, 2003) pada daun bungur memiliki kandungan kimia, seperti saponin, flavonoid dan tanin, sedangkan pada kulit batang bungur mengandung flavonoid dan tanin.

Ekstraksi simplisia daun bungur dilakukan dengan metode panas menggunakan alat refluks. Ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali dengan pelarut yang berbeda untuk mendapatkan ekstrak yang optimal. Masing-masing ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan menggunakan penguap vakum putar untuk mendapatkan ekstrak kental yang kemudian ditentukan rendemen ekstrak. Hasil rendemen masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3 Rendemen Ekstrak

Sampel	Rendemen (% b/b)		
	n-heksana	Etil Asetat	Metanol
Daun Bungur	1,87	4,47	3,60

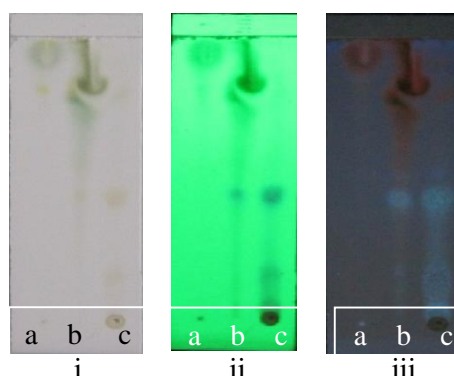
Ekstrak yang diperoleh kemudian dipantau dengan kromatografi lapis tipis untuk memperoleh informasi awal tentang sebaran dan komponen senyawa kimia yang terdapat pada masing-masing ekstrak dengan penampak bercak lampu UV 254 nm dan 366 nm serta H₂SO₄ 10% dalam metanol.



Gambar 1 Kromatogram lapis tipis ekstrak daun bungur fase diam silika gel 60 GF₂₅₄, fase gerak n-heksan-etil asetat (9:1) a) Ekstrak n-heksan, b) Ekstrak etil asetat, c) Ekstrak etanol, i) penampak bercak H₂SO₄ 10 % pada sinar tampak, ii) penampak bercak H₂SO₄ 10 % pada UV 254 nm, iii) penampak bercak H₂SO₄ 10 % pada UV 366 nm.

Kemudian dilakukan skrining terhadap kandungan flavonoid terhadap masing-masing ekstrak dengan berbagai macam sistem pengembang pada kromatografi lapis tipis, dan hasil pemantauan pada

sistem pengembang yang paling baik dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 2 Kromatogram lapis tipis ekstrak daun bungur fase diam silika gel 60 GF₂₅₄, fase gerak kloroform-aseton-asam format (10:2:1) a) Ekstrak n-heksan, b) Ekstrak etil asetat, c) Ekstrak etanol, i) penampak bercak sitroborat pada sinar tampak, ii) penampak bercak sitroborat pada UV 254 nm, iii) penampak bercak sitroborat pada UV 366 nm.

Pada ekstrak etil asetat terlihat adanya bercak yang menunjukkan senyawa flavonoid yang ditandai dengan reaksi positif setelah penambahan penampak bercak sitroborat yaitu pada R_f 0,39, selain itu pemisahannya cukup baik dibandingkan dengan ekstrak etanol. Oleh karena itu, senyawa yang terdapat pada ekstrak etil asetat dijadikan target untuk diisolasi.

Terhadap 2 g fraksi etil asetat dilakukan fraksinasi dengan metode kromatografi kolom klasik untuk menyederhanakan komponen senyawanya menggunakan fase diam silika gel 60 H sebanyak 20 g

dan fase gerak n-heksan-etil asetat-metanol (elusi landaian) dengan kepolaran meningkat. Dari proses ini didapatkan 162 fraksi yang kemudian dipantau dengan menggunakan pengembang kloroform-aseton-asam format (10:2:1).

Fraksi gabungan dari hasil kromatografi kolom, kemudian dilanjutkan pada tahap berikutnya, yaitu tahap pemurnian dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif untuk mendapatkan senyawa target.

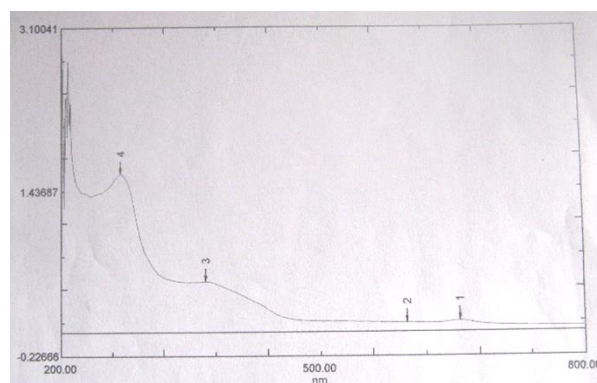
Isolat yang diperoleh dari kromatografi lapis tipis preparatif kemudian diuji kemurniannya menggunakan kromatografi lapis tipis pengembangan tunggal dengan beberapa jenis pengembang.



Gambar 3 Kromatogram lapis tipis isolat X, fase diam silika gel 60 GF₂₅₄, fase gerak (a) Kloroform-metanol (96:4) (b) Kloroform-aseton-asam format (10:2:1) (c) Etil asetat-asam format-air (8:1:1)

setelah penampak bercak sitroborat di bawah UV 366 nm.

Spektrum hasil spektrofotometri ultra violet-sinar tampak isolat X menunjukkan dua puncak pada λ 272 nm dan λ 361 nm. Menurut Mabry (1970), senyawa golongan flavonoid memiliki panjang gelombang yang khas yaitu pada rentang 240-285 nm untuk pita II dan 300-400 nm untuk pita I. Hasil pengukuran spektrum menunjukkan dugaan bahwa isolat X merupakan golongan flavonoid. Isolat X memiliki panjang gelombang maksimum pada pita I 361 nm dan pita II 272 nm, kemungkinan Senyawa X merupakan suatu flavonoid jenis flavonol yang memiliki rentang pita I 352-385 nm dan pita II 270-295 nm. Spektrum ultraviolet isolat X dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Spektrum UV isolat X dalam metanol, Pita I 361 nm dan Pita II 272 nm.

Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan menggunakan pereaksi geser NaOH 2 M, natrium asetat (NaOAc), aluminium

klorida (AlCl_3), asam hidroklorida (HCl) dan asam borat (H_3BO_3).

Berdasarkan data penambahan pereaksi geser, penambahan NaOH menunjukkan pergeseran batokromik pita I sebesar 52 nm dan tidak mengalami penurunan intensitas hal ini menunjukkan adanya gugus hidroksi pada posisi C-4'. Tidak terjadinya perubahan setelah 5 menit, menunjukkan tidak adanya gugus orto-dihidroksi pada cicin A. Pada penambahan NaOH juga tidak menunjukkan puncak pada 320-330 nm yang berarti tidak terdapat glikosilasi pada gugus hidroksi di posisi C-7 (Mabry dkk., 1970).

Pada penambahan NaOAc menunjukkan pergeseran pada pita I sebesar 49 nm, hal ini menunjukkan adanya gugus hidroksi pada C-4' dan pergeseran yang terjadi tidak lebih besar dari spektrum NaOMe berarti tidak ada gugus hidroksi pada posisi C-7. Sedangkan pergeseran pada pita II tidak mengalami pergeseran antara 5-20 nm yang menunjukkan gugus hidroksi pada posisi C-7, dugaan ini memperkuat dugaan pada penambahan NaOH . Pada penambahan NaOAc setelah 5 menit, tidak terjadi penurunan intensitas menunjukkan adanya sistem oksigenasi pada C-4' Sedangkan pada penambahan pereaksi

H_3BO_3 menunjukkan pergeseran batokromik 17 nm hal ini menunjukkan bahwa terdapat orto-dihidroksi pada cicin B. Ini menguatkan dugaan kedudukan C-4'-OH pada penambahan NaOH (Mabry dkk., 1970).

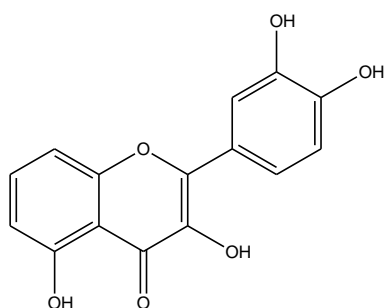
Tabel 4 Hasil Interpretasi spektrum Pereaksi Geser isolat X

Pereaksi Geser	λ absorpsi (nm)		Perubahan λ (Δ nm)		Penafsiran
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
MeOH	361	272	-	-	Flavonol
NaOH	413	277	+52	+5	4' -OH
NaOH 5'	411	277	Tidak ada penurunan intensitas	+5	4' -OH
NaOAc	410	273	+49	+1	4' -OH
NaOAc 5'	410	272	Tidak ada penurunan intensitas	-	4' -OH
NaOAc/ H_3BO_3	378	260	+17	-12	o-diOH di cicin B
AlCl_3	374	262	+13	-10	3' dan 4' -OH
AlCl_3/HCl	416	251	+55	-21	3-OH dengan 5-OH

Pergeseran batokromik pada pita I sebesar 55 nm pada penambahan AlCl_3 dan HCl menunjukkan adanya gugus hidroksi C-5 pada sistem C-3 (flavonol) dan flavon dengan gugus hidroksi pada C-3 dengan atau tanpa gugus hidroksi pada C-5. Dan pergeseran yang terjadi tidak menunjukkan adanya orto-dihidroksi pada cicin A. Pada penambahan AlCl_3 pita I mengalami pergeseran 13 nm, hal ini dapat menunjukkan adanya orto-hidroksi-metoksi

pada C-3', 4' yang mendukung hasil pengukuran pada penambahan H_3BO_3 . Sehingga dari data ini dapat disimpulkan bahwa isolat memiliki gugus hidroksi pada C-3 dan C-5 (Mabry dkk., 1970).

Berdasarkan penafsiran spektrum isolat X pada spektrofotometer UV-Vis dengan penambahan peraksi geser, diusulkan prediksi struktur sebagai berikut :



Gambar 5 Struktur kimia 5,3',4' trihidroksi flavonol

KESIMPULAN

Hasil skrining fitokimia menunjukkan simplisia dan ekstrak daun bungur mengandung flavonoid, fenol, dan steroid/triterpenoid. Hasil ekstraksi diperoleh randemen ekstrak n-heksan 1,86%, ekstrak etil asetat 4,47%, dan ekstrak etanol 3,60%. Dari ekstrak etilasetat daun bungur, diperoleh isolat X yang merupakan suatu flavonoid golongan flavonol, dan hasil karakterisasi isolat dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi geser isolat

memiliki gugus hidroksi pada C-5, C-3' dan C-4' dengan struktur yang diusulkan adalah 5,3',4' trihidroksi flavonol.

DAFTAR PUSTAKA

- Dalimartha, S., (2003): *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid II, Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Depkes RI., (2009), Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 61/MENKES/SK/IV/2009 tentang Farmakope Herbal Indonesia, Menteri kesehatan Republik Indonesia Jakarta.
- Depkes RI., (1994), Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Hayashi, T., Maruyama, H., Kasai, R., Hattori, K., Takasuga, S., Hazeki, O., Yamasaki, K., dan Tanaka, T., (2002): Ellagitannins from *Lagerstroemia speciosa* as Activators of Glucose Transport in Fat Cells, *Planta Medica* **68**, 173-175.

- Hernawan, U.E., Sutarno, dan Setyawan, A.D., (2004): Aktifitas Hipoglikemik dan Hipolipidemik Ekstrak Air Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.) terhadap Tikus Diabetik, *Biofarmasi* **2**(1), 15-23
- Huang, G.H., Zhan, Q., Li, J.L., Chen, C., Huang, D., Chen, W., dan Sun, L., (2013): Chemical constituent from leaves of *Lagerstroemia speciosa* L., *Biochemical Systematics and Ecology*, **51**, 109-112.
- Kakuda, T.I., Sakane, T., Takihara, Y., Ozaki, H., Takeuchi dan Kuroyanagi, M., (1996): Hypoglycemic effect of extracts from *Lagerstroemia speciosa* L. leaves in genetically diabetic KK-A^y mice. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **60**, 204-208.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., dan Thomas, M.B., (1970): *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, Berlin, 104.
- Okada Y., Omae A., dan Okuyama T., (2003): A new triterpenoid isolated from *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **51**(4), 452-454.
- Setiawan, A.I.M., dan Astiti, I.A.R., (2008): Senyawa Golongan Flavonoid Pada Ekstrak n-Butanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.), *Jurnal Kimia*, **2**(2), 111-116.
- Xu Y.M., Tanaka T., Nonaka G., dan Nishioka I., (1991): Tannins and related compounds CVII Structure elucidation of three new monomeric and dimeric ellagitannins flosin B reginins C and D isolated from *Lagerstroemia flosreginae* Retz., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **39**, 647-650.