

Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Kuersetin dari Kulit Batang *Melicope quercifolia*

Abror Rahman, Ifana Mahardika, Ratih Dewi Saputri, Tjitjik Srie Tjahjandarie, Mulyadi Tanjung*

Natural Products Chemistry Research Group, Organic Chemistry Division,
Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya 60115, Indonesia
*E-mail: mulyadi-t@fst.unair.ac.id

Abstract

Two quercetin derivatives, pachypodol (**1**) and ayanin (**2**) were isolated from the stem bark of *Melicope quercifolia* (B.S. William) Ridl. Their structures were determined based on spectroscopic data such as UV, IR, MS and NMR. Compounds **1–2** were evaluated for their antioxidant against DPPH radical showing their IC₅₀ were 254 ± 10 and 38.55 ± 0.02 µg/mL, respectively.

Keywords: *Melicope quercifolia*, pachypodol, ayanin, antioxidant

Abstrak

Dua senyawa turunan kuersetin, pakipodol (**1**) dan ayanin (**2**) telah diisolasi dari kulit batang *Melicope quercifolia* (B.S. William) Ridl. Struktur kedua senyawa turunan kuersetin ditetapkan berdasarkan analisis spektroskopi UV, IR, MS dan NMR. Uji aktivitas antioksidan senyawa **1–2** terhadap radikal DPPH memperlihatkan IC₅₀ 254 ± 10 dan 38,55 ± 0,02 µg/mL.

Kata Kunci: *Melicope quercifolia*, pakipodol, ayanin, antioksidan

Submitted: 25 Mei 2020

Accepted: 13 Juni 2020

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.vxix.xxx>

■ Pendahuluan

Melicope merupakan salah genus terbesar dari famil Rutaceae yang terdiri dari 230 spesies. Di Indonesia, *Melicope* dikenal dengan nama daerah 'Ki Sampang'. Tumbuhan ini dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan disentri, diare,

hepatitis dan tumor [1]. Tumbuhan ini menghasilkan senyawa kumarin [2], alkaloid furokuinolin [3, 4] dan flavonoid [5, 6] yang memperlihatkan aktivitas antikanker dan antioksidan. Senyawa turunan kuersetin *Melicope* mempunyai pola pentaoksigenasi di C-3/C-5/C-7/C-3'/C-4' sedangkan senyawa kaempferol

mempunyai pola tetraoksigenasi di C-3/C-5/C-7/ /C-4' [7]. Senyawa kaempferol dan kuersetin umumnya digunakan sebagai kontrol positif untuk uji aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid turunan kuersetin yakni pakipodol (**1**) dan ayanin (**2**) serta menguji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH.

■ Metode Penelitian

Prosedur umum

Spektrum NMR ditentukan dengan spektrometer NMR JEOL ECA 400 yang beroperasi pada 400 MHz ($^1\text{H-NMR}$) dan 100 MHz ($^{13}\text{C-NMR}$). Massa molekul dan rumus formula senyawa menggunakan spektrometer HR-ESI-MS merk Waters LCT XE ESI. Pola serapan maksimum (λ_{maks} dan $\log \epsilon$) senyawa flavonoid dalam metanol menggunakan spektrophotometer UV-Vis Shimadzu 1800. Gugus fungsi senyawa dalam pelet KBr menggunakan spektrophotometer IR Perkin Elmer. Pemisahan ekstrak senyawa menggunakan kromatografi kolom gravitasi yakni silika gel 60 sebagai fasa diam. Pemurnian senyawa flavonoid menggunakan kromatografi radial yakni silika gel 60 PF₂₅₄ sebagai fasa diam. Monitoring pemisahan dan pemurnian senyawa flavonoid dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm.

Sampel penelitian

Sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini berupa kulit batang *M. quercifolia* berasal dari Perkebunan Teh Cianten, Kecamatan Cigudeg, Bogor, Jawa Barat. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong, Bogor, Jawa Barat.

Ekstraksi dan isolasi flavonoid

Ekstraksi senyawa flavonoid yang terdapat dalam kulit batang *M. quercifolia* (2,0 kg) menggunakan metanol pada suhu ruang selama 24 jam. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali. Pelarut metanol diuapkan dengan alat penguap bertekanan rendah (Rotavapor R-300, Buchi) menghasilkan ekstrak kental metanol sebanyak 300 g. Selanjutnya ekstrak metanol dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana dan etil asetat. Pemisahan senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etil asetat (28 g) dengan kolom kromatografi gravitasi menggunakan eluen *n*-heksana:CHCl₃ (9:1, 4:1, dan

1:1) menghasilkan empat fraksi utama, A-D. Pemisahan fraksi B (1,2 g) dengan metode yang sama menghasilkan subfraksi B₁ dan B₂. Pemurnian subfraksi B₂ (342 mg) dengan kromatografi radial dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1 hingga 4:1) menghasilkan senyawa pakipodol (**1**) sebanyak 17 mg dan ayanin (**2**) sebanyak 12 mg.

Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan senyawa pakipodol (**1**) dan ayanin (**2**) terhadap radikal DPPH menggunakan metode spektrophotometri UV-VIS [8, 9]. Senyawa **1-2** masing-masingnya dilarutkan dalam metanol dan dibuat berbagai konsentrasi uji (1000; 500; 250; 100; 50; 10 $\mu\text{g/mL}$). Larutan uji diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Pengamatan daya hambat senyawa flavonoid hasil isolasi dalam berbagai konsentrasi diukur pada panjang gelombang λ_{maks} 517 nm [10]. Persentase konsentrasi daya hambat IC₅₀ senyawa diperoleh berdasarkan SPSS regresi probit analisis.

■ Hasil dan Pembahasan

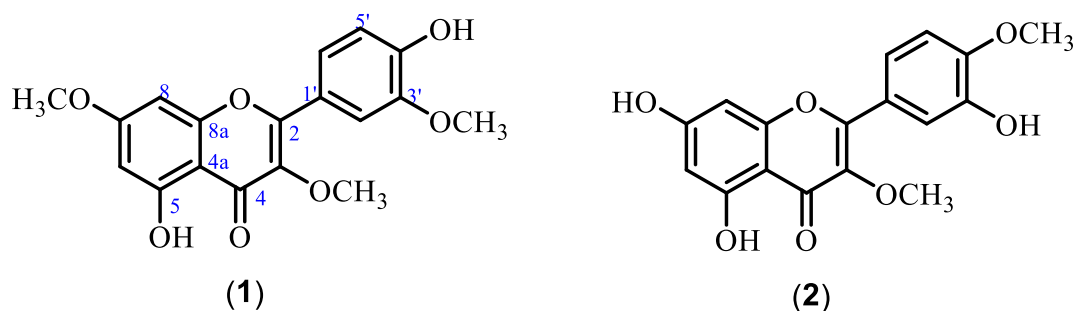
Dua senyawa isomer flavonol turunan kuersetin, pakipodol (**1**) dan ayanin (**2**) telah berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit batang *M. quercifolia* melalui kromatografi kolom gravitasi dan kromatografi radial.

Pakipodol (**1**) berwujud padatan kuning dan mempunyai titik leleh t.l. 170-172 °C. Senyawa **1** memperlihatkan rumus molekul C₁₈H₁₆O₇ dengan ion kuasimolekul negatif [M-H]⁻ pada *m/z* 343,1013 berdasarkan analisis spektrum HRESIMS. Spektrum UV senyawa **1** dalam metanol memperlihatkan puncak serapan maksimum pada λ_{maks} ($\log \epsilon$): 254 (3,18), 268 (3,12) dan 354 (3,11) yang merupakan ciri khas senyawa turunan flavonol [11]. Spektrum IR senyawa **1** dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang ν (cm⁻¹): 3425 (OH), 1640 (C=O terkonyugasi), 1515-1448 (C=C aromatik) dan 1170 (C-O-C eter). Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Tabel-1) senyawa pakipodol dalam CDCl₃ memperlihatkan dua unit sinyal proton aromatik di cincin A dan cincin B. Sinyal proton aromatik di cincin B merupakan sistem ABX pada δ_{H} 7,70 (1H, *d*, *J* = 1,8 Hz; H-2'), δ_{H} 7,69 (1H, *dd*, *J* = 8,4; 1,8 Hz; H-6') dan δ_{H} 7,04 (1H, *d*, *J* = 8,4 Hz, H-5'). Sepasang sinyal proton aromatik terlihat pada δ_{H} 6,44 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz; H-8) dan δ_{H} 6,35 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz; H-6). Berdasarkan sinyal proton

kedua unit aromatik tersebut maka senyawa **1** merupakan senyawa turunan kuersetin [11]. Analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$ memperlihatkan adanya dua sinyal singlet dari hidroksi pada δ_{H} 12,64 dan δ_{H} 6,07 serta tiga sinyal singlet dari metoksi pada δ_{H} 3,98; δ_{H} 3,87 dan δ_{H} 3,85. Spektrum $^{13}\text{C NMR}$ senyawa **1** memperlihatkan 18 sinyal karbon yang terpisah secara sempurna. Sinyal karbon pada δ_{C} 138,7 dan δ_{C} 178,8 merupakan ciri khas senyawa flavonol. Penempatan kedua gugus hidroksi dan ketiga gugus metoksi pada struktur senyawa **1** ditetapkan dengan spektrum HMQC dan HMBC seperti terlihat pada Gambar 2.

Sinyal proton hidroksi pada δ_{H} 12,64 (5-OH) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-4a (δ_{C} 106,1), C-5 (δ_{C} 162,1) dan C-6 (δ_{C} 97,9). Sinyal proton aromatik pada δ_{H} 6,35 (H-6) berkorelasi dengan karbon C-4a, C-5, C-7 (δ_{C} 165,5) dan C-8 (δ_{C} 92,3). Sinyal metoksi pada δ_{H} 3,87 (7-OCH₃)

berkorelasi dengan karbon C-7 yang menunjukkan gugus metoksi terikat di C-7. Sinyal metoksi pada δ_{H} 3,85 (3-OCH₃) berkorelasi dengan karbon C-3 (δ_{C} 138,9) yang menunjukkan salah satu gugus metoksi terikat di C-3. Sinyal proton aromatik sistem ABX di cincin B pada δ_{H} 7,67 (H-6') berkorelasi dengan karbon C-2 (δ_{C} 156,0), C-2' (δ_{C} 110,9) dan C-4' (δ_{C} 148,4). Sinyal proton aromatik pada δ_{H} 7,04 (H-5') berkorelasi dengan karbon C-1' (δ_{C} 122,5) dan C-3' (δ_{C} 146,4). Sinyal metoksi pada δ_{H} 3,98 (3'-OCH₃) berkorelasi dengan karbon C-3' (δ_{C} 146,4) yang menunjukkan gugus metoksi terikat di C-3'. Berdasarkan analisis spektrum 1D dan 2D NMR maka struktur senyawa **1** adalah 5,4'-dihidroksi-3,7,3'-trimetoksiflavon atau dikenal sebagai pakipodol [12]. Penempatan sinyal proton dan sinyal karbon senyawa **1** didukung oleh spektrum HMQC dan HMBC seperti terlihat pada Gambar 2.



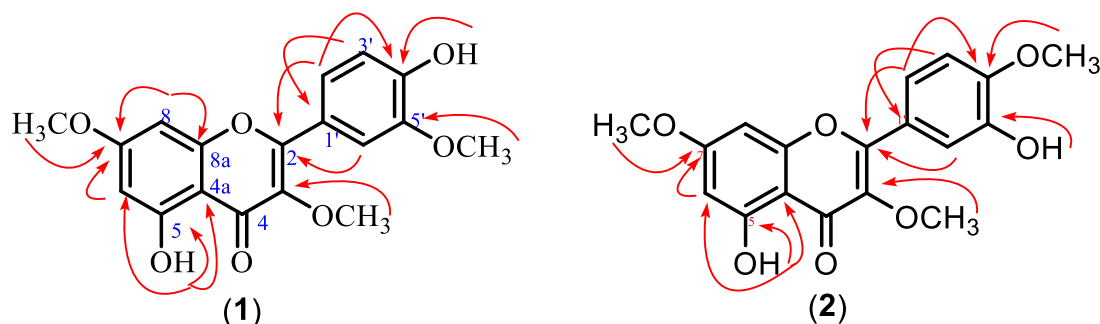
Gambar 1. Struktur pakipodol (1) dan ayanin (2)

Tabel 1. Data spektrum NMR senyawa pakipodol (1) dalam CDCl₃.

No. C	Pakipodol (1) hasil isolasi			Pakipodol (Ali et. al., 2008)	
	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	HMBC	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}
2	-	156,0	-	-	155,9
3	-	138,9	-	-	138,9
4	-	178,8	-	-	178,8
4a	-	106,1	-	-	106,2
5	-	162,1	-	-	162,1
6	6,35 (d, 2,0)	97,9	C-4a, C-5, C-7, C-8	6,34 (d, 2,0)	97,9
7	-	165,5	-	-	165,5
8	6,44 (d, 2,0)	92,3	C-4a, C-6, C-7, C-8a	6,43 (d, 2,0)	92,2
8a	-	156,8	-	-	155,8
1'	-	122,5	-	-	122,5
2'	7,70 (d, 1,8)	110,9	C-2, C-1', C-4'	7,68 (d, 1,6)	111,0
3'	-	146,4	-	-	146,4
4'	-	148,4	-	-	148,4
5'	7,04 (d, 8,4)	114,7	C-1', C-3'	7,04 (d, 8,4)	114,6
6'	7,67 (dd, 8,4; 1,8)	122,7	C-2, C-2', C-4'	7,64 (dd, 8,4; 1,6)	122,7
5-OH	12,64 (s)	-	C-4a, C-5, C-6	12,62 (s)	-
4'-OH	6,07 (s)	-	C-4'	-	-
3-OCH ₃	3,85 (s)	60,3	C-3	3,85 (s)	60,2
7-OCH ₃	3,87 (s)	55,9	C-7	3,86 (s)	55,8
3'-OCH ₃	3,98 (s)	56,2	C-3'	3,97 (s)	56,2

Tabel 2. Data spektrum NMR senyawa ayanin (**2**) dalam CDCl₃.

No. C	Ayanin (2) hasil isolasi			Ayanin (Ali et. al., 2008)	
	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	HMBC	δ_H (mult, J Hz)	δ_C
2	-	156,8	-	-	155,9
3	-	139,4	-	-	138,0
4	-	179,5	-	-	178,1
4a	-	106,5	-	-	156,4
5	-	162,8	-	-	161,0
6	6,30 (<i>d</i> , 2,2)	98,4	C-4a, C-5, C-7, C-8	6,33 (<i>d</i> , 1.5)	97,9
7	-	166,5	-	-	165,7
8	6,65 (<i>d</i> , 2,2)	92,9	C-4a, C-6, C-7, C-8a	6,69 (<i>d</i> , 1.5)	92,5
8a	-	157,7	-	-	105,3
1'	-	122,7	-	-	120,8
2'	7,78 (<i>d</i> , 2,2)	112,6	C-2, C-1', C-4'	7,67 (<i>d</i> , 1,3)	115,7
3'	-	148,2	-	-	147,6
4'	-	150,5	-	-	150,6
5'	6,99 (<i>d</i> , 8,5)	116,0	C-1', C-3'	7,14 (<i>d</i> , 8.0)	112,1
6'	7.70 (<i>dd</i> , 8.5; 2.2)	123,4	C-2, C-2', C-4'	7,71 (<i>dd</i> , 8.0; 1.3)	122,4
5-OH	12,75 (<i>s</i>)	-	C-4a, C-5, C-6	12,74 (<i>s</i>)	-
3'-OH	8,44 (<i>s</i>)	-	-	8,27 (<i>s</i>)	-
3-OCH ₃	3,89 (<i>s</i>)	60,2	C-3	3,90 (<i>s</i>)	59,3
7-OCH ₃	3,90 (<i>s</i>)	56,4	C-7	3,95 (<i>s</i>)	56,2
4'-OCH ₃	3,94 (<i>s</i>)	56,4	C-4'	3,97 (<i>s</i>)	55,9



Gambar 2. Korelasi HMBC yang penting pada senyawa 1-2

Ayanin (**2**) berwujud padatan kuning dan t.l. 174-176 °C. Berdasarkan pengukuran HRESIMS senyawa **2** memperlihatkan rumus molekul C₁₈H₁₆O₇ dengan ion kuasimolekul negatif [M-H]⁻ pada *m/z* 343,1026. Spektrum UV senyawa **2** memperlihatkan λ_{maks} (log ϵ) pada 254 (4,17), 268 (3,11), 355 (3,12) dan spektrum IR pada ν (cm⁻¹): 3430 (OH), 1639 (C=O terkonyugasi), 1515-1450 (C=C aromatik) dan 1172 (C-O-C eter) yang mirip dengan senyawa **1**. Spektrum ¹H-NMR (Tabel-2) senyawa **2** dalam CDCl₃ memperlihatkan sinyal proton aromatik sistem ABX di cincin B pada δ_H 7,78 (1H, *d*, *J* = 2,2 Hz; H-2'), δ_H 7,70 (1H, *dd*, *J* = 8,5; 2,2 Hz; H-6'), δ_H 6,99 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-5') serta sepasang proton aromatik di cincin A pada δ_H 6,65 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz; H-8) dan δ_H 6,30 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz; H-6). Analisis spektrum ¹H-NMR, senyawa **2** juga memperlihatkan dua sinyal proton hidroksi (δ_H 12,75; δ_H 8,44) dan tiga sinyal proton metoksi (δ_H 3,98; δ_H 3,87; δ_H 3,85). Spektrum ¹³C NMR senyawa **2**

memperlihatkan 18 sinyal karbon yang terpisah sempurna. Berdasarkan data HRESI dan NMR maka senyawa **2** adalah isomer dari senyawa pakipodol (**2**). Lokasi gugus hidroksi dan metoksi yang terikat pada senyawa **2** ditetapkan berdasarkan analisis spektrum HMQC dan HMBC seperti terlihat pada Gambar 2. Berdasarkan analisis spektrum HMQC dan HMBC maka senyawa **2** adalah 5,3'-dihidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavin atau dikenal sebagai ayanin [12].

Uji aktivitas antioksidan senyawa pakipodol (**1**) dan ayanin (**2**) terhadap radikal DPPH menunjukkan nilai konsentrasi daya hambat IC₅₀ sebesar 254±10 dan 38,55±0,02 µg/mL. Adanya hidroksi di C-4' dan metoksi di C-3' pada senyawa ayanin (**2**) lebih meningkatkan aktivitas antioksidan dibanding adanya hidroksi di C-3' dan metoksi di C-4' pada senyawa pakipodol (**1**).

■ Kesimpulan

Dua isomer senyawa turunan kuersetin yakni pakipodol (1) dan ayanin (2) telah berhasil dipisahkan dari kulit batang *M. quercifolia*. Senyawa ayanin A (2) memperlihatkan aktivitas antioksidan yang sangat potensial terhadap radikal DPPH.

■ Daftar Pustaka

- [1] Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., 2019. [Two novel coumarins bearing an acetophenone derivative from the leaves of *Melicope quercifolia*](https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644634). *Nat. Prod. Res.*, 1-6, <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644634>
- [2] Kasim, N.K., Rahmani, M., Ismail, A., Sukari, M.A., Ee, G.C.L., Nasir, N.M., Awang, K., (2013). Antioxidant activity-guided separation of coumarins and lignan from *Melicope glabra* (Rutaceae). *Food Chem.* 139, 87-92.
- [3] Saputri, R.D., Tanjung, M., Tjahjandarie, T.S., (2018a). Cytotoxic [activity of quinolinone alkaloids and acylphloroglucinol from the leaves of *Melicope denhamii*](#). *J. of Physics: Conference Series*.1095(1), 012031.
- [4] Tjahjandarie, Saputri, R.D., Wahjoedi, R.A., Tanjung, M., (2018). Melimoluccanin, [a new isoprenylated quinolone alkaloid from the leaves of *Melicope moluccana* TG Hartley](#). *J. of Physics: Conference Series*.1095(1), 012042.
- [5] Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., (2018b). Meliglabrin, [a new flavonol derivative from the leaves of *Melicope glabra* \(Blume\) TG Hartley](#). *Nat. Prod. Sci.*24(3), 155-158.
- [6] Simonsen, H.T., Adersen, A., Bremmer, P., Heinrich, M., Smitt, U.W., Jaroszewski, J.W., (2004). Antifungal constituents of *Melicope borbonica*, *Phytother. Res.* 18, 542-545.
- [7] Marlina, E., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., (2016). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari *Macaranga pearsonii* Merr. *J. Kimia Mulawarman.* 13(2), 97-100.
- [8] Khasanah, S.N.N., Imaniah, N., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., (2018), Kumarin terisoprenilasi dan alkaloid indol dari kulit batang *Zanthoxylum ovalifolium* Tutcher. *J. Kimia Mulawarman.* 15(2), 76-81.
- [9] Tjahjandarie, T.S., Saputri, R.D., Tanjung, M., (2016). Oxygeranylated [coumarins from the root of *Limonia accidisima* L. and their DPPH radical scavenging activity](#). *Der Pharmacia Lettre.* 8, 33-36.
- [10] Tanjung, M., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., (2016). Antimalarial and antioxidant of isoprenylated coumarins from the stem bark of *Mesua borneensis* L. *J Biol. Active Prod from Nature.* 6, 95-100.
- [11] Tanjung M, Mujahidin D, Hakim EH, Darmawan A, Syah Y.M. (2010). Geranylated flavonols from *Macaranga rhizinoidea*. *Nat Prod Commun.* 5,1209-1211.
- [12] Ali, H.A., Chowdhury, A.K.A., Rahman, A.K.M., Borkowski, T., Nahar, L., Sarker, S.D., (2008). Pachypodol, a flavonol from the leaves of *Calycaptis floribunda*, inhibits the growth of colon cancer cell line *in vitro*, *Phytother. Res.*22, 1684-1687.