

## SENYAWA FENOLIK DARI KULIT BATANG *Garcinia cf. cymosa* DAN UJI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN

Yuliar<sup>1</sup>, Yunazar Manjang<sup>1</sup>, Syamsul A. Achmad<sup>2</sup>, dan Sanusi Ibrahim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan kimia, Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang

<sup>2</sup> Prodi kimia, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Bandung

Email : yuliarkimiauand@gmail

### ABSTRACT

A Phenolic compound was isolated from the bark of *Garcinia cf. cymosa*. Isolation methods were used are maseration, fractionation, and chromatography. Structure determination was done using spectroscopy methods including IR, H-NMR, C-NMR, DEPT, COSY, HMQC, and HMBC. The result showed that the isolated compound is (-)epicatechin. Antioxidant activity of isolated compound was determined by DPPH method. Isolated compound has antioxidant activity which has IC<sub>50</sub> = 41,8 ppm.

**Keywords** : Phenolic, (-)epicatechin, *Garcinia cf. cymosa*, DPPH

### PENDAHULUAN

Tumbuhan dari genus *Garcinia* kaya dengan keragaman kandungan metabolit sekunder seperti santon, benzofenon, flavonoid, steroid, terpenoid, dan turunan fenol lainnya<sup>[1]</sup>. Kandungan metabolit sekunder dari genus ini mempunyai aktifitas biologi yang sangat beragam seperti sitotoksik, antimikroba, antioksidan, dan anti HIV<sup>[2]</sup>. Beberapa senyawa fenolik yang bersifat sebagai antioksidan dari genus *Garcinia* adalah 1,6,7-trihidroksisanton, guttiferon, dan isosantosimol<sup>[3]</sup>. *Garcinia cf. cymosa* merupakan salah satu spesies dari genus *Garcinia* yang ada di Indonesia yang menarik untuk dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa fenolik, menentukan struktur, dan menguji aktifitas antioksidan.

### METODOLOGI PENELITIAN

#### Alat dan bahan

Bahan penelitian ini berupa kulit batang tumbuhan *Garcinia cf. cymosa* yang diambil dari Kebun Raya Bukit Sari kabupaten Muarabungo Propinsi Jambi pada tahun 2011. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium LIPI. Bahan – bahan kimia yang

digunakan untuk pemisahan dan pemurnian terdiri dari metanol, dikloro metana, etil asetat, *n*-heksana, petroleum eter, aseton, silika gel 60 G (70-230 mesh) keluaran Merck, 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), pereaksi Meyer, pereaksi Lieberm Burchad, pereaksi sianoda test, FeCl<sub>3</sub>.

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas, kolom kromatografi, petridish, test tube, autoklave, jarum ose, pinset, pipet tetes, lampu spiritus, KLT GF<sub>254</sub> 20x20 cm keluaran Merck, spektroskopi IR, spektroskopi UV, spektroskopi <sup>1</sup>H-NMR 400 MHz dan <sup>13</sup>C-NMR 100 MHz, NMR 2 D, High Resolution-Mass Spectroscopy (HR-TOF-MS).

#### Prosedur Isolasi

Serbuk kulit batang *Garcinia cf. cymosa* sebanyak 5 kg dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat metanol sebanyak 647 g. Sebanyak 200 g dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana, diklorometana, dan etil asetat. Hasil fraksinasi kemudian dipekatkan sehingga didapatkan fraksi *n*-heksana,

diklorometana dan etil asetat berturut-turut 15,2 g, 21,4 g, dan 38,7 g.

Ekstrak etil asetat sebanyak 10 g dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel dan dielusi dengan *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol secara SGP. Hasil kromatografi kolom dimonitor dengan KLT sehingga didapatkan 21 fraksi. Fraksi 3 (F3) sebanyak 0,2 g dilakukan pemurnian lebih lanjut dengan metode yang sama dan didapatkan 56 fraksi. Fraksi pada nomor 25 dan 26 menunjukkan noda tunggal pada KLT sehingga kedua fraksi tersebut dikumpulkan dan didapatkan padatan berwarna putih.

Senyawa hasil isolasi kemudian diidentifikasi dengan FeCl<sub>3</sub>, dilakukan KLT berulang-ulang dengan berbagai macam pelarut dan uji titik leleh. Hasil pengujian ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi telah murni. Penentuan struktur molekul dilakukan dengan metode spektroskopi yang meliputi IR, H-NMR, C-NMR, DEPT, COSY, HMQC, dan HMBC. Hasil pengukuran dibandingkan dengan senyawa fenolik yang sudah pernah dipublikasi.

Uji aktifitas antioksidan senyawa hasil isolasi dilakukan dengan metode DPPH<sup>[4]</sup> yang didasarkan pada kemampuan merendam radikal DPPH. Larutan uji DPPH dibuat dengan melarutkan 9 mg kedalam metanol sampai volumenya 450 mL sehingga didapatkan larutan DPPH 50 µM. Variasi konsentrasi uji senyawa murni dibuat dengan pengenceran larutan sehingga didapatkan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5, 6,25, dan 3,175. Larutan DPPH 50 µM sebanyak 3,8 mL ditambahkan larutan sampel uji sebanyak 0,2 mL. Kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit dalam ruangan gelap. Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan λ maks = 516 nm. Sebagai kontrol positif digunakan standar asam askorbat yang diperlakukan sama seperti sampel. Aktifitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{\text{Absorban Kontrol}} \times 100 \%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa hasil isolasi dari fraksi etil asetat kulit batang *Garcinia cf. cymosa* berupa padatan berwarna putih yang meleleh pada suhu 248-249°C.

Pengukuran dengan spektrum inframerah menunjukkan adanya pita-pita serapan untuk gugus hidroksil ( $\nu_{\text{maks}}$  3417 cm<sup>-1</sup>), gugus =C-H ( $\nu_{\text{maks}}$  2962 cm<sup>-1</sup>), gugus -C-H ( $\nu_{\text{maks}}$  2920 dan 2854 cm<sup>-1</sup>), gugus karbonil berkonyugasi ( $\nu_{\text{maks}}$  1643 cm<sup>-1</sup>), gugus C=C aromatis ( $\nu_{\text{maks}}$  1612; 1558, dan 1458 cm<sup>-1</sup>), dan gugus C-O eter ( $\nu_{\text{maks}}$  1076 cm<sup>-1</sup>). Hal ini sesuai dengan senyawa fenolik yang mempunyai kerangka flavonoid.

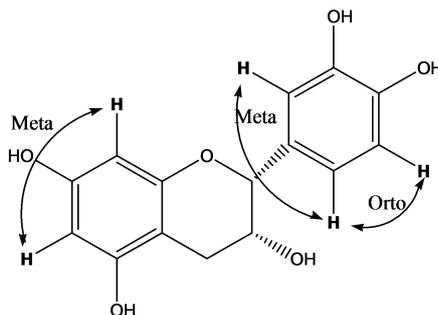
Pengukuran dengan menggunakan alat spektroskopi HR-TOF-MS TOF ES- memberikan puncak pada 289,0948 yang menunjukkan ion molekul [M-H] dan TOF ES+ memberikan puncak pada 241,0489 yang menunjukkan ion molekul [M+H]. Kedua spektrum diatas menunjukkan bahwa massa molekul senyawa hasil isolasi adalah 290,1027. Setelah dikorelasikan data ini dengan <sup>13</sup>C NMR dan <sup>1</sup>H NMR, maka molekul ini diduga mempunyai rumus molekul C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> yang mempunyai massa molekul 290,0790. Dengan demikian, senyawa fenolik dengan rumus molekul C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>.

Spektroskopi <sup>13</sup>C-NMR dan DEPT menunjukkan 15 atom karbon yang terdiri dari 7 CH, 1 CH<sub>2</sub>, dan 8 C kuartener. Sinyal ke-15 sinyal karbon itu adalah 29,6 (C-4); 66,8 (C-3); 79,3 (C-2); 95,2 (C-8); 95,6 (C-6); 99,6 (C-4a); 115,1 (C-2'); 115,3 (C-5'); 119,2 (C-6'); 132,1 (C-1'); 145,6 (C-3'); 145,7 (C-4'); 157,0 (C-5), 157,4 (C-7), dan 157,5 (C-8a).

Spektroskopi <sup>1</sup>H-NMR memberikan sinyal proton dengan pergeseran kimia 2,54-2,92 ppm (2 H, dd, H-4α/β); 4,20 ppm (1 H, s, H-3); 4,87 ppm (1 H, s, H-2); 5,92 ppm (1 H, d, J = 2,2 Hz, H-8); 6,02 ppm (1H, J = 2,2 Hz, H-6); 6,78 ppm (1H, d, J = 8,3 Hz, H-5'); 6,83 ppm (1 H, dd J = 2,2 & 8,3 Hz, H-6') dan 8,03 (proton fenolik).

Spektrum ini juga memperlihatkan dua sinyal pada pergeseran kimia  $\delta$  6,02 (1H, d,  $J = 2,2$  Hz) dan pergeseran kimia  $\delta$  5,91 (1H, d,  $J = 2,2$  Hz), dari nilai pergeseran kimia diketahui bahwa kedua sinyal ini merupakan sinyal dari dua proton aromatis. Adanya nilai  $J = 2,2$  Hz menunjukkan bahwa kedua proton aromatis berorientasi meta yaitu H-6 dan H-8, dengan demikian posisi substituen dua gugus hidroksi juga berorientasi meta yaitu pada

C-5 dan C-7 pada cincin A. Analisis selanjutnya terhadap Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  memperlihatkan tiga sinyal proton aromatik dengan sistem spin AMX pada  $\delta$  6,78 (1H, d,  $J = 8,3$  Hz, H-5'),  $\delta$  6,83 (1H, dd,  $J = 2,0$  dan  $8,3$  Hz, H-6'), data ini menunjukkan bahwa pada cincin B ada dua proton berorientasi orto ditandai dengan nilai  $J = 8,3$  Hz dan satu proton lainnya berorientasi meta, ditandai dengan adanya nilai  $J = 2,0$  Hz.



**Gambar 1.** Korelasi antar proton dalam senyawa (-) epikatekin.

Korelasi antar proton dalam senyawa fenolik juga didukung dengan adanya data spektrum COSY dan berdasarkan analisis tersebut di atas, mendukung bahwa senyawa hasil

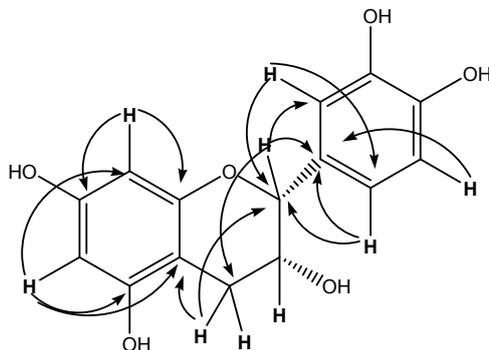
isolasi tersebut merupakan (-) epikatekin. Karena senyawa tersebut sudah dikenal maka dilakukan perbandingan dengan literatur<sup>[5]</sup>.

**Tabel 1.** Perbandingan senyawa hasil isolasi dengan (-) epikatekin yang telah diisolasi dari ekstrak metanol oleh muharni *et al*<sup>[5]</sup>.

C	$^{13}\text{C-NMR}$ (ppm)		H	$^1\text{H-NMR}$ (ppm)	
	Senyawa	(-) epikatekin		Senyawa	(-) epikatekin
2	79,3	80,0	2	4,87	4,82
3	66,8	67,6	3	4,20	4,18
4	29,6	29,4	4 $\alpha$	2,54	2,74
			4 $\beta$	2,92	2,85
4a	99,6	100,0			
5	157,0	157,5			
6	95,6	96,0	6	6,02	5,94
7	157,4	157,8			
8	95,2	96,4	8	5,92	5,91
8a	157,5	158,1			
1'	132,1	132,4			
2'	115,1	115,4	2'	7,05	6,97
3'	145,6	146,1			
4'	145,7	145,9			
5'	115,3	116,0	5'	6,78	6,75
6'	119,2	119,5	6'	6,83	6,78

Spektrum HMBC memberikan informasi tentang letak proton terhadap karbon mempelajari korelasi yang terjadi sepanjang

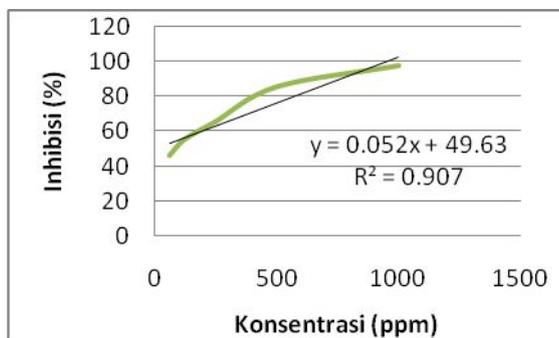
dua atau tiga ikatan antara proton dan karbon sehingga dapat diketahui pola substitusi struktur flavonoid hasil isolasi.



**Gambar 2.** Korelasi dari HMBC senyawa hasil isolasi.

Uji aktifitas antioksidan dengan peredaman radikal DPPH dilakukan dengan mengukur absorbansi jumlah radikal DPPH sisa dengan alat spektroskopi sinar tampak pada  $\lambda_{maks}$  516 nm. Kemampuan suatu senyawa dalam merendam radikal DPPH pada konsentrasi tertentu, dihitung melalui % inhibisi. Minami *et al* (1994)<sup>[6]</sup>. menggolongkan kekuatan

senyawa antioksidan berdasarkan nilai  $IC_{50}$ . Suatu senyawa dikelompokkan menjadi kategori sangat aktif, aktif dan tidak aktif jika nilai  $IC_{50}$  berturut-turut : < 10; <100, dan > 100. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak uji dengan % inhibisi, menggunakan metode DPPH tertera pada Gambar 3



**Gambar 3.** Grafik uji antioksidan senyawa hasil isolasi.

Senyawa hasil isolasi mempunyai nilai  $IC_{50}$  = 41,8 ppm, oleh karena itu tergolong aktif terhadap uji antioksidan karena nilai  $IC_{50}$  < 100 ppm. Hasil ini sesuai dengan Molyneux<sup>[7]</sup> yang menyebutkan bahwa sifat antioksidan lebih baik bila nilai  $IC_{50}$  lebih kecil. Suatu zat dikatakan memiliki sifat antioksidan bila nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan kurang dari 200 ppm.

Senyawa hasil isolasi dari fraksi etil asetat kulit batang *Garcinia cf. cymosa* ini adalah (-) epikatekin. Aktifitas antioksidannya setelah diuji dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan aktifitas yang tinggi yaitu  $IC_{50}$  = 41,8 ppm.

**KESIMPULAN**

**Ucapan Terima Kasih**

Terima kasih disampaikan disampaikan kepada Dr. Eng. Morina adfa, M.Si yang telah membantu pengukuran spektrum NMR, herbarium LIPI yang telah membantu penentuan spesies tumbuhan, dan bapak M. Subkhan Dinas Kehutanan Prop. Jambi yang telah membantu dalam pengambilan sampel.

#### Daftar Pustaka

1. G. S. Joseph, G. K. Jayapraksa, and A. T. Selvi, Antiflatogenic and antioxidant activities of Garcinia Extract. *Int. Journal of Food Microbiology.*, 101: 153-160, (2005).
2. Lannang, A. M. Komguem, J., F. N. Ngninzeko, J. Tangmoua, Two xanthone from the steam bark of *Garcinia polyantha* Oliv. *Phytochemistry.*, 60: 2351-2355, (2005).
3. Elfita, Santon dan benzofenon dari tubuhan kandis gajah (*Garcinia griffithii*) dan aktifitas aktioksidannya. Disertasi Universitas Padjajaran, 2008.
4. Zhang, N. P. Seeram, R. Lee, Isolation and identification of strawberry phenolics with antioxidant and cancer cell antiproliferative, *Agric. Food chem.*, 56(3): 670-675.
5. Muharni, Phenolic compound from the stem bark of manggis hutan (*Garcinia bancana*) and their antioxidant activity, *Indo. J. Chem.* 9 (20): 321-327, (2009).
6. H. Minami, K. Hamaguchi, and M. Kubo, a benzophenone and a xanthone from *Garcinia subelliptica*, *Phytochemistry.*, 49(6): 1783-1785, (1998).
7. P. Molyneux P. The use of the stable free radicals diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219, (2004).