

KARAKTERISASI STRUKTUR SENYAWA KUMARIN GLIKOSIDA DARI BIJI BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)

Siti Nurhajar Sukmawati^{1*}, Harlia¹, Rudiyanasyah¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi,

*email: sitins1@gmail.com

ABSTRAK

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) merupakan tanaman musiman yang banyak hidup di daerah tropis. Senyawa fenolik kumarin glikosida telah isolasi dari biji buah *N. lappaceum*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur senyawa kumarin glikosida pada biji buah *N. lappaceum*. Proses isolasi senyawa dilakukan dengan beberapa metode ekstraksi dan kromatografi. Fraksi yang sebagai sumber senyawa kumarin glikosida adalah fraksi etil asetat. Isolat murni yang diperoleh sebanyak 17,6 mg berbentuk kristal berwarna kuning dengan hasil uji fitokimia positif golongan fenolik. Data NMR-¹H (CD₃OD, 500 MHz) menunjukkan geseran kimia δ (ppm) 8,15 (1H, brs, H-2), 6,91 (1H, d, J=8,2 Hz, H-3), 6,77 (1H, s, H-6), dan 6,44 (1H, s, H-8), 5,57 (1H, s, H-1'), 4,04 (1H, s, H-2'), 3,85 (1H, dd, J=9,25;3,45 Hz, H-3'), 3,49 (1H, t, J=9,55 Hz, H-4'), 3,61 (1H, m, H-5'), 1,27 (3H, d, J=6,15 Hz, H-6'). Data TOF-ESI-MS m/z memberikan massa molekul 348,28 [M+Na+H]⁺. Berdasarkan hasil analisis senyawa yang diperoleh dari fraksi etil asetat biji buah *N. lappaceum* adalah senyawa 5-O- α -L-ramnosa-7-hidroksikumarin.

Kata Kunci : *Nephelium lappaceum*, kumarin, fenolik, glikosida

PENDAHULUAN

Nephelium lappaceum merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis kawasan Asia Tenggara. *Nephelium lappaceum* menghasilkan buah yang dikenal lezat. Biji buah *N. lappaceum* secara tradisional dapat menyembuhkan penyakit seperti diabetes mellitus. Efek farmakologi kulit buah *N. lappaceum* antara lain sebagai penurun panas sedangkan bijinya memiliki efek hipoglikemia sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah (Hariana, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian Nishizawa, dkk., (1983) dan Ragasa, dkk., (2005) diketahui bahwa pada biji buah *N. lappaceum* terkandung senyawa terpenoid. Selain itu hasil penelitian terhadap kulit buah *N. lappaceum* terkandung senyawa fenolik yaitu asam alekat, korilagin, dan geranin (Thitilertdecha, dkk., 2010).

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, diketahui bahwa biji buah *N. lappaceum* mengandung senyawa fenolik. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, belum ditemukan laporan tentang struktur senyawa fenolik dari biji

buah *N. lappaceum*. Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk mengetahui struktur fenolik yang terkandung di dalam biji buah *N. lappaceum*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi ilmiah tentang kandungan dan struktur senyawa fenolik dari biji buah *N. lappaceum*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat ekstraksi, blender *Panasonic*, kolom kromatografi, lampu UV $\lambda=254$ nm, *Mass Spektroskopi (MS) Waters LCT Premier XE Detektor TOF*, neraca analitik *Pioneer*, *Nuclear Magnetic Resonance (NMR) agilent 500 MHz* dengan sistem konsol DD2, peralatan destilasi, dan *rotary evaporator Heidolph*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah asam klorida (HCl), metanol teknis, etil asetat teknis, kloroform *p.a*, *n*-heksana teknis, pereaksi uji fitokimia (FeCl₃ dan MgCl₂), plat silika gel 60 F₂₅₄, biji buah *N. lappaceum*, serbuk Mg (magnesium), silika

gel 60-70 mesh, 200-400 mesh, dan silika G 60.

Prosedur Kerja Ekstraksi dan Partisi

Serbuk biji *N. lappaceum* sebanyak 5 kg di ekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan metanol. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam, ekstrak disaring dan dipisahkan antara filtrat dan residunya. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan ditimbang untuk memperoleh massa dari ekstrak metanol kental.

Ekstrak metanol kental dilarutkan dalam metanol, kemudian dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Ketiga hasil partisi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol. Ketiga fraksi disimpan dalam wadah gelap dan ditentukan massanya.

Uji Fitokimia Fenolik

Ekstrak diteteskan pada dua bagian plat tetes. Bagian I sebagai kontrol dan bagian II ditetesi larutan FeCl₃. Apabila timbul warna biru sampai kehitaman, maka positif mengandung senyawa fenolik (Harbourne, 1987).

Isolasi Biji Buah *N. lappaceum*

Fraksi etil asetat dilakukan KVC. Proses elusi dimulai dengan menggunakan kombinasi eluen berdasarkan KLT yang dimulai dari 100% *n*-heksana, *n*-heksana:etil asetat (8:2, 6:4, 4:6, 2:8), 100% etil asetat, etil asetat:metanol (9:1, 8:2) dan 100% metanol. Eluat di KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (4:6). Fraksi yang diperoleh dari hasil gabungan KVC sebanyak 7 fraksi dengan kode S₁₋₇.

Fraksi S₄ hasil KVC dilakukan KKG. Proses elusi dimulai dari pelarut yang diperoleh dari KLT yaitu 100% kloroform, kloroform:metanol (99:1, 97:3, 95:5, 90:10, 70:30) dan 100% metanol. Eluat di KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (35:65). Hasil dari gabungan KKG sebanyak 30 fraksi dengan kode S_{4N₁₋₃₀}. Hasil dari KLT, yang mengandung senyawa target dan cukup murni pada fraksi S_{4N₂₃} kemudian dilanjutkan uji kemurnian.

Uji Kemurnian

Kemurnian isolat S_{4N₂₃} dapat diketahui dari hasil KLT dua dimensi dengan eluen kloroform:etil asetat (3:7) dan berikutnya dengan *n*-heksana:etil asetat (4:6).

Karakterisasi Isolat S_{4N₂₃}

Senyawa murni hasil isolasi kemudian dianalisis dengan menggunakan NMR ¹H, COSY, dan *Mass Spectrofotometry* (MS) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Teknologi Bandung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Biji buah *N. lappaceum* yang telah kering dibersihkan dari kulit arinya sehingga diperoleh massa 5,6 kg. Biji buah *N. lappaceum* kemudian diserbukkan dengan cara diblender hingga halus dan diperoleh massa 5 kg. Penghalusan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan dari biji buah *N. lappaceum* sehingga ketika diekstraksi senyawa metabolit sekunder yang ada di biji buah *N. lappaceum* dapat keluar secara maksimal.

Ekstraksi Maserasi

Maserasi serbuk biji buah *N. lappaceum* dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut metanol yang sudah didestilasi terlebih dahulu. Destilasi metanol bertujuan untuk memisahkan pengotornya yang berupa asam dan air yang dapat mengganggu proses isolasi serta dapat merusak senyawa metabolit sekunder. Metanol memiliki sifat polar sehingga dengan sifatnya dapat melarutkan semua komponen baik yang bersifat polar maupun nonpolar (Harbourne, 1987).

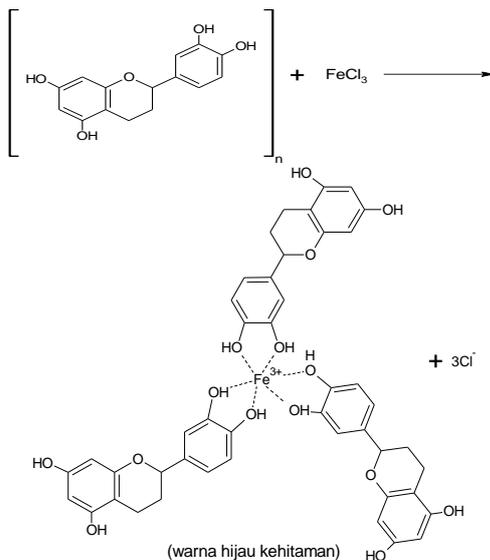
Maserat yang diperoleh dengan cara dipekatkan dengan *rotary evaporator* sebanyak 318,6575 g. Selama pemekatan terdapat dua lapisan, lapisan atas berupa lemak dan lapisan bawah berupa maserat metanol. Kedua lapisan dipisahkan sehingga didapat massa lemak sebesar 189,0142 g sedangkan massa maserat metanol sebesar 129,6433 g. Maserat yang diperoleh kemudian dilanjutkan ke tahap partisi.

Partisi

Sebanyak 129,6433 g ekstrak metanol dipartisi dengan *n*-heksana sebanyak dua kali. Fraksi *n*-heksana ditampung dalam botol coklat sedangkan fraksi metanol dipartisi dengan pelarut etil asetat. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh dipekatkan dengan cara dikering anginkan, sehingga diperoleh massa 1,162 g. Fraksi etil asetat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh massa 36,764 g. Fraksi terlarut dalam metanol didapat sebanyak 54,038 g.

Uji Fitokimia

Fraksi etil asetat yang diperoleh dari partisi selanjutnya dilakukan uji fitokimia. Identifikasi golongan fenolik dengan penambahan FeCl_3 memberikan perubahan warna menjadi hijau kehitaman dari warna kuning. Perubahan warna ini disebabkan karena senyawa fenolik jika bertemu dengan Fe maka akan membentuk senyawa kompleks (Setyowati, dkk, 2014).



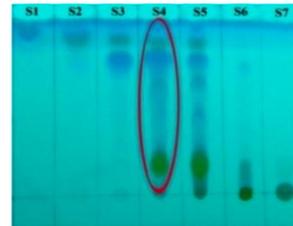
Gambar 1. Reaksi antara fenolik dan FeCl_3

Isolasi Biji Buah *N. lappaceum*

Faksi etil asetat terlebih dahulu dilakukan orientasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk melihat kompleksitas komponen dalam fraksi. Selain itu, KLT juga bertujuan untuk mencari eluen yang sesuai untuk digunakan pada tahap pemisahan selanjutnya.

Tahap pemisahan selanjutnya adalah KVC. Pemisahan ini dilakukan dengan bantuan tarikan dari vakum. Pengelusan

pada KVC dilakukan secara bergradien dan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Hal ini bertujuan agar senyawa yang terpisah makin baik. Fraksi yang diperoleh dilakukan KLT, fraksi-fraksi yang memiliki noda dan R_f yang relatif sama digabungkan. Hasil penggabungan dari 51 fraksi dihasilkan 7 fraksi gabungan. Ketujuh fraksi dilakukan KLT kembali dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (3:7).



Gambar 2. Profil KLT Gabungan dari Fraksi KVC (Penampakan Noda dibawah Lampu UV $\lambda=254\text{nm}$)

Fraksi S_4 dengan massa 0,9046 g mengandung senyawa target dan kompleksitas rendah dilanjutkan tahap KKG. Pengelusan pada KKG dilakukan secara campur yaitu gradien dan isokratik. Fraksi hasil KKG di KLT, fraksi-fraksi yang memiliki noda dan R_f yang relatif sama digabungkan.

Hasil KLT dari KKG fraksi S_4N_{23} cukup murni, Fraksi S_4N_{23} diperoleh massa 17,6 mg. Fraksi S_4N_{23} diuji fitokimia untuk golongan terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Hasil uji fitokimia pada fraksi S_4N_{23} dapat dilihat pada Tabel 1.

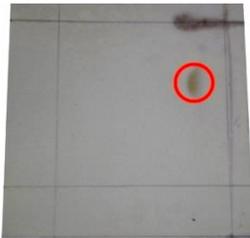
Tabel 1. Uji Fitokimia Fraksi Hasil KKG Biji Buah *N. lappaceum*

	Terpenoid	Fenolik	Flavonoid
S_4N_{23}	-	+	-

Hasil uji fitokimia pada fraksi S_4N_{23} hanya positif untuk senyawa golongan fenolik, sehingga dapat dilakukan tahap selanjutnya berupa uji kemurnian.

Uji Kemurnian

Uji kemurnian terhadap isolat S_4N_{23} dilakukan melalui analisis KLT dengan dua dimensi. Hasil orientasi KLT dua dimensi menunjukkan hanya terdapat satu noda, sehingga dimungkinkan senyawa sudah cukup murni.



Gambar 3. Orientasi Kromatogram Dua Dimensi Menggunakan (Penampakan Noda Serium Sulfat)

Analisis spektrum NMR-¹H dan COSY

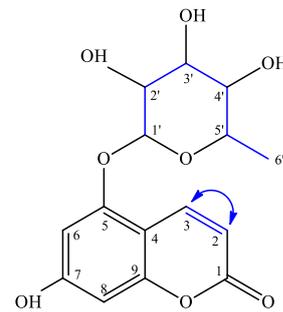
Isolat S₄N₂₃ dilakukan analisis dengan NMR-¹H. Spektrum NMR-¹H pada 500 MHz dalam pelarut metanol-*d*₄ menunjukkan adanya sinyal-sinyal proton khas dari kumarin pada δ_H (ppm): 8,15 (1H, *brs*, H-2), 6,91 (1H, *d*, *J*=8,2 Hz, H-3), 6,77 (1H, *s*, H-6), 6,44 (1H, *s*, H-8), dua sinyal doublet δ_H 8,15 ppm (H-2) dan 6,91 ppm (H-3) merupakan ciri khas sinyal olefilik. Selain itu terdapat sinyal-sinyal dari ramnosa pada δ_H (ppm): 5,57 (1H, *s*, H-1'), 4,04 (1H, *s*, H-2'), 3,85 (1H, *dd*, *J*=9,25;3,45 Hz, H-3'), 3,49 (1H, *t*, *J*=9,55 Hz, H-4'), 3,61 (1H, *m*, H-5'), dan 1,27 (3H, *d*, *J*=6,15 Hz, H-6'), dengan satu sinyal doublet proton metin pada δ_H 1,27 ppm (H-6') dan satu sinyal proton anomerik pada δ_H 5,57 ppm (H-1') merupakan ciri khas dari ramnosa.

Tabel 2. Data Spektrum NMR-¹H (δ dalam ppm, *J* dalam Hz, pada CD₃OD) dan COSY

Posisi	δ_H (ppm)	COSY
2	8,15 (1H, <i>brs</i>)	3
3	6,91 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8,2)	2
6	6,77 (1H, <i>s</i>)	8
8	6,44 (1H, <i>s</i>)	6
1'	5,57 (1H, <i>s</i>)	2'
2'	4,04 (1H, <i>s</i>)	1',3'
3'	3,85 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =9,25;3,45)	2',4'
4'	3,49 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> =9,55)	3',5'
5'	3,61 (1H, <i>m</i>)	4',6'
6'	1,27 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> =6,15)	5'

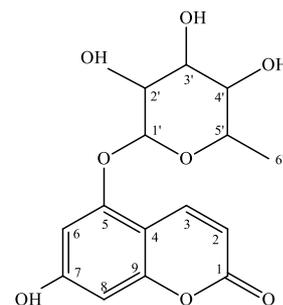
Spektrum COSY pada 500 MHz dalam pelarut metanol-*d*₄ isolat S₄N₂₃ menunjukkan korelasi proton-proton tetangga yaitu sinyal proton pada δ_H 8,15 ppm (H-2) dengan sinyal proton pada δ_H 6,91 ppm (H-3). Korelasi antara sinyal proton δ_H 5,57 ppm (H-1') dengan sinyal proton pada δ_H 4,04 ppm (H-2'). Korelasi

antara sinyal proton δ_H 3,61 ppm (H-6') dengan sinyal proton δ_H 1,27 ppm (H-5').



Gambar 4. Korelasi COSY (Biru)

Analisis spektrum MS menunjukkan Mr (berat molekul) isolat S₄N₂₃ sebesar 324,28g/mol. Berat molekul yang didapat sesuai dengan rumus molekul C₁₅H₁₆O₈, bila di kombinasikan dengan hasil NMR-¹H dan COSY didapat senyawa 5-O- α -L-ramnosa-7-hidroksikumarin.



Gambar 5. Prediksi Struktur dari Data Spektrum NMR-¹H dan Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap fraksi S₄N₂₃ biji buah *N. lappaceum* diketahui bahwa positif mengandung senyawa fenolik. Senyawa golongan fenolik salah satu adalah kumarin, maka reaksi positif golongan senyawa fenolik diduga dari senyawa tersebut. Berdasarkan KLT yang telah dilakukan, diperoleh R_f<2 dengan pelarut *n*-heksan:etil asetat (15:85) hal ini menunjukkan senyawa bersifat polar yang diduga karena adanya gugus gula terikat pada senyawa fenol.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan, isolat yang diperoleh berbentuk kristal berwarna kuning dengan hasil uji fitokimia menunjukkan

adanya senyawa golongan fenolik. Berdasarkan data spektrum NMR-¹H, COSY, dan MS diprediksi golongan fenol yang terkandung didalam isolat S₄N₂₃ adalah kumarin glikosida.

DAFTAR PUSTAKA

Harborne, J.B., 1987, Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. ITB, Bandung.
Hariana, A., 2006, Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Jilid ke-3, Penebar Swadaya, Hlm:7.
Murray, R.; Mendez, J.; and Brown, S.A., 1982, The Natural Coumarins, Occurrence, Chemistry and

Biochemistry, John Wiley and Sons, United Kingdom.

Nishizawa, M.; Adachi, K.; Sastrapradja, S.; and Hayashi, Y., 1983, Isolation of Individual Type II Cyanolipids from *Nephelium lappaceum*, *Phytochemistry*, 22:2853-2855.

Ragasa, C.Y.; de Luna, R.D.; Cruz, W.C.; and Rideout, J.A., 2005, Monoterpen Lactones from the Seed of *Nephelium lappaceum*, *J. Nat. Prod.*, 68:1394-1396.

Thitilertdecha, N.; Teerawutgulrag, A.; Kilburn, J.D.; and Rakariyatham, N., 2010, Identification of Major Phenolic Compounds from *Nephelium lappaceum* L. and Their Antioxidant Activities, *ISSN*, 15:1420-3049.