

Profil senyawa flavonoid daun jati (*Tectona grandis*) menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*

Waris¹, Pendidikan Biologi, Universitas PGRI Argopuro Jember
Mohammad Arfi Setiawan², Teknik Kimia, Universitas PGRI Madiun
Cicilia Novi Primiani^{3*}, Farmasi, Universitas PGRI Madiun

*Corresponding author primiani@unipma.ac.id

Abstrak: Tumbuhan jati (*Tectona grandis*) merupakan tumbuhan dengan persebaran luas di Indonesia. Kandungan fitokimia tumbuhan belum banyak dilakukan analisis, sehingga kemanfaatan sebagai tumbuhan obat masih kurang. Tujuan penelitian untuk menganalisis senyawa golongan flavonoid daun jati dengan metode *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LCMS). Purifikasi ekstrak menggunakan C18 Sep-Pak dengan spesifikasi column shimadzu shim pack FC-ODS (2 mm x 150 mm 3µm), Injection volume 1µL, column temper 35°C, mobile phase mode isocratic, flow digunakan adalah etanol 96%. Hasil analisis LCMS ditemukan adanya senyawa golongan flavonoid yaitu quercetine 1,42081% dan senyawa rutin 1,31488%. Analisis fitokimia sangat penting, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai data dalam pengembangan tanaman obat.

Kata kunci: *flavonoid; LCMS; quercetin; rutin; tumbuhan jati*



Published by Universitas PGRI Madiun. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.

PENDAHULUAN

Keragaman tumbuhan tersebar luas di hutan tropis Indonesia. Berbagai hasil penelitian banyak dipublikasikan tentang adanya kandungan senyawa aktif. Kandungan senyawa aktif pada tumbuhan mempunyai potensi sebagai tumbuhan obat. Salah satu tumbuhan dengan keragaman kandungan senyawa kimia adalah tumbuhan jati (*Tectona grandis*). Tumbuhan jati merupakan tumbuhan dalam famili *Lamiaceae* ordo *Lamiales* dengan daerah persebaran alam yang cukup luas meliputi sebagian besar India, Myanmar, Laos, Kamboja, Thailand dan Indo China (Ikhajiagbe, Ogwu, and Lawrence 2002). Tumbuhan jati di Indonesia banyak ditemukan di Pulau Jawa dan beberapa pulau seperti Pulau Muna, Kangean, Sumba dan Bali (Pudjiono, 2014).

Hasil-hasil penelitian telah dipublikasikan bahwa tumbuhan jati dapat dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat (Fachrunniza et al., 2020; Khera & Bhargavab, 2013; Listyorini, 2012; Ramachandran, Rajasekaran, and Kumar, 2011; Vyas, Yadav, and Khandelwal, 2019). Potensi dan manfaat tumbuhan jati sebagai tumbuhan obat, disebabkan adanya kompleksitas senyawa yang terdapat di dalamnya (Bitchagno et al., 2015; Chaithra and Vatakkeel, 2020; Dégbé et al., 2018; Moukimou et al., 2014; Nayeem and Karvekar, 2011). Kompleksitas senyawa pada tumbuhan jati mempunyai aktivitas farmakologis sehingga tumbuhan jati dapat digunakan dalam pengobatan (Fachrunniza et al., 2020; Han et al., 2023; Moukimou et al., 2014).

Salah satu kandungan senyawa pada tumbuhan jati adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenolik tersebar luas pada berbagai tumbuhan, berada pada semua bagian tumbuhan sebagai campuran senyawa kompleks berbagai komponen (Dias, Pinto, and Silva, 2021; Tsimogiannis et al., 2007). Flavonoid merupakan metabolit sekunder, mempunyai aktivitas antioksidan disebabkan adanya struktur molekul dengan kandungan gugus hidroksi fenolik (Dias et al., 2021; Pinheiro and Justino, 2012; Widayasaki et al., 2019). Senyawa aromatik flavonoid dengan karakteristik struktur benzen dan hidroksil (Dias et al., 2021; Yin et al., 2020). Senyawa flavonoid dari tumbuhan dapat diperoleh dengan cara ekstraksi dengan metode yang membutuhkan pelarut dalam jumlah tinggi (Widayasaki et al., 2019; Yin et al., 2020). Senyawa flavonoid memiliki efek fisiologis dalam tubuh, sehingga senyawa flavonoid berpotensi dalam bidang kesehatan (Bondonno et al., 2019; Patel, 2008; Weaver et al., 2012; Xiao et al., 2016).

Kandungan flavonoid pada tumbuhan jati dengan keragaman potensinya sebagai tumbuhan obat mempunyai nilai manfaat pada industri obat herbal. Perolehan sumber informasi terhadap kemanfaatan tumbuhan jati dalam bidang kesehatan bagi masyarakat diperlukan upaya untuk mengembangkan tumbuhan jati sebagai tumbuhan obat. Teknis ekstraksi, pemurnian dan sintesis senyawa metabolit sekunder tumbuhan jati sangat diperlukan dalam pengembangan saintifikasi tumbuhan jati sebagai *herbal medicine*. Tujuan penelitian adalah menganalisis senyawa flavonoid pada daun jati (*Tectona grandis*) menggunakan metode *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LCMS).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Daun jati yang telah dikeringkan, diperoleh dari area hutan di Magetan, Jawa Timur Indonesia.

Preparasi Sampel

Daun jati dicuci dan dikeringkan menggunakan microwave suhu 60°C, selanjutnya dihaluskan menggunakan blender, dan diayak dengan ukuran 60 mesh. Setelah halus diambil 100 – 250 g. Selanjutnya, serbuk daun dilarutkan dalam etanol 96% dengan perbandingan 1:5 (sampel : etanol). Kemudian mengaduk larutan hingga homogen dan mendiamkan selama 24 jam pada suhu dingin dalam botol tertutup. Menyaring larutan dengan erlenmeyer vaccum filter, sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Mengambil ampasnya, dan mengulang sebanyak 3 kali perlakuan

melarutkan dengan etanol sampai dengan mengambil ampasnya. Selanjutnya menggabungkan filtrat yang telah diperoleh, kemudian melakukan evaporsasi untuk memisahkan etanol, sehingga diperoleh ekstrak semi kental dengan jumlah setengah dari larutan sebelumnya. Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk tahap selanjutnya.

Pengenceran Ekstrak

Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dengan etanol sampai konsentrasi di bawah 100 ppm, menggunakan vortex, hingga diperoleh larutan yang homogen. Selanjutnya memisahkan padatan, dengan melakukan sentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Kemudian mengambil supernatant, yang akan digunakan dalam tahap selanjutnya.

Presipitasi Protein

Mengambil 2 ml supernatant ekstrak, kemudian dimasukkan ke dalam tabung centrifuge, dan menambahkan 3 ml asetonitril yang diasamkan dengan 0,2% asam format. Sentrifugasi dilakukan pada kecepatan 8000 rpm selama 30 detik, kemudian mengambil supernatant yang diperoleh.

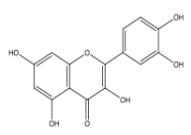
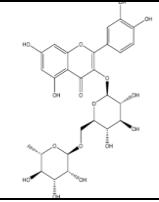
Pemurnian dengan SPE (*Solid Phase Extraction*)

Supernatant yang telah diperoleh dimasukkan pada Sep-Pak C18 Cartridge (1 ml, 100 mg) yang telah dikondisikan dengan 1 ml 80:20 (asetonitril : air). Kemudian menampung 0,5 ml larutan yang keluar, selanjutnya menambahkan 1 ml sampel ke dalam kolom Sep – Pak, kemudian menampung 0,5 ml larutan yang keluar. Kemudian menambahkan 0,5 ml larutan 80:20 asetonitril/air ke dalam kolom Sep – Pak, lalu menampung 0,5 ml larutan yang keluar. Menambahkan 0,25 ml 200 mM ammonium format dalam larutan 50:50 asetonitril/metanol ke dalam kolom Sep-Pak. Kemudian mengambil 0,5 ml larutan yang keluar dan menambahkan 0,2 ml larutan 25:75 asetonitril:buffer (25 mM ammonium format pH 4,5), selanjutnya larutan siap digunakan untuk diinjek pada LCMS. Larutan disaring dengan membran filter, cellulose acetate 0,45 µm dan dilakukan *degassing*.

HASIL PENELITIAN

Analisis flavonoid daun jati menggunakan metode LCMS, dengan spesifikasi Column Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2 mm x 150 mm, 3 µm), Injection volume 1 µl, Column temper 35 °C, *Mobile phase mode isocratic, flow rate 0,5 mL/min, desolvation gas flow 60 mL/hr, desolvation temperature 350 °C*. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Berdasarkan hasil analisis senyawa golongan flavonoid menggunakan metode LCMS daun jati, diperoleh hasil komposisi masing-masing senyawa seperti Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis LCMS senyawa golongan flavonoid daun *Tectona grandis*

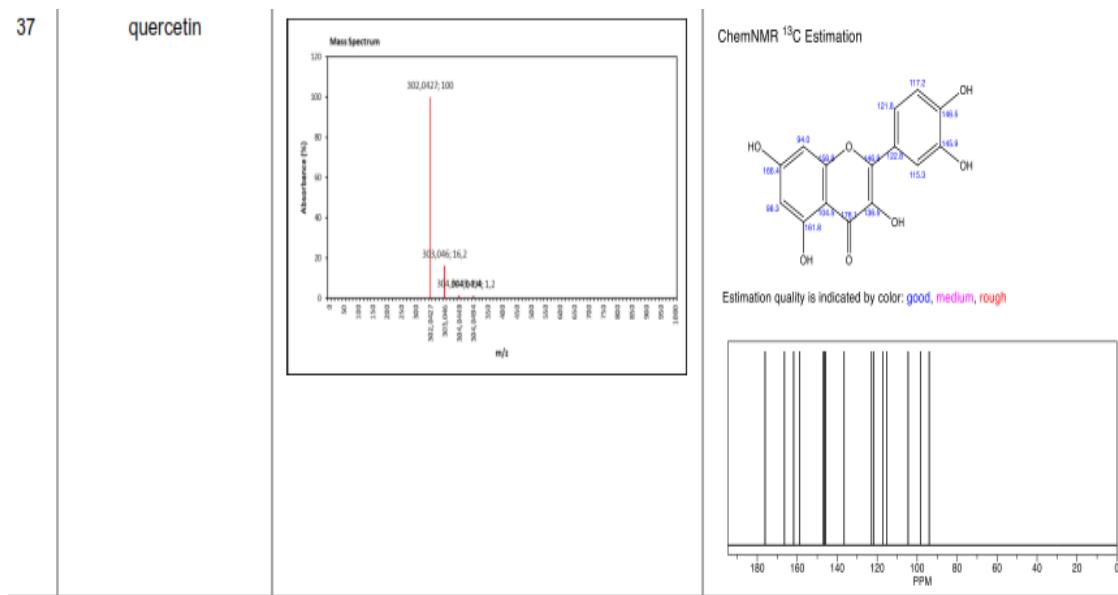
Peak number	RT (min)	Similarity index (%)	Curve area	Composition (%)	Compound Result	
					Analysis	Structure
37	11,427	92	2013,32165	1,42081	Quercetine C ₁₅ H ₁₀ O ₇ BM 302,0427 m/z 302,0427	
74	35,517	92	1863,22516	1,31488	Rutin C ₂₇ H ₃₀ O ₁₈ BM 610,5210 m/z 610,1534	

PEMBAHASAN

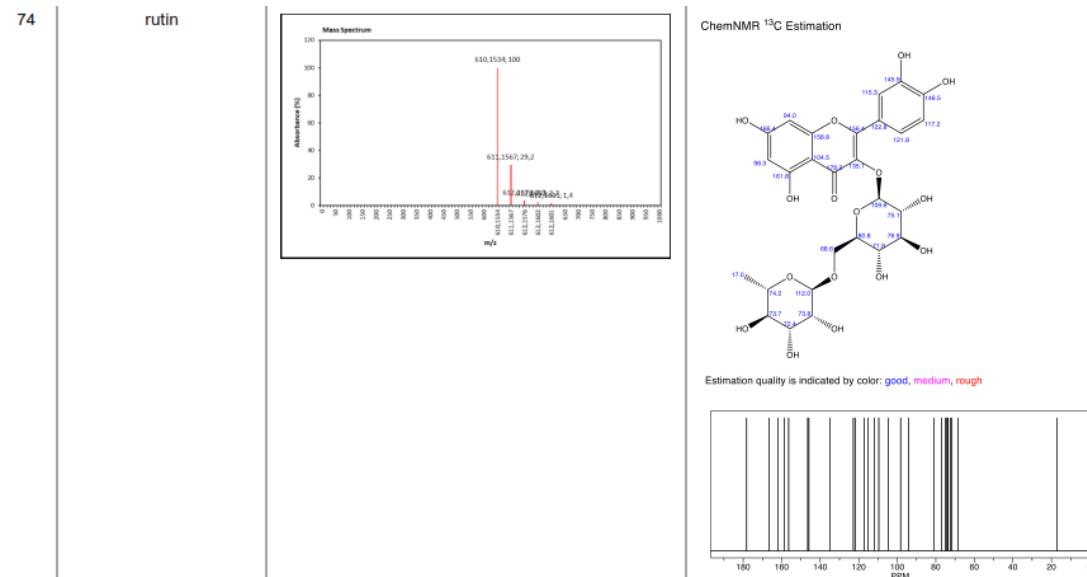
LCMS merupakan teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifikasi deteksi spektrometri massa (Kumar et al, 2016; Patel, 2011). Metode kromatografi cair bekerja dengan cara memisahkan komponen-komponen sampel dan ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa. Data-data senyawa hasil LC-MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu (Bhole et al, 2020). Senyawa-senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak). Kelebihan penggunaan metode LC-MS dapat untuk menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termolabil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, dan protein.

Berdasarkan hasil analisis senyawa golongan flavonoid menggunakan metode LCMS daun jati, terdapat senyawa-senyawa golongan flavonoid yaitu quercetine dan rutin. Flavonoid sebagai salah satu senyawa fenolik metabolit sekunder banyak ditemukan dalam jaringan tumbuhan (Jaakola & Hohtola 2010; Mutha, Tatiya, and Surana, 2021). Struktur senyawa flavonoid pada umumnya terdiri dari dua cincin aromatik, masing-masing mengandung minimal satu gugus hidroksil, yang dihubungkan melalui jembatan tiga rantai karbon dan menjadi bagian dari cincin heterosiklik (Abdi 2013; Beecher 2003; Liu et al. 2021). Senyawa-senyawa fenolik dan aglikon flavonoid bersifat semipolar yang larut dalam etanol (Mutha et al. 2021). Senyawa flavonoid berpotensi sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hydrogen atau dengan cara mengikat logam dalam bentuk glikosida (Asih, Warditiani, and Wiarsana, 2022; Haeria, Hermawati, and Pine, 2016).

Hasil analisis LCMS menunjukkan senyawa bahwa quercetine dan rutin mempunyai kadar hamper sama, masing-masing yaitu 1,42081% dan 1,31488%. Adapun formulasi senyawa *quercetine* dan rutin seperti Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. *Quercetine*, salah satu senyawa golongan flavonoid pada daun jati, ditunjukkan dengan nilai adsorbansi dan struktur kimia



Gambar 2. Rutin, salah satu senyawa golongan flavonoid pada daun jati, ditunjukkan dengan nilai adsorbansi dan struktur kimia

Senyawa *quercetine* dan rutin (Kim and Park 2018; Pinzaru et al. 2021) mempunyai nama IUPAC yaitu *2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-one*, senyawa rutin mempunyai nama IUPAC yaitu *2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxochromen-4-one*. Hasil analisis LCMS, quercetine mempunyai retention time 11,427 menit sedangkan retention time rutin 35,517 menit.

Struktur kimia quercetine adalah C₁₅H₁₀O₇ serta struktur kimia senyawa rutin adalah C₂₇H₃₀O₁₈ pada daun jati merupakan senyawa golongan flavonoid mempunyai potensi dalam mempercepat penyembuhan luka dan meningkatkan epitelisasi lapisan kulit (Amritha et al. 2016; Ichsan, 2016; Purwanti, Widiyanto, and Primiani, 2018). Senyawa golongan flavonoid pada daun jati juga berpotensi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan (Purushotham et al. 2010; Nayeem & Karvekar, 2010; Rautela, Rani, and Debnath 2019).

SIMPULAN

Fitokimia tumbuhan sangat penting untuk diketahui, sehingga dapat ditentukan potensi tumbuhan tersebut. *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LC-MS) dapat digunakan untuk menganalisis senyawa flavonoid daun jati. Hasil analisis LCMS daun jati mengandung senyawa golongan falovonoid quercetine 1,42081% dan senyawa rutin 1,31488%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi, R. (2013). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis.
- Amritha, T. S., VijiChandran, S., Rajalekshmy, G., Sujatha, S., & Pandima, D. M. (2016). In Vitro Studies on the Wound Dressing Prepared Using Collagen and Teak Leaves (Tectonagrandis). *Journal of Pharmacy Research*, 10(2): 97–105.
- Asih, D. J., Warditiani, N. K., & Wiarsana, I. G. S. (2022). Review Artikel: Aktivitas Antioksidan Ekstrak Amla (*Phyllanthusemblica* / *Emblica Officinalis*). *Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 1(6): 674.
- Beecher, G. R. (2003). Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake. *The Journal of Nutrition*, 133(10): 32.

- Bhole, R. P., Jagtap, S. R., Chadar, K. B., & Zambare, Y. B. (2020). Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Technique-A Review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(1): 505–516.
- Bitchagno, G. T. M., Fonkeng, L. S., Kopa, T. K, Tala, M. F., Wabo, H.K., Tume, T.B., Tane, P, & Kuiate, Jules-Roger. (2015). Antibacterial Activity of Ethanolic Extract and Compounds from Fruits of *Tectona Grandis* (Verbenaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15:1–6.
- Bondonno, N. P., Dalgaard, F., Kyrø, C., Murray, K., Bondonno, C.P., Lewis, J.R., Croft, K.D., Gislason, G, Scalbert, A., Cassidy, A., Tjønneland, A, Overvad, K., and Hodgson, J.M. (2019). Flavonoid Intake Is Associated with Lower Mortality in the Danish Diet Cancer and Health Cohort. *Nature Communications*, 10(1):3651.
- Chaithra, S. R., & Vatakkeel, B. (2020). A review on pharmacological uses of *tectona grandis*. Linn.
- Dégbé, M., Debierre-Grockiego, F., Tété-Bénissan, A., Débare, H., Aklikokou, K., Dimier-Poisson, I., & Gbeassor, M. (2018). Extracts of *Tectona Grandis* and *Vernonia Amygdalina* Have Anti-Toxoplasma and pro-Inflammatory Properties in Vitro. *Parasite*.
- Dias, M. C., Pinto, D.C.G.A., & Silva, A.M.S. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Flavonoids from Plants to Foods: From Green Extraction to Healthy Food Ingredient*, 26(17):5377.
- Fachrunniza, Y., Srivilai, J., Wisuitiprot, V., Wisuitiprot, W, Suphrom, N., Temkitthawon, P., Waranuch, N, & Ingkaninan, K. (2020). *Tectona Grandis*, a Potential Active Ingredient for Hair Growth Promotion. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 42(6):1352–1359.
- Haeria, H., & Pine, A.T.U.D. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus Spina-Christi* L.). 1(2):57–61.
- Han, M., Yang, F., Zhang, K., Ni, J., Zhao, X., Chen, X., Zhang, Z., Wang, H., Lu, J., & Zhang, Y. (2023). Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Diabetic Activities of *Tectona Grandis* Methanolic Extracts, Fractions, and Isolated Compounds. *Antioxidant Activity of Natural Products*, 12(3):664.
- Ichsan, R. Z. (2016). Pengaruh pemberian ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) terhadap kecepatan penyembuhan luka laserasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.
- Ikhajiagbe, B., Ogwu, M.C., & Lawrence, A.E. (2002). Single-Tree Influence of *Tectona Grandis* Linn. f. on Plant Distribution and Soil Characteristics in a Planted Forest. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1):1–13.
- Jaakola, L., & Hohtola, A. (2010). Effect of Latitude on Flavonoid Biosynthesis in Plants. *Plant, Cell & Environment*, 33(8):1239–47.
- Khera, N., and Bhargavab, S. (2013). Phytochemical And Pharmacological Evaluation Of *Tectona Grandis*.Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.
- Kim, J.K., & Park, S.U. (2018). Quercetin And Its Role In Biological Functions:An Updated Review. *EXCLI Journal*, 17(856).
- Kumar, P.R., Dinesh, S.R., & Rini, R. (2016). LCMS- A Review And A Recent Update. *World Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 5(5):377–391.
- Moukimou, L.A.O., Pascal, A.D., Annick, B., Yaya, K., Pierre, N.A.J., Felicien, A., & Dominique, S.K. (2014). Chemical Characterization And Biological Activities Of Extracts Of Three Plants Used In Traditional Medicine In Benin: *Tectona Grandis*, *Uvaria Chameae* And *Justicia Secunda*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(5):23–37.
- Listyorini, P. I. (2012). Uji Keamanan Ekstrak Kayu Jati (*Tectona Grandis* LF) Sebagai Bio-Larvasida Aedes Aegypti Terhadap Mencit. *Unnes Journal of Public Health*, 1(2).
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., & Yin, H. (2021). The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23):12824.
- Mutha, R. E., Tatiya, A.U., and Surana, S.J. (2021). Flavonoids as Natural Phenolic Compounds and Their Role in Therapeutics: An Overview. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7:1–13.

- Nayeem, N., and Karvekar, M.D. (2011). Anti Microbial and Anti-Oxidant Properties of the Isolated Compounds from the Methanolic Extract from the Leaves of Tectona Grandis. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 2(4):163.
- Nayeem, N., and Karvekar, M.D. (2010). Comparative Phytochemical And Pharmacological Screening Of The Methanolic Extracts Of The Frontal And Mature Leaves Of Tectona Grandis. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(3):1–7.
- Patel, D. (2011). Matrix effect in a view of LC-MS/MS: AN OVERVIEW. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1).
- Patel, J. M. (2008). A Review of Potential Health Benefits of Flavonoids.
- Pinheiro, P. F., & Justino, G.C. (2012). *Structural Analysis of Flavonoids and Related Compounds-a Review of Spectroscopic Applications Phytochemicals—A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*.
- Pinzaru, I., Tanase, A., Enatescu, V., Coricovac, D., Bociort, F., Marcovici, I., Watz, C., Vlaia, L., Soica, C., & Dehelean, C. (2021). Proniosomal Gel for Topical Delivery of Rutin: Preparation, Physicochemical Characterization and In Vitro Toxicological Profile Using 3D Reconstructed Human Epidermis Tissue and 2D Cells. *Antioxidants*, 10(1):85.
- Purushotham, K.G., Arun, P., Jayarani, J.J., Vasnthakumari, R., Sankar, L., and Reddy, B.R. (2010). Synergistic in Vitro Antibacterial Activity of Tectona Grandis Leaves with Tetracycline. *International Journal of PharmTech Research*, 2(1):519–523.
- Purwanti, A., Widiyanto, J., and Primiani, C.N. (2018). Uji Efektivitas Sediaan Topikal Dan Oral Daun Jati (Tectona Grandis) Terhadap Morfologi Luka Bakar Mencit Jantan. in *Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS*.
- Ramachandran, S., Rajasekaran, A, and Kumar, K.T.M. (2011). Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Potential of Methanol Extract of Tectona Grandis Flowers in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(8):624–31.
- Rautela, A., Rani, J., & Debnath, M. (2019). Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Tectona Grandis Seeds Extract: Characterization and Mechanism of Antimicrobial Action on Different Microorganisms. *Journal of Analytical Science and Technology*, 10(1):1–10.
- Tsimogiannis, D., Samiotaki, M., Panayotou, G., and Oreopoulou, V. (2007). Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules*, 12(3):593–606.
- Vyas, P., Yadav, D.K., & Khandelwal, P. (2019). Tectona Grandis (Teak) – A Review on Its Phytochemical and Therapeutic Potential. *Natural Product Research*, 33(16).
- Weaver, C. M., Alekel, D.L., Ward, W.E., and Ronis, M.J. (2012). Flavonoid Intake and Bone Health. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, 31(3):239–253.
- Widyasari, E. M., Sriyani, M.E., Daruwati, I., Halimah, I., and Nuraeni, W. (2019). Karakteristik Fisikokimia Senyawa Bertanda $^{99}\text{m}\text{Tc}$ -Kuersetin. *Jurnal Sains Dan Teknologi Nuklir Indonesia*, 20(1):9–18.
- Xiao, J., Capanoglu, E., Jassbi, A.R., and Miron, A. (2016). Advance on the Flavonoid C-Glycosides and Health Benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56.
- Yin, M., Wang, J., Huang, H., Huang, Q., Fu, Z., and Lu, Y. (2020). Analysis of Flavonoid Compounds by Terahertz Spectroscopy Combined with Chemometrics. *ACS Omega*, 5(29):18134–18141.