ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER SERTA UJI BIOAKTIVITAS DARI EKSTRAK *Salix tetrasperma* Roxb DAN *Pometia pinnata* Forst

DISERTASI

FADHILA UTARI

1530412015

PEMBIMBING 1: Dr. Mai Efdi

PEMBIMBING 2: Dr. Afrizal

PEMBIMBING 3: Dr. rer. nat. Syafrizayanti

PROGRAM STUDI S3 ILMU KIMIA

PASCASARJANA FAKULTAS MIPA

UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2020

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER SERTA UJI BIOAKTIVITAS DARI EKSTRAK *Salix tetrasperma* Roxb DAN *Pometia pinnata* Forst

FADHILA UTARI

1530412015

Disertasi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Doktor Ilmu Kimia pada Program
Studi S3 Ilmu Kimia FMIPA
Universitas Andalas

PROGRAM STUDI S3 ILMU KIMIA
PASCASARJANA FAKULTAS MIPA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2020

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Bioaktivitas dari Ekstrak *Salix tetrasperma* Roxb dan *Pometia pinnata* Forst

Oleh: FADHILA UTARI (1530412015)
(Dibawah bimbingan: Dr. Mai Efdi, Dr. Afrizal, dan Dr. rer. nat. Syafrizayanti)

Abstrak

Aktivitas antioksidan beberapa ekstrak dari bagian daun, kulit batang, dan akar *Salix tetrasperma* Roxb diuji dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan diketahui bahwa ekstrak metanol kulit batang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menginhibisi 50% radikal (IC_{50}): 6,85 ± 0,05 µg/mL. Pemisahan dan pemurnian ekstrak etil asetat dengan metode kromatografi kolom dan rekristalisasi diperoleh enam senyawa murni (**1-6**) dari kulit batang dan dua senyawa murni (**7-8**) dari daun *S. tetrasperma* Roxb. Struktur senyawa hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan spektroskopi *Infra-red* (IR), *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan *Mass Spectroscopy* (MS). Delapan senyawa hasil isolasi dari *S. tetrasperma* Roxb diidentifikasi sebagai *β*-sitosterol glukosida (senyawa **1**; 50 mg), asam 3,4-dihidroksibenzoat (senyawa **2**; 3 mg), 2-(hidroksimetil)fenol (senyawa **3**; 6 mg), 1,3-dihidroksifenol (senyawa **4**; 4 mg), 3-(hidroksimetil)fenol (senyawa **5**; 10 mg), 4-metilbenzaldehid (senyawa **6**; 3 mg), 1,2-dihidroksibenzoat (senyawa **7**; 70 mg) dan 3’,4’,5,7-tetrahidroksiflavon (senyawa **8**; 40 mg). Senyawa **2**, **4**, **5**, **6**, dan **8** baru pertama kali dilaporkan keberadaanya dari *S.tetrasperma* Roxb.

Adapun hasil pengujian aktivitas inhibisi enzim α-glukosidase dari fraksi daun *Pometia pinnata* menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas inhibisi yang paling tinggi (95,48 ± 0,2%) dibandingkan fraksi *n*-heksana dan diklorometana pada konsentrasi 100 µg/mL. Dari fraksi etil asetat tersebut diperoleh dua senyawa murni yaitu kaempferol-3-*O*-rhamnosida (senyawa **9**; 146,5 mg) dan quercetin-3-*O*-rhamnosida (senyawa **10**; 17,4 mg). Berdasarkan hasil karakterisasi *Ultra-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry* (UPLC-ESI-TOFMS) didapatkan bahwa senyawa **9** dan **10** adalah komponen utama fraksi aktif. Studi *structure-activity relationship* (SAR) dilakukan pada senyawa flavonol dan turunannya (**9-16**) untuk mengetahui pengaruh substituen terhadap aktivitas inhibisi enzim α-glukosidase. Hasil SAR menunjukkan bahwa senyawa quercetin (**16)** memiliki aktivitas inhibisi yang paling tinggi (82,93 ± 0,37%). Adanya substitusi unit gula pada posisi C-3 flavonol menurunkan aktivitas inhibisi α-glukosidase. Golongan flavonol monoglikosida (**9-12**) memiliki aktivitas inhibisi α-glukosidase yang lebih tinggi dibandingkan flavonol diglikosida (**13** dan **14**). Flavonol yang mengikat gula rhamnosida (**9** dan **10)** memiliki aktivitas inhibisi lebih tinggi dibandingkan flavonol dengan jenis gula glukosa (**11** dan **12**), dengan persentase inhibisi masing-masing sebesar 45,06 ± 0,22% (**9**), 34,83 ± 0,59% (**10**), 37,18 ± 0,62% (**11**); dan 31,26 ± 0,46% (**12**) pada konsentrasi akhir 50 µM. Dengan demikian, senyawa flavonol rhamnosida (**9** dan **10**) paling kuat dibandingkan dengan flavonol glukosida (**11** dan **12**) dan flavonol rutinosida (**13** dan **14**).

Kata kunci: Antioksidan, *Salix tetrasperma* Roxb, inhibisi α-glukosidase, *Pometia pinnata* Forst, *structure-activity relationship* dan flavonol

Isolation and Characterization of Secondary Metabolites and Bioactivity Test from *Salix tetrasperma* Roxb and *Pometia pinnata* Forst Extracts

By: FADHILA UTARI (1530412015)
(Supervised by: Dr. Mai Efdi, Dr. Afrizal, and Dr. rer. nat. Syafrizayanti)

Abstract

The antioxidant activity of several extracts from leaves, barks, and roots of *Salix tetrasperma* Roxb was tested by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method and the highest antioxidant activity was obtained from methanol extract of the bark with the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}): 6.85 ± 0.05 µg/mL. Six compounds (**1**-**6**) from the bark and two compounds (**7**-**8**) from the leaves of *S. tetrasperma* Roxb were obtained by separation and purification of ethyl acetate extract using column chromatography and recrystallization methods. The structures of isolated compounds were characterized by using Infra-red (IR), Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Mass Spectroscopy (MS). Eight isolated compounds from *S. tetrasperma* Roxb were identified as *β*-sitosterol glucoside (compound **1**; 50 mg), 3,4-dihydroxybenzoic acid (compound **2**; 3 mg), 2-(hydroxymethyl)phenol (compound **3**; 6 mg) , 1,3-dihydroxyphenol (compound **4**; 4 mg), 3-(hydroxymethyl)phenol (compound **5**; 10 mg), 4-methylbenzaldehyde (compound **6**; 3 mg), 1,2-dihydroxybenzoate (compound **7**; 70 mg) and 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone (compound **8**; 40 mg). The compounds **2**, **4**, **5**, **6**, and **8** were reported for the first time isolated from *S. tetrasperma* Roxb.

Moreover the results of the α-glucosidase inhibition activity investigation from the *Pometia pinnata* leaf fractions showed that the ethyl acetate fraction had the highest inhibitory activity (95.48 ± 0.20%) compared to the *n*-hexane and dichloromethane fractions at a concentration of 100 µg/mL. Two pure compounds were obtained from the ethyl acetate fraction, as kaempferol-3-*O*-rhamnoside (compound **9**; 146.5 mg) and quercetin-3-*O*-rhamnoside (compound **10**; 17.4 mg). The characterization result of the Ultra-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (UPLC-ESI-TOFMS) found that the compounds **9** and **10** were the major components of the active fraction. A study of structure-activity relationship (SAR) was carried out on flavonol and their derivatives (**9**-**16**) to determine the effect of substituents on the α-glucosidase inhibitory activity. The SAR results showed that quercetin (**16**) had the highest inhibitory activity (82.93 ± 0.37%). The substitution of sugar moiety in the C-3 position of flavonols decreased the α-glucosidase inhibitory activity. The flavonol monoglycoside group (**9**-**12**) had higher α-glucosidase inhibitory activity than flavonol diglycosides (**13** and **14**). The flavonol contained rhamnoside sugar (**9** and **10)** had higher α-glucosidase inhibitory activity than that glucose (**11** and **12**), with inhibitory percentage of 45.06 ± 0.22% (**9**), 34.83 ± 0.59% (**10**), 37.18 ± 0.62% (**11**); and 31.26 ± 0.46% (**12**), respectively at a final concentration of 50 µM. Thus, flavonol rhamnoside compounds (**9** and **10**) were the most powerful α-glucosidase inhibitory activity compared to flavonol glucosides (**11** and **12**) and flavonol rutinosides (**13** and **14**).

Keywords: Antioxidant, *Salix tetrasperma* Roxb, α-glucosidase inhibitory, *Pometia pinnata* Forst, *structure-activity relationship*, and flavonol