Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam
Volume 9, Nomor 1, Tahun 2000

ISSN 0853-0033

# ISOLASI STEROID DARI FRAKSI NON POLAR EKSTRAK DAUN *Aglaia. Speciosa*

## (Isolation of steroid from the nonpolar fraction of *Agla ia. speciosa's* leaves)

**Adlis Santoni, Rizal Fahmi dan Adia Putra Wirman**
Laboratorium Kimia Bahan Alam, JurusanKimia, FMIPA Unand Padang

## ABSTRACT

The constituent steroid of the n-hexane fraction of the non polar extract of *A.Speciosa's* dried leaves was fraction by gradient elution with n-hexane-EtOAc. The steroid isolated is a sterol of stigmastan's group as a colorless needless crystal (m.p : 132-134°C). Based on the $^{13}$C-NMR and $^{1}$H-NMR spectra compared to β-sitosterol spectra, the steroid is isolated was suggested as the mixtures of β-sitosterol and stigmasterol.

Key Word : *Aglaia sepciosa Leaves, β-sitosterol and stigmasterol.*

## PENDAHULUAN

Genus Aglaia (Meliaceae) tergolong jenis tumbuhan hutan tropis. Tumbuhan genus ini dilaporkan sebagai salah satu sumber senyawa insektisida alami dari golongan siklopentatetrahidrobenzofuran. Dari empat tumbuhan genus Aglaia yang ditemukan di Indonesia dan Vietnam, yaitu *A. odorata, A. harmsiana, A. elliptica* dan *A. dupperreana* dilaporkan 17 senyawa siklopentatetrahidro-benzofuran dengan aktifitas insektisida kuat dan 14 diantaranya merupakan senyawa baru (Nugroho, 1997). Beberapa senyawa tri-terpenoid aktif telah dilaporkan pula dari Aglaia.argentea, A. leucophylla dan A. ferruginea (Omobuajo, 1996, Benosman, 1994; Mulholland, 1993).

Dari hasil survey fitokimia didaerah Harau-Payakumbuh Sumatera Barat, ditemukan dua species lain dari genus Aglaia yaitu *A. speciosa* dan *A. odoratisima*. Sejauh penelusuran literatur yang dilakukan belum ditemukan laporan tentang jenis maupun bioaktifitas kandungan kimia *A. speciosa*, sementara beberapa penelitian terhadap *A. odoratisima* telah dilaporkan. Hasil uji fitokimia menunjukkan *bahwa A. speciosa* mengandung senyawa triterpenoid, steroid dan fenolik pada bagian daun, kulit batang dan kayu tumbuhan ini.

Penelitian ini merupakan salah satu bagian dari penelitian menyeluruh kandungan metabolid sekunder dalam *A.Speciosa*. Pada penelitian ini akan diisolasi steroid, salah satu konstituen dalam kadar relatif tinggi dalam daun *A.Speciosa*. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui jenis steroid dalam daun *A.Speciosa* sebagai upaya melengkapi data kandungan genus Aglaia.

Isolasi dilakukan dengan penyarian secara maserasi dengan menggunakan metanol, pemisahan komponen dengan kromatografi kolom dan pemurnian dilakukan dengan cara rekristalisasi. Sedangkan karakterisasi struktur dilakukan dengan cara fisika, kimia, spektroskopi ultraviolet, infra merah dan resonansi magnet inti.

## METODOLOGI

Mengacu pada hasil uji pendahuluan fitokimia yang telah dilakukan maka dicoba mengisolasi konstituen steroid dari daun *A. speciosa*, untuk maksud ini serbuk kering daun *A. speciosa* (1,3 kg) dimaserasi dengan metanol (4 x 3 l x 4 hari). Ekstrak metanol dikumpulkan dan dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kasar berupa massa semi solid coklat tua (120,34 g), selanjutnya ekstrak kasar yang diperoleh di fraksinasi dengan n-heksana dan dipekatkan *in vacuo* sehingga diperoleh massa semi solid hijau pekat (10,13 g).

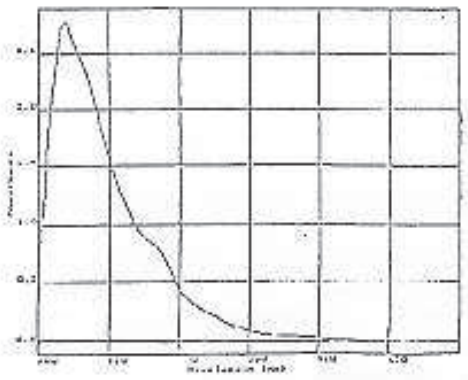
Pemisahan menggunakan kromato-grafi kolom dengan sistem elusi ber-gradien ( n-heksana - etil asetat), meng-hasilkan 14 fraksi (pita) yang dikumpulkan berdasarkan warna pita masing-masing

fraksi kolom. Dari ke 14 fraksi ini, fraksi 1 sampai 7 positif steroid, dengan fraksi 1 sampai 3 berupa minyak yang relatif sedikit. Hasil KLT fraksi 4 dan 5 memperlihatkan pemisahan noda yang sama, kemudian kedua fraksi ini digabung dan di kolom kromatografi ulang secara elusi bergradien menggunakan eluen n-heksana-etil asetat dan etil asetat-metanol, menghasilkan 7 fraksi.

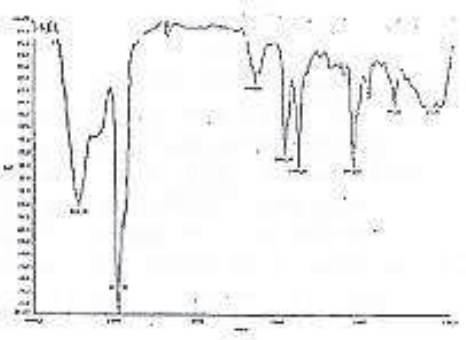
Fraksi 1 sampai 4 menunjukkan uji positif steroid dengan fraksi 1 dan 3 berupa minyak yang jumlahnya relatif sedikit, sedangkan fraksi 4 berupa larutan kuning kehijauan (± 100 ml). Penguapan pelarutan dari fraksi 4 menghasilkan kristal jarum kehijauan kemudian direkristalisasi dengan metanol-aseton dan menghasilkan kristal jarum tak berwarna dengan titik leleh 132-134 °C.

## HASIL DAN DISKUSI

Spektrum ultraviolet konstituen steroid hasil isolasi dalam metanol (Gambar 1) memperlihatkan $\lambda_{max}$ pada 219,5 nm, dengan demikian disimpulkan bahwa tidak ada ikatan rangkap berkonyugasi dalam molekul. Selanjutnya dari spektrum inframerah (gambar.2) teramati dua pita serapan penting yaitu pada 3430,39 $cm^{-1}$ (pita serapan –OH, alkohol) dan 1655,62 $cm^{-1}$ (pita serapan C=C, alkena). Baik spektrum ultraviolet maupun inframerah memberikan informasi bahwa konstituen steroid hasil isolasi tergolong suatu senyawa sterol.



Gambar 1. Spektum ultraviolet konstituen steroid hasil isolasi dalam metanol

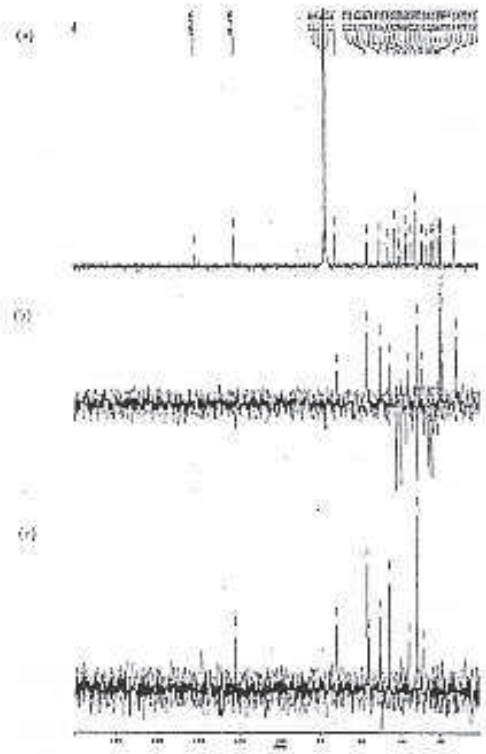


Gambar 2. Spektum inframerah konstituen steroid hasil isolasi

Spektrum "Fully decoupled" $^{13}C$-RMI (gambar 3a) menyarankan bahwa konstituen steroid hasil isolasi disusun oleh 29 atom karbon yang sesuai untuk golongan steroid stigmastan (Ahmad, 1986). Sementara dari spektrum DEPT-135 (Gambar 3b) teramati 23 sinyal atom karbon dan 10 diantaranya diperkirakan berasal dari sinyal atom karbon sekunder ($-CH_2-$) masing-masing pada pergeseran kimia (ppm) : 21,065; 23,035; 24,291; 26,015; 28,237; 31,651; 33,902; 37,229; 39,736 dan 42,284.

Selanjutnya dari spektrum DEPT-90 (Gambar 3c) teramati 9 sinyal atom karbon tersier (-CH) masing-masing pada pergeseran kimia (ppm) : 29,106; 31,873; 36,140; 45,795; 50,111; 56,013; 56,739; 71,803 dan 121,716. Jika spektrum DEPT-90 ini dirujuk kepada spektrum DEPT-135, maka hanya 7 dari seharusnya 9 sinyal karbon tersier yang teramati pada spektrum DEPT-135. Dua sinyal karbon tersebut masing-masing pada pergeseran kimia 56,013 dan 121,716 ppm pada spektrum DEPT-90 tidak teramati pada spektrum DEPT-135. Jadi seharusnya ada 25 sinyal atom karbon yang muncul pada spektrum DEPT-135 (tetapi yang teramati hanya 23 sinyal atom karbon). Disamping dua sinyal atom karbon spektrum DEPT-90 yang tidak teramati pada spektrum DEPT-135, masih ada 4 sinyal atom karbon lagi pada spektrum Fully decoupled yang juga tidak teramati pada spektrum DEPT-135, keempat sinyal atom karbon tersebut muncul pada pergeseran kimia (ppm) : 12,235; 36,486; 40,485 dan 140,739. Mengingat spektrum DEPT-135 hanya mendeteksi atom karbon primer, sekunder dan tersier, maka ada kemungkinan keempat sinyal atom karbon yang disebutkan berasal dari atom karbon kuartener. Namun sinyal atom karbon

kuartener lazimnya muncul pada pergeseran kimia diatas 25 ppm (Mayo, 1994), oleh sebab itu sinyal atom karbon pada 12,235 ppm yang teramati pada spektrum fully decoupled diduga kuat berasal dari sinyal atom karbon primer, sehingga sekarang hanya ada 3 sinyal yang diperkirakan berasal dari atom karbon kuartener. Sinyal pada 121,706 dan 140,739 ppm diduga berasal dari atom karbon olefinik C=C-H, sementara pada 71,801 ppm sesuai dengan pergesaran kimia atom $C_3$ (cincin A)



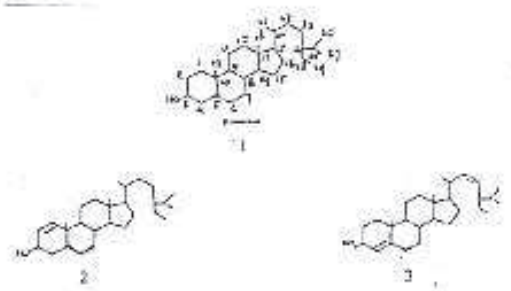
Gambar 3. (a) Spektrum "Fully decoupled" $^{13}$C-RMI konstituen steroid hasil isolasi. (b). Spektrum DEPT-135 konstituen steroid hasil isolasi (c). Spektrum DEPT- 90 konstituen steroid hasil isolasi

untuk senyawa sterol dengan golongan stigmastan ($C_{29}$) (Pouchert, 1993). Asumsi ini didukung oleh spektrum ultraviolet dan inframerah.

Secara keseluruhan dari spektrum $^{13}$C-RMI sementara diduga bahwa ke-29 atom karbon konstituen steroid hasil isolasi disusun oleh 10 atom karbon sekunder, 9 atom karbon tersier, 3 atom karbon kuartener dan sisanya atom karbon primer (Tabel 1), sesusi untuk struktur β-sitosterol (1).

Tabel 1. Pergeseran kimia $^{13}$C-RMI konstituen steroid hasil isolasi

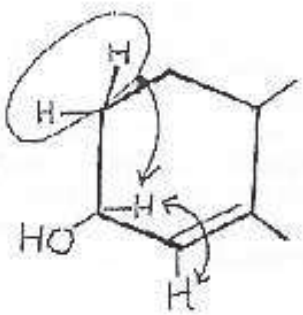
| Atom C | δ (ppm) | Atom C | δ (ppm) |
|---|---|---|---|
| 1 | 37,229 (s) | 16 | 28,237 (s) |
| 2 | 31,651 (s) | 17 | 56,013 (t) |
| 3 | 71,803 (t) | 18 | 11,839 (p) |
| 4 | 42,284 (s) | 19 | 19,380 (p) |
| 5 | 140,739 (k) | 20 | 36,140 (t) |
| 6 | 121,706 (t) | 21 | 19,011 (p) |
| 7 | 12,235 (p) | 22 | 33,922 (s) |
| 8 | 31,873 (t) | 23 | 29,106 (t) |
| 9 | 50,111 (t) | 24 | 45,795 (t) |
| 10 | 36,486 (k) | 25 | 26,015 (s) |
| 11 | 21,065 (s) | 26 | 18,761 (p) |
| 12 | 39,756 (s) | 27 | 19,805 (p) |
| 13 | 40,485 (k) | 28 | 23,041 (s) |
| 14 | 56,739 (t) | 29 | 11,960 (p) |
| 15 | 24,291 (s) | - | - |

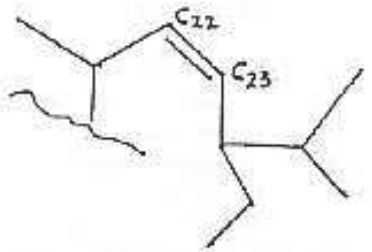


Gambar 4. Senyawa-senyawa sterol dengan golongan stigmastan

Analisis lebih rinci spektrum H-RMI konstituen steroid hasil isolasi difokuskan untuk sinyal resonansi pada 3,5 (m); 5,1 (m) dan 5,35 (d) ppm (Gambar 5.a).

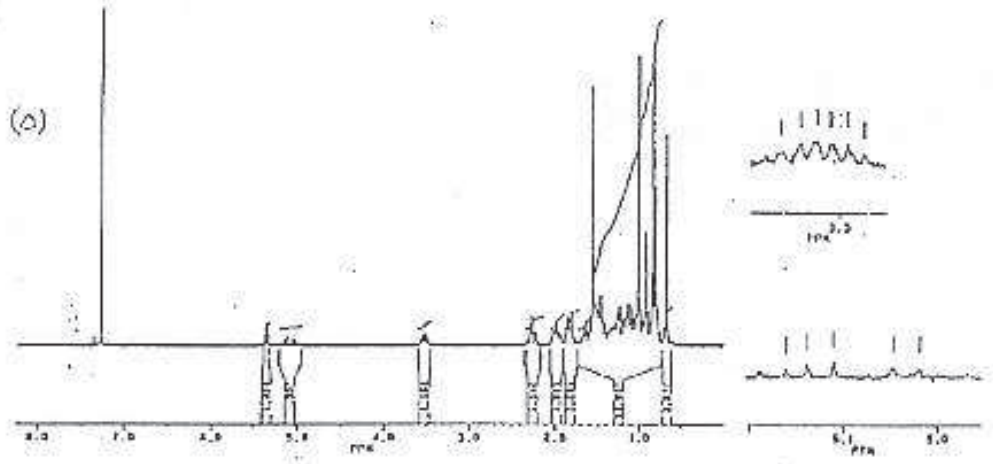
Sinyal pada 3,5 ppm (1H, dt =double of triplet) yang teramati pada spektrum ekspansi H-RMI diduga berasal dari proton C3 yang berjodohan dengan proton C2 dan C4. Diperkirakan pada 2 proton C2 dan 1 proton olefinik C4. Proton olefinik C4 sendiri teramati sebagai "doublet" pada 5,35 ppm, akibat berjodohan dengan proton C3. Pola penjodohan yang demikian menyarankan struktur cincin A sebagai :



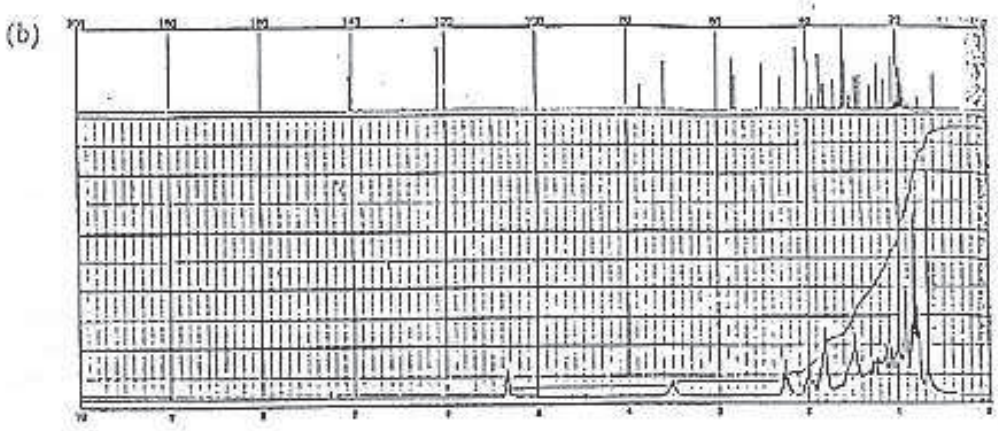




Sementara itu sinyal 5,1 ppm (2H, multiplet) diduga berasal dari proton olefinik rantai samping C22 dan C23 konstituen steroid hasil isolasi. Sinyal yang demikian, khas untuk proton olefinik rantai samping (C22 dan C23) stigmasterol (Pouchert, 1993). Sinyal carbon C22 dan C23 ini tidak teramati pada spektrum $^{13}$C-RMI konstituen steroid hasil isolasi.

Dengan demikian, berdasarkan analisis spektrum $^{1}$H-RMI, disarankan bahwa konstituen steroid hasil isolasi adalah suatu stigmasterol (2). Mengacu pada analisis spektrum $^{13}$C-RMI dan $^{1}$H-RMI, maka konstituen steroid hasil isolasi disarankan sebagai suatu campuran β-sitosterol (1) dan suatu stigmasterol (3).




Gambar 5 (a) Spektrum $^{1}$H-RMI dan ekspansi sinyal proton pada (ppm) 3,5 (m); 5,15 (m)




Gambar 5 (b). Spektrum $^{1}$H-RMI β-sitosterol (Pouchert, 1993)

## KESIMPULAN

Konstituen steroid hasil isolasi fraksi n-heksana ekstrak metan ol daun ***A.Speciosa*** berupa kristal tak berwarna (t.l 132-134°C) adalah suatu senyawa steroid golongan stigmastan ($C_{29}$). Berdasarkan spektrum $^{1}$H-RMI dan $^{13}$C-RMI struktur konstituen steroid hasil isolasi diduga merupakan campuran β-sitosterol dengan stigmasterol.


### Ucapan Terima Kasih

Disampaikan kepada Dr.Dachriyanus Apt. (University Western Australia) yang telah membantu melengkapi spektrum $^{1}$H-RMI dan $^{13}$C-RMI sehingga dapat diketahui struktur senyawa hasil isolasi.


## REFERENSI


Inada, A. *et.al*., (1995), Cycloartane Triterpens from the leaves of *Aglaia hamsiana*, J.Nat.Product. 58 (7), 1143 – 1146.

Mulhollan, D.A. *et.al*, (1993), Two Glabretal Type Triterpenoids from the heartwood of Aglaia ferugitea, Phytochemistry Oxford, 34 (2)p.

Nugroho, *et.al.* (1998) New Insecticidal Recoglamide Derivates fromTropical Aglaia spp. (Meliaccea), J.Pharm, 13,

Ohse, T.*et.al.* (1996), Cyclopentatetra-hidrobenzofuran Lignan Protein Synthesis Inhibitor from Aglaia odoratisima, J.Nat.Prod. V. 59 (7), 650-652.

Omobuwajo, O.R. *et.al* (1996) Cytotoxic Cycloartanes from Aglaia argentea, Phytochemistry oxford, 41 (5)p,

Pouchert. C.J. (1993), The Aldrich Laboratory of $^{13}$C and $^{1}$H-FTNMR Spectra, 1st ed. Aldrich Chemistry Company inc. USA.

Benosman, A. *et.al.* (1995), Triculleu Triterpens from The stembark of Aglaia leucophylla; Phitochemistry Oxford. 40 (5)p.