

ISOLASI β -AMIRIN DARI KULIT BATANG PULAI BASUNG (*Alstonia spatulata* Bl.)

Haiyul Fadhlil*, Hilwan Yuda Teruna², Christine Jose², Rudi Hendra²

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru^{1*}
Universitas Riau, Pekanbaru²

ABSTRAK

Alstonia spatulata Bl merupakan tanaman obat tradisional yang penting. Akar, batang, daun, dan buah-buahan dari genus ini telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati malaria, diare, demam, kelelahan, penyakit hati, disentri, dan diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkaraktisasi senyawa terpenoid yang terdapat pada kulit batang *A. spatulata*. Hasil pengujian fitokimia kulit batang *A. spatulata* menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder yaitu golongan terpenoid dan alkaloid. Hasil proses isolasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana diperoleh senyawa ASSB-C berbentuk kristal berwarna putih yang mempunyai titik leleh 196-198 °C. Dari hasil analisis ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, FT-IR dan data pembandingan terhadap ASSB-C diperoleh senyawa golongan triterpenoid yang bernama β -Amirin.

Kata kunci: *Alstonia spatulata* Bl, β -amirin, triterpenoid

ABSTRACT

Alstonia spatulata Bl is a traditionally important medicinal plant. Roots, stems, leaves, and fruits of this genus have been used in traditional medicine to treat malaria, diarrhea, fever, fatigue, liver disease, dysentery, and diabetes. The aim of this research was to isolation and characterization the secondary metabolites of stem bark of *A. spatulata*. The result of fitochemistry test for the stem bark of *A. spatulata* showed that it contains secondary metabolite of terpenoid and alkaloid groups. The result of isolation process yielded a white crystal of ASSB-C with *n*-hexan solution. It has melting point 196-198 °C. The analysis of ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC, HMBC, COSY, NOESY and FT-IR spectra for ASSB-C showed that it is included into triterpenoid group which is called β -Amirin.

Keywords: *Alstonia spatulata* Bl, β -amyrin, triterpenoid

PENDAHULUAN

Tumbuhan *Alstonia spatulata* Bl merupakan spesies dari famili Apocynaceae. Famili Apocynaceae terdiri dari 250 genus dan 2000 spesies. Akar, batang, daun, dan buah dari genus ini telah digunakan selama berabad-abad dalam pengobatan tradisional untuk mengobati malaria, diare, demam, kelelahan, penyakit hati, disentri, dan diabetes (Wiar, 2006). *Alstonia spatulata* merupakan salah satu spesies dari genus ini yang tersebar luas di Asia Tenggara dan kulitnya telah digunakan secara tradisional untuk mengobati malaria dan diabetes (Manjang, 1994; Ravao *et al*, 1985; Wright *et al*, 1993).

Alkaloid merupakan kandungan kimia utama dari genus *Alstonia* seperti venenantine dari kulit batang *A. venenata* (Singh *et al*, 2000), villastonine dari kulit

batang *A. macrophylla* (Chuah, 2004), 5-methoxyiaspidophyllin, picrinin, picralinal dan 5-methoxystrychamin dari kulit batang *A. scholaris* (Cai *et al*. 2008). Sebuah studi sebelumnya terhadap *A. spatulata* menunjukkan bahwa alkaloid strychnan, secoangustilobine A dan ekitamin diperoleh dari daun, batang dan kulit akar (Tan *et al*, 2010; Teruna *et al*, 2011).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kulit batang *A. spatulata* berpotensi sebagai obat antikanker (Fadhli *et al*, 2012). Sedangkan kandungan kimia dari kulit batang *A. spatulata* yang diperoleh dari Indonesia belum diteliti. Untuk alasan itu, dalam makalah ini kami melaporkan isolasi dan identifikasi struktur terpenoid dari ekstrak *n*-heksana kulit batang *A. spatulata* (Apocynaceae) yang dikumpulkan dari Propinsi Riau, Indonesia.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi, satu unit *rotary evaporator* (Heidolph 2000®), lumpang, blender, neraca analitik, *chamber*, lampu UV model UVL-56, vial, pipa kapiler, alat penentu titik leleh *Fisher John*, ultrasonicator (Kery Pulsatron®), seperangkat alat HPLC (UFLC Prominence-Shimadzu® dengan kolom ODS dan detektor UV-Vis), spektrofotometer UV-Visible (Genesys 10S®) spektroskopi NMR (Bruker Avance DRX-500 dengan medan magnet 500 MHz untuk proton dan 125 MHz untuk karbon di Southern Cross University), FTIR Shimadzu Prestige-21, plat KLT GF₂₅₄ (Merck®) dan peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium kimia.

Sebagai sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang pulau basung (*Alstonia spatulata* Bl). Bahan yang digunakan adalah *n*-heksana, metanol, aquadest, diklorometana, asam tartarat 2%, amoniak, butanol, asam asetat glasial, kloroform, logam magnesium, larutan FeCl₃, HCl 1%, H₂SO₄ 2N, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Mayer dan pereaksi Dragendorff.

Pengambilan Sampel dan Uji Fitokimia

Sampel tumbuhan diambil dari daerah Pekanbaru. Bahan yang digunakan adalah kulit batang pulau pasung (*A. spatulata* Bl). Kulit batang tumbuhan terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang melekat, kemudian dikeringkan tanpa sinar matahari langsung tetapi dengan aliran udara yang baik, setelah itu dihaluskan dan kemudian dilakukan uji fitokimia.

Determinasi Tumbuhan Pulau Basung

Identifikasi tumbuhan *A. spatulata* dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) jurusan Biologi Universitas Riau, Pekanbaru.

Pengolahan sampel

Sampel kulit batang dari tumbuhan *A. spatulata* yang telah dihaluskan direndam dengan pelarut *n*-heksana selama 24 jam, kemudian sampel diultrasonikasi selama 30 menit. Langkah ini dilakukan sampai 5 kali. Kemudian maserat diuapkan dengan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana dan ditimbang beratnya.

Residu dari maserasi *n*-heksana yang telah bebas lemak direndam dengan metanol selama 24 jam, kemudian diultrasonikasi selama 30 menit. Perendaman dengan metanol dilakukan berulang hingga maserat terakhir memberikan hasil negatif terhadap reagen uji alkaloid. Kemudian maserat diuapkan dengan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental metanol dan ditimbang beratnya.

Pengujian profil ekstrak

Tiap-tiap ekstrak kental *n*-heksana dan metanol diperiksa dengan KLT untuk menentukan jumlah komponen dalam ekstrak tersebut. Banyaknya komponen ditandai dengan banyaknya noda yang dihasilkan pada plat KLT. Selain untuk menentukan banyaknya komponen juga digunakan untuk mencari eluen dalam pola pemisahan yang bagus pada ekstrak *n*-heksana dan metanol.

Pemisahan senyawa pada ekstrak *n*-heksana

Ekstrak *n*-heksana yang diperoleh kemudian difraksinasi sebanyak 2 gram dengan pelarut metanol dan *n*-heksana, dan didiamkan selama 24 jam dilemari pendingin. Fraksinasi memberikan lapisan *n*-heksana dan metanol, yang kemudian dipisahkan. Hasil pemisahan ini diperoleh fraksi *n*-heksana, fraksi metanol dan ampas. Tiap fraksi yang diperoleh kemudian dibiarkan pelarutnya mengering dan direkristalisasi.

Karakterisasi

Elusidasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan dengan spektroskopi UV, FT-IR, dan NMR ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, COSY dan HMBC).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil pengujian fitokimia kulit batang *A. spatulata* memperlihatkan kandungan metabolit sekunder yaitu golongan steroid, terpenoid, saponin dan alkaloid.

Sebanyak 1,5 kg serbuk kering kulit batang *A. spatulata* dimaserasi dengan *n*-heksana sebanyak 2 kali pengulangan masing-masing selama 24 jam. Hal ini dilakukan untuk membebaskan lemak dan fraksi non-polar yang terdapat pada serbuk sampel. Sebelum maserat disaring terlebih dahulu dilakukan ultrasonikasi yang bertujuan untuk menambah kelarutan senyawa dalam pelarut yang digunakan. Maserat yang sudah disaring dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak total *n*-heksan berwarna kuning sebanyak 41,46 gram.

Serbuk sisa perendaman dengan *n*-heksana dikeringkan dan kemudian dilakukan perendaman kembali dengan pelarut metanol sebanyak 3 kali pengulangan masing-masing selama 24 jam. Kemudian dilakukan ultrasonikasi dan *rotary evaporator*, diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 71,09 gram yang berwarna coklat kehitaman.

Pemisahan senyawa pada ekstrak *n*-heksana

Ekstrak *n*-heksana yang diperoleh kemudian difraksinasi sebanyak 2 gram dengan pelarut metanol dan *n*-heksana, dan didiamkan selama 24 jam dilemari pendingin. Fraksinasi memberikan lapisan heksana dan metanol, yang kemudian dipisahkan. Hasil pemisahan ini diperoleh fraksi *n*-heksana, fraksi metanol dan ampas. Tiap fraksi yang diperoleh kemudian dibiarkan pelarutnya mengering dan direkristalisasi sehingga diperoleh kristal berwarna putih dari fraksi metanol

sebanyak 15 mg (ASSB-C). Kemudian senyawa ASSB-C yang diperoleh dilakukan uji KLT.

Karakterisasi senyawa ASSB-C

Hasil pemeriksaan dengan menggunakan spektroskopi ultraviolet terhadap senyawa ASSB-C dengan menggunakan pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 205 nm dan 255 nm. Spektrum inframerah untuk senyawa ASSB-C menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang (cm^{-1}) yaitu 1735, 2717, 2860, 2938 dan 3282.

Karakterisasi senyawa ASSB-C menggunakan spektroskopi NMR yakni $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ memperlihatkan pergeseran kimia proton dan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ memperlihatkan pergeseran kimia karbon. Pelarut yang digunakan untuk pengukuran spektrum NMR yaitu CDCl_3 , spektrum $^1\text{H-NMR}$ diukur pada frekuensi 500 MHz sedangkan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ diukur pada frekuensi 125 MHz menunjukkan senyawa ASSB-C mengandung 30 atom karbon.

Pembahasan

Perendaman serbuk sampel dengan menggunakan *n*-heksana dilakukan untuk menarik senyawa yang non polar yang terdapat dalam sampel. Untuk menarik alkaloid dipergunakan pelarut metanol sehingga diperoleh ekstrak metanol.

Analisis spektrum ultraviolet dari senyawa ASSB-C dalam metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 205 nm dan 255 nm. Serapan maksimum ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi.

Spektrum inframerah untuk senyawa ASSB-C menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang (cm^{-1}) yaitu 1735 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O, 2860 cm^{-1} adanya C-H alifatik, 3282 cm^{-1} adanya O-H.

Untuk menentukan jenis atom karbon primer, sekunder, dan tersier dapat dilihat dari spektrum HSQC, Berdasarkan analisa HSQC senyawa ASSB-C memiliki 8 karbon primer (-CH₃), 10 karbon sekunder (-CH₂), 5 karbon tersier (-CH), dan 7 karbon kuartener (-C). Pergeseran kimia karbon pada δ_c 121.9 ppm menunjukkan adanya ikatan C=C alkena (Tabel 1)

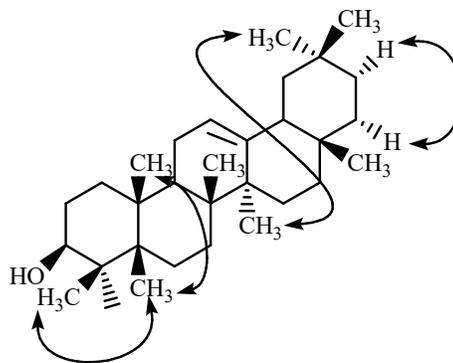
Tabel 1. Perbandingan data pergeseran kimia ¹H & ¹³C NMR ASSB-C (CDCl₃, 500 MHz) dengan ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) dan ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) senyawa β -Amirin.

Posisi	¹ H-NMR ASSB-C	¹³ C-NMR ASSB-C	¹³ C-NMR β -Amirin (Lee <i>et al.</i> , 2003)
1	1.62;1.69	38.8	38.6
2	0.85	27.5	27.2
3	4.51 (dd)	80.9	79.1
4	-	39	38.8
5	0.80 (m)	55.4	55.2
6	0.97	18.6	18.4
7	1.34;1.36	32.9	32.8
8	-	38.8	38.8
9	1.14	47.9	47.7
10	-	37.4	37
11	1.62	23.7	23.5
12	5.19 (t)	121.9	121.7
13	-	145.4	145.2
14	-	42	41.7
15	0.89	26.4	26.2
16	1.94	27.2	27
17	-	32.9	32.5
18	1.59	48.3	47.2
19	1.28 (m)	46	46.8
20	-	31.3	31.1
21	1.58 (m)	35	34.7
22	1.21 (m)	37.4	37.2
23	0.99 (s)	28.3	28.1
24	0.95 (s)	15.6	15.5
25	0.81 (s)	16.6	15.7
26	0.96 (s)	16.7	16.9
27	1.14 (s)	26.4	26
28	0.84 (s)	28.5	28.4
29	0.88 (s)	33.5	33.4
30	0.86 (s)	23.8	23.7

Hubungan antara karbon dan proton dapat dilihat dari spektrum HSQC Melalui spektrum HSQC dapat diamati senyawa ASSB-C memiliki 8 atom primer yaitu δ_c C-23 (28.3), C-24 (15.6), C-25 (16.6),

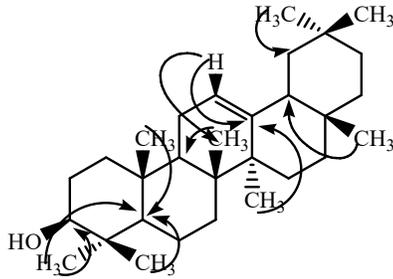
C-26 (16.7), C-27 (26.4), C-28 (28.5), C-29 (33.5), C-30 (23.8), 10 atom karbon sekunder yaitu C-1 (38.8), C-2 (27.5), C-6 (18.6), C-7 (32.9), C-11 (23.7), C-15 (26.4), C-16 (27.2), C-19 (46.0), C-21 (35.0), C-22 (16.6), 5 atom karbon tersier yaitu C-3 (80.9), C-5 (55.4), C-9 (47.9), C-12 (121.9), C-18 (48.3) dan 7 atom karbon kuartener yaitu C-4 (39.0), C-8 (38.8), C-10 (37.4), C-13 (145.4), C-14 (42.0), C-17 (32.9), C-20 (31.3).

Korelasi proton dengan proton dapat dilihat dari spektrum COSY. Berdasarkan spektrum ini dapat diamati korelasi H-5 (0.80) dengan H-23 (0.99) dan H-25 (0.81), korelasi H-21 (1.58) dengan H-22 (1.21), korelasi H-27 (1.14) dengan H-29 (0.88) dan korelasi H-12 (5.17) dengan H-11 (1.62) (Gambar 1.)



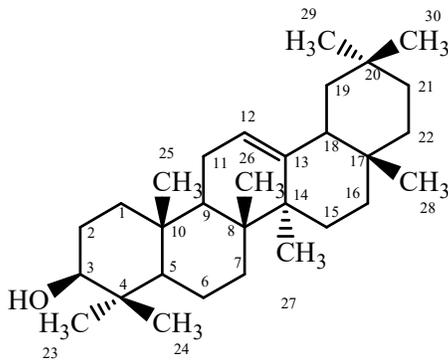
Gambar 1. Korelasi COSY senyawa ASSB-C

Spektrum HMBC memperlihatkan hubungan proton dengan atom karbon tetangga dengan jarak maksimum 3-4 ikatan. Dari spektrum ini dapat dilihat korelasi antara H-12 (5.13) dengan C-26 (16.7), korelasi antara H-23 (0.99) dengan C-5 (55.4) dan C-3 (80.9), korelasi antara H-24 (0.95) dengan C-5 (55.4), korelasi antara H-25 (0.81) dengan C-5 (55.4), korelasi antara H-26 (0.94) dengan C-9 (47.9), korelasi antara H-27 (1.14) dengan C-13 (145.4), korelasi antara H-28 (0.84) dengan C-18 (48.3), korelasi antara H-29 (0.88) dengan C-19 (46.0). (Gambar 2.)



Gambar 2. Korelasi HMBC senyawa ASSB-C

Berdasarkan data pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ (Tabel 2) serta pendekatan kemotaksonomi diperoleh senyawa ASSB-C hasil isolasi merupakan jenis triterpena pentasiklik. Senyawa ASSB-C hasil isolasi dengan rumus molekul $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ hampir sama dengan spektrum β -Amirin yang dilaporkan oleh Lee *et al.* (2003), dengan demikian data tersebut mendukung pengusulan senyawa hasil isolasi (ASSB-C) merupakan senyawa dengan nama β -Amirin (Gambar 3).



Gambar 3. Senyawa β -Amirin

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan isolasi terhadap kulit batang *A. spatulata* Bl dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak *n*-heksana menghasilkan senyawa

ASSB-C berupa kristal putih. Hasil karakterisasi dengan spektroskopi UV, FTIR dan NMR dapat dinyatakan bahwa senyawa ASSB-C adalah β -Amirin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih untuk Dr. Myrna Deseo dari Southern Cross University, Australia untuk perekaman spektrum NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Cai, X.H., Liu, Y.P., Feng, T., & Luo, X.D. (2008). Picrinine-Type Alkaloids from the Leaves of *Alstonia scholaris*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 6(1), 20-22.
- Chuah, C.H. (2004). Alstoctazine, a Novel Bisindole Alkaloid from *Alstonia macrophylla*. *Malaysian Journal of Chemistry*, 1, 001-003.
- Fadhli, H., Teruna, H.Y., Jose, C. (2012). Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Pulau Basung (*Alstonia spatulata* Bl.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Chemia Acta*, 3(1), 10-14.
- Lee, S., Kim, K. S., Shim, H. S., Park, M. Y., dan Kim, K. B. 2003. *Constituents from the Non-Polar Fraction of Artemisia apiacea*. *Arch Pharm Res*. 26.902-905.
- Manjang, Y. (1994). *Penentuan Struktur Terpenoid dalam Alstonia spatulata Blume yang diduga Berkhasiat Sebagai Anti Diabetes*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Ravao, T., Richard, B., Zeches, M., Massiot, G., & Men-Oliver, L. (1985). *Studies on The Chemistry and Pharmacology of Some Indonesian Medical Plants*. Abstract 4th Asian Symposium Medical Plants Species in Bangkok (Thailand) 15-19 September 1985.
- Singh, UP, Sarma, BK, Mishra, PK, & Ray, AB. (2000). Antifungal Activity of Venenatine, An Indole Alkaloid Isolated from *Alstonia venenata*. *Folia microbiologica*, 45(2), 173-176.
- Tan, S.J., Low, Y.Y., Choo, Y.M., Abdullah, Z., Etoh, T., Hayashi, M., Kam, T.S. (2010). Strychnan and Secoangustilobine A Type Alkaloids from *Alstonia spatulata*. Revision of The C-20 configuration of scholaricine. *Journal Natural Product*, 73(11), 1891-1897.
- Teruna, H. Y., Latip, J., Kamal, R., & Fadhli, H. (2011). *A Quaternary Alkaloid from Alstonia spatulata Bl (Apocynaceae)*. Universitas Riau, Pekanbaru.
- Wart, C. (2006). *Medicinal Plants of Asia and the Pacific*. Kuala Lumpur: CRC.
- Wright, C.W., Allen, D., Phillipson, J.D., Kirby, G.C., Warhurst, D.C., Massiot, G., & Le Men-Olivier, L. (1993). *Alstonia Species: Are They Effective in Malaria Treatment?* *Journal of ethnopharmacology*, 40(1), 41-45.