

ISOLASI SENYAWA STEROID DARI AKAR TUMBUHAN ASAM KANDIS (*Garcinia cowa* Roxb. ex DC) SEBAGAI OBAT PENURUN DEMAM (*Steroid Compounds from Root Plant of Acid (*Garcinia cowa* Roxb. ex DC) for Fever Relief*)

Darwati, Nurlelasari, & Tri Mayanti

Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran,
Jl. Raya Sumedang – Jatinangor Km 21, Bandung, Indonesia
Telp. (022)7794391, Fax. (022)7794391
E-mail: darwatititi@yahoo.co.id

ABSTRACT

Garcinia cowa is belong to the Guttiferae family. In Indonesia this plant is locally named asam kandis. Traditionally, the stem bark of *Garcinia cowa* are used as antipyretic dan antimicroba, the fruits and leaves used as expectorant, and laxative, and the roots is used for fever medicine. The variety use are *Garcinia cowa* as traditional medicine is based it chemical compounds. In our continuing phytochemical investigation to found the secondary metabolite compounds of *Garcinia* plants found in Indonesia, The objective of this research was to find the steroid compound from the roots of *Garcinia cowa*. Isolation was conducted by extraction and chromatography methods. The structure of this compound was determined based on spectroscopic data from NMR and comparison with the reported data.

Keywords: *Garcinia cowa*, isolated, NMR spectroscopy, steroid, stigmasterol

ABSTRAK

Garcinia cowa termasuk famili Guttiferae, yang dikenal di Indonesia dengan nama asam kandis. Secara tradisional kulit batang *Garcinia cowa* telah digunakan sebagai antipiretik dan antimikroba, sementara buah dan daunnya untuk memperlancar peredaran darah, ekspektoran, pencahar, serta akarnya untuk menurunkan demam. Keragaman manfaat tumbuhan *Garcinia* sebagai obat tradisional tersebut terkait dengan kandungan kimianya. Dalam rangka eksplorasi berkelanjutan untuk mencari senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan genus *Garcinia* asal Indonesia, dengan tujuan untuk memperoleh senyawa steroid dari ekstrak akar tumbuhan *Garcinia cowa*. Isolasi dilakukan dengan cara ekstraksi dan kromatografi. Penentuan struktur senyawa stigmasterol I berdasarkan data spektroskopi NMR dan dengan membandingkan data senyawa yang diperoleh dengan literatur. Berdasarkan analisa spektroskopi disimpulkan senyawa hasil isolasi adalah stigmasterol.

Kata kunci: *Garcinia cowa*, isolasi, spektroskopi NMR, steroid, stigmasterol

I. PENDAHULUAN

Garcinia adalah salah satu genus dari famili Guttiferae (manggis-manggis) yang kaya dengan senyawa fenol tipe flavonoid, santon, dan benzofenon (Minami, Hamaguchi, Kubo, & Fukuyama, 1998; Baggett et al., 2005; Lannang et al., 2005). Golongan senyawa ini diketahui memiliki aktivitas biologis yang beraneka ragam

seperti antioksidan, antimikroba, sitotoksik, dan antimalaria (Suksamrarn et al., 2003; Hay et al., 2004; Ito et al., 2001).

Tumbuhan *Garcinia cowa* Roxb. ex DC oleh masyarakat Sumatera Barat dikenal dengan nama asam kandis (Lailati, 2017). Buah dan daun tumbuhan *G. cowa* digunakan secara tradisional untuk memperlancar peredaran darah, ekspektoran, pencahar, dan akarnya untuk

menurunkan demam (Panthong, Pongcharoen, Phongpaichit, & Taylor, 2006). Selain itu buah *G. cowa* digunakan sebagai penyedap masakan atau rempah-rempah dan manisan (Lailati. M, 2017). Dari studi literatur dilaporkan spesies ini kaya dengan senyawa golongan santon terprenilasi dengan tingkat variasi struktur yang tinggi (Mahabusarakam, Chairerk, & Taylor, 2005).

Dalam rangka penelitian berkelanjutan untuk mencari senyawa metabolit sekunder dari *Garcinia* asal Indonesia, penelitian ini dilakukan untuk memperoleh senyawa steroid dari ekstrak akar tumbuhan *G. cowa*. Pada tulisan ini dilaporkan elusidasi struktur dari senyawa steroid yang telah berhasil diisolasi dari akar *G. cowa*.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan berupa akar *G. cowa* dikumpulkan dari Kebun Raya Bogor pada bulan April 2011. Spesimen tumbuhan ini diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan terdiri atas: *n*-heksana, etil asetat, metanol, silika gel Merck 60 GF₂₅₄ (230-400 mesh), silika gel Merck 60 G (70-230 Mesh), plat aluminium berlapis silika gel Merck 60 GF₂₅₄, setebal 0,25 mm, dengan dimensi plat 20 x 20 cm.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa alat gelas dan perangkat instrumentasi yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), spektrometer NMR JEOL JNM ECA-500 yang bekerja pada 500 MHz (¹H) dan 125 MHz (¹³C), spektrofotometer UV-vis.

B. Ekstraksi Akar *G. cowa*

Akar tumbuhan *G. cowa* (1 kg) dibersihkan lalu dipotong-potong tipis. Selanjutnya dikeringkan pada suhu kamar di ruangan terbuka yang tidak terkena langsung cahaya matahari sampai berat sampel konstan. Hasil pengeringan didapatkan sampel kering akar (500 g). Sampel kering tersebut selanjutnya digiling sampai kehalusan 100 mesh. Bubuk kering akar sebesar 400 g difraksinasi menggunakan pelarut dengan kepolaran meningkat (*n*-heksana, etil asetat, dan metanol) dan dilanjutkan dengan evaporasi

hingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana (5 g), etil asetat (24 g), dan ekstrak pekat metanol (8 g).

C. Pemisahan dan Pemurnian Isolat dari Ekstrak EtOAc akar *G. cowa*

Ekstrak etil asetat (EtOAc) akar *G. cowa* (24 g) dianalisis menggunakan KLT menggunakan pelarut dengan berbagai eluen untuk mencari eluen yang tepat untuk kolom vakum cair (KVC). Sampel disiapkan secara preadsorpsi, dimasukkan ke dalam kolom (adsorben silika gel) secara merata dan dielusi menggunakan eluen secara bergradien (*n*-heksana, campuran *n*-heksana - EtOAc = 9:1 - 2:8, dan EtOAc). Hasil kolom ditampung dengan botol (volume kira-kira 100 mL) dan dianalisis dengan KLT dengan penampak noda lampu UV. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi (F), dipekatkan, dan diperoleh 9 fraksi gabungan F1- F9.

Pemisahan fraksi F2 (2,0 g) selanjutnya menggunakan kromatografi kolom gravitasi (KKG) dengan adsorben silika gel, dan eluen bergradien (campuran *n*-heksana - EtOAc = 9:1 - 2:8, dan EtOAc). Hasil kolom ditampung dengan vial (volume kira-kira 10 mL) dan dimasukan KLT. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi. Dari hasil penggabungan didapatkan lima subfraksi F2.1 - F2.5. Fraksi F2.2 dimurnikan dengan teknik rekristalisasi dan didapatkan senyawa 1 (20 mg) berupa kristal putih.

D. Karakterisasi dan Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi

Terhadap senyawa murni dilakukan penentuan struktur molekul dengan metode spektroskopi ¹H- *Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti* (NMR) untuk menentukan jumlah, jenis, dan lingkungan proton, ¹³C-NMR dan *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer* (DEPT) untuk menentukan jumlah dan jenis karbon yang ada.

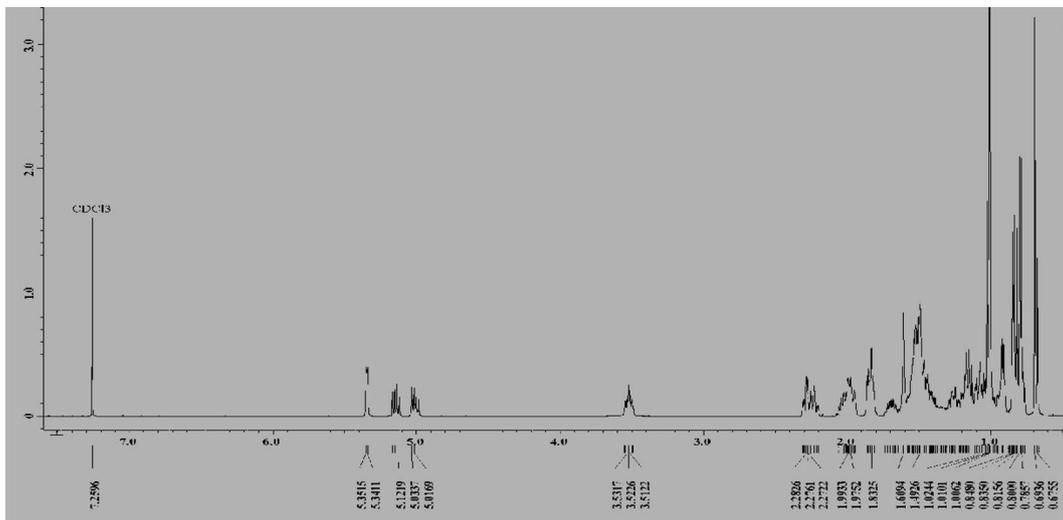
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penentuan Struktur Kimia

Penentuan struktur senyawa hasil isolasi dilakukan dengan metode spektroskopi meliputi ¹H-NMR, ¹³C-NMR, dan DEPT. Berdasarkan

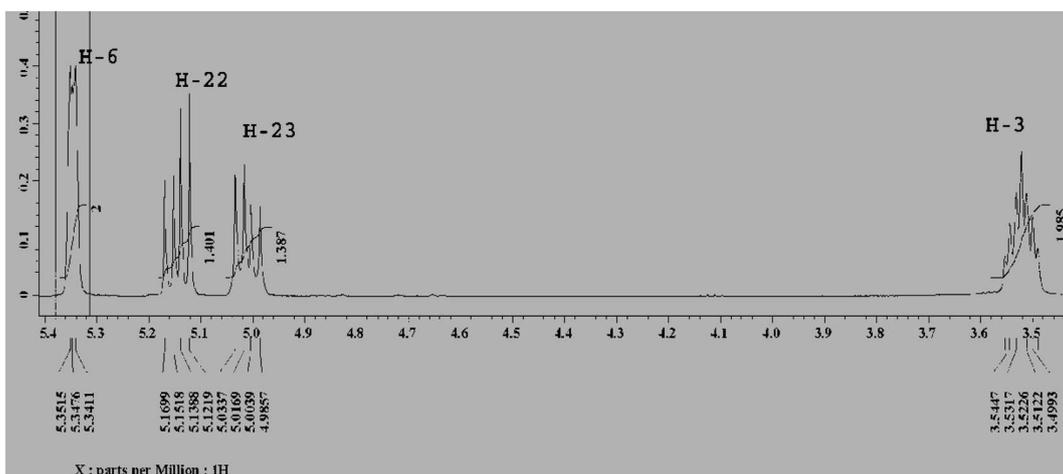
spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) senyawa 1 menunjukkan sinyal khas untuk kelompok senyawa steroid, dimana tidak adanya sinyal di atas δ_{H} 5 ppm, dan terlihat sinyal yang menumpuk pada daerah di bawah δ_{H} 2 ppm yang khas untuk steroid (Gambar 1). Selanjutnya terdapat sinyal yang khas untuk proton olefinik pada δ_{H} 5 ppm dan terdapat sinyal proton teroksigenasi pada δ_{H} 3 ppm yang lazim ditemukan pada golongan senyawa steroid.

Sinyal pada δ_{H} 5,34 (1H, d); 5,15 (1H, dd,) dan 5,01 (1H, dd) merupakan sinyal untuk proton metin olefinik yang mengindikasikan adanya dua ikatan rangkap di mana salah satu ikatan rangkapnya terikat pada C kuartener sp^3 , sehingga hanya muncul tiga sinyal proton metin. Sinyal pada δ_{H} 3,52 (1H, m) spesifik untuk proton teroksigenasi (Gambar 2). Selanjutnya terlihat sinyal dengan intensitas tinggi pada δ_{H} 0,6 – 1,1 ppm yang diduga merupakan sinyal untuk



Gambar 1. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 1 yang diperoleh dari ekstraksi akar *Garcinia cowa* Roxb. ex DC pada 500 MHz (CDCl_3)

Figure 1. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of compound extracted from *Garcinia cowa* Roxb. ex DC bark 1 at 500 MHz (CDCl_3)



Gambar 2. Penggalan spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 1 yang diperoleh dari ekstraksi akar *Garcinia cowa* Roxb. ex pada δ_{H} 3,5-5,6 ppm

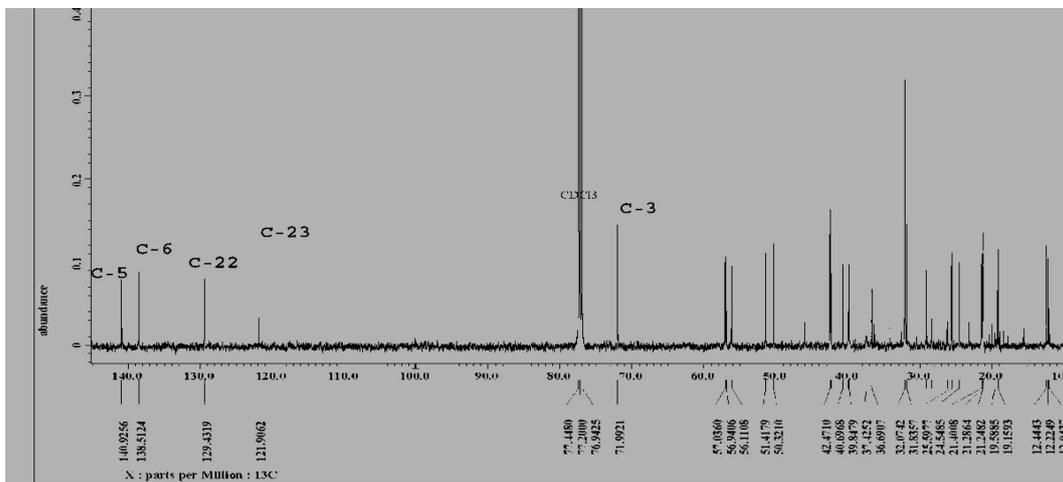
Figure 2. Fraction of the $^1\text{H-NMR}$ spectrum of compound 1 extracted from *Garcinia cowa* Roxb. ex DC bark at $3,5_{\text{H}}$ 3,5-5,6 ppm

gugus metil. Sinyal lainnya pada δ_H di bawah 2 ppm merupakan sinyal-sinyal untuk proton sikloheksana.

Hasil analisis data spektrum 1H -NMR diperkuat oleh data spektrum ^{13}C -NMR, di mana terlihat adanya 29 sinyal karbon yang terdiri atas empat sinyal untuk karbon sp^2 yang muncul pada daerah di atas δ_C 100 ppm (140,9; 121,9; 138,5; dan 129,4) yang memperkuat dugaan adanya dua buah ikatan rangkap pada senyawa yang dianalisis (Gambar 3). Selanjutnya juga

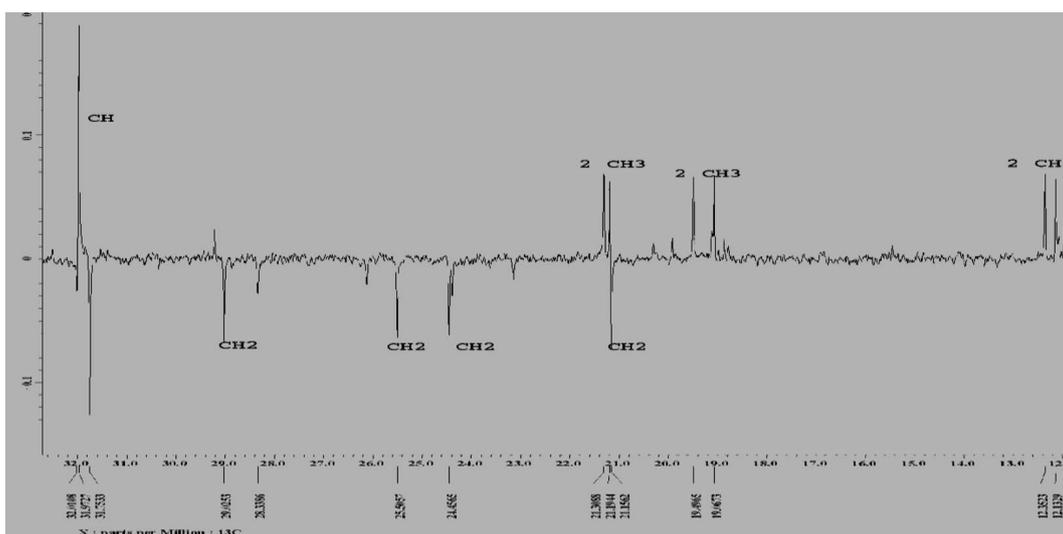
terlihat sinyal pada δ_C 72,0 ppm yang khas untuk karbon teroksidasi. Sinyal-sinyal ini khas untuk senyawa golongan steroid yang mempunyai dua ikatan rangkap dan memiliki gugus hidroksil pada C-3. Sinyal lainnya yang menumpuk pada δ_C di bawah 60 ppm merupakan sinyal untuk karbon sp^3 dalam bentuk C, CH, CH_2 dan CH_3 dari kerangka dasar steroid.

Untuk menentukan jenis atom C apakah C kuartener, C tersier (CH), C sekunder (CH_2), dan C primer (CH_3), ditunjukkan dari spektrum



Gambar 3. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 1 yang diperoleh dari ekstraksi akar *Garcinia cowa* Roxb. ex pada 125 MHz ($CDCl_3$)

Figure 3. Spectrum of ^{13}C -NMR compound 1 extracted from *Garcinia cowa* Roxb. ex DC bark at 125 MHz ($CDCl_3$)



Gambar 4. Spektrum DEPT 135 senyawa 1 yang diperoleh dari ekstraksi akar *Garcinia cowa* Roxb. ex pada 125 MHz ($CDCl_3$)

Figure 4. Spectrum of DEPT 135 compound 1 from *Garcinia cowa* Roxb. ex DC bark at 125 MHz ($CDCl_3$)

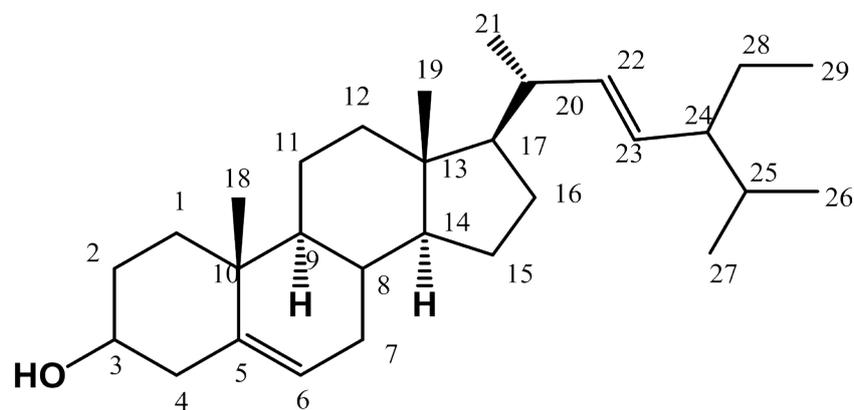
Berdasarkan analisis data spektrum DEPT ternyata senyawa hasil isolasi mempunyai enam karbon primer yang muncul pada δ_c 12,1; 12,4; 19,2; 19,5; 21,3; dan 21,4 ppm; terdapat sembilan karbon sekunder pada δ_c 21,2; 24,5; 25,4; 29,1; 31,8; 31,8; 37,4; 39,8; dan 42,5 ppm, 11 karbon tersier pada δ_c 138,5; 129,4; 121,9; 72,0; 57,0; 56,1; 51,4; 50,3; 40,7; 36,7 dan 32,1 ppm, serta tiga karbon kuartener pada δ_c 140,9; 42,3 dan 32,1 ppm (Gambar 4). Data dari spektrum $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan spektrum DEPT selanjutnya dibandingkan dengan data stigmasterol yang telah dilaporkan sebelumnya seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 terlihat data $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa hasil isolasi hampir sama dengan data $^{13}\text{C-NMR}$ stigmasterol pembanding yang diperoleh dari *Sesbania grandiflora* Linn. (Cayme, & Ragasa, 2004). Berdasarkan data titik leleh dan analisis spektrum NMR serta membandingkan dengan struktur stigmasterol yang telah dilaporkan sebelumnya, diduga senyawa hasil isolasi adalah golongan steroid, yaitu stigmasterol dengan struktur molekul seperti ditunjukkan pada Gambar 5. Senyawa Stigmasterol yang diperoleh dari bunga *Sesbania grandiflora* Linn. telah digunakan masyarakat Philipina sebagai obat radang selaput lendir di hidung dan sakit kepala.

Tabel 1. Data spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa 1 pada 125 MHz
Table 1. Data spectrum of $^{13}\text{C-NMR}$ compound 1 at 125 MHz

Posisi C	$^{\circ}\text{C}$ (ppm) Pembanding*	$^{\circ}\text{C}$ (ppm) Senyawa 1	DEPT
1	37,2	37,4	CH_2
2	31,6	31,8	CH_2
3	71,8	72,0	CH
4	42,3	42,5	CH_2
5	140,7	140,9	C
6	121,7	121,9	CH
7	31,9	31,8	CH_2
8	36,1	36,7	CH
9	50,1	50,3	CH
10	36,5	32,1	C
11	21,1	21,2	CH_2
12	39,7	39,8	CH_2
13	42,2	42,3	C
14	56,8	56,1	CH
15	24,4	24,5	CH_2
16	28,9	29,1	CH_2
17	56,0	57,0	CH
18	12,1	12,4	CH_3
19	19,4	19,5	CH_3
20	40,5	40,7	CH
21	21,1	21,4	CH_3
22	138,3	138,5	CH
23	129,2	129,4	CH
24	51,2	51,4	CH
25	31,9	32,1	CH
26	21,2	21,3	CH_3
27	19,0	19,2	CH_3
28	25,4	25,4	CH_2
29	12,3	12,1	CH_3

Keterangan (*Remarks*): * $^1\text{H-NMR}$ pada 500 MHz dan $^{13}\text{C-NMR}$ pada 125 MHz, (metanol- d_4), (Cayme, J.M.C. & Ragasa, C.Y, 2004)



Gambar 5. Struktur senyawa stigmasterol
Figure 5. Stigmasterol compound structure

IV. KESIMPULAN

Suatu senyawa metabolit sekunder yaitu kelompok steroid (20 mg) telah berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat akar *G. cowa* menggunakan teknik kromatografi kolom serta rekristalisasi. Struktur senyawa steroid ini ditentukan menggunakan spektroskopi $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, dan DEPT serta perbandingan dengan data senyawa yang telah dilaporkan sebelumnya. Berdasarkan analisis data spektroskopi disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah stigmasterol. Senyawa ini baru pertama kali dilaporkan dari spesies ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan pada kepala staf LIPI Serpong yang telah membantu pengukuran spektrum ini dan juga kepada staf Herbarium Bogoriense Bogor, Jawa Barat yang telah mengidentifikasi sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Baggett, S., Protiva, P., Mazzola, E. P., Yang, H., Ressler, E. T., Basile, M. J., Weinstein, I. B., and Kennelly, E. J. (2005). Bioactive Benzophenones from *Garcinia xanthochymus* fruits. *Journal of Natural Products*, 68, 354-360.

Hay, A. E., Aumond, M. C., Mallet, S., Dumonted, V., Litaudon, M., Rondeau, D., and Richomne P. (2004). Antioxidant Xanthenes from *Garcinia vieillardii*. *Journal of Natural Products*, 67, 707-709.

Lailati, M., (2017). Karakteristik morfologi dan anatomi daun genus *Garcinia* dataran tinggi. Dalam Abinawanto, M. Siregar & R. Partasasmita (Penyunt.), Masyarakat Biodiversitas Indonesia *Prosiding Seminar Nasional*. Masyarakat Biodiversitas Indonesia, dan Universitas Sebelas Maret Surakarta, Surakarta. (hal.407-411).

Ito, C., Itoigawa, M., Mishina Y., Tomiyasu, H., Litaudon M., Casson J. P., Mukainama, T. Tokuda H., Nishino, H., and Furukawa H. (2001). Cancer chemopreventive agents. new depsidones from *Garcinia* plants. *Journal of Natural Products*, 64, 147-150.

Lannang, A. M., Komguem, J., Ngninzeko, F. N., Tangmouo, J. G., Lontsi, D., Ajaz, A., Choudhary, M. I., Ranjit, R., Devkota, K. P., and Sondengam, B. L. (2005). Bangangxanthone A and B, two xanthone from the stem bark of *Garcinia polyantha* Oliv. *Phytochemistry*, 66, 2351-2355.

Mahabusarakam W, Chairerk P, and Taylor W.C. (2005). Xanthenes from *Garcinia cowa* Roxb. Latex. *Phytochemistry*, 66, 1148-1153.

- Cayme J.M.C & Y. Ragasa C. Y. (2004). Structure elucidation of stigmaterol and β -sitosterol from *Sesbania grandiflora* Linn.J Pers. and β -Carotene from *Heliotropium indicum* Linn. by NMR Spectroscopy, *Kimika*, 20 (112), 5-12.
- Minami, H., Hamaguchi, K., Kubo, M., and Fukuyama, Y. (1998). A Benzophenone and a Xanthone from *Garcinia subelliptica*, *Phytochemistry* 49(6), 1783-1785.
- Panthong, K, Pongcharoen, W., Phongpaichit, W., and Taylor, W.C. (2006). Tetraoxygenated Xanthenes from the fruit of *Garcinia cowa*. *Phytochemistry* 67, 999 -1043.
- Suksamrarn, S., Suwannapoch, N., Pakhode, E., Thanuhiranler, J., Ratananukul, P., Chimmoi, N., and Suksambarn, A. (2003). Antimicrobial activity of prenylated xanthenes from the fruits of *Garcinia mangostana*. *Chem.Pharm.Bull*, 51, 857-85.