

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI CAMPURAN SENYAWA  $\beta$ -SITOSTEROL DAN STIGMASTEROL DARI KULIT AKAR SLATRI (*Calophyllum soulattri* Burm. f)  
(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF  $\beta$ -SITOSTEROL AND STIGMASTEROL MIXTURE FROM ROOT BARK OF SLATRI (*Calophyllum soulattri* Burm. f))**

**Doni Eko Saputra, Nestri Handayani dan Muhammad Widyo Wartono\***

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36 A, Kentingan  
Surakarta 57126 telp. (0271) 663375.

\*email: m.widyo.wartono@gmail.com

Received 24 October 2013, Accepted 22 January 2014, Published 04 March 2014

**ABSTRAK**

Telah dilakukan isolasi dan identifikasi struktur senyawa kimia dari kulit akar *Calophyllum soulattri* Burm. f. yang berasal dari daerah Magelang. Isolasi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak etil asetat dipisahkan dan dimurnikan dengan kromatografi vakum cair dan kromatografi kolom *flash* yang dipandu dengan kromatografi lapis tipis, menghasilkan padatan berwarna putih kekuningan. Identifikasi terhadap struktur senyawa dilakukan dengan metode spektroskopi seperti UV, FTIR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT, HSQC dan HMBC serta dibandingkan dengan referensi. Berdasarkan hasil analisis data, senyawa yang diperoleh merupakan campuran antara  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol.

**Kata Kunci :** *Calophyllum soulattri* Burm. f, kulit akar,  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol

**ABSTRACT**

Chemical isolation and identification of root bark of *Calophyllum soulattri* Burm. f. have been conducted. Isolation was conducted by maceration with ethyl acetate as solvent. Ethyl acetate extract was separated and purified by vacuum liquid chromatography and flash chromatography which was guided by thin layer chromatography to obtain yellowish white solid. Isolated compounds were determined by spectroscopy methods such as UV, FTIR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT, HSQC, HMBC and were compared to the references. Based on the analysis result it's known that the compounds are the mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol.

**Key words:** *Calophyllum soulattri*, root barks,  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol

**PENDAHULUAN**

Tumbuhan genus *Calophyllum* di Indonesia banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional (Heyne, 1997). Bagian-bagian yang dimanfaatkan oleh masyarakat diantaranya kayu, getah, gelam kayu, akar dan daun untuk mengobati berbagai penyakit. Pemanfaatan tumbuhan genus *Calophyllum* ini tidak terlepas dari senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Kelompok senyawa bahan alam yang telah diisolasi dari genus

*Calophyllum* cukup beragam, dilihat dari golongan senyawa yang telah diisolasi terdiri dari senyawa turunan kumarin, santon, flavonoid, terpenoid dan steroid (Su *et al.*, 2008).

Salah satu spesies dari tumbuhan dari *Calophyllum* adalah slatri (*Calophyllum soulattri*). Tumbuhan ini dapat ditemukan diseluruh Indonesia (Heyne, 1987). Senyawa kimia yang telah diisolasi dari *C. soulattri* diantaranya yaitu friedelin dari bagian daun (Putra *et al.*, 2008). Pada kulit batang *C. soulattri* yang diambil dari daerah Sarawak, Malaysia telah diisolasi senyawa phylatrin, soulattrin, calosanton C, maklurasanton, brasisanton B, trapezifolisanton, friedelin, stigmasterol dan  $\beta$ -sitosterol (Mah *et al.*, 2011; 2012). Senyawa lain yang telah dilaporkan diantaranya yaitu senyawa soulattron A dan  $\beta$ -sitosterol dari ekstrak *n*-heksan kulit akar *C. soulattri* (Nigam *et al.*, 1988). Pada paper ini kami melaporkan isolasi campuran senyawa  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol dari ekstrak etil asetat kulit akar slatri (*C. soulattri*).

## METODE PENELITIAN

Ekstrak kering kulit akar *C. soulattri* disaring menggunakan penyaring Buchner kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* (IKA-WERKE HB4 basic) dan pengeringan ekstrak kental digunakan desikator. Isolasi dan pemurnian senyawa bahan alam dari kulit akar *C. soulattri* digunakan kolom vakum (KVC) dengan diameter 9 cm, dan kolom kromatografi *flash* berdiameter 2 cm dan 1 cm. Analisis KLT digunakan lampu UV dengan  $\lambda$  254 nm dan  $\text{CeSO}_4$  sebagai reagen penampak noda. Elusidasi struktur senyawa isolat dengan metode spektroskopi UV-Vis (spectrometer UV/Vis Lambda 25 Perkin Elmer), spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (spectrophotometer IR Prestige-21 Shimadzu) dengan metode pelet KBr. Data  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT, HSQC dan HMBC dianalisis dengan spektrofotometer Agilent VNMR 400 MHz dengan menggunakan pelarut  $\text{CDCl}_3$ .

Kulit akar *C. soulattri* diambil dari daerah Magelang, Jawa Tengah. Pelarut EtOAc, *n*-heksana, dan aseton yang digunakan adalah pelarut teknis yang diredestilasi. Pelarut  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dan  $\text{CH}_3\text{OH}$  yang digunakan adalah *grade pro* analisis dan pereaksi geser yang digunakan yaitu larutan NaOH 1M. Fasa diam pada KVC digunakan silika gel 60 PF<sub>254</sub> (*merck*), dan untuk kromatografi kolom *flash* digunakan silika gel 60 (0,04-0,063 mm) 230-400 mesh ASTM (*merck*). Plat yang digunakan untuk analisis kromatografi lapis tipis (KLT) adalah plat aluminium berlapis silika gel 60 F<sub>254</sub> 0,25 mm (*merck*). Impregnasi

sampel digunakan silika adsorb yaitu silika gel 60 (0,2-0,5 mm) (*merck*). Pereaksi penampak noda saat KLT digunakan  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  2% dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M.

### Metode isolasi

Tumbuhan *C. soulattri* dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Kulit akar *C. soulattri* dipotong tipis-tipis kemudian diangin-anginkan dan dibuat serbuk. Serbuk kulit akar *C. soulattri* sebanyak 1,88 Kg dimaserasi dengan 8 L EtOAc pada suhu kamar selama 2x24 jam. Solvent dievaporasi sampai diperoleh ekstrak kental sebanyak 54,2 g. Ekstrak EtOAc (@ 20g) selanjutnya difraksinasi menggunakan KVC (2x) menggunakan eluen *n*-heksan:EtOAc dengan perbandingan (10:0), (9,5:0,5) (2x), (9:1) (4x), (8,5:1,5) (4x), (8:2) (2x), (5:5), (0:10) masing-masing sebanyak 150 mL. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari KVC I dan KVC II dianalisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan:EtOAc (9:1). Fraksi yang memiliki pola spot dan pemisahan yang sama digabung sehingga diperoleh sebanyak 10 fraksi utama yaitu fraksi A (0,292 g), fraksi B (1,041 g), fraksi C (0,295 g), fraksi D (0,53 g), fraksi E (0,67 g), fraksi F (1,64 g), fraksi G (1,86 g), fraksi H (0,77 g), fraksi I (1,05 g) dan fraksi J (1,89 g).

Fraksi G dipilih untuk dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom *flash* (2 cm) dan dielusui menggunakan eluen *n*-heksana:aseton: (9:1; 8,5:1,5; 8:2; 7:3 dan 0:10) masing-masing dalam 150 mL. Dari hasil kromatografi kolom *flash* diperoleh sebanyak 11 fraksi utama yaitu fraksi G<sub>1</sub> (0,014 g), fraksi G<sub>2</sub> (0,006 g), fraksi G<sub>3</sub> (0,041 g), fraksi G<sub>4</sub> (0,001 g), fraksi G<sub>5</sub> (0,272 g), fraksi G<sub>6</sub> (0,190 g), fraksi G<sub>7</sub> (0,121 g), fraksi G<sub>8</sub> (0,216 g), fraksi G<sub>9</sub> (0,114 g), fraksi G<sub>10</sub> (0,340 g), dan fraksi G<sub>11</sub> (0,384 g). Fraksi G<sub>5</sub> kemudian dipilih untuk dimurnikan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom *flash* dengan diameter kolom 1 cm menggunakan eluen *n*-heksan:EtOAc dibuat dengan perbandingan (9,5:0,5) dalam 50 mL dan (9:1; 8,5:1,5; 8:2) dalam 100 mL. Diperoleh 8 fraksi utama yaitu fraksi G<sub>5a</sub> (0,005 g), G<sub>5b</sub> (0,004 g), G<sub>5c</sub> (0,005 g), G<sub>5d</sub> (0,018 g), G<sub>5e</sub> (0,128 g), G<sub>5f</sub> (0,048 g), G<sub>5g</sub> (0,033 g), dan G<sub>5h</sub> (0,024 g). Dari kedelapan fraksi, Fraksi G<sub>5e</sub> dipilih untuk dilakukan uji kemurnian karena memperlihatkan satu spot. Uji kemurnian menggunakan KLT dengan menggunakan variasi eluen yaitu *n*-heksana:EtOAc:aseton (9:0,5:0,5); *n*-heksana:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:aseton (8:1:1); *n*-heksana:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc (7:2:1); *n*-heksana:aseton (8:2) kemudian diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV, FTIR dan NMR.

Campuran senyawa  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol. Padatan berwarna putih kekuningan. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm: 210; 279. UV (MeOH + NaOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm: 215; 255;

285; 255. IR  $\nu_{\max}$  : 3432; 2959; 1624; 1459; 1381; 1057  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^{13}\text{C}$  NMR  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol dapat dilihat pada Tabel 1.  $^1\text{H}$  dan HMBC  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol dapat dilihat pada Tabel 2.

## PEMBAHASAN

Spektra UV menunjukkan adanya serapan kuat pada  $\lambda_{\max}$  210 nm dan serapan lemah pada 279 nm, hal ini menunjukkan adanya sistem alkena yang tidak terkonjugasi. Pada data ini tidak menunjukkan adanya sistem aromatik. Penambahan reagen geser NaOH tidak memberikan efek pergeseran bathokromik, sehingga senyawa yang diperoleh dimungkinkan adalah senyawa kelompok terpenoid atau suatu steroid.

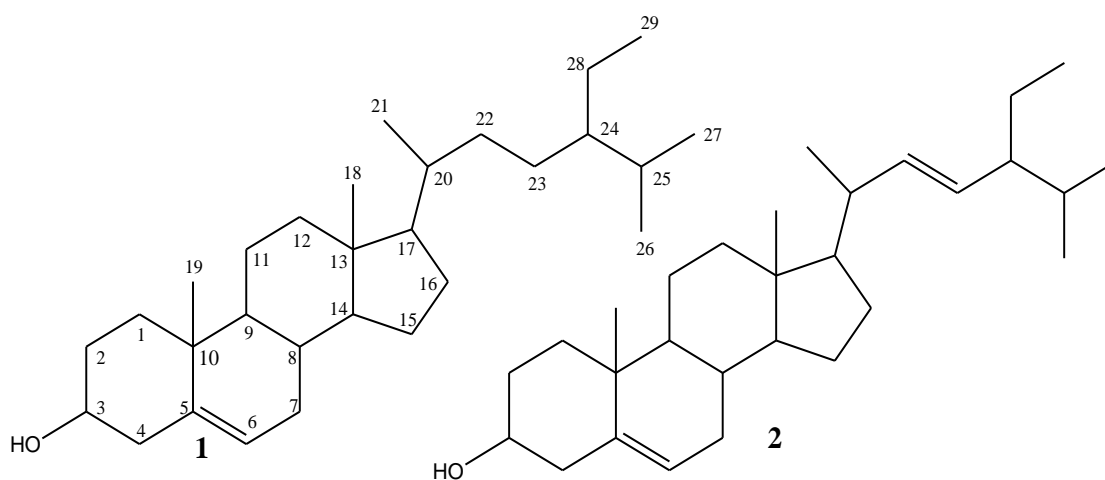
**Tabel 1.** Geseran kimia karbon senyawa  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol.

No. C	$\delta\text{C}$ (ppm) $\beta$ -sitosterol	$\delta\text{C}$ (ppm) stigmasterol
1	37,23	37,23
2	31,61	31,61
3	71,78	71,78
4	42,25	42,25
5	140,71	140,71
6	121,68	121,68
7	31,88	31,88
8	31,88	31,88
9	50,11	50,11
10	36,48	36,48
11	21,06	21,06
12	39,75	39,66
13	42,30	42,20
14	56,78	56,84
15	24,34	24,32
16	28,22	28,89
17	56,02	55,93
18	11,84	12,02
19	19,37	19,37
20	36,12	40,46
21	18,76	21,15
22	33,92	138,28
23	26,06	129,29
24	45,81	51,21
25	29,13	31,88
26	19,79	21,06
27	19,02	19,79
28	23,05	25,38
29	11,98	12,22

Spektra FTIR menunjukkan bahwa terdapat serapan gugus hidroksi (OH) pada daerah  $3432\text{ cm}^{-1}$ , pada daerah  $1624\text{ cm}^{-1}$  muncul serapan C=C alkena, sedangkan pada

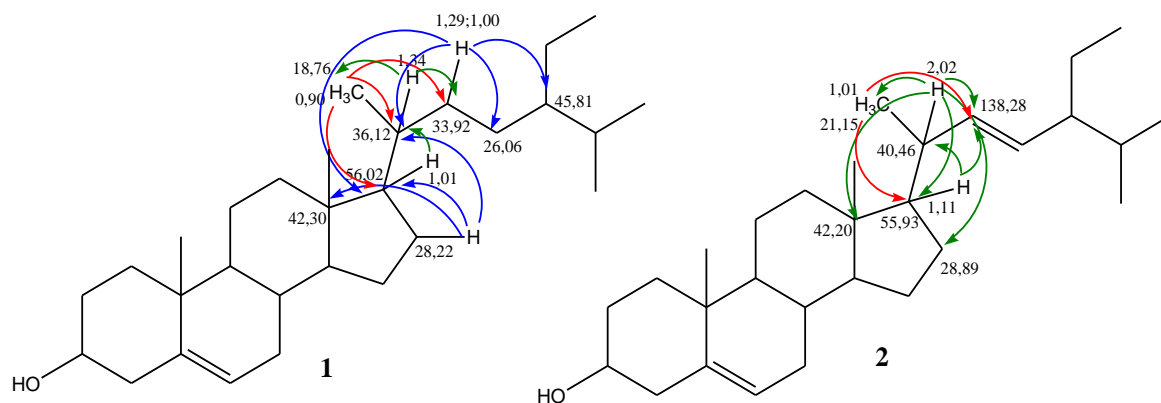
daerah  $1057\text{ cm}^{-1}$  terdapat serapan C-O dan pada daerah  $2959\text{ cm}^{-1}$  merupakan serapan gugus C-H. Data ini memperkuat data sebelumnya bahwa tidak ada gugus aromatik namun suatu gugus alkena pada senyawa hasil isolasi.

Spektra  $^{13}\text{C}$  NMR (Tabel 1) memperlihatkan adanya 58 sinyal karbon, hal ini menunjukkan adanya suatu sistem campuran senyawa yang memiliki struktur yang mirip. Ini ditunjukkan dengan intensitas dari perbandingan beberapa puncak karbon. Sinyal-sinyal karbon tersebut merupakan sinyal dari 6 karbon alkena dan 52 karbon alkana. Spektrum DEPT NMR menunjukkan terdapat 12 karbon metil, 6 karbon kuartener, 20 karbon metin dan 20 karbon metilen. Spektra  $^1\text{H}$  NMR menunjukkan terdapat kelompok proton alkana pada 0,67-3,51 ppm sedangkan untuk proton alkena pada 5,01-5,33 ppm. Pada pergeseran proton 0,67 dan 0,69 ppm terdapat puncak singlet yang berhimpitan, hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat komponen senyawa lain yang strukturnya hampir sama dengan komponen utamanya.



**Gambar 1.** Struktur senyawa (1)  $\beta$ -sitosterol dan (2) stigmasterol.

Spektrum HSQC menunjukkan hubungan proton dan karbon yang mempunyai jarak satu ikatan sehingga mengetahui jenis karbon dari senyawa tersebut diantaranya yaitu 121,68 ppm-5,33ppm; 138,28-5,13ppm; 129,29-5,01ppm; 71,78 ppm-3,51 ppm dan 56,78-1,12 ppm. Spektrum HMBC menunjukkan hubungan korelasi antara proton dengan karbon yang berjarak 2-3 ikatan (Tabel 2.) korelasi penting dari kedua senyawa ini juga ditunjukkan dalam Gambar 2. Interpretasi data NMR diperoleh campuran dua senyawa yaitu  $\beta$ -sitosterol (**1**) dan stigmasterol (**2**) (Gambar 1.)



**Gambar 2.** Korelasi penting proton dengan karbon dari data HMBC senyawa (1)  $\beta$ -sitosterol dan (2) stigmasterol.

**Tabel 2.** Geseran kimia proton  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol (2), dan korelasinya dengan karbon pada data HMBC.

No. C	$\delta$ H (ppm, <i>m</i> ) $\beta$ -sitosterol (1)	Korelasi $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC)	$\delta$ H (ppm, <i>m</i> ) stigmasterol (2)	Korelasi $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC)
1	1,02; 1,81, <i>dd</i>	C3;C5;C10	1,02; 1,81, <i>dd</i>	C3;C5;C10
2	1,47; 1,81, <i>dd</i>	C3;C4;C10	1,47; 1,81, <i>dd</i>	C3;C4;C10
3	3,51, <i>m</i>	-	3,51, <i>m</i>	-
4	2,18; 2,26, <i>dd</i>	C2;C3;C5	2,18; 2,26, <i>dd</i>	C2;C3;C5
5	-	-	-	-
6	5,33, <i>t</i>	C4;C7;C10	5,33, <i>t</i>	C4;C7;C10
7	1,93; 1,98, <i>dd</i>	C5;C6;C8;C9	1,93; 1,98, <i>dd</i>	C5;C6;C8;C9
8	1,42, <i>m</i>	C7;C9;C14	1,42, <i>m</i>	C7;C9;C14
9	0,92, <i>m</i>	C8;C10;C19	0,92, <i>m</i>	C8;C10;C19
10	-	-	-	-
11	1,49, <i>m</i>	C8;C9;C12;C13	1,49, <i>m</i>	C8;C9;C12;C13
12	1,14; 1,99, <i>dd</i>	C9;C11;C18;C13	1,14; 1,99, <i>dd</i>	C9;C11;C18;C13
13	-	-	-	-
14	1,12, <i>t</i>	C13;C16;C17;C18	1,12, <i>m</i>	C13;C16;C18
15	1,54, <i>m</i>	C8;C13;C14	1,54, <i>m</i>	C8;C14
16	1,83, <i>m</i>	C13;C17;C20	1,70, <i>m</i>	C13;C17
17	1,01, <i>m</i>	C12;C17	1,11, <i>m</i>	C16;C20;C22
18	0,67, <i>s</i>	C12;C13;C14;C17	0,69, <i>s</i>	C12;C13;C14;C17
19	0,99, <i>s</i>	C1;C5;C9;C10	0,99, <i>s</i>	C1;C5;C9;C10
20	1,34, <i>m</i>	C21;C22	2,02, <i>m</i>	C13;C16;C17;C21;C22; ;C23
21	0,79, <i>d</i>	C24;C25;C26	1,01, <i>d</i>	
22	1,00; 1,29, <i>dd</i>	C17;C20;C23;C24	5,13, <i>dd</i>	C17;C20;C21;C23;C24
23	1,14, <i>m</i>	C25	5,01, <i>dd</i>	C20;C22;C24;C25;C28
24	0,91, <i>m</i>	C22;C25;C27;C29	1,51, <i>m</i>	-
25	1,64, <i>m</i>	C24;C26;C27;28	1,42, <i>m</i>	C25
26	0,81, <i>d</i>	C24;C25;C27	0,83, <i>d</i>	-
27	0,79, <i>d</i>	C24;C25;C27	0,79, <i>d</i>	C24;C25;C27
28	1,24, <i>m</i>	C23;C24;C25;C29	1,41, <i>m</i>	C25;C29
29	0,83, <i>t</i>	C24;C28	0,79, <i>t</i>	C28

Senyawa hasil isolasi dari ekstrak etil asetat merupakan campuran senyawa  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol yang merupakan golongan steroid. Senyawa ini banyak ditemukan pada tumbuhan, kedua senyawa tersebut sebelumnya telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksan kulit batang *C. soulattri* (Mah *et al.*, 2012) dan dari ekstrak petroleum eter serbuk rhizome dari *Stylochiton lancifolius* (Pateh *et al.*, 2009).

## KESIMPULAN

Senyawa steroid yang diisolasi dari kulit akar *C. soulattri* merupakan campuran senyawa  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 3, Terjemahan Badan Litbang Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Mah, SH., Ee, GCL., Rahmani, M., Yap, YHT., Sukari, MA., and Teh, SS., 2011, A New Pyranoxanthone from *Calophyllum soulattri*, *Molecules*, vol. 16, pp. 3999-4004.
- Mah, SH., Ee, GCL., Teh, SS., Rahmani, M., Lim, YM., and Go, R., 2012, Phylatrin, a New Cytotoxic Xanthone from *Calophyllum soulattri*, *Molecules*, vol 17, pp. 8303-8311.
- Nigam, S. K., Banerji, R., Rebuffat, S., Cesario, M., Pascard, C., and Bodo, B., 1988, Soulattrone A, A C24 Terpenoid from *Calophyllum soulattri*, *Phytochemistry*, vol. 27, no. 2, pp, 527-530.
- Pateh, U. U., Haruna, AK., Garba, M., Iliya, I., Sule, IM., Abubakar, MS., and Ambi, AA., 2009, Isolation of Stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol and 2-Hydroxyhexadecanoic Acid Methyl Ester from The Rhizomes of *Stylochiton Lancifolius* Pyer and Kotchy (Araceae), *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol 8, no. 1, pp. 19-25.
- Putra, D. P., Noveliandi, and Elidahanum H. 2008, Friedelin, a Triterpenoid Pentacyclic from the Leaves of *Calophyllum soulattri* Burm. F. (Guttiferae), *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, vol. 13, no. 2, pp. 49-52.
- Su, X.H., Zhang, ML., Li, LG., Huo, CH., Gu, YC., and Shi, QW., 2008, Chemical Constituent of the Plants of the Genus *Calophyllum*, *Chemistry & Biodiversity*, vol. 5, pp. 2579-2608.