

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GLIKOSIDA STEROID
DARI DAUN ANDONG (*Cordyline terminalis* Kunth)**

N. W. Bogoriani

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi dan identifikasi glikosida steroid yang kedua dari daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth). Dari penelitian yang dilakukan diperoleh isolat murni sebanyak 4,0 mg. Isolat yang diperoleh berupa padatan amorf berwarna putih melalui beberapa tahap pemisahan secara kromatografi. Identifikasi isolat menggunakan spektrometri massa dengan "electrospray positive". Pola fragmentasinya menunjukkan bahwa senyawa isolat mempunyai berat molekul 868 dari hasil perhitungan puncak-puncak ion pada m/z 891[M + Na]⁺ dan 869[M + H]⁺. Puncak-puncak ion isolat pada m/z 727 [(M + Na) - 164]⁺, 733 [(M + H) - 146]⁺, 705 [(M + H) - 164]⁺, dan 413 [(M + H) - 456]⁺, dari penggalan fragmen-fragmennya menunjukkan bahwa molekul isolat mengikat tiga gula (dua gula terminal dan satu gula sentral) yang berasal dari bagian metilpentosa dengan berat molekul masing-masing adalah 164 yang terikat pada aglikon. Spektrum resonansi magnet proton dari isolat dalam piridin-*d*₅ menunjukkan adanya sinyal-sinyal proton yang karakteristik dari tiga gugus metil steroid (dua metil angular dan satu metil sekunder) pada δ 1,37 ppm (s), 0,85 ppm (s) dan 1,06 ppm (d, $J = 6$ Hz), sebuah gugus metil pada atom karbon nomor 25 dengan δ 0,66 ppm (d, $J = 6$ Hz), sebuah gugus etilen pada δ 5,51 ppm (br d, $J = 5,7$ Hz) dan muncul sinyal-sinyal proton yang terikat pada atom karbon nomor 26a-H dan 26b-H pada δ 4,13 dan 3,49 ppm (masing-masing br d, $J = 9,3$ Hz dan 9 Hz) serta ada tiga sinyal dari proton anomerik pada δ 6,43 ppm (br s), 5,56 ppm (br s) dan 4,57 ppm (d, $J = 7,0$ Hz). Semua data di atas memperkuat dugaan bahwa senyawa isolat merupakan senyawa glikosida steroid spirostan.

Kata kunci : isolasi, identifikasi, *Cordyline terminalis* Kunth, *Liliaceae*

ABSTRACT

Isolation and identification of two steroid glycosides have been conducted from Andong leaves (*Cordyline terminalis* Kunth). The isolate (4,0 mg white amorphous solid) was obtained after a series of chromatographic separations. Identification of the isolate using mass spectrometry with positive electrospray showed MW 868 as calculated from the ion peaks of m/z 891[M + Na]⁺, and 869[M + H]⁺. The ion peaks of isolate at m/z 727[(M + Na) - 164]⁺, 723[(M + H) - 146]⁺, 705[(M + H) - 164]⁺, and 413 [(M + H) - 456]⁺ of its fragments indicated the presence of three sugars (two terminal sugars and one central sugar) from methylpentose moiety (each of MW 164) linked to an aglycone. Proton magnetic resonance spectrum of the isolate in pyridine-*d*₅ showed characteristic proton signals for three steroid methyls (two angular methyls and one secondary methyl) at δ 1.37 (s), 0.85 (s) and 1.06 (d, $J = 6$ Hz); and one methyl group for C₂₅ at δ 0,66 ppm (d, $J = 6$ Hz); an ethylene group at δ 5.51 ppm (br d, $J = 5.7$ Hz); signals of the protons linked to C₂₆ at δ 4.13 and 3,49 ppm (each br d, $J = 9,3$ Hz and 9 Hz), and three anomeric protons at δ 6.43 ppm (br s); 5.56 ppm (br s) and 4.57 ppm (d, $J = 7.0$ Hz). From the above data it can be assumed that the isolate is a spirostan steroidal glycoside.

Keywords : isolation, identification, *Cordyline terminalis* Kunth, *Liliaceae*

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk salah satu negara yang kaya akan flora dan fauna yang merupakan sumber daya alam hayati. Oleh karena setiap spesies tumbuhan, hewan dan mikroorganisme yang terdapat di darat maupun di laut mempunyai nilai-nilai kimiawi dalam arti menghasilkan bahan-bahan kimia yang banyak jumlahnya, maka keanekaragaman hayati yang tersedia di Indonesia dapat diartikan sebagai sumber bagi beaneka ragam bahan kimia (Blunden, *et al.*, 1981).

Tumbuhan andong (*Cordyline terminalis* Kunth) merupakan salah satu tumbuhan perdu familia Liliaceae, yang secara tradisional daunnya digunakan sebagai obat diare dan disentri. Pendekatan etnobotani ini memberikan suatu asumsi bahwa pada daun andong terdapat senyawa aktif terhadap diare dan disentri, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut (Heftmann, 1974; Lajis, 1985; Mahato, *et al.*, 1982; Hostettmann and Marston, 1995; Silverstein, *et al.*, 1991).

Dari hasil penelitian sebelumnya telah dipublikasikan senyawa saponin yang pertama dari daun andong. Jenis saponin yang dikandungnya adalah saponin steroid yang merupakan senyawa mayor ditinjau dari kestabilan busa yang terbentuk (Bogoriani, 2001) dan senyawa saponin steroid spirostananol dengan berat 7,5 mg berdasarkan data kromatogram kromatografi cair kinerja tinggi dengan struktur pada atom C₂₅ dan C₂₇ merupakan suatu ikatan rangkap dua (gugus elesometilin) yang mempunyai berat molekul 866 dan golongan senyawa ini mempunyai sifat toksik terhadap Larva Udang (*Artenia salina* Lich) yang diidentifikasi berkorelasi positif terhadap senyawa antitumor (Bogoriani, *et al.*, 2007).

Saponin merupakan golongan senyawa alam yang rumit, yang mempunyai masa molekul besar, dan kegunaannya luas (Konoshima, *et al.*, 1995; Nakanishi, 1974; Agrawal, 1992; Burger, *et al.*, 1998). Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi saponin steroid yang lain dari daun andong.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan kimia yang digunakan terdiri atas berbagai jenis pelarut organik teknis dan pro analisis (p.a), larutan asam sulfat 10% dalam etanol, pereaksi Liebermann-Burchard (asam sulfat pekat + asetat anhidrida), silika gel 60 F₂₅₄ untuk kromatografi lapis tipis dan silika gel 60 (70-230 mesh) untuk kromatografi kolom gravitasi.

Peralatan

Peralatan yang digunakan terdiri atas berbagai alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik, neraca analitik, pengisap gasing hampa Buchi R-114 yang dilengkapi dengan sistem vakum Buchi B-169, dan berbagai instrumen analisis seperti spektrometri resonansi magnet proton (RMI-¹H), dan spektrometri massa.

Cara Kerja

Serbuk kering daun andong kira-kira 0,5 kg diekstraksi dengan cara maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut *n*-heksana untuk mengekstraksi lipid. Selanjutnya resedu dikeringkan pada suhu kamar sampai bebas *n*-heksana, ditimbang, kemudian dimaserasi dengan metanol dengan cara berulang-ulang sampai terekstraksi sempurna, kemudian diuapkan.

Ekstrak kental metanol yang diperoleh dipartisi antara air dan *n*-butanol, kemudian fraksi *n*-butanol diuapkan, dicuci dengan dietileter, dilarutkan dalam methanol, dan disaring. Filtrat metanol kemudian ditambahkan dietileter berlebih. Endapan yang terbentuk disaring (Heftmann, 1974). Endapan saponin selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan. Proses pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom dan kromatografi cair kinerja tinggi.

Metode penapisan saponin dan steroid mengikuti metode yang dikembangkan oleh Webb (Lajis, 1985). Setelah proses pemisahan dan pemurnian, isolat murni, selanjutnya dilakukan elusidasi struktur dengan teknik spektrometri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Sebanyak 0,5 kg serbuk kering daun Andong diekstraksi dengan teknik maserasi, berturut-turut menggunakan pelarut *n*-heksana dan metanol. Proses ekstraksi dengan dua pelarut ini dilakukan untuk memisahkan semua komponen baik polar maupun non polar dari cuplikan, sehingga mempermudah pemisahan selanjutnya. Ekstrak kental dari metanol adalah 85 g. Hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak metanol kental diperoleh bahwa daun Andong mengandung saponin dan steroid.

Fraksionasi

Ekstrak metanol kental seberat 60 g kemudian dipartisi antara air dan *n*-butanol (1:1), kemudian masing-masing fraksi dipisahkan dan dipisahkan sehingga diperoleh fraksi air, dan *n*-butanol. Masing-masing fraksi kental diperoleh *n*-butanol seberat 40,1 g dan air 16,0 g. Fraksi *n*-butanol kental lebih banyak mengandung saponin setelah uji fitokimia. Fraksi *n*-butanol kemudian dicuci dengan eter, setelah itu dilarutkan dalam methanol, disaring dan kemudian filtrat methanol ditambah eter berlebih dan endapan disaring. Endapan saponin yang diperoleh seberat 11,0 g.

Pemisahan dan Pemurnian

Fraksi *n*-butanol yang paling aktif kemudian dipisahkan dengan cara kromatografi kolom gravitasi dan kromatografi cair kinerja tinggi. Fraksi *n*-butanol total (tiga gram) dipisahkan pada kolom dengan menggunakan fasa diam silika gel 60 (70-230 mesh) dan fase gerak kloroform-metanol-air (3:1:0,1) dan penampak noda asam sulfat (10%) . Hasil kromatografi kolom gravitasi adalah 50 fraksi (tiap fraksi tiga mililiter). Setelah diperlakukan kromatografi lapis tipis dengan kloroform-metanol-air (3:1:0,1) eluat ini menghasilkan tiga kelompok fraksi .

Fraksi fraksi B telah menunjukkan satu noda melalui uji kemurnian dengan KLT menggunakan berbagai eluen. Dari hasil uji busa dan steroid menunjukkan bahwa fraksi B adalah positif saponin steroid.

Analisis fraksi B dilanjutkan dengan KCKT yaitu dengan kolom YMC ODS-AQ 5 μm 120 A° 250 x 4,6 mm, fasa gerak campuran asetonitril-air-asam asetat (50:50:0,05), menunjukkan ada lima puncak kemudian dilakukan pemisahan dan pemurnian. Keempat komponen yang dipisahkan diperoleh berat berturut-turut (4,8 mg; 1,4 mg; 4,0; 7,5 mg dan 4,8 mg). Isolat mayor (7,5 mg) berupa serbuk putih yang diteruskan untuk analisis dengan spektrometri massa (SM) dan resonansi magnet proton (RMI-¹H).

Data Spektrometri Massa (MS)

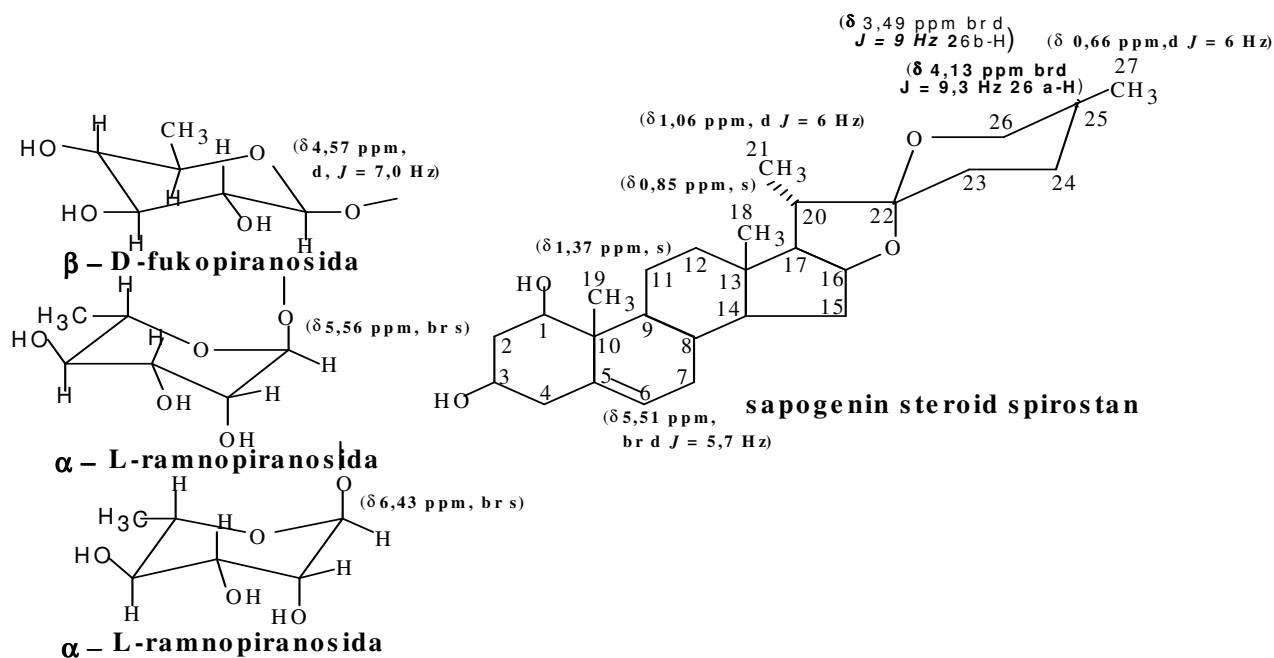
Dari perhitungan ion puncak pada m/z 891 $[M + Na]^+$ dan 869 $[M + H]^+$ pada spektrum massa terlihat bahwa isolat CT-4 mempunyai berat molekul 868. Berdasarkan data spektrum spektrometri massa dari isolat yang mempunyai harga m/z 891 $[M + Na]^+$, 869 $[M + H]^+$ dan data hasil penggalan fragmen-fragmennya pada harga m/z 727 $[(M + Na) - 164]^+$, 723 $[(M + H) - 146]^+$, 705 $[(M + H) - 164]^+$, dan 413 $[(M + H) - 456]^+$ menunjukkan bahwa molekul isolat mengikat tiga gula (kemungkinan dua gula terminal dan satu gula sentral) yang berasal dari metilpentosa dengan berat molekul masing-masing gula adalah 164 yang terikat pada aglikon.

Data Spektrometri Resonansi Magnet Proton (RMI-¹H)

Spektrum resonansi magnet proton dalam pelarut C₅D₅N (300 MHz) menunjukkan adanya sinyal-sinyal proton dari empat gugus metil steroid pada: δ 1,37 ppm (3H, s, 19-H), 1,06 ppm (3H, d, $J = 6$ Hz, 21-H) dan δ 0,85 ppm (3H, s, 18-H), dan sebuah gugus metil yang terikat pada C₂₅ dengan δ 0,66 ppm (doublet, $J = 6$ Hz), sebuah gugus etilen pada δ 5,51 ppm (1H, br d, $J = 5,7$ Hz, 6-H) dan muncul sinyal-sinyal proton yang terikat pada atom C₂₆ pada δ 4,13 dan 3,49 ppm (masing-masing 1H, brd, $J = 9,3$ Hz, dan 9Hz 26a-H dan 26b-H) serta tiga sinyal dari proton anomerik pada δ 6,43 ppm (1H, br s, 1-H), 5,56 ppm (1H, br s, 1-H) dan 4,57 ppm (1H, d, $J = 7,0$ Hz, 1-H) memperkuat dugaan bahwa senyawa isolat merupakan saponin steroid turunan spirostan dengan mengikat tiga gula (diduga dua

gula ramnosa dan satu gula fukosa) dan mempunyai tiga orientasi ikatan glikosidik (dua orientasi ikatan dua α -L-ramnopiranosida dan satu β -D-fukopiranosida yang terjadi baik secara antar glikon maupun antar glikon dan

sapogenin). Struktur dari sapogenin steroid spirostan dan tiga gula yang menyusun glikonnya (dua α -L-ramnopiranosidadan satu β -D-fukopiranosida) diusulkan seperti pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Glikosida steroid spirostan

Penelitian sebelumnya dihasilkan senyawa saponin steroid spirostananol dengan struktur senyawa saponin pada atom C₂₅ dan C₂₇ merupakan suatu ikatan rangkap dua (gugus elesometilin) yang mempunyai berat molekul 866 sedangkan saponin steroid pada penelitian ini mempunyai berat molekul 868 dan pada atom C₂₅ mengikat gugus metil yang berasal dari C₂₇.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Telah dilakukan isolasi dan identifikasi glikosida steroid spirostan dari daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) berupa padatan amorf berwarna putih.
2. Bagian gula saponin menunjukkan adanya tiga gula yang terikat pada aglikonnya. Dari pelepasan fragmen 146, 164 dan 456 berasal dari metilpentosa. Dari harga tetapan gandengan proton anomerik ketiga gula mempunyai tiga orientasi ikatan yaitu dua α -L-ramnopiranosida dan satu β -D-fukopiranosida yang terjadi baik secara antar glikon maupun antar glikon dan sapogenin.
3. Struktur dari sapogenin steroid spirostan dan tiga gula yang menyusun glikonnya

(dua α -L-ramnopiranosidadan satu β -D-fukopiranosida).

Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disarankan

1. Untuk menentukan struktur saponin steroid dari daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) secara lengkap perlu dilakukan pengukuran spektrometri resonansi magnet inti teknik mutakhir.
2. Untuk mengetahui jenis gula yang menyusun glikonnya harus dilakukan teknik hidrolisis terhadap isolat. Perlu dilakukan teknik sintesis dan "modeling" komputer untuk menetapkan struktur usulan sebagai struktur absolut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, P. K., 1992. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides, *Phytochemistry*, 3 : 3307-3330
- Blunden, G., Jaffer, J. A., Jewers, K., and Griffin, W. J., 1981, Steroidal saponins from leaves of *Cordyline* species, *J. Nat. Prod.*, 44 (4) : 441-447
- Bogoriani, N. W., 2001, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth), *Review Kimia*, 4, (3) : 92-97
- Bogoriani, N. W., Sri Rahayu Santi, dan I. A. R. Astiti Asih, 2007, Isolasi Senyawa Sitotoksik dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth), *Jurnal Kimia*, 1 (1) : 1-6
- Burger, I., Burger, B. V., Albrecht, C. F., Spies, H. S. C. and Sandor, P., 1998, Triterpenoid saponins from *Becium grandiflorum* var. *obovatum*, *Phytochemistry*, 49 : 2087-2095
- Heftmann, E., 1974, Review functions of steroids in plants, *Phytochemistry*, 14 : 891-901
- Hostettmann, K. and Marston, A., 1995, *Chemistry and Pharmacology of Natural Products : Saponins*, Cambridge University Press, Sydney
- Konoshima, T., Yasudo, T., Kashiwada, Y., Cosentino, L. M., Lee Kuo-Hsiung, 1995, Anti-aids agents, 21.¹ triterpenoid saponins as anti-HIV principles from fruits of *Gleditsia japonica* and *Gymnocladus chinensis*, and a structure-activity correlation, *J. Nat. Prod.*, 58 (9) : 1372-1377
- Lajis, N. Hj., 1985, The phytochemical survey, *Proceedings of a workshop*, Department of Chemistry, Universiti Pertanian Malaysia, Serdang Selangor, Malaysia, 138-139
- Mahato, S. B., Ganguly, A. N., and Sahu, N. P., 1982, Review: steroid saponins, *Phytochemistry*, 21 (5) : 959-978
- Nakanishi, K., 1974, *Natural Products Chemistry*, Vol. 1, Kodansha Scientific, Tokyo
- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., Morrill, T. C., 1991, *Spectroscopic Identification of Organic Compound*, John Wiley & Sons, Inc, New York
- Wahyuni, T., 1985, *Belajar Ilmu Ketabiban*, Penerbit Mekar, Surabaya