

STUDI KANDUNGAN KIMIA EKSTRAK KLOROFORM DARI BENALU DUKU
(*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans)

Muharni, Dasril basir, Julinar
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

Isolasi steroid telah dilakukan dengan mengekstraksi bubuk kering benalu duku (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) dengan kloroform. Ekstrak pekat kloroform dimurnikan dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif dengan fasa diam silika gel 60 GF 254 dan eluen etil asetat dan metanol (19 : 1) dan pengamatan noda dilakukan dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm. Hasil pengamatan menunjukkan adanya 3 pita noda dengan $R_f = 0,21$ dan $R_f = 0,34$ yang tidak membentuk kristal dan $R_f = 58$ yang memberikan kristal putih.. Analisis spektroskopi dari kristal ini memberikan dua steroid hasil isolasi ; steroid pertama memiliki waktu retensi (R_t) = 28,9 menit, berat molekul (BM) = 300, rumus molekul $C_{21}H_{32}O$, dan nilai kesetaraan ikatan rangkap (DBE) = 6. Steroid kedua memiliki $R_t = 29,5$ menit, BM = 412, rumus molekul $C_{29}H_{48}O$, dan nilai DBE = 6. Kedua jenis steroid tersebut dapat dilaporkan sebagai pregn-14-en-3-on (BM 300) dan Stigmasta-5,22-dien-3-ol (BM 412).

Kata kunci

pregn-14-en-3-on, Stigmasta-5,22-dien-3-ol

PENDAHULUAN

Benalu duku adalah tumbuhan parasit dari family Loranthaceae yang tumbuh pada pohon teh sebagai inangnya. Spesies ini memberikan uji (lieberman burchard) yang positif untuk steroid. Berdasarkan informasi dari perusahaan jamu cap lonceng *Loranthus parasiticus* (L) Merr (benalu teh) adalah contoh tumbuhan dari famili Loranthaceae yang telah digunakan secara tradisional untuk

pengobatan penyakit kanker dalam bentuk ramuan jamu.

Penelitian material organik (steroid) dari *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans merupakan usaha pengeksploasian bahan antikanker, molekul produk alam sebagai prototip terapi penyakit kanker yang nantinya dapat dipakai untuk uji preklinis lanjutan dan dikembangkan melalui pekerjaan sintesis. Lazimnya pencegahan kanker secara kimia mencakupi pemakaian obat anti inflametori nonsteroid (NSAID) seperti indomethacine, aspirin, piroxicam

dan fenil butazone adalah proses penggunaan bahan kimia untuk mencegah terjadinya siklooksigenase, reaksi yang dapat mengaktifkan bahan karsinogen yang merusak bahan genetik.

Majalah famili (1993) Menuliskan bahwa penyakit kanker dapat disembuhkan dengan meminum air hasil rebusan 17 batang alang-alang, 21 lembar daun tapak dara dan 11 lembar daun benalu yang terdapat pada pohon mangga. RCTI (1997) juga melaporkan bahwa hasil penelitian farmakologis terhadap spesies benalu di Irian Jaya memberikan uji farmakologis yang positif terhadap 10 macam penyakit kanker, antara lain kanker otak, kanker darah dan kanker payudara.

Berdasarkan hal tersebut diatas maka sipeneliti ingin mengisolasi komponen kimia yang ada pada benalu duku dalam hal ini berupa golongan steroid dalam fraksi kloroform. Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi dengan GC-MS, IR dan UV.

TINJAUAN PUSTAKA

Struktur dan aktivitas steroid

Steroid adalah senyawa kimia yang banyak sekali terdapat didalam tumbuhan dan hewan dan lazimnya senyawa steroid memiliki aktivitas biologis yang berguna ; contohnya kortison adalah hormon steroid

yang berkhasiat sebagai anti peradangan (anti-imflamatori) dan digitoksigenin yang banyak digunakan sebagai obat stimulan jantung (McMurry, 1994).

Steroid yang banyak disintesis diperusahaan farmasi adalah metandrostenolon yang terkenal dengan sifat anaboliknya dan norentindron yang memiliki efek fisiologis yang sangat keras dan lazim digunakan sebagai bahan obat kontraseptif secara oral.

Steroid memiliki kerangka dasar 3 buah cincin sikloheksana dan satu buah cincin siklopentana atau siklotetran. Perbedaan jenis atom atau gugus , konfigurasi pada cincin dan dan pertemuan antara cincin dari suatu steroid akan memberikan perbedaan dan karakteristik kimia maupun efek fisiologis dari suatu steroid terhadap kelompok steroid lain (Nakanishi, 1974).

Spektroskopi steroid

Pembentukan ion molekul (M^+) dari molekul steroid biasanya berkaitan erat dengan jenis gugus fungsional , seperti alkil, hidroksil, keton aldehid, karboksilat atau ester yang terikat pada kerangka karbon dasar steroid tersebut. Brown (1988) melaporkan bahwa spektrum yang dihasilkan akibat terlepasnya sebuah

elektron oleh penembakan suatu molekul steroid dengan berkas berenergi tinggi akan menghasilkan puncak ion molekul dan beragam puncak fragmentasi. Teknik ini sangat penting dalam menentukan berat molekul (M^+) dan menelusuri pola fragmentasi suatu molekul steroid yang dianalisis. Pemecahan gugus metil angular pada steroid sering terjadi dan pemecahan cabang tak jenuh atau cabang siklopropana lazimnya memberikan puncak dasar yang spesifik untuk steroid (m/z 271), sedangkan steroid dengan gugus fungsi karboksilat dan berhidrogen gama sering mengalami penataan ulang. Kebanyakan steroid yang mengalami penataan ulang ini memberikan puncak dasar (m/z 218 atau m/z 217). Steroid yang memiliki gugus 3-beta-hidroksi akan memberikan puncak dengan kelimpahan relatif besar akibat hilangnya satu molekul air.

Serapan Ultraviolet karakteristik untuk steroid: transisi π ke π anti bonding dari gugus kromofor $C=C$ akan memberikan serapan diatas 190 nm dan π ke π anti bonding untuk $C=O$ juga berada diatas 190 nm sedangkan transisi $n - \pi$ anti bonding bagi $C=O$ berada pada daerah 270 - 300 nm. (Mc Murray, 1994).

METODELOGI PENELITIAN

A. Ekstraksi steroid dari benalu duku.

Bubuk kering benalu duku sebanyak 1,5 kg diekstraksi dengan n-heksana (6L) secara sokletasi sampai ekstrak terakhir n-heksana tidak lagi berwarna. Fraksi n-heksana tidak dilakukan uji lanjutan dan bubuk benalu (residu) nya dikering anginkan selama 1 malam. Residu bubuk benalu diekstraksi kembali dengan kloroform (8L) secara perkolasi pada suhu kamar. Ekstrak kloroform yang diperoleh dipekatkan menjadi residu kering dan dilarutkan kembali dengan metanol (150 ml) dan dihidrolisis dengan menambahkan KOH- Metanolat 10% (250 ml). Larutan KOH-Metanolat distirer selama 2 jam dan dipindahkan kecorong pisah (1L), diekstraksi dengan dietil eter (3x 500 ml). Fraksi dietil eter dipisahkan dari lapisan KOH-metanolat. Selanjutnya lapisan KOH- metanolat diasamkan dengan HCl (pH 5-6) dan diekstraksi kembali dengan kloroform (3x 400 ml). Lapisan kloroform dipisahkan dari lapisan KOH-metanolat, dipekatkan menjadi 400 ml, dicuci dengan air (3x 300 ml), dan

dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrous dan dipekatkan menjadi 40 ml.

B. Pemisahan steroid dari fraksi kloroform

Pengambilan steroid dari fraksi kloroform dilakukan dengan teknik kromatografi lapisan tipis (KLT preparatif). Ekstrak pekat ini ditotolkan pada plat KLT preparatif berukuran 20 x 20 cm sebanyak 20 buah, fase diam silika gel 60 GF 254, dan pelarut pengelusi etil asetat dan etanol (19 : 1). Pengamatan noda dilakukan dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm. Setiap pita tersebut dikerok dan dipindahkan kedalam 3 beker gelas terpisah. Setiap beker gelas ditambahkan metanol 150 ml, distirer selama 1 jam dan disaring dengan penyaringas vakum. Metanol diuapkan dari setiap filtrat yang terkumpul. Pita merah ($R_f = 0,58$) memberikan kristal putih sebanyak 50 mg, sedangkan pita dengan $R_f = 0,34$ dan 0,21 tidak membentuk kristal (tidak dilanjutkan).

C. Karakterisasi senyawa hasil isolasi

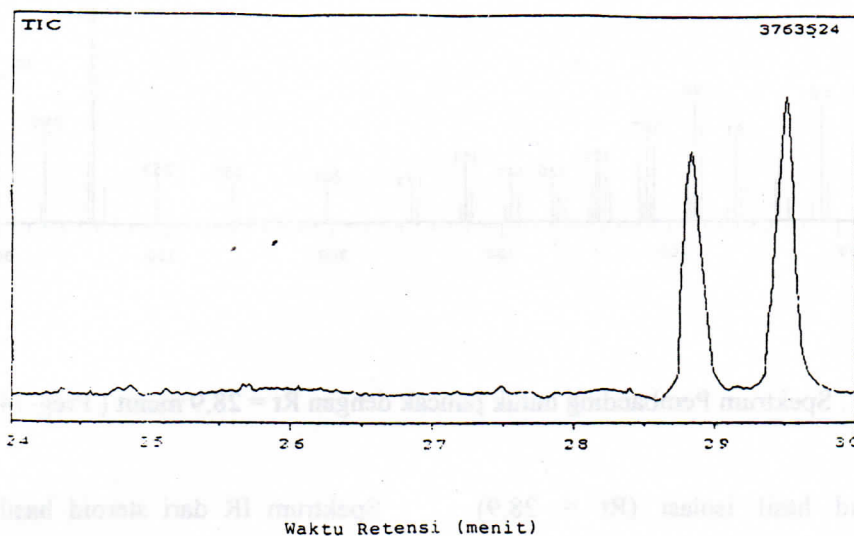
Kristal putih (50 mg) memberikan titik leleh 105 – 106°C, uji kimia positif untuk steroid, dan analisis dengan GC-MS memberikan dua puncak dengan puncak ion molekul pada m/z 300 ($R_t = 28,9$ menit) dan m/z 412 ($R_t = 29,5$ menit). Karakterisasi struktur kimia untuk steroid hasil isolasi ini juga dilakukan dengan spektrofotometer infra merah dan ultra violet.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bubuk kering benalu duku (1,5 kg) memberikan ekstrak kloroform sebanyak 1,58 gr. Residu ini memberikan noda KLT dengan harga $R_f = 0,21$ (pita merah), $R_f = 0,34$ (pita biru kehijauan) dan $R_f = 0,58$ (pita merah) dengan eluan etil asetat dan etanol (19:1). Pengamatan noda dilakukan dibawah sinar lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm. Pita merah ($R_f = 0,58$) diambil dengan pengerokan KLT preparatif dan diperoleh kristal putih (50mg) dari pelarut metanol. Kristal putih ini memberikan uji kimia yang positif untuk steroid (Liebermann Burchard) dengan nilai titik leleh 105 – 106°C. Steroid hasil isolasi memberikan dua puncak kromatogram

pada waktu retensi (R_t) =28,9 menit, dan (R_f) = 29,5 menit .

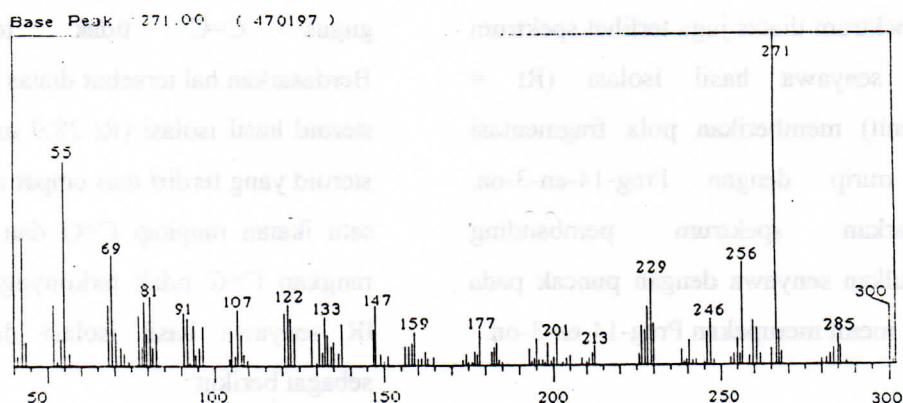
Kromatogram senyawa hasil isolasi dapat dilihat sebagai berikut:



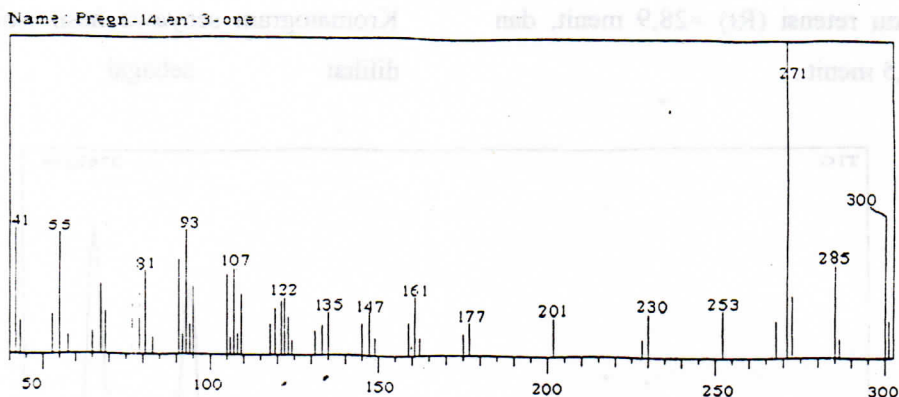
Gambar 1. Spektrum GC senyawa hasil isolasi

Selanjutnya masing-masing puncak diambil spektrum massanya dan dibandingkan dengan spektrum massa

pembanding. Spektrum massa untuk R_t 28,9 menit dan pembandingnya dapat dilihat sebagai berikut:



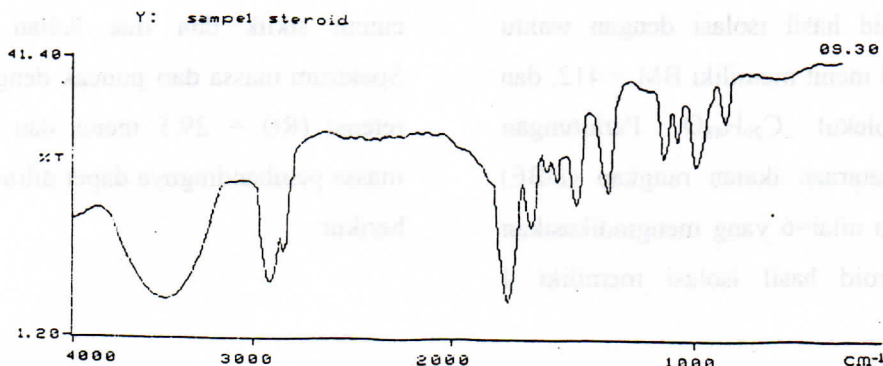
Gambar 2. Spektrum massa puncak dengan waktu retensi (R_t) = 28 9 menit



Gambar 3 . Spektrum Pembanding untuk puncak dengan Rt = 28,9 menit (Preg-14-en-3-on)

Steroid hasil isolasi ($R_t = 28,9$) memiliki rumus molekul $C_{21}H_{32}O$ dengan berat molekul = 300. Perhitungan derajat kesetaraan ikatan rangkap (DBE) memberikan nilai = 6. Ini menunjukkan steroid hasil isolasi ($R_t = 28,9$) terdiri dari empat cincin siklik dan dua ikatan rangkap. Pada spektrum diatas juga terlihat spektrum massa senyawa hasil isolasi ($R_t = 28,9$ menit) memberikan pola fragmentasi yang mirip dengan Preg-14-en-3-on. Berdasarkan spektrum perbandingan disimpulkan senyawa dengan puncak pada R_t 28,9 menit merupakan Preg-14-en-3-on.

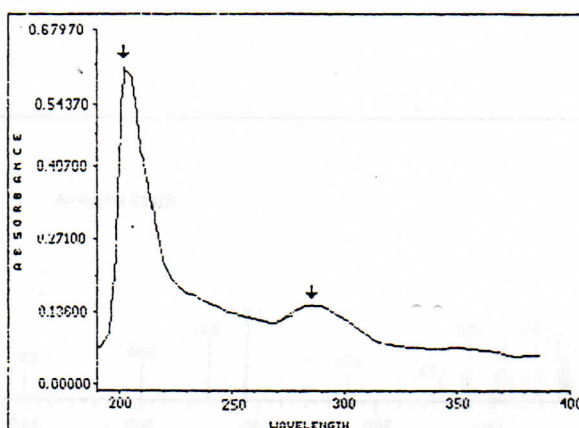
Spektrum IR dari steroid hasil isolasi ini menunjukkan adanya gugus C=O keton ($1725,5\text{ cm}^{-1}$). Karbonil keton alfa-beta tak jenuh menyerap pada daerah $1686-1665\text{ cm}^{-1}$ (Fleming, 1973). Adanya pita absorpsi pada $1651,7\text{ cm}^{-1}$ untuk steroid hasil isolasi ini menunjukkan adanya satu gugus C=C tidak terkonyugasi. Berdasarkan hal tersebut diatas disimpulkan steroid hasil isolasi (R_t 28,9 menit) adalah steroid yang terdiri dari empat cincin siklik, satu ikatan rangkap C=O dan satu ikatan rangkap C=C tidak terkonyugasi. Spektu IR senyawa hasil isolasi dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 4. Spektrum IR senyawa hasil isolasi

Adanya ikatan rangkap C=C tidak terkonyugasi pada steroid ($R_t = 28,9$ menit) didukung oleh data UV (201 nm) yang berasal dari transisi π ke π anti bonding. Ikatan C=C (olefinik tidak tertkonyugasi) dilaporkan memiliki serapan UV pada 200

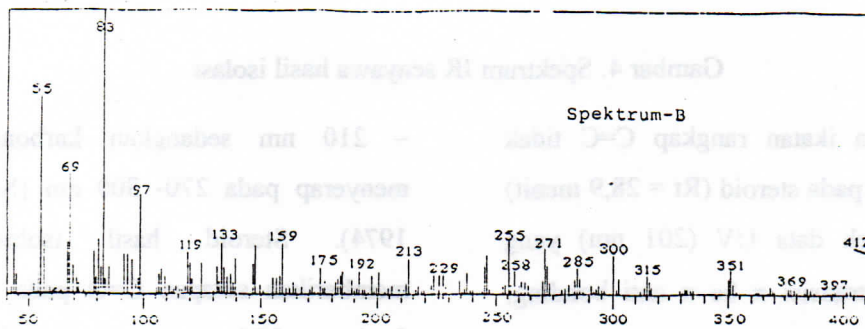
- 210 nm sedangkan karbonil keton menyerap pada 270- 300 nm (Nakanishi, 1974). Steroid hasil isolasi juga memberikan serapan C=O pada 284 nm. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dapat dilihat sebagai berikut:



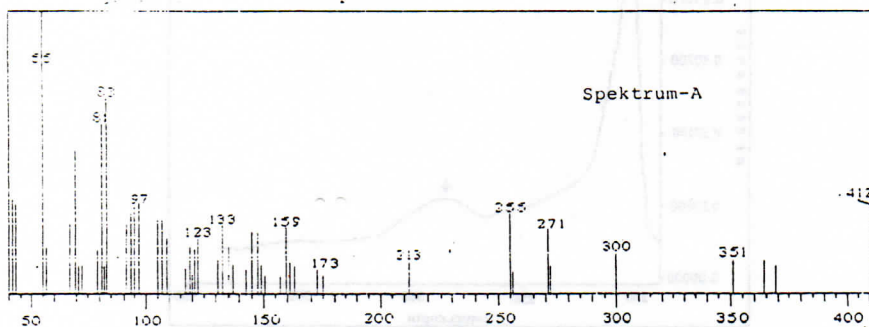
Gambar 5. Spektrum UV senyawa hasil isolasi

Steroid hasil isolasi dengan waktu retensi 29,5 menit memiliki BM = 412, dan rumus molekul $C_{29}H_{48}O$. Perhitungan derajat kesetaraan ikatan rangkap (DBE) memberikan nilai=6 yang mengindikasikan bahwa steroid hasil isolasi memiliki 4

cincin siklik dan dua ikatan rangkap. Spektrum massa dari puncak dengan waktu retensi (R_t) = 29,5 menit dan spektrum massa pembandingnya dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 6. Spektrum massa puncak dengan waktu retensi (R_t) = 29,5 menit



Gambar 7. Spektrum massa pembanding (Stigmasta -5 ,22-dien-3-ol)

Dari spektrum diatas juga terlihat bahwa puncak dengan $R_t = 29,5$ menit memberikan pola fragmentasi yang sama dengan spektrum pembanding. Adanya gugus OH bebas pada steroid ($R_t = 29,5$ menit) ditunjukkan oleh pita IR pada $3525,5 \text{ cm}^{-1}$ dan $1100,9 \text{ cm}^{-1}$ (strecing -C-O- dari C-OH). Ikatan rangkap C=C tidak terkonyugasi menyerap pada $1651,7 \text{ cm}^{-1}$ dan $934,8 \text{ cm}^{-1}$ daerah sidik jari yang karakteristik untuk deformasi C-H keluar bidang bagi sistim CHR=CHR (bila sistim ini berkonyugasi dengan C=O maka serapannya berada pada 990 cm^{-1}). Hal ini mengindikasikan bahwa satu ikatan rangkap, berada didalam cincin dan satu ikatan rangkap berada diluar cincin. (Gambar 4)

Steroid hasil isolasi ($R_t = 29,5$ menit) memberikan panjang gelombang maksimum 201 nm yang berasal dari transisi π ke π anti bonding dari ikatan C=C olefinik. (Gambar 5)

Berdasarkan hal tersebut diatas disimpulkan bahwa puncak dengan waktu retensi ($R_t = 29,5$ menit) merupakan senyawa stigmasta-5,22-3-ol.

Meskipun steroid yang diperoleh dari ekstrak kloroform belum merupakan senyawa tunggal , namun demikian kedua

steroid ini terpisah dengan baik pada GC-MS.

KESIMPULAN

Berdasarkan data spektroskopi GC-MS, IR dan UV steroid yang berasal dari fraksi kloroform bubuk benalu duku (*Scurrula atropurpurea*) dapat disimpulkan bahwa steroid dengan waktu retensi ($R_t = 28,9$ merupakan Pregn-14-en-3-on dengan BM =300, rumus molekul $C_{21}H_{32}O$ dan DBE = 6, dan steroid dengan waktu retensi ($R_t = 29,5$ menit) merupakan Stigmasta-5,22-dien-3-ol dengan BM = 412 rumus molekul $C_{29}H_{48}O$ dan DBE juga = 6.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown Floyd, D.W and M. Sainbury., (1974), *Natural Product Chemistry*, vol. 1, Kodansha Scientific Ltd, Tokyo, 423 – 426.
- Fleming, I. And D.H. Williams., (1973), *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, 2nd ed. Mc Graw-Hill Book Company, London, 4 – 21 and 47-71. McMurray, (1984), *Organic Chemistry*, 2 nd ed. Vol. 2, 1021 – 1028.

McMurray,(1994), Organic Chemistry, 2 nd
ed. Vol. 2, 1021 – 1028

Majalah Famili (1993), Daun Benalu
Mangga Untuk Antikanker, Kolom
Serba Guna No. 84/IV, 27 Sep – 10
Okt. hal 24.

Nakanishi, K., and Shinsaku K., (1974),
Natural Product Chemistry, Vol 1,

Kodansha Scientific Ltd, Tokyo, 423
– 426.

Norton, K.B., et al. (1970), Steroidal
analogues of unnatural configuration,
Part 1. 4,4,14 alfa-trimethyl-19-
(10,9-beta),10-alfa-pregn-5enes
from Cucurtacine, J. Chem.Soc. (C),
1592 – 1596.