

SENYAWA STIGMASTEROL (STEROID) DARI KULIT BATANG *Chisocheton celebicus koord* (MELIACEAE)

Dewa Gede Katja

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado
E-mail: dewakatja@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Stigmasterol (suatu steroid) dengan rumus molekul $C_{29}H_{48}O$ telah diisolasi dari kulit batang *chisocheton celebicus* (Meliaceae) menggunakan pelarut *n*-heksan, kemudian dipisahkan dengan teknik kromatografi dan dihasilkan isolat murni berupa kristal jarum tak berwarna (10,2 mg) dengan titik leleh 169-171°C. Struktur kimia stigmasterol diidentifikasi berdasarkan data-data spektroskopi meliputi IR, NMR-1D, NMR-2D dan masa, serta perbandingan dengan data spektroskopi yang diperoleh dari literatur. Penemuan senyawa stigmasterol dari kulit batang *Chisocheton celebicus* dilaporkan untuk pertama kalinya dalam penelitian ini..

Kata kunci: Meliaceae, *Chisocheton celebicus koord*, stigmasterol.

ABSTRACT

Stigmasterol $C_{29}H_{48}O$ has been isolated from the bark of *Chisocheton celebicus* (Meliaceae) in *n*-hexan and separated using several chromatography and it has been pure isolated the crystal compound (10,2 mg). The chemical structure of isolated compound was identified on the basis of spectroscopic data including IR, 1D-NMR, 2D-NMR and mass along with comparison with those spectral data previously reported. The discovery of stigmasterol compound from the bark *C. celebicus* reported for the first time in this study.

Keyword: Meliaceae, *Chisocheton celebicus koord*, stigmasterol

PENDAHULUAN

Tumbuhan *Chisocheton celebicus* adalah salah satu spesies dari genus *Chisocheton* yang terdistribusi secara luas di daerah tropis dan subtropis seperti Nepal, India, Bhutan, Myanmar, Indo-China, Thailand, Malaysia dan Papua Nugini (Vosen & Umali, 2002). *Chisocheton* pada umumnya sering ditemukan di dataran rendah hutan hujan tropis dan beberapa spesies tumbuhan ini secara tradisional telah digunakan sebagai obat pencuci perut, berbau khas (tengik) dan susah untuk dikeringkan serta dimanfaatkan sebagai racun untuk penangkapan ikan (Lim, 2008).

Berdasarkan jurnal dari genus tumbuhan ini, telah dilaporkan dan menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antikanker, sitotoksik, antitumor, antiinflamasi, antimalaria, antimikroba, antilipid dan apoptosis (Wong dkk., 2011; Mohamad dkk., 2008; Yang dkk.,

2009; Awang dkk., 2012; Najmuldeen dkk., 2012). Senyawa aktif yang diisolasi dari genus *Chisocheton* adalah ceramicin A, merupakan golongan limonoid baru yang diisolasi dari kulit batang *C. ceramicus*, beraktivitas sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 (Mohammad dkk., 2008). Senyawa triterpenoid yang diisolasi dari daun *C. macrophyllus* memiliki sifat antitumor terhadap sel tumor pada EBV-EA (Inada dkk., 1993). Ceramicin B merupakan senyawa limonoid yang diisolasi dari kulit batang *C. ceramicus* memiliki aktivitas antilipid (Wong dkk., 2013). Senyawa malayanin A dan malayanin B, merupakan senyawa limonoid yang diisolasi dari kulit batang *C. erythrocarpus* Hiern, beraktivitas antimalaria dan insektisida (Awang dkk., 2012). Senyawa 7 α -hidroksi- β -sitosterol, diisolasi dari kulit batang *C. tomentosus* yang beraktivitas apoptosis (Najmuldeen dkk., 2012). Dalam penelitian ini kami akan mengisolasi dan identifikasi struktur

senyawa stigmasterol (suatu steroid) dengan rumus molekul $C_{29}H_{48}O$.

BAHAN DAN METODE

Kulit batang tumbuhan *C. celebicus* diperoleh dari Kebun Raya Bogor Jawa Barat. Tumbuhan ini dideterminasi di Herbarium Bogoriense Bogor Jawa Barat dan contoh specimen ini tersimpan di Herbarium tersebut. Bahan-bahan yang digunakan adalah silika gel G₆₀ (70-230 mesh dan 200-400 mesh, Merck), silika gel GF₂₅₄ (Merck, 0,25 mm) untuk kromatografi lapis tipis, asam sulfat dan etanol diperoleh dari Merck (Damstadt, Germany)

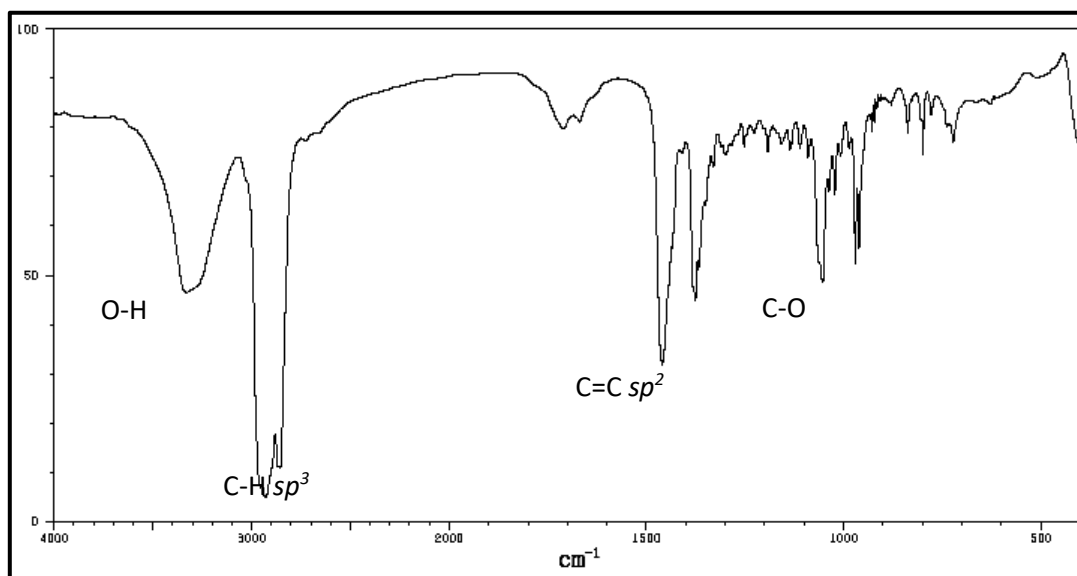
Ekstraksi dan isolasi

Kulit batang tumbuhan *C. celebicus* (2 kg) kering dilahalkan, diekstraksi menggunakan metode maserasi (ekstrak padat-cair) dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol pada suhu ruangan. Fraksi *n*-heksana dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana (26,8 g). Selanjutnya dipisahkan dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan fasa diam silika gel G₆₀ dan fasa gerak campuran pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol yang dielusikan bertahap secara bergradien 10% sehingga diperoleh 3 fraksi (A-C). Fraksi B (0,15 g) dipisahkan dengan kromatografi kolom pada silika gel (70-230 mesh) dengan sistem pelarut *n*-heksana-etil asetat bergradien (10:0-8:2), dihasilkan sembilan fraksi (B1-B9). Fraksi B3 (42,7 mg) dipisahkan dengan teknik kromatografi kolom dengan fase diam silika gel G₆₀ (230-400 mesh) dan fase gerak berupa perbandingan pelarut tetap *n*-heksana : aseton

(9,5:0,5) dihasilkan sepuluh fraksi (B3.1-10). Berdasarkan hasil analisis kromatografi lapis tipis fraksi (B3.5-8) digabungkan dan dihasilkan isolat murni berbentuk padatan kekuningan, selanjutnya direksistalisasi dengan metanol diperoleh senyawa stigmasterol berbentuk kristal tak berwarna sebanyak 10,2 mg., Setiap tahapan pemisahan dipantau dengan kromatografi lapis tipis dibawah sinar UV (λ 254 nm dan λ 365 nm). Isolat murni tersebut diidentifikasi strukturnya berdasarkan data-data spektroskopi IR (FTIR One Perkin Elmer pada KBr), ¹H-NMR dan ¹³C-NMR (spektrometer JEOL JNM ECA-500).

HASIL DAN PEMBAHASAN

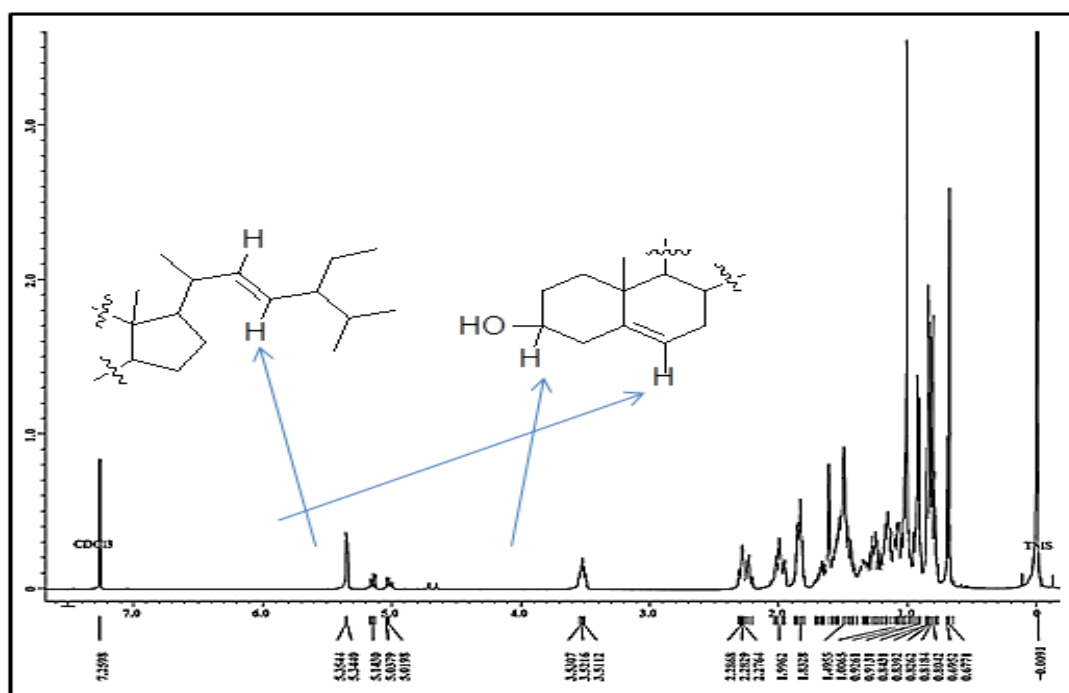
Spektrum IR (KBr) senyawa (Gambar 1) menunjukkan kehadiran gugus hidroksil (3401 cm^{-1}), C-H sp^3 (2937 cm^{-1}), gugus olefinik C=C sp^2 (1457 cm^{-1}) dan gugus C-O (1052 cm^{-1}). Spektrum ¹H-NMR senyawa (Gambar 2) menunjukkan kehadiran enam sinyal metil sp^3 yang terdiri atas dua sinyal metil tersier yang beresonansi pada δ_H 0,67 (3H, s) dan 1,00 (3H, s), tiga metil sekunder pada δ_H 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,4$ Hz), dan 0,82 (3H, d, $J = 6,1$ Hz), serta satu sinyal metil primer yang beresonansi pada δ_H 0,80 (3H, t, $J = 6,0$ Hz) yang menyarankan karakteristik senyawa golongan steroid (Yayli & Baltaci, 1996). Kehadiran tiga sinyal metin olefinik beresonansi pada δ_H 5,35 (1H, d, $J = 5,2$ Hz, H-6), 5,16 (1H, dd, $J = 8,5; 15,0$ Hz, H-22), dan 5,00 (1H, dd, $J = 8,5; 15,0$ Hz, H-23), serta satu sinyal metin teroksigenasi pada δ_H 3,52 (1H, q, $J = 16,5$ Hz, H-3) menyarankan karakteristik senyawa 3- β stigmasterol (Cayme & Ragasa, 2004; Yayli & Baltaci, 1996).

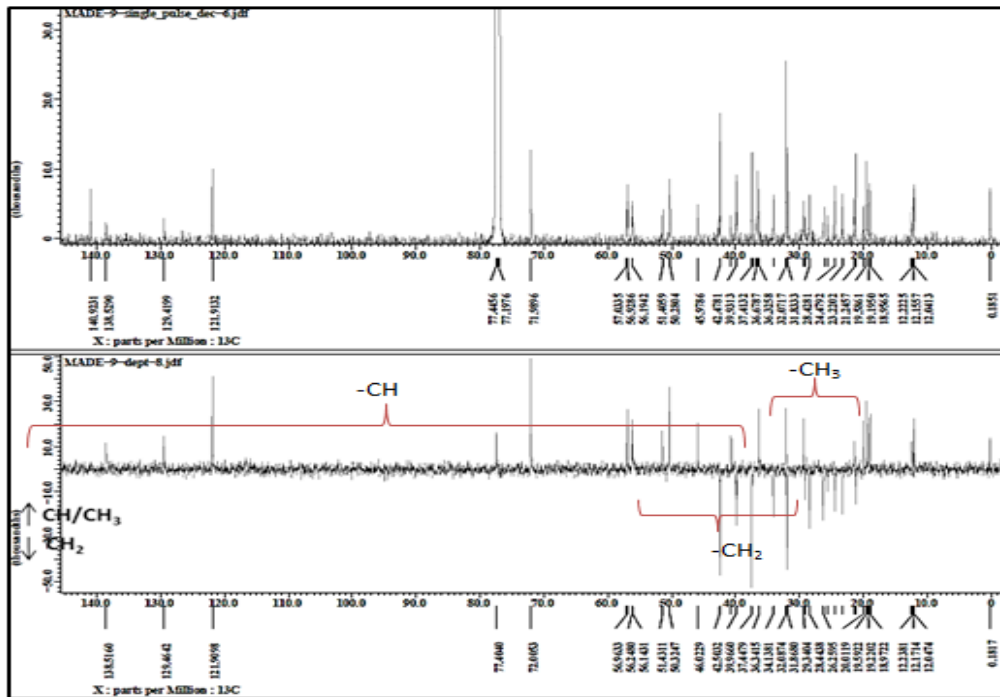


Gambar 1. Spektrum inframerah senyawa 1

Spektrum ¹³C-NMR senyawa (Gambar 3) diperinci dengan percobaan DEPT 135° menunjukkan adanya 29 sinyal karbon yang terdiri atas enam metil, sepuluh metilen, sebelas metin dan dua sinyal karbon kuarterner yang menandakan senyawa golongan steroid (Yayli & Baltaci, 1996). Kehadiran enam sinyal metil yang beresonansi pada δc 12,1 (C-18) 19,5 (C-19), 21,2 (C-21), 21,3 (C-26), 19,1 (C-27), dan 12,2 (C-29), satu sinyal oksimetin pada δc 72,0

(C-3), tiga metin olefinik pada δc 121,9 (C-6), 138,5 (C-22), 129,5 (C-23) serta satu sinyal karbon olefinik singlet pada δc 140,9 (C-5) menandakan karakteristik senyawa stigmasterol (Cayme & Ragasa, 2004; Yayli & Baltaci, 1996). Fungsionalitas tersebut dihitung sebagai dua dari total enam derajat ketidakjenuhan. Empat derajat ketidakjenuhan yang tersisa, sesuai dengan kerangka dasar steroid stigmasteran (Cayme & Ragasa, 2004).

Gambar 2 Spektrum ¹H-NMR senyawa (CDCl₃, 500 MHz)



Gambar 3 Spektra ^{13}C -NMR dan DEPT 135° senyawa (CDCl_3 , 125 MHz)

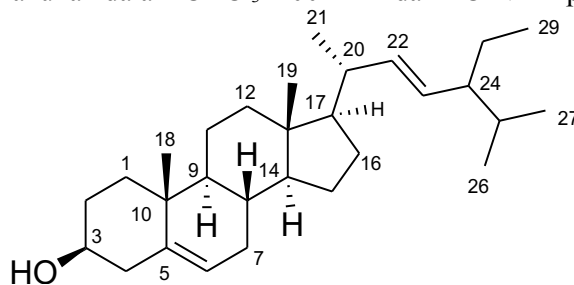
Perbandingan data spektroskopi senyawa dengan senyawa stigmasterol (Cayme & Ragasa, 2004), menunjukkan bahwa kedua senyawa memiliki tingkat

kesesuaian yang sangat tinggi, dengan demikian senyawa diidentifikasi sebagai stigmasterol (Gambar 4).

Tabel. 1 Perbandingan data NMR senyawa dengan senyawa stigmasterol (Cayme & Ragasa, 2004)

Posisi	Senyawa		Stigmasterol*	
	¹³ C NMR δ _c (mult)	¹ H NMR δ _H (Integral, mult, J=Hz)	¹³ C NMR δ _c (mult)	¹ H NMR δ _H (Integral, mult, J=Hz)
1	37,4 (t)	1,08 (1H, m) 1,84 (1H, m)	37,2 (t)	1,08 (1H, m) 1,83 (1H, m)
2	31,8 (t)	1,49 (1H, m) 1,81 (1H, m)	31,6 (t)	1,49 (1H, m) 1,82 (1H, m)
3	72,0 (d)	3,52 (1H, m)	71,8 (d)	3,53 (1H, m)
4	42,5 (t)	2,28 (1H, dd, 2,0;5,2) 2,30 (1H, dd, 2,0;5,2)	42,3 (t)	2,24 (1H, dd, 1,9; 4,7) 2,28 (1H, dd, 1,9; 4,7)
5	140,9 (s)	-	140,7 (s)	-
6	121,9 (d)	5,35 (1H, d, 5,2)	121,7 (d)	5,35 (1H, d, 4,7)
7	32,1 (t)	1,54 (1H, m) 1,96 (1H, m)	31,9 (t)	1,53 (1H, m) 1,98 (1H, m)
8	32,0 (d)	1,46 (1H, m)	31,9 (d)	1,46 (1H, m)
9	50,3 (d)	0,94 (1H, m)	50,1 (d)	0,94 (1H, m)
10	36,7 (s)	-	36,5 (s)	-
11	21,3 (t)	1,46 (1H, m) 1,49 (1H, m)	21,6 (t)	1,45 (1H, m) 1,48 (1H, m)
12	39,9 (t)	1,15 (1H, m) 1,95 (1H, m)	39,7 (t)	1,15(1H, m) 1,97 (1H, m)
13	42,5 (s)	-	42,2 (s)	-
14	56,9 (d)	1,03 (1H, m)	56,8 (d)	1,00 (1H, m)
15	24,5 (t)	1,07 (1H, m) 1,56 (1H, m)	24,4 (t)	1,06 (1H, m) 1,55 (1H, m)
16	28,4 (t)	1,26 (1H, m) 1,67 (1H, m)	28,9 (t)	1,27 (1H, m) 1,71 (1H, m)
17	56,1 (d)	1,13 (1H, m)	55,9 (d)	1,13 (1H, m)
18	12,1 (q)	0,67 (3H, s)	12,0 (q)	0,70 (3H, s)
19	19,5 (q)	1,00 (3H, s)	19,4 (q)	1,01 (3H, s)
20	40,7 (d)	2,02 (1H, m)	40,5 (d)	2,04 (1H, m)
21	21,2 (q)	0,92 (3H, d, 6,5)	21,1 (q)	1,02 (3H, d, 6,8)
22	138,5 (d)	5,16 (1H, dd, 8,5; 15,0)	138,3 (d)	5,15 (1H, dd, 8,4; 15,1)
23	129,5 (d)	5,00 (1H, dd, 8,5; 15,0)	129,2 (d)	5,02 (1H, dd, 8,4; 15,1)
24	51,4 (d)	1,53 (1H, m)	51,2 (d)	1,53 (1H, m)
25	31,8 (d)	1,45 (1H, m)	31,9 (d)	1,44 (1H, m)
26	21,3 (q)	0,84 (3H, d, 6,4)	21,2 (q)	0,84 (3H, d, 6,4)
27	19,1 (q)	0,82 (3H, d, 6,1)	19,0 (q)	0,83 (3H, d, 6,1)
28	25,6 (d)	1,15 (1H, t, 3,2)	25,4 (d)	1,15 (1H, t, 3,1)
29	12,2 (q)	0,80 (3H, t, 6,0)	12,3 (q)	0,80 (3H, t, 6,0)

* Pengukuran ¹H-NMR dilakukan dalam CDCl₃ 400 MHz dan ¹³C-NMR pada CDCl₃ 100 MHz



Gambar 4 Struktur kimia senyawa (stigmasterol)

Berdasarkan hasil interpretasi spektrum IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan data-data pembanding, isolat berupa padatan kristal tak berwarna sebanyak 10,2 mg yang diisolasi dari 2,0 kg serbuk kering kulit batang *C. celebicus*, ditetapkan sebagai senyawa stigmasterol.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami sampaikan Prof. Dr. M. Hanafi beserta staf pada Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Serpong yang telah membantu pengukuran NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Awang, K., Chong, L., Marthi, M.T., Mokhtar, R.M., Chan, G., Litaudon, M., Gueritte, F. & Mohamad, K. 2012. Malayanines A and B, two novel limonoids from *Chisocheton erythrocarpus* Hiern, *Tetrahedron Letters*, 53(40), 5355-5359.
- Cayme, J., & Ragasa, C. 2004. Structure elucidation of β -stigmasterol and β -sitosterol from *Sesbania grandiflora* (Linn). Pers. and β -carotene from *Heliotropium indicum* Linn by NMR spectroscopy. *Journal of Kimika*. 20(1/2), 5-12.
- Inada, A., Sukemawa, M., Murata, H., Nakanishi, T., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashima, Darnaedi, D. & Murata, J. 1993. Phytochemical studies on Maleaceous Plant. Part VII. Structures and Inhibitory Effects on Epstein-Barr Virus Activation of Triterpenoida from leaves of *Chisocheton macrophyllus* King. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 41(3), 617-619.
- Lim, C.S. 2008. Chemical Constituents of *Chisocheton erythrocarpus* hiern. Department of Chemistry Faculty of Science University Malaya.
- Mohamad, K., Hirasawa, Y., Lim, C.S., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Takeya, K. & Morita, H. 2008. Ceramicines A and walsogyne A, novel limonoids from two species of Meliaceae. *Tetrahedron Letters*, 49(27), 4276-4278.
- Najmuldeen, I.A., Ibrahim, A., Tasyriq, M., Lionel, L.A.I., Mohamad, K., Awang, K. & Hasima, N. 2012. 7α -hidroxy- β -sitosterol from *Chisocheton tomentosus* Induces Apoptosis via Dysregulation of Cellular Bax/Bcl-2 Ratio and Cell Cycle Arrest by Downregulating ERK1/2 Activation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012, 1-12
- Vossen, V.D., H.A.M. & Umali, B.E. 2002. *Plant Resources Of South-East Asia: Vegetable Oils And Fats*, Prosea Foundation: Bogor.
- Wong, C.P., Shimada, M., Nagakura, Y., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Mohamad, K., Shio, M. & Morita, H. 2011. Ceramicines E-I, New Limonoids from *Chisocheton ceramicus*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 59(3), 407-411.
- Wong, C.P., Kaneda, T., Hamid, A., Hadi, A. & Morita, H. 2013. Ceramicine B. a limonoid with anti-lipid droplets accumulation activity from *Chisocheton ceramicus*. *Journal of Natural Medicines*. 68(1), 22-30.
- Yang, M.H., Wang, J.S., Luo, J.G., Wang, X.B. & Kong, L.Y. 2009. Tetranortriterpenoids from *Chisocheton paniculatus*. *Journal of Natural Product*. 72(11), 2014-2018
- Yayli, N. & Baltaci, C. 1996. The sterols of *Cyclamen coum*. *Turkish Journal of Chemistry*. 20(4), 329-334.