

Isolasi dan identifikasi metabolit sekunder dari ekstrak butanol pegagan [*Centella asiatica* (L) urban]

Dian Herlinda Octorina Howan

Ilmu Kimia FMIPA, Universitas Negeri Manado, Tondano, 95619, Indonesia

INFO ARTIKEL

Diterima 16 Agustus 2017
Disetujui 19 September 2017

Key word:
gotu kola
Triterpenoid
Brahmic acid

Kata kunci:
Pegagan
Triterpenoid
Asam Brahmat

ABSTRACT

A triterpenoid tetrahydroxy of 3.1 mg has been isolated from the butanol extract of *Centella asiatica*. Separation and purification were performed using several stages of column chromatography, and identification was performed by taking the proton nuclear magnetic resonance spectrum (NMR-¹H). The spectral data of NMR-¹H isolate F_{6.1} indicates the presence of signals at a chemical shift (δ in ppm) 0.89 (d, J = 6.35 Hz), 0.94 (d, J = 6.35 Hz), 1.05 (s), 1.06 (s), 2 CH₃, 1.12 (s), 2 hydroxy methylene protons at δ 3.78 (t; J = 4.88 Hz), and 3.99 (t J = 4.88 Hz), 3 methyl protons attached to the hydroxylated carbon each at δ 4.24 (m), 4.22 (m), and 3.72 (d; J = 10.7 Hz). Based on RMI-1H spectrum data it can be proposed that isolate F_{6.1} is brahmic acid, 2 α , 3 β , 6 β , 23-tetrahydroxy-28-oat-12en.

ABSTRAK

Suatu triterpenoid tetrahidroksi sebanyak 3,1 mg telah diisolasi dari ekstrak butanol pegagan Indonesia. Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan menggunakan beberapa tahap kromatografi kolom, dan identifikasi dilakukan dengan pengambilan spektrum resonansi magnetik inti proton (RMI-¹H). Data spektrum RMI-¹H isolate F_{6.1} menunjukkan adanya sinyal-sinyal pada pergeseran kimia (δ dalam ppm) 0,89 (d; J = 6,35 Hz), 0,94 (d; J = 6,35 Hz), 1,05 (s), 1,06 (s), 2 CH₃, 1,12 (s), 2 proton hidroksi metilen pada δ 3,78 (t; J = 4,88 Hz), dan 3,99 (t; J = 4,88 Hz), 3 proton metin yang terikat pada karbon terhidroksilasi masing-masing pada δ 4,24 (m), 4,22 (m), dan 3,72 (d; J = 10,7 Hz). Berdasarkan data spektrum RMI-¹H dapat diusulkan isolat F_{6.1} adalah asam brahmat, 2 α , 3 β , 6 β , 23-tetrahidroksi-28-oat-12 en.

*e-mail:
dianhowan@unima.ac.id
*Telp:
089698304923

Pendahuluan

Pegagan adalah salah satu spesies tumbuhan yang belum banyak diteliti kandungan metabolit sekundernya serta kegunaan secara ilmiah. Secara tradisional, Pegagan digunakan sebagai obat anti infeksi, anti racun, penurun panas, peluruh air seni (diuretikum), anti lepra, dan anti sifilis. Daunnya digunakan untuk astrigensin dan tonikum. Pegagan mampu merevitalisasi tubuh dan otak yang lelah. Selain itu, mampu memperbaiki sirkulasi tubuh dengan revitalisasi pembuluh darah dan memperbaiki kesuburan wanita [1]. Pegagan juga digunakan sebagai obat

kardio *depressant*, hipotensif, dan malaria.

Salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan Pegagan adalah triterpena [2]. Triterpenoid merupakan senyawa yang banyak terdapat dalam tumbuhan. Triterpena termasuk dalam kelompok senyawa terpenoid. Kata terpena mencakup sejumlah besar senyawa tumbuhan, dan istilah ini digunakan untuk menunjukkan bahwa secara biosintesis semua senyawa tumbuhan itu berasal dari senyawa yang sama, yaitu dari molekul isopren [3].

Pegagan memiliki kandungan kimia seperti saponin triterpen (asiatikosida, brahmosida,

thankunusida) dan alkaloid (hidrokofilin) [2], isothankusida, madekasosida, brahmasida, asam brahmik, asam modasiatik. Selain itu, terdapat juga meso-inisitol, sentelloso, karotenoid, garam K, Ne, Ca, Fe, velarin, fatin, musilago, resin, pectin, gula dan vitamin B [1].

Pada isolasi asam asiatik, asiatikosida, mesoinositol, dan jenis oligosakarida baru bernama sentelos dari varietas Pegagan India diketahui bahwa dari hasil oksidasi periodik asam asiatik, struktur asam asiatik merupakan derivat atau turunan hemiasetal. Struktur asam brahmat yang dielusidasi adalah $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahidroksi-28-oat-urs-12-ene [4].

Pegagan Indonesia belum banyak diteliti mengenai kandungan kimianya, meskipun Pegagan yang tumbuh di Negara lain seperti India, Jepang, dan Eropa telah banyak diteliti jenis dan struktur senyawa kimianya. Bertolak dari uraian tersebut di atas, tumbuhan Pegagan, khususnya ekstrak butanol Pegagan menarik untuk menjadi objek penelitian kimia.

Bahan dan Metode

Bahan penelitian ini ada dua kategori yaitu bahan tumbuhan dan bahan kimia untuk preparasi sampel. Bahan tumbuhan adalah Pegagan (*Centella asiatica*). Bahan kimia untuk preparasi sampel adalah pelarut organik teknis yang telah didestilasi ulang (*n*-heksana, etil asetat, metanol, diklorometan, *n*-butanol), silica gel ukuran 230-400 mesh (E.Merck 9385), lempeng aluminium Kromatograf Lapis Tipis (KLT) silica gel 60 F₂₅₄ (Merck. 1.0554). Untuk penampakan noda pada lempeng KLT digunakan asam molibdatofosforat hidrat (E.Merck 1.00532).

Peralatan yang digunakan berupa alat-alat pemisahan, pemurnian, dan analisis senyawa. Alat untuk pemisahan dan pemurnian adalah kolom kromatografi vakum, rotavapor (BUCHI), dan berbagai alat penunjang lainnya. Alat analisis yang digunakan adalah alat analisis untuk penentuan struktur senyawa yaitu spectrometer resonansi magnetik inti proton (RMI-¹H) Varian INOVA 500.

Ekstraksi

Tanaman Pegagan segar (1,5 kg) dikeringkan dalam suhu kamar kemudian dipotong-potong hingga halus. Selanjutnya

Pegagan halus (679 gram) dimasukkan dalam tabung maserasi dan dimaserasi dengan methanol (4 x 5 L). Setiap tahap maserasi didiamkan selama 24 jam. Hasil maserasi ditampung dan dievaporasi. Dari hasil evaporasi akan didapat ekstrak kental metanol seberat 65,9 gram. Ekstrak kental metanol kemudian ditimbang sebanyak 50 gram lalu digerus dengan silica gel 230-400 mesh sebanyak 50 gram dan didfraksionasi vakum dengan gradien pelarut. Pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana, diklorometan, etilasetat, dan metanol. Filtrat yang didapat lalu dievaporasi menghasilkan ekstrak *n*-heksana, ekstrak diklorometan, ekstrak etilasetat dan ekstrak metanol. Ekstrak metanol kemudian dilarutkan dengan air sebanyak 100 mL dan dipartisi dengan *n*-butanol (1:1). Dari hasil partisi didapat lapisan butanol dan lapisan air. Lapisan butanol dievaporasi dan didapat ekstrak butanol.

Pemisahan dan Pemurnian

Ekstrak butanol Pegagan (2,5 gram) digerus dengan silica gel 230-240 mesh (112 gram), dan dipisahkan dengan metode kromatografi kolom dengan gradien pelarut etilasetat, metanol dan air. Hasil kromatografi kolom dianalisa dengan KLT dan dikelompokkan berdasarkan pola KLT. Berdasarkan hasil KLT, fraksi 6 memiliki pola pemisahan dan penampakan noda yang cukup baik sehingga dilakukan pemisahan dan pemurnian dengan kromatografi kolom gravitasi. Sebanyak 40 mg fraksi 6 digerus dengan silica gel sebanyak 20 mg dan dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi dengan pelarut diklorometan-metanol (9:1, 8:2, 1:1). Hasil kolom ditampung dan dianalisa dengan KLT. Fraksi-fraksi dengan pola KLT yang sama digabung dan dievaporasi. Fraksi F_{6.1} memiliki satu noda dan mengindikasikan fraksi tersebut murni atau minimal mengandung satu senyawa.

Identifikasi Struktur Isolat Senyawa F_{6.1}

Sebanyak 3,1 mg fraksi F_{6.1} dianalisa dengan metode spektroskopi resonansi magnetik inti (RMI-¹H) untuk menentukan struktur senyawa tersebut.

Hasil dan Pembahasan

Fraksi F_{6.1} memiliki pemisahan dan

penampakan noda yang cukup baik [$R_f = 0,625$; eluen diklorometan-metanol (9,5:0,50)], maka fraksi $F_{6.1}$ diteruskan untuk dinalisa struktur senyawanya. Sebanyak 3.1 mg sampel dari fraksi $F_{6.1}$ dianalisa dengan metode spektroskopi resonansi magnetik inti proton (RMI- 1H).

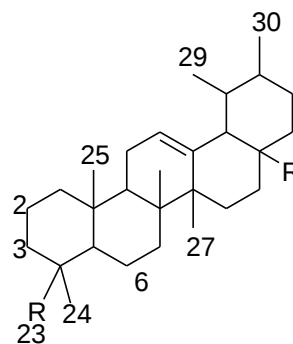
Penentuan struktu isolat $F_{6.1}$ dilakukan melalui analisis spektroskopi resonansi magnetik inti proton (RMI- 1H) pada 500 MHz. Spektrum RMI- 1H isolat $F_{6.1}$ yang ditabulasikan dalam Tabel 1 menunjukkan adanya sinyal-sinyal sebagai berikut:

- 6 gugus metil pada pergeseran kimia proton (δ dalam ppm) 0,89 (d, $J = 6,35$ Hz), 0,94 (d, $J = 6,35$ Hz), 1,05 (s), 1,06 (s), $2CH_3$, 1,12 (s)
- 2 proton hidroksi metilen pada δ 3,78 (t, $J = 4,88$ Hz) dan 3,99 (t, $J = 4,88$ Hz)
- 3 proton metin yang terikat pada karbon terhidroksilasi masing-masing pada δ 4,24 (m), 4,22 (m) dan 3,72 (d, $J = 10,7$ Hz).

Tabel.1 Tabulasi Data Spektrum RMI- 1H Isolat $F_{6.1}$

POSISI H	δ H (ppm)	Multiplisitas, J (Hz)	Dugaan
12	5,45	M	H- olefinik
6/2	4,24	M	H-C-OH
6/2	4,22	M	H-C-OH
23	3,99	t(4,88)	H ₂ C-OH
23	3,78	t(4,88)	H ₂ C-OH
3	3,72	d (10,7)	H-C-O
27	1,12	S	CH ₃
24	1,06	S	2 CH ₃
25	1,05	S	CH ₃
29	0,94	d (6,35)	CH ₃
30	0,89	d (6,35)	CH ₃

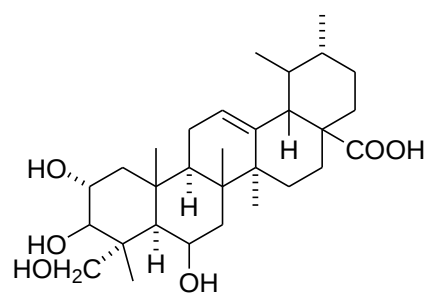
Sinyal-sinyal mengindikasikan bahwa isolat $F_{6.1}$ adalah golongan triterpen olean-12-n dengan satu karbon hidroksi metilen (CH_2OH). Adanya sinyal dublet dari 2 metil (0,89 dan 0,94) mengindikasikan bahwa kelompok triterpen isolat $F_{6.1}$ adalah triterpen α -amirin dengan kerangka dasar seperti pada gambar 1. Kedua sinyal metil dublet tersebut adalah metil pada posisi 29 dan 30.



Gambar 1. Kerangka dasar triterpen α -amirin

Sinyal pada δ 3,72 mengindikasikan proton pada posisi H-3. Sinyal proton hidroksi metin (CH_2OH) pada δ 3,78 dan 3,99 mengindikasikan proton pada posisi 23 [4]. Sinyal multiplet pada δ 4,22 dan 4,24 mengindikasikan proton pada posisi 6 dan posisi 2. Sedangkan sinyal pada δ 5,45 adalah karakteristik untuk sinyal dari proton pada C-12 triterpen.

Berdasarkan uraian di atas, dapat diusulkan struktur isolat $F_{6.1}$ adalah $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahidroksi-28-oat-12 en dengan nama asam brahmat. Senyawa asam brahmat tersebut pertama kali diisolasi dari pegagan India [4], namun baru pertama kali diisolasi dari pegagan Indonesia.



Gambar 2. Asam Brahmat

Ucapan terimakasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Negeri Manado melalui Lembaga Penelitian UNIMA yang telah mendanai penelitian ini melalui skim Penelitian Kreativitas Dosen tahun 2012.

Kesimpulan

Senyawa triterpenoid seberat 3.1 mg berhasil diisolasi dari pegagan *Centella asiatica* (L) urban. Senyawa yang berhasil diisolasi adalah asam brahmat.

Daftar Pustaka

1. Utami, P.; Lentera, T., *Tanaman obat untuk mengatasi diabetes mellitus*. AgroMedia: 2003.
2. Fnimh, A. C., *Encyclopedia of Medicinal Plants*. Dorling Kindersley: London, 2001.
3. Harborne, J., *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua. *Institut Teknologi Bandung* **1987**.
4. Singh, B.; Rastogi, R., A reinvestigation of the triterpenes of *Centella asiatica*. *Phytochemistry* **1969**, 8, (5), 917-921.