

Senyawa Poriferasta-5,22E,25-trien-3 β -ol,22-dehidrokolesterol dari Daun *Kalanchoe serrata* (Crassulaceae)

Fajar Fauzi Abdullah, Satwika Nandiwardhana, Arif Rahman Hakim, Tati Herlina, dan Unang Supratman^{*)}

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran
Jalan Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Jatinangor 45363, Sumedang, Indonesia

^{*)} Email : u_supratman@unpad.ac.id

Abstrak

Dalam penelitian berkelanjutan untuk pencarian senyawa metabolit sekunder baru dari tumbuhan *Kalanchoe* Indonesia, telah dilakukan kajian fitokimia terhadap *Kalanchoe serrata*. Daun segar *K. serrata* sebanyak 14,8 kg diekstraksi dengan metanol pada temperatur kamar. Ekstrak metanol yang diperoleh 292 g, selanjutnya dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana dan diklorometan. Ekstrak diklorometan yang diperoleh 0,80 g selanjutnya dipisahkan pada kromatografi cair vakum pada silika gel G60 dengan eluen kloroform-aseton yang meningkat kepolarannya sehingga dihasilkan 10 fraksi yang dikelompokkan berdasarkan analisis KLT. Padatan yang diperoleh pada fraksi yang terelusi dengan 20% aseton selanjutnya dipisahkan pada kromatografi kolom pada silika gel (230-400 mesh) dengan eluen kloroform dan dimurnikan lebih lanjut dengan kristalisasi pada aseton sehingga dihasilkan isolat berbentuk kristal jarum tak-berwarna sebanyak 23 mg. Isolat menunjukkan titik leleh 115-118°C dan memberikan warna hijau-kebiruan pada uji Liebermann-Burchard menunjukkan adanya kerangka steroid. Hasil analisis spektroskopi yang meliputi UV, IR, 1D-NMR dan 2D-NMR menunjukkan bahwa isolat merupakan turunan sterol dan diidentifikasi sebagai poriferasta-5,22E,25-trien-3 β -ol,22-dehidrokolesterol.

Kata kunci : *Kalanchoe serrata*, *Kalanchoe*, Sterol, poriferasta-5,22E,25-trien-3 β -ol,22-dehidrokolesterol.

Abstract

In the course of our continuing search for novel secondary metabolites compounds from Indonesian *Kalanchoe* plant, phytochemical study have been carried out to *Kalanchoe serrata* plant. 14.8 kg fresh leaves of *K. serrata* was extracted with methanol at room temperature. The methanol extract was obtained 292.7 g was partitioned between *n*-hexane and dichloromethane. The dichloromethane extract (0.80 g) was further separated in silica gel vacuum liquid chromatography using chloroform-acetone to yielded 10 fraction combined according to TLC analysis. The precipitates from fraction that eluated by 20% acetone was further purified by column chromatography in gel silica (230-400 mesh) with eleun chloroform followed by crystallized in acetone yielded 23 mg isolat as a colorless needle crystal. The isolat showed green-blue colour in Liebermann-Burchard test and showed melting point 115-118°C, indicated the presence of the steroidal structure. Spectroscopic analysis of the isolate including UV, IR, 1D-NMR, and 2D-NMR suggested that isolat as a sterol derivative and was identified as a poriferasta-5,22E,25-trien-3 β -ol,22-dehydrocholesterol.

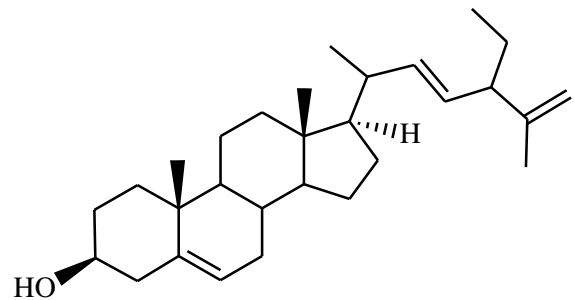
Keywords: *Kalanchoe serrata*, *Kalanchoe*, Sterol, poriferasta-5,22E,25-trien-3 β -ol,22-dehydro cholesterol.

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan *Kalanchoe* adalah genus terbesar pada famili Crassulaceae yang terdiri atas 125 spesies yang tersebar di daerah tropis dan subtropis (Gao, *et.al.*, 2011). Tumbuhan ini dibudidayakan sebagai tanaman hias atau tanaman pekarangan yang berair dengan daun yang tebal. Tanaman ini dikenal di Cina sebagai “ribuan dan jutaan merah-ungu”, dan umumnya dipakai selama tahun baru Cina untuk tujuan dekoratif. Tumbuhan ini populer karena kemudahan propagasi, kebutuhan air rendah, dan berbagai warna bunganya. Spesies tumbuhan *Kalanchoe* ditandai dengan membuka bunganya dengan menumbuhkan sel-sel baru pada permukaan kelopak untuk memaksa mereka keluar, dan di bagian luar kelopak untuk menutupnya (Sunset Western, 2001).

Dalam pengobatan tradisional, beberapa tumbuhan *Kalanchoe* telah digunakan untuk mengobati penyakit seperti infeksi, rematik dan peradangan. Ekstrak air daun tumbuhan *Kalanchoe* juga memiliki efek immunosupresif. Daun tumbuhan *K. pinnata* telah digunakan secara tradisional di Trinidad dan Tobago untuk pengobatan hipertensi (Lans, 2006). Di Indonesia tumbuhan *Kalanchoe* ini dikenal dengan nama “sosor bebek”, tersebar di seluruh Indonesia dan umumnya digunakan sebagai tanaman hias. Beberapa tumbuhan ini telah digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit infeksi, batuk, demam, dan antiperadangan untuk luka dan memar (Hutapea, 1994 & Heyne, 1987).

Tumbuhan genus *Kalanchoe* dilaporkan mengandung senyawa bufadienolida (Supratman, *et.al.*, 2000 & Supratman, *et.al.*, 2001), triterpenoid (Gaiind & Gupta, 1972), dan flavonoid (Muzitano, *et.al.*, 2006 & Okwu & Nnamdi, 2011), serta memiliki aktivitas biologis seperti antileismanial (Muzitano, *et.al.*, 2006), antiinflamasi (Costa, *et.al.*, 2006), sitotoksik (Kuo, *et.al.*, 2008), dan penghambat pertumbuhan sel tumor (Supratman, *et.al.*, 2001). Sejauh ini, 25 spesies genus *Kalanchoe* telah dilaporkan kandungan kimianya (Gao, *et.al.*, 2011), namun demikian *K. serrata* belum diteliti kandungan kimianya, dengan demikian pencarian



Gambar 1. Struktur kimia poriferasta-5,22E,25-trien-3 β -ol,22-dehidrokolesterol

senyawa metabolit sekunder baru pada tumbuhan *K. serrata* masih sangat berpeluang. Pada makalah ini, kami akan melakukan isolasi, penentuan struktur senyawa sterol, poriferasta-5,22E,25-trien-3 β -ol,22-dehydrocholesterol dari daun *K. serrata*.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Daun tumbuhan sosor bebek (*Kalanchoe serrata*) dikumpulkan dari kebun percobaan di Daerah Lembang, Bandung Barat, Jawa Barat, Indonesia pada bulan Juni 2011 dan diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Indonesia. Contoh herbarium dari tanaman tersebut tersimpan di Herbarium Jurusan Biologi. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari berbagai jenis pelarut teknis (didistilasi ulang) seperti; *n*-heksana, metanol, aseton, dan pro-analis seperti; diklorometan dan kloroform. Silika GF₂₅₄ untuk KLT (kromatografi lapis tipis), Silika G60 (10-40 μ m) dan luas permukaan (500 m²/g) (untuk Kromatografi cair vakum), dan silika G60 (70-230 dan 230-400 mesh) untuk kromatografi kolom terbuka, serta pereaksi penampak noda asam sulfat 10% dalam etanol.

Peralatan yang digunakan meliputi alat gelas yang umum digunakan di laboratorium kimia organik, maserator, *rotary evaporator* R-200 Buchi dengan pompa vakum Vac V-500 Buchi dan penangas air B-490 Buchi, kolom kromatografi terbuka berbagai ukuran, lampu UV Vilbert Luomart (λ 254 nm dan λ

365 nm), spektrofotometer FTIR Spectrum One Perkin Elmer, Spektrometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) JEOL JNM ECA-500 dengan TMS sebagai standard dalam.

Ekstraksi dan isolasi

Daun segar *K. serrata* sebanyak 14,8 kg diekstraksi secara tuntas dengan metanol pada suhu kamar. Ekstrak metanol yang diperoleh 292,7 g selanjutnya dipekatkan dan dilarutkan ke dalam air. Lapisan air dipartisi berturut-turut antara *n*-heksana dan diklorometan. Ekstrak diklorometan yang diperoleh dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat, dan dipekatkan pada tekanan rendah sehingga dihasilkan ekstrak diklorometan berwarna coklat (0,8 g). Ekstrak diklorometan pekat selanjutnya dipisahkan senyawa-senyawa metabolit sekunder nya dengan kromatografi cair vakum pada Silika gel 60 (70-230 mesh) dengan eluen kloroform-aseton yang meningkat kepolarannya. Fraksi yang terelusi dengan 20% aseton disaring dan dihasilkan padatan putih yang di murnikan lebih lanjut pada kromatografi kolom pada silika gel dengan eluen kloroform dan diikuti dengan kristalisasi pada aseton dihasilkan isolat berupa kristal tak berwarna berbentuk jarum (23 mg).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

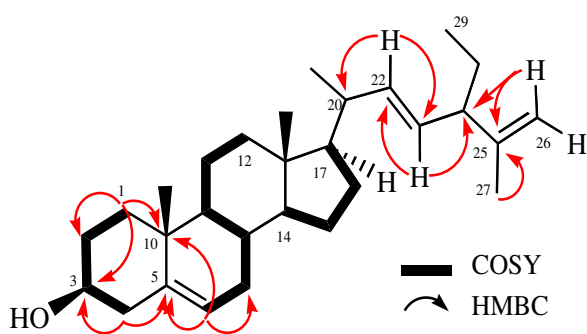
Ekstrak metanol dari daun segar *K. serrata* dipekatkan dan dilarutkan ke dalam air. Lapisan air selanjutnya dipartisi berurut-turut antara *n*-heksana dan diklorometan. Ekstrak diklorometan mengandung senyawa metabolit sekunder yang menarik setelah ditampakkan dengan pereaksi penampak noda asam sulfat 10% dalam etanol dan diikuti dengan pemanasan. Ekstrak diklorometan selanjutnya dipisahkan dengan kombinasi kolom kromatografi pada silika gel dan dimurnikan lebih lanjut dengan kristalisasi pada aseton, di hasilkan isolat tak berwarna berbentuk kristal jarum dengan titik leleh 115-118⁰C, IR ν_{maks} (KBr): 3445, 2882, 1640 dan 1122 cm⁻¹, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR (Tabel 1).

Isolat memberikan warna biru dengan pereaksi Liebermann-Buchard menyarankan adanya kerangka steroid tetrasiklik

Tabel 1. Data NMR Isolat*

Posisi C	¹ H-NMR δ_{H} (integral, mult., J Hz)	¹³ C-NMR δ_{C} (mult.)
1	1,02 (1H, m) 1,07 (1H, m)	37,5 (t)
2	1,24 (2H, m)	29,9 (t)
3	3,53 (1H, br.s)	72,0 (d)
4	2,29 (1H, m) 2,33 (1H, m)	42,5 (t)
5	-	140,9 (s)
6	5,35 (1H, t, 6,4)	121,9 (d)
7	1,85 (1H, m) 1,96 (1H, m)	31,9 (t)
8	1,47 (1H, m)	32,1 (d)
9	0,91 (1H, m)	50,4 (d)
10	-	36,7 (s)
11	1,51 (2H, m)	21,3 (t)
12	1,17 (2H, m)	28,9 (t)
13	-	42,6 (s)
14	1,02 (1H, m)	57,1 (d)
15	1,51 (1H, m) 1,57 (1H, m)	24,5 (t)
16	2,05 (2H, m)	39,9 (t)
17	1,16 (1H, m)	56,1 (d)
18	0,98 (3H, s)	12,3 (q)
19	1,01 (3H, s)	19,6 (q)
20	2,03 (1H, m)	40,4 (d)
21	0,90 (3H, d, 5,7)	21,0 (q)
22	5,20 (1H, dd, 15,2, 5,2)	130,2 (d)
23	5,22 (1H, dd, 15,2, 4,2)	137,4 (d)
24	2,42 (1H, m)	52,2 (d)
25	-	148,8 (s)
26	4,70 (2H, s)	109,7 (t)
27	1,65 (3H, s)	20,4 (q)
28	1,15 (2H, m)	25,9 (t)
29	0,83 (3H, t, 7,4)	12,3 (q)

(Farnsworth, 1966). Isolat menunjukkan rumus formula C₂₉H₄₆O berdasarkan data NMR (Tabel 1), dengan demikian isolat mengandung tujuh derajat ketidakjenuhan. Pita serapan infra merah (IR) yang disebabkan oleh gugus fungsi hidroksil, ikatan alifatik jenuh, ikatan rangkap dua dan karbon teroksigenasi diamati berturut-turut pada 3445, 2882, 1640, dan 1122 cm⁻¹. Spektrum ¹³C-NMR menunjukkan adanya 29 sinyal karbon yang mana diklasifikasikan berdasarkan pergeseran kimia dan spektra HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*) sebagai lima metil, sembilan sp³



Gambar 2. Korelasi COSY dan HMBC terpilih dari isolat

metilen, enam sp^3 metin, satu sp^3 metin teroksigenasi, dua sp^3 karbon kuarternar, satu sp^2 metilen, 3 sp^2 metin dan dua sp^2 karbon kuarternar. Fungsionalitas ini dihitung sebagai tiga dari total tujuh derajat ketidakjenuhan. Empat derajat ketidakjenuhan yang tersisa sesuai dengan kerangka molekul tetrasiklik steroid kolestan (Jeffrey, *et.al.*, 2006). Adanya kerangka steroid kolestan didukung pula oleh spektrum 1H -NMR, dimana terdapat dua sinyal singlet dari metil tersier (0,98 dan 1,01), tiga sinyal dublet dari metil sekunder (δ_H 0,83, 0,90 dan 1,65), tiga proton olefinik [δ_H , 5,20 (1H, dd, $J=15,3$, 5,2 Hz), 5,22 (1H, dd, $J=15,5$, 4,2 Hz), dan 5,35 (1H, m)], satu proton sp^2 metilen (δ_H 4,70 (2H, s), dan satu proton teroksigenasi [δ_H 3,53 (1H, brs)] (Tabel 1).

Untuk menentukan posisi gugus fungsi pada struktur kimia isolat, percobaan 1H - 1H COSY (*Correlated Spectroscopy*) dan HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Connectivity*) dilakukan dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 2. Proton-proton pada C_1 - C_2 - C_3 - C_4 , C_6 - C_7 - C_8 - C_9 - C_{11} - C_{12} , dan C_{15} - C_{16} - C_{17} menunjukkan adanya korelasi, dengan demikian mendukung adanya kerangka steroid tetrasiklik dan rantai samping kolestan (Supratman, *et.al.*, 2001). Proton pada δ_H 1,07 dan 1,24 saling terjodoh dan berkorelasi dengan $C-3$ (δ_C 72,0) dan $C-10$ (δ_C 36,7), sedangkan proton pada δ_H 2,33 berkorelasi pada $C-3$ (δ_C 72,0) dan $C-5$ (δ_H 140,9), menunjukkan bahwa gugus hidroksi terletak pada $C-3$. Proton metin sp^2 pada δ_H 5,35 saling terjodoh dengan proton metilena pada δ_H 1,85 dan 1,96 serta berkorelasi

dengan $C-5$ (δ_H 140,9), $C-7$ (δ_C 31,9), dan $C-8$ (δ_C 32,1), dengan demikian menunjukkan bahwa salah satu gugus olefinik terletak pada $C-5$ dan $C-6$. Proton metilen sp^2 pada δ_H 4,70 berkorelasi dengan $C-25$ (δ_C 149,8) dan $C-24$ (δ_C 52,2) sedangkan metil proton pada δ_H 1,65 berkorelasi dengan $C-25$ (δ_C 149,8), menyarankan bahwa gugus olefinik lainnya terletak pada $C-26$ dan $C-25$. Dua proton metin sp^2 pada δ_H 5,20 dan 5,22 saling terjodoh dengan tetapan penjodohan 3J 15,2 menunjukkan bahwa adanya gugus *trans*-olefinik. Posisi gugus *trans*-olefinik tersebut ditetapkan berdasarkan korelasi HMBC antara proton olefinik pada δ_H 5,20 dengan $C-24$ (δ_C 52,2) sedangkan proton olefinik pada δ_H 5,22 berkorelasi dengan $C-20$ (δ_C 40,4), dengan demikian posisi gugus *trans*-olefinik terletak pada posisi $C-22$ dan $C-23$.

Stereokimia gugus hidroksi pada $C-3$, ditetapkan berdasarkan harga tetapan penjodohan proton pada $C-3$, dimana memiliki harga 3J 7,2 Hz, menunjukkan bahwa posisi proton 2 dan 3 berorientasi aksial-aksial, sedangkan gugus hidroksi pada $C-3$ berposisi ekuatorial (3β -) (Jeffrey, *et.al.*, 2006). Pengamatan ini bersama dengan kemiripan data spektra dan sifat-sifat fisikokimia antara isolat dan poriferasta-5,22*E*,25-trien- 3β -ol,22-dehidrokolesterol yang sebelumnya telah dilaporkan (Raederstorff & Rohmer, 1985), memberi dukungan kuat bahwa isolat merupakan poriferasta-5,22*E*,25-trien- 3β -ol,22-dehidrokolesterol, dimana senyawa tersebut baru pertama kali dilaporkan pada tumbuhan *K. serrata*.

4. SIMPULAN

Isolat berupa kristal jarum tak-berwarna dengan titik leleh 115-118 °C sebanyak 23 mg yang telah diisolasi dari daun segar *K.serrata* (14,87 Kg). Berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, HMQC, HMBC, 1H - 1H COSY diidentifikasi bahwa isolat merupakan senyawa poriferasta-5,22*E*,25-trien- 3β -ol,22-dihidroksilesterol, yang baru ditemukan pada genus *Kalanchoe* untuk pertama kali. Pencarian kandungan

senyawa metabolit sekunder lainnya dari daun *K. serrata* perlu dilakukan untuk mengetahui hubungan taksonomi dan aktivitasnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada DP2M Dikti atas bantuan dana penelitian atas nama (US), Drs. Joko Kusmoro, Staf Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran yang telah membantu dalam determinasi tumbuhan serta Sofa Fajriah, M.Si dan Ahmad Darmawan, M.Si, staf Pusat Penelitian Kimia, LIPI Serpong, Tangerang yang telah membantu dalam pengukuran spektra NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Costa, S.S., Jossang, A., and Bodo, B, 2006, 4''''Acetylsagittatin A, a Kaempferol Triglycoside from *Kalanchoe streptantha*, *J. Nat. Prod*, **59**, 327-329.
- Farnsworth, N.R. (1966), Biological and Phytochemical Screening of Plants, *J. Pharm. Sci.*, 55(3), 225-269.
- Gaind, C.A and Gupta, R.L., 1972, Alkanes, alkanols, triterpenes, and sterols of *Kalanchoe pinnata*, *Phytochemistry*, **11**, 1500-1502.
- Gao, H., Popescu, R., Kopp, B and Wang, Z., 2011, "Bufadienolides and their antitumor activity", *Nat. Prod. Report*.
- Heyne. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid II. diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta, Yayasan Sarana Warna Jaya, Jakarta. 1029-1031.
- Hutapea, J.R., 1994. Inventory of Indonesian Medicinal Plants, Vol.3. Research and Development Agency, Ministry of Health, Jakarta Indonesia, (pp. 117-118).
- Jeffrey, D., Leblond, A., Mario, R., Sengco, b., James, O., Sickman, C., 2006, sterols of the syndinian dinoflagellate amoebophrya sp., a parasite of the dinoflagellate alexandrium tamarense (dinophyceae), *J. eukaryot. microbiol.*, 53(3), 211-216.
- Kuo, P.C., Kuo, T.H., Su, C.R., Liou, M.J., and Wu, T.S, 2008, Cytotoxic principles and α -pyrone ring-opening derivatives of bufadienolides from *Kalanchoe hybrida*, *Tetrahedron*, **64**, 3392-3396.
- Lans, C.A., 2006. "Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus". *Journal of ethnobiology and ethnomedicine* **2**: 45.
- Muzitano, M.F., Tinoco, L.W., Guette, C., Kaiser, C.R., Bergmann, B.R., and Costa, S.S, 2006, The antileishmanial activity assesment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*, *Phytochemistry*, **67**, 2071-2077.
- Okwu, D.E., and Nnamdi, F.U., 2011, Two novel flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and their antimicrobial Activity. *J. Chem. Pharm. Res.*, 3(2):1-10.
- Raederstorff, D and Rohmer, M (1985), Sterol biosynthesis de novo via cycloartenol by the soil amoeba *Acanthamoeba polyphaga*, *Biochem. J*, 231, 609-615.
- Sunset Western; 2001, "*Kalanchoe*". Oxford English Dictionary. Oxford University Press. 3rd ed.
- Supratman, U., Fujita, T., Akiyama, K., and Hayashi, H., 2001, Insecticidal compounds from *Kalanchoe daigremontiana* x *tubiflora*, *Phytochemistry.*, **58**, 311-314.
- Supratman, U., Fujita, T., Akiyama, K., Hayashi, H., 2000. New insecticidal bufadienolide, bryophyllin C, from *Kalanchoe pinnata*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 1309-1311.