

Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage: http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/



Isolation and Characterization of Chemical Compounds From n-Hexane Extract of Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.) Leaves

Mutakin*, Wina Yunita, Titi W. Nikodemus

Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

Submitted 25 February 2021; Revised 03 March 2021; Accepted 4 March 2021; Published 21 June 2021 *Corresponding author: mutakin@unpad.ac.id

Abstract

Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.) (Rutaceae) is one of Indonesia's native plants, which comes from Papua which is widely used as traditional medicine. Empirically, zodia leaves are used as anti-mosquitoes, dysentery drugs, boiled bark is useful as a reliever for malaria fever, leaf decoction is used as a tonic, and increases stamina. Until now, no investigation has been carried out for the main compounds of the zodia leaf n-hexane extract which have proven activity. Therefore, it was done the isolation and characterization of the main compound in the zodia leaf n-hexane extract (*Evodia suaveolens* Scheff.). Zodia leaves were extracted with n-hexane using the Soxhlet apparatus. The n-hexane extract was fractionated using column chromatography with a gradient of n-hexane-chloroform mixture. Isolates were isolated in the form of white needle crystals which were purified by washing with n-hexane. Isolates was characterized by analyzing various UV, IR 1D and 2D NMR spectrometry data which were confirmed by analyzing the mass spectrum. Based on the results of spectrometric analysis, it is known that the isolate is thought to be a triterpenoid compound, namely neohop-e13 (18) -ene-3α-ol.

Keywords: *Evodia suaveolens*, neohope-13(18)-ene-3α-ol, triterpenoid

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Kimia Ekstrak n-Heksan Daun Zodia (Evodia suaveolens Scheff.)

Abstrak

Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.) (Rutaceae) merupakan salah satu tumbuhan asli Indonesia, yaitu berasal dari Papua yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Secara empirik daun zodia digunakan sebagai anti nyamuk, obat disentri, rebusan kulit batangnya bermanfaat sebagai pereda demam malaria, rebusan daun dipakai sebagai tonik, dan penambah stamina tubuh. Sampai saat ini belum dilakukan penelusuran senyawa utama dari ekstrak n-heksan daun zodia yang terbukti memiliki aktivitas. Oleh karena itu dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa utama dalam ekstrak n-heksan daun zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.). Daun zodia diekstraksi dengan n-heksan menggunakan alat Soxhlet. Ekstrak n-heksan difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan campuran n-heksan-kloroform secara gradien. Isolat telah diisolasi berbentuk kristal jarum berwarna putih yang dimurnikan melalui pencucian dengan n-heksan. Isolat dikarakterisasi dengan menganalisis berbagai data spektrometri UV, IM, RMI 1D dan 2D yang dikonfirmasi dengan menganalisis spektrum massa. Berdasarkan hasil analisis spektrometri diketahui bahwa isolat merupakan senyawa triterpenoid yaitu neohop-13(18)-ene-3α-ol.

Kata Kunci: Evodia suaveolens, neohop-13(18)-en-3α-ol, triterpenoid

1. Pendahuluan

Zodia (Evodia suaveolens Scheff.) (Rutaceae) merupakan salah satu tumbuhan asli Indonesia, yaitu berasal dari Papua yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Secara empirik daun zodia digunakan sebagai anti nyamuk, obat disentri, rebusan kulit batangnya bermanfaat sebagai pereda demam malaria, rebusan daun dipakai sebagai tonik, dan penambah stamina tubuh. Perkembangbiakannya sangat mudah yaitu dengan menggunakan biji atau stek batang. 1-6

Penelitian mengenai zodia masih sangat terbatas, terutama dilihat dari kandungan kimia maupun aktivitas biologisnya. Dalam Dictionary of Natural Products maupun pustaka lainnya belum dapat ditemukan hasil penelitian tumbuhan ini. Penelitian sejauh ini hanya sebagai anti nyamuk dan kandungan minyak atsirinya yang diketahui adalah linalool (46%) dan α-pinen.⁷ Aktivitas farmakologis dari daun zodia diperkirakan dihasilkan dari minyak atsiri yang akan terdapat pelarut non polar⁷, oleh karena itu penelitian ini akan difokuskan pada senyawa kimia utama yang terdapat pada ekstrak n-heksan sebagai pelarut yang baik dalam melarutkan minyak atsiri.

Mengingat banyaknya khasiat serta penggunaan sebagai obat tradisional oleh masyarakat dan hal ini tentunya merupakan efek dari senyawa kimia yang terkandung di dalamnya, maka diperlukan penelitian yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Oleh karena itu dilakukan penelitian yang bertujuan mengetahui senyawa kimia utama (major compound) yang terkandung dalam ekstrak n-heksan daun zodia serta metode isolasi dan karakterisasi dari senyawa tersebut.

2. Metode

2.1. Alat

Alat Soxhlet, rotary evaporator (Buchi), lampu ultraviolet (Camag UV-Betrachter), kolom kromatografi, spektrofotometer ultraviolet (Specord 200 Analytic Jena), spektrofotometer infra merah (FT-IR 8400 Shimadzu), kromatografi cair kinerja tinggi (Shimadzu LC 10 VP), spektrometer

massa (Shimadzu GC-17, QP-5000 series), spektrofotometer resonansi magnet inti (JOEL).

2.2. Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun zodia, metanol (Merck), n-heksan (Merck), kloroform (Merck), toluen (Merck), aseton (Merck), eter (Merck), etil asetat (Merck), asetonitril (Merck), asam klorida (Merck), gelatin (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Dragendorff, pereaksi vanilin-asam sulfat, tetrametil silen, silika gel 60 F254 (Merck), silica gel pro column 60 mesh (Merck), semua bahan kecuali dinyatakan lain memiliki grade pro-analisis.

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Determinasi Tumbuhan dan Ekstraksi

Tumbuhan zodia dideterminasi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran. Serbuk simplisia daun zodia diekstraksi secara sinambung menggunakan alat ekstraksi Soxhlet dengan cairan penyari n-heksan. Simplisia yang telah ditimbang, dimasukkan ke dalam labu Soxhlet. Ekstraksi dilakukan sampai tetesan pelarut hampir tidak berwarna. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator (40 sampai 50°C) dengan kecepatan putar 40 rpm sehingga diperoleh ekstrak kental, penguapan dilanjutkan di atas penangas air pada suhu 40°C sampai berat ekstrak konstan dan dihitung rendemennya.

2.3.2. Penapisan Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak. Metode yang digunakan adalah metode Farnsworth. Kromatografi lapis tipis ekstrak n-heksana dilakukan dengan menggunakan fase diam silika gel 60 F254, fase gerak: n-heksan:kloroform (2:8) dan dideteksi menggunakan sinar tampak, sinar UV 366 nm, penampak bercak vanillinasam sulfat kemudian diikuti pemanasan pada 100 sampai 105°C.

2.3.3. Isolasi dan Karakterisasi Isolat

Fraksinasi ekstrak dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan kondisi:

Tinggi kolom : 40 cm Diameter kolom : 4 cm

Fase diam : silika gel pro column

60 mesh

Fase gerak : n-heksana : kloroform

Sistem elusi : gradien

Pengemasan kolom dilakukan dengan melarutkan 214,63 g silika gel dalam gelas piala dengan fase gerak. Kemudian dituangkan secara perlahan-lahan ke dalam kolom sampai batas tertentu dan tidak terputus-putus. Silika dibiarkan turun sambil mengetuk-ngetuk dinding kolom, sehingga diperoleh kolom yang mampat dan kelebihan pelarut dikeluarkan melalui keran. Sebanyak 16.92 g ekstrak n-heksana digerus dengan silika gel sampai menjadi serbuk homogen. Kemudian diletakkan di atas sedemikian rupa sehingga terbentuk pita yang siap untuk dielusi. Bagian atas sampel ditutup kembali dengan silika gel. Sampel dibiarkan meresap dulu ke dalam kolom, baru proses kromatografi dimulai yaitu mengelusi dengan campuran pelarut n-heksana : kloroform dalam 11 perbandingan (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10). Fraksi yang keluar ditampung dan dilakukan pemantauan terhadap fraksi menggunakan kromatografi lapis tipis.

Kromatografi lapis tipis fraksi dilakukan dengan menggunakan fase diam silika gel 60 F254, fase gerak: toluene:aseton (99:1) dan dideteksi menggunakan sianr tampak, sinar UV 366 nm, penampak bercak vanillin-asam sulfat kemudian diikuti pemanasan pada 100 sampai 105°C. Fraksi dengan rendemen yang besar kemudian dilarutkan kembali dalam n-heksana pro analysis, dan diperoleh dua bagian. Bagian yang larut didekantasi, sedangkan endapan yang diperoleh dilarutkan kembali atau dilakukan pencucian dengan n-heksana. Pencucian ini dilakukan berulang kali sampai didapat endapan yang benarbenar terbebas dari bagain yang larut dalam n-heksana. Masing-masing bagian dipantau kembali menggunakan kromatografi lapis tipis dengan pengembang toluen : aseton (98:2). Isolat yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji golongan dengan pereaksi Liebermann-Burchard, kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometri ultraviolet, spektrofotometri inframerah, spektrometri massa, dan spektrometri resonansi magnet inti (¹H-RMI, ¹³C-RMI, COSY, HMQC, dan HMBC).

3. Hasil

3.1. Determinasi Tumbuhan dan Ekstraksi

Hasil determinasi menunjukkan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian termasuk famili Rutaceae, genus Evodia, spesies *Evodia suaveolens* Scheff. var. ridleyi (Hochr.) Bakh.f. Sebanyak 533 g serbuk daun zodia diekstraksi dengan alat Soxhlet sehingga diperoleh ekstrak berwarna hijau tua dengan rendemen 3,17 %.

3.2. Penapisan Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak dengan pengembang n-heksan: kloroform (2:8) dapat dilihat pada Tabel 2.

3.3. Isolasi dan Karakterisasi Isolat

Sebanyak 16 g ekstrak n-heksan difraksinasi menggunakan kromatografi kolom, dielusi secara gradien dengan n-heksan: kloroform dan diperoleh 75 fraksi. Fraksi yang diperoleh dianalisis kembali menggunakan kromatografi lapis dengan pengembang toluen: aseton (99:1) dan diperoleh 11 fraksi gabungan dengan pola bercak yang sama. Fraksi I (2,2017 g) dan fraksi J (0,6856 g) diisolasi lebih lanjut karena memiliki rendemen yang relatif lebih besar dan pola bercak yang terlihat relatif lebih mudah terpisah, yaitu melalui pencucian dengan n-heksan pro analysis. Hasil pencucian dianalisis kembali menggunakan kromatografi lapis tipis. Endapan yang diperoleh dari fraksi-fraksi tersebut larut dalam kloroform dan keduanya memberikan hasil satu bercak

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak n-Heksan

Golongan	Simplisia	Ekstrak n-Heksan
Alkaloid	+	-
Flavonoid	+	-
Polifenol	+	-
Tanin	-	-
Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid	+	+
Steroid	-	-
Triterpenoid	+	+
Kuinon	-	-
Saponin	-	-

Keterangan: (+): Terdeteksi; (-): Tidak terdeteksi

(Rf = 0,3) dengan pengembang toluen : aseton (99:1) yang dapat dilihat pada Tabel 3. Setelah pelarutnya menguap isolat diperoleh kembali dalam bentuk kristal jarum berwarna putih.

Analisis kualitatif isolat dilakukan dengan metode spektrofotometri UV dengan hasil isolat memiliki panjang gelombang maksimum pada 205 nm. Pengukuran isolat dengan spektrofotometri infra merah menunjukkan adanya serapan pada 3468cm-1, 2946cm-1, 2856cm-1,1632cm-1, 1464cm-1, 1378cm-1 dan 1068 cm-1. Pengukuran dengan spektrometri masa menghasilkan adanya fragmen ion (M+1) 427 dan (M+2) 428 yang berasal dari isotop oksigen. Hasil pengukuran dengan spektrofotometri UV, IR dan MS dapat dilihat pada Gambar 1. Pengukuran ¹³C-RMI,

¹H-RMI, 2D-COSY, 2D-HMQC, 2D-HMBC memberikan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 4.

4. Pembahasan

4.1. Determinasi Tumbuhan dan Ekstraksi

Hasil determinasi menunjukkan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian termasuk famili Rutaceae, genus Evodia, spesies *Evodia suaveolens* Scheff. var. ridleyi (Hochr.) Bakh.f. Ekstraksi yang dilakukan pada serbuk daun zodiac memberikan nilai rendemen 3.17%.

4.2. Penapisan Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia diketahui terdeteksi adanya golongan alkaloid,

Tabel 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak n-Heksan Daun Zodia

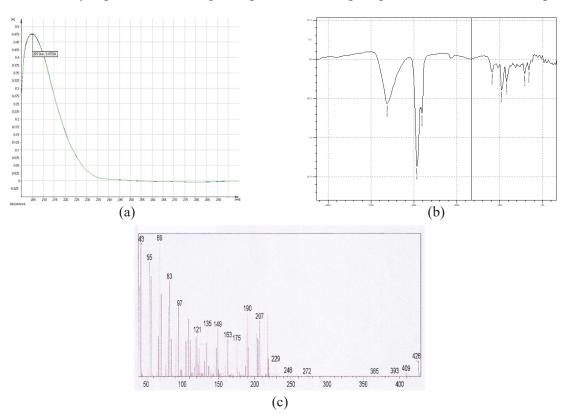
Bercak	Rf -	Warna				
Вегсак	KI	Sinar tampak	Sinar UV 366 nm	Vanilin-asam sulfat		
1	0,9	kuning	coklat	ungu		
2	0,79	-	merah	ungu		
3	0,68	hijau tua	hitam kehijauan	hijau		
4	0,61	-	-	ungu		
5	0,56	-	ungu	hijau muda		
6	0,52	hijau tua	merah tua	hijau tua		
7	0.45	hijau tua	merah tua	hijau tua		
8	0,34	kuning	merah	abu-abu		
9	0,22	-	merah	abu-abu		

Tabel 3. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi I dan Fraksi J

Fraksi	Rf Fraksi I	Rf Fraksi J	Warna Fraksi I		Warna Fraksi J	
			UV 366 nm	Vanilin- Asam Sulfat	UV 366 nm	Vanilin- Asam Sulfat
Awal	0,87	0,87	biru	hijau-ungu	biru	hijau-ungu
	0,8	0,8	biru	-	biru	-
	0,6	0,6	-	ungu	-	ungu
		0,4			-	biru
Bagian n-Heksan	0,87	0,87	biru	hijau-ungu	biru	hijau-ungu
	0,8	0,8	biru	-	biru	-
		0,4			-	biru
Bagian Klorofom	0,6		-	ungu		

flavonoid, polifenol, monoterpenoid dan seskuiterpenoid serta triterpenoid. Hasil KLT yang dilakukan pada ekstrak memperlihatkan adanya 9 bercak yang memberikan warna berbeda pada sinar UV 366 nm sesuai pada Tabel 2 yang menunjukkan adanya senyawa golongan triterpenoid.

4.3. Isolasi dan Karakterisasi Isolat Isolat yang secara organoleptik berbentuk kristal jarum berwarna putih diduga merupakan suatu senyawa triterpenoid. Selain uji golongan dengan pereaksi Liebermann-Burchard yang memberikan hasil positif (ungu)⁸, isolat memiliki panjang gelombang maksimum pada 205 nm (λ maks triterpenoid: 190-210 nm).⁹ Isolat juga memiliki beberapa pita serapan pada spektrum IM yang umumnya dimiliki senyawa triterpenoid. Pita serapan pada 1378,63 cm⁻¹ merupakan



Gambar 1. Spektrum dari Spektrofotometri UV-Visibel (a), Spektrofotometri Infra Merah (b) dan Spektrometri Masa (c) dari Isolat

Tabel 4. Hasil Pengukuran Spektrometri RMI 1D dan 2D

No	ін рмі	¹³ C RMI/ HMQC	DEPT	COSY	HMBC	
	¹H-RMI				² Jсн	³ Ј СН
1a	1,28 ddd	33,7	CH2	H2b	C2, C10	-
1b	1,49 ddd	-	-	H2a	-	-
2a	1,54 m	25,5	CH2	Н1ь, Н3β	C1, C3	C4, C10
2b	1,58 m	-	-	H1a	-	-
3β	3,39 t	76,3	СН	H2a, H2b	-	C1, C5, C23, C24
4	-	37,6	C	-	-	-
5	1,21 dd	49,4	СН	Н6	C4, C6, C10	C3, C9, C24, C7
6a	1,43 m	18,5	CH2	H7b, H5	C7	C4
6b	1,47 m	-	-	H7a	-	-
7a	1,59 ddd	34,4	CH2	H6b	C6, C8	C5, C9
7b	1,62 ddd	-	-	Н6а	-	-
8	-	41,5	C	-	-	-
9	1,45 dd	52,0	СН	H11a, H11b	C10, C8	C5, C11, C14, C26
10	-	42,7	C	-	-	-
11a	1,92 m	26,7	CH2	H12b	C9, C12	-
11b	2,19 m	-	-	-	-	-
12a	1,84 m	27,6	CH2	H11b	C13	C18
12b	1,88 m	-	-	-	-	-
13	-	131,6	C	-	-	-
14	-	37,6	C	-	-	-
15	1,24 m	29,3	CH2	H16	C14, C16	-
16a	1,27 ddd	38,0	CH2	H15b	C17	C18, C28
16b	1,78 ddd	-	-	H15a	-	-
17	-	42,5	C	-	-	-
18	-	141,2	С	-	-	-
19a	2,29 m	26,5	CH2	H20b	C18	C13, C21
19b	2,32 m	-	-	H20a	-	-
20a	1,35 m	29,7	CH2	H19b	C21, C19	-
20b	1,57 m	-	-	H19a	-	
21	1,04 q	59,2	СН	H22, H20a	C17, C22	C29, C30, C28
22	1,56 oktet	29,9	СН	H29, H30, H21	C21, C29, C30	-
23	0,94 s	28,3	СН3	-	C4	C3, C5
24	0,82 s	22,2	СН3	-	C4	C3, C5
25	0,83 s	16,6	СН3	-	-	C1, C9
26	0,85 s	18,7	СН3	-	C8	C7
27	1,1 s	26,8	СН3	-	C14	C13, C15,C21
28	0,79 s	17,9	СН3	-	C17	C16, C21, C18
29	0,88 d (<i>J</i> =6,7 Hz)	23,2	СН3	H22	C22	C21, C30
30	0,92 d (<i>J</i> =6,7 Hz)	22,9	СН3	H22	C22	C21, C29

pita serapan khas untuk vibrasi regang gugus gem dimetil dari golongan triterpenoid⁹, pita serapan pada 1068,82 cm⁻¹ merupakan pita serapan untuk CH₂ sistem lingkar triterpenoid⁹, dan daerah sidik jari 900 - 1400 cm⁻¹ juga menunjukkan pola yang sama dengan senyawa triterpenoid. Selain itu isolat juga memiliki spektrum ¹H-RMI yang khas untuk golongan triterpenoid yaitu mempunyai geseran proton yang rapat di bawah 2,4 ppm. Spektrum ¹³C-RMI dan DEPT menunjukkan isolat memiliki 30 atom karbon. Informasi ini juga menguatkan dugaan isolat, karena secara biosintesis triterpenoid dibentuk dari 6 unit isopren (C5). ¹⁰

Berdasarkan spektrum ¹³C-RMI dan DEPT diketahui bahwa isolat 8 metil (CH₃) yang juga ditunjukkan oleh spektrum ¹H-RMI, 10 metilen (CH₂), 5 metin (CH), dan 7 karbon kuartener (C). Sedangkan spektrum massa menunjukkan bahwa isolat memiliki berat molekul (M⁺) 426. Analisis lebih lanjut pada spektrum ¹³C-RMI menunjukkan adanya satu atom karbon yang teroksigenasi pada geseran 76,3 ppm yang juga ditunjukkan oleh spektrum ¹H-RMI dengan adanya sinyal proton pada geseran 3,3 ppm berasal dari proton yang dekat dengan atom elektronegatif.10 Keberadaan atom oksigen ini juga ditunjukkan oleh spektrum massa dengan adanya fragmen ion (M+1) 427 dan (M+2) 428 yang berasal dari isotop oksigen.

Berdasarkan informasi di atas diketahui isolat memiliki struktur molekul C30H50O dengan nilai DBE (double bond equivalent) sebesar 6. Dengan demikian isolat memiliki kerangka dasar 5 cincin dengan satu ikatan rangkap. Ikatan rangkap ditunjukkan dengan adanya 2 sinyal karbon sp² pada geseran 131 dan 141 ppm yang berasal dari karbon kuartener (sinyal tidak muncul pada DEPT). Selain itu juga ditunjukkan oleh spektrum UV yaitu hanya memiliki satu λ maks pada 205 nm yang dihasilkan oleh transisi elektron dari ikatan rangkap yang terisolasi (ikatan rangkap terkonjugasi menyerap pada panjang gelombang lebih tinggi). 10 Spektrum IM juga menunjukkan keberadaan ikatan rangkap dengan adanya pita serapan pada bilangan

gelombang 1632,27 cm⁻¹ yang berasal dari vibrasi regang C=C.¹⁰

Spektrum IH-RMI menunjukkan 6 proton metil singlet pada δ H 0,94 ppm (H-23), 0,82 ppm (H-24), 0,83 ppm (H-25), 0,85 ppm (H-26), 1,1 ppm (H-27), 0,79 ppm (H-28). Proton metil doublet ditunjukkan pada δ H 0,88 ppm; J = 6,7 Hz (H-29), 0,92 ppm; J = 6,7 Hz (H-30). Proton metin triplet pada δ H 3,39 ppm berasal dari proton karbinolik yang diduga berada pada posisi C-3. Proton metin dengan multiplisitas oktet pada δ H 1,56 ppm diduga berada pada posisi C-22. Proton metin dan metilen lain sangat kompleks dan beresonansi pada δ H 1,2-2,3 ppm.

Isolat diduga termasuk ke dalam triterpen hopanoid yang teroksigenasi. Hal ini disimpulkan dengan adanya rantai samping (R) isopropil pada posisi C21 yang ditentukan berdasarkan analisis data spektrum HMQC, COSY, dan HMBC. Atom oksigen pada isolat berasal dari gugus -OH yang ditunjukkan oleh spektrum IM dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3468,52 cm⁻¹ yang berasal dari vibrasi regang O-H.¹¹

Penentuan urutan dari atom karbon dilakukan dengan bantuan spektrum COSY dan HMBC, yang sebelumnya masingmasing karbon telah ditentukan proton pasangannya dengan bantuan HMQC. Selain itu juga dilakukan dengan membandingkan harga δC karbon isolat dengan atom-atom karbon dari senyawa hopanoid lainnya. Penentuan struktur isolat dimulai dari sinyal yang paling mudah yaitu dari sinyal proton triplet pada geseran (δH) 3,3 ppm dengan geseran karbon δC 76,3 ppm yang berasal dari proton karbinolik yang diduga terletak pada posisi 3. Tetapan penjodohan yang kecil dari proton karbinolik menunjukkan posisi proton karbinolik berada pada orientasi sedangkan gugus hidroksil terorientasi pada posisi a (posisi α J di bawah 6 Hz, posisi β J di atas 10 Hz).^{10,11} Selain itu, atom-atom karbon C1, C2, C3, dan C5 memiliki geseran sinyal yang lebih kecil (lebih shielded) dan karbon C24 memiliki geseran sinyal lebih besar (lebih deshielded) dibandingkan dengang gugus hidroksil yang terorientasi pada posisi β.¹¹⁻¹³

Proton H3 memberikan korelasi

HMBC dengan karbon metilen δC 33,7 ppm (δH 1,28 & 1,49 ppm) dan korelasi COSY dengan proton pada geseran δH (1,54 & 1,58 ppm) (δC 25,5 ppm), menunjukkan secara berurutan kedua metilen tersebut berada pada posisi 1 dan 2, yang dipertegas dengan adanya korelasi COSY H2 dengan H3 dan sebaliknya. Adanya dua geseran proton yang dimiliki proton metilen sebagai akibat dari orientasi aksial dan ekuatorial dari masingmasing proton metilen tersebut. Dua proton metil singlet pada geseran δH 0,94 ppm (δC 28,3 ppm) dan δH 0,82 ppm (δC 22,2 ppm) keduanya memiliki korelasi HMBC dengan karbon kuartener pada δC 37,6 ppm menunjukkan kedua metil tersebut terikat pada karbon kuarterner yang sama (gem dimetil). Spektrum HMBC juga menunjukkan adanya korelasi HMBC dari kedua proton metil tersebut dengan C3 dan sebaliknya sehingga diduga berada pada posisi 4 seperti yang umum terdapat pada senyawa triterpenoid. Masing-masing metil di atas secara berurutan berada pada posisi 23 dan 24. Proton metil singlet δH 0,85 ppm (δC 18,7 ppm) memiliki korelasi HMBC dengan karbon kuartener δC 41,5 dan karbon metilen δC 34.4 ppm (δH 1,59 & 1,62 ppm). Ketiganya secara berurutan menunjukkan posisi 26, 8, dan 7. Adanya korelasi HMBC proton metilen H7 dengan C8 dan C6 dan korelasi COSY dengan proton H6 mempertegas kedudukan metilen ini pada posisi 7. Proton metil singlet δH 0,83 ppm (δC 16,6 ppm) memiliki korelasi HMBC dengan C9 dan C1 sehingga menunjukkan kedudukannya pada posisi 25. Korelasi HMBC yang ditunjukkan proton metil singlet δH 1,1 ppm (δC 26,8 ppm) terhadap karbon kuartener δC 37,6 ppm dan δC 131,6 dengan kontur HMBC yang lebih besar terhadap karbon kuartener δC 37,6, memberikan gambaran keduanya secara berurutan berada pada posisi 14 dan 13. Sedangkan metilnya diduga pada posisi 27, karena adanya korelasi HMBC terhadap C8.

Proton metilen δH (1,92 & 2,19 ppm) (δC 26,7 ppm) menunjukkan korelasi HMBC dengan C10 dan dengan karbon metilen δC 27,6 ppm (δH 1,84 & 1,88 ppm) yang protonnya berkorelasi HMBC dengan

C13. Informasi ini memberikan gambaran keduanya berada pada posisi 11 (δC 26,7 ppm) dan 12 (δC 27,6 ppm). Proton metilen H12 memberikan korelasi yang lebih lemah terhadap karbon kuartener 141 dibandingkan terhadap karbon kuartener pada posisi 13. Dengan demikian diduga karbon kuartener 141,2 berada 3 ikatan dari H12 yaitu pada posisi 18. Posisi ikatan rangkap ini diperkuat dengan tidak adanya sinyal dari proton oleofenik yang muncul di sekitar geseran 5 ppm maupun pita serapan dari C-H oleofenik yang menyerap dengan intensitas lemahsedang pada bilangan gelombang 3000-3100 cm-1 14. Pada spektrum HMBC proton metil singlet $\delta H 0,79 \text{ ppm } (\delta C 17,9 \text{ ppm})$ memberikan korelasi selain terhadap karbon C18 juga terhadap karbon kuartener δC 42,5 ppm. Karbon kuartener ini diduga pada posisi 17 dan metilnya pada posisi 28. Proton metil ini juga memberikan korelasi HMBC dengan metilen δH (1,27 &1,78 ppm) (δC 38.0 ppm) dan metin δH 1,04 ppm (δC 59,2 ppm) dengan kontur yang sama besar dan diasumsikan keduanya berada pada jarak ikatan yang sama terhadap H28 yaitu secara berurutan pada posisi 16 dan 21. Posisi ini tidak mungkin berkebalikan karena sangat sulit dijelaskan secara biogenesis, meskipun diduga berasal dari senyawa yang benar-benar baru.

Isolat memiliki rantai samping isopropil yang terikat pada karbon C21. ¹H-RMI menunjukkan adanya dua sinyal metil yang memiliki multiplisitas doublet dengan tetapan penjodohan yang sama sebesar J=6,7 Hz. Ini menunjukkan kedua metil tersebut terikat pada karbon metin yang sama (gem dimetil). Kedudukan rantai samping ini, diperkuat dengan adanya korelasi HMBC dari kedua proton metil doublet δH 0,88 ppm (δC 23,2 ppm; J = 6.7 Hz) dan $\delta H 0.94 \text{ ppm}$ ($\delta C 22.9$ ppm J = 6,7 Hz) terhadap C21 dan sebaliknya. Proton-proton metil ini juga berkorelasi dengan karbon metin oktet δH 1,56 ppm (δC 29,9 ppm) yang diduga berada pada posisi 22. Korelasi COSY dari H29, H30, H22, dan H21 menguatkan dugaan adanya rantai samping isopropil pada posisi 21. Karbon C21 juga mendapat korelasi HMBC jarak jauh dari H27 dengan jarak lebih dari 3 ikatan. Pada

Gambar 2. Struktur kimia isolat (neohope-13(18)-ene- 3α -ol)

umumnya korelasi HMBC memberikan gambaran adanya interaksi antara proton dengan karbon yang berjarak 2-3 ikatan. Walaupun demikian interaksi HMBC lebih dari tiga ikatan mungkin terjadi karena adanya konformasi 3D (konformasi ruang). Dengan demikian diduga proton H27 dengan karbon C21 secara stereokimia memiliki konformasi yang berdekatan. 14,15

Proton metilen δH (2,29 & 2,32 ppm) (δC 26,5 ppm) memberikan korelasi HMBC dengan karbon C18, C13 (kontur yang lebih kecil dibandingkan kontur terhadap C18), serta C21. Hal ini menunjukkan kedudukannya pada posisi 19. Sedangkan proton metilen δH (1,35 & 1,57 ppm) (δC 29,7 ppm) memiliki korelasi HMBC dengan C19 dan C21, menunjukkan kedudukannya pada posisi 20 yang dikuatkan dengan korelasi COSY dari ketiganya.

Pemastian kedudukan dari masingmasing karbon dilakukan berdasarkan korelasi yang diberikan pada spektrum COSY. Hal ini dikarenakan kompleksnya bentuk kontur yang terjadi sebagai akibat interaksi yang kompleks dalam senyawa triterpenoid. Spektrum COSY menunjukkan adanya korelasi antara H3 dengan H2, H2 dengan H1, H21 dengan H20 dan H22, H22 dengan H29 dan H30 dengan H1, H21 dengan H20 dan H22, H22 dengan H29 dan H30.

Berdasarkan hasil interpretasi berbagai data spektrum dan hasil reaksi kimia, isolat merupakan senyawa neohope-13(18)-ene-3α-ol dengan struktur kimia yang dapat dilihat pada Gambar 2. Hal ini diperkuat dengan adanya kemiripan geseran metil pada isolat (neohope-13(18)-ene-3α-ol) dengan geseran metil pada senyawa neohop-13(18)-ene.

5. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diketahui

bahwa senyawa triterpenoid merupakan senyawa utama (major compound) dalam ekstrak n-heksan. Hasil karakterisasi isolat dengan menginterpretasi data spektrum UV, IM, ¹H-RMI, ¹³C-RMI, COSY, HMQC, dan HMBC serta dipastikan dengan menganalisis spektrum massa menunjukkan bahwa isolat termasuk dalam golongan triterpen hopanoid dan diduga terkarakterisasi sebagai Neohope-13(18)-ene-3α-ol. Hasil perbandingan geseran proton, geseran karbon dan pola fragmentasi dengan senyawa hopanoid lain, isolat menunjukkan kemiripan paling besar dengan senyawa Neohope-13(18)-ene.

Daftar Pustaka

- 1. R1. Guastaldi R, Reis A, Figueras A, Secoli S. Prevalence of potential drug-drug interactions in bone marrow transplant patients. Int J Clin Pharm. 2011;33(6):1002-9.
- 2. L. Susanti, H. Boesri. Toksisitas Biolarvasida Ekstrak Tembakau dibandingkan dengan Ekstrak Zodia terhadap Jentik Vektor Demam Berdarah Dengeu (Aedes Aegypti). Bul. Pen. Kes. 2012;40:75-84,
- 3. 3. Evi Mintowati Kuntorini E.M, Nofaliana D., and Pujawati E.D, Anatomical Structure and Terpenoid Content of Zodia (Evodia suaveolens Scheff) Leaves, BIO Web of Conferences, 2020; 20:03001
- 4. 4. Mirawati P, Simareme E.V, Pratiwi R.D. Uji Efektivitas Repellent Sediaan Lotion Kombinasi Minyak Atsiri Daun Zodia (Evodia suaveolens Scheff) dan minyak atsiri batang serai (Cymbopogon citratrus) terhadap Nyamuk Aedes aegypti L, Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia,2018; 15(1):1-15
- 5. 5. Lestari, F.D dan Simareme E,S, Uji

- Potensi Minyak Atsiri daun Zodia (Evodia suaveolens Scheff) sebagai insektisida nyamuk Aedes Aegypti dengan metode elektrik, Pharmacy, 2017;14(1): 1-10
- 6. 6. Simareme E.S., Manurung, L., Gunawan E, dan Maryuni, A.E, Zodia (Evodia suaveolens Scheff) in liquid soap as repellent against Aedes aegypti K. Advances Scienes Letters, 2018; 24:91-94
- 7. 7. Kardinan, A. 2004. Zodia (Evodia suaveolens): Tanaman Pengusir Nyamuk. www.litbang.deptan.go.id, diakses 11 Februari 2020
- 8. 8. Farnsworth, N.R. Biological and Phytochemical Screening of Plant. J. Pharm. Sci. 1966; 55(3): 243-269
- 9. 9. Branco, Alexandro, A. Pinto, Ramundo B. F. Chemical Constituens from Vellozia graminifolia (Velloziaceae). An. Acad. Braz. Cienc. 2004;76(3): 505-518
- 10. Akihisa, Toshihiro & L. John Goad. Analysis of Sterols. Blackie Academic & Professional. Tokyo. Japan. 1997; 2:23-39
- 11. 11. Sanora, G., Mastura, E. Y., Handoyo, M. O. M., & Purnama, E. R. Identification

- of Anticancer Active Compound from GC-MS Test Results of Zodia Leaves (Evodia suaveolens) Ethanol Extract. Jurnal Biota, 2019;5(2):89-95.
- 12. 12. Gunawidjaja N.P., An Overview of Nuclear Magnetic Resonance, Integral, 2013; 11(1):27-39
- 13. 13. Liang Q., Wang Q., Wang Y., Wang Y.N., Hao.J., Jiang M. Quantitative 1H-NMR Spectroscopy for Profiling Primary Metabolites in Mulberry Leaves, Molecules, 2018; 23(3):554
- 14. 14. Hadi M., , Setiyadi D., Mawarni A., Martini M. , Sutiningsih D., Suwondo A., Potential of Zodia Leaf Extracts of Hexane Solvent in Reducing Aedes aegypti Density: Semi-Field Trial Application in Endemic Areas of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), Annals of Tropical Medicine & Public Health, 2021;24(1):1-7
- 15. 15. Ngibad K., Lestari L.P., ISSN: 2085-4714 161 Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Zodia (Evodia suaveolens), As-Syifaa Jurnal Farmasi, 2019; 11 (2):161-168