



LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING

**SENYAWA-SENYAWA PENGENDALI HAMA
DARI TUMBUHAN KOKOSAN
(*Lansium domesticum* Corr cv *kokossan*),**

Oleh

**Dr. Tri Mayanti, (Ketua)
Hikmat Kasmara, MS (Anggota)
Rani Maharani, MSi (Anggota)
Dr. Unang Supratman (Anggota)**

**DIBIYAI OLEH DANA DIPA UNIVERSITAS PADJADJARAN
SESUAI DENGAN SURAT KEPUTUSAN REKTOR UNIVERSITAS PADJADJARAN
NOMOR: 1159/H6.1/Kep/HK/2009
TANGGAL 14 APRIL 2009**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PADJADJARAN
NOVEMBER, 2009**

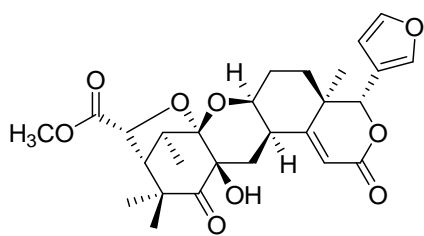
ABSTRAK

Lansium domesticum Corr adalah tumbuhan tinggi yang termasuk famili Meliaceae dan terdistribusi luas di Asia Tenggara. Tumbuhan-tumbuhan yang tergolong kepada famili Meliaceae ini dikenal sebagai penghasil zat-zat yang bersifat *antifeedant* dan pengendali pertumbuhan serangga dengan toksisitas yang rendah terhadap mamalia.

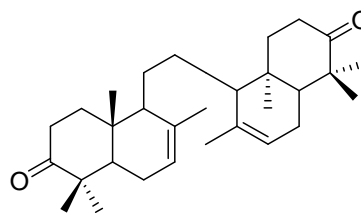
Dalam penelitian senyawa pengendali hama baru dari tumbuhan tropis Indonesia, ekstrak metanol biji buah, kulit buah, daun dan kulit batang kokosan (konsentrasi 5% b/v) menunjukkan aktivitas *antifeedant* yang cukup efektif terhadap larva instar ke-empat *E. vigintioctopunctata* dan dapat menghambat perkembangan larva menjadi pupa serta perkembangan pupa menjadi imago (konsentrasi 0,5% b/v). Ekstrak metanol daun dan kulit buah kokosan menunjukkan nilai LC_{50} berturut-turut 1204,7 ppm dan 808,4 ppm terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti*. Uji daya tolak (*repellent*) ekstrak daun dan kulit buah kokosan terhadap nyamuk *Ae.aegypti* selama \pm 8 jam efektif pada konsentrasi 25% b/v.

Ekstrak metanol dari bahan tumbuhan dipekatkan dan diekstraksi berturut-turut dengan *n*-heksan dan etil asetat. Terhadap ekstrak etil asetat dan *n*-heksan masing-masing dilakukan pemisahan dengan kombinasi kromatografi kolom menghasilkan senyawa aktif **1**, **2** dan **4**. Struktur kimia senyawa **1** ditetapkan berdasarkan data-data spektroskopi, dengan demikian senyawa **1** ditetapkan sebagai senyawa tetranortriterpenoid baru dan dinamakan kokosanolid A.

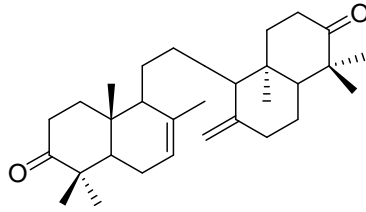
Struktur kimia senyawa aktif **2** dan **3** ditetapkan berdasarkan data-data spektroskopi dan dengan perbandingan dengan data-data spektrum yang diperoleh sebelumnya. Senyawa **2** diidentifikasi sebagai senyawa triterpenoid 8,14-secogammacera-7,14-dien-3,21-dion sedangkan senyawa **3** diidentifikasi sebagai 8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion yang diperoleh sebagai campuran dengan senyawa **2** (75%:25%). Senyawa **2** dan **3** merupakan senyawa yang baru pertama kali dilaporkan dari kulit batang *L. domesticum* cv *kokossan*.



1



2



3

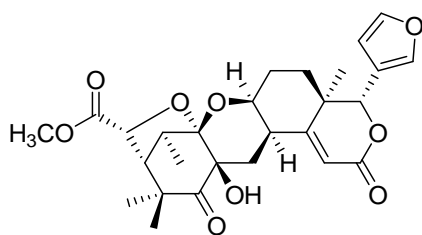
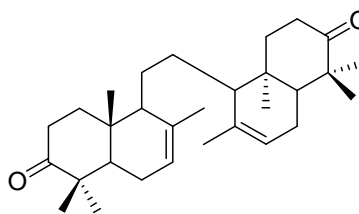
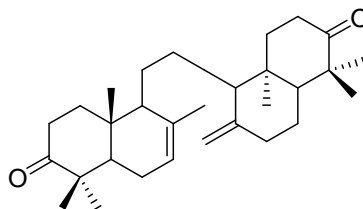
Kata kunci: *Lansium domesticum*, Meliaceae, antifeedant, *Epilachna vigintioctopunctata*, kokosanolid A, triterpenoid, 8,14 secogammacera-7,14-dien-3,21-dion dan 8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion

ABSTRACT

Lansium domesticum Corr is a higher plant to belonging to Meliaceae family and widely distributed in South East Asia. Plants of Meliaceae family were known as a substance producer with antifeedant properties and insect growth regulator and low toxicity against mammalian.

In the course of novel antifeedant compound from Indonesia tropical plant, the methanol extract from the seed, peel, leaf and bark of *L. domesticum* Corr. cv kokossan Hasskl. (conc. 5% b/v) showed a effective antifeedant activity and distinct effect to development of *Epilachna vigintioctopunctata* Fabricius larvae (conc. 0,5% b/v). The methanolic extract from the leaf and peel of *L. domesticum* cv kokossan showed LC_{50} at 1204,7 ppm and 808,4 ppm respectively against *Ae.aegypti* larvae. The repellent test of methanolic extract from the kokosan's leaf and peel were effective at 25% w/v for ± 8 hours against *Ae.aegypti* larvae.

The methanolic extract of plant material was concentrated and extracted succesively with *n*-hexane and ethyl acetate. The ethyl acetate and *n*-hexane extract were separated by combination of column chromatography yield active compounds **1**, **2** and **3**. The chemical structure of active compounds **1** was determined by spectroscopic data and, consequently, compound **1** was determined as novel tetranortriterpenoids and named kokosanolide A. The chemical structure of active compounds **2,3** and were determined by spectroscopic data and comparison with those spectrum datas previously reported, consequently, compound **2** and **3** were identified as triterpenoids, 8,14-secogammacera-7,14-dien-3,21-dion and compound **3** was obtained as a mixture of 8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion and **2** (75%:25%). Compound **3** for the first time reported from the peel of *L. domesticum* cv kokossan.

**1****2****3**

Keywords: *Lansium domesticum*, *Meliaceae*, *antifeedant*, *Epilobina vigintioctopunctata*, *kokosanolid A*, *triterpenoid*, *8,14-secogammacera-7,14-diene-3,21-dione* and *8,14-secogammacera-7,14(27)-diene-3,21-dione*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas rahmatNya Penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan ini dengan baik. Keberhasilan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan disertasi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Pihak Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana melalui Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2008-2009.
2. Prof. Dr. Khalijah Awang, Prof. Dr. Seik Weng Ng dan Dr. Mat Ropi Mukhtar dari University of Malaya untuk kesempatan publikasi bersama.
3. Dr. M. Hanafi beserta staf Pusat Studi Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Serpong Jakarta yang telah membantu pengukuran spektrum NMR.
4. Semua pihak yang telah membantu selama penelitian hingga penulisan laporan ini selesai.

Semoga Allah SWT membalas seluruh bantuan dan dukungan yang telah diberikan dengan pahala yang berlipat ganda. Akhirnya penulis berharap tulisan ini bermanfaat sebagai tambahan informasi dalam bidang Ilmu Kimia Organik Bahan Alam.

Bandung, November 2009

Tri Mayanti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Kegunaan Penelitian	3
BAB II KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN	
DAN HIPOTESIS	4
2.1. Kajian Pustaka	4
2.1.1. Tinjauan Umum <i>L. domesticum</i>	4
2.1.2. Kegunaan <i>L. domesticum</i>	5
2.1.3. Kandungan Kimia Tumbuhan <i>L. domesticum</i>	6
2.1.4. Bioaktivitas Ekstrak Tumbuhan <i>L. domesticum</i>	11
2.2. Kerangka Pemikiran	11
2.3. Hipotesis	12
BAB III BAHAN DAN METODE PENELITIAN	14
3.1. Bahan dan Alat Penelitian	14
3.1.1. Bahan Penelitian	14
3.1.2. Serangga Uji	14
3.1.3. Bahan Kimia	14
3.1.4. Peralatan	15
3.1.5. Waktu dan Tempat Penelitian	15

3.2. Metode Penelitian	15
3.2.1. Isolasi dan Penentuan Struktur.....	15
3.2.2. Uji Aktivitas Pengendali Hama	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1. Ekstraksi dan Partisi Bahan Tumbuhan	18
4.2. Senyawa dari Biji Buah Kokosan	19
4.3. Ekstraksi Kulit Batang Kokosan	19
4.4. Penentuan Struktur Kimia Senyawa-senyawa Hasil Isolasi	20
4.4.1. Penentuan Struktur Kimia Senyawa 1	20
4.4.2. Penentuan Struktur Kimia Senyawa 2	31
4.4.3. Penentuan Struktur Kimia Senyawa 3	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1. Kesimpulan	39
5.2. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
RENCANA PENELITIAN TAHAP II	43

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 4.1. Spektrum inframerah senyawa 1	21
Gambar 4.2. Spektrum ¹ H-NMR senyawa 1 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	22
Gambar 4.3. Spektrum APT senyawa 1 (CDCl ₃ , 100 MHz)	23
Gambar 4.4. Spektrum HMBC untuk korelasi pada bagian cincin furan senyawa 1 (CDCl ₃ , 400 MHz)	25
Gambar 4.5. Korelasi HMBC gugus α,β -keton takjenuh senyawa 1 ...	26
Gambar 4.6. Spektrum dan korelasi COSY (CDCl ₃ , 400 MHz) pada senyawa 1 , (a) rangkaian H-22, H-8, H-9, H-11 dan H-12, (b) rangkaian H-6, H-5, H-10 dan H-19	27
Gambar 4.7. Spektrum COSY (CDCl ₃ , 400 MHz) untuk penjadohan jarak jauh H-26 dengan H-17 dan H-15 dengan H-8	28
Gambar 4.8. Spektrum dan korelasi HMBC (CDCl ₃ , 400 MHz) pada gugus-gugus metil senyawa 1	29
Gambar 4.9. Spektrum dan korelasi HMBC (CDCl ₃ , 400 MHz) pada karbon-karbon teroksigenasi dan gugus metoksi karbonil senyawa 1	29
Gambar 4.10. Gabungan fragmen-fragmen struktur senyawa 1	30
Gambar 4.11. Spektrum NOESY (CDCl ₃ , 400 MHz) senyawa 1	30
Gambar 4.12. Spektrum inframerah senyawa 2	32
Gambar 4.13. Spektrum ¹ H-NMR gugus-gugus metil senyawa 2 (CDCl ₃ , 500 MHz)	32
Gambar 4.14. Spektrum ¹³ C-NMR dan DEPT 135 ^o senyawa 2 (CDCl ₃ , 125 MHz)	33
Gambar 4.15. Spektrum dan korelasi HMBC gugus-gugus metil pada senyawa 2 (CDCl ₃ , 500 MHz).....	34
Gambar 4.16. Spektrum dan korelasi HMBC gugus olefinik pada senyawa 2 (CDCl ₃ , 500 MHz).....	35

Gambar 4.17. Spektrum dan korelasi COSY proton-proton visinal pada senyawa 2 (CDCl ₃ , 500 MHz)	35
Gambar 4.18. Spektrum inframerah senyawa 3	37
Gambar 4.19. Perbandingan spektrum ¹ H-NMR isolat 3 dengan 2 (CDCl ₃ , 400 MHz)	37
Gambar 4.29. Spektrum APT isolat 3 (CDCl ₃ , 100 MHz)	38

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Uji aktivitas pengendali hama terhadap ekstrak metanol kokosan	18
Tabel 4.2. Berat ekstrak hasil partisi dari ekstrak metanol	19
Tabel 4.3. Data NMR senyawa 1 dalam CDCl ₃ pada 400 MHz	24
Tabel 4.4. Data NMR senyawa 2 dalam CDCl ₃ pada 500 MHz	36

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada saat ini pengembangan pestisida nabati diarahkan pada penemuan senyawa-senyawa yang tidak hanya efektif dalam mengendalikan serangga tetapi juga mempunyai aktivitas yang selektif terhadap satu atau jumlah terbatas serangga fitofagous. Latar belakang pemikiran ini adalah sasaran untuk mengurangi dampak ekologis lingkungan yang merugikan seandainya tiga kriteria yaitu: efektif, spesifik dan aman dapat serasi dengan prinsip pengelolaan serangga hama yang modern maka produk alami ini dapat memenuhi kriteria *agent* pengendali biorasional.

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara yang kaya akan sumber daya alam hayati yang sangat potensial untuk menghasilkan metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk penemuan senyawa pengendali hama tanaman maupun obat-obatan baru yang lebih potensial. Suku Meliaceae dikenal sebagai penghasil zat-zat pahit bermanfaat sebagai substansi antimakan serangga dan penghambat pertumbuhan dengan toksisitas rendah terhadap mamalia (Omar *et al.*, 2005). *L. domesticum* sebagai salah satu jenis dari suku Meliaceae merupakan sumber senyawa-senyawa terpenoid dengan berbagai aktivitas hayati yang menarik. Jenis ini memiliki tiga kultivar yaitu: duku, kokosan dan pisitan. Dari kultivar duku telah dilaporkan beberapa senyawa golongan triterpenoid dan nortetraterpenoid yang enam diantaranya memiliki aktivitas *antifeedant* terhadap *Sitophilus oryzae*. Satu-satunya laporan dari kultivar kokosan adalah ditemukannya senyawa golongan onocerandiendion dari bagian kulit buahnya (Kosela *et al.*, 2001).

Penelitian pendahuluan yang telah kami lakukan terhadap beberapa bagian tumbuhan kokosan menunjukkan berbagai aktivitas pengendali hama diantaranya sebagai penolak (*repellent*), penghambat perkembangan larva, larvasida, penghambat penetasan telur, dan *antifeedant*. Publikasi kandungan kimia dari berbagai bagian tumbuhan kokosan belum banyak dilaporkan sehingga penelitian terhadap kultivar kokosan terutama berkaitan dengan aktivitas pengendali hama

dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan tersebut menarik untuk dilakukan.

Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan penentuan struktur kimia senyawa-senyawa pengendali hama dari bagian biji buah, kulit buah, daun dan kulit batang kokosan. Isolasi senyawa-senyawa aktif dilakukan melalui pemisahan dan pemurnian menggunakan metode kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis preparatif dan kristalisasi. Isolat-isolat aktif ditentukan strukturnya melalui metode spektroskopi yang meliputi ultraviolet, inframerah, resonansi magnet inti dan massa. Uji hayati *antifeedant* (metode uji cakram pilihan, Schwinger *et al.*, 1983) dan penghambat perkembangan dilakukan terhadap larva *E. vigintioctopunctata* instar ke-4, uji hayati terhadap aktivitas toksisitas dan *repellent* dilakukan dengan nyamuk *Ae. Aegypti*.

1.2. Identifikasi Masalah

Beberapa permasalahan yang akan dikaji melalui penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah aktivitas pengendali hama yang meliputi aktivitas daya tolak (*repellent*), penghambat perkembangan larva, larvasida dan *antifeedant* dari senyawa-senyawa yang berasal dari kulit buah, biji, daun dan kulit batang kokosan.
2. Bagaimanakah cara memperoleh senyawa-senyawa dari bagian biji buah, kulit buah, daun dan kulit batang kokosan yang memiliki aktivitas sebagai pengendali hama?
3. Bagaimana karakter dan struktur kimia senyawa-senyawa hasil isolasi dari bagian biji buah, kulit buah, daun dan kulit batang kokosan yang memiliki aktivitas pengendali hama?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

1. Memperoleh data aktivitas pengendali hama meliputi aktivitas daya tolak (*repellent*), penghambat perkembangan larva, larvasida, penghambat

penetasan telur, dan *antifeedant* dari senyawa-senyawa yang berasal dari kulit buah, biji, daun dan kulit batang kokosan.

2. Memperoleh senyawa-senyawa yang menunjukkan keaktifan sebagai zat penolak (*repellent*), penghambat perkembangan lava, larvasida, penghambat penetasan telur, dan *antifeedant* terhadap beberapa bioindikator.
3. Memperoleh karakter dan struktur senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam kulit buah, biji, daun dan kulit batang kokosan.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan hasil penelitian ini diharapkan memberi tambahan ilmu dalam:

- a. Metode isolasi dan penentuan struktur senyawa-senyawa pengendali hama dari tumbuhan kokosan.
- b. Kemotaksonomi senyawa-senyawa pengendali hama dalam famili Meliaceae.
- c. Pemanfaatan tumbuhan kokosan dalam bidang pertanian sebagai bahan insektisidal alami.
- d. Mempelajari kemungkinan penggunaan senyawa aktif yang diperdeh sebagai prototype sintesis senyawa pengendali hama yang dapat diaplikasikan di bidang pertanian.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS

2.1. Kajian Pustaka

2.1.1. Tinjauan Umum *L. domesticum* (Morton, 1987)

Tumbuhan *L. domesticum* tumbuh subur di daerah tropis dengan ketinggian 800 m di atas permukaan laut; pH tanah sedikit asam (5,5-6,6); curah hujan yang cukup sekitar 2.000-3.000 mm; suhu 25-35 °C. Tumbuhan ini tidak dapat menyesuaikan diri selama musim kering sehingga meranggas selama 3-4 minggu. Di Indonesia, *L. domesticum* sering ditanam di kebun rumah dengan tanaman lain seperti pohon mangga.

Determinasi tumbuhan *L. domesticum* telah dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Unpad. Taksonomi tumbuhan *L. domesticum* menurut USDA Natural Resources Conservation Service (2004), adalah sebagai berikut:

Kerajaan	Plantae
Subkerajaan	Tracheobionta
Superdivisi	Spermatophyta
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Magnoliopsida
Subkelas	Rosidae
Bangsa	Sapindales
Suku	Meliaceae
Marga	<i>Lansium</i> Correa
Jenis	<i>Lansium domesticum</i> Correa

Beberapa nama daerah di Indonesia untuk tumbuhan *L. domesticum* ini diantaranya yaitu dukuh, dukem, langsung, langsep, langsa, celoring, kokosan, dan lain-lain.

Hasskarl mengusulkan tiga kultivar untuk *L. domesticum* yang tumbuh di Jawa, yaitu: duku (*L. domesticum* Corr. cv *duku* Hasskl.), kokosan (*L. domesticum*

Corr. cv *kokossan* Hasskl.) dan pisitan (*L. domesticum* Corr. cv *piedjietan* Hasskl.). Berdasarkan morfologi daun, bunga dan buah Kostermans berpendapat bahwa duku (*L. domesticum* dan kokosan (*L. aqueum* (Jack) Miq.) merupakan dua jenis yang berbeda sedangkan pisitan diduga merupakan hibrid antara duku dan kokosan. Backer dan Bakhuizen v.d Brink Jr menyatukan takson-takson seputar *L. domesticum* tersebut dalam satu jenis. Oleh karena adanya perbedaan pendapat tersebut Kostermans meneliti masalah ini lebih lanjut dan akhirnya menyimpulkan bahwa *Lansium* sebagai satu seksi saja dalam marga *Aglaia* Lour. Jenis-jenis tersebut diacunya dengan nama *Aglaia dookkoo* Griff. (duku), *A. aquea* (Jack) Kosterm. (kokosan) dan *A. domestica* (Corr. emend. Jack) Pellegrin (pisitan) (Mabberley *et al.*, 1995; Sunarti, 1987).

Sunarti (1987) kemudian menemukan perbedaan anatomi daun dari ketiga kultivar tersebut dan mendukung pendapat Kostermans yang menyatakan bahwa duku, pisitan dan kokosan merupakan jenis yang berbeda. Namun demikian penempatan jenis-jenis tersebut dalam marga *Aglaia* seperti yang diusulkan Kostermans sulit diterima, oleh karena Pennington dan Styles sudah menunjukkan bahwa *Lansium* dan *Aglaia* dapat dibedakan berdasarkan struktur bunganya.

2.1.2. Kegunaan *L. domesticum*

Air rebusan dari kulit batang bagian dalam *L. domesticum* Corr. yang dicampur dengan kulit batang *Pterocarpus indica* Wild biasa digunakan sebagai obat disentri. Kulit batang dan kulit buahnya mengandung asam lansium, jika 50 mg dari zat ini disuntikkan pada katak dapat menyebabkan kelumpuhan jantung setelah 3-4 jam. Bijinya yang hijau sangat pahit dan bila digerus dengan air dapat digunakan sebagai obat cacing dan penolak demam (Heyne, 1987).

Batangnya dapat digunakan untuk mengobati penyakit malaria. Kulit yang masih segar mengandung 0,2% minyak atsiri berwarna kekuningan, resin berwarna coklat, dan asam pereduksi. Dari kulit buahnya yang kering diperoleh oleoresin semi-cairan yang berwarna hitam dengan komposisi 0,17% minyak atsiri dan 22% resin. Resin diduga tidak beracun dan bermanfaat untuk menghentikan diare dan kejang usus kelinci secara *in vitro* sebagai hewan uji.

Ekstrak daunnya dapat dimanfaatkan sebagai obat tetes mata untuk mencegah inflamasi. Kulit buah dapat dimanfaatkan sebagai pengusir nyamuk dengan cara dikeringkan dan dibakar; serta mengandung senyawa antibakteri. Daging buah dan batang pohon dimanfaatkan oleh masyarakat tradisional untuk racun panah (Morton, 1987).

2.1.3. Kandungan Kimia *L. domesticum*

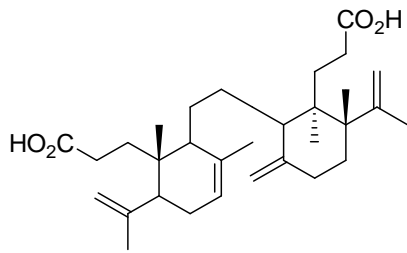
Beberapa penelitian melaporkan keberadaan senyawa-senyawa golongan triterpenoid dalam tumbuhan *L. domesticum* cv *duku*. Senyawa-senyawa tersebut dikelompokkan sebagai berikut:

a. Triterpen Onoceranoid

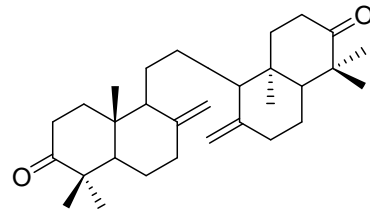
Asam lansat (**6**), suatu triterpen bisiklik merupakan senyawa yang pertama kali diisolasi dari tumbuhan duku. Senyawa ini diperoleh dari ekstrak petroleum eter kulit buah duku (Kiang *et al.*, 1967). Pada penelitian berikutnya terhadap bagian kulit buah berhasil diisolasi triterpen onoceranoid lain yaitu α -onoceradiendion (**7**) oleh (Habaguchi *et al.*, 1968). Senyawa ini telah dilaporkan terdapat juga dalam kulit buah kokosan (Kosela *et al.*, 2001).

Tiga senyawa triterpen onoceranoid baru, yaitu: asam lansionat (**8**), 3β -hidroksionocera-8(26),14-dien-21-on (**9**) dan 21α -hidroksionocera-8(26),14-dien-3-on (**10**) telah diisolasi dari kulit buah duku oleh Tanaka *et al.* (2002). Ketiga senyawa tersebut menunjukkan toksisitas ringan terhadap *Artemia salina*.

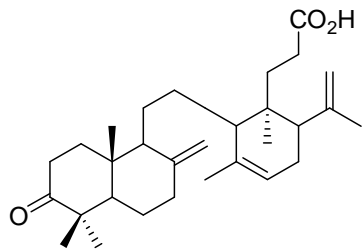
Enam senyawa triterpen onoceranoid yang bersifat *antifeedant*, beberapa diantaranya senyawa baru, telah dilaporkan dari kulit batang *L. domesticum* cv *duku*. Keenam senyawa tersebut diuji pada konsentrasi 0,5% b/b terhadap *S. orizae*. Asam lansionat (**8**), onoceratrien (**11**), asam lansiolat (**12**), asam lansiolat A (**13**), 21α -hidroksionocera-8(26),14-dien-3-on (**10**), dan α -onoceradiendion (**7**) menurunkan aktivitas makan serangga uji berturut-turut hingga 68,9%; 64,7%; 63,2%; 56,1%; 53,8% dan 40,1% (Omar *et al.*, 2005).



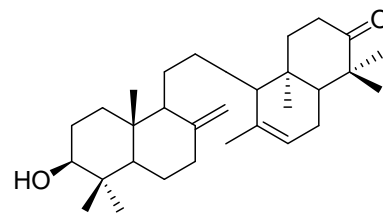
6



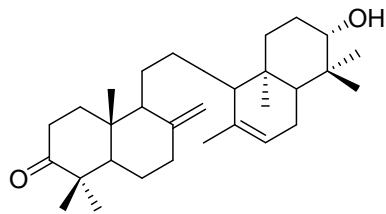
7



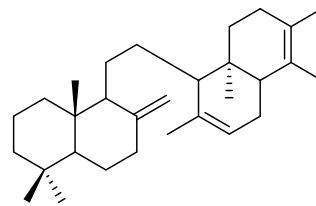
8



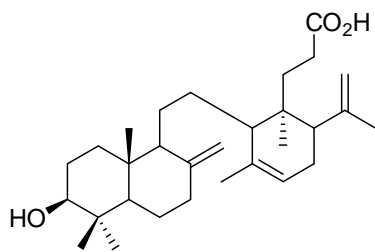
9



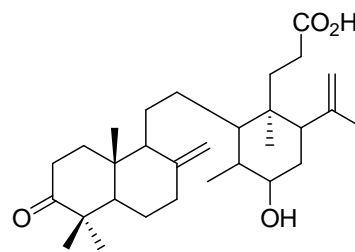
10



11



12

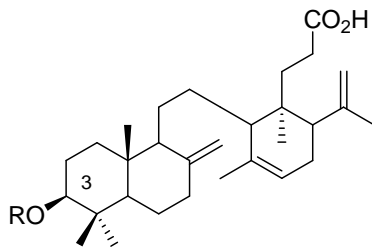


13

b. Triterpen Lanosta dan Glikosidanya.

Senyawa mayor pada daun duku adalah asam lansiolat (**12**). Beberapa turunan glikosidanya yang diberi nama lansiosida A (**14**), B (**15**), dan C (**16**)

memperlihatkan aktivitas penghambatan leukotrien D_4 yang menginduksi kontraksi usus babi pada konsentrasi efektif 2,4 ppm (Nishizawa *et al.*, 1983). lansiosida A ($C_{38}H_{61}NO_8 \cdot H_2O$) mengikat *N*-asetil- β -D-glukosamin pada C-3. lansiosida B ($C_{36}H_{58}O_8$) mengikat gula β -D-glukosa pada C-3. Lansiosida C ($C_{35}H_{56}O_7$) berupa padatan amorf mengikat gula β -D-xilosa pada C-3.



lansiosida

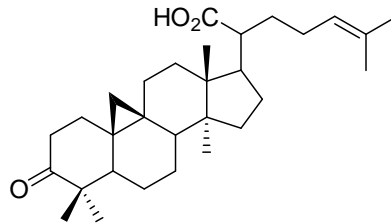
A: **14** R = *N*-asetil β -D-glukosamin

B: **15** R = β -D-glukosa

C: **16** R = β -D-xilosa

c. Triterpen Sikloartanoid

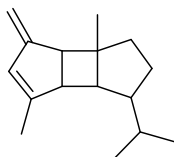
Pada tahun (1989) Nishizawa *et al.* kemudian mengisolasi senyawa golongan triterpen sikloartanoid baru dari daun *L. domesticum cv duku*. Senyawa tersebut adalah asam 3-okso-24-sikloarten-21-olat (**17**) yang memiliki aktivitas sebagai penghambat timbulnya tumor kulit. Beberapa senyawa turunannya juga memperlihatkan aktivitas yang sama. Kristal asam 3-okso-24-sikloarten-21-olat tidak berwarna, memiliki rumus molekul $C_{30}H_{46}O_3$ dan titik leleh 185-186 °C.



17

d. Seskuiterpene

Vyehara *et al.* (1988) menemukan senyawa yang bersifat toksik yaitu isomer cisoid dari 3-okso- α -bourbonen (**18**).

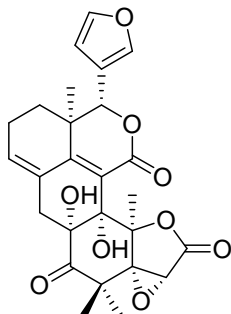


18

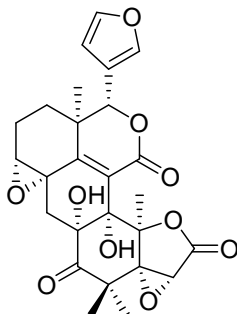
e. Tetranortriterpenoid Dukunolid dan Mexicanolid

Nishizawa *et al.* (1985, 1988) berhasil mengisolasi enam senyawa tetranortriterpenoid baru dari biji duku yang diberi nama: dukunolid A (**19**), B (**20**), C (**21**), D (**22**), E (**23**), dan F (**24**). Dukunolid D ($C_{26}H_{28}O_8$) merupakan 5,6-deoksidukunolid A. Dukunolid E ($C_{26}H_{28}O_9$) merupakan 5,6-deoksidukunolid B, sedangkan dukunolid F merupakan stereoisomer dukunolid E pada konfigurasi R C-13 dan C-17.

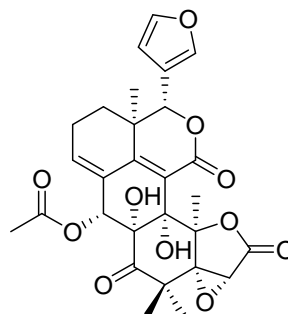
Selain dukunolid A, B, C, D, E, dan F, Nishizawa *et al.* (1988) juga mengisolasi mexicanolid (**25**) yang merupakan senyawa minor pada ekstrak biji buah duku.



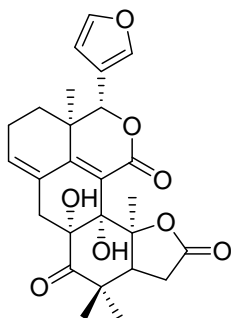
19



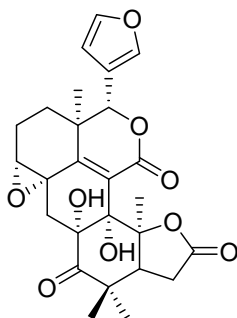
20



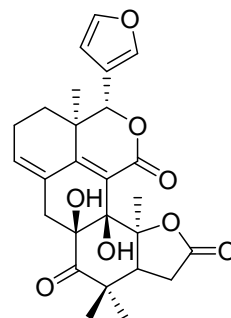
21



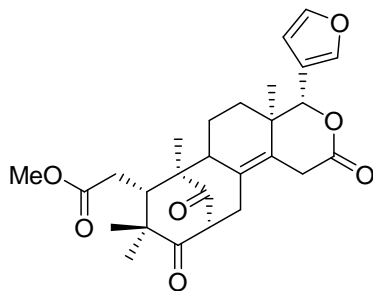
22



23



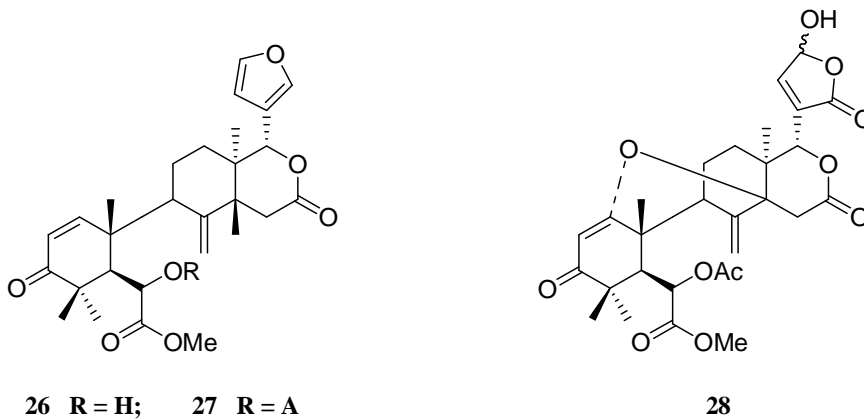
24

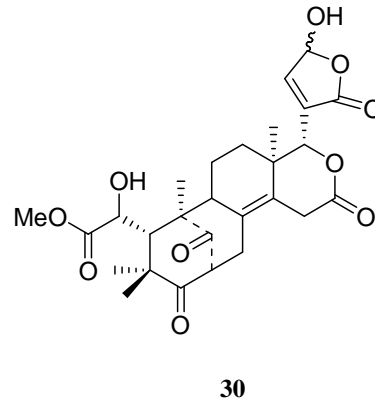
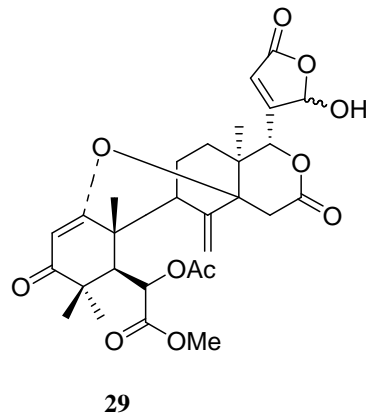


25

f. Kelompok Domesticulid (Saewan *et al.*, 2006)

Kelompok senyawa domesticulid diperoleh dari bagian biji *L. domesticum* yang tumbuh di hutan Thumbon Nopitum, Thailand. Tumbuhan yang dikenal sebagai *Langsat Khao* di Thailand ini menunjukkan aktivitas yang signifikan menghambat perkembangan *Plasmodium falciparum* dengan nilai IC_{50} pada konsentrasi 9,9 $\mu\text{g/mL}$. Domesticulid A (**26**) merupakan limonoid dengan cincin B terbuka yang memiliki gugus hidroksil, karbonil dan furan. Domesticulid B (**27**) merupakan turunan asetat dari domesticulid A, sedangkan domesticulid C (**28**) adalah senyawa yang menunjukkan kemiripan dengan metil 6-asetoksiangolensat dan karakteristik 23-hidroksi-21,23-butenolid epimer (perbandingan campuran 1:1). Domesticulid D (**29**) memiliki karakterisasi spektroskopik yang mirip dengan domesticulid B dan juga split sinyal yang mendukung kedua epimer 21-hidroksi-21,23-butenolid (perbandingan campuran 4:1). Domesticulid E (**30**) merupakan senyawa yang menunjukkan kemiripan dengan senyawa 6-hidroksi mexicanolid.





2.1.4. Bioaktivitas Ekstrak Tumbuhan *L. domesticum*

Berbagai ekstrak bagian tumbuhan *L. domesticum* cv *duku* menunjukkan keragaman bioaktivitas yang sangat menarik untuk diteliti. Ekstrak kulit buah dan biji memiliki efek racun terhadap ulat grayak (*S. litura*) dengan uji topikal dan residual serta mengurangi jumlah larva yang menjadi pupa. Sifat *repellent* ekstrak juga terlihat, sedangkan aktivitas *antifeedant* ekstrak biji lebih tinggi dibandingkan ekstrak kulit buahnya (Pujiastuti *et al.*, 1995). Ekstrak kulit buah juga dimanfaatkan sebagai antiketombe dan penguat rambut (Nakagawa dan Myamoto, 1996). Selain itu ekstrak kulit buah dan daun dilaporkan sebagai sumber yang potensial untuk menemukan senyawa aktif yang dapat memutuskan daur hidup parasit *Plasmodium falciparum* yang menyebabkan penyakit malaria (Yapp dan Yap, 2002). Fraksi diklorometan, etanol dan etil asetat dari ekstrak biji duku menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* bahkan 1 mg fraksi diklorometan menunjukkan nilai kesetaraan dengan antibiotika tetrasiklin anhidrat 45,8 mg (Loekitowati dan Hermansjah, 2000). Ekstrak biji juga memberikan efek hipoglikemik terhadap tikus Wistar jantan (Sasmito, 1998).

2.2. Kerangka Pemikiran

Limonoid merupakan suatu triterpenoid dengan atau turunan dari prekursor kerangka 4,4,8-trimetil-17-furanilsteroid. Jenis metabolit sekunder ini dihasilkan oleh tumbuhan golongan Rutales terutama pada suku Meliaceae. Sampai tahun 1992 telah diisolasi lebih dari 300 jenis limonoid. Limonoid merupakan ciri

tumbuhan suku Meliaceae yang melimpah dan bervariasi. Penelitian terhadap limonoid menarik perhatian karena limonoid menjadi penanda terhadap aktivitas *antifeedant* dan pengendali pertumbuhan serangga. Champagne *et al.* (1992) telah menginventaris sifat *antifeedant* dan pengendali pertumbuhan serangga dari 78 senyawa limonoid. Keragaman struktur kimia pada limonoid terutama disebabkan oleh penambahan oksigen, pembukaan cincin-cincin serta siklisasi baru.

Suatu senyawa limonoid dari suku Meliaceae yang hingga saat ini dijadikan penanda oleh karena aktivitas pengendali hamanya yang belum tertandingi adalah azadirachtin dari *Azadirachta indica* (mimba) dan *Melia azedarach* (mindih) (Schwinger *et al.*, 1983). Azadirachtin merupakan senyawa pengendali hama yang cukup efektif dalam pengendalian hama. Senyawa ini memiliki daya kerja serta spektrum yang luas. Enam senyawa yang memiliki aktivitas *antifeedant* golongan triterpenoid juga telah dilaporkan dari kulit batang salah satu tumbuhan Meliaceae yaitu *L. domesticum* cv *duku* (Omar *et al.*, 2005). Keenam senyawa yang termasuk dalam kelompok triterpen onoceranoid tersebut memiliki variasi struktur kimia pada gugus keton yang tereduksi, hidrasi ikatan rangkap membentuk gugus hidroksi dan pembukaan cincin.

Berdasarkan hubungan kemotaksonomi antara jenis-jenis tumbuhan dalam suatu famili dengan konstituen kimia yang dikandungnya maka peluang untuk memperoleh senyawa pengendali hama dari *L. domesticum* cv *kokosan* sebagai salah satu jenis tumbuhan dari suku Meliaceae adalah sangat besar.

2.3 Hipotesis

Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan pada Sub Bab 2.1 dan 2.2 maka hipotesis yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah:

1. Dalam ekstrak biji buah, kulit buah, daun dan kulit batang kokosan dan kulit terkandung senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas pengendali hama yang meliputi aktivitas *repellent* dan toksik terhadap nyamuk *Ae. aegypti*, aktivitas *antifeedant* dan penghambat perkembangan larva *E. vigintioctopunctata*.

2. Senyawa-senyawa aktif tersebut dapat diisolasi dengan menggunakan metode ekstraksi dan berbagai metode kromatografi.
3. Terbentuknya keragaman struktur kimia limonoid dan triterpenoid akibat modifikasi dalam penambahan atom oksigen, pembukaan cincin-cincin dan siklisasi baru membuka peluang ditemukannya kerangka atau senyawa baru golongan triterpenoid dalam ekstrak biji buah, kulit buah, daun dan kulit batang kokosan. Karakter dan struktur kimia senyawa-senyawa hasil isolasi dapat ditentukan dengan metode fisiko kimia dan berbagai metode spektroskopi.

BAB III

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1. Bahan, Alat dan Waktu Penelitian

3.1.1. Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian biji buah, kulit buah, daun dan kulit batang *L. domesticum* cv *kokossan* yang diperoleh dari daerah Cililin Kabupaten Bandung Jawa Barat pada bulan Maret dan September 2005. Tumbuhan dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran.

3.1.2. Serangga Uji

Serangga uji yang digunakan adalah:

- a. *E. vigintioctopunctata* instar ke-4 awal yang diperoleh dari kawasan Arboretum Jatinangor dan selanjutnya dipelihara (*rearing*) di Laboratorium Taksonomi Hewan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran.
- b. Larva dan nyamuk *Ae. aegypti*, telur nyamuk diperoleh dari Balai Penelitian Vektor dan Reservoir Penyakit (BPVRP) Salatiga yang selanjutnya ditetaskan di Lab Taksonomi Hewan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran.

3.1.3. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan terdiri atas :

1. Berbagai jenis pelarut organik teknis (didistilasi ulang) dan pro-analis seperti *n*-heksan, etil asetat, metanol, etanol, kloroform, diklorometan, aseton, dan pelarut organik lainnya.
2. Silika gel GF₂₅₄ untuk kromatografi lapis tipis dan silika gel G 60 (70-230 mesh dan 230-400 mesh) untuk kromatografi kolom terbuka dan KKC.V.
3. Pereaksi penampak noda asam sulfat 10% dalam etanol.

3.1.4. Peralatan

Alat gelas yang digunakan meliputi peralatan umum yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik, seperti. Penentuan titik leleh dilakukan dengan alat ukur titik leleh mikro Fisher-John Apparatus; Spektrum UV dan IR masing-masing diukur dengan UV varian Conc. 100 dan FTIR Spectrum One Perkin Elmer, dilakukan di Departemen Kimia, FMIPA ITB, Bandung. Spektrum NMR direkam pada Spektrometer JEOL JNM A-400 ($^1\text{H-NMR}$ pada 400 MHz dan $^{13}\text{C-NMR}$ pada 100 MHz, dengan pelaut CDCl_3 dengan TMS sebagai standar internal);.

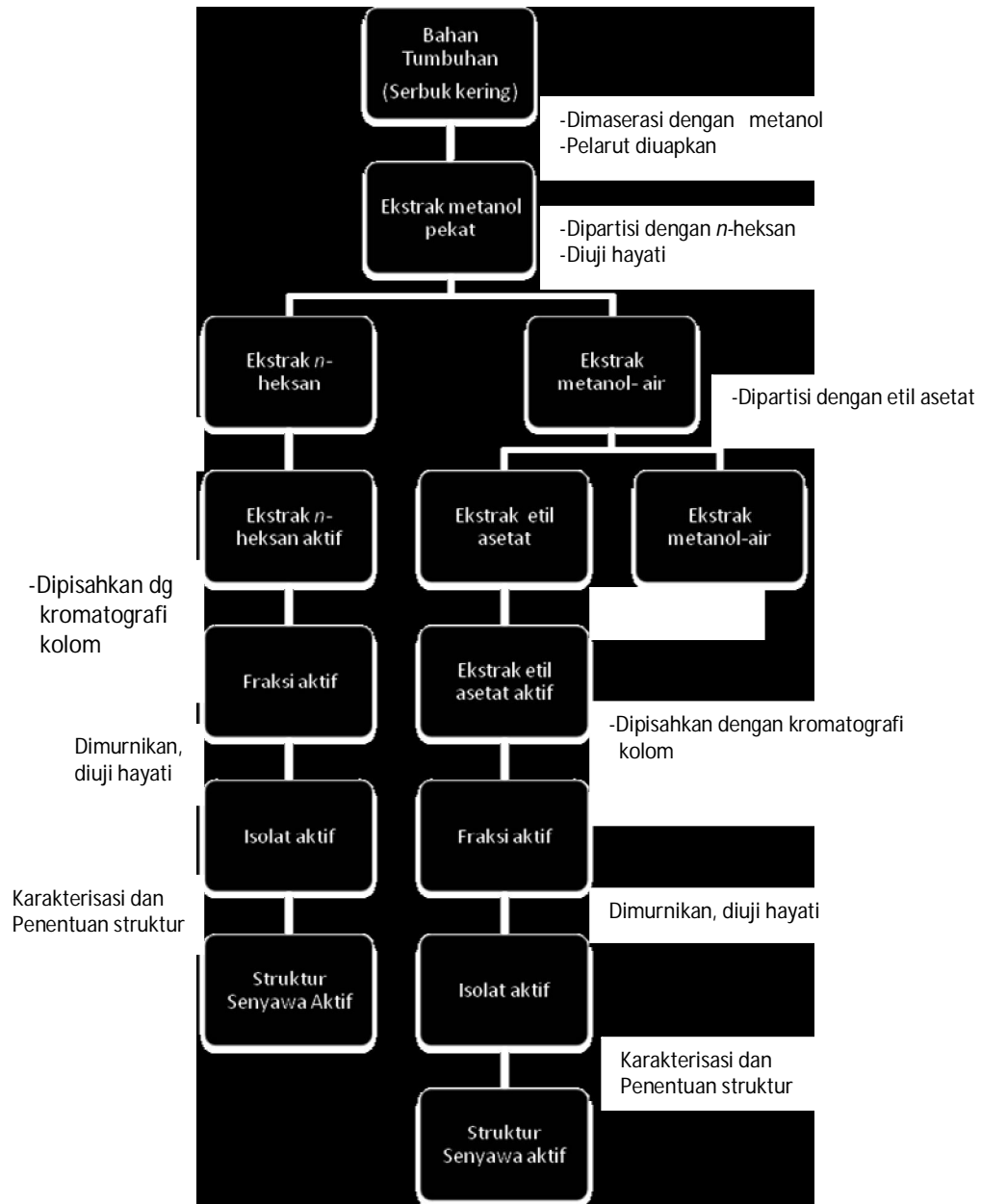
3.1.5. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Januari 2008 hingga Oktober 2008 di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia FMIPA Unpad. Pengukuran spektroskopi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia ITB, Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia UPI Bandung, Laboratorium Kimia LIPI Puspitek Serpong, Department of Chemistry Universiti Kebangsaan Malaysia, Laboratory of Natural Products Chemistry, Division of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agriculture and Life Sciences, Osaka Prefecture University.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Isolasi dan Penentuan Struktur

Tahapan kerja yang dilakukan adalah ekstraksi biji buah dan kulit batang kokosan (*L. domesticum* cv *kokossan*) dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksan dan etil asetat untuk selanjutnya dilakukan uji hayati. Fraksi aktif dipisahkan dengan teknik kromatografi kolom vakum dan kromatografi kolom terbuka. Tahap pemurnian dilakukan dengan cara kromatografi lapis tipis preparatif dan rekristalisasi. Karakterisasi dan penentuan struktur isolat aktif dilakukan dengan pengukuran titik leleh dan metode spektroskopi yang meliputi spektroskopi ultraviolet, inframerah, resonansi magnetik inti, dan massa (Gambar 3.1.).



Gambar 3.1. Bagan prosedur isolasi biji buah dan kulit batang kokosan

3.2.2. Uji Aktivitas Pengendali Hama

a. Uji Daya Tolak (*Repellent*)

Sepuluh ekor nyamuk *Ae. aegypti* dimasukkan ke dalam kandang berukuran 30x22x22 cm³. Sebagai media uji disiapkan kepalan tangan yang dibungkus dengan sarung tangan karet yang telah diberi lubang berukuran 3x3 cm². Larutan uji dioles pada bagian yang terbuka. Pengamatan dilakukan dengan interval waktu tertentu hingga 4 jam.

b. Uji Larvasida

Ke dalam wadah plastik yang berisi larutan uji dengan konsentrasi tertentu dimasukkan 10 ekor larva nyamuk *Ae. aegypti*. Pengamatan dilakukan sesudah 24 jam dan 48 jam.

c. Uji Penghambatan Perkembangan Larva

Ke dalam wadah plastik yang berisi larutan uji dengan konsentrasi tertentu dimasukkan 10 ekor larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah larva yang berkembang menjadi pupa dengan waktu pendedahan 7 hari.

a. *Antifeedant* dengan Metode Uji Pilihan (Schwinger, 1984)

Ekstrak uji dioleskan dibagian kiri daun leunca (*Solanum nigrum*) sedangkan di bagian kanan dioles dengan metanol sebagai kontrol. Selanjutnya daun diletakkan dalam cawan petri dan dimasukkan dua ekor larva *Epilachna vignitioctopunctata* instar ke-4 awal yang telah dipuasakan selama dua jam. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan keaktifan dihitung dengan cara mengukur luas daun yang dikonsumsi larva dengan rumus:

$$\% \text{ keaktifan} = \frac{\text{Luas daun yang dikonsumsi (kontrol - perlakuan)}}{\text{Luas daun yang dikonsumsi (kontrol + perlakuan)}}$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi dan Partisi Bahan Tumbuhan

Sebanyak 8,9 kg biji buah, 3 kg kulit buah, 5 kg daun dan 5 kg kulit batang masing-masing dimaserasi dengan metanol 3x24 jam setelah dihaluskan terlebih dahulu. Proses penghalusan bertujuan untuk merusak dinding sel hingga proses ekstraksi berlangsung lebih baik dan cepat. Ekstrak yang terkumpul diuapkan hingga diperoleh:

- Ekstrak pekat metanol dari bagian biji seberat 336,5 g
- Ekstrak pekat metanol dari bagian kulit buah seberat 110,8 g
- Ekstrak pekat metanol dari bagian kulit batang seberat 211,6 g
- Ekstrak pekat metanol dari bagian daun seberat 204,5 g

Terhadap masing-masing ekstrak pekat metanol dilakukan uji pendahuluan untuk melihat aktivitas pengendali hamanya (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Uji aktivitas pengendali hama terhadap ekstrak metanol kokosan

Ekstrak metanol bag. tumbuhan	Uji <i>Antifeedant</i> , kons. 1% b/v	Uji perkemb. larva, kons. 1%	Uji Larvasida (LC ₅₀ , ppm)	Uji <i>Repellent</i> ± 8 jam (ppm)
biji buah	56%	9,2 hr/k:7,6 hr	-	-
kulit buah	43%	16,0 hr/k:8,6 hr	808,4	25%
daun	71%	10,2 hr/k:7,5 hr	1204,7	25%
kulit batang	52%	9,7 hr/k:8,6 hr	-	-

Ekstrak pekat metanol dilarutkan dalam metanol-air lalu dipartisi berturut-turut dengan etil asetat dan *n*-heksana menggunakan corong pisah. Partisi dilakukan sebanyak 3-4 kali. Fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana masing-masing diuapkan hingga diperoleh ekstrak *n*-heksan dan ekstrak etil asetat pekat (Tabel 4.2).

Tabel 4.2. Berat ekstrak hasil partisi dari ekstrak metanol

Bagian Tumbuhan	Ekstrak <i>n</i> -heksan (g)	Ekstrak etil asetat (g)
Biji buah	12,2	57,8
Kulit buah	28,3	33,6
Daun	32,4	26,4
Kulit batang	70,7	41,9

4.2. Senyawa dari Biji Buah Kokosan

Terhadap fraksi etilasetat biji buah kokosan dilakukan pemisahan dengan metode KKCVC menggunakan fasa diam silika gel G-60 dengan campuran fasa gerak *n*-heksan, etil asetat dan metanol yang ditingkatkan kepolarannya hingga diperoleh tujuh fraksi (A-G). Fraksi yang terelusi dengan fasa gerak *n*-heksan:etil asetat (7:3) (fraksi D) menghasilkan kristal yang selanjutnya dipisahkan dari larutannya. Kristal dimurnikan dengan kromatografi kolom terbuka menggunakan adsorben silika gel ukuran 70-230 mesh dan fasa gerak *n*-heksan:etil asetat (8:2) hingga diperoleh lima fraksi (D-1 sampai D-5). Fraksi D-2 diperoleh dalam bentuk kristal Kristal selanjutnya direkristalisasi dengan diklorometan hingga diperoleh kristal berwarna putih yang selanjutnya disebut sebagai senyawa **1** sebanyak 6,1 g. Jumlah yang sangat besar ini menunjukkan bahwa senyawa **1** merupakan komponen utama dalam biji kokosan.

4.3. Senyawa dari Kulit Batang Kokosan

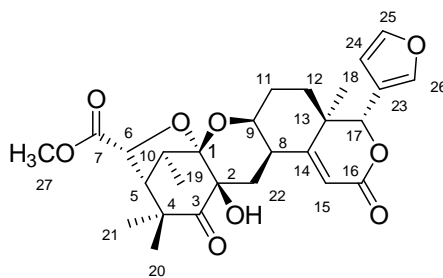
Terhadap fraksi etilasetat kulit batang kokosan dilakukan pemisahan dengan KKCVC menggunakan fasa diam silika gel G-60 dengan campuran fasa gerak *n*-heksan, etil asetat dan metanol yang ditingkatkan kepolarannya hingga diperoleh tujuh fraksi (KA sampai KG). Terhadap fraksi KB selanjutnya dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom terbuka menggunakan adsorben silika gel G-60 (70-230 mesh) dan fasa gerak *n*-heksan:etil asetat (95:5) hingga diperoleh 8 fraksi (KB-1 sampai KB-8). Fraksi KB-3 yang mengandung komponen utama dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom terbuka

menggunakan fasa diam silika gel G-60 (70-230 mesh) dan fasa gerak *n*-heksan:aseton (99,95:0,05) hingga diperoleh 7 fraksi (KB-3.1 sampai KB-3.7). Fraksi KB-3.2 diperoleh dalam bentuk kristal yang selanjutnya dibilas dengan *n*-heksan untuk melarutkan pengotornya. Kristal dimurnikan dengan cara rekristalisasi dalam kloroform hingga diperoleh kristal berbentuk jarum, berwarna putih sebanyak 52,5 mg yang selanjutnya disebut senyawa **2**.

Terhadap fraksi *n*-heksan kulit batang kokosan dilakukan pemisahan dengan KKCVC menggunakan fasa diam silika gel G-60 dengan campuran fasa gerak *n*-heksan, etil asetat dan metanol yang ditingkatkan kepolarannya. hingga diperoleh dua belas fraksi (HA sampai HL). Terhadap fraksi HC yang mengandung komponen utama selanjutnya dilakukan pemisahan dengan KKCVC menggunakan adsorben silika gel dan fasa gerak berupa campuran *n*-heksan dan etil asetat dengan kepolaran yang ditingkatkan, hingga diperoleh 6 fraksi (HC-1 sampai HC-6). Fraksi HC-2 diperoleh dalam bentuk kristal yang selanjutnya dibilas dengan *n*-heksan beberapa kali untuk menghilangkan pengotor. Kristal yang diperoleh berbentuk jarum, berwarna putih sebanyak 24 mg yang selanjutnya disebut isolat **3**.

4.4. Penentuan Struktur Kimia Senyawa-senyawa Hasil Isolasi

4.4.1. Penentuan Struktur Kimia Senyawa 1

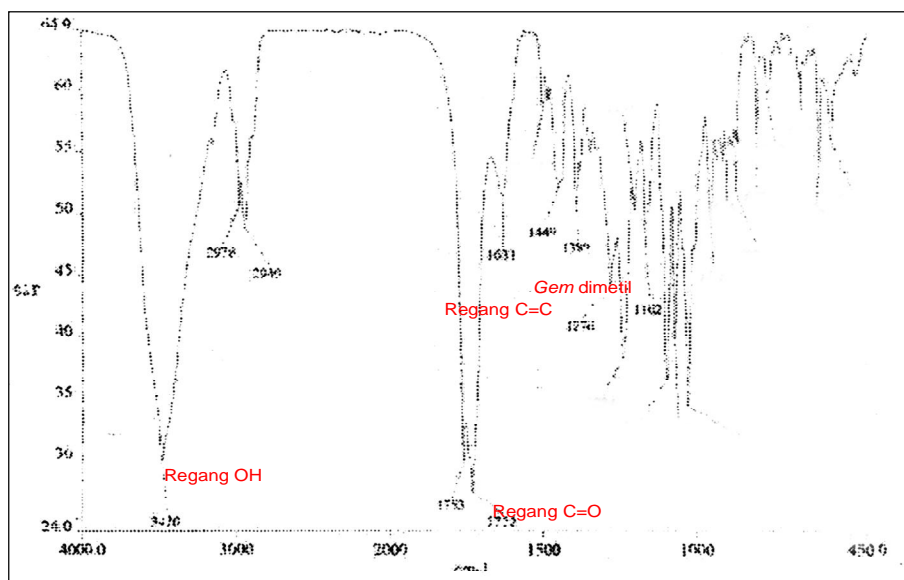


1

Senyawa **1** diperoleh berupa kristal jarum putih dengan titik leleh 178-180 °C dan memiliki rumus molekul $C_{27}H_{32}O_9$ berdasarkan data spektrum NMR dan LC-MS-ESI (pengamatan m/z 501 $[M+H]^+$) (Lampiran 7), transparan pada spektrum ultraviolet yang menunjukkan bahwa senyawa **1** tidak memiliki ikatan rangkap

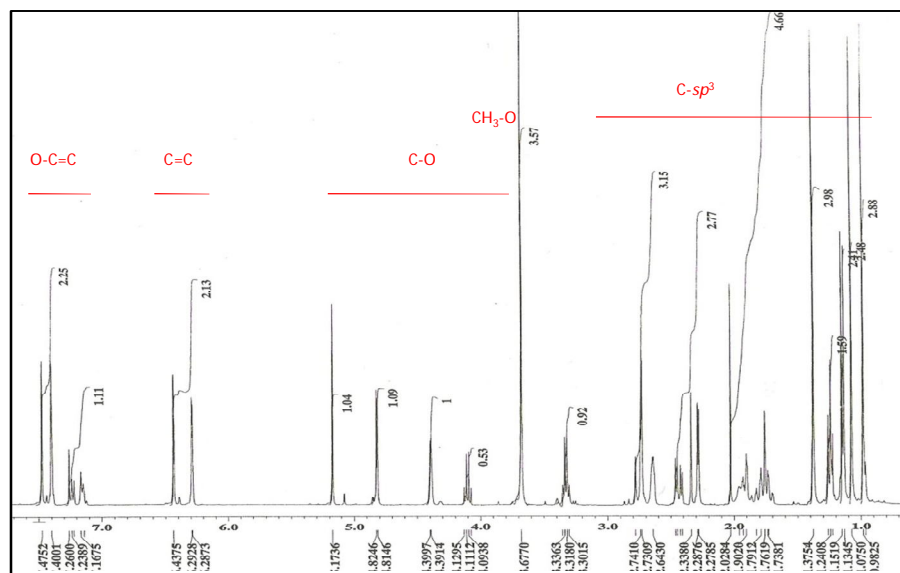
terkonyugasi. Spektrum inframerah (Gambar 4.1) menunjukkan adanya pita-pita serapan pada ν (cm^{-1}): 3427 (OH), 1722 (C=O), 1631 (C=C), 1389 (*gem* dimetil), 1234 (C-O).

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Gambar 4.2) menunjukkan adanya tiga sinyal singlet (δ_{H} 0,98; 1,07 dan 1,37 ppm) yang berasal dari gugus metil tersier dan sebuah sinyal doublet (δ_{H} 1,13, *d*, $J = 8$ Hz) dari gugus metil sekunder yang berkorelasi dengan H-10 (1H, δ_{H} 3,33; *q*, $J = 8$ Hz). Sebuah sinyal singlet pada daerah medan lebih tinggi (δ_{H} 3,67 ppm) berasal dari gugus metoksi. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ juga menunjukkan karakteristik limonoid melalui cincin furan tersubstitusi β pada δ_{H} 7,47 (*s*); 7,40 (*s*) dan 6,43 (*s*) ppm. Proton olefin yang berasal dari gugus keton α,β -tak jenuh memberikan sinyal pada δ_{H} 6,28 ppm (1H, *s*).



G

ambar 4.1. Spektrum inframerah senyawa **1**



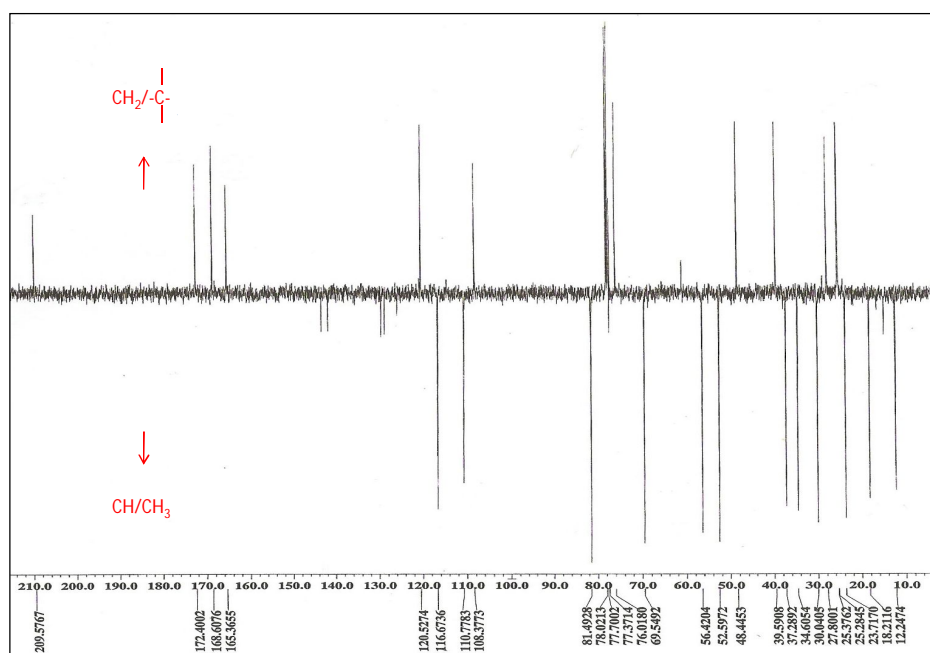
Gambar 4.2. Spektrum ¹H-NMR senyawa **1** (CDCl₃, 400 MHz)

Spektrum ¹³C-NMR dan APT (Gambar 4.3) menunjukkan bahwa senyawa **1** memiliki 27 atom karbon yang terdiri atas empat karbon metil, tiga karbon metilen, sebelas metin dan sembilan karbon kuartener. Adanya sebuah gugus karbonil keton (C-3) dan dua buah gugus karbonil ester (C-7 dan C-16) berturut-turut terdeteksi pada δ_C 208,59; 172,40 dan 165,36 ppm. Gugus-gugus olefin pada cincin furan ditunjukkan oleh pergeseran kimia pada δ_C 143,51 dan 141,97 untuk dua atom karbon *sp*² metin teroksigenasi serta δ_C 120,52 ppm untuk sebuah atom karbon *sp*² kuartener dan δ_C 110,77 untuk atom karbon *sp*² metin. Karbon ikatan rangkap dari gugus keton α,β -tak jenuh memberikan sinyal pada δ_C 168,60 dan 116,67 ppm. Tiga buah sinyal yang berasal dari atom karbon metin yang teroksigenasi terdeteksi pada δ_C 81,46; 77,37 dan 69,54 ppm. Sebuah atom karbon alkohol tersier memberikan sinyal pada δ_C 76,01 ppm sedangkan sebuah atom karbon teroksigenasi dua terdeteksi pada δ_C 108,37 ppm.

Perhitungan harga DBE senyawa **1** memberikan nilai 12. Apabila dikurangi jumlah ikatan rangkap sebanyak 6 maka senyawa **1** memiliki 6 cincin. Kehadiran

gugus metoksi pada δ_H 3,67 ppm (3H, *s*) merupakan indikasi bahwa senyawa **1** merupakan limonoid dengan cincin B yang terbuka (Saewan *et al.*, 2006).

Identifikasi sinyal-sinyal karbon dan proton lebih lanjut ditetapkan berdasarkan spektrum NMR 2D yang ditunjukkan pada Tabel 4.3.

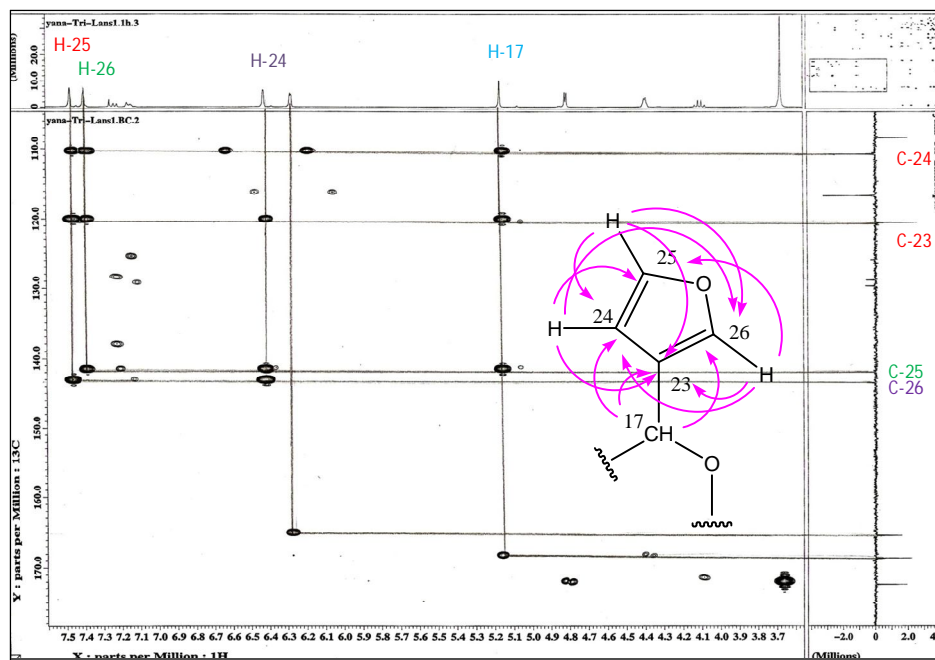


Gambar 4.3. Spektrum APT senyawa **1** (CDCl_3 , 100 MHz)

Keberadaan cincin furan yang terikat pada atom C-17 sebagai ciri khas golongan limonoid dibuktikan melalui korelasi HMBC proton-proton cincin furan; H-24 dengan C-23, C-25, C-26; H-25 dengan C-23, C-24 dan C-26; H-26 dengan C-23, C-24 dan C-25. Posisi cincin furan yang terikat pada atom C-17 dibuktikan melalui korelasi HMBC antara H-17 dengan atom-atom karbon cincin furan, yaitu: C-23, C-24 dan C-26 (Gambar 4.4.) dan penjadwalan jarak jauh antara H-17 dan H-26 pada spektrum COSY (Gambar 4.7)

Tabel 4.3. Data NMR senyawa **1** dalam CDCl₃ pada 400 MHz

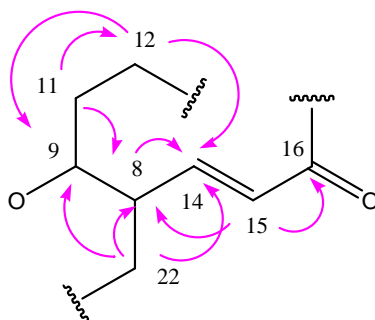
Posisi C	δ_C	δ_H (ΣH , multiplisitas, <i>J</i> dalam Hz)	HMBC	COSY
1	108,37	-		
2	76,01	-		
3	208,59	-		
4	48,44	-		
5	56,42	2,27 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4)	C-1, C-3, C-4, C-10	H-6
6	77,37	4,81 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4)	C-4, C-5, C-7	H-5
7	172,40	-		
8	34,60	2,64 (1H, <i>m</i>)	C-14	H-9, H-22
9	69,54	4,39 (1H, <i>dq</i> , <i>J</i> = 4)	C-14	H-8
10	37,28	3,33 (1H, <i>q</i> , <i>J</i> = 8)	C-2, C-4, C-5, C-19	H-19
11	25,28	1,79;1,91(2H, <i>tt</i> , <i>q</i> , <i>J</i> = 12)	C-8, C-12, C-13	H-12
12	27,80	1,26;1,74 (2H, <i>t</i> , <i>J</i> = 12)	C-9, C-13, C-11, C-17	H-11
13	39,59	-		
14	168,60	-		
15	116,67	6,28 (1H, <i>s</i>)	C-8, C-13, C-16	
16	165,36	-		
17	81,49	5,17 (1H, <i>s</i>)	C-14, C-23, C-24, C-26	
18	18,21	1,07 (3H, <i>s</i>)	C-12, C-13, C-14, C-17	
19	12,24	1,13 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8)	C-1, C-5, C-10	H-10
20	23,71	0,98 (3H, <i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-21,	
21	30,04	1,37 (3H, <i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-20	
22	25,37	2,46(<i>bd</i>); 2,77(<i>dd</i>) (2H, <i>J</i> = 0,4)	C-1, C-2, C-3, C-8, C-9 C-14	H-8
23	120,52	-		
24	110,77	6,43 (1H, <i>s</i>)	C-23, C-25, C-26	
25	143,51	7,40 (1H, <i>s</i>)	C-23, C-24, C-26	
26	141,97	7,47 (1H, <i>s</i>)	C-23, C-24, C-25	
OCH ₃	52,59	3,67 (3H, <i>s</i>)		



Gambar 4.4. Spektrum HMBC untuk korelasi pada bagian cincin furan senyawa **1** (CDCl_3 , 400 MHz)

Posisi gugus keton α , β tak jenuh dibuktikan melalui korelasi pada spektrum HMBC. Proton H-15 berkorelasi tiga ikatan dengan C-13 dan C-8 serta berkorelasi dua ikatan dengan C-16. Proton-proton H-11 berkorelasi tiga ikatan dengan C-8 dan dua ikatan dengan C-12. Proton-proton H-12 berkorelasi tiga ikatan dengan C-9 dan C-18 serta berkorelasi dua ikatan dengan C-13. Proton H-22 berkorelasi tiga ikatan dengan C-9 dan C-14, berkorelasi dua ikatan dengan C-8 (Gambar 4.5). Penjodohan jarak jauh antara H-8 (δ_{H} 2,64; 1H, *m*) dengan H-15 (δ_{H} 6,28, 1H, *s*) diperlihatkan pada spektrum COSY (Gambar 4.7).

Posisi proton-proton visinal H-22 (δ_{H} 2,46; 2,77 ppm; 2H, *dd*, *bd*, $J=0,4$ Hz), H-8 (δ_{H} 2,64 ppm, 1H, *m*), H-9 (δ_{H} 4,39, 1H, *dq*), H-11 (δ_{H} 1,79; 1,91 ppm, 2H, *oq*, *tt*) dan H-12 (δ_{H} 1,26; 1,74 ppm, 2H, *t*) ditunjukkan melalui spektrum COSY (Gambar 4.6).



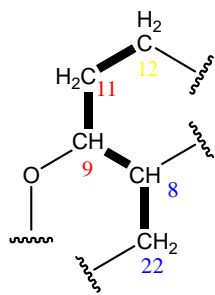
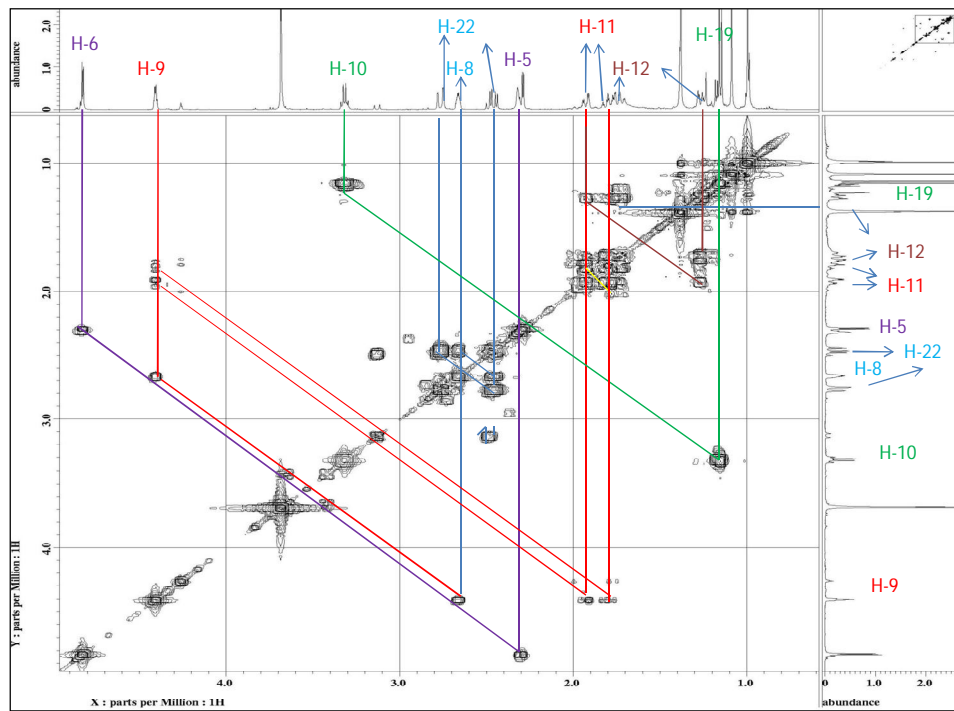
Gambar 4.5. Korelasi HMBC gugus α - β -keton tak jenuh senyawa 1

Posisi rangkaian proton-proton visinal lain yaitu: H-6 (δ_{H} 4,81 ppm, 1H, *d*, $J=4$ Hz), H-5 (δ_{H} 2,27 ppm, 1H, *d*, $J=4$ Hz), H-10 (δ_{H} 3,33 ppm, 1H, *q*, $J=8$ Hz) dan H-19 (δ_{H} 1,13 ppm, 3H, *d*, $J=8$ Hz) juga ditetapkan berdasarkan spektrum COSY (Gambar 4.6).

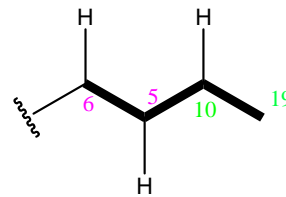
Posisi atom-atom karbon metil ditentukan melalui spektrum HMBC. Posisi sebuah metil yang terikat pada atom C-13 tersier ditunjukkan oleh korelasi antara H-18 yang berjarak tiga ikatan dengan C-12, C-14 dan C-17 serta berjarak dua ikatan dengan C-13. Proton H-17 berkorelasi tiga ikatan dengan C-18, C-12 dan C-14 serta berkorelasi dua ikatan dengan C-13 (Gambar 4.8).

Proton-proton sebuah metil sekunder (H-19) berkorelasi dua ikatan dengan C-10 dan berkorelasi tiga ikatan dengan C-1 dan C-5. Proton-proton dari pasangan gugus *gem* dimetil menunjukkan nilai pergeseran kimia yang berbeda akibat lingkungan kimia. Proton H-20 (δ_{H} 23,71 ppm) menunjukkan pergeseran ke arah yang lebih terperisai dibandingkan proton H-21 (δ_{H} 30,04 ppm). Kedua kelompok proton menunjukkan korelasi dua ikatan dengan C-4 dan korelasi tiga ikatan dengan C-3 dan C-5 (Gambar 4.8).

Karbon-karbon teroksigenasi selain C-7, C-9 dan metoksi merupakan karbon kuartener sehingga posisinya ditetapkan berdasarkan spektrum HMBC. Korelasi antara H-5, H-19 dan H-22 dengan karbon yang mengikat dua oksigen C-1 (δ_{C} 108,37 ppm) menunjukkan posisi C-1 seperti yang terdapat pada Gambar 4.8.

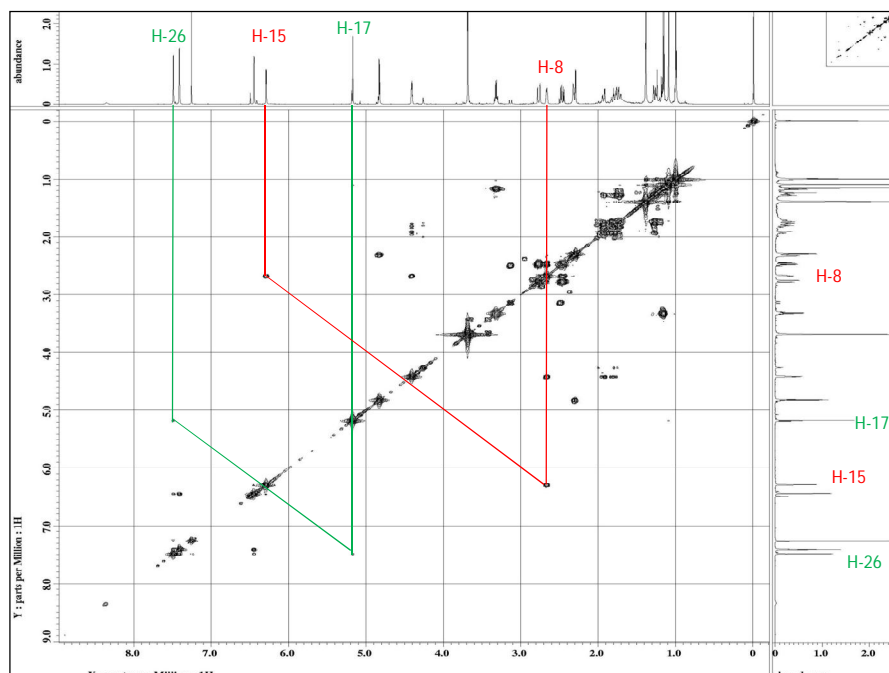


(a)



(b)

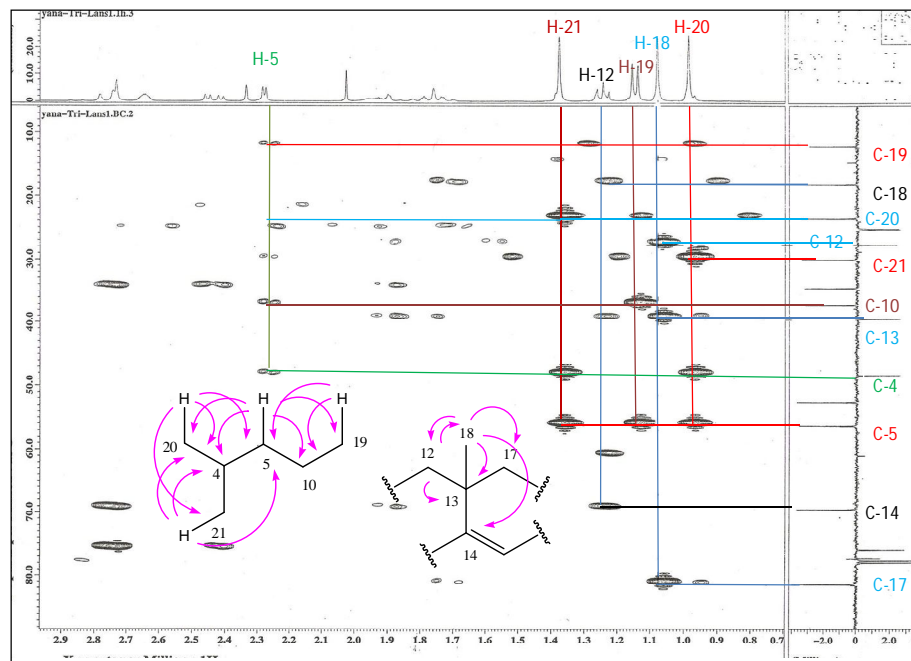
Gambar 4.6. Spektrum dan korelasi COSY (CDCl_3 , 400 MHz) pada senyawa **1**,
 (a) rangkaian H-22, H-8, H-9, H-11 dan H-12 (b) rangkaian H-6, H-5, H-10 dan H-19.



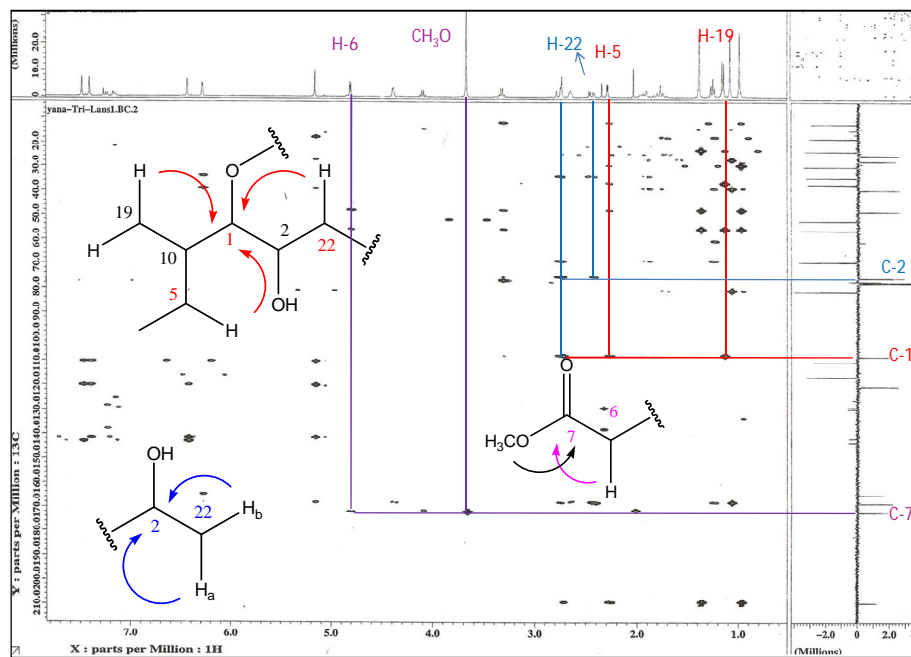
Gambar 4.7. Spektrum COSY (CDCl_3 , 400 MHz) untuk penjadohan jarak jauh antara H-26 dengan H-17 dan H-15 dengan H-8 pada senyawa **1**.

Karbon yang mengikat OH (C-2) ditetapkan posisinya berdasarkan korelasi HMBC dengan H-22. Posisi gugus metoksi karbonil yang terikat pada atom C-6 ditetapkan berdasarkan korelasi HMBC antara proton-proton metoksi (δ_{H} 3,67; 3H, s) dengan C-7 dan antara H-6 dengan karbon metoksi (Gambar 4.9). Penggabungan fragmen-fragmen struktur senyawa **1** menghasilkan dugaan struktur senyawa **1** seperti yang terlihat pada Gambar 4.10.

Stereokimia senyawa **1** ditetapkan melalui spektrum NOESY yang diperkuat oleh data difraksi sinar X. Tidak adanya interaksi NOE antara H-17 dengan H-18 menunjukkan bahwa kedua proton tersebut tidak sebidang.

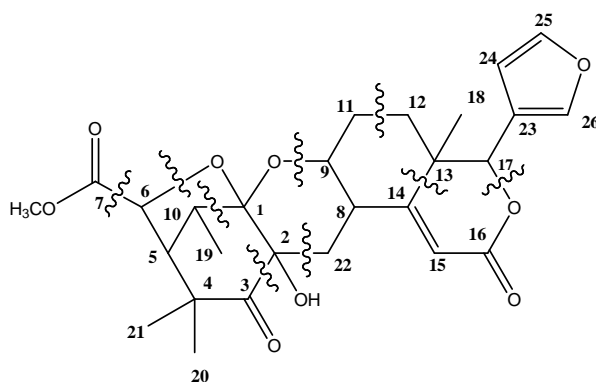


Gambar 4.8. Korelasi HMBC (CDCl_3 , 400 MHz) gugus-gugus metil senyawa **1**

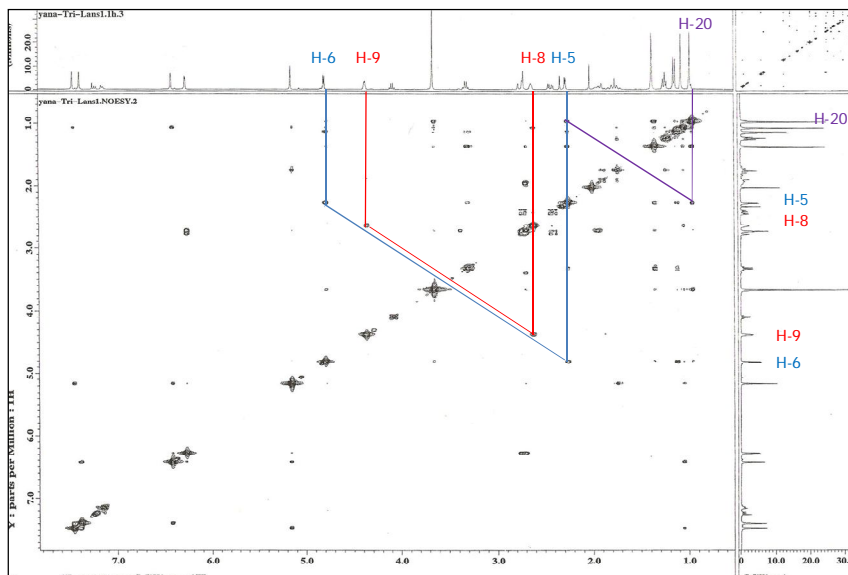


Gambar 4.9. Korelasi HMBC (CDCl_3 , 400 MHz) pada karbon teroksidasi dan metoksi karbonil senyawa **1**.

Cincin tetrahidro piran yang berorientasi β dibuktikan dengan adanya interaksi NOE antara H-8 dan H-9. Adanya interaksi NOE antara H-5 dan H-6 menunjukkan bahwa cincin tetrahidro furan berada pada posisi α . Gugus metil C-19 yang berorientasi α yang dibuktikan dengan tidak terdapatnya korelasi antara H-10 dan H-19 pada spektrum NOESY. Terdapatnya korelasi antara H-20 dengan H-5 pada spektrum NOESY (Gambar 4.11) menunjukkan bahwa keduanya sebidang.

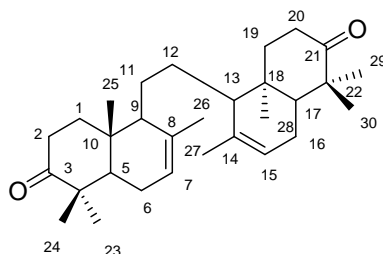


Gambar 4.10. Gabungan fragmen-fragmen struktur senyawa **1**



Gambar 4.11. Spektrum NOESY senyawa **1** (CDCl_3 , 400 MHz)

4.4.2. Penentuan Struktur Kimia Senyawa 2

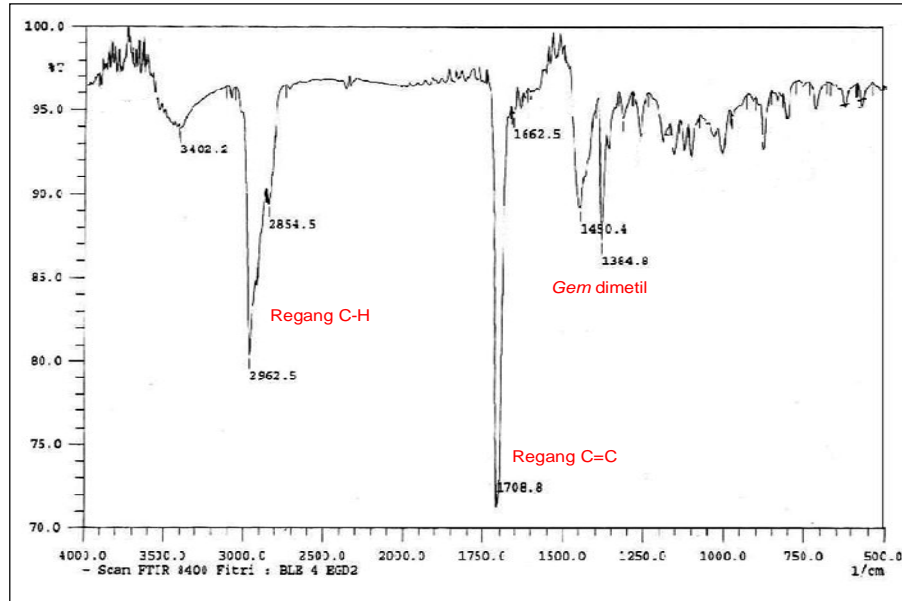


2

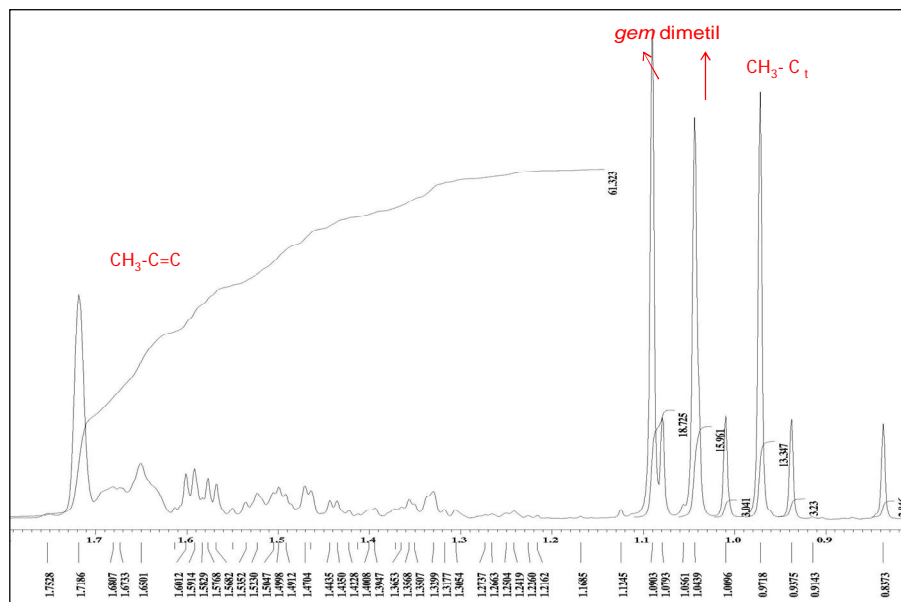
Senyawa **2** diperoleh berupa kristal jarum putih dengan titik leleh 143-144 °C, dan memiliki rumus molekul $C_{30}H_{40}O_2$ yang ditentukan berdasarkan data NMR. Spektrum inframerah (Gambar 4.12) menunjukkan serapan pada bilangan gelombang ν (cm^{-1}): 3042 (C=C), 2962 (C-H), 1708 (C=O), 1662 (C=C), 1384 (*gem* dimetil).

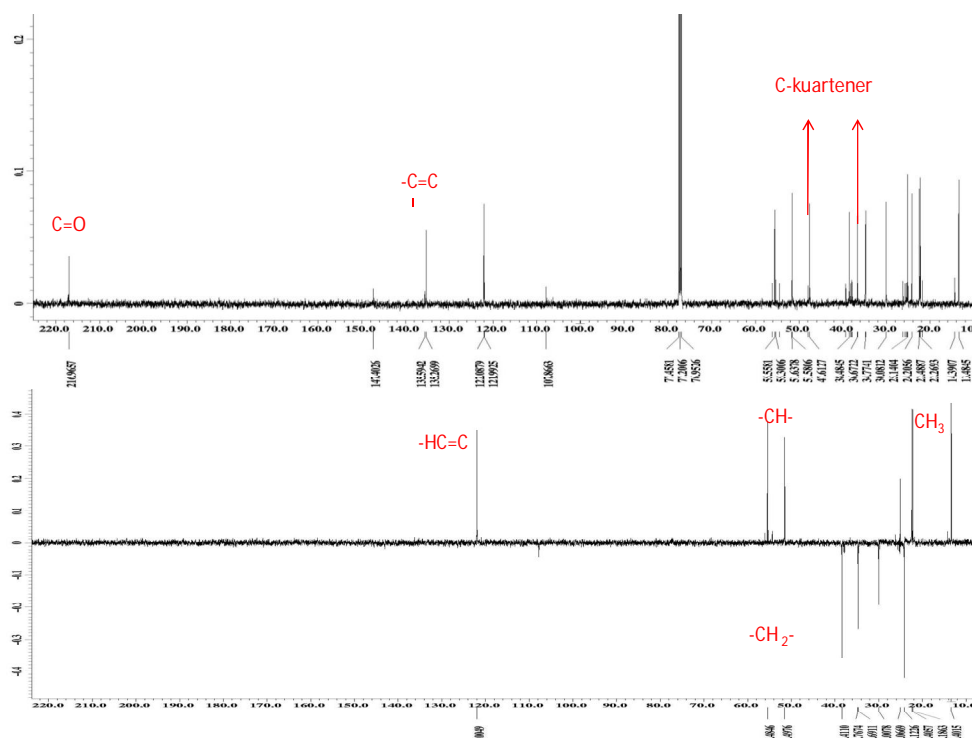
Spektrum 1H -NMR (Gambar 4.13) menunjukkan adanya empat sinyal singlet (δ_H 0,97; 1,04, 1,09 dan 1,72 ppm) yang berasal dari gugus metil tersier. Sebuah metil (δ_H 1,72 ppm) diperkirakan terikat pada gugus olefin sehingga mengalami pergeseran ke arah medan yang lebih rendah dibanding gugus metil lain. Dua gugus metil (δ_H 1,04 dan 1,09 ppm) diperkirakan terikat pada satu atom karbon (*gem* dimetil). Sebuah sinyal proton olefin trisubstitusi dijumpai pada pergeseran kimia 5,48 ppm (1H, *d*).

Spektrum ^{13}C -NMR dan DEPT 135° (Gambar 4.14) menunjukkan lima belas sinyal yang terdiri atas: empat metil (δ_C 13,40; 22,19; 22,41 dan 25,07 ppm), empat metilen (δ_C 24,21; 34,77; 34,85 dan 38,49 ppm), dua metin (δ_C 51,58 dan 55,57 ppm), dua atom C kuartener (δ_C 36,67 dan 47,61 ppm), sebuah karbonil (δ_C 216,95 ppm) sebuah metin olefin (δ_C 122,00 ppm) dan sebuah atom C kuartener olefin (δ_C 135,27 ppm). Jumlah hidrogen yang ganjil menunjukkan bahwa sinyal-sinyal yang muncul diduga berasal dari atom karbon monomer dari suatu senyawa dimer yang simetris. Dengan demikian disimpulkan bahwa senyawa **2** merupakan suatu senyawa simetris yang terdiri atas 30 atom karbon.



Gambar 4.12. Spektrum inframerah senyawa 2

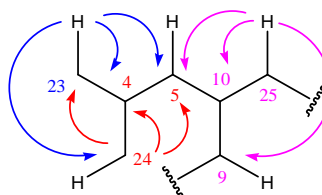
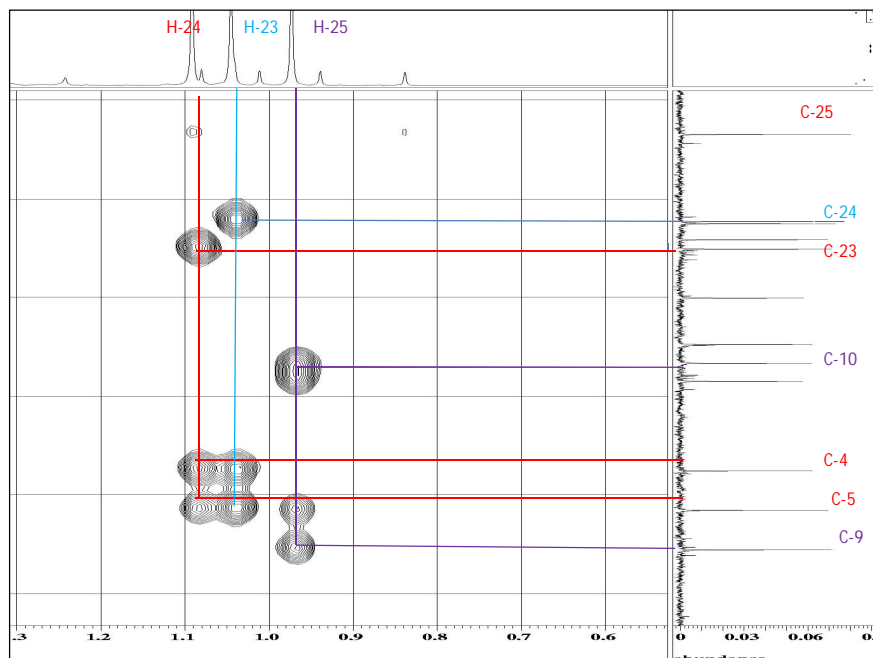
Gambar 4.13. Spektrum ¹H-NMR gugus-gugus metil senyawa 2 (CDCl₃, 500 MHz)



Gambar 4.14. Spektrum ^{13}C -NMR dan DEPT 135^o senyawa **2** (CDCl_3 , 125 MHz)

Proton-proton *gem* dimetil (H-23 dan H-24) ditetapkan posisinya berdasarkan spektrum HMBC yang menunjukkan korelasi dua ikatan dengan C-4 dan korelasi tiga ikatan dengan C-3 dan C-5. Posisi gugus metil kuarterner lain (C-25) ditetapkan berdasarkan korelasi HMBC antara proton H-25 dengan C-5, C-9 dan C-10 (Gambar 4.15).

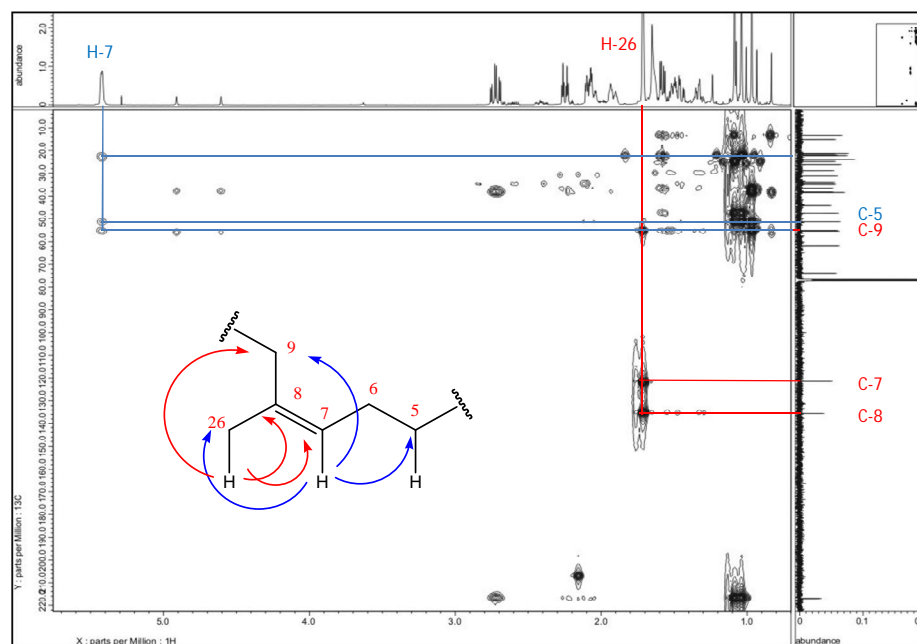
Sebuah metil olefinik (C-26) ditetapkan berdasarkan korelasi HMBC H-26 dengan C-7, C-8 dan C-9. Proton olefinik H-7 menunjukkan korelasi dengan C-5, C-9 dan C-26 (Gambar 4.16).



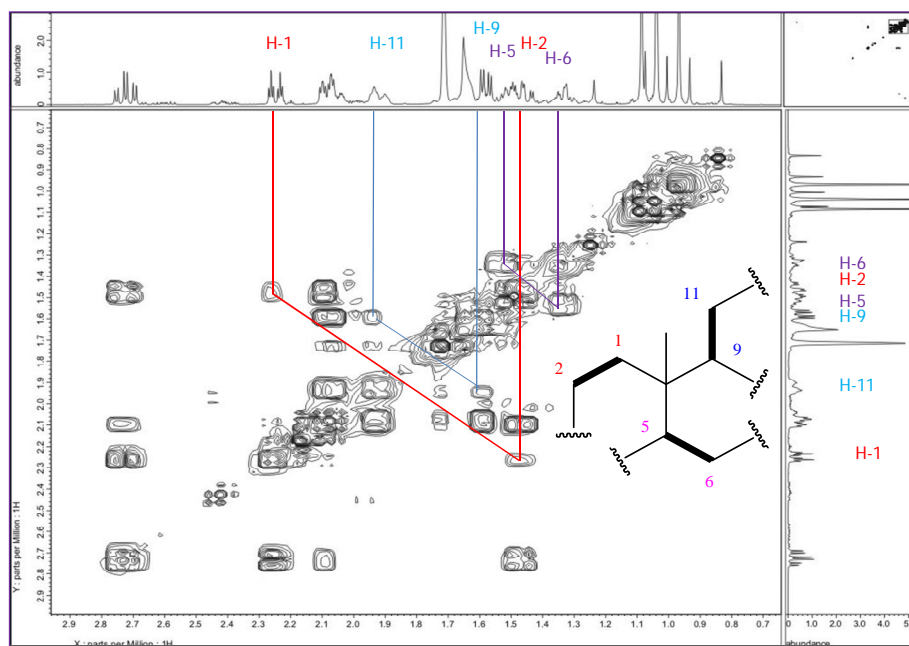
Gambar 4.15. Spektrum dan korelasi HMBC gugus-gugus metil (CDCl_3 , 500 MHz)

Proton-proton visinal ditetapkan posisinya melalui spektrum COSY. Posisi atom-atom C yang berdampingan yaitu C-1 dengan C-2, C-9 dengan C-11 serta C-5 dengan C-6 terlihat seperti pada Gambar 4.17. Identifikasi sinyal-sinyal karbon dan proton senyawa **2** yang dibandingkan dengan hasil penelitian Kosela *et al.* (2001) lebih lanjut ditabulasikan berdasarkan pada Tabel 4.9.

Berdasarkan data-data spektroskopi UV, IR dan NMR ditetapkan senyawa **2** adalah 8,14-secogammacera-7,14-dien-3,21-dion (γ -onoceradiendion). Senyawa tersebut merupakan suatu triterpen simetris yang pertama kali dilaporkan dari kulit batang kokosan namun sebelumnya telah dilaporkan dari kulit buah duku dan kokosan (Habaguchi *et al.*, 1968 dan Kosela *et al.*, 2001).



Gambar 4.16. Spektrum dan korelasi HMBC gugus olefinik senyawa 2 (CDCl₃, 500 MHz)



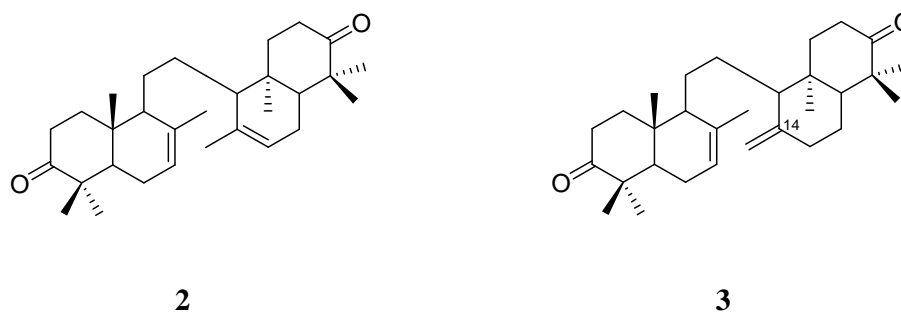
Gambar 4.17. Spektrum dan korelasi COSY proton-proton visinal pada senyawa 2 (CDCl₃, 500 MHz)

Tabel 4.9. Data NMR senyawa **2** dalam CDCl₃ pada 500 Hz

Posisi C	δ_C	$\delta_C A^{*})$	$\delta_H (\Sigma H,$ multiplisitas, J dalam Hz	HMBC	COSY
1, 19	38,49	38,33	1,46;2,09 (2H, <i>m</i>)		H-2
2, 20	34,85	34,58	2,24 (2H, <i>dt</i> , $J = 15$)		H-1
3, 21	216,95	216,51	-		
4, 22	47,61	47,41	-		
5, 17	51,58	55,45	1,59 (1H, <i>dd</i> , $J = 10$)		H-6
6, 16	30,08	29,92	1,33 (2H, <i>m</i>)		H-5
7, 15	122,09	122,94	5,43 (1H, <i>m</i>)	C-5, C-9, C-25	H-26
8, 14	135,27	135,08	-		
9, 13	55,57	51,46	1,65 (1H, <i>m</i>)		
10, 18	36,67	36,52	-		
11, 12	24,21	24,05	1,93 (2H, <i>m</i>)		
23, 29	25,14	25,01	1,04 (3H, <i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-24	
24, 30	22,26	22,07	1,09 (3H, <i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-23	
25, 28	13,49	13,33	0,97 (3H, <i>s</i>)	C-5, C-9, C-10	
26, 27	22,49	22,28	1,72 (3H, <i>s</i>)	C-7, C-8, C-9	

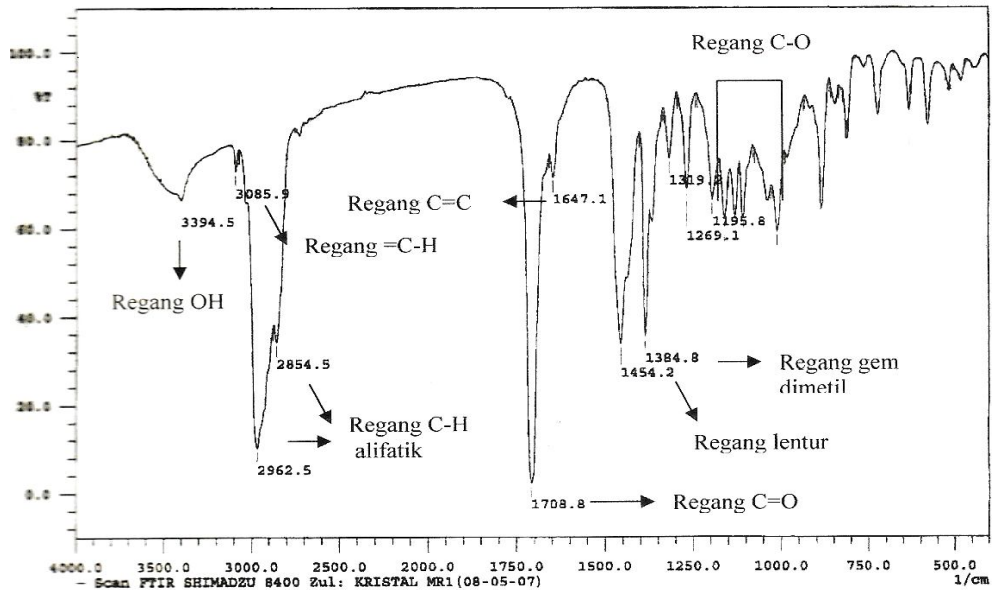
*) Kosela *et al.*, 2001

4.4.3. Penetapan Struktur Isolat 3

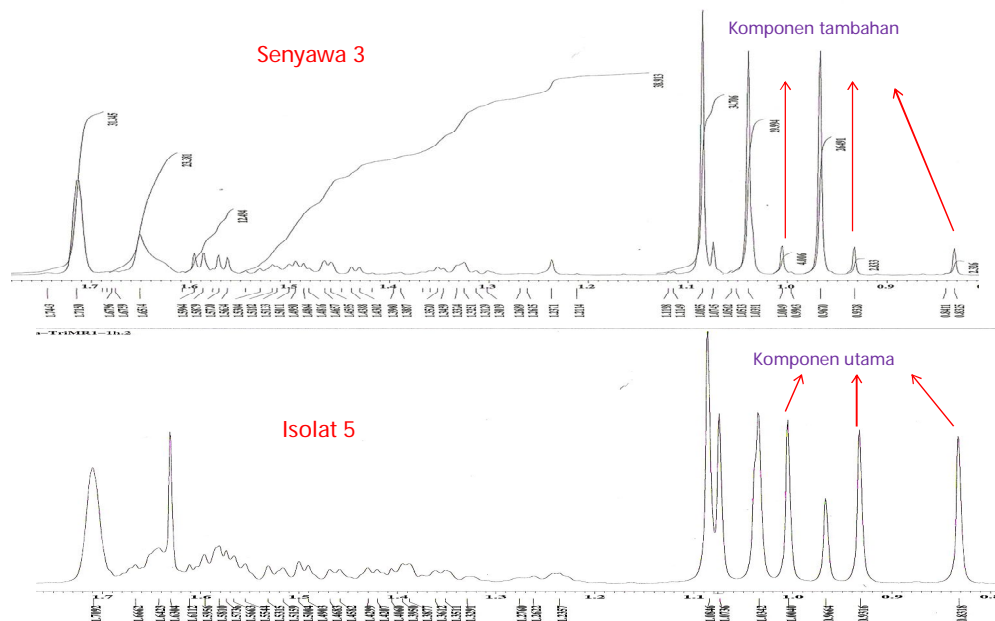


Isolat 3 diperoleh dalam bentuk kristal jarum tak berwarna dengan titik leleh 152-153 °C. Spektrum inframerah (Gambar 4.18) menunjukkan adanya pita-pita serapan pada ν (cm⁻¹): 3085 (C=C), 1708 (C=O), 1647 (C=C); 1384 (*gem* dimetil) dan 1260 (C-O). Spektrum ¹H-NMR isolat 3 menunjukkan komponen terdapat dalam bentuk campuran dua senyawa. Kedua senyawa tersebut memberikan nilai pergeseran kimia yang berdekatan sehingga diduga keduanya

merupakan isomer satu sama lain. Identifikasi nilai pergeseran kimia ^1H - dan ^{13}C -NMR pada isolat 5 menunjukkan bahwa salah satu komponen penyusun isolat 5 adalah senyawa 2 (Gambar 4.19).



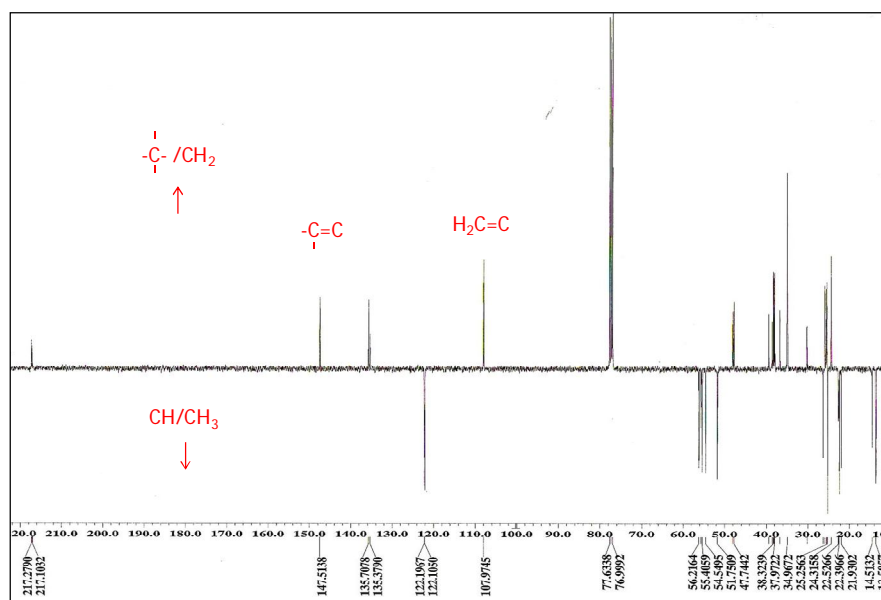
Gambar 4.18. Spektrum IR isolat 5



Gambar 4.19. Perbandingan spektrum ^1H -NMR senyawa 3 dengan isolat 5 (CDCl_3 , 400 MHz).

Kedekatan nilai pergeseran kimia ^1H - dan ^{13}C -NMR dari komponen minor menunjukkan bahwa kedua komponen merupakan isomer satu sama lain. Pada komponen minor dijumpai empat sinyal singlet (δ_{H} 0,82; 0,92; 1,02 dan 1,06 ppm) yang berasal dari gugus metil tersier, hal tersebut menunjukkan bahwa komponen tambahan bukanlah suatu triterpen yang simetris sebagaimana senyawa **2**.

Pada spektrum APT terdapat sinyal karbon metilen sp^2 (δ_{C} 108,90 ppm) (Gambar 4.20) yang berkorelasi dengan H-27 (2H, δ_{H} 4,60 dan 4,91 ppm, *s*) pada spektrum HMQC. Sinyal karbon tersebut tidak dijumpai pada senyawa **2**. Berdasarkan hal tersebut diduga komponen lain yang menjadi penyusun isolat **3** memiliki ikatan rangkap dua eksosiklik. Komponen utama dalam isolat **3** ditetapkan sebagai 8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion (α,γ -onoceradiendion) (**3**) dan 8,14-secogammacera-7,14-dien-3,21-dion (γ -onoceradiendion) (**2**) sebagai komponen tambahan dengan perbandingan 75%:25% (Tjokronegoro *et al.*, 2009).



Gambar 4.19. Spektrum APT isolat **3** (CDCl_3 , 100 MHz)