

1 JUL 2003

IR - Perpustakaan Universitas Airlangga

**PAMERAN**



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2001

## **MODIFIKASI MOLEKUL ASAM BETULINAT HASIL ISOLASI DARI *Avicennia Marina* (Forsk.) VIERH**

**Peneliti:**

**Dra. Juni Ekowati, M.Si.  
Dr. G.N. Astika**

### **LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia

DIP Nomor : 059/XXIII/--/2001 Tanggal 1 Januari 2001

Kontrak Nomor : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 17

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**Nopember, 2001**



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2001

KKZ.  
KKB  
615.19  
EKO.  
m

## MODIFIKASI MOLEKUL ASAM BETULINAT HASIL ISOLASI DARI *Avicennia Marina* (Forsk.) VIERH

Peneliti:

Dra. Juni Ekowati, M.Si.

Dr. G.N. Astika

3000324023141

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SUABAYA

### LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia

DIP Nomor : 059/XXIII/--/2001 Tanggal 1 Januari 2001

Kontrak Nomor : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 17

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2001



LAPORAN PENELITIAN DOSEN WUDA  
TAHUN ANGGARAN 2001

MODIFIKASI MOLEKUL ASAM BETULINAT HASIL ISOLASI  
DARI *Avicennia Marina* (Forsk.) VIERH

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SU ABAYA

Dr. Juni Ekowati  
Dr. G.N. Astika

3000 2001 0331H

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SU ABAYA

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibuat oleh Bagian Penyelidikan Kualitas Sumber Daya Manusia

Dit. Nomor : 0302/211A-42001 (tanggal 1 Januari 2001)

Kontrak Nomor : 03/1411/BBPK-SDM/11/2001

Dibuat dan diterbitkan dengan biaya Dedykmas

Nomor Unit : 13

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November, 2001





# LEMBAGA PENELITIAN

- |                                      |                                       |  |
|--------------------------------------|---------------------------------------|--|
| 1. Puslit Pembangunan Regional.      | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Puslit Obat Tradisional           | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)      |  |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum         | 7. Puslit Olahraga                    | 10. Puslit/Kes hatan Reproduksi                  |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718) | 8. Puslit Bioenergi                   |  |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax (031) 5995346  
E-mail: lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/622J

3000324023141

## IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

1. a. Judul Penelitian	: Modifikasi molekul asam betulinat hasil isolasi dari <i>Avicennia marina</i> (Forsk.) VIERH
b. Macam Penelitian	: I / II / III *)
2. Kepala Proyek Penelitian	:
a. Nama Lengkap dan Gelar	: Dra. Juni Ekowati, MSi. Apt.
b. Jenis Kelamin	: Perempuan
c. Pangkat/Gol. dan NIP	: Penata Tk.I /IIIc. NIP 132 009 462
d. Jabatan Fungsional	: Staf Dosen / Lektor
e. Fakultas/Jurusan	: Farmasi/ Jurusan Kimia Farmasi
f. Univ. / Inst./ Akademi	: Airlangga
g. Bidang Ilmu yang diteliti	: Farmasi
3. Jumlah Tim Peneliti	: Dua orang
4. Lokasi Penelitian	: Lab. Sintesis Farmasi Fak. Farmasi Unair
5. Bila Penelitian ini merupakan peningkatan kerja sama kelembagaan, sebutkan :	
a. Nama Instansi	: --
b. Alamat	: --
6. Jangka Waktu Penelitian	: 6 (enam) bulan
7. Biaya yang diperlukan	: Rp. 5.000.000,-

Surabaya, 16 Oktober 2001



Mengetahui :  
Pembantu Dekan I  
Fak. Farmasi Unair

Dr. Wahjo Dyatmiko, Apt.  
NIP. 130541815

Ketua Peneliti

Dra. Juni Ekowati, MSi., Apt  
NIP. 132009462



Menyetujui :  
Ketua Lembaga Penelitian Unair,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.  
NIP. 130701125



## RINGKASAN

**MODIFIKASI MOLEKUL ASAM BETULINAT HASIL ISOLASI DARI *Avicennia marina* (Forsk) Vierh., Juni Ekowati\*, G.N. Astika\*, 2001, 38 halaman**

Adanya resistensi kuman/parasit dan variasi penyakit baru menyebabkan meningkatnya tuntutan adanya penemuan obat baru di bidang Farmasi..

Penemuan obat baru dari senyawa produk alam, pada umumnya dilakukan dengan penapisan bahan alam, diisolasi dan dimurnikan senyawa yang terkandung, ditentukan struktur kimianya, diuji dengan sistem uji biologis yang sesuai sehingga didapatkan senyawa penuntun. Untuk meningkatkan aktivitas biologisnya dilakukan antara lain dengan cara memodifikasi struktur senyawa tersebut.

Asam betulinat , suatu senyawa triterpena pentasiklik yang terdapat pada kulit batang *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. merupakan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai senyawa penuntun, karena telah diketahui mempunyai beberapa aktivitas biologis.

Terdapat 2 (dua) gugus penting pada asam betulinat yaitu gugus-hidroksil dan gugus-karboksil. Pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi pada gugus hidroksil. Salah satu reaksi yang dapat dilakukan pada gugus hidroksil tersebut adalah reaksi asilasi. Senyawa pengasilasi yang digunakan adalah anhidrida asetat dan benzoil klorida.

Tujuan penelitian ini adalah melakukan modifikasi asam betulinat hasil isolasi dari *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. melalui reaksi asilasi pada gugus hidroksil dengan senyawa pengasilasi anhidrida asetat dan benzoil klorida.

Pada penelitian ini asam betulinat diperoleh dari kulit batang tanaman *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh., setelah dilakukan perkolasi dengan metanol dan dilanjutkan dengan kromatografi kolom. Terhadap isolat dilakukan identifikasi dengan spektrometer massa, spektrofotometer infra merah, kromatografi lapisan tipis, titik lebur dan dibandingkan dengan asam betulinat pembanding.

Isolat yang didapat berupa kristal jarum, dengan titik lebur 278°C. Hasil identifikasi dengan KLT, spektrofotometer infra merah dan spektrometer massa menunjukkan hasil yang identik dengan pembanding.

Reaksi asetilasi asam betulinat memberikan hasil reaksi sebesar 80%. berupa serbuk berwarna putih dan mempunyai titik lebur 206°C. Spektra infra menunjukkan tidak ada pita pada bilangan gelombang 3445  $\text{cm}^{-1}$  untuk gugus -OH, bilangan gelombang 1736  $\text{cm}^{-1}$  untuk gugus -C=O; bilangan gelombang 1246  $\text{cm}^{-1}$  untuk gugus -C-O dari asetil. Hasil spektrometer masa menunjukkan m/z 498 sesuai dengan bobot molekul senyawa hasil asetilasi. Fragmen m/z 455 menunjukkan molekul induk kehilangan gugus asetil, fragmen m/z 189 menunjukkan senyawa tersebut triterpenoid pentasiklik golongan lupan.

Sedangkan reaksi benzoilasi asam betulinat menunjukkan hasil reaksi sebesar 60%, berupa serbuk berwarna putih dan mempunyai titik lebur 246°C. Spektra infra merah menunjukkan tidak ada lagi pita serapan -OH bebas pada bilangan gelombang 3445  $\text{cm}^{-1}$ , terdapat pita pada bilangan gelombang 3070  $\text{cm}^{-1}$  untuk -C-H senyawa aromatik, pada bilangan gelombang 1687  $\text{cm}^{-1}$  pita untuk gugus -C=O dari ester, -C-C aromatik pada bilangan gelombang 1454 dan 1425  $\text{cm}^{-1}$

Hasil fragmentasi spektrometer masa tidak menunjukkan m/z 561 sesuai dengan bobot molekul senyawa hasil benzoilasi, diduga senyawa tersebut pecah karena proses ionisasi dengan Elektron Impact. Tetapi hasil fragmentasi

menunjukkan fragmen asam betulinat pada  $m/z$  456 , sedangkan fragmen benzoil terlihat pada  $m/z$  105, fragmen inti aromatis terlihat pada  $m/z$  77, fragmen  $m/z$  189 menunjukkan senyawa tersebut triterpenoid pentasiklik golongan lupan.

Disimpulkan bahwa pada gugus hidroksil asam betulinat dapat diasilasi dengan anhidrida asetat dan benzoil klorida.

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas biologis senyawa hasil modifikasi.

(\* Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga)

DIP APBN (DP3M) Tahun 2001, Nomor : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001, 15  
Maret 2001





## SUMMARY

**MODIFICATION of MOLECULE BETULINIC ACID ISOLATED from *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh., Juni Ekowati\*, G.N. Astika\*, 2001, 38 pages.**

Resistance of bacterial/parasite and variation of new disease caused increasing of demand the search for a new drug.

The search a new drug obtained by screening natural sources such as microbial fermentations and plant extracts, isolated and purified isolate, confirmed the structure, tested by biological assay to found the lead compound.

Betulinic acid, a pentacyclic triterpene was found in the outer bark of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. potentially as lead compound.

There were 2 (two) important moieties at betulinic acid., i.e. the hidroxy and carboxyl. This experimental would modification the hidroxy moiety. The one reaction was acylation by the acylated substances using anhidrida acetate and benzoyl chloride.

The aim of the reseach was modification betulinic acid isolated from *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh by acylation using anhidride acetate and benzoyl chloride.

Betulinic acid was isolated from the outer bark of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. , after percolated with methanol and purified by coloum chromatography. Isolate was identified with infra red spectofotometry, mass spectrometry, thin layer chromatography and melting point apparatus; and compared with standard.

The isolate was needles crystal with mp. 278°C. Identification of isolate gave results like the standard.

The acetylation of betulinic acid gave 80% product.. as white crystal with

melting point 206°C. The infra red spektrum didn't show band at 3445 cm<sup>-1</sup> for -OH, but showed band at 1736 cm<sup>-1</sup> for -C=O; band at 1246 cm<sup>-1</sup> for -C(C=O)-O. Mass Spectrometry showed the m/z 498 peak of the acetylated betulinic acid. The m/z 438 showed the acetylated betulinic acid lost the acetyl moiety. The m/z 189 showed the compound was lupane type.

The benzylation of betulinic acid gave 60% product. as white powder with melting point 246°C. The infra red spektrum didn't show band at 3445 cm<sup>-1</sup> for -OH, but showed band at 3070 cm<sup>-1</sup> for -C-H aromatic, band at 1687 cm<sup>-1</sup> for -C=O ester; band at 1454 and 1425 cm<sup>-1</sup> for -C-C aromatic. Mass Spectrometry didn't show the m/z 561 peak of the benzyolated betulinic acid, because it suggested that the molecule of the benzyolated betulinic acid scattered after ionisation with Electron Impact. The m/z 456 showed the benzyolated batulinic acid lost the benzoyl moiety. The m/z 105 showed benzoyl, the m/z 77 showed aromatic ring. The m/z 189 showed the compound was lupane type.

The concluding of this research that modification molecule betulinic acid isolated from *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh could did by acylation using anhidride acetate and benzoyl chloride.

It was suggested to evaluated for biological activity of the derivates betulinic acid.

(\* Departement of Chemical Pharmacy, Faculty of Pharmacy Airlangga University)

DIP APBN (DP3M) Tahun 2001, Nomor : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001, 15 Maret 2001

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. karena hanya berkat rahmat Nya lah penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul : **Modifikasi Molekul Asam Betulinat Hasil Isolasi dari Avicennia marina (Foersk.) Vierh.**

Penelitian ini tidak mungkin dapat terselesaikan tanpa bantuan pihak-pihak terkait, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga
2. Kepala Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Terapan Ditjen Dikti, Depdiknas.
3. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
4. Dekan Fakultas Farmasi Unair
5. Kepala Laboratorium Sintesis Farmasi, Fak. Farmasi Unair
6. Semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini

Semoga Allah SWT. memberikan balasan yang setimpal atas jasa baik yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini sangat sederhana dan jauh dari sempurna, oleh karena itu kami mengharapkan kritik dan saran agar karya ilmiah ini menjadi lebih sempurna.

Penulis berharap semoga penelitian ini berguna serta berfaedah bagi dunia pendidikan khususnya di bidang farmasi.

Surabaya, Oktober 2001

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	iii
SUMMARY.....	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1. Latar Belakang Permasalahan.....	1
2. Rumusan Masalah.....	4
3. Hipotesis Penelitian.....	4
4. Tujuan Penelitian.....	4
5. Kontribusi Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
1. Tinjauan tentang Modifikasi Molekul Senyawa yang sudah diketahui aktivitas biologisnya.....	5
2. Tinjauan tentang reaksi.....	8
2.1. Reaksi asilasi.....	8
2.2. Peranan gugus karbonil.....	9
2.3. Tinjauan tentang asil halida dan anhidrida asam.....	12
2.4. Tinjauan tentang asam betulinat.....	13
2.5. Tinjauan tentang <i>Avicennia marina</i> (Forsk.) Vierh.....,	14
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>17</b>

3.1.	Rancangan penelitian.....	17
3.2.	Bahan.....	18
3.3.	Peralatan.....	18
3.4.	Ekstraksi dan fraksinasi.....	19
3.5.	Pemisahan dan pemurnian.....	19
3.6.	Metode kerja.....	19
3.6.1.	Isolasi.....	19
3.6.2.	Identifikasi isolat.....	20
3.6.3.	Modifikasi struktur asam betulinat.....	21
3.6.4.	Identifikasi senyawa hasil modifikasi.....	22
<b>AB</b>	<b>IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1.	Isolasi.....	23
4.2.	Identifikasi isolat.....	24
4.3.	Modifikasi stuktur asam betulinat.....	27
4.3.1.	Reaksi asetilasi.....	27
4.3.2.	Reaksi benzoilasi.....	30
<b>AB</b>	<b>V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>35</b>
	Kesimpulan.....	35
	Saran.....	35
<b>AFTAR</b>	<b>PUSTAKA.....</b>	<b>36</b>



## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
abel 1 Hasil kromatografi lapisan tipis senyawa isolat A.....	26
abel 2 Hasil kromatografi lapisan tipis hasil asetilasi asam betulinat.....	28
abel 3 Hasil kromatografi lapisan tipis hasil benzoilasi asam betulinat...	31

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1 Skema penelitian .....	17
Gambar 2 Spektrum massa isolat A.....	25
Gambar 3 Spektrum infra merah isolat A dalam lempeng KBr.....	26
Gambar 4 Spektrum infra merah hasil asetilasi asam betulinat dalam lempeng KBr.....	29
Gambar 5 Spektrum masa hasil asetilasi asam betulinat.....	30
Gambar 6 Spektrum infra merah hasil benzoilasi asam betulinat dalam lempeng KBr .....	32
Gambar 7 Spektrum masa hasil benzoilasi asam betulinat.....	34

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. Latar Belakang Permasalahan

Dalam bidang kefarmasian tuntutan penemuan obat baru semakin meningkat karena makin bervariasinya jenis penyakit, belum adanya obat yang baik untuk penyakit tertentu, banyaknya kuman yang sudah kebal terhadap obat-obat tertentu dan ditemukannya berbagai efek samping akibat pemakaian obat-obat yang sudah dikenal. Hal tersebut mendorong penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan struktur obat yang telah ada atau mencari dan menemukan obat baru. Penemuan obat baru tersebut bertujuan untuk pengobatan jenis penyakit tertentu, meningkatkan aktivitas obat, menurunkan efek samping yang merugikan dan meningkatkan selektivitas obat (Block, 1991).

Penelitian tentang senyawa baru yang aktif secara farmakologis yang dilakukan dengan penapisan sumber-sumber alam seperti fermentasi mikroba dan ekstrak tanaman, telah membantu banyak ahli klinik untuk menerapkannya pada pengobatan penyakit-penyakit manusia. Dilaporkan juga bahwa saat ini kira-kira 60% senyawa antitumor dan antiinfeksi yang diperdagangkan berasal dari bahan alam (Shu, 1998)

Penelitian tentang obat tradisional sampai sekarang terus dikembangkan



karena menghasilkan efek yang cukup baik. Selain senyawa antitumor dan antiinfeksi, antibiotika, vitamin dan hormon, juga dihasilkan dari pemurnian atau isolasi berbagai ekstrak sumber alam (Siswandono & Soekardjo, 1998).

Penemuan senyawa produk alam pada umumnya dilakukan dengan ekstraksi, isolasi dan pemurnian senyawa yang terkandung, ditentukan struktur kimianya, diuji dengan sistem uji biologis yang sesuai sehingga didapatkan senyawa penuntun. Senyawa penuntun adalah senyawa yang dapat menimbulkan aktivitas biologis, serta senyawa yang terlibat terhadap proses biokimia dan patologi pada hewan dan tanaman (Siswandono & Soekardjo, 1998; Shu, 1998).

Asam betulinat merupakan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai senyawa penuntun, karena telah diketahui mempunyai beberapa aktivitas biologis. Telah dilaporkan bahwa asam betulinat berpotensi sebagai penghambat aktivitas aminopeptidase N pada penelitian senyawa antitumor (Melzig & Bormann, 1998), anti malaria (Bringmann et al., 1997), anti inflamasi (Safayhi & Sailer, 1997; Recio et al., 1995), anti bakteri (Klinotova et al., 1996), anti HIV (Klinotova et al., 1996; Kashiwada, Y., et al., 2000), anti fertilitas (Astika, 1989).

Asam betulinat merupakan senyawa triterpena pentasiklik yang banyak terdapat pada berbagai tanaman, antara lain *Diospyros leucomelas* (Recio et al.,

1995), *Syzigium formosanum* (Chang, 1999), *Triphyophyllum peltatum*, *Scistrocladus heyneanus* (Bringmann, et al., 1997), *Betula ssp.* (Melzig & Bormann, 1998), *Avicennia marina* (Astika, 1989). Pada penelitian ini asam betulinat diisolasi dari kulit batang *Avicennia marina*, yaitu tanaman dari hutan pasang atau dari pantai (Heyne, 1987) yang banyak dan mudah di dapat di Indonesia.

Suatu senyawa akan menunjukkan aktivitas farmakologis bila di dalam senyawa tersebut terdapat atom-atom atau pusat-pusat yang dapat melakukan interaksi kritik dengan reseptor, yang disebut farmakofor. Dengan melakukan modifikasi farmakofor maka dapat dirancang aktivitas farmakologi suatu senyawa (Davies & Brian, 1995). Untuk menemukan gugus farmakofor penting dan mendapatkan senyawa derivat asam betulinat yang mempunyai aktivitas lebih tinggi, masa kerja lebih panjang, toksisitas lebih rendah, lebih stabil dan lebih ekonomis maka dilakukan modifikasi molekul asam betulinat hasil isolasi dari *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. tersebut.

Asam betulinat mempunyai 2 (dua) gugus penting yaitu gugus-hidroksil dan gugus-karboksil. Chatterjee, P., et al. (1999) melaporkan bahwa hasil metabolime asam betulinat pada fungi, berupa senyawa hasil substitusi gugus - $\beta$ -D-glukopiranosil pada gugus karboksil (C<sub>28</sub>). Adanya sustitusi tersebut menghilangkan aktivitas asam betulinat sebagai anti melanoma. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi pada gugus hidroksil. Salah



satu reaksi yang dapat dilakukan pada gugus hidroksi tersebut adalah reaksi asilasi.

Pada penelitian ini akan disintesis turunan asam betulinat dengan melakukan asilasi gugus hidroksil pada asam betulinat dengan senyawa pengasilasi anhidrida asetat dan benzoil klorida.

## **2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

- Apakah dapat dilakukan modifikasi asam betulinat melalui reaksi asilasi gugus hidroksil asam betulinat dengan senyawa pengasilasi anhidrida asetat dan benzoil klorida ?

## **3. Hipotesis Penelitian**

- Modifikasi asam betulinat dapat dilakukan melalui reaksi asilasi gugus hidroksil asam betulinat dengan senyawa pengasilasi anhidrida asetat dan benzoil klorida.

## **4. Tujuan Penelitian**

- Melakukan modifikasi molekul asam betulinat hasil isolasi dari *Avicennia*

*marina* (Forsk.) Vierh., yaitu dengan reaksi asilasi sehingga dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut aktivitas biologisnya.

#### **5. Kontribusi Penelitian**

- Diperoleh beberapa senyawa hasil modifikasi asam betulinat yang diharapkan lebih bermanfaat dari segi efek farmakologis maupun farmasetis daripada asam betulinat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Tinjauan tentang modifikasi molekul senyawa yang sudah diketahui aktivitas biologisnya

Modifikasi molekul adalah dasar pengembangan dari kimia organik.

Dasar modifikasi molekul adalah mengembangkan struktur senyawa induk yang sudah diketahui aktivitas biologisnya, kemudian disintesis dan diuji aktivitas dari homolog atau analognya.

Tujuan modifikasi molekul adalah :

- a. Mendapatkan senyawa baru yang mempunyai aktivitas lebih tinggi, masa kerja yang lebih panjang, tingkat kenyamanan lebih besar, toksisita lebih rendah, lebih selektif, lebih stabil dan lebih ekonomis. Selain itu modifikasi molekul digunakan pula untuk mendapatkan senyawa baru yang bersifat antagonis atau antimetabolit.
- b. Menemukan gugus farmakofor penting, yaitu bagian molekul obat yang dapat memberikan aksi farmakologi.

Dalam modifikasi molekul, metode yang digunakan sangat bervariasi, antara lain yaitu :

### **1. Penyederhanaan molekul**

Dalam metode ini dilakukan pemecahan, penyisipan atau pemotongan bagian dari struktur molekul yang besar, melalui proses sintesis yang sistematis dan dievaluasi bagian struktur atau prototipe analognya.

### **2. Penggabungan molekul**

Pada metode ini dilakukan adisi, replikasi atau hibridisasi senyawa induk, melalui proses sintesis dan kemudian dievaluasi prototipe analog yang lebih kompleks.

### **3. Perubahan dimensi dan kelenturan molekul**

- a. Penutupan dan pembukaan cincin
- b. Pembentukan seri homolog
- c. Pemasukan ikatan rangkap
- d. Pemasukan pusat kiral
- e. Pemasukan, penghilangan atau penggantian gugus meruah

### **4. Perubahan sifat kimia fisika molekul**

- a. Substitusi isosterik
- b. Mengubah posisi atau orientasi gugus tertentu

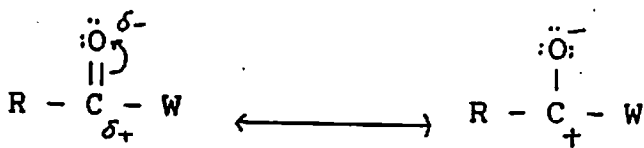
- c. Pemasukan gugus pengalkilasi
- d. Modifikasi melalui perubahan sifat elektronik : efek induksi, efek konjugasi, efek obstruktif (Siswandono, B. Soekardjo, 1998).

## 2. Tinjauan reaksi

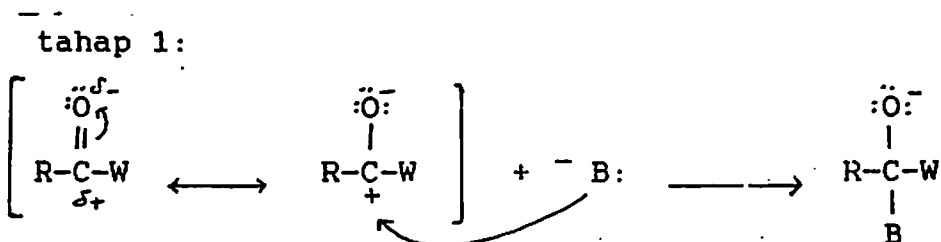
### 2.1. Reaksi asilasi (Fessenden & Fessenden, 1984; Morrison & Boyd, 1989; Pine, 1988)

Pengasilan merupakan proses yang menunjukkan dipindahkannya gugus asil ( $R-C=O$ ) dari satu atom (gugus) ke atom (gugus) yang lain.

Zat pengasilasi bertindak sebagai elektrofil dan biasanya yang mendapat serangan adalah atom karbon pada gugus karbonil. Hal ini disebabkan karena perpindahan elektron dengan arah :

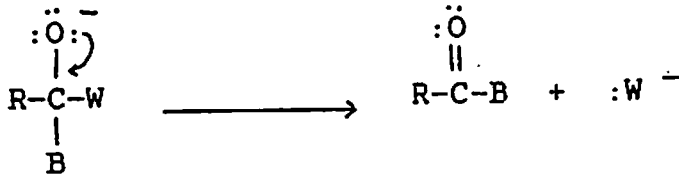


Mekanisme reaksi asilasi terjadi melalui dua tahap, yaitu :





tahap 2:



W = gugus pergi ; B = nukleofil

Pada tahap pertama terjadi penyerangan pada gugus karbonil dan pembentukan hasil antara tetrahedral yang ditunjang oleh :

- Halangan sterik relatif dari karbonil
- Kemampuan atom oksigen untuk menampung sepasang elektron tambahan sehingga mempermudah penyerangan pada karbon.

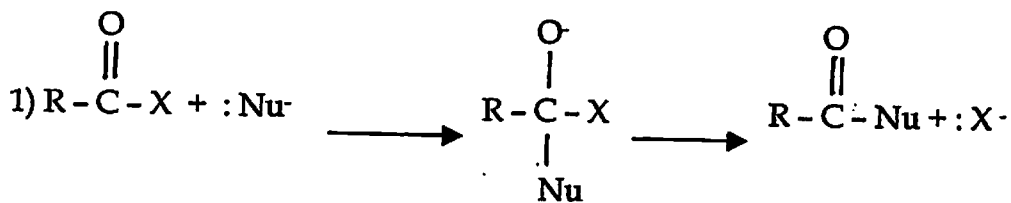
Tahap kedua adalah penataan kembali elektron-elektron dan diikuti pengusiran gugus pergi (W) yang tergantung pada kebasaaan gugus pergi. Basa yang lemah merupakan suatu gugs pergi yang baik. Adapun urutan kebasaaan gugus pergi adalah :



## 2.2. Peranan gugus karbonil pada reaksi substitusi Nukleofilik (Morrison & Boyd, 1989)

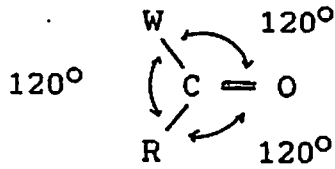
Asam karboksilat dan turunannya memiliki gugus karbonil. Gugus inilah yang berperan pada kebanyakan reaksi. Dalam hal ini ada dua fungsi gugus karbonil, yaitu memberikan pusat penyerangan nukleofil dan meningkatkan

keasaman atom hidrogen pada atom karbon yang berkedudukan  $\alpha$  (alfa), sehingga ada dua jenis reaksi yang penting dari turunan asam karboksilat. Reaksi pertama yaitu penggantian gugus  $X'$  dengan gugus nukleofil (Nu) yang menyerang atom karbon karbonil sehingga mengakibatkan pemutusan ikatan C-X dan reaksi kedua adalah substitusi pada atom C yang berdekatan dengan gugus karbonil.



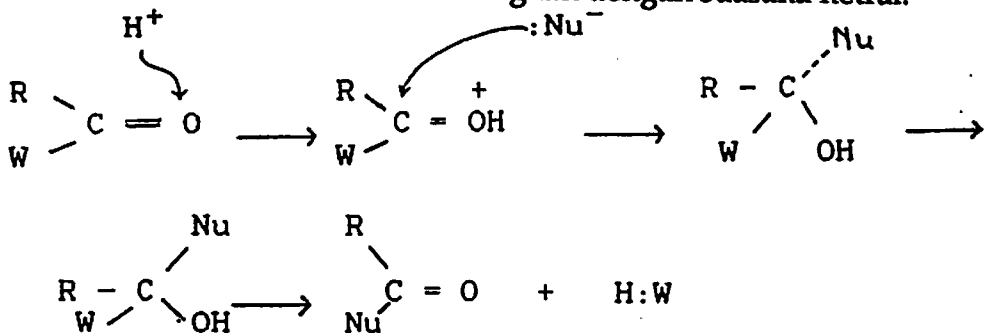
Senyawa asil, asam karboksilat dan turunannya bereaksi melalui mekanisme substitusi nukleofilik asil, dimana gugus X adalah  $-\text{OH}$ ;  $-\text{Cl}$ ;  $-\text{OOCR}$ ;  $-\text{NH}_2$ ;  $-\text{OR}$  diganti oleh gugus basa. Substitusi terjadi lebih cepat dibanding atom karbon jenuh, bahkan tak bereaksi apabila tidak terdapat gugus karbonil.

Atom C karbonil berikatan dengan tiga atom lainnya melalui ikatan  $\pi$  ikatan  $\text{sp}_2$  dan terletak pada suatu bidang datar dengan sudut ikatan sebesar  $120^\circ$ . Orbital p yang tersisa akan mengadakan interaksi dengan orbital p dari atom oksigen membentuk ikatan  $\pi$ , sehingga karbon dan oksigen dihubungkan dengan ikatan rangkap.



Dari struktur itu dapat dilihat bahwa faktor sterik dan elektronik akan mempengaruhi penyerangan nukleofil terhadap gugus karbonil. Hal tersebut disebabkan kemampuan atom oksigen untuk menerima elektron sehingga bermuatan negatif dan tingkat transisi yang relatif tidak menghambat perubahan dari reaktan trigonal ke hasil antara tetrahedral. Karena kedua faktor itulah senyawa asil mudah diserang oleh nukleofil.

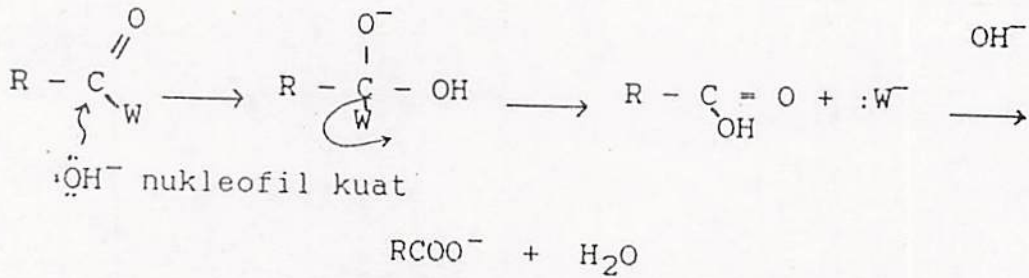
Dalam suasana asam, ion  $H^+$  diikat oleh oksigen karbonil sehingga mempermudah gugus karbonil diserang nukleofil. Dalam hal ini oksigen mampu menerima elektron, tanpa harus bermuatan negatif. Oleh karena itu dapat dimengerti bahwa turunan asam karboksilat dapat terhidrolisis lebih cepat dalam larutan basa atau asam bila dibandingkan dengan suasana netral.



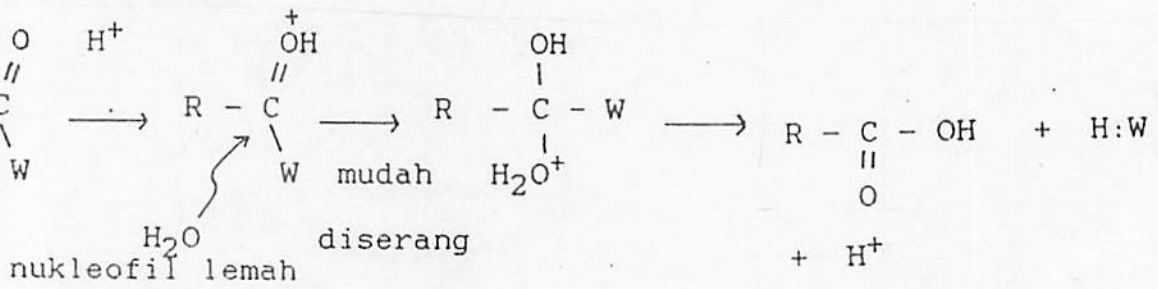
Larutan basa memberikan ion hidroksil yang bertindak sebagai nukleofil yang kuat, sedangkan larutan asam memberikan ion hidrogen pada atom

oksigen karbonil sehingga lebih mudah untuk diserang nukleofil lemah sekalipun, yaitu air.

Hidrolisis basa



Hidrolisis asam



2.3. Tinjauan tentang asil halida dan anhidrida asam (Fessenden & Fessenden, 1984; Morrison & Boyd, 1989; Pine, 1988)

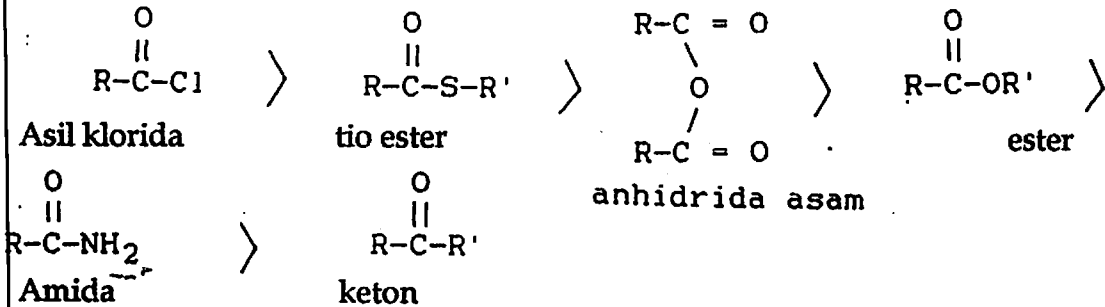
Asil halida merupakan salah satu turunan asam karboksilat yang reaktif dibandingkan dengan senyawa semula. Hal ini dikarenakan ion halida merupakan gugus pergi yang baik, yaitu basa konjugasi suatu asam kuat.

Asil klorida dibuat dari asam yang bersangkutan direaksikan dengan pereaksi seperti tionil klorida, fosfor triklorida atau fosfor pentaklorida. Seperti



turunan asam karboksilat lainnya, asil klorida bereaksi substitusi nukleofilik. Ion klor dari senyawa tersebut dapat diganti dengan gugus basis lainnya, dengan melepaskan asam klorida, dimana asil klorida jauh lebih reaktif dibandingkan dengan alkil klorida.

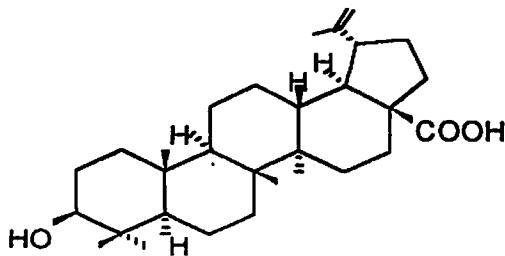
Urutan reaktivitas dari turunan asam karboksilat adalah :



### 3. Tinjauan tentang asam betulinat

Asam betulinat atau asam 3-O- $\beta$ -hidroksi-lup-20(29)-en-28-oiat merupakan senyawa triterpena pentasiklik kelompok lupeol (Ikan, 1991). Rumus molekul  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , merupakan kristal jarum tidak berwarna (Bringmann et al, 1997), titik lebur 278-279°C (Astika, 1989).

Struktur asam betulinat :





Terdapatnya dalam berbagai tanaman, antara lain, *Avicennia marina* (Astika, 1989), *Syzygium formosanum* (Chang et al., 1999), *Diospyros leucomelas* (Recio et al., 1995), *Triphyophyllum peltatum* dan *Ancistrocladus heyneanus* (Bringmann et al., 1997).

Asam betulinat merupakan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai senyawa penuntun dalam pengembangan obat baru, karena telah diketahui mempunyai beberapa aktivitas biologis. Telah dilaporkan bahwa asam betulinat berpotensi sebagai penghambat aktivitas aminopeptidase N pada penelitian senyawa antitumor (Melzig & Bormann, 1998), anti malaria (Bringmann et al., 1997), anti inflamasi (Safayhi & Sailer, 1997; Recio et al., 1995), anti bakteri (Klinotova et al., 1996), anti HIV (Klinotova et al., 1996; Fujioka & Kashiwada, 1994).

Sebagai senyawa yang bersifat farmakofor (Davies & Briant, 1995), asam betulinat mempunyai 4 (empat) macam tipe pusat atom yang berinteraksi kritis dengan reseptor, yaitu : penyumbang ikatan hidrogen, penerima ikatan hidrogen, atom yang bermuatan positif dan gugus hidrofobik.

#### 4 Tinjauan tentang *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.

*Avicennia marina* merupakan tumbuhan dari hutan pasang atau dari pantai, dengan akar nafas yang tumbuh lurus ke atas. Tumbuhan ini berupa

pohon yang tingginya lebih dari 14 m dan kadang-kadang dapat mencapai 23 m, kayunya keras dan agak berat.

Bagian kulit kayu berwarna abu-abu pucat, terasnya coklat kehijauan sampai lembayung . Buahnya bergantungan dua-dua dan empat bersama-sama, gepeng agak miring dengan puncak kecil pendek di mukanya, diselubungi selaput hijau kelabu seperti wol, di bawahnya terdapat dua keping yang melipat memanjang, diselanya duduk akar lembaga seperti suatu rumbai putih.

Dari kulit batang tumbuhan ini dapat keluar damar yang mempunyai rasa pahit dan berbau khas. Damar ini banyak digunakan sebagai bahan obat (Heyne, 1987).

Daun tunggal berhadapan, bertangkai, lamina bentuknya jorong memanjang atau bulat telur terbalik memanjang dengan panjang yang lancip dan ujung yang tumpul atau bulat. Sisi daun sebelah bawah berwarna putih kehijauan, panjang daun 3 - 9 cm dan lebar 1,25 cm - 4,50 cm. Bunga berwarna kuning , penampang 0,5 cm, berupa bongkol tertekan pada percabangan karangan bunga yang berupa malai. (Backer dan Bakhuizen, 1965).

Astika (1989) melaporkan adanya kandungan aktif dalam kulit batang *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. yang berkhasiat antifertilitas pada mencit betina, yaitu suatu glikosida sapogenin identik dengan triterpena asam

**golongan amirin dan gugus gulanya ideentik dengan asam uronat. Selain itu juga teridentifikasi adanya lupeol, betulin, asam betulinat dan betulinaldehida.**

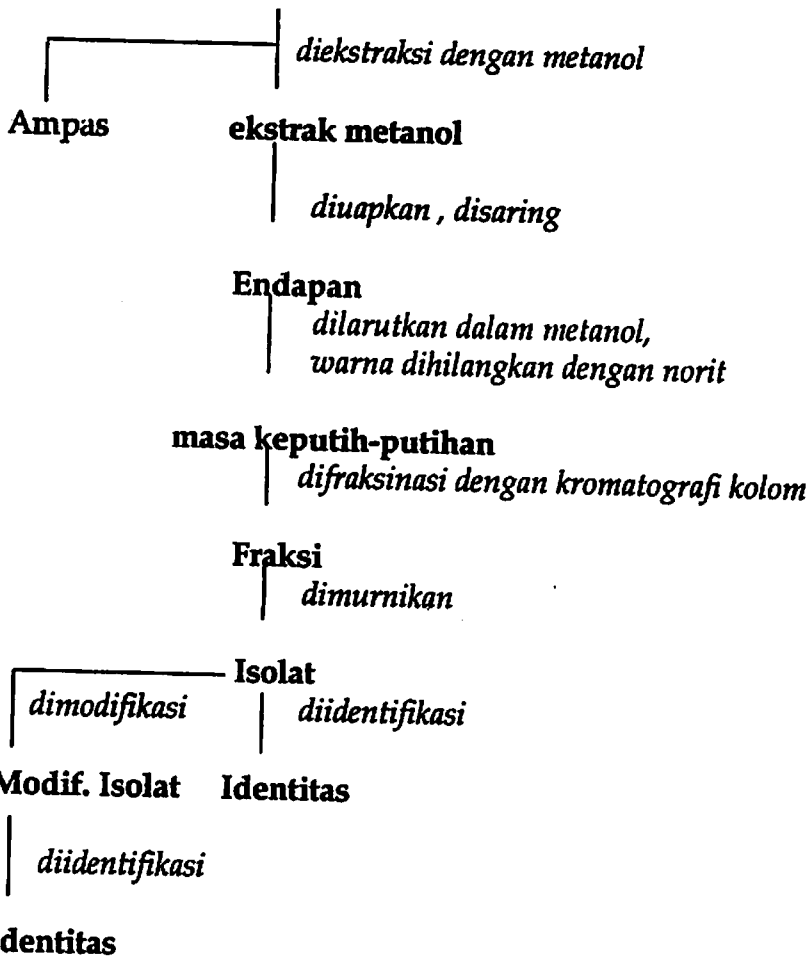
### BAB III

## METODE PENELITIAN

### 3.1. Rancangan Penelitian

Untuk mencapai tujuan penelitian ini akan dilakukan penelitian dengan rancangan sebagai berikut :

#### Serbuk kulit batang batang api-api



Gambar 1. Skema Rancangan Penelitian

### **3.2. Bahan**

#### **Bahan tumbuhan.**

Kulit batang dikumpulkan dari tumbuhan yang tumbuh di wilayah Keputih Surabaya. Tumbuhan asal bahan diidentifikasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga .

Kulit batang dikeringkan di bawah sinar matahari dan digiling dengan alat penggiling dari Arthur H. Thomas Co. 5XBPOOCE, dengan ayakan nomer 20.

#### **Bahan kimia.**

Di dalam proses pemisahan, pemurnian, reaksi asilasi dan analisis senyawa aktif jika tidak disebutkan lain digunakan bahan kimia dan pelarut organik yang berderajat murni atau pelarut organik teknis yang dimurnikan . Spesifikasi bahan kimia dan pelarut organik yang digunakan dijelaskan pada masing-masing tahap pengerjaan.

### **3.3. Peralatan**

Di dalam penelitian ini digunakan berbagai alat gelas yang umum digunakan di dalam laboratorium kimia serta alat-alat penunjang. Spesifikasi alat-alat fisiko kimia yang digunakan pada analisis senyawa bioaktif.

### **3.4. Ekstraksi dan fraksinasi**

Ekstraksi dilakukan dengan metode Nakano dan Suarez (1973) yang dimodifikasi. Zat-zat berwarna dihilangkan dengan arang aktif dan fraksinasi dilakukan dengan cara kromatografi kolom menurut aturan Robert dan kawan-kawan (1979). Fraksi yang didapat dikelompokkan berdasarkan data kromatografi lapisan tipis yang didapat.

### **3.5. Pemisahan dan pemurnian**

Pemisahan komponen-komponen fraksi dilakukan secara kromatografi kolom dan pemurnian dilakukan dengan cara kristalisasi menggunakan pelarut yang sesuai atau dengan cara kromatografi lapisan preparatif.

### **3.6. Metode kerja**

#### **3.6.1. Isolasi asam betulinat dari *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.**

Serbuk kering kulit batang tanaman seberat 1 kg diekstraksi pada temperatur kamar dengan metanol. Ekstraksi dihentikan bila telah didapat ekstrak sejumlah 6 l. Ekstrak metanol yang didapat diuapkan dan setiap hari dilakukan penyaringan terhadap endapan yang terjadi, sampai didapat ekstrak yang sangat kental. Terhadap endapan tersebut dilakukan penghilangan warna dengan cara melarutkannya dalam metanoi dan diberi norit secukupnya.

Penambahan norit diulang sampai didapat larutan yang hampir tidak berwarna. Larutan ini kemudian diuapkan di dalam lemari asam sampai didapatkan masa kering yang berwarna keputih-putihan. Terhadap masa ini dilakukan kromatografi kolom dengan metode eluasi fraksi. Fasa diam yang digunakan adalah Kieselgel 60, 35-70 Mesh ASTM Merck dan fasa gerak berturut-turut : kloroform, kloroform-metanol (9:1), kloroform-metanol (4:1), kloroform-metanol (1:1) dan terakhir dengan metanol. Fraksi yang didapat dikelompokkan berdasarkan hasil kromatografi lapisan tipis menggunakan fasa gerak kloroform - petroleumbensin - metanol (7:2:1) dan fasa diam Kieselgel 60GF<sub>254</sub> Merck (Astika, 1989).

### 3.6.2. Identifikasi isolat

Isolat-isolat yang didapat diidentifikasi dengan cara :

#### 1. Kromatografi lapisan tipis

Fasa diam yang digunakan Kieselgel 60 Gf 254 Merck. Penampak noda dengan metode Stahl (Stahl,1970), metode Ikan (Ikan, 1991).

#### 2. Titik lebur

Penentuan titik lebur dilakukan dengan alat Fisher-Johnns melting point apparatus.

#### 3. Spektrofotometri infra merah

Alat yang digunakan Infra Red Spectrophotometer Jasco FT/IR 5300

#### 4. Spektrometri masa

Alat yang digunakan Finnigan GCQ Mass Spectrometer

### 3.6.3. Modifikasi molekul asam betulinat hasil isolasi dari *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.

#### a. Sintesis asam 3-O -asetil betulinat

Asam betulinat (40 mg) direaksikan dengan piridin (2 ml) dan anhidrida asetat (2 ml) dan diaduk pada temperatur kamar selama satu malam. Campuran reaksi dituangkan ke dalam 30 ml air, diaduk, didiamkan selama 1 jam dan diekstraksi dengan  $\text{CHCl}_3$ . Lapisan  $\text{CHCl}_3$  dicuci dengan  $\text{H}_2\text{O}$ , dikeringkan dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat dan residunya dipekatkan sampai terbentuk kristal. Selanjutnya dilakukan rekristalisasi dengan pelarut metanol.

#### b. Sintesis asam 3-O-benzoil betulinat

Asam betulinat (30 mg) direaksikan dengan piridin (5 ml) dan benzoil klorida (0,2 ml) dan diaduk pada suhu  $60-70^\circ\text{C}$  selama 8 jam. Campuran reaksi dituangkan ke dalam 30 ml air, diaduk, didiamkan selama 1 jam dan diekstraksi dengan  $\text{CHCl}_3$ . Lapisan  $\text{CHCl}_3$  dicuci dengan  $\text{H}_2\text{O}$ ,



dikeringkan dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat dan residunya dipekatkan sampai terbentuk kristal. Kristal yang terbentuk dikocok dengan larutan natrium bikarbonat, dan dicuci dengan air. Kemudian dilakukan rekristalisasi dengan metanol.

#### **3.6.4. Identifikasi derivat asam betulinat hasil modifikasi.**

Identifikasi derivat asam betulinat dilakukan dengan cara yang sama dengan identifikasi isolat.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Isolasi asam betulinat dari *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.

Dari serbuk kulit batang kering (1 kg) yang diekstraksi dengan metanol didapat ekstrak metanol sebanyak 6 l. Ekstrak metanol ini kemudian diuapkan dan setiap hari endapan yang terjadi disaring. Demikian seterusnya sampai didapat ekstrak kental yang tidak dapat disaring. Terhadap endapan yang diperoleh, dilakukan penghilangan warna dengan pertolongan arang aktif sampai larutan dari endapan tidak berwarna, kemudian diuapkan. Dari hasil penguapan tersebut didapat masa keputih-putihan seberat 4,85 g.

Terhadap masa keputihan ini dilakukan kromatografi kolom dengan metode eluasi fraksi, diperoleh fraksi 1 (A), fraksi 2 (B) dan fraksi 3 (C). Setelah dikeringkan masing-masing fraksi mempunyai berat  $A = 2,55 \text{ g}$ ;  $B = 0,42 \text{ g}$ ;  $C = 0,45 \text{ g}$ .

Pemakaian arang aktif untuk menghilangkan zat-zat berwarna dalam penelitian ini sangat membantu dalam kaitan efisiensi pelarut organik dan waktu. Berkaitan dengan hal ini penghilangan zat-zat berwarna dalam penelitian ini tidak dilakukan secara tuntas. Penghilangan zat-zat berwarna yang masih tertinggal dilakukan pada proses selanjutnya yaitu fraksinasi dan penurnian.

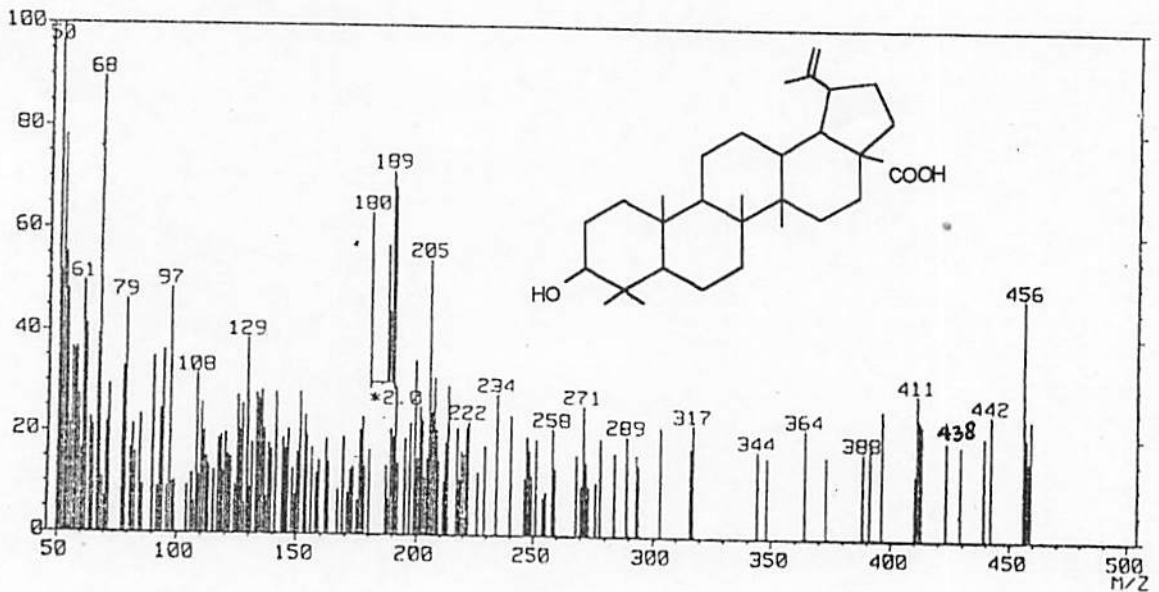


Terhadap fraksi A dilakukan proses pemisahan dengan kromatografi kolom secara elusi sederhana. Fase diam yang digunakan adalah Kieselgel 60, 35 - 70 Mesh ASTM Merck dan fase gerak heksana-etilasetat (4:1). Dari 2 g A didapat fraksi yang diduga mengandung asam betulinat seberat 1,50 g. Selanjutnya terhadap isolat pada fraksi A dilakukan rekristalisasi dengan metanol.

#### 4.2. Identifikasi isolat

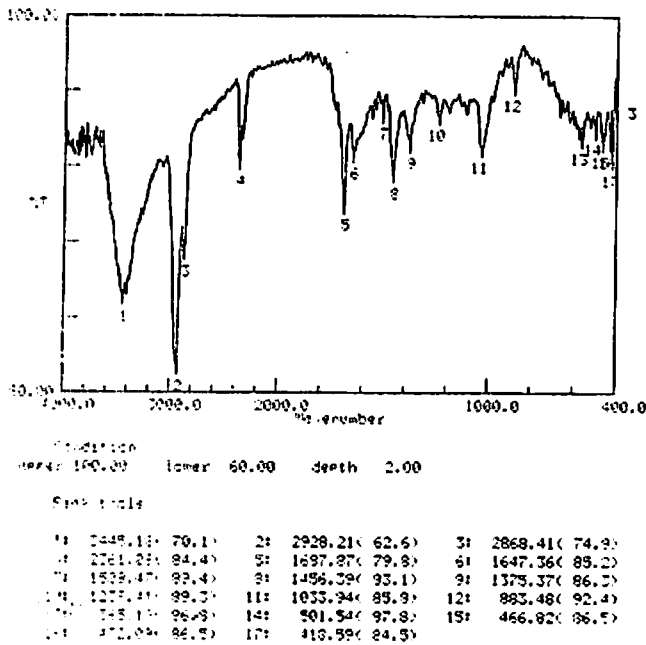
Rekristalisasi A. dengan metanol memberikan kristal jarum putih yang mempunyai titik lebur 278°C. Dengan pereaksi Liebermann-Burchard, kristal ini memberikan warna ungu. Ini berarti isolat A. adalah tergolong senyawa triterpenoid (Santos dkk, 1978).

Data spektrometri massa isolat A. (Gambar 3) menunjukkan fragmen-fragmen pada  $m/z$  456 ( $M^+$ ), 438, 248, 234, 207, 203 dan 189. Fragmen  $m/z$  189 yang tampak jelas merupakan ciri dari triterpena pentasiklik golongan lupan (Ogunkoya, 1981).



Gambar 2. Spektrum massa isolat A

Pada spektrum infra merah (Gambar 3) tampak pita serapan dengan puncak pada  $3445,18 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1033,94 \text{ cm}^{-1}$  karena getaran  $\nu\text{O-H}$  (regang) dan  $\nu\text{C-O}$  (regang) serta  $1687,87 \text{ cm}^{-1}$  oleh getaran  $\nu\text{C=O}$  (regang). Hal ini memberi indikasi bahwa senyawa A. mempunyai gugus hidroksil dan karboksil. Adanya pita serapan dengan puncak pada  $883,48 \text{ cm}^{-1}$  memberi indikasi bahwa A mempunyai gugus metilena terminal (Sastroamidjojo, 1982).



Gambar 3. Spektrum infra merah isolat A dalam lempeng KBr.

Data kromatografi lapisan tipis A. seperti tersebut pada Tabel 1 di bawah :

Tabel 1

Hasil kromatografi lapisan tipis isolat A dan asam betulinat pembanding

Fase Gerak	Zat	Rf	Warna noda
Benzena/eter/kloroform (3:6:1)	A	0,51	Ungu
	Asam betulinat	0,51	Ungu *)
Eter/petroleumbensin (7:3)	A	0,50	Ungu
	Asam betulinat	0,50	Ungu *)
Kloroform/metanol (9:1)	A	0,50	Ungu
	Asam betulinat	0,50	Ungu *)
Heksana/etilasetat (8:2)	A	0,25	Coklat
	Asam betulinat	0,25	Coklat **)

Keterangan : \*) Penampakan noda dilakukan menurut metode Stahl (1970)

\*\*) Penampakan noda dilakukan menurut metode Ikan dkk. (1964).

Fase diam yang digunakan adalah Kieselgel 60 GF<sub>254</sub>.

Semua fase gerak dari Merck dengan kualitas p.a.

Asam betulinat pembanding diperoleh dari Prof. Dr. G.N. Astika.

Dari data spektrometer massa, spektrofotometer infra merah , ditunjang data KLT dan titik lebur yang telah diuraikan di atas dapat disimpulkan bahwa

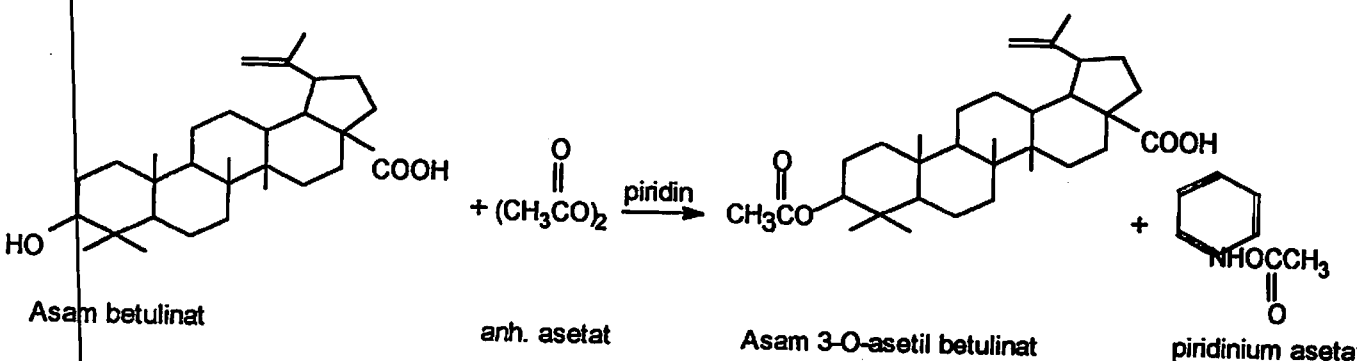
A adalah asam betulinat yang mempunyai rumus molekul  $C_{30}H_{48}O_3$ . Data tersebut identik dengan data yang penelitian yang dilakukan oleh Astika (1989). Dari rumus molekul ini terhitung  $C = 78,94\%$  dan  $H = 10,52\%$ . Menurut Sheth dkk (1972) kristalisasi asam betulinat dengan metanol mengakibatkan asam betulinat mengikat satu molekul metanol.

### 4.3. Modifikasi asam betulinat

#### 4.3.1. Reaksi asetilasi gugus hidroksi dari asam betulinat

Pada asetilasi asam betulinat, digunakan senyawa pengasil anhidrida asetat dengan pertimbangan reaktivitasnya yang lebih besar daripada asam asetat. Selain itu tidak terdapat air sehingga diharapkan reaksi berjalan searah ke kanan. Kelebihan asam asetat dihilangkan dengan basa piridin, membentuk garam piridinium asetat yang larut dalam air (Fessenden, 1984).

#### Reaksi asetilasi



Hasil reaksi asetilasi asam betulinat berupa kristal (metanol) diperoleh sebanyak 34,5 mg. Titik lebur senyawa hasil asetilasi 206°C. Titik lebur lebih kecil dari senyawa awal, hal ini diduga disebabkan berkurangnya kemungkinan terbentuknya ikatan hidrogen antar molekul karena substitusi gugus asetil.

Setelah dilakukan asetilasi pada gugus hidroksil asam betulinat, maka diperoleh data kromatografi lapisan tipis hasil reaksi asetilasi asam betulinat seperti terlihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.**  
Hasil kromatografi lapisan tipis asam betulinat dan hasil asetilasi asam betulinat (ABA)

Fase gerak	Zat	Rf	Warna noda
Eter/petroleumbensin (7:3)	Asam betulinat	0,50	ungu
	ABA	0,62	ungu *)
Benzena/Eter/kloroform (3:6:1)	Asam betulinat	0,51	Ungu
	ABA	0,62	Ungu *)
Kloroform/metanol (9:1)	Asam betulinat	0,50	Coklat
	ABA.	0,58	Coklat *)
Heksana/etilasetat (8:2)	Asam betulinat	0,25	Coklat
	ABA	0,42	Coklat **)

Keterangan : \*) Penampakan noda dilakukan menurut metode Stahl (1970)

\*\*\*) Penampakan noda dilakukan menurut metode Ikan dkk. (1964).

Fase diam yang digunakan adalah Kieselgel 60 GF<sub>254</sub>.

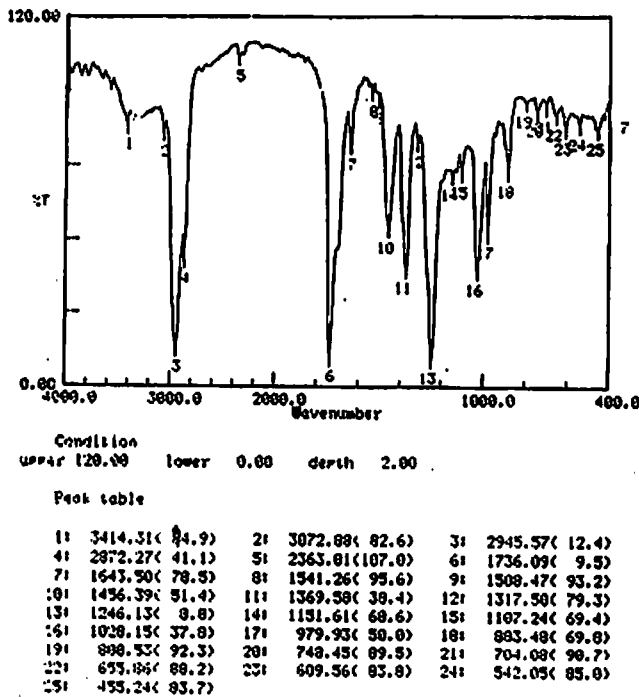
Semua fase gerak dari Merck dengan kualitas p.a.

Dari data diatas, dapat diketahui bahwa harga Rf senyawa hasil asetilasi asam betulinat lebih besar daripada asam betulinat, yang menunjukkan

bahwa senyawa hasil asetilasi asam betulinat lebih non polar .

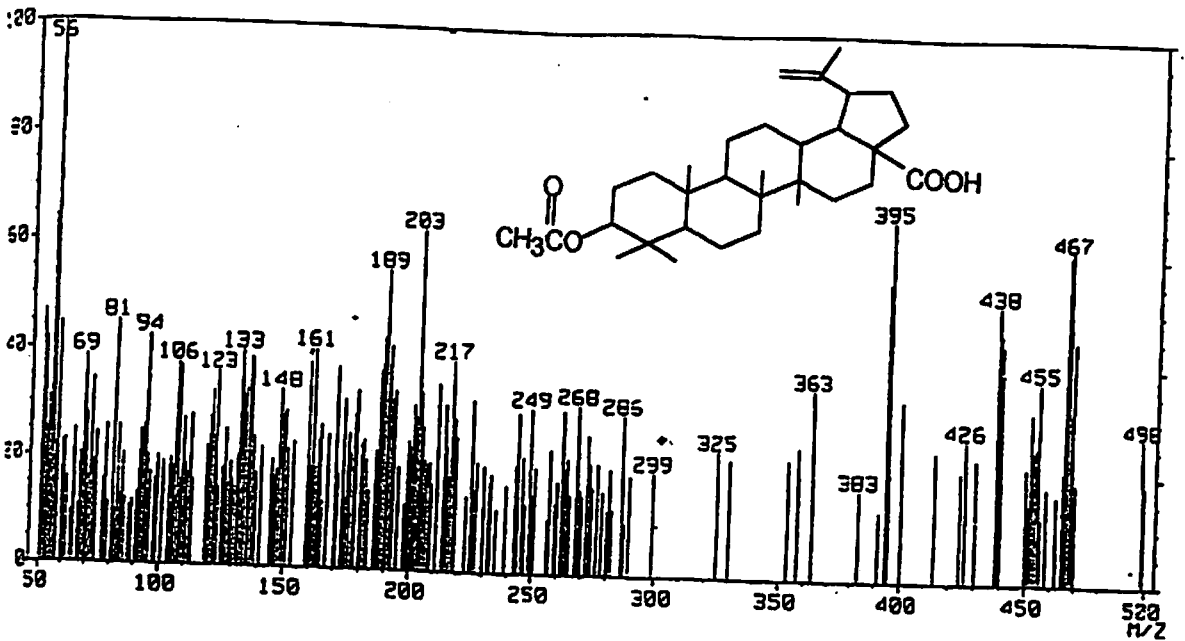
Pengamatan spektrum infra merah hasil asetilasi asam betulinat (Gambar 3) menunjukkan tidak ada lagi pita serapan dengan puncak pada 3445,16 cm<sup>-1</sup> dari vO-H (regang) tetapi masih tetap menunjukkan vC=O (regang) baru pada 1736,09 cm<sup>-1</sup> serta pada 1246,13 cm<sup>-1</sup> untuk ester asetat. (Silverstein, 1991).

Fragmen-fragmen dari hasil asetilasi asam betulinat (Gambar 5) terlihat pada m/z 498 (M<sup>+</sup>), 455, 438, 249, 234, 203 dan 189. Dari fragmen m/z 455 ini tampak bahwa hasil asetilasi asam betulinat telah kehilangan satu gugus asetil.



Gambar 4. Spektrum infra merah hasil asetilasi asam betulinat dalam lempeng KBr.





Gambar 5. Spektrum massa hasil asetilasi asam betulinat

Dari data-data diatas diketahui bahwa senyawa hasil asetilasi asam betulinat tidak identik dengan senyawa asam betulinat dan disimpulkan bahwa gugus hidroksil telah terasetilasi.

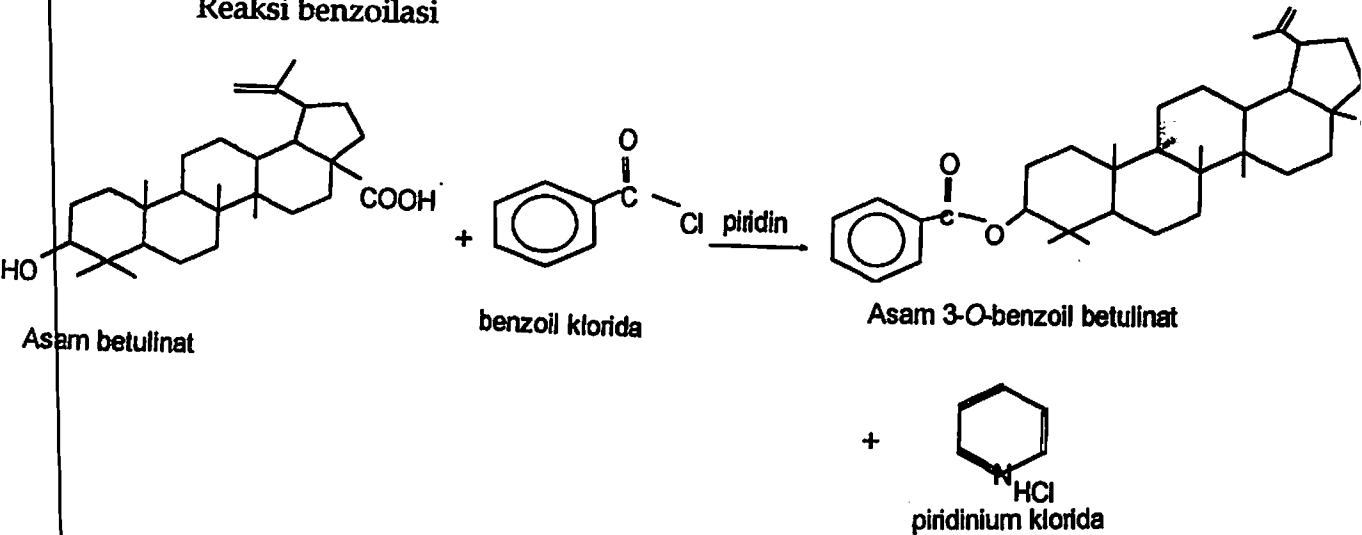
#### 4.3.2. Reaksi benzoilasi pada gugus hidroksi asam betulinat

Pada benzoilasi asam betulinat, digunakan senyawa pengasil benzoil klorida dengan pertimbangan reaktivitasnya yang lebih besar daripada asam benzoat dan lebih tersedia di pasaran daripada turunan asam karboksilat lain padanannya. Selain itu tidak terdapat air sehingga diharapkan reaksi berjalan searah ke kanan (hasil).

Piridin pada reaksi benzoilasi ini selain digunakan sebagai pelarut, juga

Piridin pada reaksi benzoilasi ini selain digunakan sebagai pelarut, juga berguna mengikat asam klorida hasil samping reaksi, menjadi piridinium klorida yang larut air.

Reaksi benzoilasi



Hasil reaksi benzoilasi asam betulinat berupa serbuk putih (metanol) diperoleh sebanyak 25,5 mg dengan titik lebur 246°C. Data kromatografi lapisan tipis hasil reaksi benzoilasi terlihat pada Tabel 3.

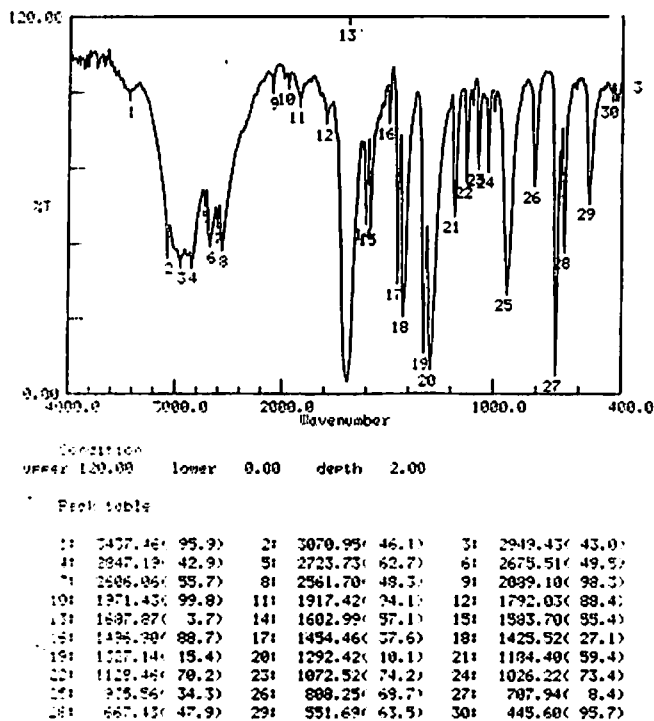
Tabel 3  
Hasil kromatografi lapisan tipis asam betulinat dan hasil benzoilasi asam betulinat (BBA)

Fase gerak	Zat	Rf	Warna noda
Benzena/Eter/kloroform (3:6:1)	Asam betulinat	0,51	Ungu
	BBA	0,59	Ungu
Kloroform/metanol (9:1)	Asam betulinat	0,50	Ungu
	BBA	0,56	Ungu
Heksana/etilasetat (8:2)	Asam betulinat	0,25	Coklat
	BBA	0,36	Coklat **)

Keterangan : \*) Penampakan noda dilakukan menurut metode Stahl (1970)  
 \*\*) Penampakan noda dilakukan menurut metode Ikan dkk. (1964).  
 Fase diam yang digunakan adalah Kieselgel 60 GF<sub>254</sub>.  
 Semua fase gerak dari Merck dengan kualitas p.a.

Dari data diatas, dapat diketahui bahwa harga Rf senyawa hasil benzoilasi lebih besar daripada asam betulinat, yang menunjukkan bahwa senyawa hasil benzoilasi asam betulinat lebih non polar dibandingkan dengan asam betulinat.

Pengamatan spektrum infra merah senyawa hasil benzoilasi asam betulinat (Gambar 6) menunjukkan spektrum yang berbeda dengan senyawa awalnya.

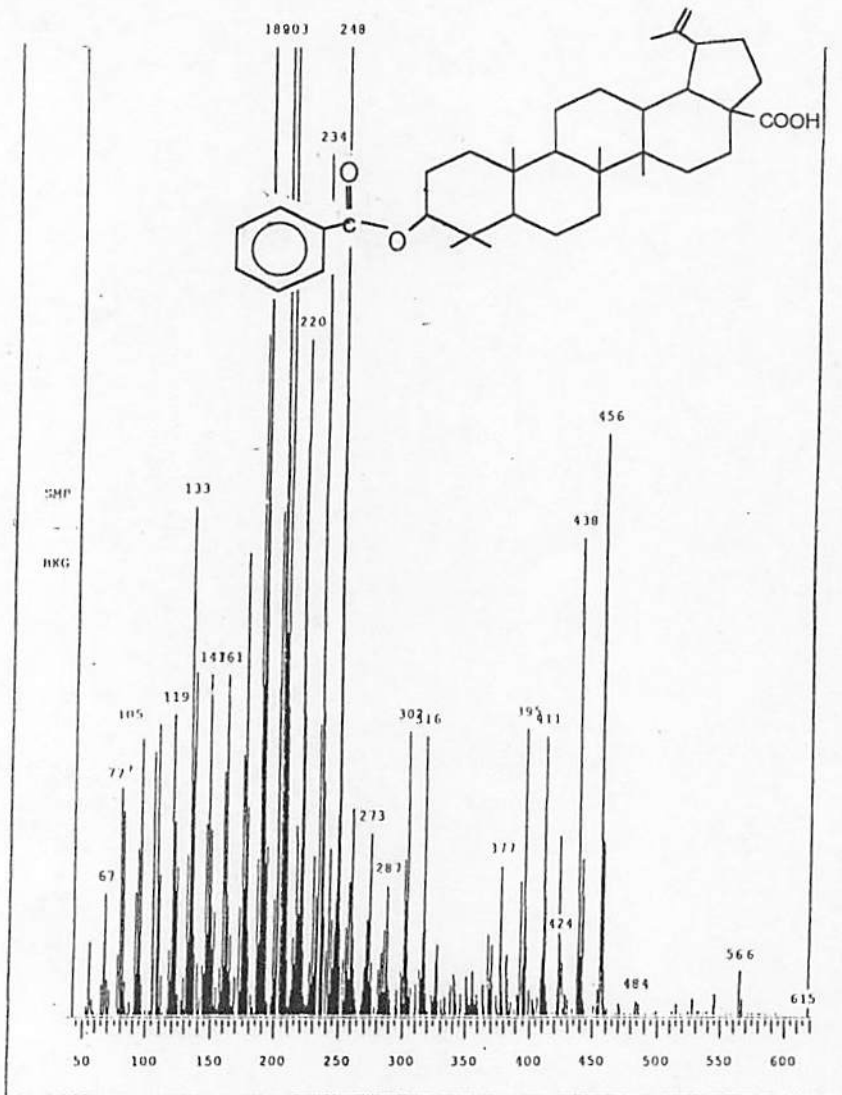


Gambar 6. Spektrum infra merah senyawa hasil benzoilasi asam betulinat dalam lempeng KBr.

Pada spektrum senyawa hasil benzoilasi asam betulinat (Gambar 6) terlihat puncak-puncak sebagai berikut : adanya inti aromatis dapat ditunjukkan dengan munculnya pita ulur  $-C-H$  aromatik pada  $3070,95 \text{ cm}^{-1}$  dan  $C-H$  aromatis

ulur pada  $1454,46 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1425,52 \text{ cm}^{-1}$ . Gugus ester ditunjukkan adanya pita C=O ulur pada  $1687,87 \text{ cm}^{-1}$ , terjadi penurunan frekuensi sebesar  $50 \text{ cm}^{-1}$  dari pustaka (Pine, 1980; Silverstein, 1991). Hal ini disebabkan karbonil berdampingan dengan ikatan jenuh sehingga terjadi konjugasi. Sedangkan C-O ulur ditunjukkan adanya pita pada  $1184,40 \text{ cm}^{-1}$ .

Pada identifikasi hasil benzoilasi asam betulinat yang dilakukan dengan spektrometer massa, puncak molekul induk tidak muncul pada daerah  $m/z$  561. Tetapi terlihat adanya fragmen senyawa asam betulinat pada  $m/z$  456. Selain itu juga terlihat fragmen-fragmen senyawa dengan  $m/z$  438, 424, 248, 234, 220, 203, 189 yang berasal dari asam betulinat dan fragmen senyawa-senyawa aromatis pada  $m/z$  77, 105, 119. Fragmen  $m/z$  189 merupakan fragmen khas senyawa triterpenoid pentasiklik golongan lupan. Sedangkan fragmen  $m/z$  77 dan 105 merupakan fragmen khas untuk substitusi gugus benzoil (Silverstein, 1991). Pada penelitian ini digunakan cara Electron-impact Ionisation (E.I), di mana pada senyawa tertentu, molekul induk dengan berat molekul besar jarang terdeteksi, atau terdeteksi dengan intensitas yang sangat kecil. Hal tersebut disebabkan pada cara ini dilakukan tembakan elektron dengan energi tinggi (70 eV) sehingga molekul induk segera terurai, selain itu juga menghasilkan pola fragmentasi yang kompleks. Untuk mengatasi hal demikian digunakan cara Chemical Ionisation (C.I) atau Field Ionisation (F.I) (Lambert, 1976).



Gambar 7. Spektrum massa hasil benzoilasi asam betulinat

Dari data-data diatas disimpulkan bahwa pada gugus hidroksil asam betulinat sudah tersubstitusi gugus benzoil .

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### Kesimpulan

Dari penelitian modifikasi struktur asam betulinat hasil isolasi dari kulit batang api-api (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.) yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

- Modifikasi molekul asam betulinat hasil isolasi dari kulit batang (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.) dapat dilakukan dengan senyawa pengasilasi anhidrida asetat dan benzoil klorida, melalui reaksi asilasi pada gugus hidroksil.

#### Saran

Untuk mengetahui pengaruh substitusi gugus asetil dan benzoil pada gugus hidroksil asam betulinat , perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas biologis terhadap senyawa-senyawa hasil modifikasi asam betulinat tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Astika, G.N., Isolasi dan Identifikasi Kandungan aktif Kulit Batang *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. yang berkhasiat anti fertilitas pada *Mus Musculus* betina, Disertasi, 1989.
- Backer, C.A. and Bakhuizen van den Brink Jr., R.C., *Flora of Java* vol. II Groningen : N.V.P., 1965.
- Block JH, Physicochemical Properties in Relation to Biological Action. In (Delgado JN and Remers AW, Eds.) *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry* 9<sup>th</sup> Ed., Philadelphia, Toronto : J.B. Lippincott Company, 1991, pp 3-42.
- Bringmann, G., Saeb, W., Assi, L.A., Francois, G., Narayanan, A.S.S., Peters, K., Peters, E.M., Betulinic Acid : Isolation from *Triphyophyllum peltatum* and *Ancistrocladus heyneanus* , Antimalarial Activity, and Crystal Struktur of the Benzyl Ester, *Planta Medica* , 1997 : 255-257.
- Chang, C.W., Wu, T.S., Hsieh, T.S., Kuo, S.C., Chao, P.D., Terpenoids of *Syzygium formosanum*, *J. Nat. Prod.*, 1999 : 327-8.
- Chatterjee, P., Pezzuto, J.M., Kouzi, S.A., Glucosidation of Betulinic Acid by *Cunninghamella* Species, *J. Nat. Prod.*, 1999 : 761 - 3.
- Davies, K. and Briant, C., *Combinatorial Chemistry Library Design using Pharmacophore Diversity, Network Science*, 1995.
- Fujioka, T. and Kashiwada, Y., Anti AIDS Agent, Betulinic Acid and Plantacid Acid as Anti-HIV Principle from *Syzygium Claviflorum* and the Anti-HIV of Structurally Related Triterpenoids, *J. Nat. Prod.* , 1994 : 243-8.
- Fessenden JR, Fessenden JS, *Kimia Organik*, Jilid 2, Ed. 3, Erlangga, Jakarta, 1989.
- Ikan, R., *Natural Product, A laboratory guide*, 2<sup>nd</sup> Ed., Academic Press, London, 1991 : 179-80.
- Kashiwada, Y., Chiyo, J., Ikeshiro, Y., Nagao, T., Okabe, H., Cosentino, L.M.,

- Fowke, K., Morris-Natscke, S.L., Lee, K.H., Synthesis and Anti HIV Activity of 3-Alkylamido-3-deoxy-betulinic Acid Derivatives, *Chem. Pharm. Bull.*, 48, 2000 : 1387-90.
- Klinotova, E., et al, Glucoside of Betulinic and A-Secolupane Acids, *Planta Medica*, Abstract Lect. , 1996 : 38-9.
  - Lambert, et al, *Organic Structural Analysis*, New York : Mac Millan Pub. Co. Inc., 1976.
  - Melzig, M.F. and Bormann, H., Betulinic Acid Inhibits Aminopeptidase N Activity , *Planta Medica*, 1998 : 655-7.
  - Morrison, R.T. & Boyd, R.N., *Organic Chemistry*, 5<sup>th</sup>. Ed., Prentice Hall of India Private United, New Delhi, 1989.
  - Ogunkoya, L., Application of Mass Spectrometri in Structural Problems in Triterpenes , *Phytochemistry*, 20, 1981 : 121-6.
  - Pine, SH., Hendrickson, J.B., Cram, D.J., Hammond, G.S., *Kimia Organik 1* , Ed. 4, penerj. Roehyati dan Sasanti WP., Bandung : ITB, 1988 : 704-11.
  - Recio, M.C., et al., Investigations on the Steroidal Anti-Inflammatory Activity of Triterpenoids from *Diospyros leucomelas* , *Planta Medica*, 1995 : 9-12.
  - Robinson, Frank P. Jr. and Martel Henry, Betulinic Acid from *Arbutus menziesii*, *Phytochemistry*, 9, 1970 : 907-9.
  - Safayhi, H. and Sailer, E.R., Anti -Inflammatory Actions of Pentacyclic Triterpenes, *Planta Medica*, 1997 : 487-93.
  - Santos, alfredo C., Guevara Beatrice Q., Mascardo Alicia M. and Estrada Conception Q., *Phytochemical, Microbiological and Pharmacological Screening of Medicinal Plants*, Manila : Research Center of University of Santo Tomas, 1978
  - Sastroamidjojo, Hardjono, *Spektroskopi Resonansi Magnit Inti*, Yogyakarta : Laboratorium Kimia /Fisika Pusat, Universitas Gajah Mada, 1982



- Sheth, K., Bianchi E., Wiedhoph R. and Cole J.R., Tumor Inhibitory Agents from *Hypis emoryi* (Labiatae), *J.Pharm. Sci.*, 61, 1972 : 1819.
- Shu, Yue-Zheng, Recent Natural Products Based Drug Development : A Pharmaceutical Industry Perspective, *J. Nat. Prod.*, 1998 : 1053-1071.
- Siswandono dan B. Soekardjo, Prinsip-prinsip Rancangan Obat, AUP, Surabaya, 1998 : 109, 145-158.
- Silverstein, R.M., Bassler, B.C., Morille, Penyidikan Spektrofotometrik Senyawa Organik (Terj. Hartomo, J., Anny, V.P.), Ed. IV, Erlangga, Jakarta, 1986.
- Stahl, Egon, *Chromatographische und Mikroskopische Analyse von Drogen*, Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1970.

1 JUL 2003

PAMERAN



Faint, illegible text from the reverse side of the paper, appearing as bleed-through.

