

Distribusi asperulosida, skandosidmetilester pada organ tumbuhan *Hedyotis corymbosa* (L.) LAMK. (*Oldenlandia corymbosa* Linn), suku rubiaceae

Distribution of asperuloside, scandosidmethylester in plant organs of *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk (*Oldenlandia corymbosa* Linn) of rubiaceae family

Sudarsono

Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta

Abstrak

Golongan senyawa iridoid dapat digunakan sebagai metabolit karakteristik suku Rubiaceae. Asperulosid dan skandosidmetilester termasuk golongan iridoid dan terdapat dalam herba *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk (*Oldenlandia corymbosa* Linn)

Tumbuhan suku Rubiaceae banyak digunakan masyarakat sebagai bahan obat (batuk, nyeri sendi, nyeri otot, kanker, panas badan tinggi). Profil distribusi asperulosid dan skandosidmetilester pada daun, batang, buah, akar berpeluang dalam penemuan karakteristika *Hedyotis corymbosa* L. (Lamk) di masa depan. Telah dilakukan penelitian terhadap distribusi asperulosid dan skandosidmetilester, dalam daun, batang, buah dan akar *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. Pada penelitian ini digunakan pereaksi "Trim-Hill" digunakan dalam analisis kualitatif terhadap golongan iridoid dan kromatografi kinerja tinggi dengan sistem elusi bertingkat digunakan dalam upaya pemisahan dan analisis kuantitatif golongan iridoid.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh organ tumbuhan di temukan asperulosid, skandosidmetilester. Kadar asperulosid berturut-turut pada batang ($0,146 \pm 0,004$); daun ($0,470 \pm 0,020$); buah($0,142 \pm 0,005$); akar($0,560 \pm 0,013$). Kadar skandosidmetilester berturut-turut pada batang ($0,618 \pm 0,22$); daun($0,156 \pm 0,007$); buah ($0,037 \pm 0,002$); akar ($0,136 \pm 0,006$).

Kata Kunci: Asperulosid, skandosidmetilester; distribusi (*Oldenlandia corymbosa* Linn) *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.

Abstract

Iridoid substances can be used as characteristic substances in Rubiaceae. Asperuloside and scandosidmethylester, iridoid substances were found in *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. (*Oldenlandia corymbosa* Linn). The people used several Rubiaceae plants for curing cough, rheumatic, cancer, fieber. Distribution of asperuloside and scandosidmethylester in leaf, stem, fruit and root of *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. has a possibility as a characteristic pattern. The aim of this research is to know the distribution profile of asperuloside, scandosidmethylester, at the leaf, stem, fruit, and root of *Hedyotis corymbosa* L. (Lamk.). Trim Hill reagent was used for the qualitative analyse of asperuloside and scandosidmethylester and gradient system elution by high pressure chromatography was used for separation and quantitative analyses.

Asperuloside content were in stem ($0,146 \pm 0,004\%$); leaf($0,470 \pm 0,020\%$); fruit ($0,142 \pm 0,005\%$); root($0,560 \pm 0,013\%$) and scandosid-methylester content were in stem ($0,618 \pm 0,22$); leaf ($0,156 \pm 0,007$); fruit($0,037 \pm 0,002$); root ($0,136 \pm 0,006$).

Key words: Asperuloside, scandosidmethylester, distribution *Hedyotis corymbosa* (L.)Lamk. (*Oldenlandia corymbosa* Linn)

Pendahuluan

Senyawa iridoid merupakan suatu senyawa kunci dalam biosintesis berbagai metabolit sekunder tumbuhan yang termasuk dalam suku Rubiaceae. *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. banyak digunakan sebagai bahan obat beberapa penyakit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa golongan senyawa iridoid dapat berefek purgativa; 3 sampai dengan 6 jam setelah pemakaian (Inouye *et al.*, 1974). Nama *Hedyotis* berasal dari kata “*hedy*” yang berarti menyenangkan. (Werner, 1961).

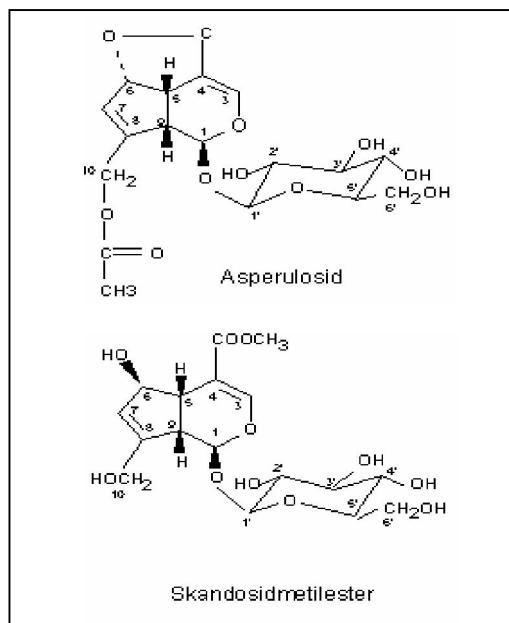


Gambar 1. *Hedyotis corymbosa* (L.)Lamk. (*Oldenlandia corymbosa* Linn.)

Menurut Backer (1965), terdapat 21 jenis *Hedyotis*, sehingga diperlukan suatu data tambahan yang dapat dipergunakan sebagai senyawa penanda. Masyarakat menggunakan tumbuhan suku Apocynaceae, Loganiaceae dan Rubiaceae (Schneider, 1985; Brunetton, 1999).

batuk, disentri, gangguan syaraf, kejang-kejang, suhu badan yang tinggi, gangguan fungsi hati, rematik (Hager, 1937). Golongan senyawa iridoid banyak ditemukan dalam anak suku Rubioideae antara lain pada Morindeae, Rubieae, Hedyotideae, Paederieae, Gardenieae (Lavaron *et al.*, 1983, Inouye, 1974, Khastgir, 1960, Nishimura *et al.*, 1981, Uesato, 1984), sehingga tidak menutup kemungkinan dapat merupakan salah satu alternatif golongan metabolit yang dapat dipergunakan sebagai penanda suku Rubiaceae. Suatu turunan iridoid yang diketahui berperan penting dalam biosintesis adalah sekologanin, suatu senyawa yang bereaksi dengan triptamin maupun 3,4-hidroksi feniletilamina dalam pembentukan striktosidin dan deasetilipekosid kemudian akan berperan selanjutnya dalam pembentukan golongan indol alkaloid yang ditemukan pada tumbuhan suku Apocynaceae, Loganiaceae dan Rubiaceae (Schneider, 1985; Brunetton, 1999).

Khromatografi kinerja tinggi dengan fase diam terbalik merupakan salah satu alternatif dalam upaya pemisahan glikosida (Sticher, 1979)



Gambar 2 Asperulosid dan Skandosidmetilester
(Sudarsono, 1986)

Metodologi

Bahan

Hedyotis corymbosa (L.) Lamk (*Oldenlandia corymbosa* Linn.) diambil dari kawasan kampus Universitas Gadjah Mada berupa tumbuhan liar pada bulan Februari - April; determinasi tumbuhan dilakukan di Lembaga Biologi Nasional Bogor.

Bahan Kimia : bahan-bahan untuk ekstraksi digunakan bahan kimia berderajat teknik yang didestilasi terlebih dahulu; sedangkan bahan kimia yang digunakan untuk analisis berderajat pro analisis. Asperulosid (ASP) dan Skandosidmetilester (UASP) berupa hasil isolasi dan p-Toluidin (Sigma).

Alat

High Pressure Chromatography (Perkin-Elmer), fase diam C-18 SIL-X-10, dengan kecepatan tetesan (alir) 2,0 ml setiap menit pada tekanan 2800 psi. Sistem operasional yang digunakan adalah elusi bertingkat ("gradient system")

Analisis kualitatif

Dengan metode kromatografi lapisan tipis; fase diam silika gel GF 254. Eluasi dilakukan secara berganda terdiri dari eluasi pertama dengan sistem fase gerak yang terdiri dari n-butanol, asam asetat, air = 30:10:10 v/v (1 fase) dengan jarak pengembangan 3 cm; kemudian setelah didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar, dikembangkan lagi dengan sistem campuran fase gerak yang terdiri dari diklorometana, isopropanol, metanol 70% v/v dengan jarak pengembangan 8 cm. Deteksi dilakukan dengan lampu ultra violet 254 nm dan pereaksi "Trim Hill" Pereaksi "Trim Hill" merupakan campuran yang terdiri dari 10 bagian Asam asetat glasial, 1 bagian 0,2% kuprisulfat dan 0,5 bagian asam klorida pekat.

Analisis kuantitatif

Dilakukan dengan "High Pressure Chromatography" (HPLC) dengan sistem elusi bertingkat "gradient system elution" menggunakan etanol, air 37% b/v pada pompa A dan etanol, air 5% b/v pada pompa B secara "manual"; program elusi bertingkat dilakukan setelah sistem berjalan selama 1 menit. Sebagai "standar dalam" digunakan p-toluidin. Kurva baku asperulosid, skandosidmetilester dan p-Toluidin diperoleh dari 5 – 6 konsentrasi masing-masing 15 kali ulangan.

Cara Penelitian

Penyiapan Sampel Uji

Semua bagian organ tumbuhan diperoleh dari tumbuhan liar yang tumbuh di daerah kampus UGM. Pemanasan dalam almari pengering pada suhu 105 °C selama 3 menit, kemudian dilanjutkan dengan pengeringan pada suhu 35 °C sampai

diperoleh kadar air tidak lebih dari 10% b/v. Pembuatan serbuk dilakukan dengan mesin penyebuk; ayakan yang digunakan berdiameter rata-rata 2 mm; kemudian ditimbang 500,0 mg serbuk batang, daun, buah maupun akar *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. (*Oldenlandia corymbosa* Linn.) dalam 25,0 ml labu takar A; setelah dicampur dengan 50 mg Kalsium karbonat, ditambahkan 2,5 ml etanol. Setelah didiamkan selama 5 menit, ditambahkan 10,0 ml air suling. Ekstraksi dilakukan dengan tangas air selama 20 menit pada suhu 70 °C dan setelah dingin disaring melalui gelas wool dengan pengurangan tekanan ke dalam 25,0 ml labu takar B. Ampas dalam labu takar A diekstraksi dengan cara yang sama seperti di atas masing-masing dengan 5,0 ml; 4,0 ml dan 4,0 ml air dan selanjutnya ditambahkan air sampai mencapai tanda (untuk selanjutnya disebut larutan induk). Sebanyak 2,0 ml larutan induk dicampur dengan 300 mg talkum dan disaring melalui gelas sinter D3 dengan pengurangan tekanan; lebih kurang 20,0 ml filtrat pertama yang diperoleh dibuang. Selanjutnya ekstrak yang terdapat dalam labu takar B disaring melalui lapisan talkum yang terdapat dalam gelas sinter D3 dengan pengurangan tekanan. Pemurnian filtrat selanjutnya dilakukan dengan filtrasi melalui sistem penyaring berupa kolom kecil Ø 7 mm dari bawah ke atas dibuat sistem filter yang terdiri dari 0,5 g Aluminium oksida netral, 0,1 g talkum dan 1,5 g Aluminium oksida netral. Filtrasi dilakukan dengan penambahan tekanan gas nitrogen sehingga diperoleh 10 tetesan setiap menit. Pencucian kolom dilakukan sebanyak 6 kali dilakukan dengan prosedur yang sama seperti di atas setiap kali dengan 1,0 ml air. Filtrat ditampung ke dalam 10,0 ml labu takar C, kemudian dipindahkan ke 25,0 ml labu takar dengan 3 kali pencucian, setiap kali dengan 1,0 ml air, kemudian dikeringkan pada suhu -40°C dalam hampa udara (freeze dryer) dan ditambahkan 0,5 ml larutan dalam air $1,4 \times 10^{-1}$ μMol p-Toluidin, labu takar di goyang-goyang sampai terlarut (selanjutnya digunakan sebagai sampel uji; volume injeksi 5 μl). Pemisahan antara senyawa iridoid dengan p-Toluidin (senyawa standar dalam) digunakan HPLC; fase diam yang digunakan adalah C-18 SIL-X-10, dengan kecepatan tetesan (alir) 2,0 ml setiap menit pada tekanan 2800 psi. Sistem operasional yang digunakan adalah elusi bertingkat ("gradient system"); fase gerak yang digunakan terdiri dari campuran etanol, air 37% b/v pada pompa A dan campuran etanol, air 5% b/v pada pompa B. Campuran awal dibuat sedemikian rupa sehingga diperoleh sistem campuan etanol, air 7%, kemudian setelah sistem berlangsung selama 1 menit dicapai komposisi

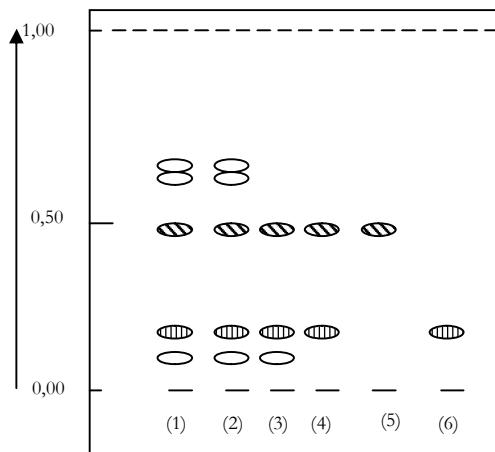
etanol, air 37% pada pompa A dinaikkan 9% setiap menit.

Penyiapan Kurva baku

Ditimbang sebanyak 11,50 mg p-Toluidin dalam labu takar 50 ml, kemudian ditambahkan air sampai tanda. Sebanyak 5,00 mg Skandosidmetilester ditimbang dalam labu takar 10,0 ml, kemudian ditambahkan air sampai tanda. Asperulosid ditimbang sebanyak 5,75 mg dalam labu takar 10,0 ml dan ditambahkan air sampai tanda. Kadar senyawa iridoid dihitung atas dasar kurva baku yang diperoleh.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil analisis kualitatif terhadap sampel uji secara kromatografi lapisan tipis seperti tertera pada gambar 3.



Keterangan:

Fase diam: silika gel GF 254

Fase gerak:

- 1) n-butanol, asam asetat, air = 30:10:10 v/v
(1 fase)
- 2) diklorometana, isopropanol, metanol 70% = 50:30:20 v/v

Penampak bercak:

- a) lampu UV 254
- b) "Trim-Hill"

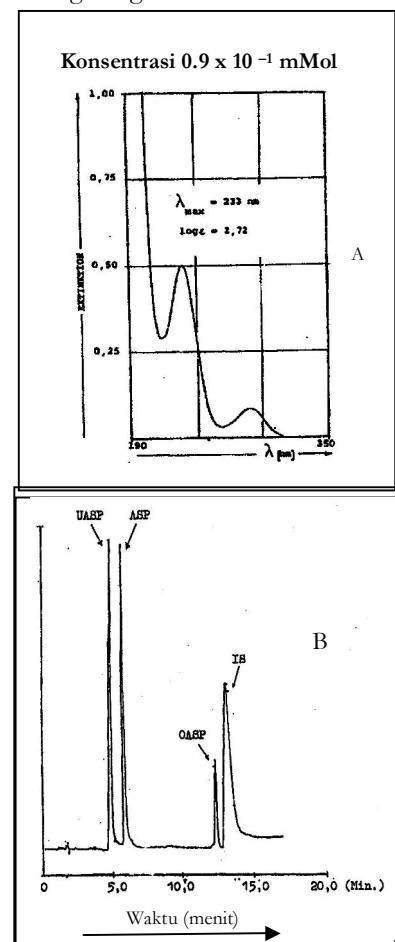
Jarak pengembangan:

- 1) 3 cm
- 2) 8 cm

Gambar 3. Kromatogram asperulosid(5), skandosidmetilester(6) daun(1), Batang(2), buah(3), akar(4)

Pada kromatogram gambar 3 terlihat bahwa masing-masing organ tumbuhan ter-

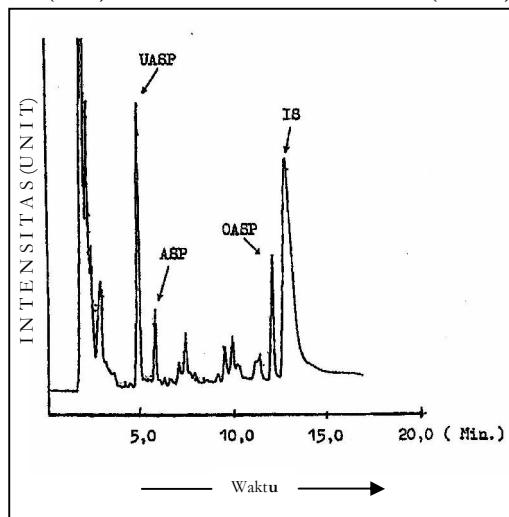
dapat asperulosid dan skandosidmetilester; hanya saja pada buah dan akar tidak ditemukan bercak senyawa iridoid dengan $R_f > 0,50$. Pemisahan antar asperulosid dan skandosidmetilester termasuk relatif baik dan diantara kedua senyawa tersebut dari hasil penyemprotan dengan larutan asam sulfat pekat 5% dalam etanol, tidak ditemukan bercak iridoid tipe "monoen" maupun bercak lain yang tidak termasuk golongan iridoid.



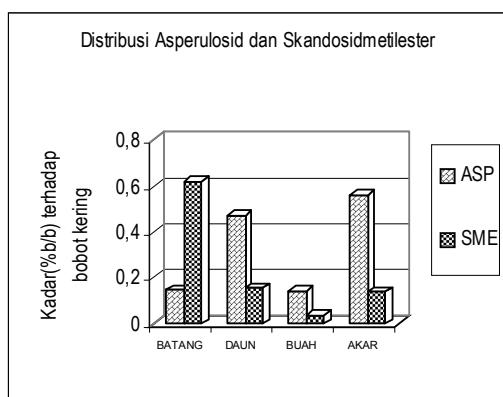
Gambar 4 Serapan Maksimum p-Toluidin (A) dan Profil HPLC Campuran Isolat Asperulosid, Skandosidmetilester dengan p-Toluidin (B)

Larutan p-Toluidin dalam air dengan konsentrasi $0,9 \times 10^{-1}$ mMol mempunyai λ_{max} 233 nm, $\log \epsilon = 2,72$ digunakan sebagai standar dalam dan se-senyawa iridoid dengan p-Toluidin dapat terpisah secara relatif baik. Dari hasil 30 kali percobaan diketahui bahwa waktu

tambat skandosidmetilester (UASP), asperulosid (ASP), benzoilskandosidmetilester (OASP)



Gambar 5 Profil Khromatogram HPLC Sampel Uji



Gambar 6 Pola Distribusi Asperulosid dan Skandosidmetilester pada Organ Tumbuhan *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.

dan p-Toluidin berturut-turut adalah $4,95 \pm 0,11$; $5,88 \pm 0,20$; $12,61 \pm 0,13$ dan $13,58 \pm 0,33$ menit. (gambar 4).

Pemisahan antara campuran senyawa tersebut relatif termasuk baik, karena puncak yang muncul tidak saling tumpang tindih; begitu pula pada pemisahan senyawa iridoid ekstrak yang larut dalam air sampel uji yang akan ditetapkan (gambar 5).

Hukum Lambert-Beer dipenuhi pada konsentrasi sebagai berikut: UASP ($1,73 \times 10^{-1}$) sampai dengan $3,71 \times 10^{-1}$ μMol ; 45 kali

ulangan); ASP ($1,9 \times 10^{-1}$ sampai dengan $4,8 \times 10^{-1}$, 25 kali ulangan) dengan persamaan garis regresi $Y=607449,3 X - 958196,9$; $r^2=0,94$ untuk skandosidmetilester, $Y=436273,3 X - 8325,27$; $r^2=0,97$ untuk asperulosid dan p-Toluidin $Y=177650 X - 80876,67$; $r^2=0,93$ (20 kali ulangan). Distribusi asperulosid dan skandosidmetilester dalam batang, daun, buah dan akar dengan masing-masing 6 kali ulangan berturut-turut adalah kadar asperulosid pada batang ($0,146 \pm 0,004\%$); daun ($0,470 \pm 0,020\%$); buah ($0,142 \pm 0,005\%$); akar ($0,560 \pm 0,013\%$); dan kadar skandosidmetilester pada batang ($0,618 \pm 0,22\%$); daun ($0,156 \pm 0,007\%$); buah ($0,037 \pm 0,002\%$); akar ($0,136 \pm 0,006\%$).

Dari grafik tersebut (gambar 6) dapat diketahui bahwa secara kuantitatif terdapat kemiripan keberadaan asperulosid; disatu pihak pada akar dan daun dan di lain pihak pada buah dan batang; sedangkan keberadaan skandosidmetilester antar organ tumbuhan tidak menunjukkan suatu kecenderungan adanya suatu kemiripan. Fenomena tersebut tidak menutup kemungkinan karena terdapat suatu keterkaitan dalam jalur pembentukan senyawa iridoid antara lain asperulosid terbentuk lebih awal dari pada skandosidmetilester pada bagian daun dan asperulosid dalam akar berperan sebagai prekursor pembentukan alkaloida dan hal ini masih diperlukan penelitian lebih lanjut. Di lain pihak terdapat kemiripan keberadaan skandosidmetilester pada bagian batang dan daun mempunyai kemiripan dalam hal kuantitas; sedangkan pada batang dan buah batang ($0,146 \pm 0,004\%$); buah ($0,142 \pm 0,005\%$); dan skandosidmetilester banyak terdapat berturut-turut adalah batang ($0,618 \pm 0,22\%$); daun ($0,156 \pm 0,007\%$); akar ($0,136 \pm 0,006\%$); buah ($0,037 \pm 0,002\%$). Apakah pola keberadaan asperulosid, skandosidmetilester dalam organ tumbuhan *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. dipengaruhi oleh daerah tempat tumbuh maupun proses penanganan paska panen masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Suatu pendekatan metode dalam penentuan karakter pola distribusi iridoid tipe "monoen" dan tipe "dien" pada jenis *Hedyotis* masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Pola distribusi senyawa iridoid dalam organ *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. (*Oldenlandia corymbosa* Linn.) adalah :

1. Distribusi asperulosid pada organ tumbuhan *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. akar ($0,560 \pm 0,013\%$); daun ($0,470 \pm 0,020\%$); batang ($0,146 \pm 0,004\%$) dan buah ($0,142 \pm 0,005\%$)
2. Kadar skandosidmetilester berturut-turut dari kadar yang besar adalah batang > daun > akar > buah yaitu batang ($0,618 \pm 0,22\%$); daun ($0,156 \pm 0,007\%$); akar ($0,136 \pm 0,006\%$); buah ($0,037 \pm 0,002\%$);

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih diucapkan kepada Lembaga Biologi Nasional, Bogor yang telah membantu determinasi *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. (*Oldenlandia corymbosa* Linn.), Prof. Dr. Georg Schneider atas bimbingannya dalam penelitian ini dan kepada Bapak Gino dan Bapak Drs. Wahyono, Apt. yang telah banyak membantu dalam pengadaan *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.

Daftar Pustaka

- Backer,C.A. 1965, *Flora of Java*, N.V.P.Noordhoff Groningen The Netherland, Vol.II, 274-288
Bruneton, J., 1999, *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, 2nd Edition, hal. 589, Londres, New York
Hager, 1937, *Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, Band IV, Springer Verlag, Berlin, 305
Inouye, H. 1974, Two New Iridoidglukosides from *Gardenia jasminoides* Fruits, *Phytochemistry*, 13, 2210-2224
Inouye, H; Takeda Y., Uobe K., Yamauchi K., Yamauchi, N., Kuwano S., 1974, Purgative Activities of Iridoid Glycosides, *Planta Medica*, Vol.25, hal.285-288
Khastgir,H.N., 1960, Note on Constituents of the Indian Medicinal Plant *Oldenlandia corymbosa* Linn., *J.Am.Phar.Ass.*, 49, 562-563
Lavarone, C., 1983, Mollugoside, an Iridoidglucoside from *Gallium mollugo*, *Phytochemistry*, 22 175 - 178
Nishiama Y, Masuda, K, Yamaki M, Tagaki, Sakina, K., 1981, Three New Iridoid Glucosides from *Hedyotis diffusa* Wild., *Planta Medica*, vol 43, hal 28-33
Schneider, G., 1985, *Pharmazeutische Biologie*, 5. Aufl., B.I.Verlags Mannheim
Sticher O., 1979, Hochleistungsfluessigchromatographische Trennung und Quantitative Bestimmung von Arbutin, Methylarbutin, Hydrochinon und Hydrochinonmethylether in Arcto staphyllos-, Bergenia-, Calluna- und Vaccinium arten, *Planta Medica*, 35, hal 253-261
Sudarsono, 1986, Vorkommen und Verteilung Neutraler Iridoidglykoside in *Hedyotis*-Arten aus Mitteljava, *Desertasi*, Frankfurt am Main
Uesato, S. et al., 1984, Iridoid from *Gallium mollugo*, *Phytochemistry* 23, 2535-2537
Werner, CL.,F., 1961, *Wortelement-Lateinisch Wissenschaften*, hal 232, Akademische Verlagsgessellschaft, Geest and Portig., K.G.Leipzig.