

---

## Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak Etil Asetat Pirdot (*Saurauia vulcani*, Kurth)

### Isolation of Triterpenoid Compound from Ethyl Acetate Extract of Pirdot (*Saurauia vulcani*, Kurth)

Boima Situmeang<sup>1</sup>, Achmad Rante Suparman<sup>2</sup>, Murthihapsari Kadarusman<sup>2</sup>, Apriani  
Sulu Parumbak<sup>2</sup>, Tati Herlina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Banten, Indonesia

<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Papua, Indonesia  
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Bandung, Indonesia

Email: [boimatumeang@gmail.com](mailto:boimatumeang@gmail.com)

Received: February 2018; Revised: March 2018; Accepted: August 2018; Available Online: November 2018

---

#### Abstrak

Tumbuhan pirdot (*Saurauia vulcani*, Kurth) merupakan tumbuhan yang tumbuh di daerah tropis. Selama ini rebusan daun tumbuhan pirdot digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit diabetes. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi senyawa triterpenoid dari ekstrak etil asetat daun tumbuhan pirdot. Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi total menggunakan pelarut etil asetat. Pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan metode kromatografi kolom dilanjutkan dengan analisis pola noda dengan kromatografi lapis tipis. Karakterisasi struktur senyawa murni dilakukan dengan menggunakan spektroskopi UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR DEPT 135°, HMQC, HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY dan MS serta membandingkan dengan berbagai literatur. Berdasarkan hasil elusidasi struktur, isolat murni yang diperoleh merupakan senyawa golongan triterpenoid pentasiklik, dikenal sebagai asam 3-hidroksi, 12(13)-en, 28-oleanolat dengan rumus molekul C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>. Senyawa triterpenoid pentasiklik asam oleanolat merupakan yang pertama kali diisolasi dari tumbuhan pirdot (*Saurauia vulcani*).

**Kata kunci:** Asam oleanolat, *Saurauia vulcani*, triterpenoid, isolasi, pirdot

#### Abstract

Pirdot plant (*Saurauia vulcani*, Kurth) is a plant that grows naturally in a tropical climate. During this decoction pirdot leaves plants are used by the people to treat diabetes disease. The purpose of this study was to isolate triterpenoid compound from ethyl acetate extract of pirdot leaves. The sample extraction was performed by total of maceration method using ethyl acetate as a solvent. The separation and purification of the compound was carried out by column chromatography method followed by stain pattern analysis with thin layer chromatography (TLC). Structure characterization of pure compound was determined using UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT 135°, HMQC, HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY and MS spectroscopies including compared with various literatures. Based on the analysis result, the pure isolate obtained was identified as a pentacyclic triterpenoid compound, 3-hydroxy acid, 12(13)-en, 28-oleanolate acid with the molecular formula C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>. The triterpenoid compound of pentacyclic oleanolic acid is the first reported from the pirdot plant (*Saurauia vulcani*, Kurth).

**Keywords:** Oleanolic acid, *Saurauia vulcani*, triterpenoid, isolation, pirdot.

**DOI:** <http://10.15408/jkv.v4i2.7272>

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi dan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai produk alami dalam bidang farmakologi. Obat tradisional atau lebih dikenal dengan istilah obat herbal hampir dimanfaatkan di seluruh dunia baik di negara maju maupun negara berkembang. Penggunaan obat tradisional terus mengalami peningkatan, kurang lebih 65% penduduk negara maju menggunakan pengobatan tradisional termasuk diantaranya obat herbal yang berasal dari alam. Hal ini didukung dengan adanya isu *back to nature* yang menganggap bahwa obat herbal memiliki resiko efek samping lebih kecil dibanding dengan obat modern (hasil sintesis) (Inove *et al.*, 2004).

Salah satu diantara tumbuhan yang berpotensi dan belum banyak diteliti dalam skala laboratorium adalah tumbuhan pirdot (Sitorus, 2015). Tumbuhan ini banyak tumbuh didaerah Sumatera Utara diantaranya: Parapat, Samosir, Balige, dan tarutung (Hartini dan Sahroni, 2016). Tumbuhan ini belum banyak diteliti dan dikaji secara mendalam, namun banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat diabetes dengan cara meminum rebusan air daun pirdot. Penelitian tentang tumbuhan pirdot hanya sebatas uji aktivitas terhadap ekstrak. Penelitian Sitorus, (2015) mengungkapkan aktivitas antidiabetes dari ekstrak etanol daun tumbuhan pirdot terhadap mencit yang diinduksi aloksan. Hasil penelitiannya mengungkapkan penurunan kadar gula darah mencit sebesar 55.11% dari total berat badan. Penelitian Saragih, 2016 melakukan penelitian skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol dan etil asetat daun tumbuhan pirdot. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan ekstrak metanol tumbuhan pirdot mengandung senyawa golongan flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid sementara ekstrak etil asetat mengandung senyawa golongan flavonoid dan terpenoid. Ekstrak metanol dan etil asetat daun pirdot juga memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 18.19 dan 17.45 ppm (Saragih, 2016).

Salah satu Family tumbuhan pirdot yang dikenal adalah *Saurauia bracteosa*. Tumbuhan ini banyak terdapat di Minahasa Sulawesi. Tumbuhan ini oleh masyarakat Minahasa, Manado dikenal dengan nama

sayogik (Kadji *et al.*, 2013; Muadja *et al.*, 2013).

Senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid diketahui memiliki berbagai aktivitas diantaranya sebagai antibakteri, antitumor, antiinflamasi dan antidiabetes (Abdullah *et al.*, 2013; Chudzik *et al.*, 2015). Aktivitas antidiabetes dan antibakteri dari ekstrak daun pirdot diduga berasal dari kandungan senyawa triterpenoid yang terkandung didalamnya. Mengingat potensi dari tumbuhan pirdot yang sangat besar sebagai tumbuhan obat namun masih kurangnya informasi dan kajian ilmiah mengenai kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun tumbuhan pirdot tersebut, maka dalam penelitian ini dilakukan isolasi senyawa triterpenoid dari ekstrak etil asetat daun tumbuhan pirdot.

## 2. METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium penelitian, alat maserasi, evaporator, pipa kapiler untuk KLT, dan kolom kromatografi. Pemantauan pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) G60 dengan lampu detektor UV  $\lambda$  254 dan 365 nm. Karakterisasi senyawa murni digunakan alat spektrofotometer meliputi spektrofotometer UV, infra merah (IR) Shimadzu,  $^1H$ -NMR 500 MHz,  $^{13}C$ -NMR 125 MHz, DEPT 135°,  $^1H$ - $^1H$  COSY, HMQC, HMBC dan MS Shimadzu.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun tumbuhan pirdot (*Saurauia vulcani*) yang diambil langsung dari desa Silangkitang, Kecamatan Sipoholon, Kabupaten Tapanuli Utara, Sumatera Utara. Bahan kimia yang digunakan terdiri pelarut yang di destilasi ulang yakni *n*-heksana, etil asetat, metanol (teknis dan p.a), silika gel G60 untuk kromatografi kolom dan silika gel GF<sub>254</sub> untuk kromatografi lapis tipis, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% (v/v) dalam etanol, TLC ODS RP-18, dan akuades.

### Persiapan Sampel dan Ekstraksi

Sampel daun pirdot dipotong-potong dengan ukuran kecil, kemudian dikeringkan selama satu minggu dalam suhu ruang. Massa sampel pirdot kering yang digunakan adalah sebanyak 1 kg. Sampel kemudian dimaserasi menggunakan etil asetat sebanyak 5 L.

Maserasi sampel dilakukan selama 2x24 jam sebanyak dua kali pengulangan. Setelah itu dilakukan penyaringan sehingga diperoleh ekstrak etil asetat sampel daun pirdot. Ekstrak cair kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C. Ekstrak kental etil asetat yang diperoleh kemudian ditimbang untuk mengetahui massa sampel pekatnya. Massa ekstrak kental sebanyak 13.68 g. Selanjutnya ekstrak pekat dimasukkan kedalam desikator selama 24 jam untuk menghilangkan pelarut etil asetat yang masih tersisa. Massa sampel kering setelah didesikator sebesar 12.05 g.

### Isolasi Senyawa Triterpenoid

Ekstrak pekat etil asetat sebanyak 12.05 g dipisahkan komponen senyawa kimia penyusunnya menggunakan metode kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh), dengan fase gerak menggunakan kombinasi pelarut *n*-heksana dan etil asetat, secara gradien, 10% dihasilkan 11 fraksi yaitu fraksi A-K.. Setelah keseluruhan fraksi (A-K) diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator dilakukan analisis pemisahan pola nodanya dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen *n*-heksana/etil asetat (7:3). Selanjutnya fraksi F dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika, eluen *n*-heksana dan etil asetat bergradien 2%. Dari hasil pemisahan diperoleh 21 fraksi yaitu fraksi F01-F22. Fraksi F14-17 memiliki pola noda dan nilai R<sub>f</sub> yang sama sehingga dilakukan penggabungan untuk dimurnikan selanjutnya. Pemisahan selanjutnya dilakukan secara isokratik dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat perbandingan (4:1). Fraksi F14-37 sampai F14-51 menunjukkan pola noda tunggal, sehingga dilakukan KLT dengan berbagai pelarut (fasa normal dan fasa terbalik) untuk menguji kemurniannya. Total massa yang diperoleh sebanyak 5.5 mg. Selanjutnya terhadap isolat murni dilakukan karakterisasi dengan spektrofotometer UV, infra merah (IR), <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT 135°, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HMQC, HMBC dan spektrometri massa (MS).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat murni yang diperoleh berupa padatan putih yang larut sempurna dalam aseton dan metanol. Hasil pengukuran dengan spektroskopi UV isolat tidak berpondasi pada

UV λ 254 dan 365 nm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tidak memiliki karbon terkonjugasi yang merupakan salah satu ciri khas senyawa triterpenoid (Martins *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil pengukuran MS-MS yang menunjukkan puncak ion [M-H]<sup>-</sup> sebesar 455.66 diperoleh berat molekul sebesar 456.66. Hal ini menunjukkan rumus molekul C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>. Dari dugaan rumus molekul tersebut, diperoleh nilai *double bond equivalen* (DBE) sebesar 7.

Selanjutnya dilakukan pengukuran spektrum inframerah untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam isolat. Spektrum IR (KBr) isolat menunjukkan serapan gugus O-H (3398 cm<sup>-1</sup>) diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang 1046.77 cm<sup>-1</sup> yang merupakan regangan ulur dari gugus C-OH. Pada bilangan gelombang 1689.79 cm<sup>-1</sup> terdapat regang C=O (karbonil). Pada bilangan gelombang 2987.10 cm<sup>-1</sup> terdapat regangan ulur gugus C-H alifatik diikuti dengan serapan pada 1458.70 cm<sup>-1</sup> yang merupakan tekukan C-H pada 1360.23 cm<sup>-1</sup> yang merupakan regang gem dimetil (Uddin *et al.*, 2011; Vazquez *et al.*, 2012).

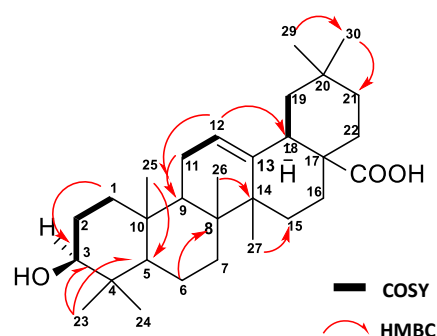
Spektrum <sup>1</sup>H-NMR isolat menunjukkan resonansi untuk proton olefinik pada pergeseran δ 5.20 ppm (1H; *t*, *J* = 3.9 Hz) menunjukkan posisi α. Proton hidroksil pada δ 3.15 ppm (1H; *dt*, *J* = 11.0; 3.9 Hz) menunjukkan posisi aksial dan orientasi α. Pergeseran kimia pada δ 2.90 ppm (1H, *dd*, *J* = 9.7; 3.9 Hz) menunjukkan orientasi α. Terdapat tujuh metil singlet pada δ 0.79; 0.98; 0.77; 0.84; 1.17; 0.91 dan 0.98 (3H) ppm menunjukkan bahwa isolat merupakan golongan senyawa triterpenoid pentasiklik (Silva *et al.*, 2012). Tumpukan sinyal pada rentang δ: 1.19-2.41 ppm diduga merupakan pergeseran kimia untuk proton yang terikat pada rantai karbon triterpenoid (Governalp *et al.*, 2006). Spektrum <sup>13</sup>C-NMR isolat memperlihatkan adanya tiga puluh sinyal karbon yang terdiri dari 27 atom karbon *sp*<sup>3</sup>, dua atom karbon olefinik C=C*sp*<sup>2</sup> dan satu gugus karbonil (C=O) pada δ 178.2 ppm. Pada pergeseran 77.7 ppm merupakan pergeseran yang khas terhadap karbon teroksidasi senyawa triterpenoid pentasiklik. Pergeseran kimia di bawah δ 77.7 ppm menunjukkan atom karbon *sp*<sup>3</sup> alifatik yang dapat berupa rantai lurus ataupun siklik yang diduga berasal dari rantai alifatik golongan triterpenoid pentasiklik

(Martins *et al.*, 2013; Uddin *et al.*, 2011; Babalola and Shode, 2013).

Hasil pengukuran dengan DEPT 135° menunjukkan tiga puluh sinyal karbon yang terdiri dari tujuh atom karbon metil pada  $\delta$  15.5; 15.5; 16.8; 23.1; 25.4, 26.3 dan 28.0 ppm. Lima sinyal metin yang terdiri dari 4 metin  $sp^3$  pada  $\delta$  41.4; 47.7; 55.4; dan 77.7 ppm serta satu metin  $sp^2$  pada  $\delta$  122.2 ppm. Sepuluh atom karbon metilen pada  $\delta$  18.3; 23.2; 23.3; 27.2; 27.6; 33.1; 33.6; 38.4; 38.6 dan 45.9 ppm. Jumlah atom karbon kuartener sebanyak delapan, enam diantaranya merupakan karbon kuartener  $sp^3$  pada pergeseran  $\delta$  30.4; 36.9; 39.2; 39.5; 41.6; dan 42.6 ppm dan dua diantaranya karbon kuartener  $sp^2$  pada  $\delta$  144.2 dan 178.2 ppm. Adanya sinyal karbon metin dan karbon kuartener  $sp^2$  pada pergeseran  $\delta$  122 dan 144 ppm menunjukkan bahwa isolat memiliki satu ikatan rangkap dan juga merupakan ciri khas ikatan rangkap yang terdapat pada senyawa triterpenoid oleanolat pada nomor 12 dan 13 (Vazquez *et al.*, 2011). Adanya sinyal metin  $sp^2$  pada pergeseran  $\delta$  122 dan 144 ppm menunjukkan bahwa ikatan rangkap merupakan *internal double bond*, bukan *terminal double bond*. Ikatan rangkap ini memberikan sumbangan satu derajat ketidakjenuhan. Sinyal karbonil yang diduga merupakan gugus karboksilat juga memberikan satu sumbangan derajat ketidakjenuhan. Total derajat ketidakjenuhan pada isolat adalah sebesar tujuh. Dugaan isolat merupakan triterpenoid asam oleanolat pentasiklik memberikan sumbangan derajat ketidakjenuhan sebesar lima.

Hasil pengukuran spectrum HMBC menunjukkan bahwa proton milik karbon C23 dan C24 dengan proton milik karbon C3 ( $\delta$  77.7 ppm) berkorelasi ( $^3J$ ). Proton milik karbon C1 juga berkorelasi ( $^3J$ ) dengan karbon C3. Korelasi ini menentukan posisi gugus -OH yang terdapat pada isolat. Adanya korelasi ( $^3J$ ) dari proton milik karbon C23 ( $\delta$  15.5 ppm) dengan karbon C24 ( $\delta$  27.9 ppm) dan sebaliknya menyarankan posisi *gem* dimetil yang pertama. Adanya korelasi ( $^3J$ ) dari proton milik karbon C30 dengan karbon C29 menyarankan posisi *gem* dimetil yang kedua. Isolat memiliki dua buah *gem dimetil*. Korelasi ( $^3J$ ) dari proton milik karbon C11 ( $\delta$  1.90) dengan karbon C12 ( $\delta$  122.2 ppm) dan karbon C13 ( $\delta$  144.2) menyarankan posisi ikatan rangkap. Adanya korelasi ( $^3J$ ) dari proton milik

karbon C27 ( $\delta$  5.21) dengan karbon C12 juga memperkuat posisi ikatan rangkap yang merupakan *internal double bond*. Korelasi ( $^3J$ ) dari proton milik karbon C26 dengan karbon C14 menyarankan posisi parsial cincin C dengan cincin D pada senyawa triterpenoid pentasiklik. Adanya korelasi ( $^2J$ ) dari proton milik karbon C26 dengan karbon C8 menyarankan posisi parsial cincin C dengan cincin B pada senyawa triterpenoid pentasiklik. Untuk menghubungkan parsial cincin D dengan cincin E disarankan dengan adanya penjadohan proton H-19 dengan proton H-19 pada COSY. Setelah dilakukan analisis terhadap spektrum  $^1H$  NMR, karbon  $^{13}C$  NMR, HMQC, DEPT 135°,  $^1H$ - $^1H$  COSY, HMBC dan MS serta perbandingan dengan literature maka isolat merupakan senyawa triterpenoid pentasiklik yaitu asam 3-hidroksi, 12(13)-en, 28-oleanolat (gambar 1).



**Gambar 1.** Senyawa triterpene asam 3-hidroksi, 12(13)-en, 28-oleanolat.

Karakteristik yang khas dari senyawa ini yaitu adanya dua buah *gem* dimetil dan satu ikatan rangkap pada karbon nomor 12 dan 13. Dua buah gugus *gem* dimetil tersebut terletak pada karbon nomor 23 dan 24 serta karbon nomor 29 dan 30. Pada karbon nomor 28 juga terdapat gugus asam karboksilat. Senyawa ini mempunyai rumus molekul  $C_{30}H_{48}O_3$  dengan jumlah derajat ketidakjenuhan sebanyak tujuh. Nama IUPAC dari senyawa ini adalah asam 3-hidroksi, 12(13)-en, 28-oleanolat, dengan nama trivial asam oleanolat (Ayatollahi *et al.*, 2011; Uddin *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelusuran pustaka, asam oleanolat telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *Duroia macropylla*, *Calicarpa integerima* dan *Euporbium microsciadin* (Vazquez *et al.*, 2011; Uddin *et al.*, 2011). Senyawa oleanolat juga telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antikanker terhadap



kanker payudara, darah, dan kanker ovarium (Chudzik *et al.*, 2015). Untuk lebih memastikan struktur isolat dilakukan perbandingan pergeseran kimia dengan beberapa referensi asam oleanolat. Perbandingan pergeseran kimia karbon dan proton dengan referensi asam oleanolat ditunjukkan pada tabel 1. Senyawa triterpenoid asam 3-hidroksi,12(13)-en,28-oleanolat merupakan pertama kali diisolasi dari tumbuhan pirdot.

#### 4. SIMPULAN

Dari sampel daun pirdot telah diisolasi senyawa asam oleanolat sebanyak 5.5 mg. Berdasarkan hasil elusidasi struktur, isolat murni yang diperoleh merupakan senyawa golongan triterpenoid pentasiklik dengan rumus molekul  $C_{30}H_{48}O_3$  dan nama asam 3-hidroksi,12(13)-en,28-oleanolat atau nama trivial asam oleanolat. Senyawa triterpenoid pentasiklik asam oleanolat merupakan yang pertama kali diisolasi dari tumbuhan pirdot (*Saurauia vulcani*, Kurth).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah SM, Musa AM, Abdullah MI, Sule M, and Sany YM. 2013. Isolation of lupeol from the steam bark of *Lonchocarpus sericeus*. *Sch. Acad. J. Brosci.* 1(1): 18-19. 2321-6993.
- Ayotollahi AM, Ghanadian M, Afsaridove S, Abdella OM, Murzai M, and Aiskan G. 2011. Pentacyclic triterpenes in *Euphorbia microsciadia* with their T-Cell proliferation activity. *Irian journal of pharmaceutical.* 10: 287-294.
- Babalola I, Shode F. 2013. A potential pentacyclic triterpenes natural product. *J of Pharmacognosy and phytochemistry.* 2(2): 214-222.
- Chudzik M, Korzonek IS, Kroe W. 2015. Triterpenes as potentially Cytotoxic compounds. *Molecules.* 20: 1610-1625.
- Governalp Z, Kilik N, Kazaz C, Kaya Y, Demiezer LO. 2006. Chemical constituents of *Galium tirtunerte*. *Turk. J. Chem.* 30: 515-523.
- Hartini S, Sahromi. 2016. Kebun Raya Samosir: Study tentang Kekayaan Flora dan Potensinya. *Proceeding semnas masy Biodiv Indonesia.* 2(2): 243-249.
- Inove Y, Shiraishi A, Hada T, Hirose K, Hanashima H, and Shimada J. 2004. The antibacterial effect of terpene alcohol on *Staphylococcus aureus* and their mode of action. *FEMS Microbiology Letter.* 237: 325-331.
- Kadji MH, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. 2013. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Jurnal pharmacon.* Universitas Sam Ratulangi.
- Martins D, Carrion LL, Ramos DF, Salome KS, and Silva PA. 2013. Triterpenes and antimicrobial of *Durorria macopyhlla* Huber (*Rubiaceae*). *Biomed.* 7: 10155/605831.
- Muadja AD, Koleangan HSJ, Runtuwena MRJ. 2013. Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia daun soyogik (*Saurania bracteosa* DC) dengan metode sokletasi. *Junal MIPA Unsrat.* (2): 115-118.
- Saragih R. 2016. Srinig Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan dan antibakteri ekstrak metanol dan etil asetat daun pirdot (*Saurauia vulcani*, Korth). Universitas Sumatera Utara; Medan.
- Sitorus P. 2015. Characterization simplisia and ethanolic extract of pirdot (*Saurauia vulcani*, Korth) leaves and study of antidiabetic effect in alloxan induced diabetic mice. *International J of Chem Tech Research.* 8(6): 789-794.
- Silva DL, David J, Silva L, Santos R, David J, Lima L, Reis P, and Fontane R. 2012. Bioactive oleanoat, lupine and ursane triterpenoid acid derivatives. *Molecules.* 17:12197-12205.
- Uddin G, Wairulah, Siddiqui BS, Alam S, Sadat A, Ahmad A, and Uddin A. 2011. Chemical constituents and phytoxicity of solvent extracted fraction of steam bark of *Grewia optiva*. *Middle-Eas J.Sci. Res.* 8(1): 85-91. 1990-2333.
- Vazquez LH, Palazon J, Ocana AN. 2012. The pentacyclic triterpene  $\alpha,\beta$  Amyrin. *Phytochemicals.* 978: 953-51-0296-0.