

Isolasi, Elusidasi Struktur, dan Uji Bioaktivitas Alkaloid dari Akar Kemuning (*Murraya exotica* L.)

BUSTANUSSALAM, TITI PARWATI, PARTOMUAN SIMANJUNTAK*

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI,
Jalan Raya Bogor Km 46, Cibinong 16911

Diterima 5 April 2004, Disetujui 26 Juni 2004

Abstract: Isolation and structure elucidation of an alkaloid, a bioactive compound from the roots of the Indonesian medicinal plant Kemuning, *Murraya exotica* (Rutaceae), including the brine shrimp lethality test (BSLT) have been carried out. The bioactivity test using *Artemia salina*, isolation and purification of the ethyl acetate extract performed by column chromatography gave yellow crystals. Based on ultraviolet, infrared, nuclear magnetic resonance (¹H- & ¹³C-NMR) and gas chromatography-mass spectra the isolated bioactive compound is an indole alkaloid typical to yuehchukene.

Key words: *Murraya exotica*, Rutaceae, indole alkaloid, BSLT

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara di dunia yang kaya akan sumber daya alami tumbuh-tumbuhan. Jumlah spesies tumbuhan yang tersebar di seluruh Nusantara Indonesia diperkirakan sekitar 40.000 jenis dan lebih kurang 1000 spesies telah terpakai sebagai obat tradisional. Tetapi dari sejumlah tumbuhan tersebut, masih banyak yang belum diteliti khususnya dalam pencarian senyawa baru. Hal ini penting dilakukan karena masih adanya potensi yang sangat besar, tetapi belum didayagunakan secara optimal sebagai dasar pemanfaatan tumbuhan obat tradisional Indonesia yang efektif, murah dan dapat terjangkau oleh masyarakat luas.

Isolasi dan elusidasi struktur kimia terhadap salah satu kandungan senyawa kimia dari tumbuhan Kemuning (*Murraya paniculata*) telah dilakukan karena memiliki aktivitas sebagai antiimplantasi (dapat menggugurkan janin) pada tikus sebesar 2 mg/kg bobot badan pada hari kelima⁽¹⁾. Di Indonesia secara tradisional, bagian daun dari tumbuhan Kemuning ini banyak digunakan sebagai penghalus kulit, obat haid yang tidak teratur, sedangkan kulit batangnya dipakai sebagai anestetik lokal⁽²⁾.

Tumbuhan Kemuning tersebar luas di daerah subtropik Asia Timur, dimana sebagai pusat distribusinya adalah Cina bagian Utara. Tumbuhan ini

biasanya dimanfaatkan sebagai tanaman hias di pekarangan dan dikenal dengan nama Jiu Li Xiang. Di Indonesia, umumnya tumbuhan ini dibudidayakan untuk diambil bunganya yang harum dan tersebar di pulau Jawa walaupun tidak secara besar-besaran.

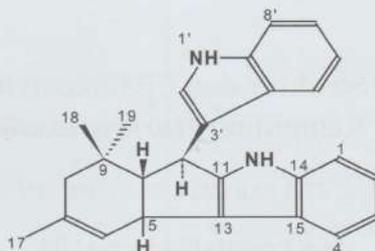
Tumbuhan Kemuning dapat dibedakan menjadi dua karena bentuk daunnya, yaitu kemuning yang berdaun kecil disebut dengan nama *Murraya exotica* L., sedangkan yang berdaun besar disebut sebagai *Murraya paniculata* (L.).

Kandungan alkaloid dalam bidang farmasi merupakan salah satu komponen penting dari suatu tumbuhan, maka dilakukan penelitian terhadap adanya alkaloid di dalam akar Kemuning berdasarkan panduan uji biologi terhadap larva udang *Artemia salina* dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). Kong dkk. melaporkan bahwa mereka telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa bioaktif alkaloid dari *Murraya paniculata* yang dinamakan sebagai Yuehchukene yaitu suatu senyawa alkaloid tipe indol dengan nama 11 α -(3'-indolil)-7,9 α -trimetil-5 α ,8,9,10 α -tetrahidroindano-[2,3-b]-indol⁽³⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Simplisia penelitian yang digunakan adalah akar tumbuhan Kemuning yang dikumpulkan dari daerah Sukabumi, Jawa Barat sebanyak 400 g dan identifikasi dilakukan di Herbarium Bogoriensis, Puslit Biologi, LIPI Bogor dengan nama *Murraya*

* Penulis korespondensi, Hp. 0811975725,
e-mail: tomujtk@indo.net.id



Gambar 1. Struktur Kimia alkaloid hasil isolasi dari *Murraya paniculata* ⁽³⁾.

exotica L. dan spesimennya disimpan di Herbarium tersebut. Pelarut seperti etanol, *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol adalah pelarut yang mempunyai kualitas teknis. Pereaksi yang digunakan seperti cerium sulfat, asam sulfat pekat, dan Dragendorff yang berderajat p.a (pro analisis). *Artemia salina* dengan merk Sanders Brine Shrimp eggs (USA).

Peralatan yang digunakan antara lain seperangkat alat ekstraksi, KLT (silika gel GF254), kromatografi kolom, spektrofotometer ultra lembayung (Shimadzu UV-160), spektrometer infra merah (FTIR Perkin Elmer 16PC), Kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS Hewlett Packard 5890 series II) dan spektrometer resonansi magnet inti (Variant Inova T400 MHz).

METODE. Ekstraksi dan isolasi. Serbuk kering akar Kemuning direfluks dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 4 x 1,5 l pada suhu 60-70°C, masing-masing selama 3 jam. Ekstrak yang keempat menunjukkan bahwa uji kromatografi lapis tipis (KLT) tidak memberikan bercak yang menunjukkan bahwa proses ekstraksi telah selesai. Hasil ekstraksi kemudian disaring dalam keadaan panas, diuapkan pada penguap berpusing sampai membentuk ekstrak kasar. Ekstrak etanol yang diperoleh dilakukan partisi dengan pelarut air-etilasetat = 1 : 1 sebanyak 3 kali. Selanjutnya lapisan air dipartisi kembali dengan *n*-butanol sebanyak 3 kali, dan masing-masing hasil partisi (lapisan etil asetat, *n*-butanol dan air) diuapkan pada penguap berpusing hingga membentuk ekstrak kasar. Terhadap ketiga ekstrak dilakukan uji aktivitas biologi, BSLT dengan menggunakan larva *Artemia salina* Leach pada konsentrasi 10, 100, dan 1000 ppm. Hasil yang menunjukkan toksisitas yang paling tinggi selanjutnya difraksinasi dengan kromatografi kolom.

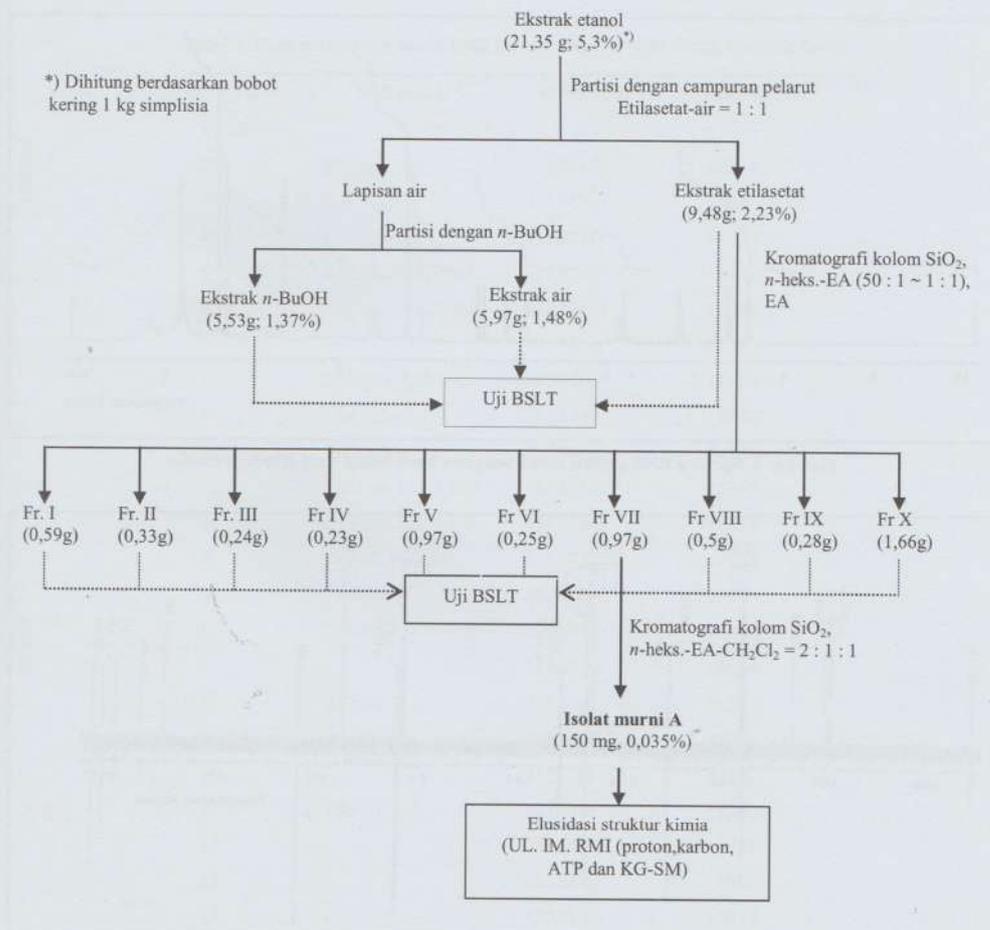
Uji aktivitas dengan BSLT. Uji aktivitas dari ekstrak kasar hingga senyawa murni dilakukan berdasarkan uji aktivitas BSLT menurut daftar pustaka^(4,5).

Fraksinasi ekstrak etil asetat dengan kromatografi kolom. Dari ekstrak yang paling aktif yaitu ekstrak etil asetat dilakukan kromatografi kolom dengan menggunakan sistem pelarut *n*-heksan – etil asetat secara gradien = 50 : 1 hingga 1 : 1, dan terakhir etilasetat. Hasil fraksinasi (memberikan 8 fraksi) diuji kembali secara biologi dengan uji BSLT untuk melihat fraksi yang lebih aktif. Dari hasil uji biologi diperoleh bahwa fraksi VII memberikan efek yang paling tinggi, dan pemurnian dilakukan dengan kromatografi kolom dengan sistem pelarut *n*-heksan-etil asetat-diklorometan = 3 : 1 : 1 secara isokratik hingga diperoleh serbuk berwarna kuning yang disebut sebagai senyawa isolat murni.

Pengambilan data spektroskopi. Pengambilan data spektra spektroskopi seperti ultra-lembayung dilakukan untuk mengetahui gugus kromofor yang terdapat pada senyawa isolat. Spektra infra merah untuk mengetahui gugus-gugus fungsi, resonansi magnetik inti (proton, karbon dan ATP = Attached Test Proton) untuk mengetahui jumlah proton dan karbon, sedangkan kromatografi gas-spektroskopi massa untuk menentukan bobot molekul senyawa isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas ekstrak dengan BSLT. Berdasarkan uji aktivitas terhadap semua ekstrak (air, *n*-butanol dan etil asetat) diperoleh bahwa ekstrak etilasetat mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya yaitu sebesar 218,78 ppm. Hasil kromatografi kolom untuk ekstrak etil asetat memberikan 10 fraksi dan fraksi VII menunjukkan aktivitas yang paling tinggi yaitu sebesar 87,53 ppm. Kemudian fraksi VII dianalisis secara kromatografi kolom kembali untuk pemurnian senyawa dan memberikan senyawa isolat murni (fraksi VII-5) yang mempunyai daya toksik sebesar 85,99 ppm. Hasil uji bioaktivitas BSLT untuk semua ekstrak (air, *n*-BuOH, etil asetat), hasil fraksinasi



Gambar 2. Skema alir kerja isolasi senyawa bioaktif alkaloid dari tumbuhan *Murraya exotica* L. (Rutaceae)

dan senyawa isolat (fraksi VII-5) dapat dilihat pada Tabel 2, 3 dan 4.

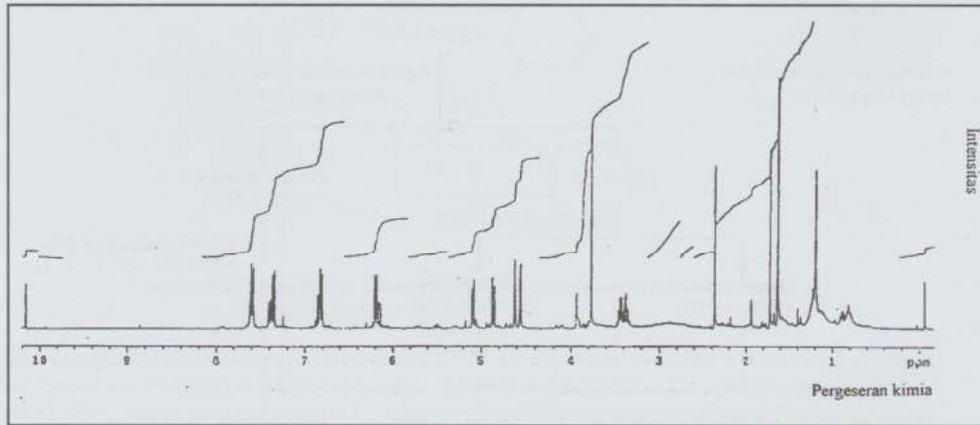
Isolat murni A yang berupa serbuk kuning dengan pereaksi Dragendorff memberikan reaksi positif berwarna merah jingga yang karakteristik untuk senyawa alkaloida.

Penentuan struktur kimia isolat murni.

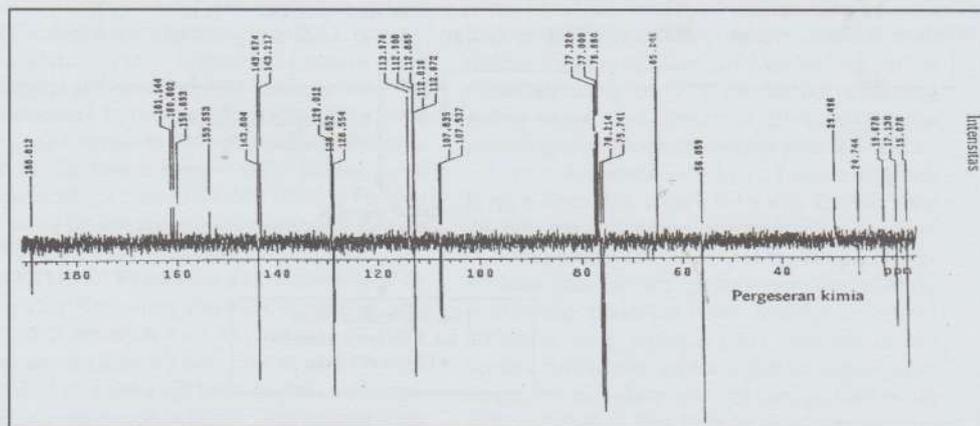
Pengambilan data spektra ultra-lembayung menunjukkan panjang gelombang maksimum pada $\lambda = 211$ nm yang karakteristik untuk cincin furan, sedangkan spektra inframerah memberikan puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang 3464 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus NH; $2854, 2928\text{ cm}^{-1}$ ($\text{C}-\text{CH}_3$) dan ($-\text{CH}_2$); 3078 cm^{-1} ($=\text{CH}-$) 1604 cm^{-1} (aromatik); dan 1728 cm^{-1} yang karakteristik untuk gugus karbonil dari suatu aldehid.

Penyidikan terhadap spektra RMI proton ($^1\text{H-NMR}$, CDCl_3 , 200 MHz) memberikan pergeseran kimia pada daerah medan magnet rendah (*low field*) hingga ke medan magnet tinggi (*high field*). Hasil ini menunjukkan bahwa struktur kimia isolat murni mempunyai gugus-gugus metil pada δH 1,21 (s); 1,63 (s); dan 1,73 (s) ppm. Sedangkan adanya cincin benzen dapat diketahui dengan munculnya spektra pada daerah medan rendah pada δH 6,19 ~ 7,60 ppm. Penyidikan sinyal pada δH 10,18 (s) menunjukkan adanya gugus aldehid (RMI karbon pada δC 188,81 ppm) yang tidak terdapat pada senyawa yuehchukene⁽¹⁾.

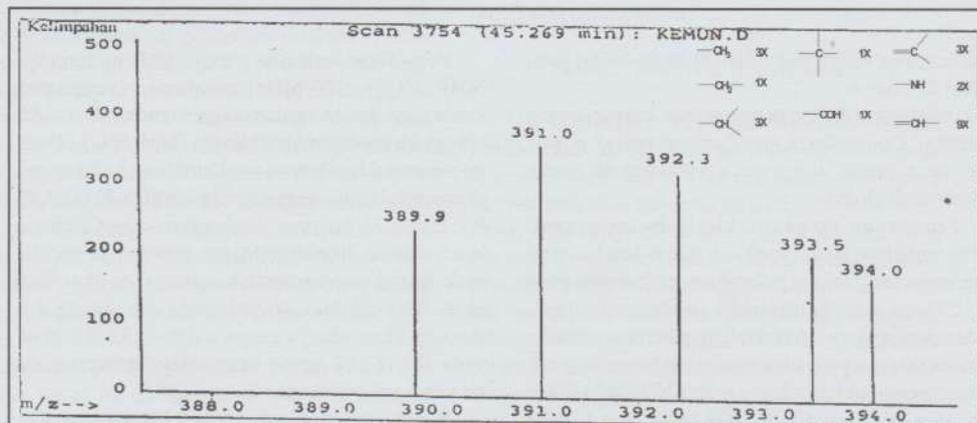
Penyidikan spektra pada RMI karbon dan berdasarkan analisis ATP menunjukkan bahwa terdapat 27 sinyal karbon (yuehchukene mempunyai



Gambar 3. Spektra RMI proton untuk senyawa hasil isolasi dari *Murraya exotica*



Gambar 4. Spektra RMI karbon untuk senyawa hasil isolasi dari *Murraya exotica*



Gambar 5. Spektra massa molekul (GC-MS) untuk senyawa hasil isolasi dari *Murraya exotica*

Tabel 1. Data pergeseran kimia RMI (proton dan karbon) untuk senyawa isolat

No atom	RMI proton ^{*)}	RMI karbon ^{*)}	RMI karbon ^{**)}
1'-NH	-	-	-
2'	4,58 (s)	128,85 (d)	122,16
3'	-	112,91 (s)	118,5
4'	-	113,98 (s)	114,23
5'	4,82 (d, J = 1,5 Hz)	112,67 (d)	119,44
6'	5,15 (d, J = 1,5 Hz)	128,22 (d)	129,49
7'	-	153,55 (s)	122,9
8'	3,38 (m); 3,42 (m)	29,50 (t)	111,60
9'	1,24 (t, br)	75,74 (d)	136,47
1	7,60 (m)	107,83 (d)	111,14
2	6,81 (dd, J=2; 8 Hz)	122,82 (d)	122,08
3	6,19 (dd, J=2; 8 Hz)	118,55 (d)	118,19
4	7,40 (d, J= 8 Hz)	118,67 (d)	119,24
5	3,96 (d, br)	24,74 (d)	37,54
6	7,60 (m)	117,54 (d)	120,46
7	-	143,22 (s)	145,09
8	6,83 (s)	143,8 (d)	41,03
9	-	159,89 (s)	33,41
10	-	65,01 (s)	60,80
11	3,89 (s)	56,06 (d)	38,28
12	-	141,14 (s)	140,22
13	-	122,88 (s)	120,46
14	-	129,01 (s)	130,13
15	-	160,60 (s)	166,76
16-NH	-	-	-
17-CH ₃	1,21 (s)	15,08 (q)	28,83
18-CH ₃	1,62 (s)	19,68 (q)	23,91
19-CH ₃	1,68 (s)	17,13 (q)	28,95
20CHO	10,21 (s)	188,81 (s)	-

Keterangan: *) : Diukur pada RMI 200 MHz, CDCl₃ untuk proton, 50 MHz, CDCl₃ untuk karbon; **) : Lit. Kong *et al*, 1985 (diukur pada RMI 90 MHz).

26 atom karbon) yang terdiri dari 10 sinyal untuk karbon kwarterner (C), 12 karbon metin (CH), satu karbon metilen (CH₂), tiga sinyal untuk karbon metil (CH₃) dan satu sinyal karbonil dari suatu aldehyd. Perbandingan data ini dengan RMI karbon dari yuehchukene diperoleh bahwa terdapat beberapa perbedaan pergeseran kimia yang sangat besar yaitu pada atom C-7'; C-8'; C-8; C-9; dan C-11. Hasil ini

menunjukkan bahwa senyawa isolat mempunyai ikatan rangkap dua pada C8 dan C9; hilangnya ikatan rangkap dua pada C-4' dan C-9'; C-7' dan C-8' yang mempunyai gugus metil pada C-7'. Spektrum RMI proton dan karbon dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3, dan pergeseran kimia RMI proton dan karbon untuk senyawa isolat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas (LC_{50}) dengan BSLT untuk semua ekstrak

Jenis Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Mortalitas	Prosentase Mortalitas	LC_{50} (ppm)
Ekstrak.EtOH	10	3	69,09	441,14
	100	7	15,38	
	1000	28	3,00	
Ekstrak EtOAc	10	4	88,71	218,78
	100	13	30,36	
	1000	38	4,76	
Ekstrak <i>n</i> -BuOH	10	3	72,73	398,33
	100	7	15,87	
	1000	20	3,06	
Ekstrak air	10	2	81,48	331,73
	100	7	15,79	
	1000	35	2,15	

Tabel 3. Hasil uji aktivitas (LC_{50}) dengan BSLT untuk semua fraksi hasil kromatografi kolom ekstrak etilasetat

Jenis Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Mortalitas	Prosentase Mortalitas	LC_{50} (ppm)
Fraksi I	10	3	63,33	485,68
	100	10	20,83	
	1000	23	4,90	
Fraksi II	10	3	83,02	332,18
	100	5	14,03	
	1000	36	3,19	
Fraksi III	10	6	89,04	115,16
	100	22	47,45	
	1000	37	7,89	
Fraksi IV	10	5	91,67	225,40
	100	10	27,27	
	1000	40	5,88	
Fraksi V	10	11	97,29	100,00
	100	18	50,00	
	1000	43	14,86	
Fraksi VI	10	8	95,77	118,13
	100	18	46,43	
	1000	42	10,67	
Fraksi VII	10	10	97,33	87,53
	100	20	52,63	
	1000	43	13,89	
Fraksi VIII	10	2	86,21	263,81
	100	11	23,64	
	1000	37	2,30	
Fraksi IX	10	4	91,23	252,67
	100	8	22,22	
	1000	40	4,60	
Fraksi X	10	5	70,69	395,01
	100	8	19,40	
	1000	28	5,05	

Dari data spektra spektrometri massa diketahui bahwa senyawa isolat mempunyai bobot molekul sebesar 394 dan dengan asumsi bahwa struktur kimia mengandung unsur-unsur C, H, O, dan N, maka jumlah atom H yang terikat pada atom N dapat dihitung sebagai $N = 394 - (27 \times 12) - (24 \times 1) - (1 \times 16) = 30$. $30/14 = 2$ buah (yang masing-masing atom N mengikat 1 atom H). Spektra massa (GC-MS) untuk senyawa isolat dapat dilihat pada Gambar 4.

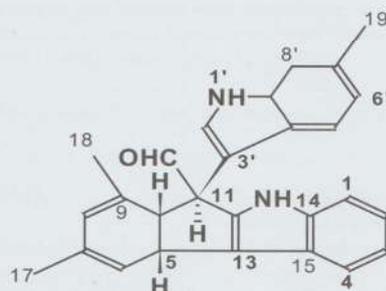
Sehingga berdasarkan perhitungan analisis unsur

tersebut, maka diperoleh struktur parsial senyawa isolat sebagaimana Gambar 5.

Dengan membuat rangkaian berdasarkan data diatas dan interpretasi data-data spektra UV, IR, RMI (proton dan karbon) dan spektra massa, maka senyawa yang diperoleh dapat dipostulasikan sebagai suatu senyawa alkaloid indol yang tipikal dengan senyawa yuehchukene hasil isolasi dari *Muraya paniculata*^(1,3).

Tabel 4. Hasil uji aktivitas (LC_{50}) dengan BSLT untuk semua fraksi hasil kromatografi kolom pada fraksi VII

Jenis Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Mortalitas	Prosentase Mortalitas	LC_{50} (ppm)
Fraksi VII-1	10	0	-	-
	100	0	-	
	1000	0	-	
Fraksi VII-2	10	7	91,52	237,59
	100	16	25,00	
	1000	28	6,89	
Fraksi VII-3	10	7	75,00	251,46
	100	15	33,33	
	1000	43	7,69	
Fraksi VII-4	10	9	97,01	146,07
	100	21	40,74	
	1000	44	9,09	
Fraksi VII-5	10	9	96,00	85,99
	100	21	52,63	
	1000	42	12,50	
Fraksi VII-6	10	8	89,55	178,68
	100	14	36,67	
	1000	38	9,64	
Fraksi VII-7	10	10	91,78	122,85
	100	18	45,90	
	1000	39	12,82	
Fraksi VII-8	10	9	91,18	117,58
	100	17	46,43	
	1000	43	12,00	
Fraksi VII-9	10	3	83,33	321,01
	100	6	15,79	
	1000	36	3,22	
Fraksi VII-10	10	3	81,13	344,92
	100	5	13,79	
	1000	35	3,16	

Gambar 6. Postulasi struktur kimia alkaloid hasil isolasi dari akar kemuning (*Murraya exotica*)

SIMPULAN

Salah satu senyawa hasil isolasi dari tumbuhan Kemuning, *Murraya exotica* adalah senyawa alkaloid indol yang berbeda dengan senyawa hasil isolasi oleh Kong dkk.⁽¹⁾ dari *Murraya paniculata*. Perlu penelitian lanjutan untuk memastikan struktur kimia dengan pengambilan data spektra RMI 2 dimensi seperti ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C COSY, COLOC, HMBC untuk mengetahui korelasi antara proton dengan proton, proton dengan karbon.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Dr. Broto Kardono atas pengambilan data spektra Resonansi Magnet Inti (proton dan karbon).

DAFTAR PUSTAKA

- Kong YC, Cheng KF, Combie RC and Waterman G. Yuechukene: a novel indole alkaloid with anti-implantation activity. *J Chem Soc Commun*. 1985;47-48.

2. Heyne K. Tumbuhan berguna Indonesia. Jilid II. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan; 1987. hal. 1082-1083.
3. Kong YC. Yuehchukene, a novel antiimplantation indole alkaloid from *Murraya paniculata*. *Planta Medica*. 1985;45:304-307.
4. Meyer BN and Putnam JE. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active compound constituents. *Planta Medica*. 1982;45:31-34.
5. Simanjuntak P dan Parwati T. Daya toksis beberapa tumbuhan obat tradisional Indonesia asal Nusa Tenggara Barat. *Jurnal Biologi Indonesia*. 1998;2(3):118-125.