

Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Alkaloid dari *Strychnos ligustrida* Bl.

JUDHI RACHMAT, TITIK K. PRANA, PARTOMUAN SIMANJUNTAK*

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

Diterima 2 Desember 2003, Disetujui 21 Februari 2004

Abstract: Four alkaloids, brucine, brucin N-oxide, colobrine N-oxide, and strychnine N-oxide were isolated from the bark of *Strychnos ligustrida* Bl. (Loganiaceae). Their structures were determined by spectroscopic data analysis, in particular by the Nuclear Magnet Resonance (^1H and ^{13}C NMR) and 2D NMR (^1H - ^1H COSY, ^{13}C - ^1H COSY) and mass spectroscopy (MS).

Key words: *Strychnos ligustrida*, Loganiaceae, brucine, brucin N-oxide, colobrine N-oxide, strychnine N-oxide

PENDAHULUAN

Strychnos ligustrida Bl. (Loganiaceae) adalah tanaman obat yang banyak ditemukan di Nusa Tenggara Barat. Di daerah Bima (Sumbawa, NTB) tanaman ini dikenal dengan nama Songa. Menurut informasi penduduk setempat, batang Songa dipergunakan sebagai tanaman obat tradisional untuk pengobatan penyakit malaria. Selain digunakan untuk pengobatan penyakit malaria, tumbuhan ini banyak dikenal sebagai tanaman multiguna. Hampir seluruh bagian tanaman ini dapat digunakan secara tradisional untuk mengobati bermacam-macam penyakit seperti demam, sariawan, diare, jantung, penawar racun, pembersih darah, obat kuat (tonikun), bisul, borok dan pembersih jerawat⁽¹⁾.

Studi kimia pada tumbuhan keluarga *Strychnos* telah banyak dilakukan. Massiot melaporkan 20 jenis alkaloid dari *Strychnos matopensi*⁽²⁾. Sementara Bisset menemukan senyawa alkaloid icajin dan novacin sebagai senyawa utama pada *Strychnos wallichiana* dan *S. henningsii*^(3,4).

Tulisan ini melaporkan hasil penelitian studi kimia tanaman obat tradisional Indonesia tentang isolasi dan identifikasi senyawa alkaloid pada *Strychnos ligustrida* Bl. Sebelumnya telah dilaporkan dua senyawa alkaloid yang telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi strukturnya⁽⁵⁾. Sedangkan pada tulisan ini dilaporkan hasil isolasi dan identifikasi dari dua

fraksi lainnya, yaitu fraksi IV yang memberikan senyawa brusin⁽³⁾ dan fraksi V yang memberikan senyawa brusin N-oksida⁽⁴⁾.

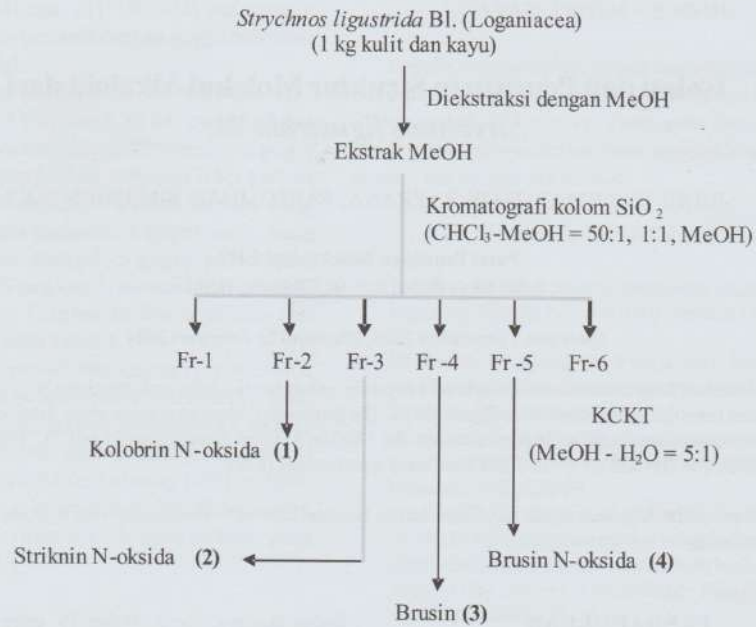
BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bagian kulit dan kayu songa yang digunakan sebagai contoh adalah hasil eksplorasi dari daerah Bima, Sumbawa, Nusa Tenggara Barat, metanol, silika gel 60 F 254, CeSO_4 , H_2SO_4 , kloroform, silika 60, BondapakTM C-18, Dragendorf.

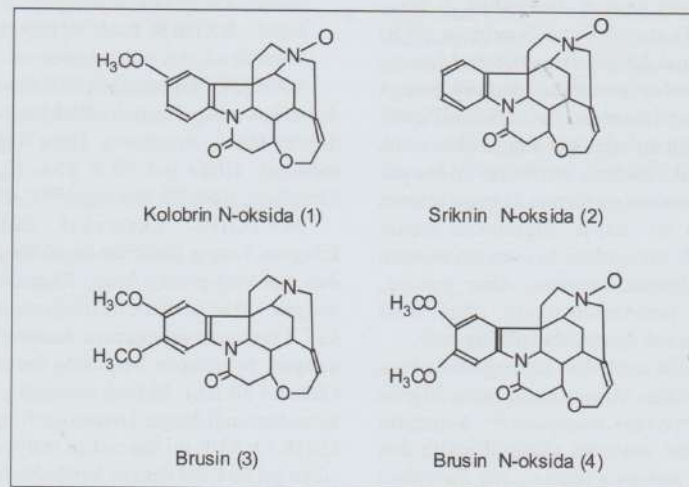
METODE. Ekstraksi. Sebanyak satu kilogram batang (kulit dan kayu) Songa dikeringkan dan dipotong-potong kecil. Kemudian diekstraksi dengan 500 ml metanol (teknis) panas sebanyak tiga kali. Campuran selanjutnya disaring dan pekatkan dengan penguapan berpusing bertekanan rendah (Yamato 50 RE). Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian diuji dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Untuk uji KLT ini digunakan lempeng aluminium silika gel 60 F254 dengan ketebalan lapisan 0,2 mm (Merck) dan pendeteksian noda dilakukan dengan menggunakan penyemprot $\text{CeSO}_4/10\% \text{H}_2\text{SO}_4$ pekat.

Isolasi. Ekstrak metanol kasar selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom kiesegel 60 (35 - 70 mesh ASTM, Merck) sebagai fase diam, sedangkan eluen yang digunakan adalah campuran kloroform-metanol (50:1 \rightarrow 1: 1) dan terakhir digunakan metanol. Kromatografi kolom memberikan beberapa fraksi, empat fraksi diantaranya yaitu fraksi II dan fraksi III memberikan senyawa klorobrin

* Penulis untuk korespondensi, telp. (021) 8754587,
e-mail: tomujtk@indo.net.co.id



Gambar 1. Prosedur isolasi dan pemurnian senyawa alkaloid dari *S. ligustrida* Bl.



Gambar 2. Struktur alkaloid hasil isolasi dari *S. ligustrida* Bl.

N-oksida (1) dan strikнин N-oksida (2) (5), dan dua fraksi lainnya yaitu fraksi IV dan V dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT JASCO, model MD 910 dengan detektor UV/VIS multi panjang gelombang). Kolom yang digunakan adalah jenis fase balik (*reversed phase*), Bondapak™ C-18, 300 x 9,9 mm yang dialiri dengan eluen metanol (5:1) secara isokratik dan hasilnya

adalah dua senyawa murni brusin (3) dan brusin N-oksida (4) (Gambar 1).

Identifikasi. Elusidasi struktur keempat senyawa murni tersebut dilakukan dengan pengambilan data dari spektrometri massa (JOEL SX-102) dan spektrometri RMI (¹H, ¹³C), serta RMI 2 D (¹H-¹H COSY, ¹³C-¹H COSY), BRUKER AVANCE DPX - 300 MHz.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemurnian dengan KCKT pada fraksi IV memberikan senyawa 3 yang berbentuk padatan berwarna putih, dan memberikan reaksi positif pada reaksi warna Dragendorff yang karakteristik untuk senyawa alkaloid.

Analisis spektrum dari spektrometri massa FABMS (positif) pada fraksi IV, memperlihatkan m/z 395 (100%, $M + 1$). Analisis fragmentasi menunjukkan adanya pecahan pada molekul-molekul m/z 365 ($M-CH_2-CH_2^+$), m/z 335 ($365-CH_2O^+$), dan m/z 280 [$365-(CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-N-CH_3)^+$].

Analisis data spektrum resonansi magnetik inti (RMN) proton memberikan dua gugus metoksi pada δ H 3,87 (s) dan δ H 3,90 (s). Penyidikan pada daerah medan rendah *low field* diperoleh sinyal-sinyal pada δ H 7,79 (s, H-1); δ H 6,37 (s, H-4) yang menunjukkan adanya disubstitusi cincin aromatik pada atom C-2 dan C-3. Sedangkan pada δ H 5,98 (t, melebar, H-22) menunjukkan adanya satu proton gugus alih pada cincin lainnya (lihat Tabel 1).

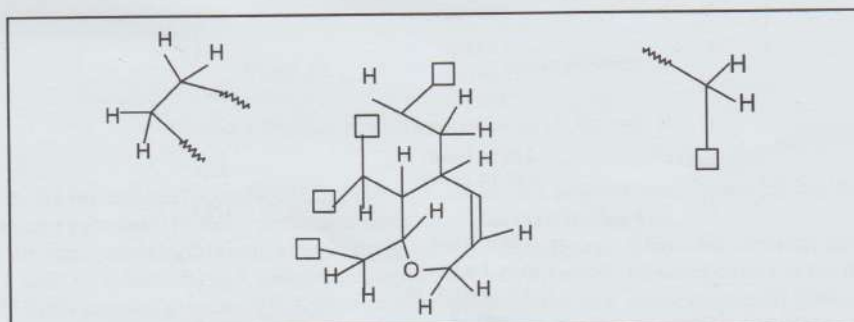
Analisis data spektrum RMN karbon dan analisis DEPT (*Distortionless Enhancement Polarization Transfer*) memberikan sinyal atom karbon sebanyak 23 yang terdiri dari 9 sinyal pada medan

Tabel 1. Pergeseran kimia proton dan karbon untuk fraksi IV (senyawa 3) berdasarkan RMN proton dan karbon dan RMI 2D $^1H-^{13}C$ COSY (400 MHz, CDCl₃)

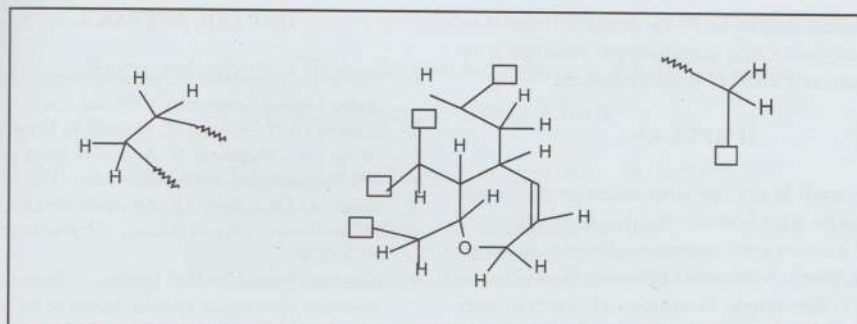
No.	RMI Proton (δ dalam Hz)	RMN Karbon
1.	7,79 (s)	105,4
2.	-	146,4
3.	-	149,4
4.	6,73 (s)	101,0
5.	-	139,1
6.	-	139,1
7.	-	60,2
8.	3,83 (d, broad)	52,0
9.	-	-
10.	-	169,1
11.	2,37 (dd, $J=4,0;10,0$) 3,07	42,2
12.	4,30 (m) (dd, $J=8,0;10,0$)	77,6
13.	1,27 (tt, $J=3,0;10,0$)	48,1
14.	3,18 (m)	31,4
15.	1,50 (dt, broad) 2,33 (dt, $J=4,0;10,0$)	26,5
16.	3,97 (m)	59,9
17.	1,88 (m)	42,1
18.	2,90 (m) 3,73 (m)	50,1
19.	-	-
20.	2,83 (d, broad) 3,80 (d, broad)	52,5
21.	-	122,7
22.	5,98 (t, broad)	128,9
23.	4,10 (d, $J=6,0;13,0$) 4,14 (d, $J=6,0;13,0$)	64,5
Ome	3,90 (s)	56,5
Ome	3,87 (s)	56,2

Tabel 2. Pergeseran kimia proton dan karbon untuk fraksi V (senyawa brusin N-oksida) berdasarkan RMI proton dan karbon dan RMI 2D ^1H - ^{13}C COSY (400 MHz, CDCl_3)

No.	RMI proton (J dalam Hz)	RMI karbon
1.	7,78(s)	104,9
2.	-	146,8
3.	-	150,1
4.	7,27(s)	100,9
5.	-	135,5
6.	-	119,8
7.	-	53,3
8.	3,95 (d,broad)	58,7
9.	-	-
10.	-	168,5
11.	2,68 (dd, $J=3,0; 17,0$) 3,13 (dd, $J=8,0; 17,0$)	42,2
12.	4,33 (m)	77,6
13.	1,37 (tt, $J=2,0; 10,0$)	47,7
14.	3,26 (d, broad)	30,4
15.	1,66 (dd, broad)	25,2
16.	4,40 (d, broad)	82,7
17.	2,00 (dd, $J=5,0; 13,0$) 2,68 (m)	39,9
18.	3,73 (m)	67,9
19.		
20.	4,16 (m)	71,3
21.	-	135,4
22.	6,31(d, $J=6,0$)	134,0
23.	4,27 (dd, $J=6,0; 14,0$) 4,08 (dd, $J=7,0; 14,0$)	64,3
oMe	3,91 (s)	56,5
oMe	3,87 (s)	56,3



Gambar 3. Korelasi antara proton dengan proton untuk senyawa brusin.



Gambar 4. Korelasi antara proton dengan proton pada senyawa fraksi V (brusin N-oksida).

rendah (100,9-169,1 ppm) dan 14 sinyal pada medan tinggi *high field* (26,5-77,7 ppm). Penyidikan kesembilan sinyal pada medan rendah tersebut dapat diuraikan sebagai berikut: δ C 169,1 (s, C-10); δ C 149,4 (s, C-2); δ C 146,4 (s, C-3); δ C 139,1 (s, C-5); δ C 135,8 (s, C-6); δ C 128,9 (d, C-22); δ C 122,7 (s, C-21); δ C 105,4 (d, C-4); dan δ C 100,9 (d, C-1). Sedangkan penyidikan untuk sinyal-sinyal yang terdapat pada medan tinggi dapat dijelaskan dengan menggunakan analisis spektrometer RMI 2D (^1H - ^1H COSY) yaitu terdapat korelasi antara H-11 dengan H-12; H-12 dengan H-13; H-13 dengan H-8, dan H-14 dengan H-15; H-15 dengan H-16; H-17 dengan H-18; H-23 dengan H-22 dan diantara proton-proton pada H-20.

Dari penyusunan pergeseran proton dapat dikorelasikan dengan karbonnya menggunakan analisis data spektrum RMI 2D ^1H - ^{13}C COSY. Data spektrum RMI proton dan karbon senyawa (3) tertera pada Tabel 1. Jadi berdasarkan pada data analisis RMI proton, RMI karbon, RMI 2D ^1H - ^1H COSY, dan ^1H - ^{13}C COSY, serta spektrometri massa FABMS, dapat disimpulkan bahwa senyawa kimia yang terdapat pada fraksi IV merupakan senyawa alkaloid brusin.

Sementara itu hasil pemurnian dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada fraksi V memberikan satu padatan putih yang tidak berwarna tapi memberikan hasil reaksi yang positif dengan reaksi Dragendorff pada kromatografi lapis tipis. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa alkaloid.

Analisis spektrometri massa FABMS (positif) memberikan bobot molekul m/z 411. Sedangkan hasil analisis fragmentasinya menunjukkan pecahan molekul pada m/z 394 (M-O) $^+$; m/z 379 (394-CH $_3$) $^+$; dan m/z 351 (379-CO) $^+$; m/z 335 (351-O) $^+$.

Analisis spektrometri RMI proton dan karbon memperlihatkan adanya kemiripan dengan data RMI proton dan karbon dari senyawa brusin kecuali

terdapatnya pergeseran kimia karbon yang tinggi pada atom karbon disekitar atom N seperti C-16 ($\Delta\delta = 21,8$ ppm); C-17 ($\Delta\delta = 3,2$ ppm); C-18 ($\Delta\delta = 17,8$ ppm); C-20 ($\Delta\delta = 19,0$ ppm); C-21 ($\Delta\delta = 15,0$ ppm); dan C-22 ($\Delta\delta = 5,1$ ppm). Hal ini menunjukkan terjadinya penurunan energi oleh adanya atom oksigen pada atom N yang mengakibatkan pergeseran kimia ke arah medan magnet rendah. Penyidikan pergeseran kimia proton pada RMI proton memberikan sinyal-sinyal pada δ H 3,91 (s, OCH $_3$); δ H 3,87 (s, OCH $_3$); δ H 6,31 (d, J=6,0 Hz, H-21); δ H 7,27 (s, H-4); dan δ H 7,78 (s, H-1). Sedangkan sinyal-sinyal yang terdapat pada sekitar δ H 1,37 ~ 4,40 adalah pergeseran kimia untuk hidrogen-hidrogen dari CH $_2$, CH yang dapat dijelaskan oleh analisis spektrometri RMI 2D ^1H - ^1H COSY.

Analisis ^1H - ^1H COSY sama seperti pada senyawa brusin (3) yang menunjukkan adanya korelasi antara H-11 dengan H-12; H-12 dengan H-13; H-13 dengan H-8 dan H-14; H-14 dengan H-15; H-15 dengan H-16. Selain itu juga terdapat korelasi antara proton-proton pada H-17 dengan H-18; H-20 dengan H-21.

Penyidikan pergeseran kimia RMI karbon menunjukkan jumlah atom C sebanyak 23 sinyal, yang terdiri dari 9 sinyal terdapat pada medan magnet rendah dan 14 sinyal terdapat pada medan magnet tinggi. Kesembilan sinyal yang terdapat pada medan magnet rendah adalah δ C 101,0 (d, C-1); δ C 146,8 (s, C-2); δ C 150,1 (s, C-3); δ C 100,9 (d, C-4); δ C 135,8 (s, C-5); δ C 119,8 (s, C-6); δ C 168,5 (s, C-0); δ C 135,4 (s, C-21); dan δ C 134,0 (d, C-22). Sedangkan untuk menentukan letak posisi 14 sinyal karbon lainnya dapat dijelaskan dengan analisis spektrometri RMI 2D ^{13}C - ^1H COSY. Data spektra RMI proton dan karbon dari fraksi V (brusin N-oksida) tertera pada Tabel 2. Berdasarkan analisis RMI proton, RMI karbon dan RMI 2D ^1H - ^1H COSY dan ^1H - ^{13}C COSY, serta data spektrum dari

spektrometri massa FABMS dapat disimpulkan bahwa senyawa kimia yang terdapat pada fraksi V adalah senyawa alkaloid brusin N-oksida.

SIMPULAN

Dari studi kimia terhadap tanaman *Strychnos ligustrida* Bl. telah berhasil diisolasi dan dielusidasi struktur kimia empat senyawa alkaloid, masing-masing kolobrin N-oksida (1), striknin N-oksida (2), brusin (3) dan brusin N-oksida (4). Melihat segi pemanfaatan batang songa sebagai obat anti malaria maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan keempat senyawa tersebut aktif positif sebagai antimalaria.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. H. Sibuya, *Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Fukuyama University, Fukuyama, Jepang, atas bantuan pengukuran spektra RMI ¹H dan ¹³C spektrometri massa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Heyne K. Tumbuhan berguna Indonesia, Jakarta: Badan Litbang Kehutanan; 1978. hal. 1615.
2. Massiot GB, Massousa M, Jacquier P, Thepenier L, Oliver and Verpoorte R. Alkaloids from roots of *Strychnos matopensis*. *Phytochemistry*. 1988;27:3293.
3. Bisset NG, Choudhury AK. Alkaloids from the leaves of *Strychnos wallichiani*, *Phytochemistry*. 1974;13:259.
4. Bisset HG, Busly J, Das BC, Spittler G. Alkaloids from *Strychnos henningsii*: revised structures for holstiin and rindline, proposed structure for holstiline. *Phytochemistry*. 1975;14:1411.
5. Simanjuntak P, Prana TK. Studi kimia tumbuhan obat tradisional Indonesia: elusidasi struktur kimia tumbuhan Songa, *Strychnos ligustrida* Bl. (Loganiaceae). *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 1998;10(2):12-20.