

APLIKASI SPEKTROMETRI RESONANSI MAGNET INTI 2-DIMENSI UNTUK ANALISIS TUMBUHAN OBAT TRADISIONAL INDONESIA

Partomuan Simanjuntak

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jalan Raya Bogor Km 46, Cibinong 16911
Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengsengsawah, Jagakarsa, Jakarta

Abstract

Caesalpinia major Dandy ex Excell is one of the traditional medicinal plants from Nusa Tenggara Timur Province (Flores island, Ruteng) which the local people called as "Dekar". The root of this plant is used as anthelmintic, anti rheumatic, back-ache and also as tonic. Chemical structure elucidation of isolated compound from *C. major* caesaldekarin A has been done and it's based on ultraviolet, infrared, nuclear magnetic resonance and mass spectrometry. To know the correlation between proton and proton, proton and carbon, carbon and carbon, NMR two dimensional (2D) have been also interpreted by the data of ^1H - ^1H COSY, ^{13}C - ^1H COSY, COLOC, HMBC and INADEQUATE.

The stereochemistry of the relative structure of caesaldekarin A is determined by 2D NMR NOESY.

Key Words: Indonesian medicinal plant, *Caesalpinia major* Dandy ex Excell: Fabaceae; Nuclear magnetic resonance (1D & 2D).

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara tropis yang kaya akan sumberdaya alamnya. Kekayaan akan keaneka-ragaman tumbuhan hutan sampai saat ini masih perlu digali dan diketahui potensinya sebagai sumber bahan obat. Secara alamiah hutan dapat dianggap sebagai sumber keaneka-ragaman tumbuhan obat yang telah lama dimanfaatkan oleh nenek moyang kita sebagai obat tradisional. Pengobatan dengan cara tradisional semakin populer baik di dalam negeri maupun di luar negeri.

Penggunaan tumbuhan obat secara tradisional semakin disukai karena pada umumnya tidak menimbulkan efek sampingan bila dibandingkan dengan obat dari bahan kimia (sintetis). Penggunaan tumbuhan obat itu sendiri sangat banyak ragamnya, ada yang digunakan sebagai obat kuat (tonikum), sebagai obat penyakit, maupun untuk tujuan mempercantik diri (kosmetika).

Umumnya yang dimaksud dengan obat tradisional adalah ramuan dari tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat ataupun diperkirakan berkhasiat sebagai obat. Khasiatnya diketahui dari penuturan orang-orang tua yang diturunkan ke generasi berikutnya atau dari pengalaman sendiri. Penggunaan obat tradisional dari tumbuhan pada umumnya ada dua macam, yaitu sebagai obat dalam dan obat luar. Untuk obat dalam, tumbuhan mula-mula digiling halus dan kemudian disari dengan air dingin atau air panas (dengan cara merebus atau merendam), kemudian airnya diminum. Sedangkan untuk obat luar biasanya dilakukan dengan menggiling sampai halus, kemudian ditempelkan pada bagian tubuh yang sakit atau dipergunakan sebagai obat kompres. Perbedaan yang nyata antara obat tradisional dengan obat modern adalah bahwa pembuatan obat tradisional tidak memerlukan bahan kimia, hanya memerlukan air dingin atau air panas sebagai penyeduhnya. Jadi, zat yang berkhasiat tidak perlu

dipisahkan terlebih dahulu, bahkan zat yang berkhasiat tersebut belum diketahui secara pasti. Disamping itu, obat tradisional mempunyai susunan atau komposisi kimia yang lebih kompleks daripada obat modern, sehingga untuk mempelajari susunan kimia dalam tumbuhan lebih rumit (1).

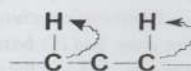
Indonesia yang kaya akan flora yang terdiri dari ribuan jenis spesies tumbuhan perlu dimanfaatkan untuk digali potensi dalam pencarian komponen aktif maupun untuk penemuan senyawa-senyawa baru.

Banyak metoda atau teknik yang dilakukan dalam mengidentifikasi atau mengelusidasi struktur kimia. Teknik yang paling mutakhir saat ini selain pengambilan data-data spektra ultra lembayung (UL), infra merah (IM), dan spektrometri massa (MS), juga diperlukan data spektra RMI satu dimensi (1D) dan dua dimensi (2D). Pengukuran RMI 1D meliputi pengukuran RMI proton, karbon dan DEPT (Distortionless Enhancement of Polarization Transfer). Sedangkan pengukuran RMI 2D bertujuan untuk melihat korelasi antara proton dengan proton, proton dengan karbon dan karbon dengan karbon. Data spektrum RMI 2D ini biasanya digunakan untuk senyawa yang belum diketahui struktur kimianya sama sekali dan juga digunakan untuk menetapkan susunan karbon, dan posisi gugus fungsional dan bentuk struktur kimia ruangnya. Beberapa contoh analisis RMI 2D yang sering dipakai adalah ^1H - ^1H COSY, ^{13}C - ^1H COSY, COLOC, HMBC dan INADEQUATE.

^1H - ^1H COSY (COrrrelation Spectroscopy) adalah spektrum yang menunjukkan korelasi kopel (ikatan) antara proton dengan proton dalam satu atom karbon, demikian juga antara proton dengan proton tetangganya. Pengukuran ^1H - ^1H COSY ini juga dapat menentukan beberapa jenis ikatan yang terjadi seperti pada ikatan alil, ikatan homoalil dan ikatan W.

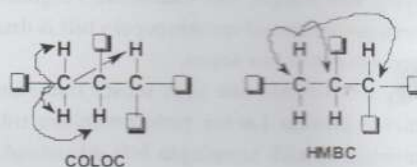


^{13}C - ^1H COSY adalah spektrum yang menunjukkan korelasi antara pasangan karbon dengan proton yang mengikatnya dan dapat digunakan untuk mengetahui susunan pergeseran kimia RMI proton dan ^{13}C karbonnya.

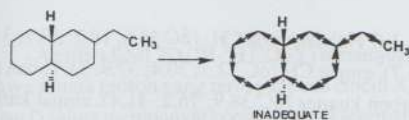


COLOC (COrrrelation spectroscopy via LOng-range Coupling) adalah spektrum yang menunjukkan sama seperti dengan ^{13}C - ^1H COSY, tetapi dalam pengukuran COLOC ini selain dapat menentukan korelasi antara karbon dan proton, tetapi juga dapat menentukan korelasi proton dengan karbon yang berada pada jarak 2 atau 3 ikatan.

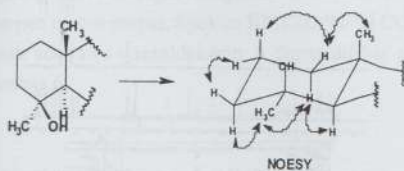
HMBC (Heteronuclear Multi Bond Connectivity) adalah spektrum yang menunjukkan hal yang sama seperti dengan COLOC, tetapi berbeda dalam pengukurannya yaitu dari proton ke karbon hingga dua atau tiga ikatan. Perbedaannya adalah bahwa dalam pengukuran HMBC hanya menggunakan sampel yang sedikit (5-10 mg), sedangkan untuk pengukuran COLOC diperlukan sampel yang agak banyak (lebih kurang 50 mg).



INADEQUATE (Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment) adalah cara pengukuran untuk menentukan hubungan karbon dengan karbon tetangganya.



NOESY (Nuclear Overhauser and Exchange Spectroscopy) adalah pengukuran untuk menentukan posisi ruang gugus-gugus yang terdapat pada strukturnya termasuk juga posisi protonnya (2,3).



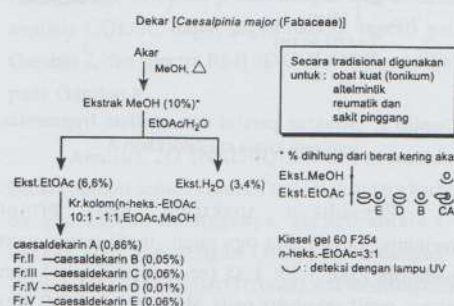
CARA KERJA

Bahan akar tumbuhan "Dekar", *Caesalpinia major* dikumpulkan dari propinsi Nusa Tenggara Timur, Pulau Flores, Desa Ruteng pada tahun 1988. Identifikasi tumbuhan ini dilakukan di Herbarium Bogoriensis, Puslit Biologi-Bogor, dan spesimennya disimpan di Herbarium tersebut (4).

Sebanyak 2,5 kg akar kering yang telah dipotong kecil-kecil, diekstraksi tiga kali masing-masing dengan 5 lt. metanol pada suhu 60-70 °C. Ekstrak metanol diambil sebanyak 150 gram (dari 250 g, 10%) untuk dipartisi dengan etilasetat-air (1:1) dan diperoleh ekstrak air sebanyak 40,6 gr, 3,1 % dan ekstrak etilasetat 100 gr, 6,7 %.

Ekstrak etilasetat (50 gr) difraksinasi dengan kromatografi kolom (silika gel, dengan sistem pelarut *n*-heksan-etil asetat (100 : 1) → (1 : 1), etil asetat, metanol) dan diperoleh caesaldekarin A sebanyak 6,43 gr, 0,86 %, caesaldekarin B sebanyak 373 gr, 0,05 %, dan fraksi II (740 mg), fraksi IV (150 gr), dan fraksi V (700 mg).

Ketiga fraksi (II, IV dan V) kemudian dimurnikan kembali dengan kromatografi kolom (sistem pelarut *n*-heksan-etil asetat) yang masing-masing memberikan caesaldekarin C (450 mg, 0,06 %), caesaldekarin D (81 mg, 0,01 %) dan caesaldekarin E sebanyak 460 mg, 0,06 % (5). Prosedur kerja isolasi dan pemurnian senyawa kimia caesaldekarin A dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 : Skema prosedur Isolasi dan pemurnian senyawa furanoditerpen Caesaldekarin A dari *Caesalpinia major*

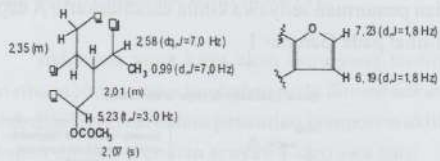
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Elusidasi struktur senyawa caesaldekarin A berdasarkan spektroskopi UL, IM, RMI 1D (proton, karbon, DEPT) dan MS

Caesaldekarin A yang diperoleh berupa padatan tidak berwarna, mempunyai titik leleh (T.L.) 152-153 °C (*n*-heks-EtOAc) dan $[\alpha]_D = -5,4''$ (pelarut kloroform, $c=1,91$).

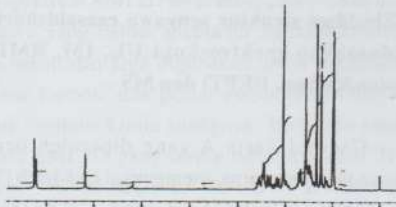
Pada spektrometri ultra-Lembayung (UL) menunjukkan serapan maksimum pada 219 nm. $\epsilon = 7500$ yang merupakan karakteristik untuk cincin furan. Hasil ini juga didukung oleh data spektrometri inframerah (IM) pada 1510, 860 cm^{-1} (cincin furan); 3600 cm^{-1} (gugus hidroksil), 1728 cm^{-1} (gugus karbonil). Dari spektrometri massa didapat puncak

dasar fragmentasi ion (base peak molecular ion) m/z 108 (100 %), dan puncak molekul m/z 360 (29%) yang menunjukkan rumus molekul $C_{22}H_{32}O_4$. Analisis fragmentasi dan struktur parsial untuk senyawa kimia caesaldekarin A dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur parsial dan analisis fragmentasi senyawa kimia caesaldekarin A

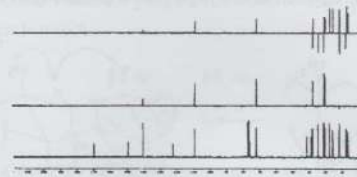
Penyidikan spektrum RMI proton menunjukkan adanya tiga gugus metil tersier yaitu pada δH 1,00; 1,25; 1,35 (semuanya singlet), satu gugus metil sekunder pada δH 0,99 (d, $J=7,0$ Hz), satu gugus metil dari asetoksi (δH 2,07, s), proton yang berdekatan dengan gugus asetoksi (δH 5,23, t, $J=3,0$ Hz) dan proton pada cincin furan (δH 6,19; 7,23, keduanya doublet, $J=1,8$ Hz). Spektra RMI proton untuk caesaldekarin A dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektra RMI proton untuk caesaldekarin A

Penyidikan spektrum RMI ^{13}C karbon dan hasil eksperimen DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) menunjukkan bahwa secara keseluruhan terdapat sinyal sebanyak 22 buah yang terdiri dari lima sinyal untuk gugus CH_3 (δC 27,6; 25,7; 16,5; 21,8 (semuanya singlet); 17,6

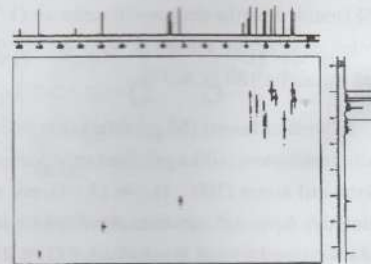
(δ , $J=7$ Hz) dan lima CH_2 , (δC 34,6; 18,2; 38,1; 31,4; 21,7), empat CH (δC 72,3; 30,4; 37,9; 31,1) dan tiga karbon kuarter (δC 38,9; 76,2; 41,4), empat karbon pada cincin furan [(δC 149,5 (s); 122,3 (s); 109,4 (d); 140,3 (d)] dan satu karbon dari karbonil δC 169,8 (d). Spektra RMI karbon dan spektra DEPT untuk senyawa caesaldekarin A dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektra RMI karbon dan DEPT untuk senyawa caesaldekarin A

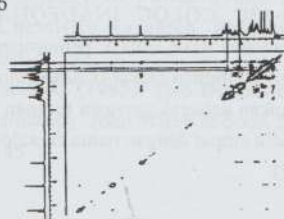
2. Elusidasi struktur senyawa kimia caesaldekarin A berdasarkan RMI 2D (1H - 1H COSY, ^{13}C - 1H COSY, COLOC, INADEQUATE, dan NOESY)

Analisis RMI 2D (^{13}C - 1H COSY) menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara proton dengan karbonnya, kecuali untuk karbon yang singlet. Hasil ini dapat digunakan untuk pembuatan Tabel pergeseran kimia senyawa caesaldekarin A (Lihat Tabel 1). Spektra RMI 2D ^{13}C - 1H COSY dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektra RMI 2D (^{13}C - 1H COSY) untuk caesaldekarin A

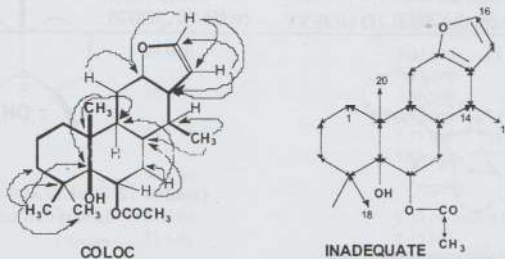
Analisis RMI 2D (^1H - ^1H COSY) menunjukkan bahwa semua proton yang terdapat pada cincin A, B, C dan D saling mempunyai korelasi antara sesamanya. Proton H-1 (δH 1,31) dengan H-2 (δH 1,49); H-2 dengan H-3 (δH 1,11); H-6 (δH 5,15) dengan H-7 (δH 1,43); H-7 dengan H-8 (δH 2,39) dan H-14 (δH 2,69); H-14 dengan H-17 (δH 1,12); H-15 (δH 6,25) dengan H-16 (δH 7,36) Sehingga caesaldekarin A dapat disebut sebagai senyawa turunan asetoksi diterpen cincin empat. Spektra RMI 2D ^1H - ^1H COSY untuk senyawa caesaldekarin A dapat dilihat pada Gambar 6



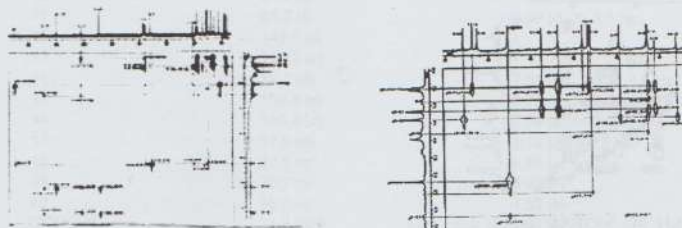
Gambar 6. Spektra RMI 2D (^1H - ^1H COSY) untuk caesaldekarin A

Analisis RMI 2D COLOC memberikan hubungan proton 20-metil (δH 1,35) menunjukkan saling korelasi dengan C-1 (34,6), C-5 (76,2), C-9 (37,9), C-10 (41,4); antara H-11 dH (2,44) dengan C-12 (149,5), C-13 (122,3); antara proton 19-metil (δH 1,25) dengan C-3 (38,1), C-4 (38,9), C-5, C-18 (27,6), H-6 (δH 5,23) dengan C-5, C-7 (31,4), C-8 (30,4), C-10. Korelasi proton dengan karbon dalam analisis COLOC dapat digambarkan seperti pada Gambar 7, dan spectra RMI 2D COLOC dapat dilihat pada Gambar 8.

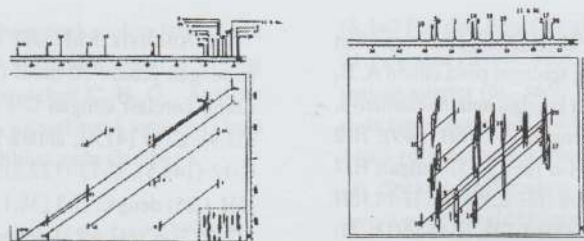
Analisis 2D INADEQUATE menunjukkan bahwa hampir semua korelasi terjadi di antara karbon dengan karbon tetangganya, kecuali antara C-5 dengan OH; C-6 dengan O-CO; C-12 dengan O (furan) dan C-16 dengan O (furan), hal ini disebabkan oleh karena tidak adanya proton pada ikatan tersebut (Lihat Gambar 7). Spektra RMI 2D INADEQUATE dapat dilihat Gambar 9.



Gambar 7 : COLOC dan INADEQUATE dari caesaldekarin A

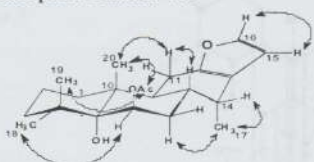


Gambar 8. Spektra RMI 2D COLOC untuk senyawa caesaldekarin A

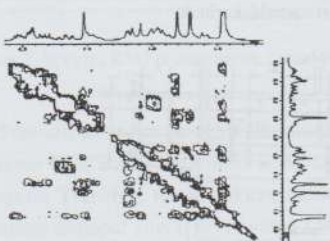


Gambar 9. Spektra RMI 2D INADEQUATE untuk senyawa caesaldekarin A

Penentuan struktur ruang kimia relatif dan posisi gugus-gugus metil, hidroksil dan asetoksi dari caesaldekarin A dilakukan analisis NOESY. Dari analisis ini diperoleh bahwa antara proton dari 6 β -asetoksi dengan proton 20-metil dan 19-metil; antara proton 20-metil dengan H-11 β ; antara proton 18-metil dengan H-6 α ; antara proton 17-metil dengan H-7 α . Dari hasil analisis ini dapat dipastikan bahwa cincin A/B dengan B/C mempunyai hubungan *trans*, dengan posisi 17-metil sebagai α sedangkan gugus hidroksil pada atom C-5 juga sebagai α . Korelasi antar proton dalam struktur ruang kimia caesaldekarin A dapat dilihat pada Gambar 10, dan spectra RMI 2D NOESY dapat dilihat pada Gambar 11.

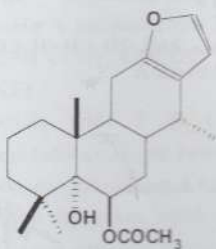


Gambar 10. Struktur ruang caesaldekarin A



Gambar 11. Spektra RMI 2D NOESY untuk senyawa caesaldekarin A

Sehingga berdasarkan interpretasi data spectra RMI (proton, karbon dan DEPT), RMI 2 dimensi (1H-1H COSY, 1H-13C, COLOC, INADEQUATE dan NOESY) senyawa hasil isolasi, pemurnian ekstrak etilasetat dari tumbuhan Dekar (*Caesalpinia major*) dapat ditetapkan sebagai senyawa turunan asetoksi diterpen cincin empat dengan nama caesaldekarin A (Gambar 12).



Gambar 12. Struktur kimia senyawa caesaldekarin A hasil isolasi dari tumbuhan Dekar (*Caesalpinia major*)

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Drs. Tahan Uji, di Herbarium Bogoriensis, Puslitbang Biologi, LIPI atas identifikasi tanaman, dan juga

kepada Prof. I. Kitagawa, Fac. of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Japan atas pengambilan data-data spektra 1D dan 2D Resonansi Magnet Inti.

Daftar Pustaka

1. Tampubolon, O (1990). Tumbuhan obat Indonesia, Lembaga Nasional Indonesia, LIPI, hal 1 - 3
2. Derome, A.E. (1988). Modern NMR Techniques for Chemistry Research, Pergamon Press, Oxford, pp. 97
3. Schraml, J., (1985). Two Dimensional NMR Spectroscopy. John Wiley & Sons, New York, pp. 145
4. Kitagawa, I., (1987). Research Report of naturally Occuring Drug Materials in Indonesia I. Osaka, Japan
5. Kitagawa, I, P. Simanjuntak, T. Watano, S. Fujii, Y. Yamagata and M. Kobayashi, (1994). Indonesian Medicinal Plants XI : Chemical Structure caesaldekarin a dan b. Two new cassane-type furanoditerpene from the roots *Caesalpinia major* (Fabaceae). Chem. Pharm. Bull., 42(9), 1798

Tabel 1. Pergeseran Kimia (proton dan karbon) untuk senyawa caesaldekarin A berdasarkan korelasi dari ¹³C-¹H COSY

No	RMI karbon (CDCl ₃ , 27 MHz)	RMI karbon (CDCl ₃ , 65 MHz)
1	34,6 (t)	1,31 (m) 1,71 (m)
2	18,2 (t)	1,49 (m) 1,71 (m)
3	38,1 (t)	1,11 (m) 1,01 (m)
4	38,9 (s)	-
5	76,2 (s)	-
6	72,3 (d)	5,15 (d, J= 5,5 Hz)
7	31,4 (t)	1,43 (m) 1,94 (m)
8	30,4 (d)	2,39 (m)
9	37,9 (d)	1,81 (m)
10	41,4 (s)	-
11	21,7 (t)	5,00 (d, J= 3,6 Hz)
12	149,5 (s)	-
13	122,3 (s)	-
14	31,1 (d)	2,69 (dq, J=7,0; 3,6 Hz)
15	109,4 (d)	6,25 (d, J= 2,0 Hz)
16	140,3 (d)	7,36 (d, J= 2,0 Hz)
17	17,6 (q)	1,12 (d, J=7,0 Hz)
18	27,6 (q)	0,99 (s)
19	25,7 (q)	0,97 (s)
20	16,5 (q)	1,53 (s)
COOCH ₃	21,8 (q)	2,01 (s)
COOCH ₃	169,8 (s)	-