

ALKALOID FUROKUINOLIN DAN ASAM SINAMAT TER-*O*-GERANILASI DARI KULIT BATANG *Melicope hookeri* T.G. HARTLEY

Ratih Dewi Saputri, Tjitjik Srie Tjahjandarie, Mulyadi Tanjung*

Lab. Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Airlangga, Surabaya 60115, Indonesia

*Email korespondensi: mulyadi-t@fst.unair.ac.id

ABSTRACT

One furokuinoline alkaloid, evolitrine (**1**), and one cinnamate acid, *trans* 3-methyl-4-geranyl caffeic acid (**2**) were isolated from the stem bark of *Melicope hookeri*. The structures of both compounds were determined based on spectroscopic data such as UV, IR, MS and NMR. Compounds **1–2** were evaluated for their anticancer activity against murin leukemia P-388 cells, showing their IC₅₀ were 4,06 ± 0,15 and 4,86 ± 0,30 µg/ml, and two compounds showed moderate activity.

Keywords: *Melicope hookeri*, furokuinoline alkaloid, cinnamate acid, anticancer

ABSTRAK

Satu senyawa alkaloid furokuinolin yakni evolitrin (**1**) dan satu senyawa asam sinamat ter-*O*-geranilasi yakni asam *trans* 3-metil-4-geranyl kafeat (**2**) telah diisolasi dari kulit batang *Melicope hookeri*. Struktur kedua senyawa ditetapkan berdasarkan analisis spektroskopi UV, IR, MS dan NMR. Uji aktivitas antikanker senyawa **1–2** terhadap murin leukemia P-388 memperlihatkan IC₅₀ 4,06 ± 0,15 dan 4,86 ± 0,30 µg/ml dan kedua senyawa memperlihatkan aktivitas moderat.

Kata Kunci: *Melicope hookeri*, alkaloid furokuinolin, asam sinamat, antikanker

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i1.93>

PENDAHULUAN

Melicope hookerii merupakan salah satu tumbuhan endemik Kalimantan. Tumbuhan ini merupakan spesies dari famili Rutaceae dan dikenal dengan nama ‘Ki Sampang’. Secara tradisional, tumbuhan ini dimanfaatkan masyarakat sebagai obat seperti diare, disentri, dan luka (Heyne, 1987). Tumbuhan *Melicope* terdiri dari 280 spesies dengan penyebaran di Asia, Afrika, Australia dan Polynesia. *Melicope* menghasilkan senyawa alkaloid, flavonoid, kumarin, asam sinamat dan memperlihatkan aktivitas antikanker,

antifungal dan antioksidan (Kasim, 2013; Li, 2001; Ramli, 2004; Saputri, 2018; Simonsen, 2004; Tanjung, 2017).

Dalam rangka penelitian fitokimia senyawa alkaloid furokuinolin dan asam sinamat ter-*O*-geranilasi dari *M. hookeri* tumbuhan endemik Indonesia. Pada kesempatan kali ini akan dilaporkan penemuan satu senyawa alkaloid furokuinolin yakni evolitrin (**1**) dan satu senyawa asam sinamat ter-*O*-geranilasi yakni asam *trans* 3-metil-4-geranyl kafeat (**2**) dari kulit batang *M. hookerii*. Selain itu juga akan dilaporkan aktivitas antikanker

kedua senyawa terhadap sel murin leukemia P-388.

METODE PENELITIAN

Prosedur Umum

Spektrum UV ditetapkan dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800. Spektrum IR ditentukan dengan spektrofotometer IR Perkin Elmer. Spektrum massa ditentukan dengan spektrometer HR-ESI-MS merk Waters LCT XE ESI. Spektrum NMR ditentukan dengan spektrometer NMR JEOL ECA 400 yang beroperasi pada 400 MHz (¹H-NMR) dan 100 MHz (¹³C-NMR). Kromatografi kolom gravitasi menggunakan silika gel 60 (Merck), kromatografi radial menggunakan silika gel 60 PF₂₅₄ (Merck) dan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm (Merck).

Bahan tumbuhan

Kulit batang *M. hookeri* diperoleh dari Desa Anjungan, Kecamatan Landak, Pontianak, Kalimantan Barat. Spesimen tumbuhan diidentifikasi di Herbarium Bogorienses, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Biologi, Cibinong, Bogor, Jawa Barat.

Ekstraksi dan isolasi alkaloid furokuinolin dan asam sinamat

Ekstraksi kulit batang *M. hookeri* sebanyak 1,5 kg menggunakan metanol pada suhu kamar sebanyak dua kali selama 24 jam. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan dengan alat penguap bertekanan rendah sehingga diperoleh ekstrak kental metanol berwarna coklat (200 g). Ekstrak metanol selanjutnya dipartisi dengan *n*-heksana menghasilkan ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol. Ekstrak metanol selanjutnya ditambahkan asam sulfat 5% pH 3-4 kemudian dipartisi dengan etil asetat menghasilkan ekstrak etil asetat dan fasa asam. Ekstrak etil asetat (senyawa non alkaloid) dipekatkan dengan alat penguap bertekanan rendah

menghasilkan ekstrak kental coklat sebanyak 20 g. Fasa asam ditambahkan ammoniak NH₄OH pekat sampai pH 8-9 untuk mengubah garam alkaloid menjadi alkaloid bebas (Tjahjandarie, 2015). Ekstraksi fasa basa dipartisi etil asetat menggunakan corong pisah menghasilkan ekstrak kasar alkaloid sebanyak 5 g.

Pemisahan ekstrak etil asetat (19 g) dengan kolom kromatografi gravitasi menggunakan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, dan 1:1) menghasilkan dua fraksi utama A-B. Berdasarkan analisis KLT, fraksi B memperlihatkan pendaran warna ungu dengan lampu UV. Pemisahan fraksi B (400 mg) dengan planar kromatografi radial dengan eluen *n*-heksana-aseton (9:1, 8:2 dan 7:3) menghasilkan senyawa **2** sebanyak 50 mg.

Pemisahan ekstrak alkaloid (4,5 g) dengan kolom kromatografi gravitasi menggunakan campuran eluen yang sama dengan pemisahan ekstrak etil asetat menghasilkan tiga fraksi utama A-C. Berdasarkan analisis KLT, fraksi C memperlihatkan spot berwarna coklat kemerahan dengan pereaksi Dragendorf. Hasil KLT ini menunjukkan bahwa fraksi C mengandung alkaloid. Pemisahan fraksi C (625 mg) dengan kolom kromatografi gravitasi menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, 1:1 dan 3:7) menghasilkan tiga subfraksi yakni C₁-C₃. Pemisahan dan pemurnian subfraksi C₂ (125 mg) dengan planar kromatografi radial dengan eluen *n*-heksana-aseton (9:1, 8:2 dan 1:1) menghasilkan senyawa **1** sebanyak 15 mg.

Uji aktivitas antikanker terhadap sel murin leukemia P-388

Penentuan uji aktivitas antikanker senyawa **1-2** terhadap sel kanker murin leukemia P-388 menggunakan metode MTT assay (Tanjung, 2018; 2010; Tjahjandarie, 2017). Jumlah sel yang terhambat oleh masing-masing senyawa **1** dan **2** diukur serapannya dengan menggunakan *microplate reader* pada λ

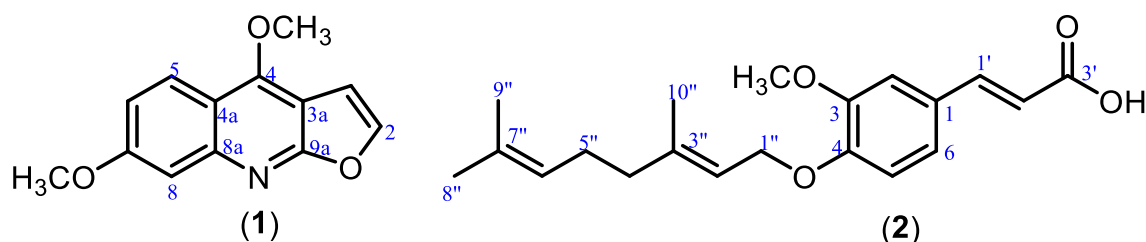
540 nm setelah diinkubasi selama 24 jam dalam incubator CO₂ pada suhu 37° C. Senyawa hasil isolasi dengan variasi konsentrasi 1000; 100; 30; 10; 3; 1; 0,3 dan 0,1 µg/ml dengan perlakuan triplo diuji pada kultur sel murin leukemia P-388. Nilai IC₅₀ dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan senyawa uji terhadap berbagai konsentrasi menggunakan analisis regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dua senyawa fenolik, senyawa evolitrin (**1**) dan asam *trans* 3-metil-4-geranil kafeat (**2**) telah berhasil diisolasi dari kulit batang *M. hookeri*.

Evolitrin (**1**) berwujud padatan kuning muda memperlihatkan ion kuasimolekul positif [M+H]⁺ pada *m/z* 230,0859 yang sesuai dengan rumus molekul C₁₃H₁₂NO₃ berdasarkan hasil pengukuran HR-ESI-MS. Spektrum UV senyawa **1** dalam MeOH memperlihatkan serapan maksimum pada λ_{maks} (log ε): 224 (4,20), 290 (3,34), 333 (3,70), 345 (3,69) dan 365 (3,60) nm yang merupakan ciri khas senyawa alkaloid furokuinolin (Tanjung, 2017). Spektrum IR senyawa **1** dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada ν_{maks}: 1641 cm⁻¹ (karbonil terkonyugasi), 1581, 1411 cm⁻¹ (C=C aromatik) and 1188 cm⁻¹ (C-O-C eter). Spektrum ¹H-NMR (400 MHz, Tabel-1) senyawa **1** dalam CDCl₃ memperlihatkan tiga sinyal proton aromatik dengan sistem ABX [δ_H 8,15 (1H, *d*, *J* = 9,2 Hz, H-5), 7,34 (1H, *d*, *J* = 2,4 Hz, H-8) dan 7,09 (1H, *dd*, *J* = 9,2; 2,4 Hz, H-6)] serta sepasang sinyal *doublet* cincin furo (*J* = 2,9 Hz) pada δ_H 7,59 (1H, *s*, H-2) dan 7,05 (1H, *s*, H-3). Pola sinyal proton tersebut merupakan ciri khas senyawa alkaloid furokuinolin disubstitusi (Tanjung, 2017; Tjahjandarie, 2015). Spektrum ¹H-NMR

senyawa **1** memperlihatkan dua buah sinyal singlet metoksi pada δ_H 4,45 (7-OCH₃) dan 3,95 (4-OCH₃). Spektrum ¹³C-NMR (percobaan APT, 100 MHz, Tabel-1) senyawa **1** dalam memperlihatkan 13 sinyal atom karbon yang terpisah secara sempurna dan posisi karbon telah dikonfirmasi dengan spektrum HMQC dan HMBC. Berdasarkan analisis spektrum HMBC (Tabel-1), sinyal proton cincin furo pada δ_H 7,05 (H-3) menunjukkan korelasi dengan dua sinyal karbon oksiaril pada δ_C 164,5 (C-9a), δ_C 161,2 (C-4) dan satu sinyal karbon kuarternar pada δ_C 113,5 (C-3a). Sinyal singlet metoksi δ_H 3,95 (4-OCH₃) memperlihatkan korelasi dengan sinyal karbon oksiaril pada δ_C 161,2 yang mempertegas kedudukan oksiaril terikat di C-4. Sinyal proton aromatik pada 8,15 (H-5) memperlihatkan korelasi dengan dua sinyal karbon oksiaril pada δ_C 157,2 (C-7), δ_C 161,2 (C-4) dan satu sinyal karbon kuarternar pada δ_C 147,7 (C-8a). Sinyal singlet metoksi δ_H 4,45 (7-OCH₃) memperlihatkan korelasi dengan sinyal karbon oksiaril pada δ_C 157,2 dan mempertegas kedudukan oksiaril tersebut terikat di C-7. Sinyal proton aromatik pada 7,34 (H-8) berkorelasi dengan satu sinyal karbon kuarternar pada δ_C 102,0 (C-4a) dan satu sinyal karbon metin pada δ_C 116,8 (C-6). Demikian juga sinyal proton aromatik pada 7,09 (H-6) menunjukkan korelasi dengan dua sinyal karbon kuarternar pada δ_C 102,0 (C-4a) dan δ_C 147,7 (C-8a). Berdasarkan analisis spektrum HMBC tersebut maka disimpulkan bahwa senyawa **1** adalah senyawa evolitrin (Chen, 2002). Korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dalam dua atau tiga ikatan pada spektrum HMBC yang utama untuk mendukung struktur senyawa evolitrin hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel-1 dan Gambar-2.

Gambar 1. Struktur evolitrin (1) dan asam *trans* 3-metil-4-geranil kafeat (2)Tabel-1. Data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa evolitrin dalam CDCl_3 .

No.C	δ_{H} (mult, J dalam Hz)	δ_{C}	HMBC
2	7,57 (<i>d</i> , 2,9)	142,6	C-3; C-9a
3	7,05 (<i>d</i> , 2,9)	105,0	C-3a; C-4; C-9a
3a	-	113,5	-
4	-	161,2	-
4a	-	102,0	-
5	8,15 (<i>d</i> , 9,2)	123,7	C-4; C-7; C-8a
6	7,09 (<i>dd</i> , 9,2; 2,4)	116,8	C-4a, C-8a
7	-	157,2	-
8	7,34 (<i>d</i> , 2,4)	106,0	C-4a; C-6
8a	-	147,7	-
9a	-	164,5	-
4-OCH ₃	3,95 (<i>s</i>)	55,5	C-4
7-OCH ₃	4,45 (<i>s</i>)	59,1	C-7

Asam *trans* 3-metil-4-geranil kafeat (2) berwujud padatan kuning memperlihatkan ion kuasimolekul positif $[\text{M}+\text{H}]^+$ pada m/z 331,1186 yang sesuai dengan rumus molekul $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{O}_4$. Spektrum UV senyawa 2 dalam MeOH memperlihatkan serapan maksimum pada λ_{maks} ($\log \epsilon$): 260 (3,68) dan 310 (3,90) nm yang merupakan ciri khas senyawa sinamat (Ramli, 2004). Spektrum IR senyawa 1 dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada ν_{maks} : 3302 cm^{-1} (hidroksi), 1660 cm^{-1} (karbonil terkonyugasi), 1560, 1409 cm^{-1} (C=C aromatik) and 1135 cm^{-1} (C-O-C eter) (Tanjung, 2010). Spektrum ^1H -NMR (Tabel-2) senyawa 2 dalam CDCl_3 memperlihatkan tiga sinyal proton aromatik dengan sistem ABX pada δ_{H} 7,11 (1H, *dd*, $J = 8,4; 1,6$ Hz, H-6), 7,07 (1H, *d*, $J = 1,6$ Hz, H-2) dan 6,87 (1H, *d*, $J = 8,4$

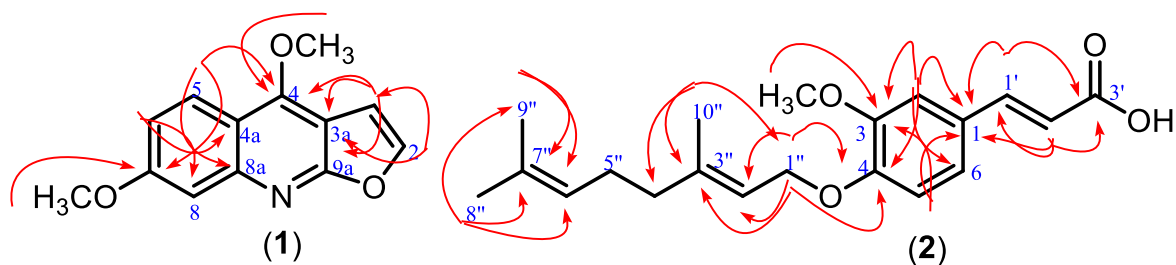
Hz, H-5) serta sepasang sinyal *doublet trans* vinilik ($J = 15,8$ Hz) pada δ_{H} 7,73 (1H, *s*, H-2') dan 6,32 (1H, *s*, H-1') yang merupakan ciri khas sinyal proton asam sinamat disubstitusi (Ramli, 2004). Senyawa 2 memperlihatkan satu sinyal singlet metoksi pada δ_{H} 3,91 (3H, *s*, 3-OCH₃). Analisis spektrum ^1H -NMR juga memperlihatkan sinyal proton oksigeranil [δ_{H} 5,50 (H-2''), 5,07 (H-6''), 4,66 (H-1''), 2,11 (H-5''), 2,08 (H-4''), 1,74 (H-10''), 1,66 (H-8'') dan 1,59 (H-9'')]. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 2 dalam memperlihatkan 20 sinyal atom karbon yang terpisah secara sempurna. Dua sinyal karbon oksiaril pada δ_{C} 150,9 (C-4) dan δ_{C} 149,6 (C-3) serta satu sinyal karbon karbonil dari asam karboksilat terlihat pada δ_{C} 172,9 (C-3') menunjukkan senyawa 2 merupakan senyawa turunan asam kafeat. Penempatan kedudukan

metoksi dan oksiaril pada struktur asam sinamat ditetapkan berdasarkan analisis spektrum HMQC dan HMBC. Analisis spektrum HMBC, sinyal proton *trans* vinilik pada δ_{H} 6,32 (H-1') memperlihatkan korelasi dengan sinyal karbon asam karboksilat pada δ_{C} 172,9 (C-3') dan satu sinyal karbon kuarternar cincin benzena pada δ_{C} 126,9 (C-1). Sinyal proton aromatik pada δ_{H} 7,07 (H-2) berkorelasi dengan dua sinyal karbon oksiaril pada δ_{C} 149,6 (C-3) dan δ_{C} 150,9 (C-4); satu sinyal karbon kuarternar pada δ_{C} 126,9 (C-1) serta satu sinyal karbon metin aromatik pada δ_{C} 123,1 (C-6). Sinyal proton aromatik pada δ_{H} 7,11 (H-6) berkorelasi dengan sinyal karbon oksiaril pada δ_{C} 150,9 (C-4) dan satu sinyal karbon metin pada δ_{C} 109,9 (C-2). Sinyal proton oksimetilen pada δ_{H} 4,66 (H-1'')

memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon oksiaril pada δ_{C} 150,9 (C-4), satu sinyal karbon kuarternar pada δ_{C} 141,3 (C-3''), dan satu sinyal karbon metin pada δ_{C} 119,2 (C-2''). Hasil korelasi proton oksimetilen dengan ketiga sinyal karbon menunjukkan substituen oksigeranil terikat di C-4. Sinyal proton metoksi pada δ_{H} 3,91 (3-OCH₃) berkorelasi dengan sinyal karbon oksiaril pada δ_{C} 149,6 yang menunjukkan metoksi terikat di-C-3. Berdasarkan analisis spektrum HMBC maka senyawa **2** adalah asam *trans* 3-metil-4-geranil kafeat (Ramli, 2004). Korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon pada spektrum HMBC yang mendukung struktur senyawa **2** dapat dilihat pada Tabel-2 dan Gambar-2.

Tabel-2. Data spektrum ¹H dan ¹³C-NMR asam *trans* 3-metil-4-geranil kafeat dalam CDCl₃.

No.C	δ_{H} (mult, <i>J</i> Hz)	δ_{C}	HMBC
1	-	126,9	-
2	7,07 (<i>d</i> , 1,6)	109,9	C-1; C-3; C-4; C-6
3	-	149,6	-
4	-	150,9	-
5	6,87 (<i>d</i> , 8,4)	112,5	C-1; C-4
6	7,11 (<i>dd</i> , 8,4; 1,6)	123,1	C-2; C-4
1'	6,32 (<i>d</i> , 15,8)	114,8	C-1; C-3'
2'	7,73 (<i>d</i> , 15,8)	147,2	C-1; C-2; C-6, C-1''; C-3''
3'	-	172,9	-
1''	4,66 (<i>d</i> , 6,4)	65,9	C-4; C-2''; C-3''
2''	5,50 (<i>d</i> , 6,5)	119,2	C-4''; C-10''
3''	-	141,3	-
4''	2,08 (<i>m</i>)	39,6	C-2''; C-3''; C-5''; C-10''
5''	2,11 (<i>m</i>)	26,3	C-3''; C-4''; C-6''; C-7''
6''	5,07 (<i>d</i> , 5,5)	123,8	C-4''; C-8''; C-9''
7''	-	131,9	-
8''	1,66 (<i>s</i>)	25,8	C-6''; C-7''; C-9''
9''	1,59 (<i>s</i>)	17,8	C-6''; C-7''; C-8''
10''	1,74 (<i>s</i>)	16,8	C-2''; C-3''; C-4''
3-OCH ₃	3,91 (<i>s</i>)	56,0	C-3



Gambar 2. Korelasi HMBC yang utama pada senyawa 1-2

Uji aktivitas antikanker senyawa **1** dan **2** terhadap sel murin leukemia P-388 memperlihatkan nilai konsentrasi daya hambat IC_{50} adalah $4,06 \pm 0,15$ dan $4,86 \pm 0,30$ $\mu\text{g/ml}$. Kedua senyawa dikategorikan memiliki keaktifan moderat.

KESIMPULAN

Satu senyawa alkaloid furokuinolin yakni evolitrin (**1**) dan satu senyawa asam sinamat yakni asam *trans* 3-metil-4-geranyl kafeat (**2**) telah berhasil dipisahkan dari kulit batang *M. hookeri*. Kedua senyawa memperlihatkan aktivitas moderat dengan nilai IC_{50} sebesar $4,06 \pm 0,15$ dan $4,86 \pm 0,30$ $\mu\text{g/ml}$.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Ismail Rachman, staff Botani, LIPI Biologi, Cibinong, Bogor atas voucher dan identifikasi tumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

Chen, J-J.; Chang, Y-L.; Teng, C-M.; Su, C-C.; Chen I-S., 2002. Quinoline alkaloids and anti-platelet aggregation constituents from the leaves of *Melicope semecarpifolia*. *Planta Med.*, 68, 790-793.

Heyne, K., 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid II, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Kassim, N.K., Rahmani, M., Ismail, A., Sukari, M.A., Ee, G.C.L., Nasir, N.M., Awang, K., 2013. Antioxidant activity-guided separation of coumarins and lignan from *Melicope glabra* (Rutaceae). *Food Chem.* 139: 87-92.

Li, S-G., Tian, H-Y., Ye, W-C., Jiang, R-W. 2011. Benzopyrans and furoquinoline alkaloids from *Melicope ptelefolia*. *Biochem. Sys. Ecol.* 39: 64-67.

Ramli, I., Kamarulzaman, N.H., Shaari, K., Ee, G.C.L., 2004, *p*-*O*-Geranylcaffeoyl acid from *Melicope lunu-ankeda*, *Nat. Prod. Res.*, 18(4): 289-294.

Simonsen, H.T., Adersen, A., Bremner, P., Heinrich, M., Smitt, U.W., Jaroszewski, J.W. 2004. Antifungal constituents of *Melicope borbonica*. *Phytoter. Res.* 18: 542-545.

Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M. 2018. Alkaloid kuinolin dari *Melicope denhamii* dan uji aktivitas antikankernya. *Jurnal Sains dan Kesehatan.* 9(1): 505-509.

Tanjung, M., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., 2017. 4-Methoxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)-7-((3-methylbut-2-en-1-yl)oxy) quinolin-2(1H)-one from *Melicope moluccana* T.G. Hartley. *Molbank.* M939. 2: 1-5.

- Tanjung, M., Rachmadiarti, F., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S. 2018. Mesucalophylloidin, a new isoprenylated 4-phenylcoumarin from *Mesua calophylloides* (Ridl.) Kosterm. *Nat. Prod. Res.* 32(9): 1062-1067.
- Tanjung M, Mujahidin D, Hakim EH, Darmawan A, Syah Y.M. 2010. Geranylated flavonols from *Macaranga rhizinoides*. *Nat Prod Commun.* 5:1209-1211.
- Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., 2015. Lead compound antimalaria dan antioksidan senyawa alkaloid, flavonoid, dan kumarin dari *Limonia accidisima* L. *Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi, Universitas Airlangga.* 1-45.
- Tjahjandarie, T.S.; Saputri, R.D.; Tanjung, M. 2017. 5,9,11-Trihydroxy-2,2-dimethyl-3-(2-methylbut-3-en-2-yl)pyrano[2,3-a] xanthen-12(2H)-one from the stem bark of *Calophyllum tetrapterum* Miq. *Molbank.* M936. 1: 1-5.