

SENYAWA DISOBININ YANG BERSIFAT ANTIMALARIA DARI BIJI TUMBUHAN *Chisocheton macrophyllus* (MELIACEAE)

Nurlelasari, Desi Harneti PH, Tri Mayanti, dan Unang Supratman
Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Padjadjaran
E-mail: nurlelasari@unpad.ac.id

Abstract: Disobinin compounds have been isolated from the seeds *Chisocheton macrophyllus* (Meliaceae). The chemical structure of compounds disobinin identified based on data covering UV spectroscopy, IR, 1D-NMR, 2D-NMR and mass spectra as well as the comparison with the data obtained from the literature. Disobinin compound showed antimalarial effect against *P. falcifarum* with IC_{50} values from 0.001 to 0.01 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Limonoids compound, disobinin reported for the first time in the genus of *Chisocheton*.

Keywords: Meliaceae, *Chisocheton macrophyllus*, disobinin, limonoids, antimalarial.

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan Meliaceae memiliki 51 genus dan 550 spesies yang terdistribusi di negara subtropik dan ropikal. Tumbuhan telah dikenal sebagai tumbuhan penghasil senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antimalaria dan senyawa insektisida, antiviral, antioksidan, antikanker, antibakteri, antimikroba dan antiinflamasi (Heyne, 1987). Beberapa senyawa aktif yang telah berhasil diisolasi dari Meliaceae, seperti azadirachtin (*A. indica*) yang bersifat insektisida alami dan sudah dipasarkan sebagai insektisida botani di Amerika Serikat dan India (Wong *et al.*, 2011; Parmar, 1995). Dari biji *Lansium domesticum* Corr dilaporkan mengandung triterpenoid lansiolida yang memiliki aktivitas antimalaria baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* (Omar *et al.*, 2003). Dari spesies *A. indica* dan *Cedrela odorata* diketahui mengandung limonoid gedunin yang memiliki aktivitas antimalaria tiga kali lebih kuat dari klorokuinin tetapi dua puluh kali lebih lemah dari kuinin (Bray *et al.*, 1990). Beberapa spesies tumbuhan ini telah dipergunakan secara tradisional sebagai obat pencuci perut, bahan obat dan kosmetika serta banyak dimanfaatkan sebagai racun pada ikan (Lim, 2008). Kandungan senyawa pada genus *Chisocheton* telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas yang sangat bermanfaat baik dalam bidang kesehatan maupun pertanian, diantaranya sebagai antimalaria, antimikrobakteri, sitotoksik (Maneerat *et al.*, 2008;

Phongmaykin *et al.*, 2008; Mohamad *et al.*, 2009;), sitotoksik (Wong *et al.*, 2011; Mohamad *et al.*, 2008; Awang *et al.*, 2007), antitumor (Yang *et al.*, 2009) dan antiinflamasi (Yang *et al.*, 2011).

Inada *et al.* (1993) melaporkan bahwa dari daun *Chisocheton macrophyllus* (Meliaceae) ditemukan satu senyawa triterpenoid yang memiliki aktivitas antitumor yaitu 24- hidroksidamara -20,25-dien-3-on, dan 3 senyawa triterpenoid yang sudah dikenal yaitu asam moronat, asam oleanolat dan asam betulonat. Dalam penelitian berkelanjutan kami terhadap pencarian senyawa bioaktif dari tumbuhan *Chisocheton* Indonesia, telah dilakukan penelitian pendahuluan terhadap ekstrak etil asetat dari biji *C. macrophyllus* memiliki aktivitas antimalaria dengan nilai 0,01-0,1 μ g/mL terhadap *P. falciparum* galur 3D7. Hal ini menjadi petunjuk bahwa biji tumbuhan *Chisocheton* Indonesia, *C. Macrophyllus* memiliki potensi besar ditemukannya senyawa-senyawa yang beraktivitas antimalaria. Pada komunikasi ini kami akan menjelaskan isolasi, identifikasi struktur senyawa limonoid, disobinin yang beraktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* galur 3D7.

2. METODE PENELITIAN

Alat

Titik leleh diukur dengan peralatan titik leleh Fisher-John (tidak terkoreksi). Spektra IR diperoleh dari spektrofotometer FTIR spectrum One Perkin Elmer pada KBr. Spektra ¹H- dan ¹³C-NMR diperoleh dengan spektrometer JEOL JNM ECA-500. Spektra MS diperoleh dengan Mariner Biospectrometry-Finnigan instrument. Pemisahan kromatografi dilakukan pada silika gel G60, silika gel (70-230 dan 200-400 mesh, Merck). KLT plat diisi dengan silika gel GF254 (Merck, 0,25 mm) dan deteksi dilakukan dengan penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol diikuti dengan pemanasan.

Bahan

Biji *C. macrophyllus* diperoleh dari Kebun Raya Bogor, Jawa Barat padabulan September 2011. Tumbuhan ini dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat penelitian Biologi, LIPI, Bogor dan contoh specimen (No. Bo-1295453) tersimpan di Herbarium tersebut.

Prosedur Kerja

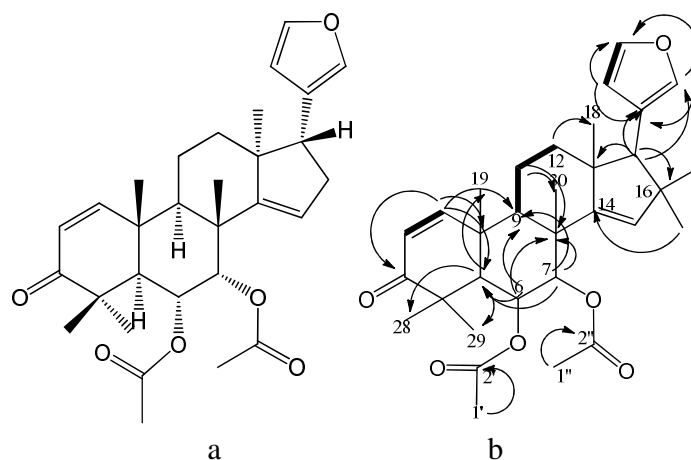
Serbuk biji *C. macrophyllus* (3,5 kg) kering dihaluskan, diekstraksi menggunakan teknik maserasi (ekstraksi padat-cair) dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan metanol pada suhu ruangan. Maserat etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak *n*-heksan (60 g),

selanjutnya dipisahkan dengan teknik kromatografi cair vakum dengan fase diam silika geldan fase gerak campuran pelarut berupa *n*-heksan,etil asetat, metanol; 10%, secara bergradien sehingga yang selanjutnya direkristalisasi pada suhu ruangan menggunakan pelarut *n*-heksan dan diperoleh padatan murni (10,6 mg). Seluruh tahapan pemisahan dipantau dengan kromatografi lapis tipis di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Isolat murni FB4 tersebut dielusidasi strukturnya dengan metode spektroskopi UV, IR, 1D-NMR, 2D-NMR dan massa dan ditetapkan sebagai senyawa disobinin.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Disobinin diperoleh sebagai padatan berupa kristal bening dengan titik leleh sebesar 194 - 197°C. Rumus senyawa disobinin ditetapkan sebagai C₃₀H₃₈O₆ berdasarkan spektrum massa HR-ESI-TOFMS (*m/z* 494,2668 [M+H]⁺), bersama dengan data NMR (Tabel 1), dengan demikian senyawa disobinin memiliki 7 derajat ketidakjenuhan. Spektra (metanol) menunjukkan serapan pada λ_{maks} 240 nm (ϵ 28.911), menunjukkan adanya sistem keton terkonjugasi tak jenuh- α,β . Spektrum IR menunjukkan serapan untuk gugus C-H alifatik (ν_{maks} 2938 cm⁻¹), olifenik terisolasi (ν_{maks} 1503 cm⁻¹), karbonil ester (ν_{maks} 1667 cm⁻¹), eter (ν_{maks} 1249 cm⁻¹), dan gugus *gem*-dimetil (ν_{maks} 1363 cm⁻¹).

Spektrum ¹³C-NMR menunjukkan adanya 30 sinyal karbon yang diperinci dengan percobaan DEPT dan HMQC sebagai satu karbonil pada δ_c (ppm) 204,1(C-3), dua karbon asetil pada δ_c (ppm) 21,3 (C-1'), 22,4(C-2'), 170,6 (C-1'') dan 170,6 (C-2''), enam karbon sp² pada δ_c (ppm) 112,0 (C-22), 120,2 (C-15), 126,6 (C-2), 140,9 (C-21), 143,7 (C-23), dan 158,2 (C-1), lima metil sp³, tiga metilen sp³, dua karbon teroksigenasi sp² pada δ_c 70,0 (C-6) dan 75,1 (C-7), lima metin sp³, dan empat karbon kuarterner sp³. (Tabel 1). Fungsionalitas ini dihitung sebagai tujuh dari total dua belas derajat ketidakjenuhan, lima derajat ketidakjenuhan tersisa sesuai dengan kerangka limonoid pentasiklik (Wong *et al.*, 2011). Dugaan kerangka pentasiklik dengan gugus asetil sebagai substituenya dikuatkan dengan spektrum ¹H-NMR. Diketahui terdapat sinyal yang menunjukkan adanya karakteristik proton dari lima metil tersier pada δ_H 1,15;1,22; 1,22; 1,22; 1,35 (masing-masing 3H, singlet), dua gugus asetil (δ_H 21,3; 22,4), dua proton teroksigenasi pada δ_H [5,40 dan 5,40 (masing-masing 1H, m)], sinyal furan pada δ_H [7,40 (1H, s), 6,40 (1H, s) dan 7,50 (1H, s)], dan dua proton olefinik pada δ_H [5,84 (1H, d, *J*=10,3 Hz) dan 7,3 (1H, d, *J*=10,3 Hz)] sehingga dapat diduga struktur kimia senyawa adalah disobinin dengan gugus asetil yang terikat pada kerangkanya.



Gambar 1. Struktur Kimia Disobinin (a) dan Korelasi HMBC (500Hz) (b)

Untuk menentukan posisi gugus metil tersier, gugus asetil dan olefinik pada disobinin, percobaan COSY dan HMBC dilakukan dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2. Pada spektrum HMBC, korelasi dari proton metil tersier terhadap karbon tetangganya dapat menjelaskan keberadaan tujuh metil tersier pada disobinin. Dua proton asetil pada δ_H 2,00 (H-1') dan δ_H 2,00 (H-1'') saling terjodoh satu sama lain, proton metin pada δ_H 5,40 (H-7) berkorelasi tiga ikatan (3J) dengan C-9 (δ_C 38,3), karbon metin pada C-5 (δ_C 48,9) dan karbon kuarterner pada C-8 (δ_C 43,9) menandakan bahwa gugus asetil terikat pada C-6 dan C-7. Dua proton olefinik pada δ_H 7,30 (H-1) saling terjodoh tiga ikatan (3J) dengan karbon kuarterner pada C-3 (δ_C 204,1) dan proton metilen pada δ_H 1,73 dan 1,93 (H-16) saling terjodoh tiga ikatan (3J) dengan karbon kuarterner C-14 (δ_C 159,7) menandakan posisi gugus olefinik terletak pada C-1 dan C-2 ($\Delta^{1,2}$) serta C-14 dan C-15 ($\Delta^{14,15}$). Proton metin pada δ_H 2,84 dan 7,40 (H-17) saling terjodoh dua ikatan (2J) dengan karbon metilen pada C-16 (δ_C 33,6) dan karbon kuarterner pada C-13 (δ_C 47,9) dan C-20 (δ_C 125,5) menandakan posisi gugus furan terikat pada C-17. Perbandingan data NMR disobinin dengan senyawa limonoid yang ditemukan pada *C. siamensis* (Laphookhieo *et al.*, 2008) menunjukkan kesesuaian yang tinggi, sehingga dengan demikian diidentifikasi sebagai disobinin. Senyawa disobinin diuji aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* galur 3D7 dengan nilai 0,001-0,01 $\mu\text{g/mL}$.

Tabel 1. Data NMR Disobinin

Posisi C	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
	δH ppm (ΣH; mult; J=Hz)	δC ppm
1	7,3 (1H; d; 10,3)	158,2 (d)
2	5,84 (1H; d; 10,3)	126,6 (d)
3	-	204,1 (d)
4	-	45,6 (s)
5	2,5 (1H; m)	48,9 (d)
6	5,40 (1H; m)	70,0 (t)
7	5,40 (1H; m)	75,1 (d)
8	-	43,9 (s)
9	1,28 (1H; m)	38,3 (d)
10	-	41,6 (s)
11	1,80 (1H; m)	17,0 (t)
	2,3 (1H; m); 2,5 (1H; m)	35,3 (t)
12		
13	-	47,9 (s)
14	-	159,7 (s)
15	2,26 (1H; m)	120,2 (s)
	1,73 (1H; m);	33,6 (t)
16	1,93 (1H; m)	
	2,84 (1H; dd; 7,4; 11,3)	52,7 (d)
17		
18	1,35 (3H; s)	27,1 (q)
19	1,22 (3H; s)	32,1 (q)
20	-	125,5 (s)
21	7,40 (1H; s)	140,9 (d)
22	6,40 (1H; s)	112,0 (d)
23	7,50 (1H; s)	143,7 (d)
28	1,15 (3H; s)	20,7 (q)
29	1,22 (3H; s)	20,9 (q)
30	1,22 (3H; s)	21,2 (q)
1'	2,00 (3H; s)	21,3 (q)
1''	-	170,6 (s)
2'	2,00 (3H; s)	22,4 (q)
2''	-	170,6 (s)

4. PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil interpretasi spektrum UV, IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMQC, HMBC, ¹H-¹HCOSY dan data-data pembandingan, isolat berupa berupa kristal bening sebanyak 10,6 mg yang diisolasi dari 3,5 kg serbuk biji *C. macrophyllus* ditetapkan sebagai senyawa limonoid yaitu disobinin yang memiliki aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* galur 3D7 dengan nilai 0,001-0,01µg/mL. Senyawa disobinin ini baru pertama kali dilaporkan dari tumbuhan *C. macrophyllus*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Indonesia atas dana Penelitian Hibah Kompetitif Unpad (2011-2012). Terimakasih kami sampaikan Prof. Yoshihito Shiono, Department of Bioresource Engineering, Faculty of Agriculture, Yamagata University, Japan atas pengukuran HR-ESI-TOFMS. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Dr. Ahmad Darmawan dan Sofa Fajriyah, M.Si, Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong, atas pengukuran spektrum NMR. Terima kasih Dr. Wiwied Ekasari, M.Si., Apt. Fakultas Farmasi, Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia, Universitas Airlangga, Surabaya atas pengukuran aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* galur FCR-3/A2.

DAFTAR PUSTAKA

- Awang, K., Lim, C.S., Mohamad K., Morita, H., Hirasawa, Y., Takeya, K., Thoison, O., and Hadi, A.H.A., 2007, Erythrocarpines A-E, new cytotoxic limonoids from *Chisocheton erythrocarpus*, *Bioorg Med Chem*, 15:5997-6002.
- Bray, D.H., Warhurst, D.C., Conolly, J.D., O'Neil, M.J., and Philipson, J.D., 1990, Plants as source of antimalarial drug. Pt. 7 activity of some species Meliaceae plants and their constituent limonoids. *Phytother Res*, 4:29-35.
- Heyne, K., 1987, *The Useful Indonesian Plants*, Research and Development Agency, Ministry of Forestry, Jakarta Indonesia.
- Inada, A., Sukemawa, M., Murata, H., Nakanishi, T., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashima, A., Darnaedi, D., and Murata, J., 1993, Phytochemical studies on Maleaceous Plant. Part VIII. Structures and Inhibitory Effects on Epstein-Barr Virus Activation of Triterpenoids from Leaves of *Chisocheton macrophyllus* King, *Chem Pharm Bull*, 41: 617-619.

- Laphookhieo, S., Maneerat, W., Koysomboon, S., Kiattansakul, R., Chantrapromma, K., and Syers, J.K., 2008. A Novel Limonoid from the seeds of *Chisocheton siamensis*, *Can J Chem*, 86: 205-208.
- Maneerat, W., Laphookhieo, S., Syers, J.K., Kiattansakul., Koysomboon, S., and Chantrapromma, K., 2008, Antimalaria, Antimicrobial and Cytotoxic limonoid from *Chisocheton siamensis*, *Phytomedicine*, 15: 1130-1135.
- Mohamad, K., Hirasawa, Y., Lim C.S., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Takeya, K., and Morita, H., 2008, Ceramicines A and walsogyne A novel limonoids from two species of Meliaceae, *Tetrahedron Letter*, 49: 4276-4278.
- Mohamad, K., Hirasawa, Y., Litaudon, M., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Takeya, K., Ekasari, W., Widyawaruyanti, A., Zaini, N.C., and Morita, H., 2009, Ceramicines B-D, new antiplasmodial limonoids from *Chisocheton ceramicus*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17: 727-730.
- Omar, S., Zhang, J., MacKinnon, S., Leaman, D., Durst, T., Philogene, B.J., Anarson, J.T., Sanchez-Vindas, P.E., Poveda, L., Tamez, P.A., and Pezzuto, J.M., 2003, Traditionally-used antimalarials from Meliaceae, *Curr Top Med Chem*, 3(2): 133-9.
- Parmar, B.S., 1995, Results with commercial neem formulations produced in India. In H. Schmitterer (ed.), *The neem tree Azadirachta indica A. Juss. And other Meliaceous plants. Sources of unique natural products for integrate pest management, medicine, industry and other purposes*, VCH Tokyo, pp. 453-470.
- Phongmaykin, J., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Suttisri, R., and Saifah, E., 2008. A New Sesquiterpene and Other Terpenoid Constituents of *Chisocheton penduliflorus*, *Arch Pharm Res*, 31: 1.
- Wong, C.P., Shimada, M., Nagakura, Y., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Mohamad, K., Shiro, M., and Morita, H., 2011, Ceramicines E-I, New Limonoids from *Chisocheton ceramicus*, *Chem Farm Bull*, 59: 407-411.
- Yang, M.H., Wang, J.S., Luo, J.G., Wang, X.B., and Kong, L.Y., 2009, Tetranortriterpenoids from *Chisocheton paniculatus*, *Journal Nat Pro*, 72: 2014-2018.
- Yang, M.H., Wang J.S., Luo J.G., Wang X.B., and Kong L.Y., 2011, Chisopanins A-K, 11 New newprotolimonoids from *Chisocheton paniculatus* and their anti-inflammatory activities, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19: 1409-1417.