

**KANDUNGAN ALKALOIDA KULIT BATANG
Actinodaphne pruinosa Nees, *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees
DAN DAUN *Cryptocarya ferrea* Bl SERTA UJI BIOAKTIVITAS
TERHADAP *Plasmodium falciparum*, *Artemia salina* Leach,
DAN SEL MURINE P-388**

MILIK PERPUSTAKAAN
FMIPA - UI

**Tiah Rachmatiah
8304030046**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCA SARJANA
PROGRAM STUDI KIMIA
DEPOK
2008**

**KANDUNGAN ALKALOIDA KULIT BATANG
Actinodaphne pruinosa Nees, *A. sphaerocarpa* (BI) Nees
DAN DAUN *Cryptocarya ferrea* BI SERTA UJI BIOAKTIVITAS
TERHADAP *Plasmodium falciparum*, *Artemia salina* Leach,
DAN SEL MURINE P-388**

MILIK PERPUSTAKAAN
FMIPA - UI

DISERTASI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Doktor Sains Ilmu Kimia**

Oleh:

**Tiah Rachmatiah
8304030046**



PERPUSTAKAAN
FAKULTAS MIPA-UI

TIDAK DIPINJAMKAN
HANYA BACA DITEMPAT


**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCA SARJANA
PROGRAM STUDI KIMIA
DEPOK
2008**

JUDUL : KANDUNGAN ALKALOIDA KULIT BATANG *Actinodaphne pruinosa* Ness, *A. sphaerocarpa* (BI) Nees DAN DAUN *Cryptocarya ferrea* BI SERTA UJI BIOAKTIVITAS TERHADAP *Plasmodium falciparum*, *Artemia salina* Leach DAN SEL MURINE P-388

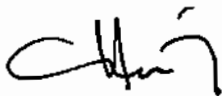
NAMA : Tiah Rachmatiah

NPM : 8304030046

MENYETUJUI:


Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc.

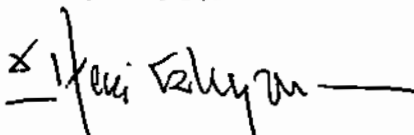
PROMOTOR


Prof. Datuk Dr. A. Hamid A. Hadi

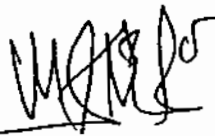
KO-PROMOTOR


Dr. Berna Elya, M.Si

PENGUJI


Dr. Herry Cahyana


PENGUJI


Dr. Muhammad Hanafi., APU

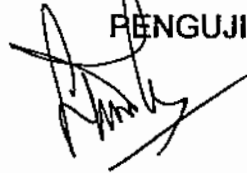
KO-PROMOTOR


Prof. Dr. Khalijah Awang

KO-PROMOTOR


Dr. Ghairul, M.Sc., APU

PENGUJI


Dr. L. Broto Sugeng Kardono., APU

PENGUJI



Ketua Program Pascasarjana Studi Kimia


Dr. Jamuzi Gunlazuardi

Ketua Program Pascasarjana/
Dekan FMIPA UI


Dr. Adi Basukriadi, MSc.

Tanggal lulus: 15 Desember 2008

Penelitian ini dilakukan untuk menyelidiki kandungan alkaloida dari kulit batang *Actinodaphne pruinosa* Nees, *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees dan daun *Cryptocarya ferrea* Bl serta uji bioaktivitas terhadap *Plasmodium falciparum*, *Artemia salina* Leach dan sel murine P-388. Alkaloida diekstraksi menggunakan metode asam basa. Isolasi alkaloida dilakukan dengan cara kromatografi kolom menggunakan silika gel sebagai fasa diam dan campuran diklorometana dan metanol sebagai larutan pengelusi. Struktur molekul dari alkaloida yang diisolasi ditentukan dengan menggunakan data spektroskopi UV, FTIR, ¹H NMR, ¹³C NMR dan MS. Lima alkaloida baru; (+)-(R)-N-(2-hidroksipropil)-lindcarpin (pruinosa A), (+)-(S)-N-(2-hidroksipropil)-lindcarpin (pruinosa B), (+)-(R)-N-(2-hidroksipropil)-laurolitsin (pruinosa C), (+)-(S)-N-(2-hidroksipropil)-laurolitsin (pruinosa D) dan (-)-N'-desmetil-grisabin, berhasil diisolasi dari kulit batang *A. pruinosa* bersama dengan tujuh alkaloida yang sudah dikenal, lindcarpin, N-metilindcarpin, laurolitsin, boldin, (+)-thaligrisin, (-)-dauricin, (-)-O,O-dimetil-grisabin. Laurotetanin, N-metillaurotetanin, isoboldin, actinodaphnin, N-metilactinodaphnin, corydin dan norcorydin diisolasi dari kulit batang *A. sphaerocarpa* serta dua alkaloida lainnya nordicentrin dan dicentrinon diisolasi dari daun *Cryptocarya ferrea*. Ekstrak alkaloida dari kulit batang *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa* aktif terhadap larva udang *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ berturut-turut 106,5 µg/mL dan 126,7 µg/mL. Ekstrak alkaloida kulit batang *A. pruinosa* dan senyawa hasil isolasinya; pruinosa A, aktif terhadap sel murine P-388 dengan IC₅₀ berturut-turut 5,1 dan 3,9 µg/mL, sedangkan ekstrak alkaloida *A. sphaerocarpa*, pruinosa B, C, D, dan lindcarpin serta (-)-O,O-dimetil-grisabin tidak aktif dengan IC₅₀ berturut-turut 34,2, 24,0, 38,0, 52,0, 16,0, dan 10,0 µg/mL. Aktivitas terhadap *P. falciparum* dijumpai pada ekstrak alkaloida *A. sphaerocarpa* dengan nilai IC₅₀ 2,5 x 10⁻⁶ µg/mL, namun ekstrak alkaloida *A. pruinosa* tidak memperlihatkan aktivitas terhadap *P. falciparum*.

Kata kunci: Actinodaphne, cryptocarya, lauraceae, pruinosa, sel murine P-388

xviii + 223 hlmn; gbr. 47; tab. 29; lamp. 42

Pustaka: 88 (1935-2008)

ABSTRACT

This work was carried out to investigate alkaloid constituents from the stem bark of *Actinodaphne pruinosa* Nees, *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees, the leaves of *Cryptocarya ferrea* Bl, and their bioactivities against *Plasmodium falciparum*, *Artemia salina* Leach and murine cells P-388. The alkaloids were extracted by acid-base methods and isolated by column chromatography on silica gel and eluted with a mixture of CH₂Cl₂-methanol as a solvent system. The structure of alkaloids were established using spectroscopy data: UV, FTIR, ¹H NMR, ¹³C NMR and MS. Five new alkaloids, (+)-(R)-N-(2-hydroxypropyl)-lindcarpine (pruinisine A), (+)-(S)-N-(2-hydroxypropyl)-lindcarpine (pruinisine B), (+)-(R)-N-(2-hydroxypropyl)-laurolitsine (pruinisine C), (+)-(S)-N-(2-hydroxypropyl)-laurolitsine (pruinisine D) and (-)-N'-desmethyl-grisabine were isolated from the stem bark of *A. pruinosa* together with seven known alkaloids, lindcarpine, N-methylindcarpine, laurolitsine, boldine, (+)-thaligrisine, (-)-dauricine, and (-)-O,O-dimethyl-grisabine. Seven known alkaloids, laurotetanine, N-metillaurotetanine, isoboldine, actinodaphnine, N-methylactinodaphnine, corydine and norcorydine, were isolated from the stem bark of *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees, and two another known alkaloids, nordicentrine and dicentrinone, were isolated from *Cryptocarya ferrea*. The crude alkaloid extract of *A. pruinosa* and *A. sphaerocarpa* were active against *Artemia salina* with LC₅₀ 106.5 and 126.7 µg/mL respectively. The crude alkaloid extract of *A. pruinosa* and pruinisine A were active against murine cells P-388 with IC₅₀ 5.1 and 3.9 µg/mL respectively. The crude alkaloid extract of *A. sphaerocarpa*, pruinisine B, C, D, lindcarpine, and (-)-O,O-dimethyl-grisabine are inactive against murine cells P-388 with IC₅₀ 34.2, 24.0, 38.0, 52.0, 16.0, and 10.0 µg/mL respectively. The activity against *P. falciparum* was showed by the crude alkaloid extract of *A. sphaerocarpa* with IC₅₀ 2.5 x 10⁻⁶ µg/mL, but no effect was showed by crude alkaloid extract of *A. pruinosa*.

Key words: Actinodaphne, cryptocarya, lauraceae, pruinisine, murine cells P-388

xviii + 223 p.; fig. 47; tab. 29; app. 42

Bibliography: 88 (1935-2008)

PEDOMAN PENGGUNAAN DISERTASI

Disertasi Doktor yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Indonesia dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh disertasi haruslah seizin Ketua Program Pascasarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Perpustakaan yang meminjam disertasi ini untuk keperluan anggotanya harus mengisi nama dan tanda tangan peminjam dan tanggal peminjaman.

KATA PENGANTAR

Dengan nama Allah yang maha pengasih dan maha penyayang

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Karunia Nya sehingga penelitian dan penyusunan disertasi ini dapat diselesaikan.

Dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada Prof. Dr. Soleh Kosela, MSc, selaku promotor dan Dr. Muhammad Hanafi, APU sebagai ko promotor yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing dan memberi petunjuk serta saran dalam menyelesaikan penelitian ini. Demikian pula kepada Prof. Datuk Dr. A. Hamid A. Hadi dan Prof. Dr. Khalijah Awang sebagai ko promotor, yang telah memberikan fasilitas dan bimbingan dalam penelitian di makmal Fitokimia, Universiti Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia. Juga kepada Prof. Dr. Mat Ropi dari makmal Fitokimia, Universiti Malaya atas arahan dan bimbingannya, serta diskusi selama pelaksanaan penelitian.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada orang tua, suami, anak-anak dan adik-adik tercinta atas pengorbanan dan dorongan semangat serta do'a sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3 ini.

Selanjutnya penulis tak lupa menyampaikan terima kasih kepada :

1. Pimpinan Institut Sains dan Teknologi Nasional yang telah memberikan izin dan kesempatan untuk mengikuti pendidikan S3 di Universitas Indonesia.
2. Pemerintah Republik Indonesia melalui Departemen Pendidikan Nasional, atas bantuan dana pendidikan dalam bentuk beasiswa BPPS.
3. Dekan FMIPA Universitas Indonesia yang telah memberikan fasilitas selama menjalankan pendidikan S3 Ilmu Kimia di Universitas Indonesia:

4. Pimpinan Program Studi Kimia, dan Ketua Program Pascasarjana Studi Kimia FMIPA UI beserta seluruh staf pengajar program S3 Ilmu Kimia, dan karyawan yang telah membantu selama mengikuti pendidikan S3 ini.
5. Pimpinan P₂K LIPI Serpong yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas alat di laboratorium Kimia P₂K LIPI Serpong.
6. Dr. Nurdin Saidi dan teman-teman lain (Azlan, Kartini, Vicky, Nazif, Fazli, Chong, Dewi, Aimi, Chan, Aza, Nita, Cewe, dll) yang telah banyak membantu selama melakukan penelitian di makmal Fitokimia, Universiti Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia.
7. Dr. Pratiwi Pujiastuti, Dr. Sri Winiati, Dr. Sri Hartati, Dr. Nurdin, ibu Maulidia, ibu Jamilah dan teman-teman program S3 Ilmu Kimia UI lainnya, atas bantuan, semangat, motivasi dan kebersamaannya dalam suka dan duka selama mengikuti program ini.
8. Semua pihak yang telah memberikan bantuan selama penelitian dan penyusunan disertasi ini.

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan penulis berharap penelitian ini bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Depok, Desember 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN DISERTASI.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Perumusan Masalah.....	5
1.2. Hipotesis.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Lauraceae: Tinjauan Umum dan Morfologi.....	7
2.2. Klasifikasi Lauraceae.....	9
2.3. Genus <i>Actinodaphne</i>	11
2.3.1. Kandungan Kimia Beberapa Spesies <i>Actinodaphne</i>	11
2.3.1.1. <i>Actinodaphne nitida</i>	12
2.3.1.2. <i>A. Acutivena</i>	13
2.3.1.3. <i>A. obovata</i> BI.....	13

2.3.1.4. <i>A. sesquipetalis</i>	13
2.3.1.5. <i>A. speciosa</i>	14
2.3.1.6. <i>A. lancifolia</i>	14
2.3.1.7. <i>A. angustifolia</i> Nees.....	16
2.3.1.8. <i>A. cupularis</i> (Hemsl) Gamble.....	16
2.3.2. <i>Actinodaphne sphaerocarpa</i> (Bl) Nees.....	18
2.3.3. <i>Actinodaphne pruinosa</i> Nees.....	18
2.4. Genus <i>Cryptocarya</i>	19
2.4.1. Kandungan Kimia Beberapa Spesies <i>Cryptocarya</i>	20
2.4.1.1. <i>C. chinensis</i> Hemsl.....	21
2.4.1.2. <i>C. kurzii</i>	23
2.4.1.3. <i>C. konishii</i>	24
2.4.1.4. <i>C. strictifolia</i>	24
2.4.1.5. <i>C. costata</i>	25
2.4.1.6. <i>C. longifolia</i>	25
2.4.2. <i>Cryptocary ferrea</i>	28
2.5. Alkaloida.....	29
2.5.1. Penggolongan Alkaloida.....	33
2.5.2. Penggolongan Alkaloida Isokuinolin.....	34
2.5.3. Alkaloida Isokuinolin Sederhana.....	35
2.5.4. Alkaloida Benzilisokuinolin.....	36
2.5.5. Alkaloida Bisbenzilisokuinolin (BBIK).....	40
2.5.6. Alkaloida Aporfin.....	45

2.5.7. Alkaloida Oksoaporfina.....	50
2.6. Kanker dan Penyebabnya.....	52
2.6.1. Antikanker dan Mekanisme Kerjanya.....	53
2.6.1.1. Interkalator DNA.....	54
2.6.1.2. Senyawa Pengalkilasi.....	55
2.6.1.3. Pemutusan DNA Rantai Ganda.....	56
2.6.1.4. Pengikatan m-RNA.....	56
2.6.1.5. Depolimerisasi Mikrotubulus.....	57
2.6.1.6. Antimetabolit.....	58
2.7. Malaria.....	59
2.7.1. Jenis Penyakit Malaria.....	59
2.7.2. Siklus Hidup Parasit.....	60
2.7.3. Penggolongan Antimalaria.....	62
2.8. Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	62
2.9. Uji Sitotoksitas <i>In vitro</i> pada Sel Murine Leukemia P-388.....	63
2.10. Uji Aktivitas Antimalaria.....	64
BAB III. METODE PENELITIAN.....	66
3.1. Metode Penelitian Secara Umum.....	66
3.2. Persiapan Sampel.....	68
3.3. Bahan-bahan yang Digunakan.....	68
3.4. Alat-alat yang Digunakan.....	69
3.5. Cara Kerja.....	69

3.5.1. Isolasi Alkaloida dari Kulit Batang <i>Actinodaphne pruinosa</i>	
Nees.....	69
3.5.2. Isolasi Alkaloida dari Kulit Batang <i>Actinodaphne</i>	
<i>sphaerocarpa</i> (Bl) Nees.....	73
3.5.3. Isolasi Alkaloida Dari Daun <i>Cryptocarya ferrea</i> Bl.....	76
3.5.4. Uji Aktivitas Antimalaria.....	79
3.5.5. Uji Sitotoksitas <i>in vitro</i> Pada Sel Murine Leukemia P-388....	79
3.5.6. Uji Toksisitas Pada Larva <i>Artemia salina</i> Leach (BSLT).....	82
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	84
4.1. Gambaran Umum.....	84
4.2. Senyawa A-1.....	85
4.3. Senyawa A-2.....	91
4.4. Senyawa A-3.....	98
4.5. Senyawa A-4.....	103
4.6. Senyawa A-5.....	109
4.7. Senyawa A-6.....	111
4.8. Senyawa A-7.....	114
4.9. Senyawa A-8.....	116
4.10. Senyawa A-9.....	118
4.11. Senyawa A-10.....	125
4.12. Senyawa A-11.....	131
4.13. Senyawa A-12.....	136
4.14. Senyawa B-1.....	142

4.15. Senyawa B-2.....	144
4.16. Senyawa B-3.....	148
4.17. Senyawa B-4.....	150
4.18. Senyawa B-5.....	152
4.19. Senyawa B-6 dan senyawa B-7.....	155
4.20. Senyawa C-1 dan senyawa C-2.....	158
4.21. Uji Bioaktivitas.....	162
4.21.1. Uji Antimalaria Ekstrak Alkaloida Terhadap <i>P. falciparum</i>	162
4.21.2. Uji Toksisitas Ekstrak Alkaloida Terhadap Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach (BSLT).....	163
4.21.3. Uji Sitoksisitas Ekstrak Alkaloida Terhadap Sel Murine Leukemia P-388.....	164
4.21.4. Uji Sitoksisitas Senyawa A-1, A-2, A-3, A-4, Lindcarpin dan A-10 Terhadap Sel Murine Leukemia P-388.....	164
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	168
5.1. Kesimpulan.....	168
5.2. Saran.....	169
DAFTAR PUSTAKA	170
LAMPIRAN	180

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun dan buah <i>A. shaerocarpa</i>	18
2. Daun <i>A. pruinosa</i>	19
3. Buah <i>A. pruinosa</i>	19
4. Daun dan batang <i>C. ferrea</i> Bl.....	28
5. Diagram Cronquist 1981 dalam pengelompokan angiospermae ⁸¹	30
6. Diagram Dahlgren dalam pengelompokan angiospermae ⁸¹	31
7. Struktur benzilisokuinolin.....	36
8. Hubungan biogenetika dari golongan besar alkaloida yang diturunkan dari prekursor tetrahidroisokuinolin.....	37
9. Ilustrasi pola fragmentasi massa dari benzilisokuinolin.....	39
10. Pergeseran kimia ¹ H NMR dan ¹³ C NMR dari (+)-tetrandrin 71.....	44
11. Struktur dan penomoran kerangka aporfin.....	45
12. Pergeseran kimia ¹³ C NMR dari isocorydin 75 dan glaucin 76.....	48
13. Prinsip fragmentasi massa aporfin.....	49
14. Interkalator proflavin dengan DNA.....	54
15. Ikatan silang senyawa pengalkilasi dengan DNA.....	55
16. Model terapi <i>antisense</i>	56
17. Tubulin dan mikrotubulus.....	57
18. Obat-obat yang bekerja pada mikrotubulus ⁶⁶	58

19. Skema Ekstraksi Alkaloida dari <i>A. pruinosa</i>	70
20. Skema isolasi alkaloida dari ekstrak CH ₂ Cl ₂ <i>A. pruinosa</i> fraksi 19-20.....	71
21. Skema isolasi alkaloida dari ekstrak CH ₂ Cl ₂ <i>A. pruinosa</i> fraksi 24-25.....	72
22. Skema ekstraksi alkaloida dari kulit batang <i>Actinodaphne</i> <i>sphaerocarpa</i> (Bl) Nees.....	74
23. Isolasi alkaloida dari ekstrak alkaloida kulit batang <i>A. sphaerocarpa</i> (Bl) Nees.....	75
24. Skema ekstraksi alkaloida total dari daun <i>C. ferrea</i> Bl.....	77
25. Skema isolasi alkaloida total dari daun <i>C. ferrea</i> Bl.....	78
26. Struktur lindcarpin.....	88
27. Spektrum ¹ H NMR senyawa A-1.....	89
28. Spektrum ¹³ C NMR senyawa A-1.....	89
29. Analisis HMBC senyawa A-1.....	90
30. Struktur molekul senyawa A-1 (pruinosa A).....	91
31. Spektrum ¹ H NMR senyawa A-2.....	94
32. Spektrum ¹³ C NMR senyawa A-2.....	95
33. Analisis HMBC senyawa A-2.....	96
34. Konfigurasi senyawa A-1 dan senyawa A-2.....	96
35. Struktur Laurolitsin.....	100
36. Spektrum ¹ H NMR senyawa A-3.....	101

37. Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-3.....	101
38. Analisis HMBC senyawa A-3.....	102
39. Struktur molekul pruinosisin C.....	103
40. Spektrum ^1H NMR senyawa A-4.....	106
41. Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-4.....	106
42. Analisis HMBC senyawa A-4.....	107
43. Konfigurasi senyawa A-3 dan A-4.....	108
44. Analisis HMBC senyawa A-9.....	122
45. Analisis HMBC senyawa A-10.....	129
46. Struktur senyawa A-11.....	134
47. Struktur senyawa A-12.....	140

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa-senyawa kimia dari genus <i>Actinodaphne</i>	17
2. Senyawa-senyawa kimia dari genus <i>Cryptocarya</i>	27
3. Hasil isolasi senyawa alkaloida dari <i>A. pruinosa</i> Nees, <i>A. sphaerocarpa</i> (Bl) Nees dan <i>C. ferrea</i> Bl.....	84
4. Data spektroskopi senyawa A-1.....	85
5. Hasil analisis spektrometri senyawa A-2.....	91
6. Data spektra NMR ¹³ C (100 MHz) and ¹ H (400 MHz) senyawa A-1 dan A-2....	97
7. Hasil analisis spektrometri senyawa A-3.....	98
8. Hasil analisis spektrometri senyawa A-4.....	103
9. Data spektra NMR ¹³ C (100 MHz) and ¹ H (400 MHz) senyawa A-3 dan A-4....	109
10. Data spektra ¹³ C NMR and ¹ H NMR senyawa A-5.....	111
11. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400 MHz) senyawa A-6.....	113
12. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400MHz) senyawa A-7.....	116
13. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400 MHz) senyawa A-8 dan boldin.....	118
14. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400 MHz) senyawa A-9.....	124
15. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400 MHz) senyawa A-10....	130
16. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400 MHz) senyawa A-11....	135
17. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400 MHz) senyawa A-12....	141
18. Data spektra ¹³ C NMR (100 Hz) dan ¹ H NMR (400 Hz) senyawa B-1.....	144
19. Data spektra ¹³ C NMR (100 MHz) dan ¹ H NMR (400 MHz) senyawa B-2.....	147

20. Data spektra ^1H NMR dan ^{13}C NMR Senyawa B-3 dan Isoboldin.....	150
21. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa B-4.....	152
22. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa B-5.....	154
23. Data spektra ^1H NMR Senyawa B-6.....	157
24. Data spektra ^1H NMR dan ^{13}C NMR Senyawa B-7.....	158
25. Data spektrum ^1H NMR Senyawa C-2 dan Dicentrinon.....	161
26. Data spektrum ^1H NMR Senyawa C-1 dan Nordicentrin.....	161
27. Hasil pengujian penghambatan ekstrak <i>A.sphaerocarpa</i> dan <i>A. pruinosa</i> terhadap pertumbuhan <i>P. Falciparum</i> FCR3.....	162
28. Hasil uji toksisitas ekstrak <i>A. Pruinosa</i> dan <i>A. sphaerocarpa</i> terhadap larva <i>Artemia salina</i>	163
29. Hasil uji sitotoksisitas ekstrak <i>A.pruinosa</i> , <i>A.sphaerocarpa</i> dan senyawa A-1, A-2, A-3, A-4, A-10, serta lindacarpin terhadap sel murine P-388.....	164

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Spektrum HRESIMS dan FTIR senyawa A-1.....	182
2. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-1.....	183
3. Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-1.....	184
4. Spektrum NOE-DIFF dan COSY senyawa A-1.....	185
5. Spektrum HRESIMS dan FTIR senyawa A-2.....	186
6. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-2.....	187
7. Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-2.....	188
8. Spektrum NOE-DIFF dan COSY senyawa A-2.....	189
9. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-3.....	190
10. Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-3.....	191
11. Spektrum LCMS senyawa A-3.....	192
12. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-4.....	193
13. Spektrum HMBC dan COSY senyawa A-4.....	194
14. Spektrum NOE-DIFF dan LCMS senyawa A-4.....	195
15. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-5.....	196
16. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-6.....	197
17. Spektrum HMQC, HMBC, dan COSY senyawa A-6.....	198
18. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-7.....	199
19. Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-7.....	200

20.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-8.....	201
21.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-9.....	202
22.	Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-9.....	203
23.	Spektrum NOE-DIF senyawa A-9.....	204
24.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-10.....	205
25.	Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-10.....	206
26.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-11.....	207
27.	Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-11.....	208
28.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa A-12.....	209
29.	Spektrum HMQC dan HMBC senyawa A-12.....	210
30.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa B-1.....	211
31.	Spektrum HMQC dan NOE-DIFF senyawa B-1.....	212
32.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa B-2.....	213
33.	Spektrum HMQC dan HMBC senyawa B-2.....	214
34.	Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR senyawa B-3.....	215
35.	Spektrum NOE-DIFF senyawa B-3.....	216
36.	Spektrum ^1H NMR, ^{13}C NMR, dan COSY senyawa B-4.....	217
37.	Spektrum ^1H NMR senyawa B-6 dan senyawa B-7.....	218
38.	Spektrum ^{13}C NMR dan NOE-DIFF senyawa B-7.....	219
39.	Spektrum ^1H NMR senyawa C-1 dan senyawa C-2.....	220
40.	Sertifikat <i>Plasmodium falciparum</i> Clone 3D7.....	221
41.	Grafik kadar chloroquine dan artemisinin vs <i>P.falciparum</i>	222

42. Grafik kadar ekstrak <i>A. sphaerocarpa</i> dan <i>A. pruinosa</i> vs <i>P. falciparum</i>	223
--	-----



BAB I

PENDAHULUAN

Familia Lauraceae terdiri dari kelompok tumbuhan berbunga yang termasuk dalam ordo Laurales. Familia ini meliputi kira-kira lebih dari 45 genera dan 1100 species yang kebanyakan tersebar di daerah tropis, terutama di Asia Tenggara dan Amerika tropis¹. Tumbuhan dari familia Lauraceae dikenal banyak mengandung senyawa kimia termasuk senyawa golongan alkaloida. Beberapa contoh genus yang telah diteliti banyak mengandung alkaloida adalah *Actinodaphne*, *Beilschmiedia*, *Cassytha*, *Cryptocarya*, *Lindera*, *Litsea*, *Neolitsea*, *Phoebe* dan *Ocotea*^{2,3}.

Actinodaphne Nees, merupakan salah satu genus dari familia Lauraceae, yang terdiri dari 60 atau 70 spesies dan tumbuh di daerah Asia tropis dan subtropis. Umumnya kayu dari tumbuhan *Actinodaphne* banyak digunakan untuk konstruksi bangunan dengan nama dagang Medang. Beberapa species ada yang digunakan sebagai obat tradisional seperti daun dari *Actinodaphne molucana* yang dimemarkan digunakan sebagai obat luar untuk rasa sakit dan patah tulang⁴. Di Cina akar dari tanaman *A. lancifolia* (Sieb. Et Zucc) Meissn. var. *sinensis* digunakan untuk mengobati sakit perut, artritis, kelelahan, dan bengkak⁵. Dalam pustaka dituliskan pula bahwa buah dari *A. sesquipedalis* sangat beracun⁴ dan *A. procera* mengandung senyawa laurotetanin yaitu racun yang dapat menyebabkan kejang⁶. Penelitian terhadap kandungan kimia dan bioaktivitas dari genus ini belum banyak

dilakukan bila dibandingkan dengan genus lainnya. Berdasarkan hasil penelusuran pustaka, spesies yang pernah diteliti kandungan alkaloidnya adalah *A. nitida*, *A. acutivena*, *A. obovata*^{2,7}, *A. sesquipedalis*⁸, *A. speciosa*⁹. Masih banyak species lain dari genus ini yang belum diteliti kandungan alkaloidnya antara lain *A. sphaerocarpa* dan *A. pruinosa*.

A. sphaerocarpa Bl Nees adalah tumbuhan berupa pohon yang tersebar di Jawa dan Semenanjung Malaysia, dengan nama daerah Huru hiris (Indonesia), Huru lencir (Sunda) dan Chempa hutan (Malaysia)^{4,10,11}. *A. pruinosa* Nees adalah tumbuhan berupa pohon yang dijumpai di Semenanjung Malaysia dari Penang sampai Singapura^{4,11}. Kegunaan dari tumbuhan ini adalah kayunya yang banyak digunakan sebagai bahan bangunan^{4,6}. Kandungan kimia dari kedua tumbuhan tersebut sampai saat ini belum diketahui, hal ini memberikan peluang yang besar untuk diteliti karena tidak menutup kemungkinan kedua tumbuhan ini juga menghasilkan senyawa kimia yang menarik terutama alkaloida.

Cryptocarya adalah genus lainnya dari familia Lauraceae yang terdiri dari 478 spesies dan tersebar di daerah tropis, subtropis dengan topologi berupa pohon tinggi¹². Di Indonesia genus ini tumbuh di pulau Sumatera dan Jawa, serta di Asia lainnya seperti Malaysia dan Cina, selain itu juga tumbuh di benua Afrika dan Australia¹³. Sejak dahulu kelompok tumbuhan ini banyak digunakan sebagai bahan bangunan, bahan baku *pulp*, dan beberapa diantaranya digunakan sebagai obat tradisional. Bahkan akhir-akhir ini beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa *Cryptocarya* mengandung

banyak senyawa kimia berguna. Telah dilaporkan bahwa sebagian besar species *Cryptocarya* mengandung molekul kimia anti tumor¹². Hasil penelusuran pustaka, beberapa metabolit sekunder seperti alkaloida^{2,3}, kalkon^{12,14}, lakton¹⁵, flavonoid¹⁶, terpenoid^{17,18} dan senyawa-senyawa α -piron^{19,20,21,22} telah diisolasi dari sekitar 18 spesies *Cryptocarya*¹³. Beberapa contoh spesies yang telah diteliti kandungan alkaloidanya adalah *Cryptocarya kurzii*^{14,15}, *C. densiflora*¹⁷, *C. moschatta*²⁰, *C. latifolia*¹⁹, *C. strictifolia*^{21,22}, *C. chinensis*²³, *C. longifolia*²⁴, *C. amygdalina*²⁵ dan *C. ferrea*²⁶.

C. ferrea BI adalah tumbuhan berupa pohon berukuran sedang yang tumbuh di wilayah Malaysia (Kedah, Kelantan, Terengganu, Pahang, Selangor) dan Indonesia (Jawa)²⁶. Hasil penelitian pada kulit batang tumbuhan ini diperoleh beberapa macam alkaloida, namun sampai saat ini belum dipublikasikan²⁶. Penelitian dari bagian lain dari tumbuhan ini seperti daun dan akar belum dilakukan, sehingga menarik untuk diteliti kandungan alkaloidanya.

Alkaloida merupakan senyawa kimia hasil metabolisme sekunder dari tumbuhan tertentu. Walaupun fungsinya dalam tumbuhan belum jelas, namun alkaloida sepanjang sejarah sudah memberikan manfaat yang sangat besar bagi manusia yaitu dalam bidang pengobatan. Sejak dua abad yang lalu mulai dari ditemukannya morfin, striknin, kinin, sampai vinkristin, kamptotekin dan homoharringtonin, sampai saat ini telah diketahui lebih 5500 alkaloida²⁷, namun usaha pencarian alkaloida-alkaloida baru masih terus dilakukan. Karena efek fisiologik dari alkaloida yang menonjol, maka usaha ini terus

dilakukan untuk mendapatkan obat-obat baru seperti untuk penyakit kanker, HIV, flu burung dll. Disamping itu pencarian obat-obat antiinfeksi seperti antimikroba, antimalaria harus terus dilakukan mengingat bertambahnya resistensi mikroba dan parasit terhadap obat-obat yang sudah ada.

Tahap awal untuk mempelajari bioaktivitas suatu senyawa adalah uji toksisitas secara *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* ini relatif lebih cepat, murah, dan hanya membutuhkan sedikit bahan uji. Suatu prosedur umum untuk skrining toksisitas suatu ekstrak atau senyawa adalah dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L (Brine Shrimp Lethality Test). Selanjutnya dilakukan pengujian sitotoksitas pada sel kanker untuk mengetahui prospeknya sebagai antikanker, metode yang digunakan adalah dengan menggunakan sel murine leukemia P-388. Pengujian bioaktivitas bahan uji sebagai antimalaria dilakukan pada parasit malaria *Plasmodium falciparum* dengan pembandingan klorokuin dan artemisinin.

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian terhadap *A. pruinosa* Nees, *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees dan *C. ferrea* Bl, karena dari ketiga tumbuhan ini belum diketahui kandungan alkaloidnya. Bagian tanaman yang diteliti adalah kulit batang untuk *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa*, sedangkan untuk *C. ferrea* adalah daunnya. Untuk mengetahui bioaktivitas dari ekstrak dan isolat yang diperoleh maka dilakukan uji toksisitas pada larva udang *Artemia salina* dan sitotoksitas pada sel murine leukemia P-388 untuk melihat prospeknya sebagai

antikanker, dan uji pada parasit *P. falciparum* untuk mengetahui aktivitas sebagai antimalaria.

1.1. Perumusan Masalah.

1. Kandungan alkaloida apakah yang dapat diisolasi dari kulit batang *A. pruinosa* Nees dan *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees?
2. Kandungan alkaloida apakah yang dapat diisolasi dari daun *C. ferrea* Bl?
3. Adakah alkaloida baru yang dapat diisolasi dari ketiga tanaman tersebut, dan bagaimanakah bioaktivitasnya?

1.2. Hipotesis

Isolasi senyawa dari kulit batang *A. pruinosa* Nees dan *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees serta daun *C. ferrea* Bl akan diperoleh alkaloida baru dan alkaloida yang sama seperti yang pernah ditemukan sebelumnya dan mempunyai prospek sebagai antikanker dan antimalaria.

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi alkaloida dari kulit batang *A. pruinosa* Nees dan *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees serta daun *C. ferrea* Bl.
2. Menentukan struktur kimia dari isolat alkaloida yang diperoleh dari kulit batang *A. pruinosa* Nees dan *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees serta daun *C. ferrea* Bl.

3. Menguji bioaktivitas ekstrak dan isolat alkaloida dari kulit batang *A. pruinosa* Nees dan *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees serta daun *C. ferrea* Bl.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Menambah informasi tentang kandungan alkaloida dari familia Lauraceae khususnya dari genus *Actinodaphne* dan *Cryptocarya*.
2. Meningkatkan nilai tambah bagi tumbuhan yang bukan dari kelompok tumbuhan obat tradisional, sebagai sumber bahan obat alami.
3. Memberikan dan menambah pengetahuan tentang cara-cara ekstraksi dan isolasi alkaloida bagi peminat kimia bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lauraceae: Tinjauan Umum dan Morfologi

Familia Lauraceae atau Laurel terdiri dari kelompok tanaman-tanaman berbunga yang termasuk dalam ordo Laurales. Familia ini meliputi lebih dari 45 genera dan 1100 spesies kebanyakan tersebar di daerah tropis, terutama di Asia Tenggara dan Amerika tropis¹. Tanaman dari familia Lauraceae biasanya tumbuh sebagai pohon atau semak yang berdaun hijau sepanjang masa²⁸. Lebih dari tigapuluh genera, terutama tumbuh di daerah Asia tropis dan subtropis serta Amerika; sekitar limabelas diantaranya ditemukan di Malaya²⁹. Ekologi dari Lauraceae tergantung pada jenis dataran, apakah itu dataran tinggi atau dataran rendah. Lauraceae umumnya berupa pohon kecil, kecuali ada beberapa yang tingginya mencapai 30 m. Pada dataran tinggi, Lauraceae seperti Fagaceae, menjadi lebih banyak tumbuh terutama pada puncak hutan yaitu pada ketinggian 1200-1600 m. Pemandangan seperti ini dapat terlihat di sepanjang puncak pegunungan Asia dari Himalaya sampai New Guinea²⁸.

Kulit batang biasanya halus, jarang bercelah, sering terselubung dengan lentisel besar, berwarna coklat abu-abu sampai coklat merah. Bagian dalam kulit batang biasanya sangat tebal, granular, burik atau berlapis-lapis, sering berbau aromatik kuat, berwarna kuning, coklat jingga; *pink* atau kemerahan. Getah kayu berwarna kuning atau coklat pucat, berkilau seperti

satin bila baru dipotong. Ujung pucuk daun telanjang atau tertutup sisik, kadang-kadang muncul seperti daun-daun kecil.

Daun-daun dari familia ini muncul secara sederhana, ada yang spiral, berselang seling, berlawanan atau berputar (*Actinodaphne*) seluruhnya dan kasar. Warna dari daun-daun muda bervariasi dari pink, ungu atau coklat.

Bunga dari Lauraceae biasanya kecil, beraturan, kehijauan, putih atau kuning, berbau harum atau dengan bau tengik, *bisexual* atau *unisexual*, *perianth* bebas atau bersatu dengan enam helai daun mahkota dalam dua baris. Penyerbukan bunga terutama oleh lalat dan kumbang yang tertarik oleh bau yang dikeluarkan dari bunga.

Buah dari familia ini berukuran kecil sampai besar (berbiji satu), kadang-kadang terbungkus oleh tabung *perianth* atau menetap dan memegang dasar buah. Dalam beberapa genera *lobus perianth* gugur tetapi tabungnya tumbuh menjadi suatu cawan yang dangkal atau dalam pada dasar buah. Tangkai buah membesar dan menjadi berwarna dalam beberapa spesies dari *Dehaasia* dan *Alseodaphne*. Biji Lauraceae tanpa *albumen*, dengan *testa* tipis. Kotiledon besar, rata, cembung, saling menekan satu dengan yang lain.

Kayu Lauraceae lembut sampai agak keras, berat kering (*air dry*) ringan sampai sedang sekitar 350-880 kg/m³. Hati kayu putih kekuningan (*Beilschmiedia*), coklat kuning atau coklat merah dalam kebanyakan spesies dari *Cinnamomum*, *Cryptocarya*, dan *Endiandra*, hijau zaitun dalam spesies

Litsea, *Actinodaphne*, *Alseodaphne*, *Notaphoebe*, *Phoebe*, dan cokelat hijau zaitun gelap dalam *Dehaasia*²⁶.

Genera dari familia Lauraceae sangat dikenal banyak mengandung senyawa-senyawa kimia terutama senyawa golongan alkaloida, dari 31 spesies yang telah diselidiki, 28 spesies di antaranya mengandung alkaloida.¹³ Beberapa contoh genus yang telah diteliti banyak mengandung alkaloida adalah *Beilschmiedia*, *Cassytha*, *Cryptocarya*, *Lindera*, *Litsea*, *Neolitsea*, *Phoebe* dan *Ocotea*.^{2,3}

2.2. Klasifikasi Lauraceae³¹

Regnum : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Magnoliopsida

Ordo : Laurales

Familia : Lauraceae

Genera:

- | | |
|------------------------|---------------------------|
| 1. <i>Actinodaphne</i> | 11. <i>Lindera</i> |
| 2. <i>Adenodaphne</i> | 12. <i>Litsea</i> |
| 3. <i>Aioueia</i> | 13. <i>Machilus</i> |
| 4. <i>Alseodaphne</i> | 14. <i>Mezilaurus</i> |
| 5. <i>Anaueria</i> | 15. <i>Mochinnodaphne</i> |
| 6. <i>Aniba</i> | 16. <i>Mutisiopersea</i> |
| 7. <i>Apollonias</i> | 17. <i>Nectandra</i> |
| 8. <i>Aspidostemon</i> | 18. <i>Neocinnamomum</i> |

- | | |
|----------------------|-------------------------|
| 9. Beilschmiedia | 19. Neolitsea |
| 10. Brassiodendron | 20. Nothaphoebe |
| 21. Caryodaphnopsis | 42. Ocotea |
| 22. Cassytha | 43. Paraia |
| 23. Chlorocardium | 44. Parasassafras |
| 24. Cinnadenia | 45. Persea |
| 25. Cinnamomum | 46. Phoebe |
| 26. Clinostemon | 47. Phyllostemonodaphne |
| 27. Cryptocarya | 48. Pleurothyrium |
| 28. Dahlgrenodendron | 49. Potameia |
| 29. Dehaasia | 50. Potoxylon |
| 30. Dicypellium | 51. Poveddaphne |
| 31. Dodecadenia | 52. Ravensara |
| 32. Endiandra | 53. Rhodostemonodaphne |
| 33. Endlicheria | 54. Sassafras |
| 34. Eusidroxyton | 55. Sextonia |
| 35. Gamanthera | 56. Sinosassafras |
| 36. Hexapora | 57. Syndiclis |
| 37. Hypodaphnis | 58. Triadodaphne |
| 38. Itadaphne | 59. Umbellularia |
| 39. Kubitzkia | 60. Urbanodendron |
| 40. Laurus | 61. Williamodendron |
| 41. Licaria | 62. Yushunia |

2.3. Genus Actinodaphne

Actinodaphne Nees, merupakan salah satu genus dari Lauraceae, berupa pohon atau semak, yang terdiri dari 60 atau 70 spesies dan tumbuh di daerah Asia tropis dan subtropis yaitu dari Srilangka, India, Indo-Cina, Cina,

Jepang, Thailand, seluruh wilayah Malaysia sampai ke timur kepulauan Solomon. Ada enam spesies yang dijumpai di Jawa yaitu *A. procera*, *A. sphaerocarpa*, *A. glomerata*, *A. macrophylla*, *A. glabra* dan *A. angustifolia*³⁰. Nama daerah dari genus ini adalah huru (Sunda), wuru (Jawa), medang kuning, medang kunyit (Malaysia) dan kyese (Myanmar). Kebanyakan tanaman ini diambil kayunya untuk konstruksi, furnitur, produksi *plywood* dan perahu, namun ada juga yang digunakan sebagai obat tradisional seperti daun dari *A. molucana* yang dimemarkan telah digunakan sebagai obat luar untuk rasa sakit dan patah tulang.^{4,32} Di Cina akar dari tanaman *A. lancifolia* (Sieb. Et Zucc) Meissn. var. *sinensis* digunakan untuk mengobati sakit perut, artritis, kelelahan, dan bengkak.⁵ Telah dilaporkan pula bahwa buah dari *A. sesquipedalis* sangat beracun⁴ dan *A. procera* dilaporkan mengandung senyawa laurotetanin yaitu racun yang dapat menyebabkan kejang.⁶

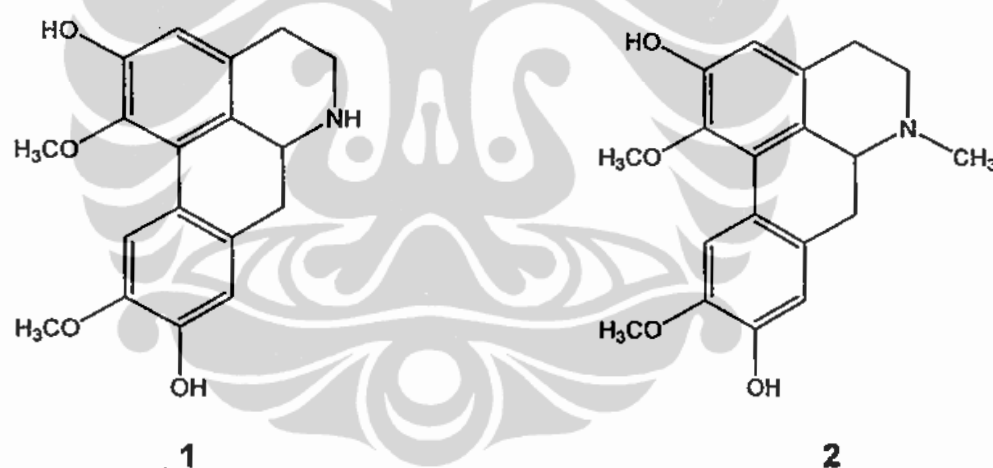
2.3.1. Kandungan Kimia Beberapa Spesies *Actinodaphne*.

Penelitian terhadap kandungan kimia dan aktivitas biologi dari genus ini belum banyak dilakukan bila dibandingkan dengan genus lainnya. Berdasarkan hasil penelusuran pustaka, spesies yang pernah diteliti kandungan senyawa kimianya antara lain *A. nitida*, *A. acutivena*, *A. obovata*^{2,7}, *A. sesquipedalis*⁸, *A. lancifolia*^{5,33}, *A. longifolia*³⁴, *A. angustifolia*³⁵, *A. cupularis*³⁶, *A. speciosa*⁹, dan *A. cupularis*³⁷. Jenis senyawa yang pernah diisolasi dari spesies tersebut adalah alkaloida aporfin, lakton, minyak atsiri, asam lemak dan terpen. Senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat pada

Tabel 1. Hasil penelitian tentang kandungan kimia dari spesies lainnya seperti *A. sphaerocarpa* dan *A. pruinosa* sampai saat ini belum dijumpai dalam publikasi internasional.

2.3.1.1. *Actinodaphne nitida*

A. nitida mengandung dua alkaloida aporfin, laurolitsin (norboldin) **1** dan boldin **2**, diisolasi sekitar tahun 1969 (Johns *et al*)³⁸. Laurolitsin memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Bandara *et al*, 1989)⁹. Boldin dilaporkan mempunyai efek antiinflamasi dan antipiretik (Backhouse *et al*)³⁹.

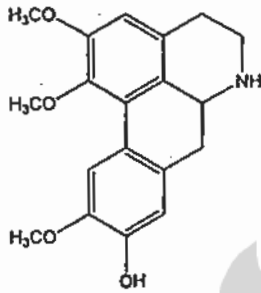


2.3.1.2. *A. Acutivena*

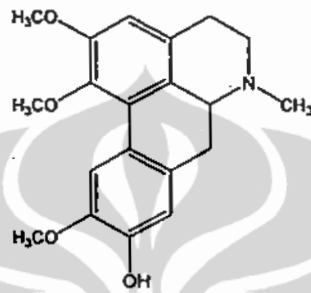
A. acutivena mengandung satu alkaloida aporfin, laurolitsin (norboldin) **1**, isolasi senyawa ini dilakukan sekitar tahun 1969 (Lu *et al*)⁴⁰.

2.3.1.3. *A. obovata* Bl

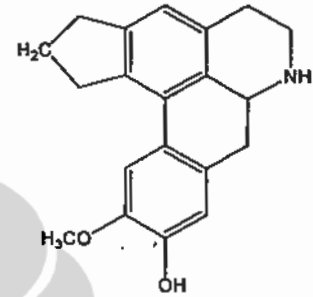
A. obovata mengandung tiga alkaloida aporfin, laurotetanin (litsoein) 3, *N*-metillaurotetanin 4 dan actinodaphnin 5. Ketiga alkaloida ini diisolasi dari daun dan batang dari *A. obovata* Bl yang tumbuh di Himalaya Timur dan India (Assam, Sibsagar) sekitar tahun 1972 (Uperty *et al*)⁷.



3



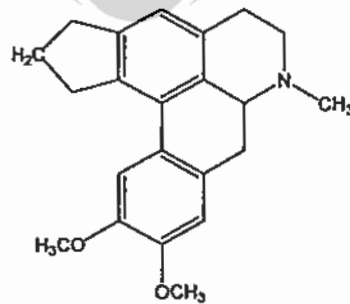
4



5

2.3.1.4. *A. sesquipedalis*

A. sesquipedalis mengandung alkaloida aporfin dicentrin (*N*,*O*-dimetilactinodaphnin, eximin) 6, isolasi dilakukan sekitar tahun 1994 (Din *et al*)⁸. (-)-Dicentrin dilaporkan mempunyai sitotoksisitas terhadap sel murine P-388 dengan ED₅₀ = 0,6 µg/ml⁴¹.



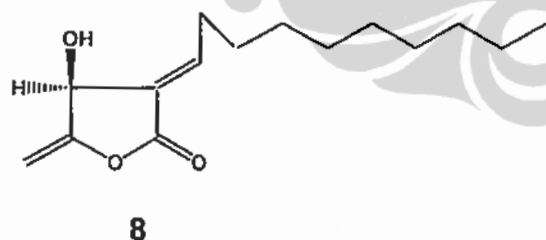
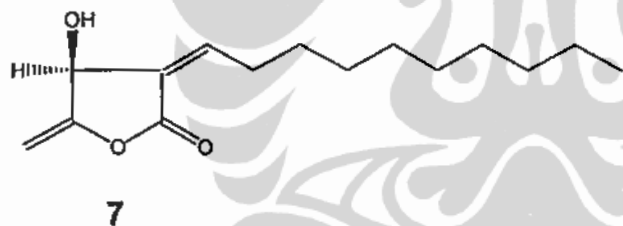
6

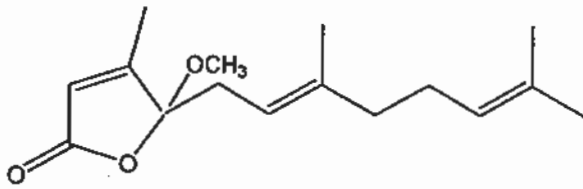
2.3.1.5. *A. speciosa*

A. speciosa mengandung alkaloida aporfin laurotetanin 3 dan *N*-metillaurotetanin 4, isolasi dilakukan sekitar tahun 1989 (Bandara *et al*)⁹.

2.3.1.6. *A. lancifolia*

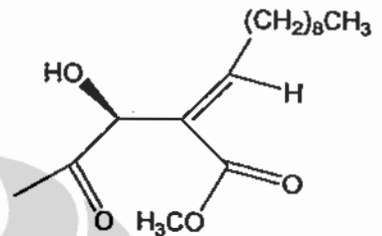
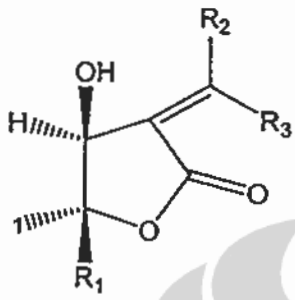
Daun dari *A. lancifolia* (nama Jepang Kagonoki) mengandung dua senyawa lakton lancifolid 7 dan isolancifolid 8 yang diisolasi pada tahun 1988 (Tanaka *et al*)³³. Pada tahun 2001, Kim *et al*⁵ berhasil mengisolasi dua senyawa lakton 7, 8, actinolid A 9, actinolid B 10, litsenolid C₁ 11, litsenolid C₂ 12, secoisolancifolid 13, (\pm)-syringaresinol 14, (\pm)-de-4'-O-metilmagnolin 15, lyoniresinol 16 dari batang *A. lancifolia*.





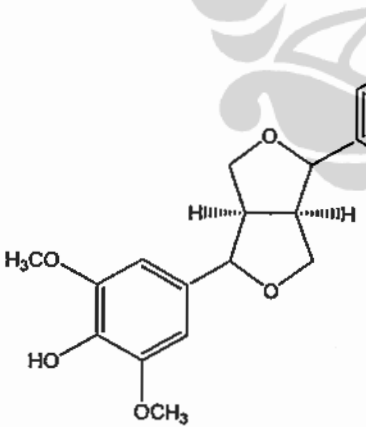
9

MILIK PERPUSTAKAAN
FMIPA - UI

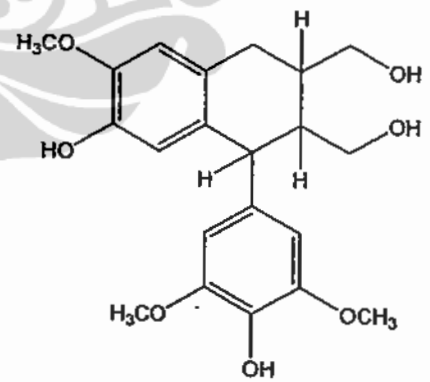


13

	R ₁	R ₂	R ₃
10	OCH ₃	H	(CH ₂) ₈ CH ₃
11	H	H	(CH ₂) ₈ CH ₃
12	H	(CH ₂) ₈ CH ₃	H



R: 14 : OCH₃ ; 15: H



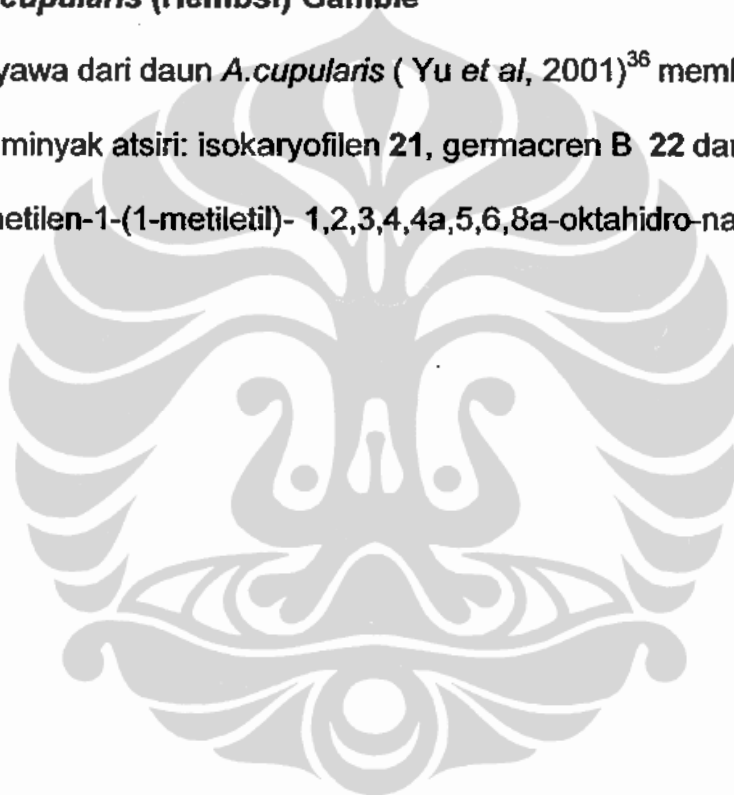
16

2.3.1.7. *A. angustifolia* Nees

Isolasi senyawa dari daun *A. angustifolia* (Bhakuni *et al*, 1970)³⁵ memberikan beberapa senyawa diantaranya hentriacontanon 17, hentriacontanol 18, β -sitosterol 19, dan quercetin-3-rhamnosid 20.

2.3.1.8. *A. cupularis* (Hembsl) Gamble

Isolasi senyawa dari daun *A. cupularis* (Yu *et al*, 2001)³⁶ memberikan komponen minyak atsiri: isokaryofilen 21, germacren B 22 dan $1\alpha,4\alpha,8\alpha$ -7-metil-4-metilen-1-(1-metiletil)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-oktahidro-naftalen 23.

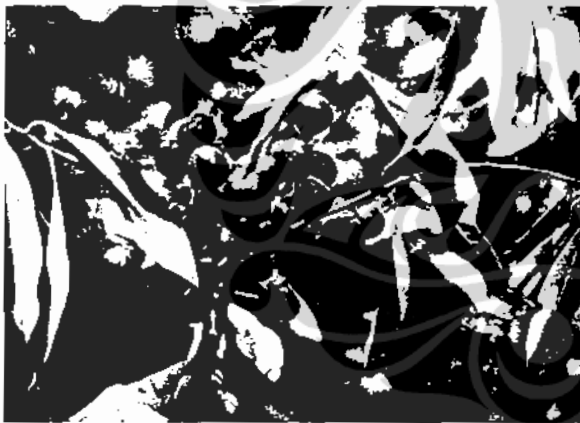


Tabel 1. Senyawa-senyawa kimia dari genus *Actinodaphne*.

No.	Senyawa	Bagian tanaman	Spesies
1.	Laurolitsin		<i>A. nitida</i>
2.	Boldin		<i>A. nitida</i>
3.	Laurotetanin	Batang dan daun	<i>A. obovata Bl</i>
4.	N-Metillaurotetanin	Batang dan daun	<i>A. obovata Bl</i>
5.	Actinodaphnin	Batang dan daun	<i>A. obovata Bl</i>
6.	Dicentrin		<i>A. sesquipedalis</i>
7.	Lancifolid	Batang dan daun	<i>A. lancifolia</i>
8.	Isolancifolid	Batang dan daun	<i>A. lancifolia</i>
9.	Actinolid A	Batang	<i>A. lancifolia</i>
10.	Actinolid B	Batang	<i>A. lancifolia</i>
11.	Litsenolid C ₁	Batang	<i>A. lancifolia</i>
12.	Litsenolid C ₂	Batang	<i>A. lancifolia</i>
13.	Secoisolancifolid	Batang	<i>A. lancifolia</i>
14.	(±)-Syringaresinol	Batang	<i>A. lancifolia</i>
15.	(±)-de-4'-O-methylmagnolin	Batang	<i>A. lancifolia</i>
16.	Lyoniresinol	Batang	<i>A. lancifolia</i>
17.	Hentriacontanon	Daun	<i>A. angustifolia</i>
18.	Hentriacontanol	Daun	<i>A. angustifolia</i>
19.	β-Sitosterol	Daun	<i>A. angustifolia</i>
20.	Qercetin-3-rhamnosid	Daun	<i>A. angustifolia</i>
21.	Isokaryofilen	Daun	<i>A. cupularis</i>
22.	Germacren B	Daun	<i>A. cupularis</i>
23.	1α,4α,8α-7-metil-4-metilen-1-(1-metiletil)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-oktahidro-naftalen.	Daun	<i>A. cupularis</i>

2.3.2. *Actinodaphne sphaerocarpa* (Bl) Nees^{4,6,8,10,11}

A. sphaerocarpa adalah tumbuhan berupa pohon ukuran sedang, pada umumnya tinggi tidak lebih dari 15 m, kadang-kadang sampai 38 m. Kulit batang berwarna coklat merah muda, polos, bagian dalam batang coklat, bau aromatik kuat. Getah coklat kekuningan. Daun tersusun seperti spiral dekat ujung ranting, tidak berputar seperti dalam spesies *Actinodaphne* lainnya. Bunga: dari *axil* daun bertandan pendek. Buah: globosa, hijau titik putih, keunguan bila menjadi matang. Tumbuh di wilayah Malaysia (Kedah, Kelantan, Terengganu, Pahang, Selangor) dan Indonesia (Jawa). Di Jawa Barat dan Jawa Tengah ditemukan di bawah 700 m dpl. Nama daerah Huru



hiris, Huru lencir (Sunda), Wuru (Jawa) dan Chempa hutan (Malaysia). Sinonim: *Litsea sphaerocarpa* Blume. Kayunya digunakan untuk bangunan rumah. Daun dan buah *A. sphaerocarpa* dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Gambar 1. Daun dan buah *A. sphaerocarpa*

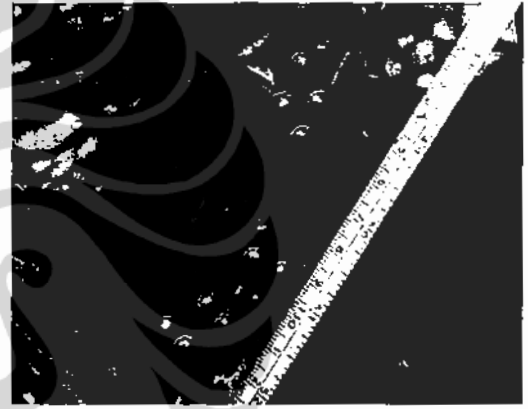
2.3.2. *Actinodaphne pruinosa* Nees^{4,6,8,11,}

A. pruinosa adalah tumbuhan berupa pohon, berukuran sedang, dijumpai di Malaysia dari Penang sampai Singapura. Kayunya berat, bagus dan berguna; berwarna coklat tua. Kulit batang coklat kemerahan, polos. Bagian dalam kulit

kayu coklat dan getah berwarna kuning. Ranting coklat kemerahan dan berbulu. Daun: batang daun 1-1,5 cm, coklat kemerahan dan berbulu; berbentuk oval sampai lanset, 7,5 -13,5 x 2,5-4 cm. Bunga berkelompok atau bertandan pendek dari *axil* daun dan dari ranting antara putaran-putaran daun, berwarna kuning krim. Buah: bertangkai pendek, hijau, oblong sampai subglobosa, lebar 0,5 cm, berparuh pendek, duduk pada *perianth* berbentuk cawan. Daun dan buah *A. pruinosa* dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Daun *A. pruinosa*



Gambar 3. Buah *A. pruinosa*

2.4. Genus *Cryptocarya*^{12,13,42}

Cryptocarya adalah genus lainnya dari familia Lauraceae yang terdiri dari 478 spesies dan tersebar luas di daerah tropis dan subtropis dengan topologi berupa pohon tinggi. Di Indonesia tumbuhan ini dikenal dengan nama Medang dan banyak tumbuh di daerah Sumatera dan sedikit di Jawa Barat. Spesies yang tumbuh di Sumatera dan Jawa adalah *Cryptocarya crassinervia* Miq. dikenal sebagai Medang talang (Palembang), Medang batu; Medang

keladi (Sumatera Timur) dan Medang sanggih (Minangkabau). *C. ferrea* Bl disebut juga Hurumentek (Sunda), Rasberasan (Madura), *C. glaucencen* R.BR dikenal dengan nama Medang serai (Palembang), *C. griffithiana* Wight (*C. infectoria* Miq) disebut sebagai Medang buaya dan *C. tomentosa* Bl. diberi nama Huru kunyit, Huru mentek, Huru tengek, Huru tudung (Sunda). Selain di Sumatera dan Jawa, ternyata di Sulawesi dijumpai juga spesies dari genus ini. *C. costata* diidentifikasi sebagai tumbuhan langka, ditemukan di kawasan hutan Sulawesi yang dikenal sebagai kawasan Wallacea. Di Sulawesi tumbuhan ini dikenal dengan nama daerah Tarusu (Bugis), Garate borong (Makasar) dan Baga tomumbu (Keli). Spesies yang dijumpai di Malaysia adalah *C. bracteolata*, *C. Crassinervia* Miq, *C.ferrea* Bl. *C. griffithiana* Wight, *C. kurzii* Hk.f. dan *C. rugulosa*. Sejak dahulu kelompok tumbuhan ini banyak digunakan sebagai bahan bangunan, bahan baku *pulp*, dan beberapa diantaranya digunakan sebagai obat tradisional. Akhir-akhir ini beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa *Cryptocarya* mengandung banyak senyawa kimia berguna.

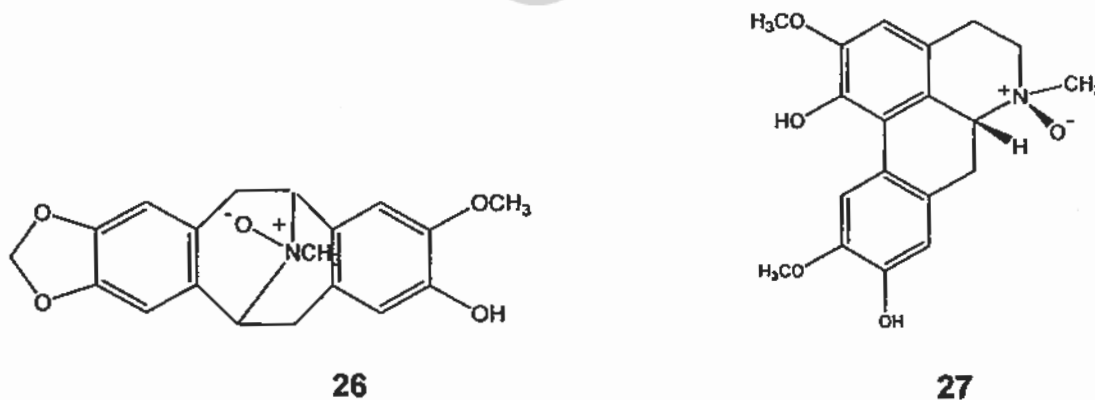
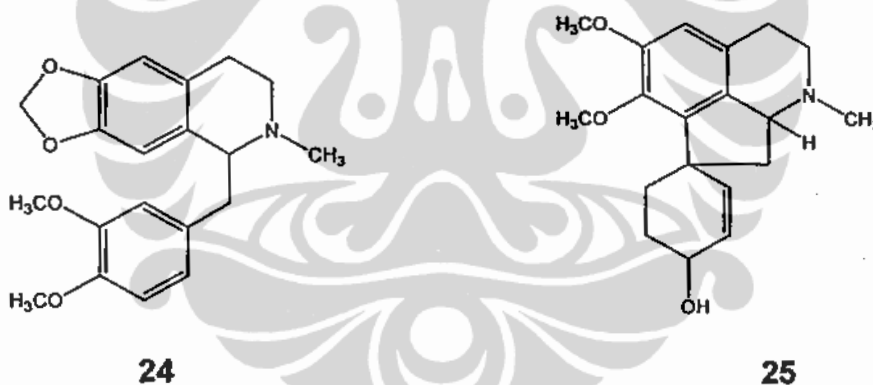
2.4.1. Kandungan Kimia Beberapa Spesies *Cryptocarya*

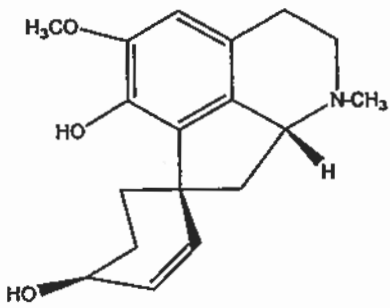
Hasil penelusuran pustaka, beberapa metabolit sekunder seperti alkaloida^{2,3}, kalkon^{12,14}, flavonoid⁶, lacton¹⁵, terpenoid^{17,18} dan senyawa-senyawa α -piron²³ telah diisolasi dari sekitar 18 spesies *Cryptocarya*.¹³ Beberapa contoh spesies yang telah diteliti adalah *C. kurzii*^{14,15}, *C. densiflora*¹⁷, *C. moschatta*²⁰, *C. latifolia*¹⁹, *C. strictifolia*^{21,22}, *C. chinensis*²³, *C. longifolia*²⁴, *C. amygdalina*²⁵

dan *C. ferrea*²⁶. Telah dilaporkan bahwa sebagian besar dari spesies *Cryptocarya* mengandung molekul kimia anti tumor.²⁰

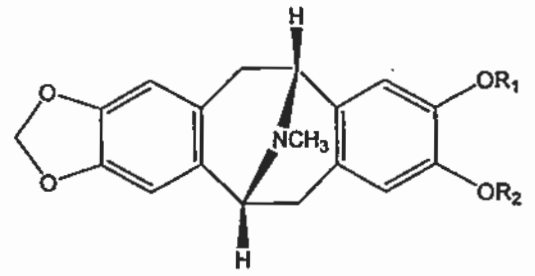
2.4.1.1. *C. chinensis* Hemsl

Dua alkaloida (\pm)-romnein **24** dan (+)-cryprochin **25** telah diisolasi dari daun dan kulit batang *C. chinensis* oleh Lee dan Chen pada tahun 1993⁴³. Penelitian selanjutnya pada daun *C. chinensis* menghasilkan sepuluh alkaloida (-)-isokaryachin-N-oksida **26**, isoboldin- β -N-oksida **27**, dan 1-hidroksicrypochin **28**, (+)-isokaryachin **29**, (+)-karyachin **30**, (-)-karyachin **31**, (-)-isokaryachin **32**, isoboldin **33**, (-)-munitagin **34**, dan bisnorargemonin **35** (Lin et al, 2001)⁴⁴.



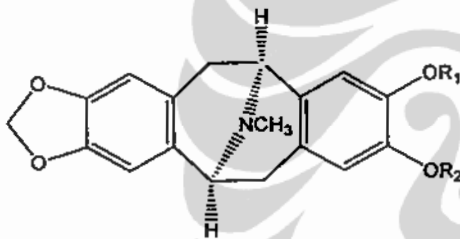


28



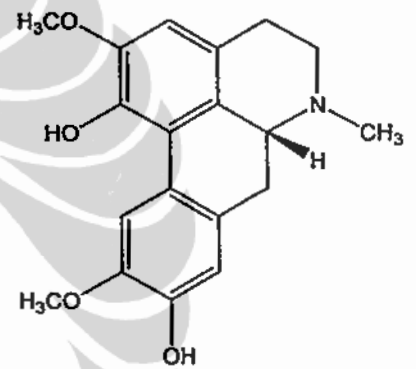
29 $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{H}$

30 $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{CH}_3$

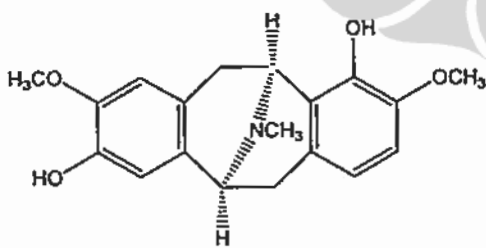


31 $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{CH}_3$

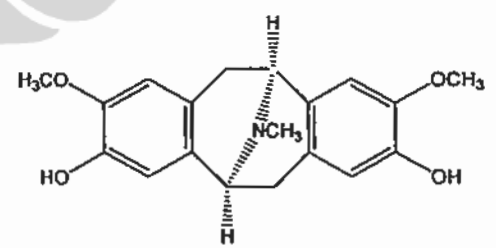
32 $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{H}$



33



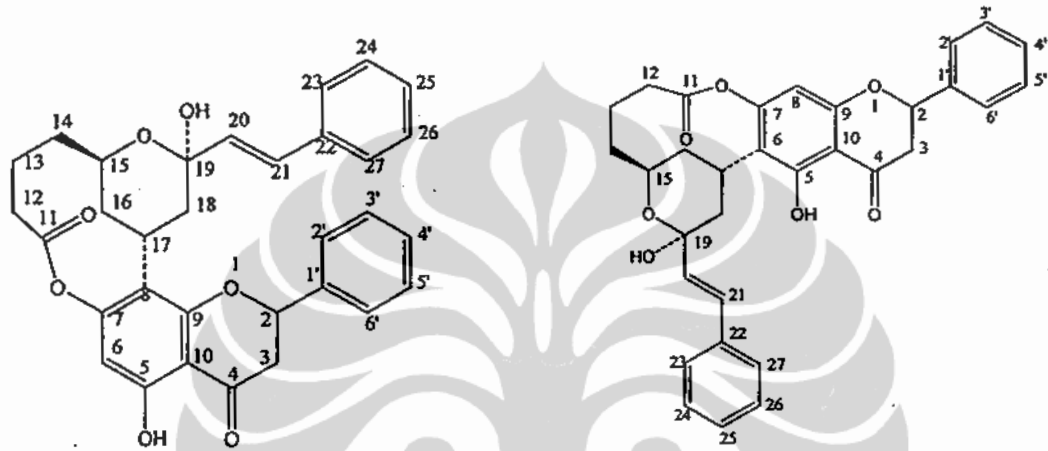
34



35

2.4.1.2. *C. Kurzii*

Isolasi senyawa kimia dari daun *C. Kurzii* menghasilkan empat flavanon kompleks, satu kalkon kompleks dan kurziflavolacton A 36, B 37, C 38, D 39, kurzikalkolacton 40 dan kurzilacton 41 (Fu et al, 1993)^{14,15}.

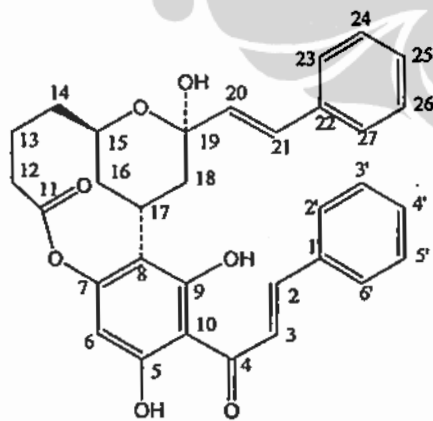


36 2R

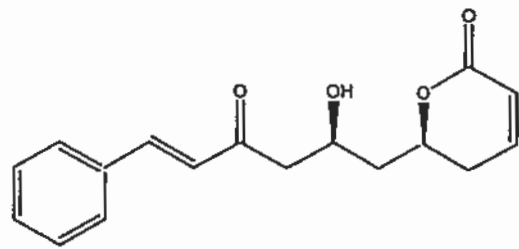
38 2S

37 2S

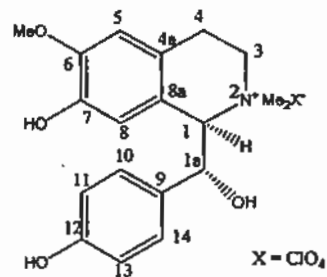
39 2R



40



41



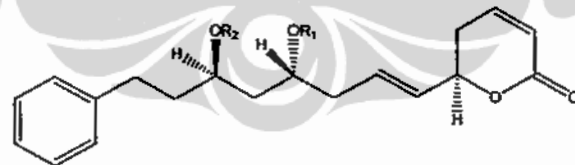
42

2.4.1.3. *C. konishii*

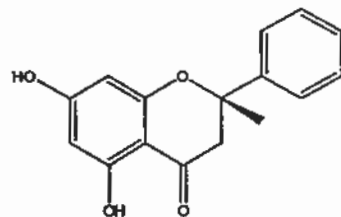
Isolasi kandungan kimia dari batang *C. konishii* Hayata ex Kawakami menghasilkan alkaloida kuarterner; (+)-(1*R*,1*aR*)-1*a*-hidroksimagnokurarin **42** (Lee *et al*, 1993)⁴⁵.

2.4.1.4. *C. strictifolia*

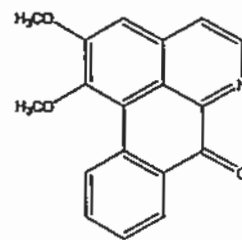
A. strictifolia mengandung dua senyawa α -pyrone yaitu strictifolion **43**, acetonid **44**, senyawa ini telah diisolasi bersama dengan dua senyawa lainnya pinocembrin **45** dan lysicamin **46** (Juliawati *et al*, 2000)²¹.



43 $R_1 = R_2 = H$, 44 $R_1 + R_2 = -C(CH_3)_2$



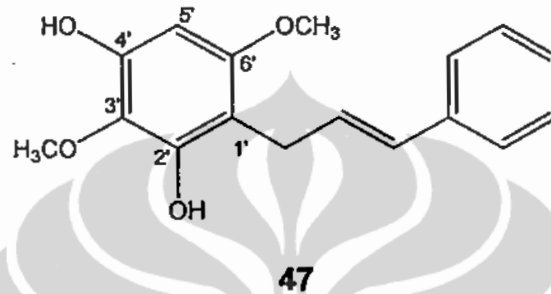
45



46

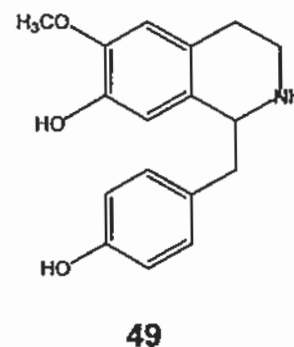
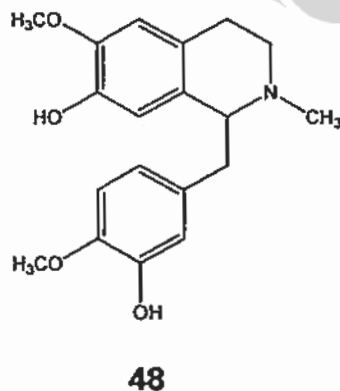
2.4.1.5. *C. costata*

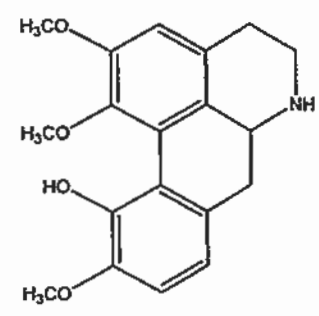
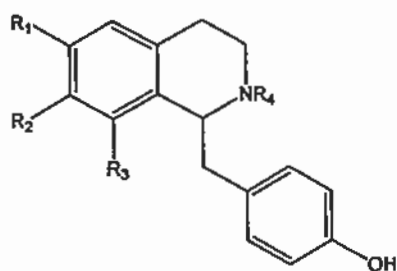
C. costata adalah spesies yang dijumpai di Sulawesi (Wollacea), dari spesies ini berhasil diisolasi senyawa kalkon 2',4'-dihidroksi-3',6'-dimetoksikalkon **47**. Senyawa ini dilaporkan aktif terhadap bakteri *E.coli* (Usman *et al*, 2005)¹².



2.4.1.6. *C. longifolia*

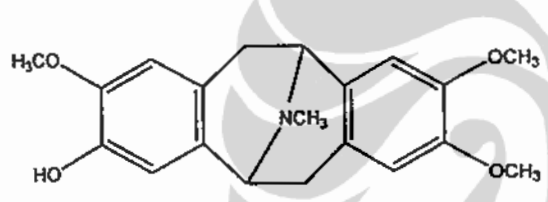
Empat belas alkaloida telah berhasil diisolasi dari daun, batang, dan akar *C. longifolia* Kostermans (Bick *et al*, 1981)²⁴. Alkaloida tersebut adalah retikulin **48**, koklaurin **49**, N-metilkoklaurin **50**, laurotetanin **3**, N-metillaurotetanin **4**, laurolitinsin **1**, isoboldin **33**, norisocorydin **52**, norargemonin **53**, bisnorargemonin **54**, longifolonin **55**, scoulerin **56**, longifolidin **51**, thalifolin **57**.



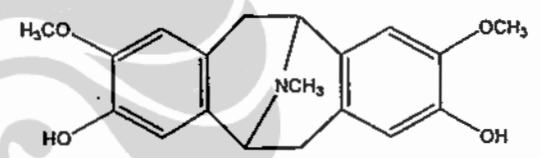


52

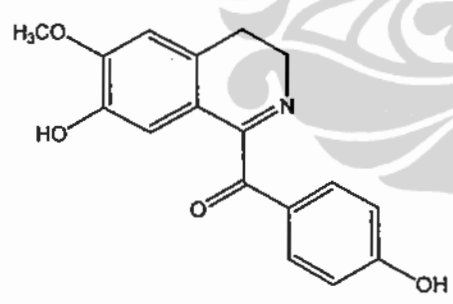
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
50	OCH ₃	OH	H	H
51	H	OCH ₃	OCH ₃	CH ₃



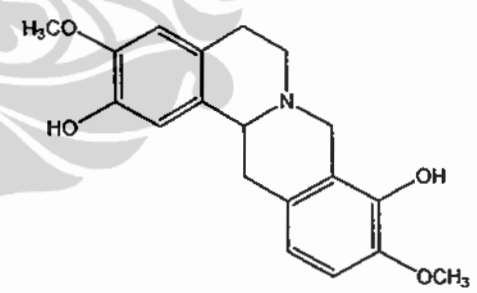
53



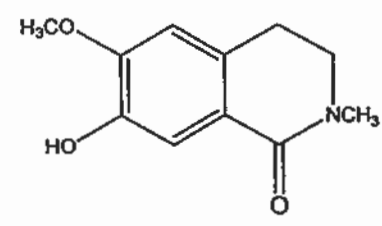
54



55



56



57

Tabel. 2. Senyawa-senyawa kimia dari genus *Cryptocarya*

No	Senyawa	Bagian tanaman	Spesies
1.	(±)-Romnein 24	Daun	<i>C. chinensis</i>
2.	(+)-Cryprochin 25	Daun	<i>C. chinensis</i>
3.	(-)-Isokaryachin-N-oksida 26	Daun	<i>C. chinensis</i>
4.	Isoboldin-β-N-oksida 27	Daun	<i>C. chinensis</i>
5.	1-Hidroksicrypochin 28	Daun	<i>C. chinensis</i>
6.	(+)-Isokaryachin 29	Daun	<i>C. chinensis</i>
7.	(+)-Karyachin 30	Daun	<i>C. chinensis</i>
8.	(-)-Karyachin 31	Daun	<i>C. chinensis</i>
9.	(-)-Isokaryachin 32	Daun	<i>C. chinensis</i>
10.	Isoboldin 33	Daun	<i>C. chinensis</i>
11.	(-)-Munitagin 34	Daun	<i>C. chinensis</i>
12.	Bisnorargemonin 35	Daun	<i>C. chinensis</i>
13.	Kurziflavolacton A 36	Daun	<i>C. kurzii</i>
19.	Kurziflavolacton B 37	Daun	<i>C. kurzii</i>
20.	Kurziflavolacton C 38	Daun	<i>C. kurzii</i>
21.	Kurziflavolacton D 39	Daun	<i>C. kurzii</i>
22.	Kurzilacton 41	Daun	<i>C. kurzii</i>
23.	(+)-(1R, 1a R)-1a-Hidroksimagnokurarin 42	Batang	<i>C. konishii</i>
24.	Strictifolion 43,	Kulit batang	<i>C. strictifolia</i>
25.	Pinocembrin 45	Kulit batang	<i>C. strictifolia</i>
26.	Lysicamin 46	Kulit batang	<i>C. strictifolia</i>
27.	2',4'-Dihidroksi-3',6'-dimetoksikalkon 47	Kulit batang	<i>C. costata</i>
28.	Retikulin 48	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
29.	Koklaurin 49	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
30.	N-Metilkoklaurin 50	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
31.	Longifolidin 51	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
32.	Norisocorydin 52	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
33.	Norargemonin 53	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
34.	Bisnorargemonin 54	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
35.	Longifolonin 55	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
36.	Scoulerin 56	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>
37.	Thalifolin 57	Daun,batang,akar	<i>C. longifolia</i>

2.4.2. *Cryptocarya ferrea* Bl²⁶

C. ferrea adalah tumbuhan berupa pohon ukuran sedang, tinggi sampai 22 m dengan diameter 120 cm. Kulit batang coklat kemerahan dan halus. Bagian dalam kulit batang coklat kekuningan sampai coklat kemerahan dan getah berwarna kekuningan. Daun: panjang tangkai 0,7-2 cm, helai daun berbentuk bulat memanjang atau jorong 12-19 x 5-8 cm, ujung tajam atau tumpul, bentuk bagian dasar cuneatus sampai bulat, permukaan lebih bawah sedikit berbulu. Buah hijau, keunguan bila menjadi masak, berbentuk bulat. Tumbuhan ini tersebar di wilayah Malaysia (Kedah, Kelantan, Terengganu, Pahang, Selangor) dan Indonesia (Jawa).



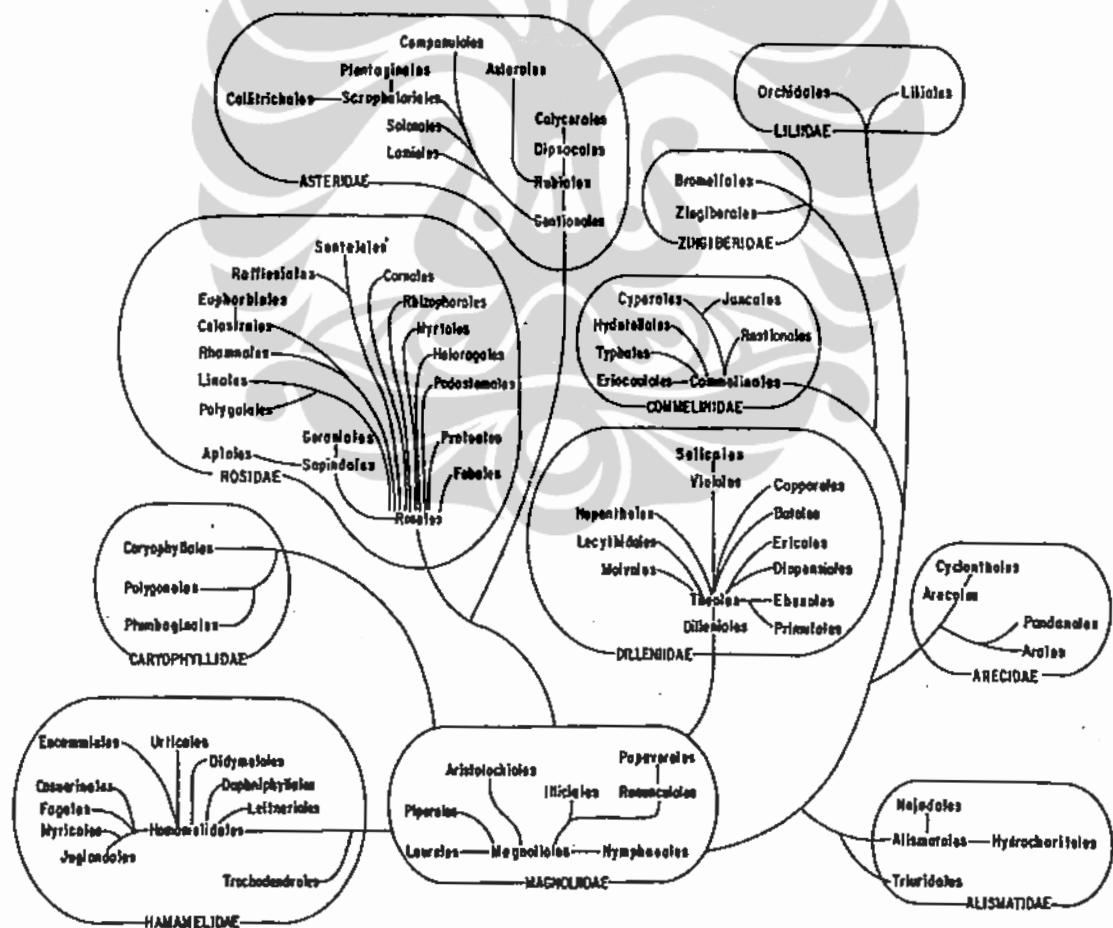
Gambar 4. Daun dan batang *C. ferrea* Bl

2.5. Alkaloida

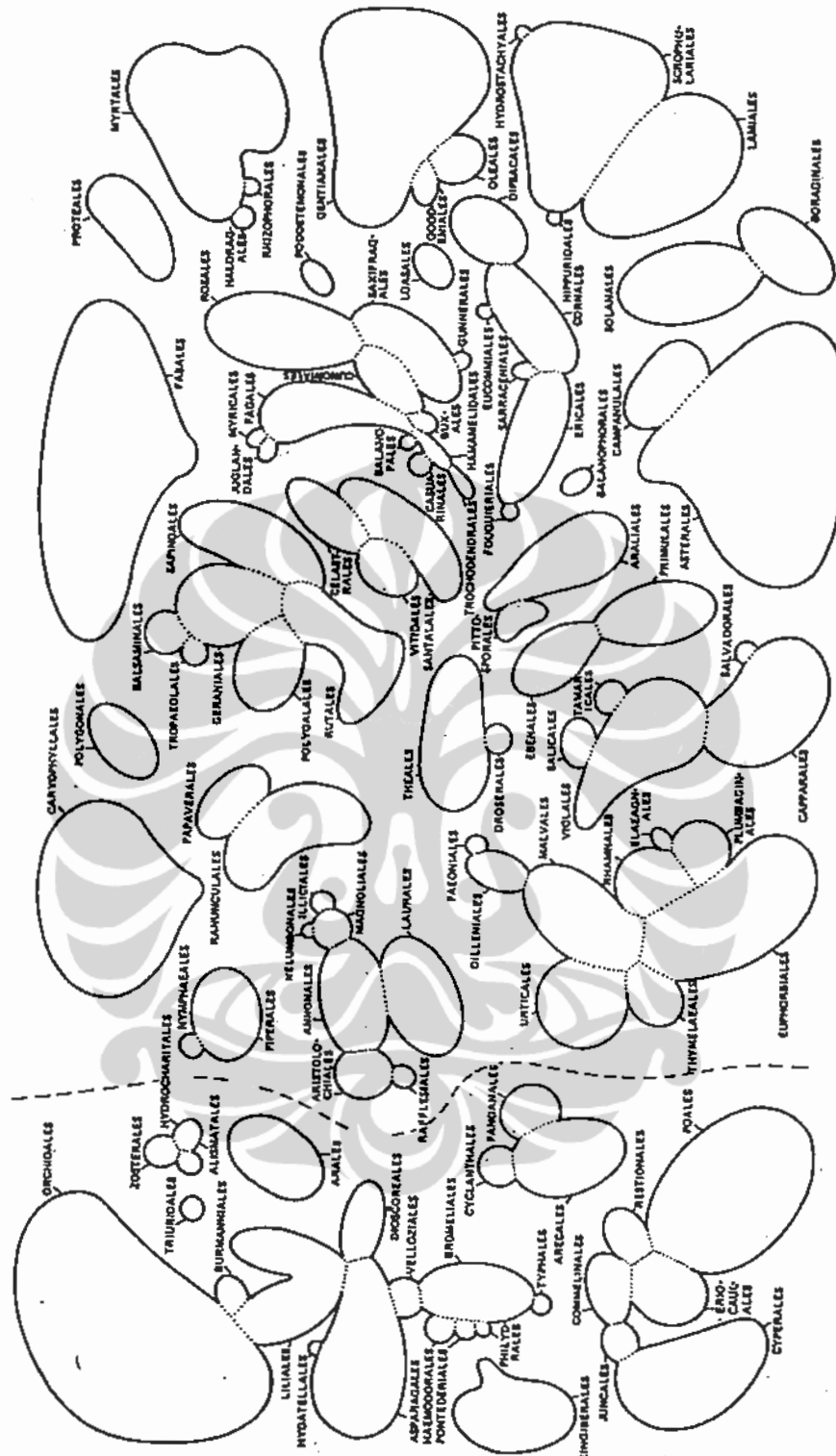
Sejak awal permulaan kimia organik, kelompok senyawa yang besar dan beraneka ragam adalah senyawa yang dikenal sebagai alkaloida. Definisi yang tepat dari istilah alkaloida (seperti alkali) sedikit sulit karena tidak ada batasan yang jelas antara alkaloida dan senyawa amina kompleks yang ada di alam⁴⁶. Walaupun tidak terlalu memuaskan, senyawa yang termasuk alkaloida adalah senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam kombinasi sebagai bagian dari suatu sistem siklik²⁷. Hampir 300 alkaloida telah diisolasi pada 1939 dan paling sedikit 200 diantaranya telah ditetapkan strukturnya dengan baik. Dalam publikasi pertamanya pada 1950 telah tercatat lebih dari 1000 alkaloida. Dengan berkembangnya teknik kromatografi dan instrumen spektroskopik yang canggih, jumlah alkaloida meningkat dengan pesat⁴⁸. Dalam suatu *review* 1978, dilaporkan bahwa hampir 4000 alkaloida telah ditetapkan strukturnya, bahkan menurut Harborne, 1972, lebih dari 5000 alkaloida telah diketahui dan merupakan golongan senyawa tumbuhan sekunder yang terbesar²⁷.

Sumber alkaloida terbesar pada masa lalu adalah dari tumbuhan berbunga, angiospermae, namun sekarang beberapa alkaloida dapat diperoleh dari hewan (muskopiridin dari rusa, kastoramin dari berang-berang), serangga (senyawa pirol dari *sex pheromone*), organisme laut (kandungan racun syaraf dari *Gonyaulax catenella*), mikroorganisme (piosianin dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*) dan tumbuhan rendah

(likopodin dari lumut genus *Lycopodium*). Dalam sistem tumbuhan tinggi, dari Engler, ada 60 ordo, 34 diantaranya memiliki species yang mengandung alkaloida. Familia yang mengandung alkaloida paling penting adalah Liliaceae, Papaveraceae, Compositae, Ranunculaceae, Menispermaceae, Lauraceae, Papaveraceae, Leguminosae, Rutaceae, Loganiaceae, Apocynaceae, Solanaceae, dan Rubiaceae⁴⁷. Ditinjau dari taksonominya familia tersebut tersebar dalam beberapa kluster, baik menurut klasifikasi Cronquist maupun Dahlgren. Diagram Cronquist dan Dahlgren dalam pengelompokan angiospermae tertera pada Gambar 5 dan 6⁸¹.



Gambar 5. Diagram Cronquist 1981 dalam pengelompokan angiospermae⁸¹



Gambar 6. Diagram Dahlgren dalam pengelompokan angiospermae⁸¹

Alkaloida telah dikenal selama bertahun-tahun dan telah menarik perhatian terutama karena pengaruh fisiologinya terhadap binatang menyusui dan pemakaiannya di bidang farmasi, tetapi fungsinya dalam tumbuhan hampir sama sekali kabur. Beberapa pendapat mengenai kemungkinan perannya adalah sebagai berikut⁴⁸.

1. Salah satu pendapat yang dikemukakan pertama kali, sekarang tidak dianut lagi adalah bahwa alkaloida berfungsi sebagai hasil buangan nitrogen seperti urea dan asam urat dalam hewan.
2. Beberapa alkaloida mungkin bertindak sebagai tandon penyimpanan nitrogen meskipun banyak alkaloida ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut meskipun sangat kekurangan nitrogen.
3. Pada beberapa kasus alkaloida dapat melindungi tumbuhan dari serangan parasit atau pemangsa tumbuhan. Meskipun dalam beberapa peristiwa bukti yang mendukung fungsi ini tidak dikemukakan, barangkali ini merupakan konsep yang direka-reka dan bersifat manusia sentris.
4. Alkaloida dapat berlaku sebagai pengatur tumbuh karena, dari segi struktur, beberapa alkaloida menyerupai pengatur tumbuh. Beberapa alkaloid merangsang perkecambahan, yang lainnya menghambat.
5. Semula disarankan oleh Liebig bahwa alkaloida, karena sebagian besar bersifat basa, dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan. Sejalan dengan saran ini, pengamatan menunjukkan bahwa pemberian nikotin ke biakan akar

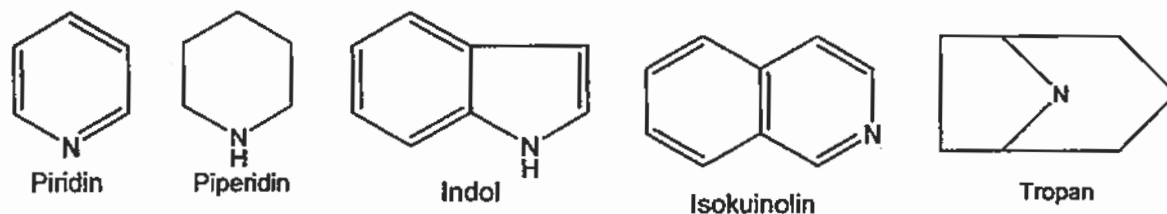
tembakau meningkatkan pengambilan nitrat. Alkaloida dapat pula berfungsi dengan cara pertukaran dengan kation tanah.

2.5.1. Penggolongan Alkaloida

Banyak sistem yang berbeda untuk menggolongkan alkaloida, karena alkaloida memperlihatkan keaneka ragaman dari asalnya secara botanikal dan biokimia, struktur kimianya dan aksi farmakologiknya. Berdasarkan pada spekulasi dari jalur biogenetiknya, Hegnauer menggolongkan alkaloida ke dalam tiga kelompok: alkaloida sebenarnya, protoalkaloida dan pseudoalkaloida^{26,47}.

1. Alkaloida sebenarnya biasanya mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik, alkaloida ini diturunkan dari asam amino. Biasanya alkaloida ini muncul dalam tumbuhan sebagai garam dari asam organik. Contoh dari kelompok ini adalah higrin dan kriptostilin.
2. Protoalkaloida merupakan amina yang relatif sederhana dimana nitrogen asam amino tidak di dalam cincin heterosiklik. Seperti alkaloida sebenarnya, alkaloida ini diturunkan dari asam amino dan berupa basa. Contoh dari alkaloida ini adalah meskalin, efedrin, dan *N,N*-dimetiltriptamin.
3. Pseudoalkaloida tidak diturunkan dari prekursor asam amino dan biasanya basa. Ada dua kelompok penting dalam alkaloida ini yaitu alkaloida steroid seperti konnesin, dan purin seperti kofein.

Alkaloida dapat dikelompokkan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya ⁴⁸:



Purin dan pirimidin lebih cocok dibahas secara terpisah karena kaitan biokimianya dengan asam nukleat. Meskipun begitu, senyawa purin, kafein dan teobromin, sering dimasukkan ke dalam alkaloida, dan perbedaan ini tampaknya lebih bersifat fisiologik bukan kimia.

2.5.2. Penggolongan Alkaloida Isokuinolin

Alkaloida isokuinolin dapat dibagi lagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan kerangka dari strukturnya. Shama, M. dan Moniot, J.L. membagi isokuinolin ke dalam 34 katagori⁴⁹ :

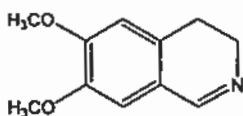
1. Isokuinolin sederhana
2. Benzilisokuinolin
3. isokuinolon
4. Pavin dan isopavin
5. Bisbenzilisokuinolin
6. Baluchistanamin
7. Kularin
8. Dibenzopirrokolin
9. Proaporfin
10. Aporfin
12. Dibenzazonin
13. Protoberberin
retroprotoberberin
14. Sekoberberin
15. Benzofenantridin
16. Arilisokuinolin
17. Protopin
18. Ftilideisokuinolin
19. Spirobenzylisokuinolin
20. Rhoeadin
21. Emetin

- | | |
|---------------------------------------|--|
| 11. Pakistanamin | 22. Fenetilisokuinolin |
| 23. Dimer aporfin-benzilisokuinolin | 29. Homoaporfin dan Homoproaporfin |
| 24. Dimer aporfin-pavin | 30. 1-Fenilisokuinolin |
| 25. Oksoaporfin | 31. N-benziltetrahidroisokuinolin |
| 26. Fenantren | 32. Cherilin (a 4-arisokuinolin |
| 27. 4,5-Dioksoaporfin | 33. Azafluoranten dan tropoloisokuinolin |
| 28. Asam aristolokit dan aristolaktam | 34. Eupolauridin (a 1,6-diazafluoranten) |

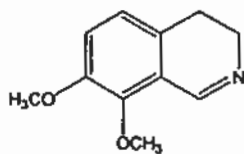
2.5.3. Alkaloida Isokuinolin Sederhana

Alkaloida isokuinolin sederhana adalah tipe isokuinolin yang paling sederhana dan biasanya bisiklik. Alkaloida ini diturunkan dari tetrahidroisokuinolin dan dijumpai dalam bentuk aromatik atau berbentuk aromatik sebagian. Gugus fungsi dalam cincin B sering tersubstitusi dengan metil atau hidrogen. Karbon C-6 dan C-7 biasanya mempunyai gugus metoksi atau hidroksi²⁶.

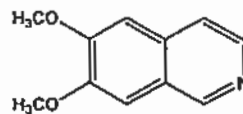
Alkaloida isokuinolin sederhana telah dilaporkan dalam *Cactaceae*, *Leguminosae* dan *Papaveraceae*⁴⁷. Contoh isokuinolin sederhana adalah dehidroheliamin 58, dehidrolemaireocerein 59, backerbergin 60, dan isobackerbergin 61²⁶.



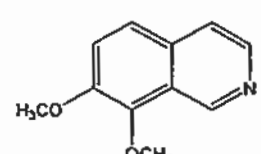
58



59



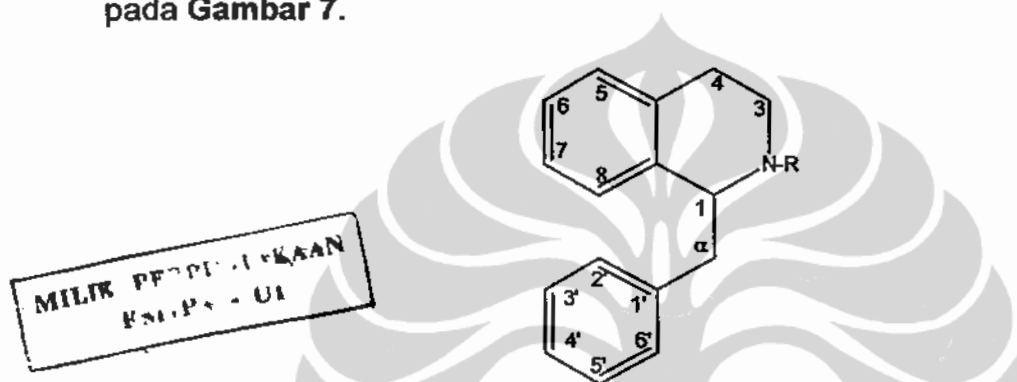
60



61

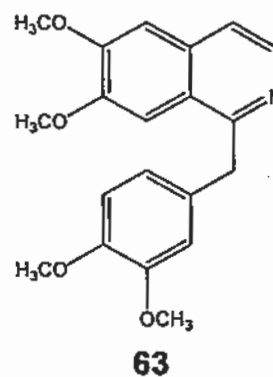
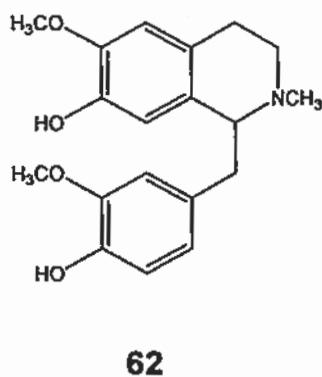
2.5.4. Alkaloida Benzilisokuinolin²⁶

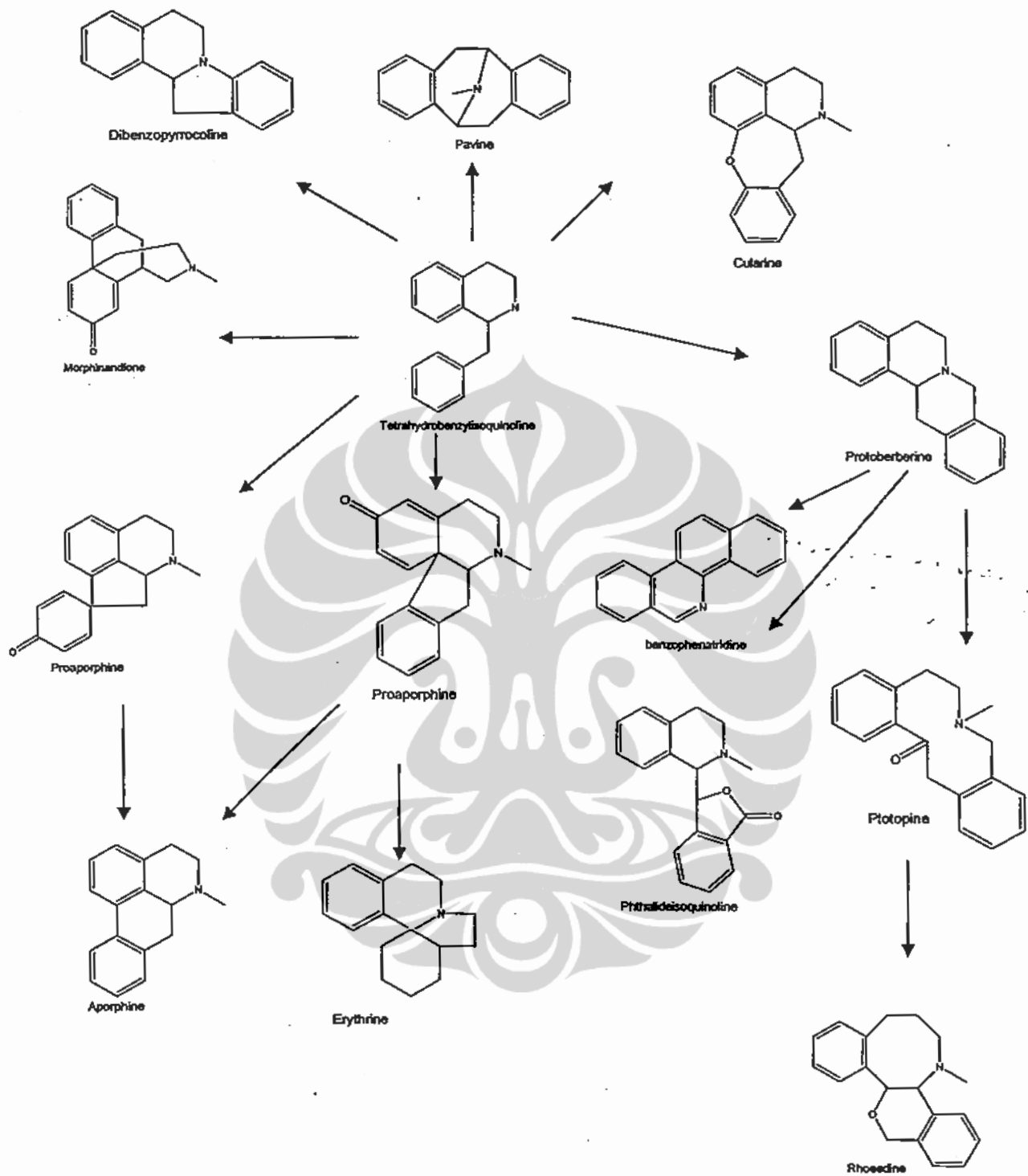
Alkaloida tipe benzilisokuinolin diturunkan dari fenilalanin atau tirosin. Ada dua jenis benzilisokuinolin yaitu 1,2,3,4-tetrahidrobenzilisokuinolin seperti orientalini **62** dan jenis aromatik semua seperti papaverin **63**. Struktur umum dari benzilisokuinolin serta penomoran atom karbonnya dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Struktur benzilisokuinolin

Alkaloida benzilisokuinolin tersebar dalam beberapa famili yaitu Annonaceae, Lauraceae, Menispermaceae, Papaveraceae, Fumariaceae, Ranunculaceae, dan Berberidaceae. Skema hubungan biogenetika dari beberapa golongan besar alkaloida yang diturunkan dari tetrahidroisokuinolin dapat dilihat pada **Gambar 8**.





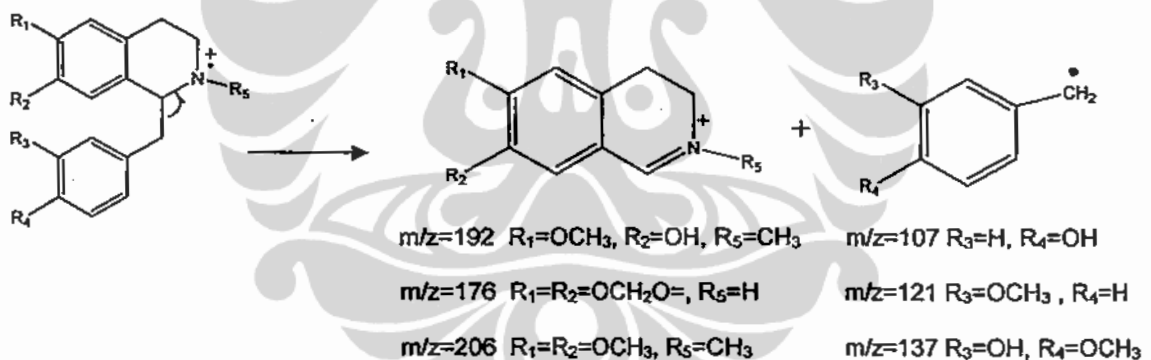
Gambar 8. Hubungan biogenetika dari golongan besar alkaloida yang diturunkan dari prekursor tetrahydrobenzylisokuinolin.

Spektrum ^1H NMR dari benzilisokuinolin memperlihatkan suatu gambaran yang menarik disebabkan adanya satu pusat asimetri pada C-1. Proton H-1 memperlihatkan suatu triplet atau doublet doublet dengan pergeseran kimia (dalam CDCl_3) antara δ 3,6-3,7. Sinyal dari proton-proton alifatik untuk H-3, H-4, H-5 dan H- α , umumnya muncul pada δ 2,5-3,5. Adanya metilendioksi akan memperlihatkan resonansi pada δ 5,6-6,0 dalam bentuk suatu singlet atau doublet, gugus ini umumnya terikat pada C-6,7 atau C-3',4'. Gugus metoksi dari benzilisokuinolin, biasanya beresonansi pada δ 3,5-4,0. Umumnya, gugus N-metil muncul pada daerah δ 2,4-2,6.

Dalam spektrum ^{13}C NMR, biasanya C-1 beresonansi pada δ 52-58, tetapi bila ada gugus N-metil beresonansi pada δ 60-67. Sinyal untuk karbon gugus N-metil, metoksi, metilendioksi muncul berturut-turut pada δ 40-45, 54-63, dan 100-103. Untuk karbon-karbon kuartener pada posisi 4a, 8a, dan 1', beresonansi pada δ 115-132. Karbon-karbon sp^2 tidak tersubstitusi umumnya muncul pada δ 100-130 dan karbon-karbon pada posisi C- α dan C-3 berturut-turut muncul pada δ 38-40 dan δ 45-46. Pergeseran kimia untuk C-4 dengan N-metil dalam struktur akan muncul pada δ 23-24, tetapi bila tidak mengandung gugus N-metil akan muncul pada δ 28-29. Adanya suatu N-oksida mempunyai efek *deshielding* yang besar pada C-1, C-3 dan gugus N-metil biasanya muncul pada δ 69-71, δ 60-64, dan δ 52-55.

Dalam spektrum massa benzilisokuinolin, pemutusan utama terjadi antara C-1 dan C- α membentuk ion imina. Fragmentasi pada m/z 192 muncul sebagai suatu puncak dasar yang menunjukkan bahwa karbon C-6 dan C-7

tersubstitusi berturut-turut dengan gugus metoksi dan hidroksi dan di dalam struktur mengandung gugus *N*-metil. Jika C-6 dan C-7 keduanya tersubstitusi dengan gugus metoksi puncak pada m/z 206 akan muncul sebagai puncak dasar. Fragmentasi pada m/z 176 yang muncul sebagai puncak dasar menandakan karbon C-6 dan C-7 terikat dengan metilen dioksi tanpa *N*-metil dalam struktur. Senyawa-senyawa yang mempunyai gugus metoksi dan hidroksi dalam cincin C memperlihatkan puncak pada m/z 137. Dua gugus metoksi yang terikat pada C-3' dan C-4' memperlihatkan puncak fragmentasi pada m/z 151 dan satu gugus hidroksi dalam cincin C memperlihatkan puncak pada m/z 107. Ilustrasi dari pola fragmentasi massa benzilisokuinolin diperlihatkan pada Gambar 9.

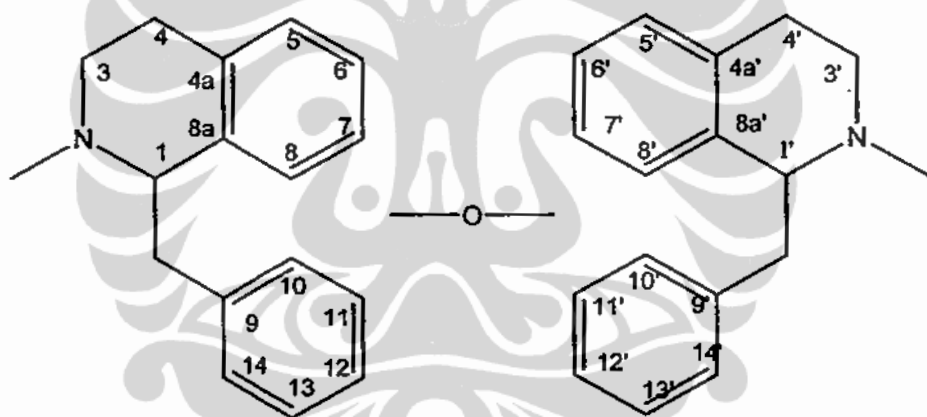


Gambar 9. Ilustrasi pola fragmentasi massa dari benzilisokuinolin

Spektrum ultraviolet benzilisokuinolin memperlihatkan suatu maksimum antara 280 dan 296 nm yang sedikit dipengaruhi oleh penambahan substitusi aromatik. Senyawa yang mempunyai metilendioksi dan sepenuhnya aromatik memperlihatkan kenaikan dan intensitas absorpsi maksimum.

2.5.5. Alkaloida Bisbenzilisokuinolin (BBIK)

Alkaloida BBIK terdiri dari dua unit benzilisokuinolin yang terikat satu sama lain oleh satu, dua atau tiga ikatan⁵³. Kebanyakan BBIK dibentuk dari kondensasi dua unit *N*-metilkoklaurin (koklaurin), sebagian kecil dibentuk dari kondensasi satu unit *N*-metilkoklaurin dengan satu unit reticuline, terakhir dijumpai dimer yang diturunkan dari ikatan antara dua unit retikulin. Berdasarkan unit pembentuk dimer, maka BBIK dapat dibagi ke dalam tiga kelompok: biskoklaurin, koklaurin-retikulin, dan bisretikulin⁵¹. Kerangka dan sistem penomoran BBIK adalah sebagai berikut^{54,55}.



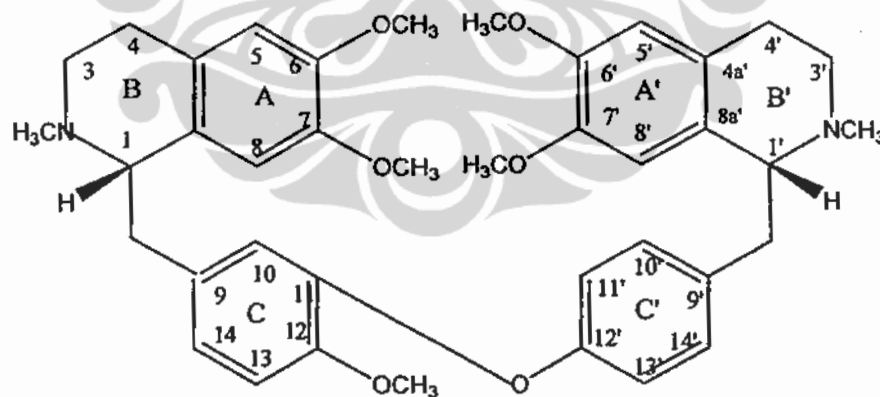
Biasanya kedua unit tetrahydrobenzylisoquinolin bergabung melalui ikatan eter (jembatan diaril eter), namun dalam beberapa kasus dihasilkan dari suatu hubungan karbon-karbon yang menghasilkan suatu sistem bifenil tersubstitusi. Ada beberapa tempat di mana asalnya jembatan itu terbentuk yaitu ekor ke ekor, kepala ke ekor dan kepala ke kepala. Berdasarkan jenis ikatan, asalnya jembatan dan banyaknya jembatan, maka BBIK dikelompokkan menjadi lima kelompok besar dan 27 subkelompok⁵².

Alkaloida BBIK banyak dijumpai terutama dalam familia Annonaceae, Berberidaceae, Menispermaceae, Monimiaceae, Ranunculaceae, dan beberapa dijumpai dalam familia Aristolochiaceae, Euphorbiceae, Hemandiceae, Magnoliceae, dan Lauraceae^{53,56}. Senyawa dari alkaloid ini dilaporkan mempunyai banyak aktivitas farmakologik seperti antiaritmia, menurunkan tekanan darah, *platelet-aggregation-inhibiting*, antagonis histamin, dan anti protozoa berflagelata^{56,57}. Beberapa contoh alkaloid BBIK dapat dilihat di bawah ini.

1). BBIK yang mengandung satu jembatan diaril eter.

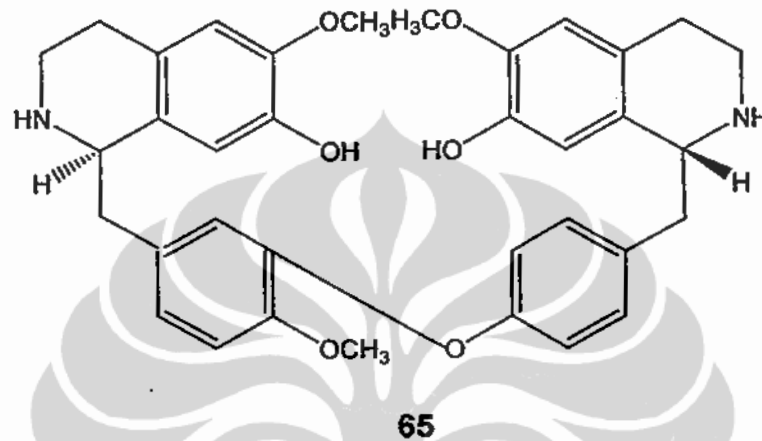
A. 11-12'

(-)-(1*S*,1'*R*)-*O,O'*-dimetilgrisabin **64**, alkaloida ini diisolasi dari daun *Phaeanthus vietnamensis* (Annonaceae) dan memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* (Sedmera et al, 1990)⁵⁸.



64

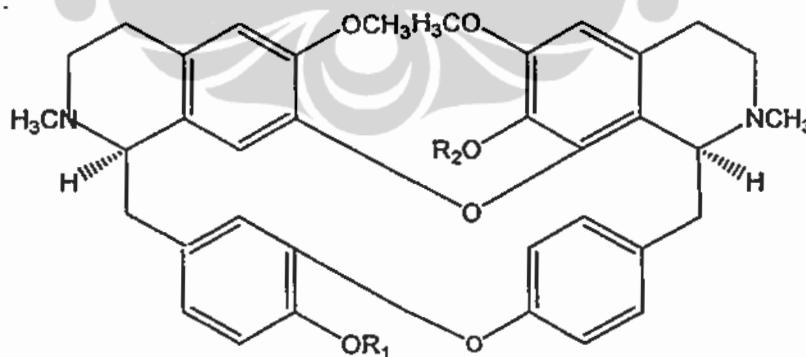
(+)-Costaricin **65** adalah alkaloida yang diisolasi dari kulit batang *Nectandra salicifolia* (Lauraceae) dan mempunyai bioaktivitas sebagai antiplasmodium (Böhlke et al, 1996)⁵⁹.



2). BBIK yang mengandung dua jembatan diaril eter.

B. 7-8', 11-12'

Alkaloida oksiakantin **66**, obaberin **67**, aromolin **68**, diisolasi dari kulit batang akar *Berberis vulgaris* subsp. *Australis* (Berberidaceae)⁶⁰.



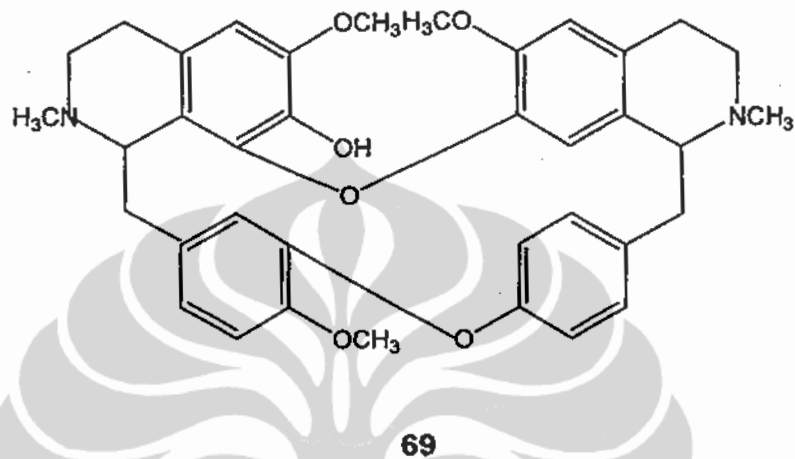
66 $R_1 = H, R_2 = CH_3$

67 $R_1 = R_2 = CH_3$

68 $R_1 = R_2 = H$

C. 8-7', 11-12'

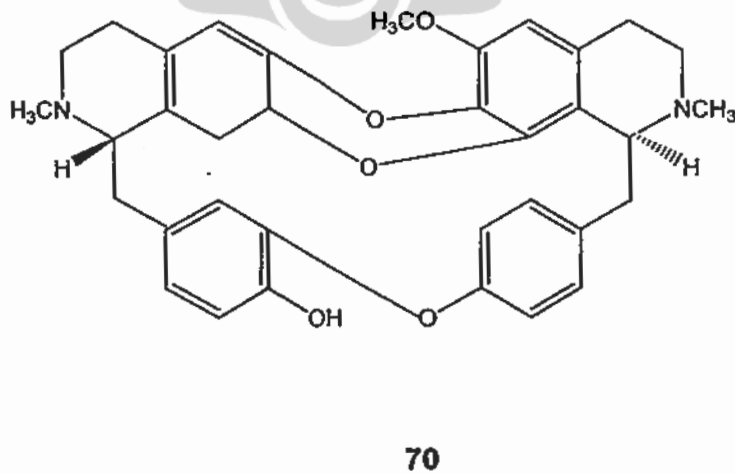
Fangchinolin **69** adalah alkaloida yang diisolasi dari *Strychnopsis thouarsii* (Menispermaceae), mempunyai potensi sebagai antiplasmodium dan anti tumor⁶¹.



3). BBIK yang mengandung tiga jembatan diaril eter

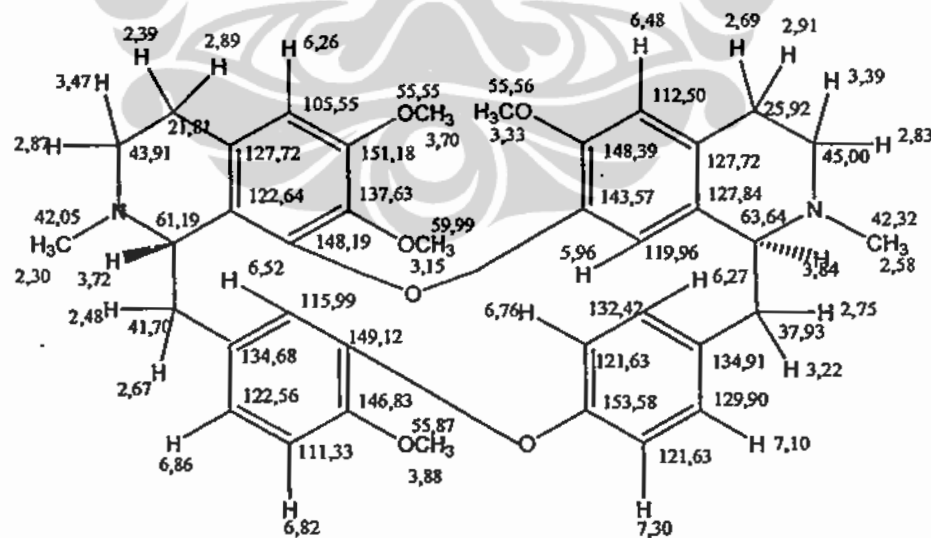
D. 6-7', 7-8', 11-12'

Contoh dari kelompok ini adalah alkaloida koskolin **70** yang diisolasi dari kulit akar *Epinetrum villosum* (Menispermaceae). Alkaloida ini memperlihatkan aktivitas antibakteri dan antifungi (Otsudi et al, 2005).



Pada umumnya spektrum ^1H NMR BBIK relatif mirip dengan benzilisokuinolin, dan biasanya puncak-puncaknya tumpang tindih dan sukar untuk menandainya. Adanya fungsi *N*-oksida, seperti dalam benzilisokuinolin, memiliki efek *deshielding* besar pada C-1, C-3, C-1', C-3' dan gugus *N*-metil. Gugus *N*-metil beresonansi dalam daerah δ 2,3-2,6. Gugus metoksi yang terikat pada benzen mempunyai pergeseran kimia yang normal pada δ 3,3-3,8. Proton-proton alifatik muncul pada δ 2,3-3,9.

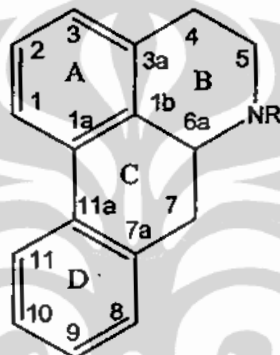
Dalam spektrum ^{13}C NMR, banyak sinyal yang berpasangan dan mencerminkan adanya sifat yang mendekati kesimetrian dalam molekul. Sinyal karbon metoksi muncul pada δ 54,0-56,0. Dua gugus *N*-metil biasanya saling tumpang tindih pada δ 41,0-43,0. Contoh pergeseran kimia dari (+)-tetrandrine **71**²⁶ diberikan dalam Gambar 10 di bawah ini.



Gambar 10. Pergeseran kimia ^1H NMR dan ^{13}C NMR dari (+)-tetrandrine **71**.

2.5.6. Alkaloida Aporfin

Aporfin merupakan kelompok terbesar dari alkaloida isokuinolin dinyatakan dalam struktur dasar seperti pada Gambar 11. Alkaloida ini tersebar dalam beberapa familia seperti Annonaceae, Lauraceae, Berberidaceae, Magnoliaceae, Menispermaceae, Ranunculaceae, Monimiaceae, Papaveraceae dan Rhamnaceae^{2,3}.



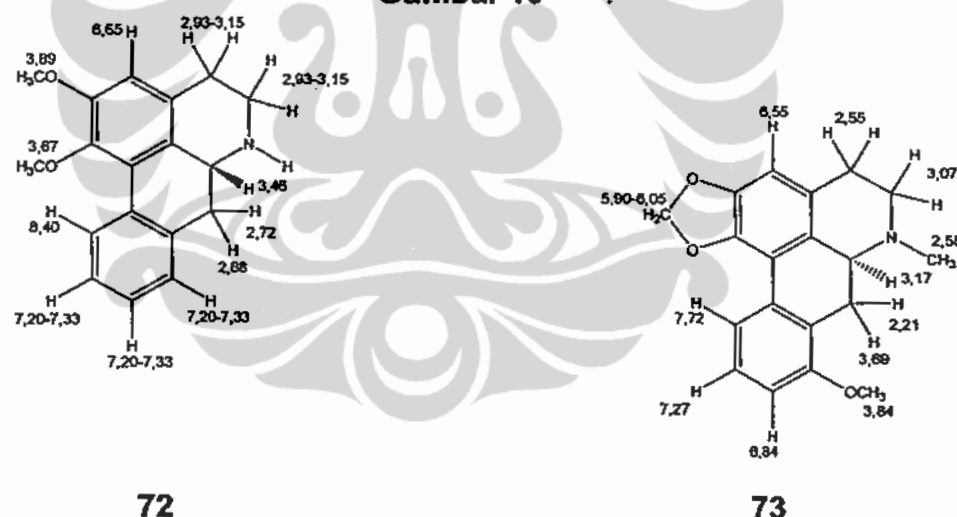
Gambar 11. Struktur dan penomoran kerangka aporfin

Struktur alkaloida ini yang paling banyak dijumpai adalah struktur dengan pola oksigenasi. Posisi C-1 dan C-2 selalu teroksidasi, baik dengan gugus hidroksi, metilendioksi atau metoksi. Dalam beberapa kasus satu gugus fungsi hidroksi atau metil terletak pada C-7, sebagai contoh pachyconfin, guattouregin, dan melosmin.

Pada proton NMR daerah untuk proton-proton gugus metoksi ada pada pergeseran kimia 3,4-3,9 ppm dan proton aromatic ada pada pergeseran kimia 6,5-8,2 ppm. Proton-proton dari gugus metoksi yang paling tak terperisai (*deshielded*) adalah metoksi yang terikat pada C-2, C-9, dan C-10 yaitu pada pergeseran kimia 3,8-3,9 ppm dan gugus metoksi yang paling

terperisai (*shielded*) adalah metoksi pada C-1 yaitu 3,4-3,7 ppm. Gugus metoksi C-11 muncul pada daerah δ 3,6-3,8. Pergeseran kimia dari sinyal metoksi dalam posisi C-1 dan C-11 muncul pada medan tinggi disebabkan sifat anisotropik dari cincin benzena, di mana gugus metoksi terhalang secara sterik. Proton-roton metoksi didorong ke luar dari bidang aromatik, yang merupakan area yang terperisai (*shielded*). Cincin A dan D saling berhadapan, menyebabkan proton-proton dari gugus metoksi dapat menata dirinya pada bagian atas cincin tetangga, yang terperisai, memberikan suatu pergeseran kimia lebih ke arah medan tinggi (*upfield*). Contoh pergeseran kimia dari proton nomuciferine **72**, dan stephanine **73** dapat dilihat pada

Gambar 10^{26, 47}.

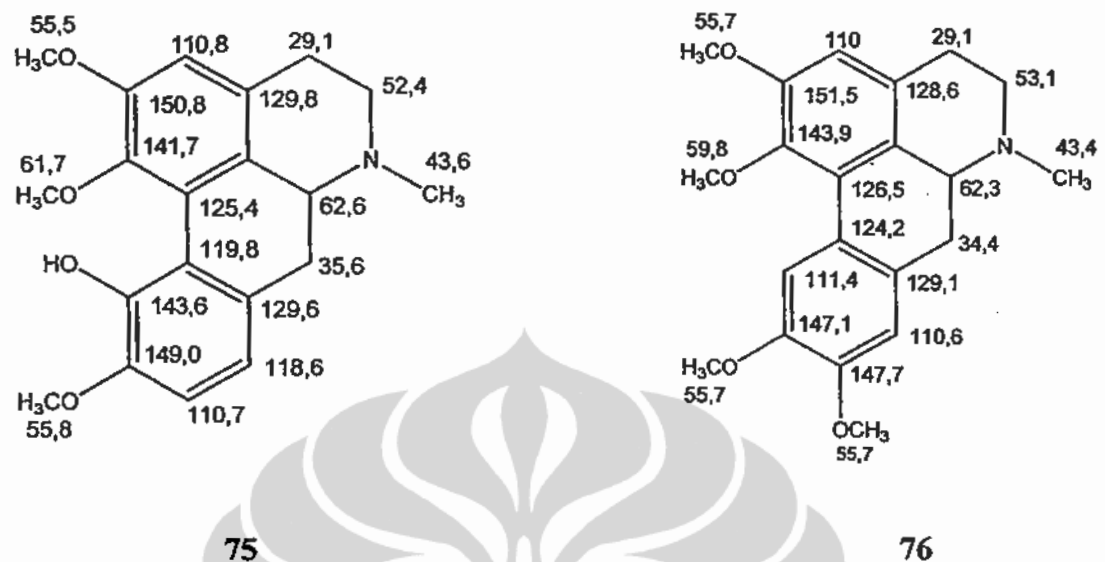


Proton aromatik yang paling *downfield* adalah H-11 yaitu antara δ 7,5-8,2, tergantung pada gugus tetangganya pada C-10. Adanya suatu gugus pada C-10 akan menyebabkan H-11 terperisai. Proton pada C-3 paling terperisai dan muncul dalam bentuk singlet pada δ 6,5-6,6. Adanya proton-proton yang lain muncul pada δ 6,7-7,4. Adanya gugus metoksi pada C-11

menyebabkan proton-proton pada C-8 dan C-9 mempunyai perbedaan pegeseran kimia yang signifikan, namun jika gugus hidroksi ada pada C-11 pergeseran kimia proton-proton pada C-8 dan C-11 seakan-akan saling tumpang tindih dan tidak ada kopling yang teramati⁴⁷.

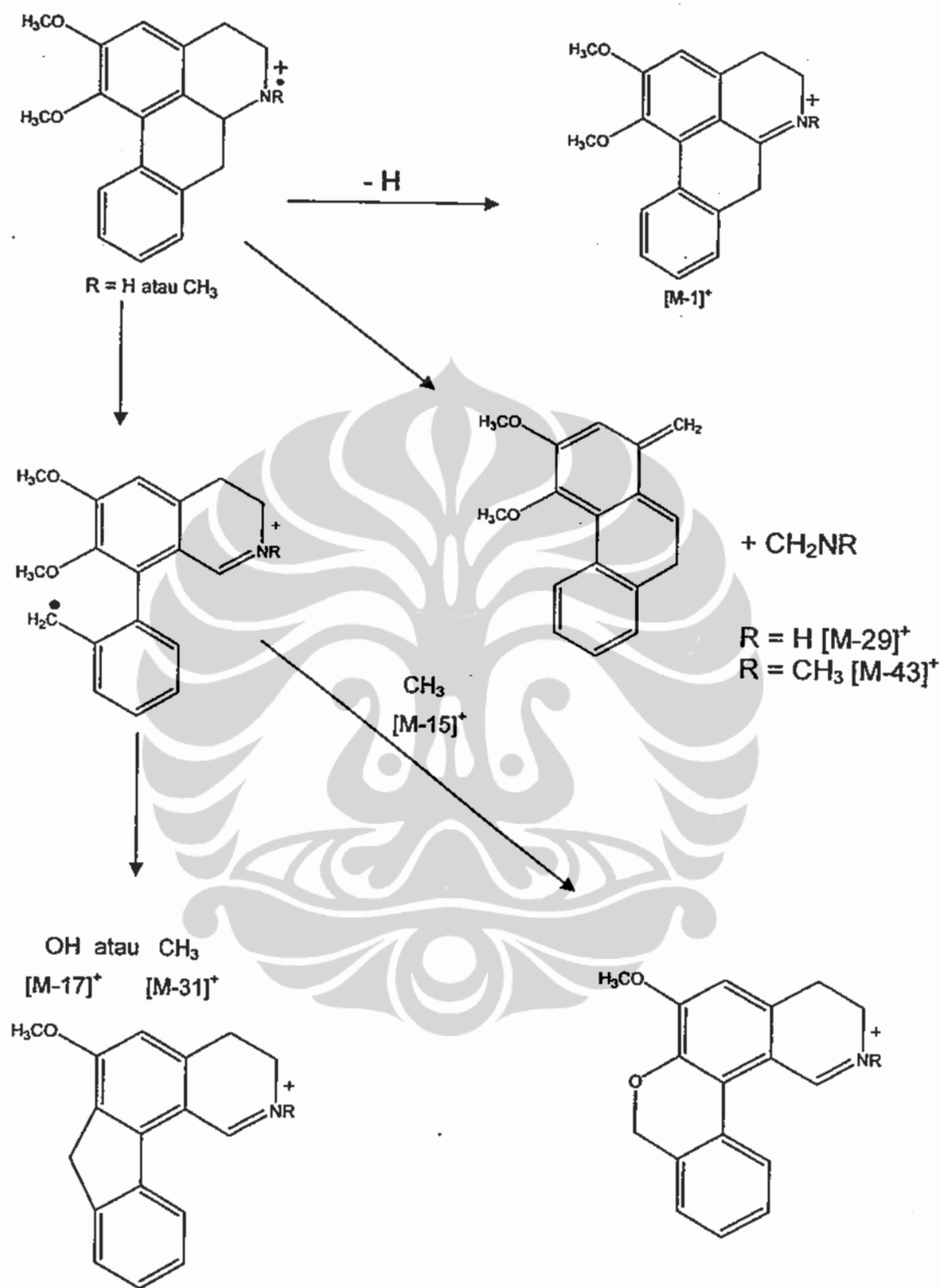
Adanya gugus *N*-metil dalam aporfin muncul sekitar δ 2,5 dalam CDCl_3 . Gugus metilen dioksid, jika ada pada posisi C-9, C-10, muncul sebagai singlet pada δ 5,90, tetapi jika pada C-1, C-2, sistem bifenil yang berpilin (*twisted*) menginduksi medan magnet yang tidak sama antara proton-proton metilen, sehingga muncul sebagai doublet ($J \approx 1,5$ Hz) sekitar 5,9 dan 6,1 ppm.

Pada umumnya, karbon-karbon sp^3 tak tersubstitusi dalam spektrum ^{13}C NMR beresonansi pada δ 105-115. Karbon pada posisi C-4, dan C-7 berturut-turut muncul pada δ 28-30 dan 34-36. Pergeseran kimia C-5 dan C-6a yang bertetangga dengan atom nitrogen berturut-turut muncul pada δ 53-62. Karbon C-1 dan C-2 dapat tersubstitusi dengan gugus metoksi, hidroksi atau metilendioksi. Pergeseran kimia dari gugus metoksi muncul pada δ 5,0-60,0 ppm. C-1 dan C-2 tersubstitusi beresonansi lebih *downfield* pada δ 140,0-150,0. Substitusi pada karbon *N*-metil dan metilendioksi muncul pada δ 41,0-44,0 dan 100,0-101,0. Pergeseran kimia ^{13}C NMR dari isocorydine 74 dan glaucine 75 dapat dilihat pada **Gambar 12**²⁶.



Gambar 12. Pergeseran kimia ^{13}C NMR dari isocorydin **75** dan glaucin **76**.

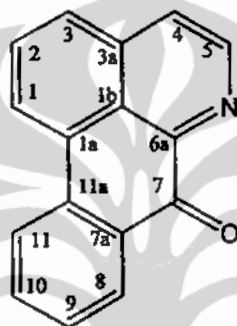
Dasar fragmentasi dari spektrum massa aporfin terjadi oleh eliminasi satu atom hidrogen pada C-6a. Puncak $[\text{M}-1]^+$ selalu memberikan puncak dasar dari molekul. Puncak-puncak tambahan pada $[\text{M}-15]^+$ dan $[\text{M}-31]^+$ terutama disebabkan kehilangan gugus metil atau metoksi dari satu substituen metoksi. Jika ada substituen hidroksil dalam cincin D, satu puncak $[\text{M}-17]^+$ akan muncul. Aporfin dengan gugus fungsi N-metil atau NH akan memperlihatkan satu puncak pada $[\text{M}-43]$ dan $[\text{M}-29]^+$, disebabkan hilangnya gugus metilen imina *via* mekanisme retro Diels-Alder. Ion-ion yang terbentuk mengeliminasi gugus metoksi atau metil yang memberikan puncak fragmentasi pada $[\text{M}-74]^+$, $[\text{M}-58]^+$, $[\text{M}-60]^+$ dan $[\text{M}-44]^+$. Skema pola fragmentasi dari aporfin diperlihatkan pada **Gambar 13**.



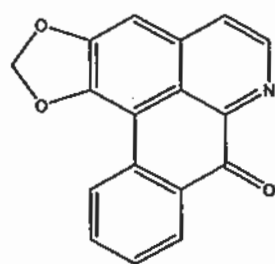
Gambar 13. Prinsip fragmentasi massa aporfin

2.5.7. Alkaloida Oksoaporfin²⁶

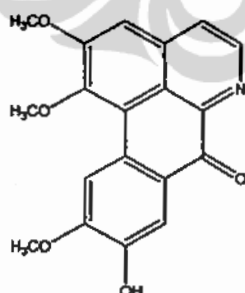
Oksoaporfin menampilkan keadaan teroksidasi yang tertinggi dari kerangka aporfin. Tersebar luas paling tidak dalam sembilan familia tumbuhan dan biasanya muncul mengikuti alkaloid aporfin. Sistem penomoran sama seperti aporfin. Biasanya berwarna seperti merah, jingga dan kuning karena tingkat aromatisitasnya yang tinggi.



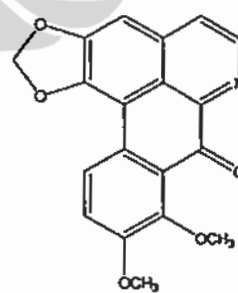
Alkaloida oksoaporfin yang pertama diisolasi adalah liriodenin **77**, suatu kandungan berwarna kuning terang dari *heartwood* tanaman tulip (*Magnoliaceae*). Contoh lain tipe alkaloida oksoaporfin yaitu atherolin **78**, oksokrebanin **79**, dan oksofoebin **80**.



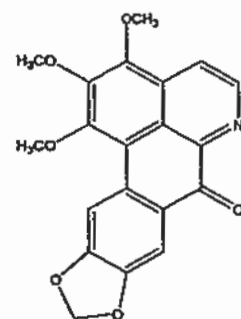
77



78



79



80

Dalam spektrum ¹H NMR, pergeseran kimia dari gugus metoksi yang terikat pada C-1 muncul sekitar δ 3,5 sementara itu gugus metoksi pada

posisi C-2, C-9 dan C-10 beresonansi sekitar δ 3,8. Pergeseran kimia dari gugus metoksi pada posisi C-11 ada sekitar δ 3,7. Pergeseran yang relatif lebih upfield teramati pada posisi C-1 dan C-11 disebabkan karakter anisotropik cincin benzena. Dalam oksoaporfin, H-4 dan H-5 akan memberikan satu ciri doublet sistem AB pada sekitar δ 7,6 dan 8,7 dengan kopling konstan kira-kira 5,4 Hz. Kecilnya nilai kopling konstan ini disebabkan oleh atom nitrogen tetangga yang elektronegatif. Gugus metilendioksi memberikan puncak singlet sekitar δ 6,0 karena adanya tetangga karbonil C-7 yang memberikan suatu efek induktif. Proton-proton C-3 muncul pada medan yang lebih tinggi daripada hidrogen aromatik dan proton C-11 biasanya paling *deshielded*.

Dalam spektrum ^{13}C NMR, karbon-karbon sp^2 dengan satu hidrogen akan muncul pada δ 105-114 sementara itu karbon-karbon sp^2 pada posisi 1a, 1b, 7a, dan 11a beresonansi pada δ 119-133. Gugus karbonil pada C-7 biasanya muncul pada δ 180-182. Metilendioksi biasanya muncul pada δ 100-102. Pergeseran kimia gugus metoksi diperlihatkan pada δ 55-62.

Spektrum ultraviolet oksoaporfin biasanya diukur dalam etanol atau metanol. Namun, dapat juga dalam sikloheksana atau dalam asam sulfat pekat. Suatu turunan 1,2 metilendioksi memberikan kenaikan ke arah pergeseran batokromik dalam daerah 235-250 nm. Pada pengasaman oksoaporfin memperlihatkan pergeseran batokromik atau spektrum bergeser ke arah panjang gelombang dengan puncak bergelombang antara 325 dan 460 nm.

2.6. Kanker dan Penyebabnya

Kanker adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler. Sifat umum dari kanker adalah sebagai berikut: (1) pertumbuhan berlebihan umumnya berbentuk tumor; (2) gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan sehingga mirip jaringan mudigah; (3) bersifat invasif, mampu tumbuh di jaringan sekitarnya (perbedaan pokok dengan jaringan normal); (4) bersifat metastatik, menyebar ke tempat lain dan menyebabkan pertumbuhan baru; (5) memiliki heriditas bawaan (*acquired heredity*) yaitu turunan sel kanker juga dapat menimbulkan kanker; dan (6) pergeseran metabolisme ke arah pembentukan makromolekul dari nukleosida dan asam amino serta peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel⁶³.

Sel kanker mengganggu tuan rumah karena menyebabkan (1) desakan akibat pertumbuhan tumor; (2) penghancuran jaringan tempat tumor berkembang atau bermetastasis; dan (3) gangguan sistemik lain akibat sekunder dari pertumbuhan sel kanker⁶³.

Sel tubuh yang mengalami keganasan ini disebabkan mutasi protoonkogen, mutasi dapat terjadi karena karsinogen dan gangguan pada perbaikan sel. Apabila kerusakan gen tidak dapat diperbaiki, maka akan terbentuk mutan. Mutan merupakan gen yang mengalami perubahan urutan basa nukleotida karena penambahan, pengurangan atau perpindahan basa nukleotida dalam jumlah kecil maupun besar. Karsinogen yang mendorong

peningkatan insiden kanker adalah bahan kimia, virus onkogenik, radiasi dan lainnya. Bahan kimia yang dapat menyebabkan kanker antara lain polyvinil klorida (PVC), polychlorinated biphenyl (PCB) dan poliaromatis hidrokarbon (PAH). Virus yang dihubungkan dengan terjadinya kanker antara lain virus hepatitis B dan C serta virus human papiloma pada kanker serviks. Radiasi ultra violet, sinar X, dan radionuklida telah terbukti bertanggung jawab terhadap beberapa kanker pada manusia seperti kanker kulit dan leukemia^{64,65,66}.

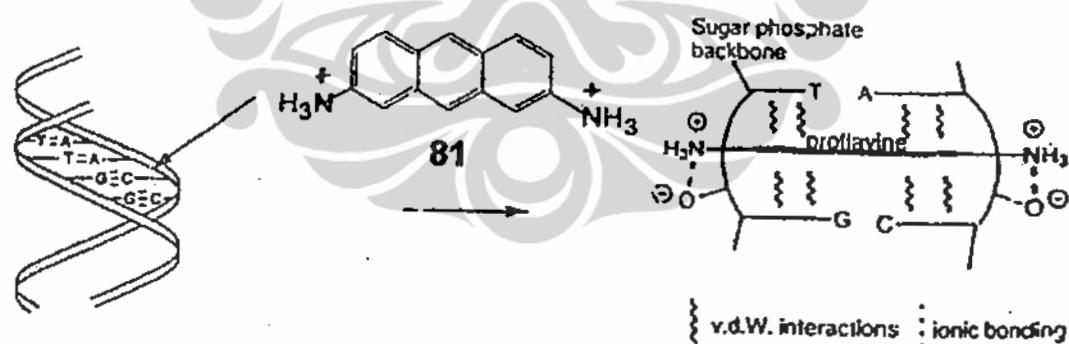
2.6.1. Antikanker dan Mekanisme Kerjanya

Jenis pengobatan kanker yang digunakan pada dasarnya sama yaitu dengan pembedahan (operasi), penyinaran (radioterapi), pengobatan dengan hormon, obat-obat pembunuh sel kanker/sitostatika (kemoterapi) dan tumbuhan obat⁶⁴.

Beberapa bahan kimia baik sintesis maupun bahan alam yang sudah diketahui strukturnya untuk pengobatan kanker (antikanker) telah dilakukan dan hasilnya menunjukkan adanya perbaikan DNA untuk kasus stadium awal atau bahkan tingkat lanjut. Kerja antikanker dapat dibedakan menjadi beberapa mekanisme yaitu: interkalator DNA, senyawa pengalkilasi, pemutusan DNA rantai ganda, depolimerisasi mikrotubulus, antimetabolit, dan pengikatan m-RNA. Untuk yang terakhir ini masih bersifat teoritis dan belum ditemukan senyawa antikankernya⁶⁶.

2.6.1.1. Interkalator DNA

Senyawa kimia sebagai interkalator dapat menyisipkan ke pasangan basa dalam DNA rantai ganda sehingga mencegah replikasi DNA akibatnya tidak terjadi sintesis protein. Obat-obat yang beraksi seperti ini bermanfaat sebagai zat-zat antibakteri dan antitumor. Senyawa antikanker pada mekanisme ini harus planar (aromatis dan heteroaromatis), mempunyai dimensi yang tepat dan hidrofobik sehingga dapat berinteraksi dengan pasangan basa di atas dan di bawahnya dalam DNA. Sistem trisiklis sangat sesuai untuk disisipkan dan berinteraksi dengan asam nukleat melalui interaksi Van der Waals. Sebagai contoh proflavin **81**, suatu zat antibakteri, yang mengandung gugus amino kation yang akan membentuk ikatan ionik dengan gugus fosfat dari DNA (Gambar 14). Beberapa senyawa kimia menyisip ke DNA rantai ganda melalui sisi minor (*minor groove*) dan sisi mayor (*major groove*).

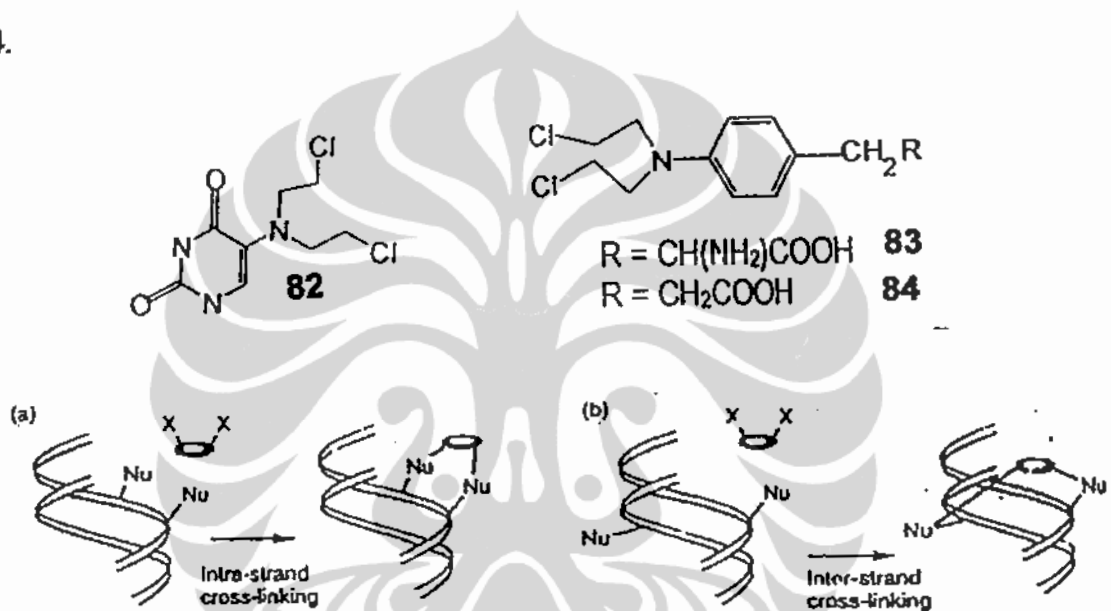


Gambar 14. Interkalator proflavin dengan DNA⁶⁶

2.6.1.2. Senyawa Pengalkilasi

Senyawa pengalkilasi mempunyai gugus elektrofilik (misalnya alkil halida) yang dapat bereaksi dengan nukleofilik pada basa DNA rantai ganda

(nukleofil pada guanin) dan terjadi reaksi substitusi nukleofilik, yaitu nukleofil dari guanin menggantikan ion halida dan membentuk ikatan kovalen. Apabila senyawa antikanker mempunyai 2 gugus elektrofilik, maka dapat terjadi reaksi dua kali menghasilkan ikatan silang (*cross-linking*) dengan satu sisi rantai (*intrastrand*) atau antar rantai (*interstrand*) seperti Gambar 15. Contoh senyawa pengalkilasi yaitu urasil mustard **82**, melfalan **83**, dan klorambusil **84**.



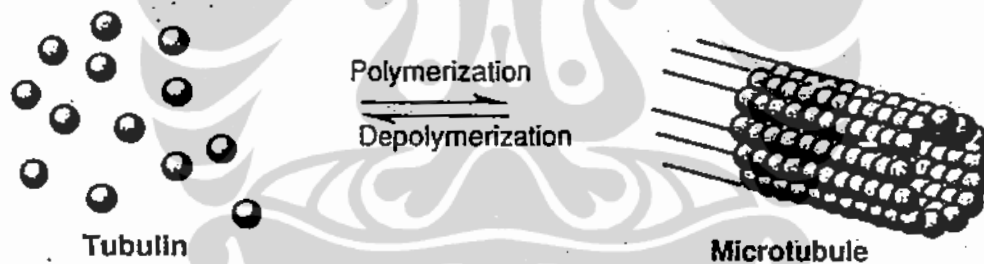
Gambar 15. Ikatan silang senyawa pengalkilasi dengan DNA⁶⁶

2.6.1.3. Pemutusan DNA Rantai Ganda

Beberapa antikanker mempunyai mekanisme kerja memutus rantai DNA. Apabila yang putus satu rantai maka akan terjadi "nicked DNA" dan dua rantai maka terjadi DNA linear. Terputusnya DNA secara terus menerus akan menghambat replikasi DNA dan sintesis protein. Sebagai contoh

2.6.1.5. Depolimerisasi Mikrotubulus

Pada umumnya protein-protein struktural adalah target obat yang tidak penting, kecuali suatu protein yang disebut tubulin yang dapat berpolimerisasi menjadi mikrotubulus (Gambar 17). Mikrotubulus mempunyai bermacam-macam fungsi dalam sel dan penting untuk integritas struktural serta mobilitas sel. Mikrotubulus juga penting untuk proses pembelahan sel. Ketika sebuah sel akan membelah, mikrotubulus mengalami depolimerisasi menjadi unit-unit monomer tubulin. Selanjutnya monomer-monomer tubulin ini mengalami polimerisasi kembali untuk membentuk sebuah struktur *spindle* yang memaksa dua sel anak berpisah dan mentransfer kromosom ke setiap sel-sel anak.

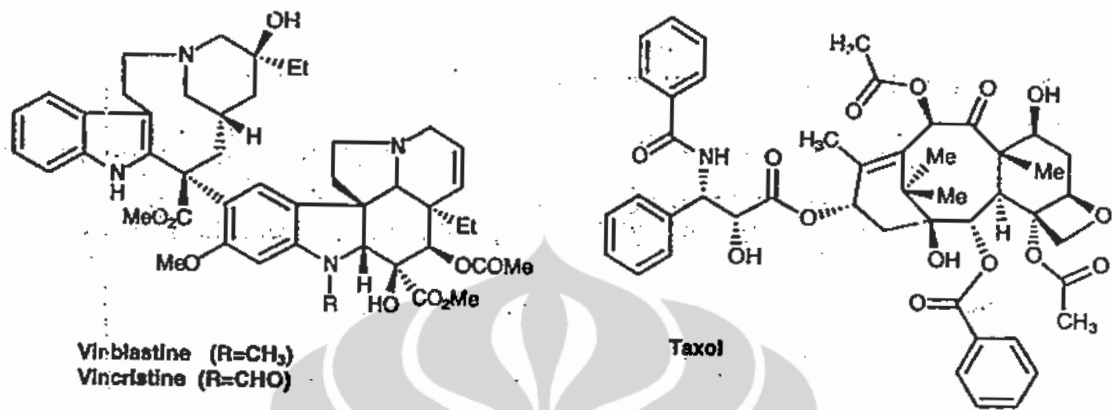


Gambar 17. Tubulin dan mikrotubulus⁶⁶

Obat-obat yang mendepolimerisasi mikrotubulus dapat berguna untuk pengobatan artritis dengan mengurangi mobilitas dari sel-sel inflamatori yang disebut neutrofil, jadi menghalanginya masuk ke dalam persendian.

Obat-obat yang menghambat depolimerisasi atau repolimerisasi dari mikrotubulus akan menghambat pembelahan sel dan sangat berguna untuk pengobatan penyakit kanker. Vincristin adalah suatu obat antikanker yang

menghambat polimerisasi, sementara itu **taxol** menghambat depolarisasi
(Gambar 18).



MILIK PERPUSTAKAAN
FMIPA - UI

Gambar 18. Obat-obat yang bekerja pada mikrotubulus⁶⁶.

2.6.1.6. Antimetabolit⁶³

Antipurin dan antipirimidin mengambil tempat purin dan pirimidin dalam pembentukan nukleosida, sehingga mengganggu berbagai reaksi penting dalam tubuh. Penggunaan sebagai obat kanker didasarkan atas kenyataan bahwa metabolisme purin dan pirimidin lebih tinggi pada sel kanker dari sel normal.

Antagonis pirimidin, misalnya 5-fluorourasil, dalam tubuh diubah menjadi 5-fluoro-2-deoksiuridin-5'-monofosfat (FdUMP) yang menghambat timidilat sintetase dengan akibat hambatan sintesis DNA. Fluorourasil juga diubah menjadi fluorouridin monofosfat (FUMP) yang langsung mengganggu sintesis RNA.

Antagonis purin, misalnya merkaptopurin merupakan antagonis kompetitif dari enzim yang menggunakan purin sebagai substrat. Suatu alternatif lain dari mekanisme kerjanya adalah pembentukan 6-metil merkaptopurin (MMPR) yang menghambat biosintesis purin, akibatnya sintesis RNA, CoA, ATP dan DNA dihambat.

Antagonis folat, misalnya metotreksat yang menghambat dihidrofolat reduktase dengan kuat dan berlangsung lama. Antagonis folat membasmi sel dalam fase S yaitu fase yang merupakan saat terjadinya replikasi DNA, terutama pada pertumbuhan yang pesat.

2.7. Malaria^{63,86}

Malaria adalah penyakit infeksi dengan demam berkala yang disebabkan oleh suatu parasit bersel tunggal (*protozoa*) dan ditularkan oleh sejenis nyamuk tertentu (*Anopheles*). Malaria merupakan salah satu penyakit endemis penting di Indonesia. Berkat pemberantasan terus menerus oleh Komando Pemberantasan Malaria (KOPEM) terhadap nyamuk dan tempat-tempat pembenihannya, maka dewasa ini sudah banyak berkurang.

2.7.1. Jenis Penyakit Malaria

Secara klinis dikenal tiga macam penyakit malaria yang disebabkan oleh beberapa jenis protozoa keturunan *Plasmodium*.

1. **Malaria tropika**, disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*, adalah malaria yang paling berbahaya; dapat mematikan dalam beberapa hari

karena banyaknya eritrosit rusak yang menutup kapiler-kapiler otak. Gejala dari malaria ini adalah serangan demam yang tidak menentu, kadang-kadang terus menerus, dapat pula berkala tiga hari sekali. Tidak menimbulkan residif (kambuh) seperti bentuk malaria lainnya.

2. **Malaria tertiana**, disebabkan oleh *P. vivax* dan *ovale*, adalah malaria dengan ciri demam berkala tiga hari sekali dengan puncak setelah 48 jam. Seringkali kambuh kembali karena adanya *bentuk ekso-eritrositer sekunder*.
3. **Malaria kuartana**, disebabkan oleh *P. malariae*, adalah malaria dengan ciri demam berkala empat hari sekali, dengan puncak demam setiap 72 jam. Residif juga sering terjadi karena *bentuk ekso-eritrositer sekunder*.

2.7.2. Siklus hidup parasit

Pada garis besarnya jenis-jenis *Plasmodium* memiliki siklus hidup yang sama, yaitu sebagian dalam tubuh manusia (siklus aseksual) dan sebagian dalam tubuh *Anopheles* (siklus seksual).

Siklus aseksual dibagi dalam dua bagian, yaitu:

- a. **Siklus hati**. Penularan terjadi bila nyamuk betina yang telah terinfeksi parasit menggigit manusia dan menyuntikkan sporozoit ke dalam darah. Parasit masuk ke dalam hati, tumbuh dan mengalami pembelahan menghasilkan skizon. Enamsampai sembilan hari kemudian skizon-skizon menjadi masak dan melepaskan diri sebagai

beribu-ribu merozoit. Fase pertama dalam hati ini disebut *bentuk ekso eritrositer primer*.

- b. **Siklus darah atau siklus eritrosit.** Merozoit-merozoit sebagian memasuki sel-sel darah merah, dan berkembang menjadi trofozoit. Sebagian lainnya memasuki jaringan-jaringan lain, seperti limfa atau tinggal di hati dan disebut sebagai *bentuk ekso eritrositer sekunder*. Di dalam eritrosit juga terjadi pembelahan aseksual (skizogoni), dalam waktu 48 atau 72 jam sel-sel darah merah pecah dan merozoit yang dilepaskan bisa memasuki eritrosit eritrosit lain dan siklus dimulai kembali. Setiap saat sela darah pecah, penderita merasa kedinginan dan demam, disebabkan merozoit dan protein-protein asing yang dilepaskan.

Siklus seksual. Setelah mengalami beberapa siklus sejumlah merozoit berubah menjadi bentuk-bentuk seksual betina dan jantan. Gametosit-gametosit ini tidak berkembang lagi dan akan mati bila tidak dihisap oleh anopheles betina. Di dalam lambung anopheles terjadi pembuahan dan dalam waktu tiga minggu menghasilkan banyak sporozoit kecil yang masuk ke dalam kelenjar ludah nyamuk. Akhirnya bila nyamuk menggigit manusia, lengkaplah siklus hidup parasit.

2.7.3. Pengelompokan Antimalaria.

Berdasarkan kerjanya pada tahapan perkembangan plasmodium, antimalaria dibedakan atas **skizontosid jaringan dan darah; gametositosis dan sporontosid.**

Skizontosid jaringan bekerja pada skizon yang baru memasuki jaringan hati, dengan demikian infeksi eritrosit dapat dicegah dan transmisi lebih lanjut dihambat. Contoh obat untuk tujuan ini adalah pirimetamin dan primakuin.

Skizontosid darah bekerja terhadap merozoit di eritrosit (fase eritrosit), dengan demikian tidak terbentuk skizon baru dan tidak terjadi penghancuran eritrosit yang menimbulkan gejala klinik. Contoh golongan obat ini adalah klorokuin, kuinin, dan meflokuin.

Gametositosis membunuh gametosit yang berada dalam eritrosit sehingga transmisinya ke nyamuk dihambat. Klorokuin dan kuinin memperlihatkan efek gametosidal pada *P. vivax* dan *P. malariae*, sedangkan gametosid *P. falciparum* dapat dibunuh oleh primakuin.

Sporontosid menghambat perkembangan gametosid.

2.8. Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)^{67,68}

Brine Shrimp Lethality Test merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Hewan uji yang digunakan dalam metode ini adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini dapat digunakan sebagai

bioassay-guide fractionation dari bahan alam karena mudah, cepat, murah dan cukup *reproducible*. Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan dimonitor aktivitasnya dengan metode ini menunjukkan adanya korelasi terhadap uji spesifik antikanker.

Penggunaan BSLT sebagai *bioassay* pertama kali dilaporkan oleh Tarpley untuk menentukan keberadaan residu insektisida, menentukan senyawa anestetik, serta menentukan tingkat toksisitas air laut. Selanjutnya Meyer dkk., menggunakan metode ini dalam penapisan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tanaman yang ditunjukkan sebagai toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. Toksisitas ditentukan dengan melihat harga LC_{50} yang dihitung berdasarkan analisis probit. Ekstrak ditentukan dengan melihat LC_{50} nya lebih kecil atau sama dengan $1000 \mu\text{g/ml}$ ($LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$). Suatu bahan uji dikatakan toksik terhadap larva udang bila mempunyai LC_{50} lebih kecil dari $1000 \mu\text{g/ml}$.

2.9. Uji Sitotoksitas *In Vitro* Pada Sel Murine Leukemia P-388⁶⁷.

Aktivitas sitotoksik merupakan kemampuan suatu zat untuk meracuni atau merusak sel hidup. Pengujian sitotoksitas secara *in vitro* ini merupakan langkah awal penapisan zat-zat antikanker.

Banyak bioassay telah digunakan untuk menapis senyawa-senyawa untuk antitumor dalam ekstrak dan hasil fraksinasi. Beberapa terbukti terlalu sensitif (Walker carcinoma 256), menghasilkan terlalu banyak positif palsu, dan yang lainnya tidak cukup sensitif (Leukemia tikus L-1210). Akhir-akhir ini, P-388

murine leukemia (untuk pengujian *in vitro* dan *in vivo*) lebih disukai dalam hal sensitivitas dan prediktivitas, sementara pengujian *in vivo* lebih dahulu meliputi tumor-tumor tikus tambahan (*Lewis lung carcinoma*, *colon 38*, dan *CD8fl mammary*). Prapenapisan *in vitro* untuk sitotoksisitas, seperti penggunaan 9KB *human nasopharynx carcinoma* atau P-388 murine leukemia (9PS), telah digunakan untuk mempermudah fraksinasi, tetapi tidak membedakan sitotoksisitas dari aktivitas antitumor. Suatu assay bioautografik menggunakan sel-sel leukemia murine P-388 telah dikembangkan untuk mendeteksi senyawa-senyawa antitumor dari sumber alami. Untuk menguji sensitifitas assay, 18 obat-obat kanker kemoterapeutika dan produk alami telah diuji. Semua toksisitas terdeteksi pada 0,01 µg atau 1,0 µg dengan sel P-388, sedangkan penggunaan sel *human HT-29 colon carcinoma* hanya 11 dari 18 terdeteksi pada 10 µg.

2.10. Uji Aktivitas Antimalaria^{67,69}

Malaria adalah penyakit parasitik yang mempengaruhi 200-300 juta manusia di wilayah tropis dan subtropis serta mengancam kehidupan hampir tiga juta manusia setiap tahunnya. Munculnya resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat antimalaria sejak tahun 1960 telah meningkatkan problematik pengobatan malaria, dan nampaknya peperangan melawan malaria belum berhasil. Sejak ditemukannya kinin dari tanaman *Cinchona* dan terakhir penemuan artemisinin dari *Artemisia annua* L (Asteraceae),

maka antisipasi untuk obat-obat baru dari tumbuhan tropis lainnya terus berkembang.

Pengujian antimalaria secara *in vitro* baru belakangan ini dilakukan. Sebelumnya yaitu tahun 1947, sebanyak 600 tumbuhan dari 126 familia diekstrasi, dan diuji aktivitasnya secara *in vitro* terhadap malaria burung. Spesies dari lebih 30 genera dijumpai mempunyai aktivitas, tetapi untuk malaria pada manusia tidak dapat dibuktikan. Pengkulturan parasit malaria pada manusia *Plasmodium falciparum* secara *in vitro* yang dilakukan secara kontinyu, memberikan kemajuan yang sangat berarti dalam pencarian suatu teknik untuk penilaian aktivitas secara kuantitatif. Modifikasi teknik ini mengandalkan pengukuran kemampuan untuk menghambat penggabungan ³H-hypoxanthine ke dalam plasmodia. Protokol untuk menentukan aktivitas anti-*Plasmodium falciparum* secara *in vivo* dan aktivitas anti-*Plasmodium berghei* secara *in vivo* dalam tikus telah dituliskan. Penting untuk dicatat bahwa aktivitas antimalaria tidak paralel dengan sitotoksisitas terhadap sel KB (*human epidermoid carcinoma of mouth*). Sebagai contoh, bruceatin tiga kali lebih aktif daripada brusatol dalam uji antimalaria, tetapi sepuluh kali lebih toksik terhadap sel KB.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Metode Penelitian Secara Umum

Serbuk kulit batang tanaman *Actinodaphne pruinosa*, *A. sphaerocarpa* dan daun *Cryptocarya ferrea* diuji kandungan alkaloidnya dengan cara; lebih kurang 10 g serbuk dilembabkan dengan NH_4OH 25% dan direndam dalam CH_2Cl_2 selama 5-10 menit pada suhu 50°C sambil diaduk-aduk, setelah itu disaring dengan kertas saring, kemudian filtrat diuapkan dalam evaporator vakum putar. Residu ditambah 2 mL CH_2Cl_2 dan 2 mL HCl 5%, dikocok dan dibiarkan memisah, kemudian ditambah 1-2 tetes pereaksi Mayer, adanya alkaloida ditandai dengan kekeruhan sampai menggumpal berwarna putih kekuningan pada lapisan air. Hasil pengujian memberikan positif 4 (kekeruhan menggumpal) untuk kulit batang tanaman *A. pruinosa*, *A. sphaerocarpa* dan positif 2 (kabut putih kekuningan sedikit pekat) untuk daun *C. ferrea*.

Sebelum dilakukan ekstraksi alkaloida, bahan uji dimaserasi dalam pelarut *n*-heksana (digunakan untuk *A. pruinosa*, *A. sphaerocarpa*) dan petroleum eter (digunakan untuk *C. ferrea*), setelah ekstrak *n*-heksana atau petroleum eter dipisahkan, residu (ampas sisa ekstraksi) dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Bahan uji yang telah kering dilembabkan dengan NH_4OH 25%, didiamkan selama lebih kurang 2 jam, setelah itu disokhletasi dalam CH_2Cl_2 selama lebih kurang 12 jam dilakukan pada kulit batang *A.*

pruinosa, sedangkan untuk kulit batang *A. sphaerocarpa* dan daun *C. ferrea* dimaserasi dalam CH_2Cl_2 sampai alkaloida tersari sempurna. Ekstrak CH_2Cl_2 dikumpulkan dan diuapkan sampai kering (ekstrak dari kulit *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa*) atau kental (ekstrak dari daun *C. ferrea*), kemudian ditimbang (untuk alkaloida dari kulit batang *A. pruinosa* dan daun *C. ferrea* ekstraksi dilakukan hanya sampai proses ini).

Untuk mendapatkan alkaloida yang lebih murni, maka ekstrak kering atau kental dilarutkan dalam CH_2Cl_2 dan dikocok dengan HCl 5% dalam corong pisah, lapisan air diambil dan dibasakan dengan NH_4OH 25% (pH 11), kemudian dikocok kembali dengan CH_2Cl_2 , proses ini dilakukan berulang kali sampai tidak memberikan reaksi positif dengan Mayer. Lapisan CH_2Cl_2 dikumpulkan dan dicuci dengan larutan NaCl jenuh atau NH_4Cl jenuh, dilanjutkan dengan air suling, untuk menghilangkan air ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat, disaring dan filtrat dikeringkan dalam evaporator vakum putar, ekstrak kering yang diperoleh ditimbang. Ekstrak kemudian diuji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui secara kasar berapa banyak alkaloida yang terkandung dalam ekstrak dan untuk mencari sistem pelarut yang baik untuk pemisahan alkaloida dengan kromatografi kolom (KK). Penampak noda untuk alkaloida digunakan pereaksi Dragendorff yang akan memberikan warna kuning jingga sampai kecoklatan bila bereaksi dengan alkaloida. Kromatografi kolom dilakukan secara berulang, dan untuk mendapatkan senyawa murni dilakukan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Pada kromatografi kolom digunakan sistem pelarut campuran CH_2Cl_2

dan metanol dilakukan secara gradien atau isokratik, CH_2Cl_2 yang digunakan dijenuhkan dahulu dengan ammoniak, begitu pula KLT atau KLTP *chamber* dijenuhkan dengan uap ammonia. Struktur molekul isolat murni ditentukan dengan spektra UV, IR, NMR dan massa. Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* dan aktivitas sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388 serta uji antiplasmodium dilakukan pada ekstrak alkaloida kulit batang *A. sphaerocarpa* dan *A. pruinosa*. Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388 dilanjutkan pada senyawa hasil isolasi dari kulit batang *A. pruinosa*.

3.2. Persiapan Sampel

Kulit batang *A. sphaerocarpa*, *A. pruinosa* dan daun *C. ferrea* dibuat serbuk kasar.

3.3. Bahan-bahan yang Digunakan

Kulit batang *A. sphaerocarpa* (BI) Nees, *A. pruinosa* Nees dan daun *C. ferrea* BI, *n*-heksana, petroleum eter, diklorometana, kloroform, metanol, NH_4OH 25%, HCl 5%, NaCl, NH_4Cl , Na_2SO_4 anhidrat, es batu, pereaksi Mayer dan Dragendorf, Silica gel 60 (E Merck 7732), Silika gel 60 (Silicycle, 60-200 μm), plat KLT aluminium dan kaca (E Merck), kapas, pasir laut, celite, CDCl_3 , etanol 95%, DMSO, medium RPMI 1640, sel murine P388, *Fetal Bovine Serum*, larutan dapar fosfat, pereaksi MTT, *Plasmodium falciparum* clone FCRI/2 dan 3D7.

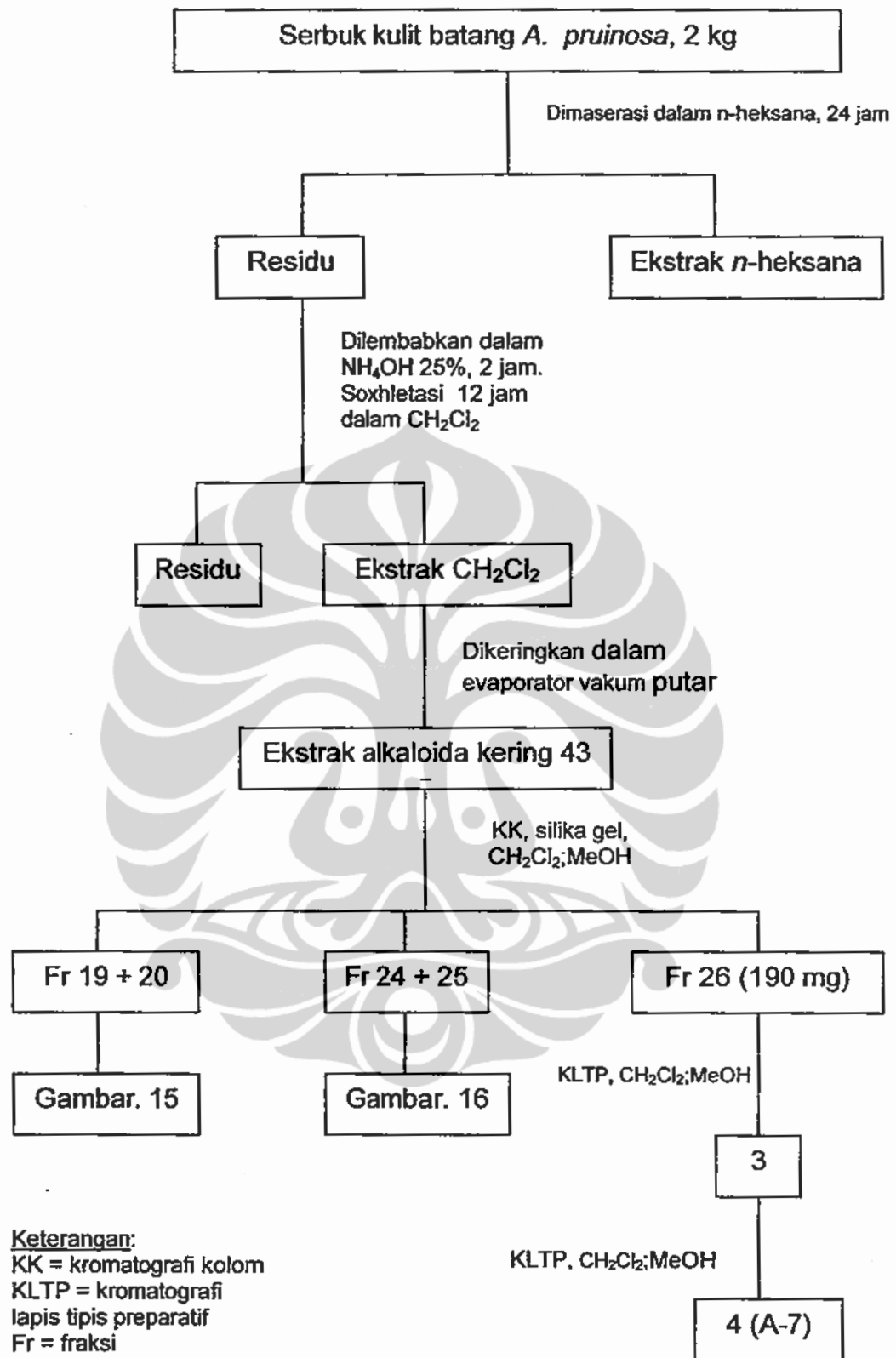
3.4. Alat-alat yang Digunakan

Seperangkat ekstraktor Soxhlet, *chamber*, evaporator vakum putar, kolom kromatografi, lampu UV, pipet pasteur, alat dan tabung sentrifus, reader plate micro, inkubator CO₂, polarimeter Jasco P1010, FTIR Perkin Elmer 1600, JEOL JNM-FX400, Shimadzu UV-160A, a Mariner LC-Mass Spectrometer, Automass Multi Thermofinnigan, program komputer Sigma-plot.

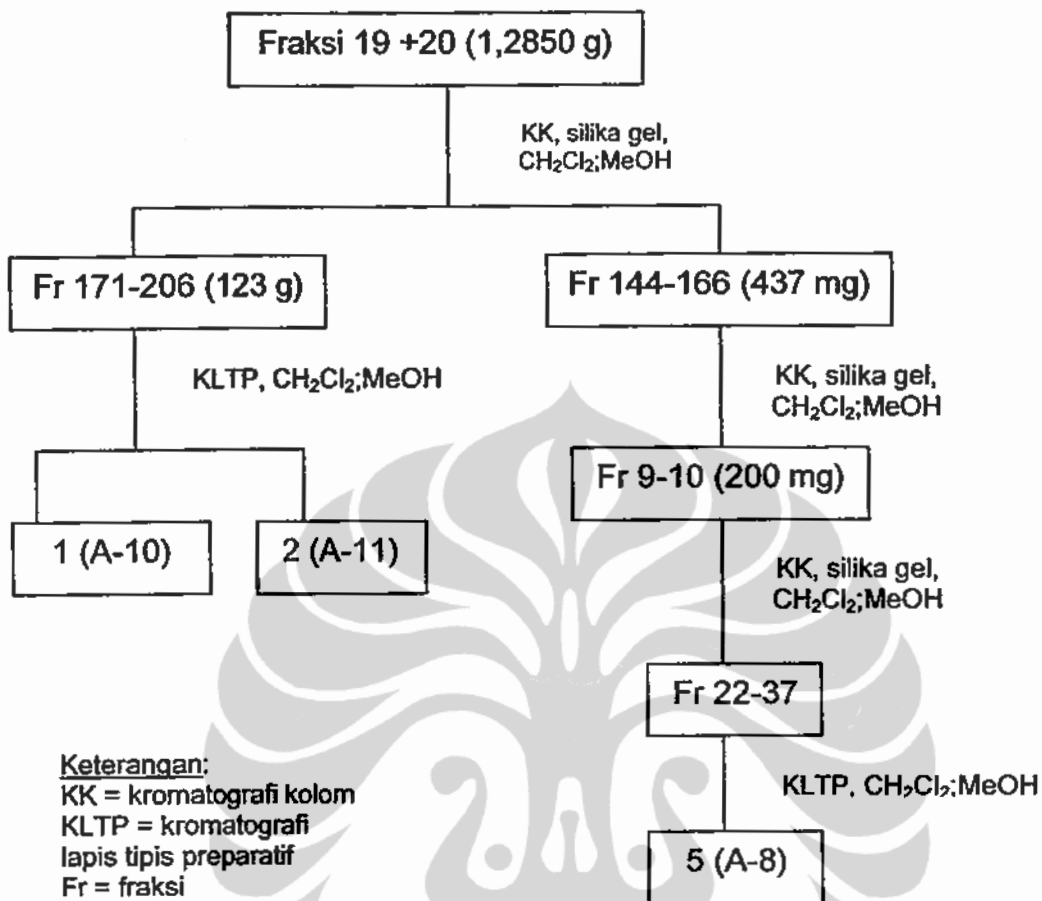
3.5. Cara Kerja

3.5.1. Isolasi Alkaloida dari Kulit Batang *A. pruinosa* Nees.

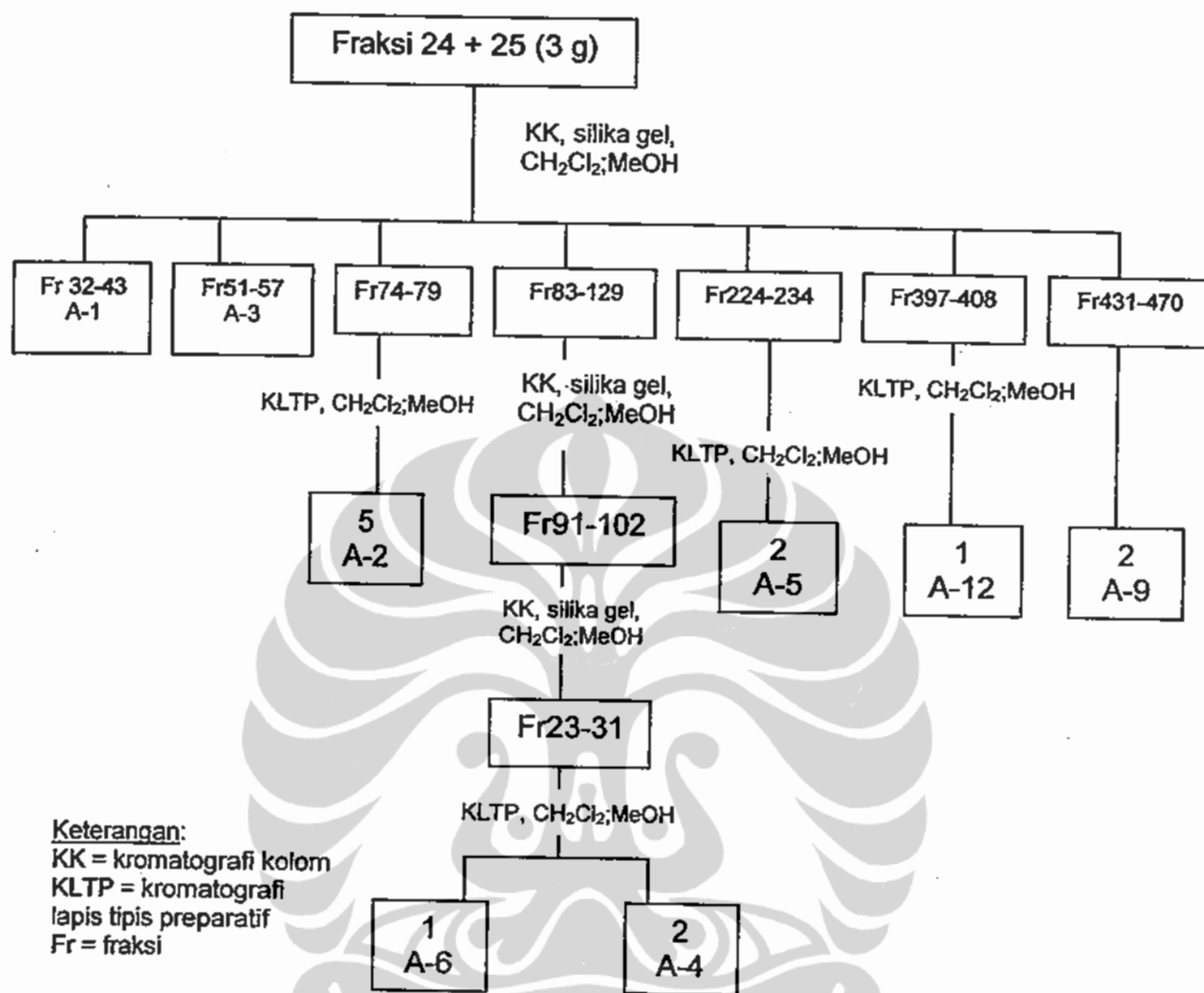
Kulit batang *A. pruinosa* dalam bentuk serbuk (2 kg) dimaserasi dalam *n*-heksana (40-60°C) selama 24 jam. Residu kemudian dilembabkan dengan NH₄OH 25% dan dibiarkan selama 2 jam, setelah itu diekstraksi menggunakan pelarut CH₂Cl₂ dalam alat Soxhlet selama 12 jam. Pelarut diuapkan dalam evaporator vakum putar (*vacuum rotary evaporator*). Selanjutnya terhadap ekstrak kering dilakukan kromatografi kolom pada silika gel (70-230 mesh) dengan campuran CH₂Cl₂ dan CH₃OH (sistem gradien). Pemisahan dengan kromatografi kolom diperoleh 30 fraksi. Skema isolasi alkaloida dari kulit batang *A. pruinosa* dapat dilihat pada **Gambar 19**.



Gambar 19. Skema Ekstraksi Alkaloida dari *A. pruinosa*



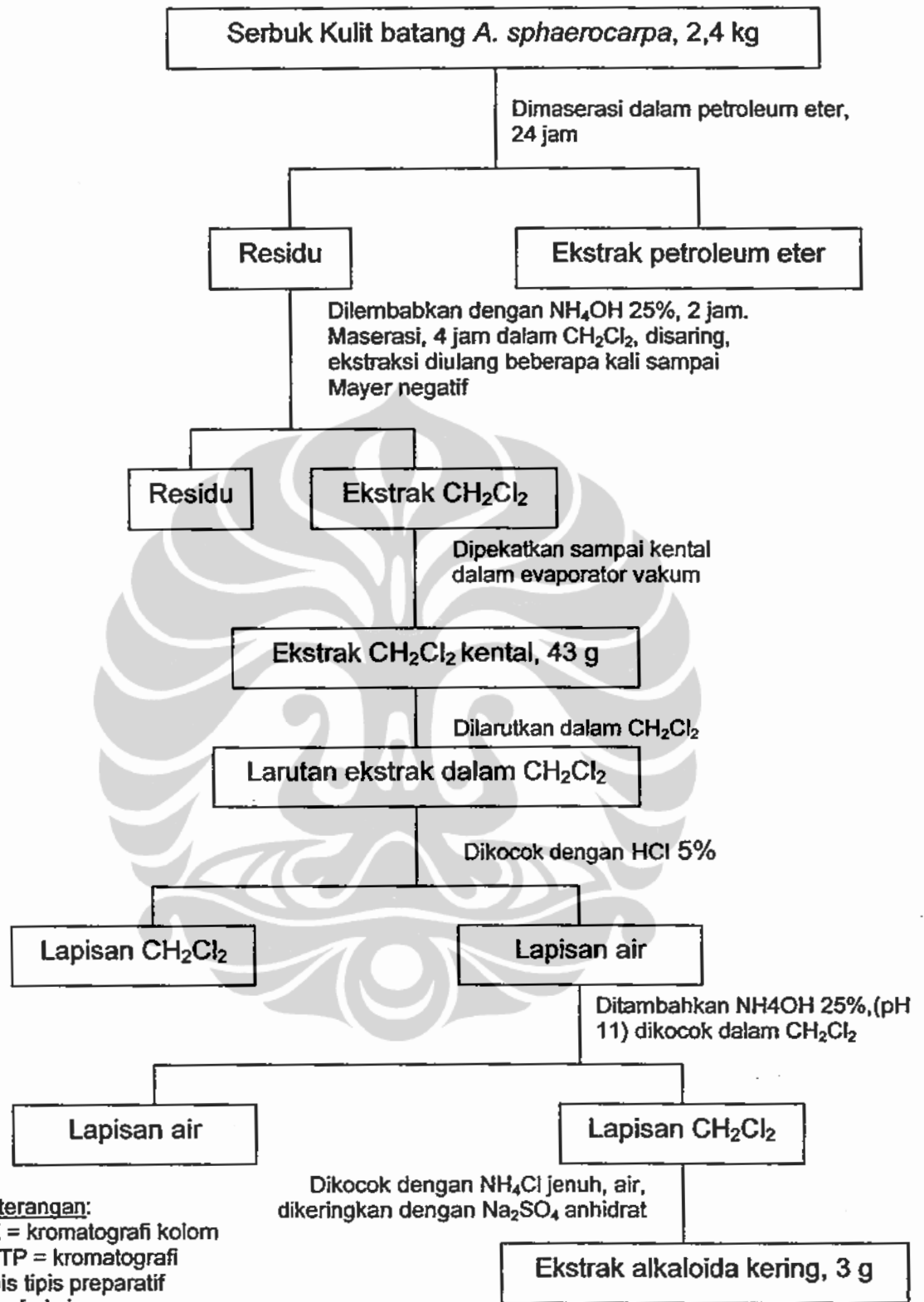
Gambar 20. Skema isolasi alkaloida dari fraksi 19-20 ekstrak alkaloida *A. pruinosa*.



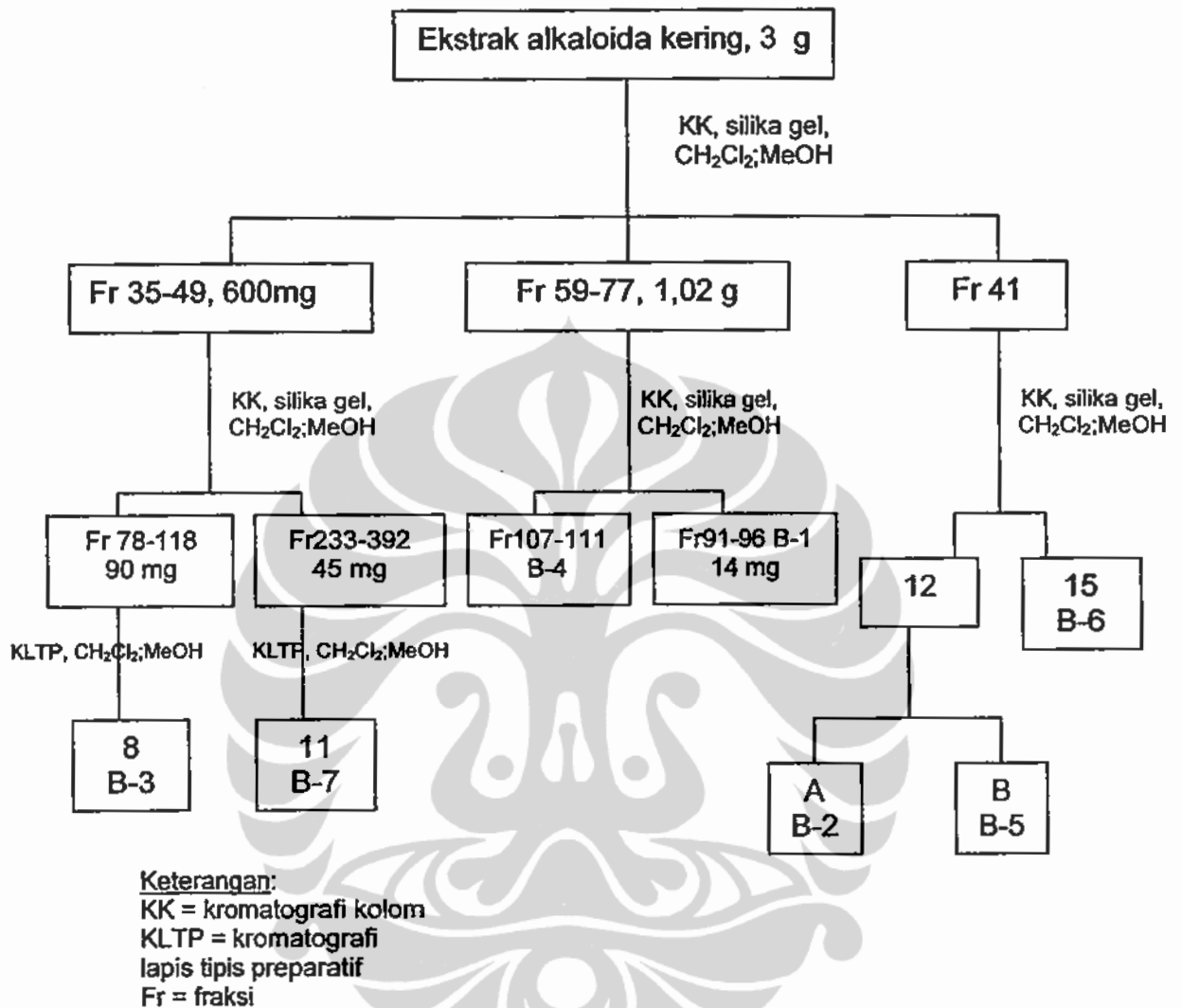
Gambar 21. Skema isolasi alkaloida dari fraksi 24-25 ekstrak alkaloida *A. pruinosa*.

3.5.2. Isolasi Alkaloida dari Kulit Batang *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees

Kulit batang kering dalam bentuk serbuk (2,4 kg) dimaserasi dalam petroleum eter (40-60°C) selama 24 jam. Residu dilembabkan dengan NH₄OH 25% dan dibiarkan selama 2 jam, dilanjutkan dengan maserasi dalam CH₂Cl₂ selama 4 jam dan disaring dengan menggunakan kertas saring. Maserasi diulang beberapa kali sampai memberikan reaksi negatif dengan pereaksi Mayer. Filtrat diuapkan dalam evaporator vakum putar sampai diperoleh ekstrak semisolid (29 g). Ekstrak ini selanjutnya dilarutkan dalam CH₂Cl₂ dan dikocok dengan larutan HCl 5% dalam corong pisah. Lapisan air diambil dan dibasakan dengan NH₄OH 25% sampai pH 11 dan alkaloid diekstraksi kembali menggunakan CH₂Cl₂. Ekstrak CH₂Cl₂ dicuci dengan larutan jenuh NH₄Cl dan dilanjutkan dengan air suling, setelah itu dikeringkan dengan menambahkan Na₂SO₄ anhidrat dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat kemudian dipekatkan dalam evaporator vakum putar dan diperoleh ekstrak sebanyak 3 g. Selanjutnya dilakukan kromatografi kolom dengan campuran pelarut CH₂Cl₂ dan CH₃OH (sistem gradien) dan diperoleh 89 fraksi. Skema ekstraksi alkaloida dari kulit batang *A. sphaerocarpa* dapat dilihat pada **Gambar 22**. dan isolasi alkaloida dari ekstrak alkaloida kulit batang *A. sphaerocarpa* pada **Gambar 23**.



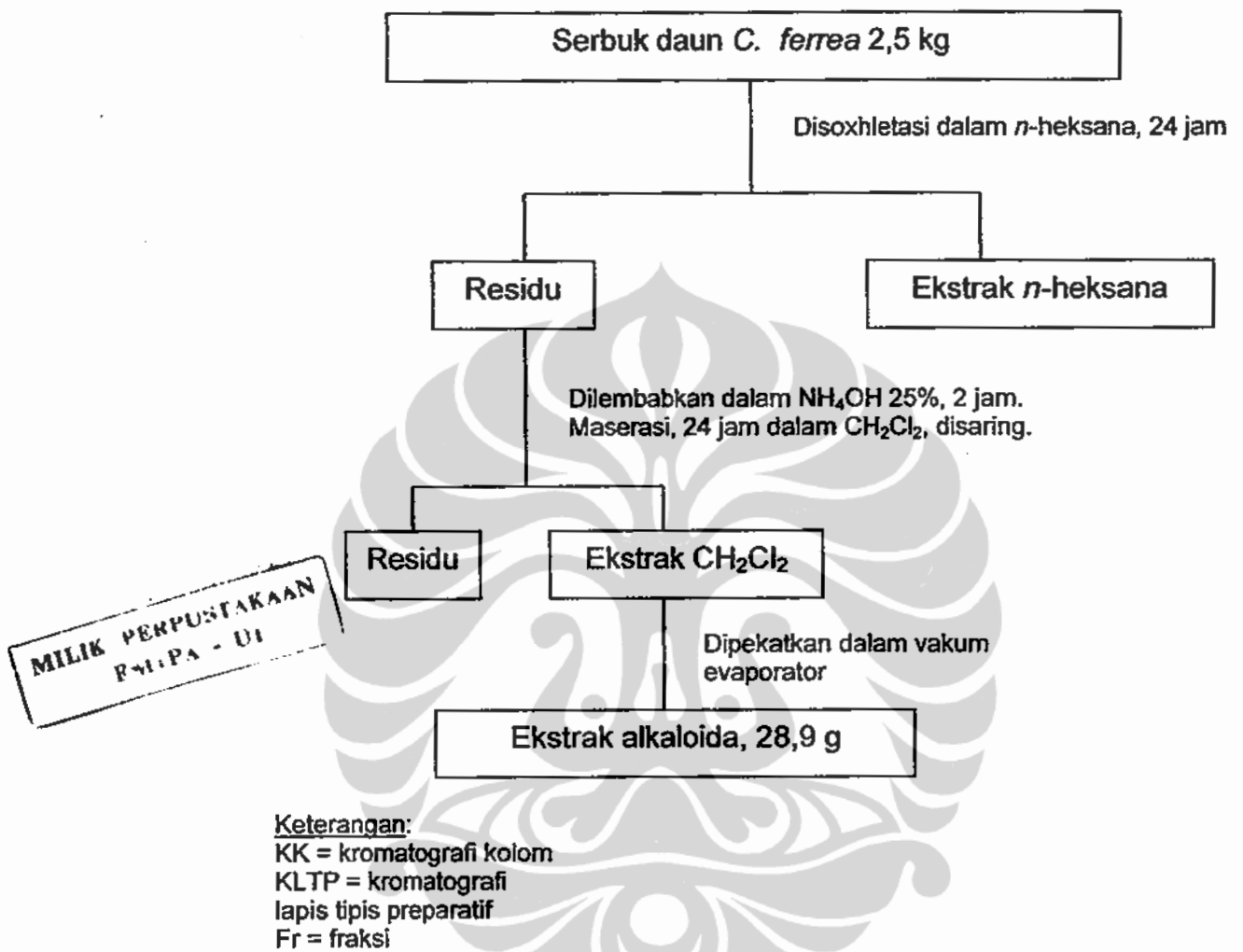
Gambar 22. Skema ekstraksi alkaloida dari kulit batang *A. sphaerocarpa* (BI) Nees



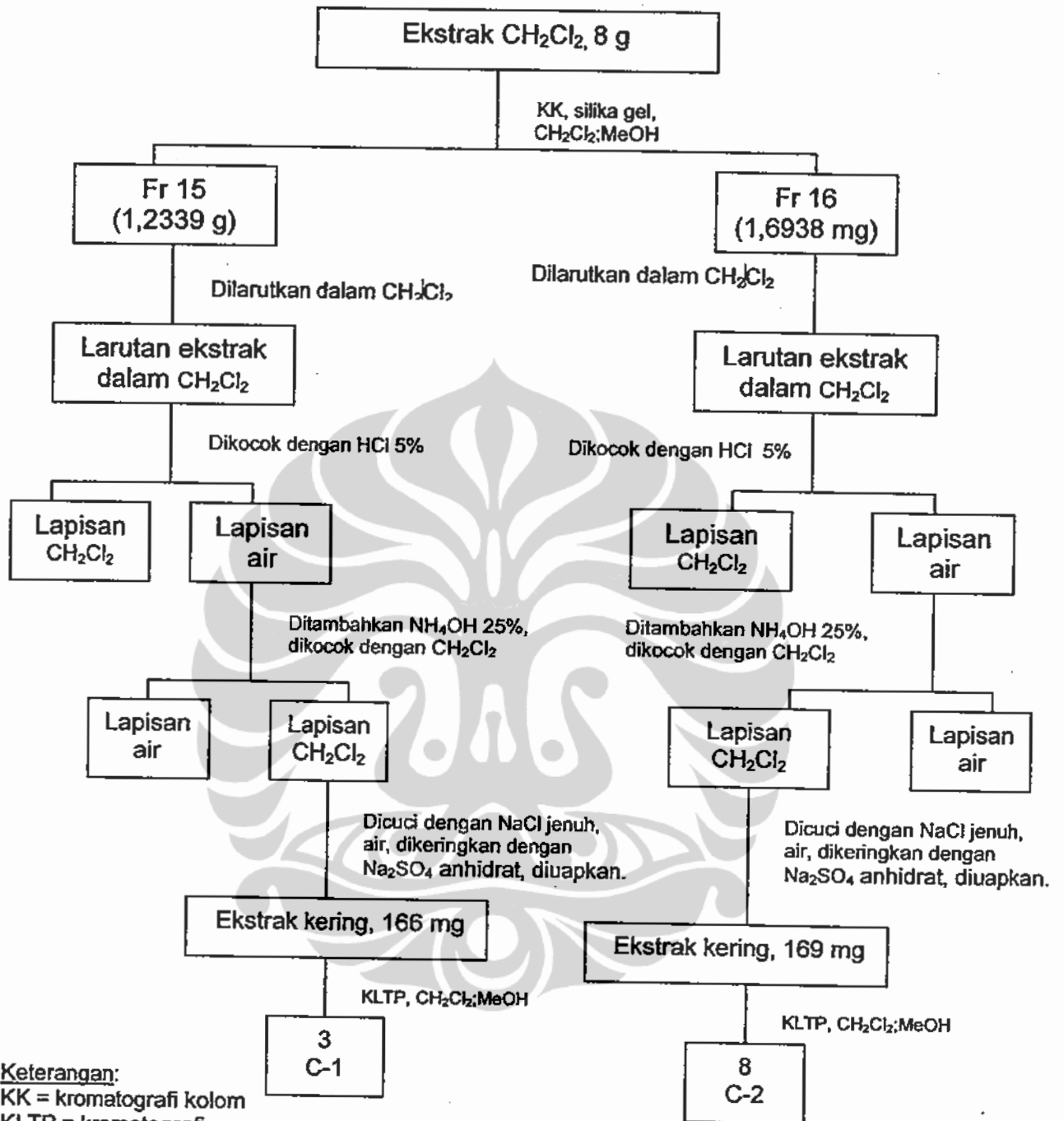
Gambar 23. Isolasi alkaloida dari ekstrak alkaloida kulit batang *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees.

3.5.3. Isolasi Alkaloida dari Daun *C. ferrea* Bl.

Daun kering yang telah diserbuk (2,5 kg) disokhletasi dalam *n*-heksana (40-60°C) selama 24 jam. Residu dilembabkan dengan NH₄OH 25% dan dibiarkan selama 2 jam, dilanjutkan dengan maserasi dalam CH₂Cl₂ selama 24 jam dan disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat diuapkan dalam evaporator vakum putar sampai diperoleh ekstrak kental (28,8 g). Selanjutnya dilakukan kromatografi kolom terhadap ekstrak kental (8 g) tadi dengan silika gel (70-230 mesh) dan campuran pelarut CH₂Cl₂ dan Metanol (sistem gradien) sebagai eluen, dari kromatografi kolom ini diperoleh 19 fraksi. Fraksi 15 dan 16 masing-masing dilarutkan dalam CH₂Cl₂ kemudian ditambahkan HCl 5% dan dikocok di dalam corong pisah. Lapisan air diambil dan ditambahkan NH₄OH 25% sampai pH 11, setelah itu dikocok dengan CH₂Cl₂. Lapisan CH₂Cl₂ diambil dan dicuci dengan larutan NaCl jenuh dan air, dikeringkan dengan penambahan Na₂SO₄ anhidrat, disaring, kemudian ekstrak diuapkan dalam evaporator vakum putar. Setelah itu dilakukan kromatografi kolom terhadap masing-masing ekstrak tersebut menggunakan silika gel (70-230 mesh) dan campuran CH₂Cl₂ dan CH₃OH (sistem gradien) sebagai eluen. Skema ekstraksi alkaloida dari kulit batang *C. ferrea* dapat dilihat pada **Gambar 24** dan isolasi alkaloida dari ekstrak alkaloid kulit batang *C. ferrea* pada **Gambar 25**.



Gambar 24. Skema ekstraksi alkaloida dari daun *C. ferrea* Bl.



Gambar 25. Isolasi alkaloida dari ekstrak alkaloida daun *C. ferrea* Bl.

3.5.4. Uji Aktivitas Antimalaria⁶⁹

Plasmodium falciparum clone FCR3 dipropagasi dalam 24 lubang papan kultur secara invitro yang mengandung ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda. Setiap senyawa dilarutkan dalam DMSO secara terpisah untuk mendapatkan larutan induk 10^{-2} M dan disimpan pada suhu -20° C sampai digunakan. Pertumbuhan parasit dipantau dengan membuat suatu pulsan darah setiap hari. Data respon pertumbuhan parasit dan konsentrasi dianalisa dengan suatu fungsi regresi linear menggunakan program komputer Sigma-plot 2000 untuk menentukan konsentrasi inhibitor 50% (IC_{50}). Nilai IC_{50} adalah konsentrasi dari senyawa yang menyebabkan 50% inhibisi pertumbuhan relatif dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberikan ekstraksi.

3.5.5. Uji Sitotoksisitas Terhadap Sel Murine Leukimia P-388⁷⁰

A. Pembuatan stok sel

Sel dalam medium RPMI 1640 (dengan konsentrasi $> 10^6$ sel/mL) dari labu kultur dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse 15 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 1200-1300 rpm selama 5 menit pada temperatur kamar. Supernatan dipindahkan dengan pipet Pasteur steril dan endapan (pellet sel) yang tinggal ditambahkan 1 mL FBS (Fetal Bovine Serum) dan 100 μ L DMSO, dan dicampur pelan-pelan (menggunakan pipet Pasteur steril), kemudian dipindahkan ke dalam tabung 2 mL dan dilekatkan tutupnya dengan parafin. Disimpan dalam

freezer (-80°C) semalam, dan hari berikutnya dipindahkan ke dalam tabung Dewar pada -80°C . Stok sel ini tahan dalam beberapa tahun.

B. Melarutkan sel

Stok sel di atas yang membeku dilarutkan atau dilelehkan di atas pemanas air pada suhu 37°C . Ke dalam tabung sentrifuse steril 15 mL dimasukkan 10 mL medium RPMI 1640, ditambahkan larutan sel, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1200-1300 rpm selama 5 menit pada temperatur kamar, dan supernatan dikeluarkan menggunakan pipet Pasteur steril. Selanjutnya, ke dalam labu kultur dimasukkan 9 mL medium dan pelet sel yang telah diencerkan dengan sedikit medium yang sama dan disimpan dalam inkubator CO_2 dengan tutup yang dilonggarkan. Pertumbuhan sel dapat diamati dengan mikroskop setelah semalam, sel yang pertumbuhannya baik dapat digunakan untuk uji atau subkultur lebih lanjut.

C. Subkultur

Ke dalam labu kultur 25 mL dimasukkan masing-masing 9 mL medium RPMI 1640. Sel yang pertumbuhannya paling baik dari yang diinkubasi dalam inkubator CO_2 diseleksi, kemudian dimasukkan ke dalam tiga labu kultur masing-masing dengan 1,2 dan 4 tetes larutan sel menggunakan pipet bengkok steril, kemudian disimpan dalam inkubator CO_2 . Subkultur ini dapat dilakukan lagi 2 atau 3 hari.

D. Protokol uji

1. Hari ke-0. Inokulasi sel

Dalam sel dengan pertumbuhan pada fase logaritma, larutan sel dibuat sekitar 3×10^3 sel/mL, kemudian diinokulasikan dalam plat mikro 96 lubang dasar rata, dan kultivasi dilakukan dalam inkubator CO₂.

2. Hari ke-1. Penambahan sampel

Sampel (ekstrak) dilarutkan dalam DMSO. Pengenceran sampel dilakukan menggunakan PBS (*Phosphate Buffer Solution*). Sampel dengan konsentrasi yang dikehendaki (20 mg/mL) ditambahkan ke dalam sel dalam plat mikro, kemudian dikocok dengan *mixer plate micro* dan disimpan kembali dalam inkubator CO₂ selama 48 jam.

3. Hari ke-3. Penambahan reagen MTT dan *stop solution*

Penambahan reagen MTT [3-(4,5-dimethylthiazo-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] dilakukan setelah 48 jam dari penambahan sampel, kemudian dikocok dengan *mixer plate micro* selama ± 2 menit, disimpan kembali dalam inkubator CO₂. Empat jam kemudian ditambahkan *stop solution* dan dikocok dengan baik sehingga tidak menimbulkan banyak busa yang dapat mengganggu dalam penglihatan atau pengamatan di bawah mikroskop, disimpan kembali dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

4. Hari ke-4. Pengukuran *optical density* (OD)

Pengukuran *optical density* dilakukan dengan *reader plate micro* selama 24 jam setelah penambahan *stop solution*. Dari OD larutan uji

maka OD larutan blangko dapat ditetapkan. Kemudian data ini dimasukkan dalam program Cricket untuk menghitung nilai IC_{50} .

E. Derajat sitotoksitas sampel terhadap sel murine leukemia P-388.

Bahan uji dikatakan sangat sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388 jika memperlihatkan aktivitas biologis $IC_{50} < 2 \mu\text{g/mL}$, dikatakan aktif jika nilai IC_{50} 2-4 $\mu\text{g/mL}$ untuk senyawa mumi, dan $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak.

3.5.6. Uji Toksisitas Ekstrak Terhadap Larva *Artemia salina* Leach (BSLT)⁷¹

A. Penetasan Telur Larva *Artemia salina* Leach

Telur *Artemia salina* Leach ditetaskan dalam corong pisah yang berisi air garam yang sudah disaring sebanyak 1000,0 mL. Penetasan dilakukan dengan bantuan pencahayaan lampu 10 watt dan aerator agar medium pemeliharaan larva kaya akan oksigen sehingga telur menetas sempurna menjadi larva dalam waktu 24 jam, kemudian dipisahkan antara larva yang hidup dengan yang mati, lalu larva yang hidup dibiarkan dalam corong pisah dalam 24 jam sehingga larva *Artemia salina* Leach yang dipakai untuk percobaan adalah yang berumur 48 jam (instar II).

B. Persiapan Larutan Induk Ekstrak (10.000 ppm)

Ekstrak ditimbang sebanyak 250,0 mg, kemudian dilarutkan dalam 25 mL etanol 95% dengan bantuan alat *Ultrasonic Bath* sampai terlarut sempurna dan tidak mengendap.

C. Pembuatan Larutan Seri Ekstrak

Larutan seri ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm, 400 ppm, 200 ppm, 100 ppm, dan 50 ppm. Setiap konsentrasi dibuat 3x (triplo).

D. Pelaksanaan Uji Sitotoksitas Ekstrak Dengan Konsentrasi 1000 ppm, 400 ppm, 200 ppm, 100 ppm dan 50 ppm.

Semua larutan seri yang telah dibuat didiamkan selama 24 jam, kemudian di dalam setiap vial yang berisi larutan uji ditambahkan μL dimetil sulfoksida (DMSO) 1 % dan sedikit air garam pH 8-8,5, lalu didispersikan dengan bantuan *Ultrasonic Bath*. Setelah itu ke dalam setiap larutan uji dimasukkan larva sebanyak 20 ekor dan ditambahkan air garam pH 8-8,5 sampai 10 mL. pengamatan dilakukan setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dan yang hidup diamati dengan metode visual menggunakan pipet tetes serta dengan bantuan penerangan lampu.

E. Uji Sitotoksitas Larutan Blanko (pelarut DMSO 1 % dan etanol 95 %) dilakukan dengan cara yang sama seperti pada larutan sampel.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Umum

Hasil ekstraksi alkaloida dari 2,0 kg kulit batang *Actinodaphne pruinosa* Nees diperoleh 43,0 g ekstrak alkaloida dan hasil isolasinya didapatkan delapan senyawa alkaloida golongan aporfin, A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, dan empat senyawa alkaloida golongan bisbensilisokuinolin (BBIK), A-9, A-10, A-11, A-12. Senyawa A-1, A-2, A-3, A-4 dan A-9 merupakan senyawa baru. Hasil ekstraksi alkaloida dari 2,4 kg kulit batang *Actinodaphne sphaerocarpa* (Bl) Nees didapatkan 29,0 g ekstrak alkaloida dan hasil isolasinya diperoleh 7 senyawa alkaloida golongan aporfin, B-1, B-2, B-3, B-4, B-5, B-6 dan B-7. Sedangkan hasil ekstraksi alkaloida dari 2,5 kg daun *Cryptocarya ferrea* Bl diperoleh 28,8 g ekstrak alkaloida dan hasil isolasinya didapatkan 2 senyawa alkaloida golongan aporfin, C-1, dan oksoaporfin, C-2. Senyawa-senyawa hasil isolasi dari ketiga tumbuhan tersebut dirangkum dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil isolasi senyawa alkaloida dari *A. pruinosa* Nees, *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees dan *C. ferrea* Bl.

Nama tanaman	Jumlah senyawa	Kode senyawa
<i>A. pruinosa</i> Nees	12	A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-10, A-11, dan A-12
<i>A. sphaerocarpa</i> (Bl) Nees	7	B-1, B-2, B-3, B-4, B-5, B-6, dan B-7
<i>C. ferrea</i> Bl	2	C-1 dan C-2

4.2 Senyawa A-1

Senyawa A-1 berbentuk amorf berwarna kehitaman dengan rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$: $+120^\circ$ (MeOH, $c = 0.00015$). Hasil analisis spektroskopi UV, FTIR, HRESIMS, ^1H NMR dan ^{13}C NMR dari senyawa A-1 dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Data spektroskopi senyawa A-1

Spektroskopi	Spektrum
UV (nm), metanol	309,0
HRESI ⁺ [M+H] ⁺ (m/z)	372,1797 (calcd. 372,1811) (Lampiran 1)
FTIR (cm ⁻¹), KBr	3180, 3014, 2934, 2360, 1594, 755 (Lampiran 1)
^1H δ_{H} (ppm), CDCl ₃	1,22 (3H, <i>d</i>); 2,38 (1H, <i>dd</i>); 2,56 (1H, <i>t</i>); 2,67 (1H, <i>m</i>); 2,71 (1H, <i>m</i>); 2,90 (1H, <i>dd</i>); 3,08 (2H, <i>m</i>); 3,30 (1H, <i>dd</i>); 3,65 (3H, <i>s</i>); 3,89 (1H, <i>m</i>); 3,92 (3H, <i>s</i>); 6,79 (1H, <i>s</i>); 6,85 (1H, <i>d</i>); 6,86 (1H, <i>d</i>) (Lampiran 2)
^{13}C δ_{C} (ppm), CDCl ₃	20,8; 29,1; 36,7; 52,4; 56,4; 61,9; 62,4; 66,1; 111,3; 114,7; 119,5; 119,6; 125,0; 129,2; 129,9; 131,2; 140,6; 143,6; 147,6; 149,2 (Lampiran 2)

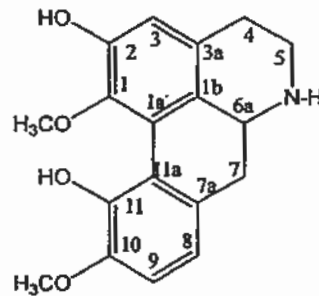
Spektrum ^1H NMR dari senyawa A-1 (Lampiran 2) memperlihatkan profil kerangka alkaloida aporfin dengan proton-proton aromatik yaitu dua proton dengan sistem AB pada pergeseran kimia 6,85 ppm (1H, *d*, $J = 8$ Hz) dan 6,86 ppm (1H, *d*, $J = 8$ Hz) serta satu proton pada 6,79 ppm (1H, *s*). Dua sinyal pada 3,65 (3H, *s*) dan 3,92 ppm (3H, *s*) menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,56 (1H, *t*); 2,67 (1H, *m*); 2,71 (1H, *m*); 2,90 (1H, *dd*) dan 3,08 ppm (2H, *m*) serta satu sinyal proton metin pada 3,30 ppm (1H, *dd*). Adanya dua sinyal dengan sistem AB pada spektrum ini menandakan adanya dua proton dengan posisi orto dengan kopling konstan 8. Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 2) yaitu pada pergeseran kimia 29,1; 52,3; 36,7 ppm yang menunjukkan karbon-karbon

gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, dan C-7, dan 61,9 ppm yang menunjukkan karbon dari metin, C-6a. Dua karbon gugus metoksi terlihat pada pergeseran kimia 56,4 dan 62,4 ppm dan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada 111,3; 114,6; 119,5; 119,5; 125,0; 129,2; 129,9; 131,2 ppm, sedangkan karbon olefinik kuarterner yang mengikat oksigen terlihat pada 140,6; 143,6; 147,6; 149,2 ppm.

Hasil pengukuran HMQC (Lampiran 3) memperlihatkan bahwa satu proton aromatik (H-3) pada pergeseran kimia 6,79 ppm (s) terikat pada posisi C-3 (114,7 ppm), sedangkan satu proton (H-8) pada δ 6,79 (d, $J = 8$ Hz) dan satu proton (H-9) pada δ 6,86 (d, $J = 8$ Hz) posisinya berturut-turut terikat pada C-8 (119,5 ppm) dan C-9 (111,3 ppm). Pada spektrum HMBC (Lampiran 3) terlihat adanya korelasi antara proton pada δ 6,79 (s) dengan C-1 (140,6 ppm), C-2 (147,6 ppm), C-3a (129,2 ppm), dan C-4 (29,2 ppm), hal ini memperkuat kedudukan proton tersebut ada pada posisi H-3. Adanya kopling antara proton pada δ 6,85 ppm dengan proton pada δ 6,86 yang memberikan dua doublet dengan sistem AB (kopling konstan 8 Hz) menunjukkan bahwa kedua proton tersebut ada pada kedudukan orto. Pada spektrum HMBC juga terlihat adanya korelasi antara proton pada δ 6,85 dengan C-7 (36,7 ppm) dan C-10 (149,2 ppm) yang menunjukkan bahwa proton ini adalah proton H-8, dengan demikian proton pada δ 6,86 adalah proton H-9 yang diperkuat dengan adanya korelasi jarak jauh dengan sinyal karbon pada C-7a (129,9 ppm) dan C-11 (143,6 ppm).

Kedudukan kedua gugus metoksi dapat diketahui dari spektrum HMBC dimana gugus metoksi aromatik OCH_3 (δ_{H} 3,65 dengan δ_{C} 62,4) terikat pada C-1 (140,6 ppm) dan gugus metoksi lainnya (δ_{H} 3,92 dengan δ_{C} 56,4) terikat pada C-10 (149,6 ppm). Posisi dari kedua metoksi tersebut diperkuat dengan percobaan NOE-diff (Lampiran 4), bila sinyal proton H-9 pada pergeseran kimia 6.86 ppm diiradiasi maka terjadi kenaikan sinyal proton metoksi pada pergeseran 3,92 ppm, sedangkan bila proton pada pergeseran kimia 6,79 maupun 6,85 ppm diiradiasi tidak mempengaruhi sinyal proton metoksi manapun. Dua karbon olefinik kuarterner yang mengikat oksigen lain yaitu karbon pada pergeseran kimia 147,6 ppm (C-2) dan karbon pada pergeseran kimia 143,6 ppm (C-11), terikat dengan substituen lain yaitu gugus OH.

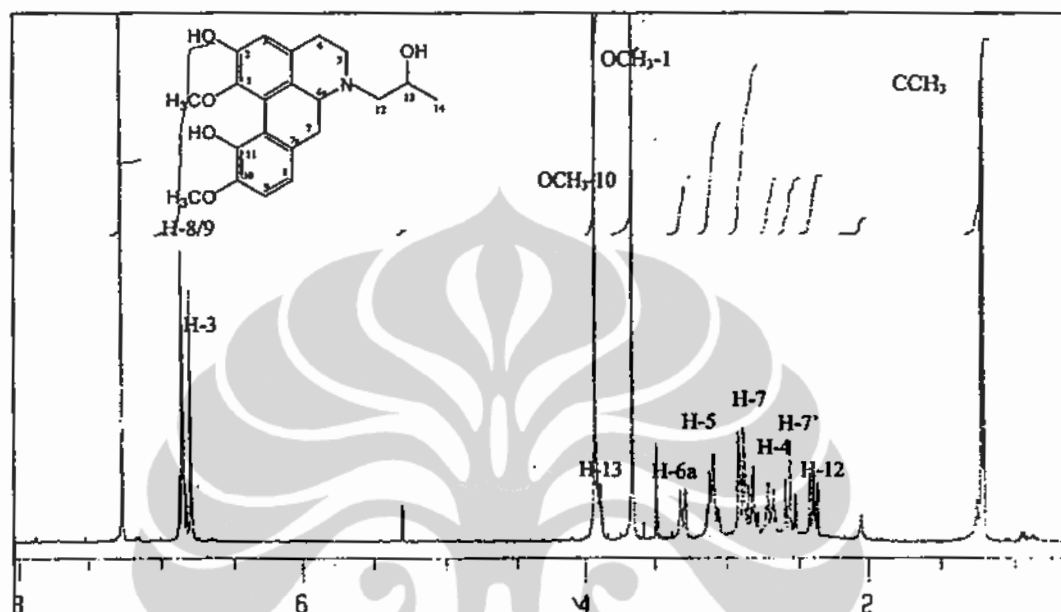
Spektrum IR (Lampiran 1) memperlihatkan adanya pita pada daerah 3014 dan 1594 cm^{-1} dan pita yang kuat pada 755 cm^{-1} berturut-turut menunjukkan vibrasi ulur dan tekuk dari C-H aromatik. Hasil pengukuran spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa senyawa A-1 adalah senyawa aromatik dengan λ_{max} 309 nm. Hasil analisis spektrum NMR mengarahkan kepada struktur lindcarpin² seperti pada Gambar 26. Dengan demikian senyawa A-1 merupakan turunan dari lindcarpin.



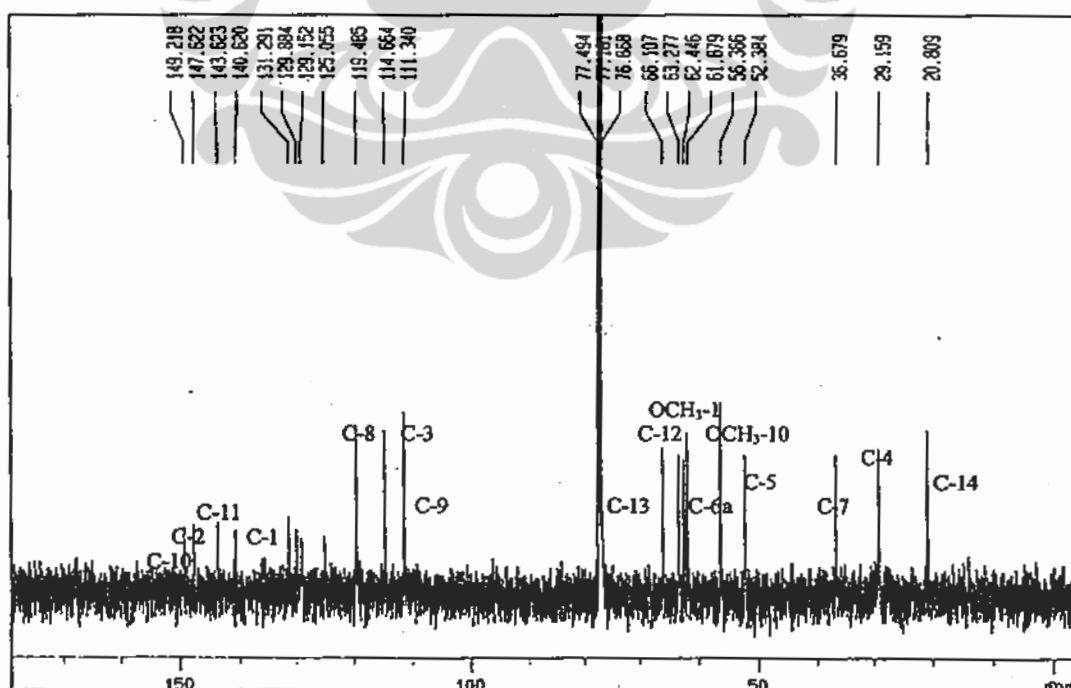
Gambar 26. Struktur lindcarpin

Dalam spektrum ^1H NMR juga terlihat adanya sinyal-sinyal proton alifatik lain yang penting dalam penentuan struktur senyawa A-1. Hasil pengukuran NMR 2 D memperlihatkan satu sinyal proton dari gugus C-CH₃ pada pergeseran kimia 1,22 ppm (*d*) terikat pada karbon dengan δ 20,8, satu proton metin pada δ 3,89 (*m*) terikat pada karbon dengan δ 66,1 dan dua hidrogen metilen alifatik pada δ 2,82 (*dd*) dan 2,38 (*dd*) terikat pada karbon dengan δ 63,3. Dalam percobaan ini juga terlihat adanya korelasi antara proton-proton gugus metil dengan karbon dari gugus metin pada δ 66,1, sementara itu proton-proton metilen mempunyai korelasi dengan karbon (C-5) pada δ 52,4, keadaan ini menunjukkan bahwa gugus metilen terikat pada nitrogen cincin B dari kerangka lindcarpin dan pada karbon metin, sementara itu gugus metil juga terikat pada karbon metin. Hasil analisis ini menunjukkan bahwa karbon (63,3 ppm) dan proton-proton metilen (2,82 dan 2,38 ppm) adalah C-12 dan H-12/H-12', karbon metin (66,1 ppm) dan protonnya (3,89 ppm) adalah C-13 dan H-13, terakhir karbon metil (20,8 ppm) adalah C-14. Sinyal-sinyal dalam spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada **Gambar 27** dan **Gambar 28**. Pada percobaan COSY (**Lampiran 4**) terlihat

ada empat pasang spin-spin proton: H-12' (2,38 ppm) dan H-13 (3,89 ppm); H-13 (3,89 ppm) dan CCH₃ (1,22 ppm); H-4 (2,67 ppm) dan H-5 (3,08 ppm) serta H-6a (3,30 ppm) dan H-7' (2,56 ppm).

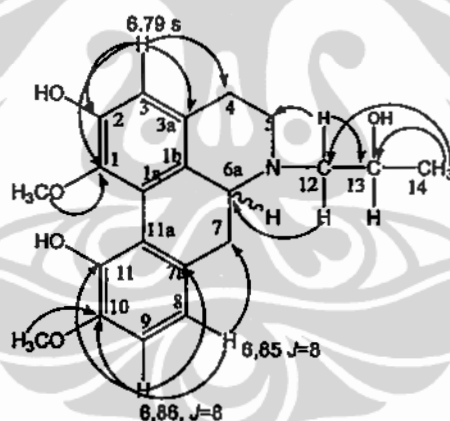


Gambar 27. Spektrum ¹H NMR senyawa A-1



Gambar 28. Spektrum ¹³C NMR senyawa A-1

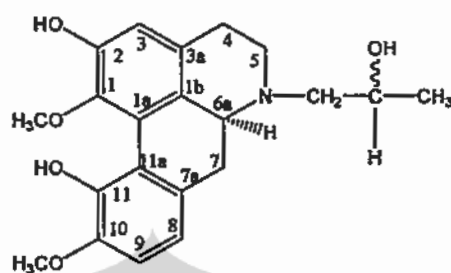
Sinyal dari karbon C-13 ada pada medan rendah (66,1 ppm), hal ini menunjukkan bahwa karbon ini terikat dengan atom yang elektronegatif, maka pada karbon C-13 terikat gugus OH. Adanya gugus hidroksi tersebut didukung oleh spektrum IR yang memperlihatkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3180 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur O-H. Dengan demikian rantai samping yang terikat pada nitrogen dari cincin B adalah 2-hidroksipropil. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa senyawa A-1 merupakan senyawa turunan lindcarpin: *N*-(2-hidroksipropil)-lindcarpin, $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{N}$, yang sesuai dengan berat molekul m/z 371 (HRESIMS, Lampiran 1). Analisis HMBC pada senyawa A-1 dapat dilihat pada Gambar 29.



Gambar 29. Analisis HMBC senyawa A-1

Data spektra ^1H , ^{13}C NMR serta HMBC dari senyawa A-1 terangkum dalam Tabel 6. Hasil analisis spektra NMR, HRESIMS, IR, UV dan rotasi optik ($[\alpha]_{\text{D}}^{25} : +120^\circ$) maka dapat disimpulkan bahwa senyawa A-1 (+)-*N*-(2-hidroksipropil)-lindcarpin, yang diberi nama pruinisin A dengan struktur

seperti pada **Gambar 30**. Hasil penelusuran pustaka melalui *Science Finder* menunjukkan bahwa senyawa ini belum pernah ditemukan sebelumnya.



Gambar 30. Struktur molekul senyawa A-1 (prunosin A)

4.3. Senyawa A-2

Senyawa A-2 berbentuk amorf kehitaman dengan $[\alpha]_D^{25}$: +114° (MeOH, c = 0.0010). Hasil pengukuran spektra UV, FTIR, HRESIMS, ^1H NMR dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil analisis spektrometri senyawa A-2

Spektrometer	Spektrum
UV (nm), metanol)	318,0
HRESI ⁺ [M+H] (m/z)	372,1797 (calcd. 372,1811) (Lampiran 5)
FTIR (cm ⁻¹), KBr	3207, 3014, 2938, 2361, 1595 (Lampiran 5)
^1H δ_{H} (ppm), CDCl ₃	1,22 (3H, d); 2,27 (1H, dd); 2,44 (1H, m); 2,65 (1H, m); 2,70 (1H, m); 2,77 (1H, t); 3,06 (1H, dd); 3,13 (2H, m); 3,18 (1H, m); 3,64 (3H, s); 3,90 (3H, s); 3,96 (1H, m); 6,77 (1H, s); 6,85 (1H, br s); 6,85 (1H, br s) (Lampiran 6)
^{13}C δ_{c} (ppm), CDCl ₃	19,6; 29,1; 36,1; 48,8; 56,1; 60,6; 61,6; 62,1; 62,7; 111,1; 114,6; 119,2; 119,7; 125,0; 128,6; 129,7; 130,7; 140,6; 143,4; 147,6; 149,1 (Lampiran 6)

Spektrum ^1H NMR senyawa A-2 (**Lampiran 6**) memperlihatkan pola yang hampir sama dengan spektrum ^1H NMR senyawa A-1 yang memperlihatkan profil kerangka alkaloida aporfin dengan proton-proton

aromatik: dua proton dengan sistem AB yang saling tumpang tindih pada pergeseran kimia 6,85 ppm (2H, *broad singlet*) serta satu proton pada 6,77 ppm (1H, *s*). Dua sinyal pada pergeseran kimia 3,64 dan 3,90 ppm menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,44 (1H, *m*); 3,06 (1H, *dd*, $J=3,2; 13,4$ Hz); 2,65 (1H, *m*); 2,70 (1H, *m*); 2,77 (1H, *t*, 12,2); dan 3,13 ppm (2H, *m*) serta satu sinyal adanya proton metin pada 3,18 ppm (1H, *m*). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 6) pada pergeseran kimia 29,1; 48,8; 36,1 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilena yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 111,1; 114,6; 119,2; 119,7; 125,0; 129,7; 130,7; 140,6; 143,4; 147,6; 149,1 ppm.

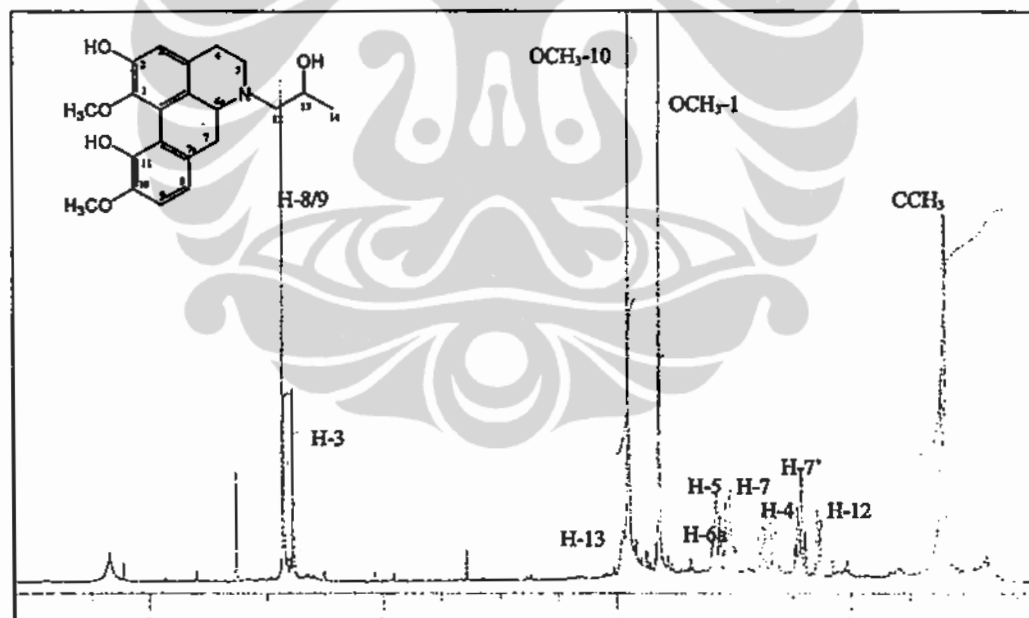
Hasil analisis dengan percobaan HMQC (Lampiran 7) memperlihatkan bahwa satu proton aromatik (H-3) pada δ 6,77 (*s*) terikat pada posisi C-3 (114,6 ppm), satu proton (H-8) pada δ 6,85 (*s*) dan satu proton (H-9) pada δ 6,85 (*s*) yang posisinya berturut-turut pada C-8 (119,2 ppm) dan C-9 (111,1 ppm). Pergeseran kimia dari proton H-8 dengan H-9 muncul secara tumpang tindih, hal tersebut kerap terjadi jika pada posisi C-11 terikat gugus hidroksi (Cordell, 1981). Spektrum HMBC (Lampiran 7) memperlihatkan adanya korelasi antara proton pada δ 6,77 (*s*) dengan C-1 (140,6 ppm), C-2 (147,6 ppm), C-3a (128,6 ppm), dan C-4 (29,1 ppm), hal ini mendukung kedudukan H-3 pada posisi C-3. Adanya korelasi antara proton

H-8 dengan C-7 (36,1 ppm), C-7a (130,7 ppm), C-10 (149,1 ppm) dan adanya korelasi antara H-9 dengan C-11 (143,4 ppm), mendukung kedudukan H-8 dan H-9 berturut-turut pada C-8 dan C-9.

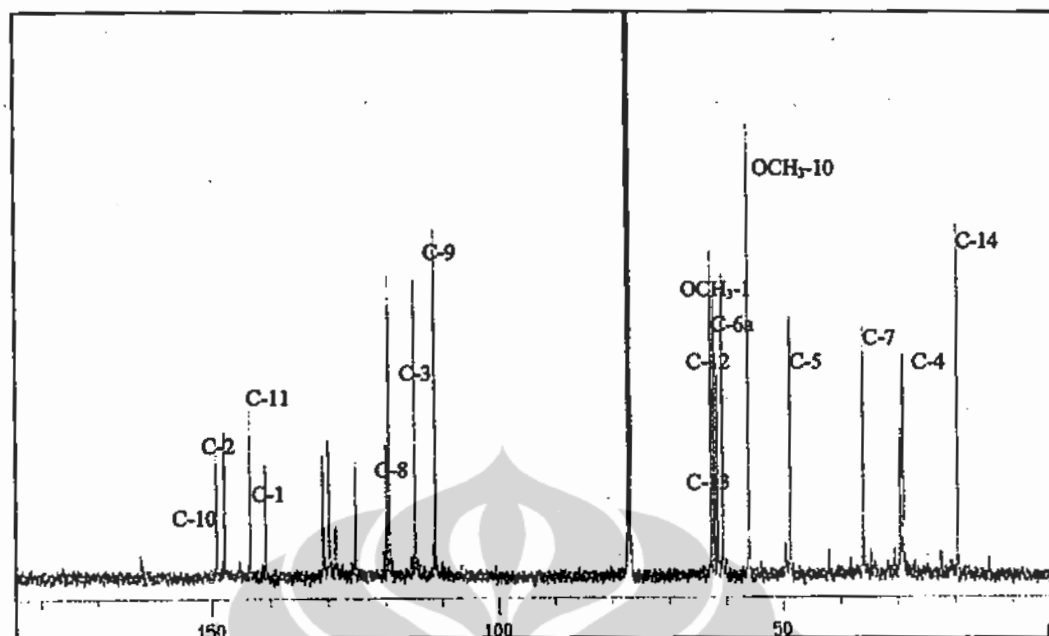
Analisis dengan percobaan HMBC juga menunjukkan bahwa gugus metoksi aromatik OCH₃ (δ_H 3,64 dengan δ_C 62,1) terikat pada C-1 (140,6 ppm) dan OCH₃ (δ_H 3,90 dengan δ_C 56,1) terikat pada C-10 (149,1 ppm). Hal ini didukung dengan percobaan NOE-diff (Lampiran 8) yaitu bila sinyal proton metoksi pada pergeseran kimia 3,90 ppm diiradiasi maka terjadi kenaikan sinyal proton H-9 pada pergeseran kimia 6,85 ppm, sedangkan bila proton H-3 pada pergeseran kimia 6,77 ppm diiradiasi tidak mempengaruhi sinyal proton metoksi manapun. Dua sinyal dalam spektrum ¹³C pada pergeseran kimia 147,6 dan 143,4 ppm menunjukkan adanya gugus OH pada posisi C-2 dan C-11. Seperti halnya dengan senyawa A-1 maka spektrum dari bagian ini juga mengarah kepada struktur lindcarpin (Gambar 26).

Dalam spektrum ¹H NMR juga terlihat adanya sinyal-sinyal proton alifatik lain yang penting dalam penentuan struktur senyawa A-2. Spektrum ini memperlihatkan suatu sinyal proton dari gugus C-CH₃ pada pergeseran kimia 1,22 ppm (*d*) yang terikat pada C-14 (19,6 ppm), satu proton metin pada δ 3,96 ppm (*m*) yang terikat pada C-13 (62,7 ppm) dan dua hidrogen metilen alifatik pada δ 2,27 (1H, *dd*, *J* = 12,6; 2,0 Hz) dan 2,77 ppm (1H, *t*) yang terikat pada C-12 (61,6 ppm). Dalam spektrum HMBC terlihat adanya korelasi antara proton-proton gugus metil dengan karbon dari gugus metin

pada δ 62,7 (C-13) dan karbon metilen pada 61,6 (C-12), sementara itu proton-proton metilen mempunyai korelasi dengan C-5 (48,8 ppm) dan C-6a (60,7 ppm), keadaan ini menunjukkan bahwa gugus metilen terletak antara nitrogen cincin B dari kerangka aporfin dan gugus metin. Sinyal dari karbon C-13 dan C-12 ada pada medan rendah, hal ini menunjukkan bahwa karbon ini terikat dengan atom yang elektronegatif (O atau N). Sinyal-sinyal dalam spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada **Gambar 31** dan **Gambar 32**. Hasil analisis HMBC senyawa A-2 dapat dilihat pada **Gambar 33**. Percobaan COSY (**Lampiran 8**) memberikan pasang spin-spin proton: C-CH₃ dengan H-13, hal ini mendukung bahwa gugus metil terikat pada C-13.

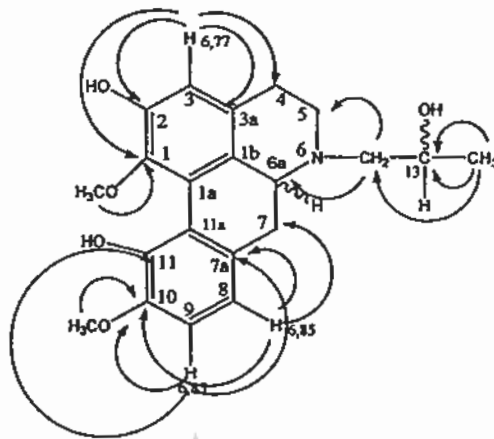


Gambar 31. Spektrum ^1H NMR senyawa A-2



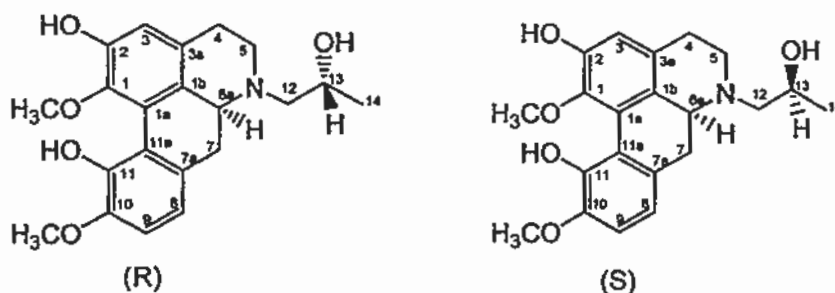
Gambar 32. Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-2

Hasil analisis spektrum massa HRESIMS menunjukkan bahwa berat molekul senyawa ini adalah m/z 371, maka karbon metin C-13 terikat oleh gugus OH. Dengan demikian rantai samping yang terikat pada nitrogen dari cincin B adalah 2-hidroksipropil. Adanya gugus hidroksi tersebut didukung oleh spektrum IR yang memperlihatkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3207 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur O-H. Hasil pengukuran spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa senyawa ini adalah aromatik dengan λ_{max} 318 nm dan rotasi optik dari senyawa ini adalah $+114^\circ$. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa senyawa A-2 merupakan senyawa turunan lindcarpin: (+)-*N*-(2-hidroksipropil)-lindcarpin yang diberi nama pruinisin B, $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{N}$. Data spektra ^1H , ^{13}C NMR serta HMBC dari senyawa A-2 terangkum dalam Tabel 6.



Gambar 33. Analisis HMBC senyawa A-2

Senyawa A-1 dan A-2 memberikan struktur molekul yang sama walaupun kedua senyawa ini berbeda, sehingga diduga kedua senyawa tersebut merupakan isomer yang disebabkan adanya pusat kiral pada C-13 yang memberikan konfigurasi (*R*) dan (*S*). Stereokimia dari senyawa A-1 dan A-2 ditentukan dengan percobaan NOE-diff. Irradiasi pada proton H-13 dari kedua senyawa tersebut memberikan kenaikan sinyal H-6a sebesar 1,9 % pada senyawa A1 dan 4,3 % pada A-2. Keadaan ini menunjukkan bahwa C-13 dalam senyawa A-2 mengalami suatu konfigurasi *S* karena H-13 berada dalam ruang yang lebih dekat dengan H-6a. Konfigurasi senyawa A-1 dan A-2 dapat diperkirakan seperti pada **Gambar 34**.



Gambar 34. Konfigurasi senyawa A-1 (*R*) dan senyawa A-2 (*S*)

Table 6. Data spektra NMR ^{13}C (100 MHz) and ^1H (400 MHz) senyawa A-1 dan A-2^a

Posisi	Senyawa A-1			Senyawa A-2		
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)	HMBC	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)	HMBC
1	140,6			140,6		
1a	125,0			125,0		
1b	131,3			130,7		
2	147,6			147,6		
3	114,7	6,79 s	1,2,3a,4	114,6	6,77 s	1,2,3a,4
3a	129,2			128,6		
4	29,2	2,67 m		29,1	2,65 m	
4'		2,71 m	1b		2,70 m	1b
5, 5'	52,4	3,08 m		48,8	3,13 m	6a,3a
6a	61,9	3,30 dd (13,1; 3,2)		60,6	3,18 m	1b
7	36,7	2,90 dd (13,1; 3,2)	6a	36,7	3,06 dd (3,2;13,4)	7a,11a,3a
7'		2,56 t (13,1)	7a		2,44 m	6a,7a
7a	129,9			129,7		
8	119,5	6,85 d (8,0)	7,7a,10	119,2	6,85 br s	7,7a,10
9	111,3	6,86 d (8,0)	11	111,1	6,85 br s	7a,10,11
10	149,2			149,1		
11	143,6			143,4		
11a	119,6			119,7		
12	63,3	2,80 m	5	61,6	2,77 t	5,6a,13
12'		2,38 dd (13,7; 9,0)	5,13		2,27 dd (12,6; 2,0)	5
13	66,1	3,89 m		62,7	3,96 m	
14 (Me)	20,8	1,22 d (6,1)	12,13	19,6	1,22 d (6,1)	12,13
1-OMe	62,4	3,66 s	1	62,1	3,64 s	1
10-OMe	56,4	3,92 s	10	56,1	3,90 s	10

^adalam CDCl_3

4.4. Senyawa A-3

Senyawa A-3 berbentuk amorf kehitaman dengan $[\alpha]_D^{25}$: + 65,6° (MeOH, c = 0.0012). Hasil pengukuran spektra UV, LCMS, ^1H NMR dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil analisis spektrometri senyawa A-3

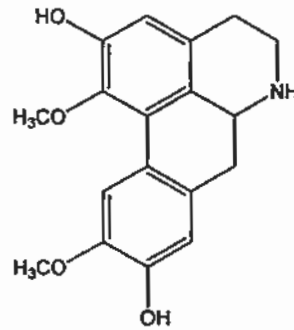
Spektrometer	Spektrum
UV (nm), metanol	313,0
LCMS [M+H] (m/z)	371,9107 (Lampiran 11)
^1H δ_{H} (ppm), CDCl_3	1,07 (3H, <i>d</i>); 2,29 (1H, <i>m</i>); 2,53 (2H, <i>m</i>); 2,68 (1H, <i>m</i>); 2,76 (2H, <i>d</i>); 2,93 (<i>m</i> , 1H); 3,04 (1H, <i>m</i>); 3,30 (1H, <i>m</i>); 3,44 (3H, <i>s</i>); 3,76 (3H, <i>s</i>); 3,79 (1H, <i>m</i>); 6,50 (1H, <i>s</i>); 6,66 (1H, <i>s</i>); 7,75 (1H, <i>s</i>) (Lampiran 9)
^{13}C δ_{C} (ppm), CDCl_3	20,7; 28,4; 34,8; 52,5, 56,3; 60,4; 61,5; 62,8; 65,7; 110,4; 113,4; 114,4; 123,5; 126,3; 126,4; 129,7; 129,8; 142,3; 145,3; 145,9; 148,5 (Lampiran 9).

Seperti pada senyawa A-1 dan A-2, spektrum ^1H NMR (Lampiran 9) senyawa A-3 juga memperlihatkan profil kerangka alkaloida aporfin. Adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,50 (1H, *s*), 6,66 (1H, *s*) dan 7,75 ppm (1H, *s*) menunjukkan ada tiga proton aromatik dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,59 dan 3,89 ppm menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,53 (1H, *m*); 2,68 (1H, *m*); 2,76 (1H, *m*); 2,93 (1H, *m*); dan 3,04 ppm (1H, *m*); serta satu sinyal proton metin pada 3,30 ppm (1H, *m*).

Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 9) pada pergeseran kimia 28,4; 52,5; 34,8 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada

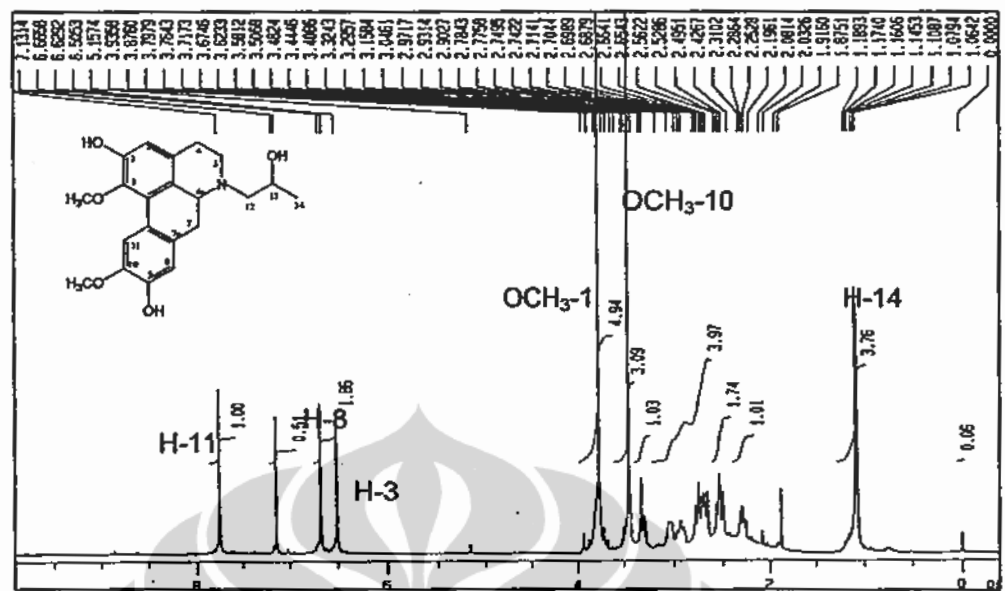
pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 110.4; 113,4; 114.4; 123.5; 126.3;126.4; 129,7; 129,8; 142,3; 145,3; 145,9; dan 148.5 ppm.

Hasil analisis dengan percobaan HMQC (**Lampiran 10**) dan HMBC (**Lampiran 10**) memperlihatkan bahwa satu proton aromatik (H-3) pada δ 6,50 (s) terikat pada posisi C-3 (113,4 ppm), hal ini terlihat adanya korelasi jarak jauh antara δ 6,50 (s) dengan C-1 (142,3 ppm), C-2 (148,5 ppm), C-3a (129,7 ppm), dan C-4 (28,4 ppm), sedangkan satu proton (H-8) pada δ 6,66 (s) yang posisinya pada C-8 (119,2 ppm) mempunyai korelasi jarak jauh dengan C-7 (34,8 ppm), C-10 (145,8 ppm), C-11a (123,3 ppm) sedangkan H-11 pada 7,75 ppm (s) berkorelasi jarak jauh dengan C-1a (126,4 ppm), C-7a (129,8 ppm), C-11a (123,3 ppm) dan C-9 (145,3 ppm). Analisis dengan percobaan HMBC juga menunjukkan bahwa gugus metoksi aromatik OCH₃ (δ_H 3,44 dengan δ_C 60,4) terikat pada C-1 (142,3 ppm) dan OCH₃ (δ_H 3,76 dengan δ_C 56,3) terikat pada C-10 (145,8 ppm). Dua sinyal dalam spektrum ¹³C NMR pada pergeseran kimia 148,5 (C-2) dan 145,3 ppm (C-9) menunjukkan adanya gugus OH pada kedua posisi itu. Hasil analisis spektrum NMR dan penelusuran pustaka memberikan petunjuk bahwa kerangka ini adalah bagian dari alkaloid laurolicsin (norboldine)² seperti struktur berikut ini.

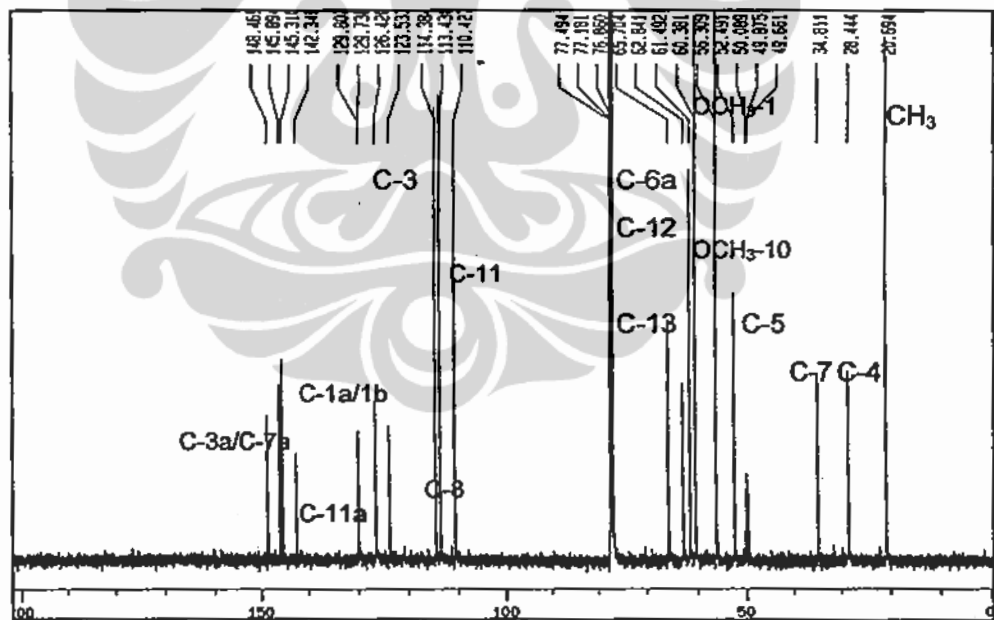


Gambar 35. Struktur Laurolitsin

Dalam spektrum ^1H NMR juga terlihat adanya sinyal-sinyal proton alifatik lain yang penting dalam penentuan struktur senyawa A-3. Spektrum ini memperlihatkan satu sinyal proton dari gugus C-CH_3 pada pergeseran kimia 1,07 ppm (*d*) yang terikat pada C-14 (20,7 ppm), satu proton metin pada δ 3,79 (*m*) yang terikat pada C-13 (65,7 ppm) dan dua hidrogen metilen alifatik pada δ 2,29 (1H, *m*) dan 2,76 (1H, *m*) yang terikat pada C-12 (62,8 ppm). Dalam NMR dua dimensi terlihat adanya korelasi antara proton-proton gugus metil dengan karbon dari gugus metin pada δ 65,7 (C-13) dan 62,8 (C-12), sementara itu proton-proton metilen alifatik mempunyai korelasi dengan C-5 (52,5 ppm) dan C-6a (61,4 ppm) keadaan ini menunjukkan bahwa gugus metilen terletak antara nitrogen cincin B dari kerangka aporfin dan gugus metin. Posisi proton dan karbon dalam spektra ^1H dan ^{13}C NMR dari senyawa ini dapat dilihat pada **Gambar 36** dan **37**.

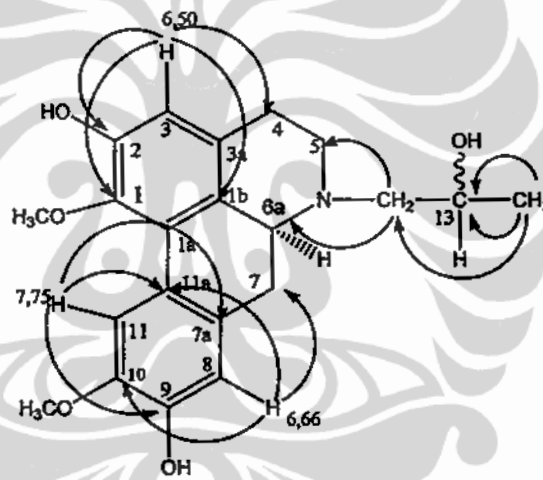


Gambar 36. Spektrum ¹H NMR senyawa A-3



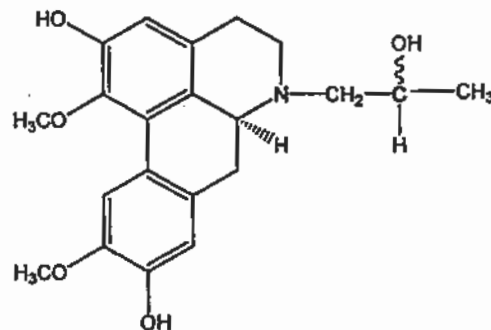
Gambar 37. Spektrum ¹³C NMR senyawa A-3

Spektrum massa dari hasil analisis LCMS ESI (Lampiran 11) menunjukkan bahwa berat molekul senyawa ini adalah m/z 371, maka ada satu gugus OH yang terikat pada C-13. Hal ini juga terlihat adanya sinyal karbon C-13 pada pergeseran kimia 65,7 ppm, dengan demikian rantai samping yang terikat pada nitrogen dari cincin B adalah 2-hidroksipropil. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa senyawa A-3 merupakan senyawa turunan laurolitsin (norboldin): *N*-(2-hidroksipropil)-laurolitsin. Analisis HMBC senyawa A-3 dapat dilihat pada **Gambar 38**.



Gambar 38. Analisis HMBC senyawa A-3

Hasil analisis data spektroskopi di atas menyimpulkan bahwa senyawa A-3 adalah senyawa turunan dari laurolitsin yaitu (+)-*N*-(2-hidroksipropil)-laurolitsin, $C_{21}H_{25}O_5N$, yang diberi nama pruinocin C dengan struktur seperti pada **Gambar 39**. Hasil penelusuran pustaka melalui *Science Finder* menunjukkan bahwa senyawa ini belum pernah dipublikasi. Data spektra 1H , ^{13}C NMR serta HMBC senyawa ini terangkum dalam **Tabel 9**.



Gambar 39. Struktur molekul senyawa A-3 (prunosin C)

4.5. Senyawa A-4

Senyawa A-4 berbentuk amorf kehitaman dengan $[\alpha]_D^{25}$: +71,21° (MeOH, c = 0.0007). Hasil pengukuran spektra UV, FTIR, LCMS, ^1H NMR dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil analisis spektrometri senyawa A-4

Spektrometer	Spektrum
UV (nm, metanol)	319,0
LCMS ESI ⁺ [M+H] (m/z)	371,9339 (Lampiran 14)
^1H δ_{H} (ppm) CDCl ₃	1,25 (1H, <i>d</i>); 2,27 (1H, <i>m</i>); 2,46 (1H, <i>dd</i>); 2,52 (1H, <i>d</i>); 2,66 (1H, <i>d</i>); 2,79 (1H, <i>t</i>); 3,00 (1H, <i>dd</i>); 3,19 (2H, <i>m</i>); 3,26 (1H, <i>d</i>); 3,57 (3H, <i>s</i>); 3,91 (3H, <i>s</i>); 3,94 (1H, <i>m</i>); 6,65 (1H, <i>s</i>); 6,84 (1H, <i>s</i>); 7,87 (1H, <i>s</i>) (Lampiran 12)
^{13}C δ_{C} (ppm) CDCl ₃	19,9; 29,2; 34,7; 49,6; 56,3; 60,4; 60,5; 61,7; 62,9; 110,3; 113,3; 114,3; 123,7; 126,6; 126,7; 129,9; 130,2; 142,3; 145,3; 145,8; 148,3 (Lampiran 12)

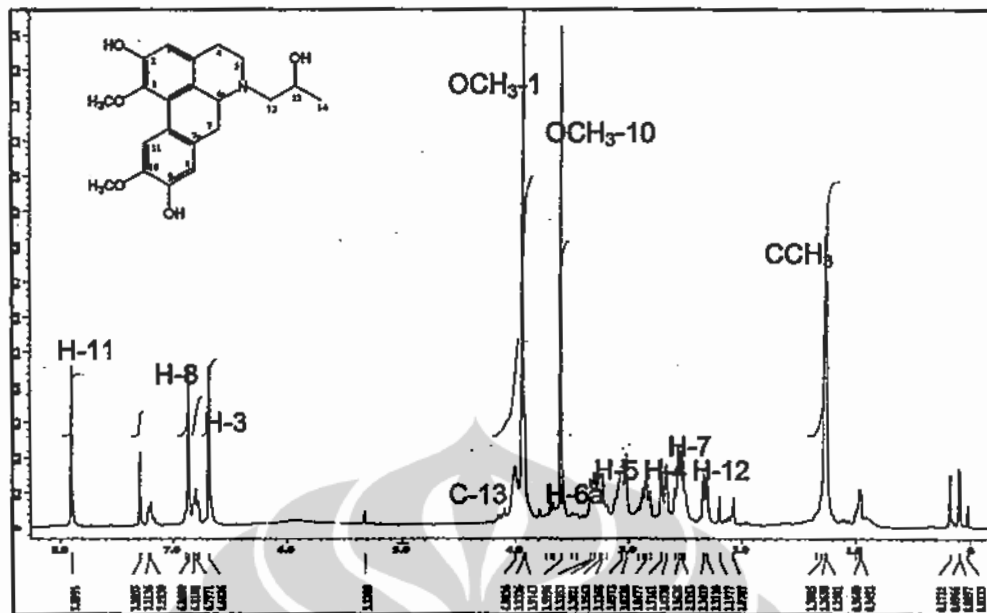
Spektrum ^1H NMR (Lampiran 12) senyawa A-4 memperlihatkan profil kerangka alkaloida aporfin. Adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,65 (1H, *s*); 6,84 (1H, *s*) dan 7,87 ppm (1H, *s*) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,91 ppm dan 3,57 ppm yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran

kimia 2,46 (1H, *dd*); 2,52 (1H, *d*); 2,66 (1H, *d*); 3,00 (1H, *dd*); 3,19 (2H, *m*) serta satu sinyal proton metin pada δ 3,26 (1H, *dd*). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 12) pada pergeseran kimia 29,2; 49,6; 34,4 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 110,3; 113,3; 114,3; 123,7; 126,6; 126,7; 129,9; 130,2; 142,3; 145,3; 145,8; 148,3 ppm. Hasil analisis HMBC (Lampiran 13) memperlihatkan bahwa satu proton aromatik (H-3) pada δ 6,65 ppm (*s*) terikat pada posisi C-3 (113,3 ppm), hal ini dapat dilihat dari korelasi antara δ 6,65 ppm (*s*) dengan C-1 (142,3), C-1b (126,6), C-2 (148,3) dan C-4 (29,2), sedangkan satu proton (H-8) pada δ 6,84 (*s*) yang posisinya pada C-8 (114,4 ppm) berkorelasi dengan C-7 (34,4 ppm), C-10 (145,8 ppm), C-11a (123,7 ppm) sedangkan H-11 pada δ 7,87 (*s*) berkorelasi dengan C-1a (126,7 ppm); C-7a (129,9 ppm); C-11a (123,7 ppm) dan C-9 (145,3 ppm).

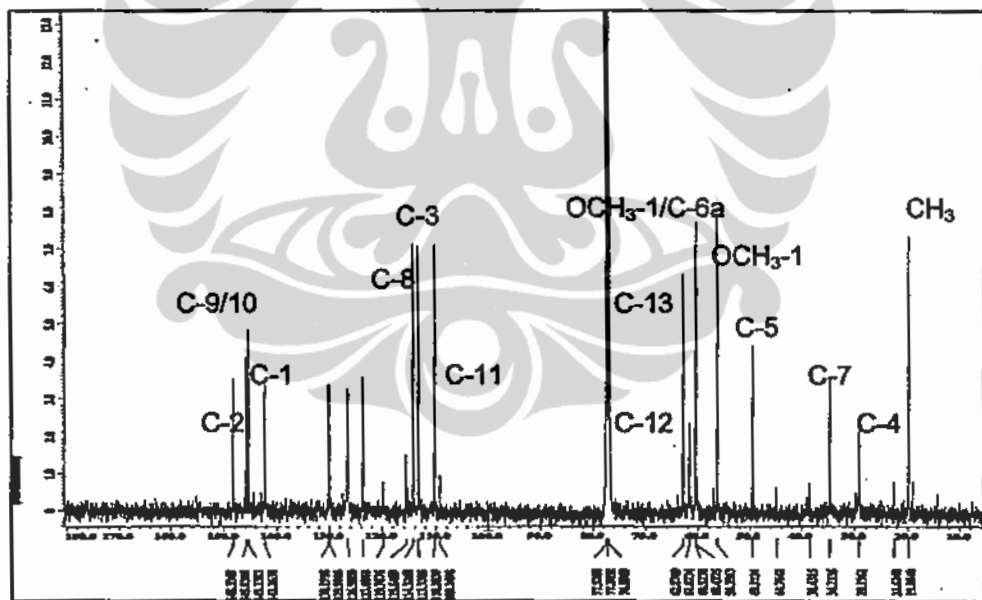
Analisis dengan percobaan HMBC juga menunjukkan bahwa gugus metoksi aromatik OCH_3 (δ_{H} 3,57 dengan δ_{C} 60,4) terikat pada C-1 (142,3 ppm) dan OCH_3 (δ_{H} 3,91 dengan δ_{C} 56,3) terikat pada C-10 (145,8 ppm). Dua sinyal dalam spektrum ^{13}C pada pergeseran kimia 148,5 ppm (C-2) dan 145,3 ppm (C-9) menunjukkan adanya gugus OH pada kedua posisi itu, hal ini didukung dengan percobaan NOE-diff (Lampiran 14), bila sinyal proton OCH_3 -10 pada pergeseran kimia 3,57 ppm diiradiasi maka terjadi kenaikan sinyal proton H-11 pada pergeseran kimia 7,87 ppm, sedangkan bila proton

OCH₃-1 pada pergeseran kimia 3,91 ppm diiradiasi juga mempengaruhi sinyal proton H-11, ini disebabkan posisinya saling berhadapan walaupun bukan bertetangga. Seperti senyawa A-3 maka spektrum dari bagian ini juga mengarah kepada struktur alkaloid laurrolitsin atau norboldin². Data spektra NMR dapat dilihat pada Tabel 9.

Dalam spektra ¹H NMR dan ¹³C NMR (Gambar 40 dan 41) juga terlihat adanya sinyal-sinyal proton alifatik lain yang penting dalam penentuan struktur senyawa A-4. Hasil pengukuran korelasi H-C melalui percobaan HMQC diketahui bahwa proton dari gugus C-CH₃ pada pergeseran kimia 1,25 ppm (*d*) terikat pada C-14 (19,9 ppm), satu proton metin pada δ 3,95 (*m*) terikat pada C-13 (62,9 ppm) dan dua proton metilen alifatik pada δ 2,27 (1H, *dd*, *J* = 2,7; 12,7 Hz) dan 2,79 ppm (1H, *dd*, *J* = 10,7; 12,7 Hz) terikat pada C-12 (61,7 ppm). Dalam percobaan HMBC terlihat adanya korelasi antara proton-proton gugus metil dengan karbon dari gugus metin pada δ_C 62,9 (C-13) dan karbon dari metilen pada δ_C 61,7 (C-12), sementara itu proton-proton metilen alifatik (H-12) mempunyai korelasi dengan C-5 (49,6 ppm) dan C-6a (60,5 ppm) keadaan ini menunjukkan bahwa gugus metilen terikat pada nitrogen cincin B dari kerangka aporfin dan dengan karbon gugus metin (C-13). Percobaan COSY (Lampiran 13) memberikan lima pasang spin-spin proton: H-6a dengan H-7', C-CH₃ dengan H-13, H-12 dengan H-13, H-4 dengan H-5 dan H-12 dan H-12'.

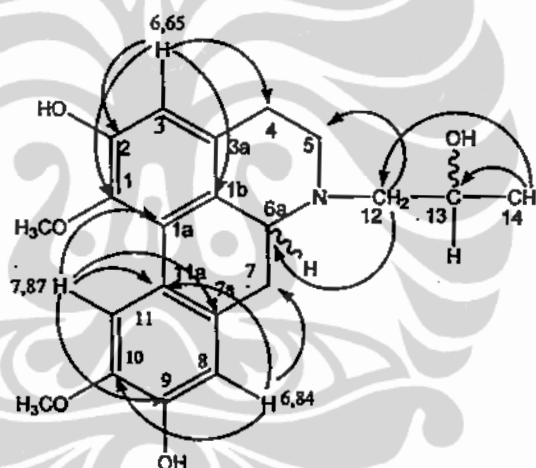


Gambar 40. Spektrum ^1H NMR senyawa A-4



Gambar 41. Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-4

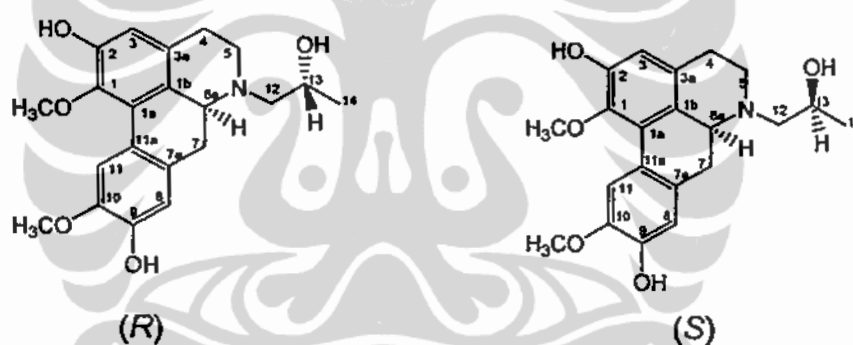
Spektrum massa dari hasil pengukuran dengan LCMS (Lampiran 14) menunjukkan berat molekul senyawa A-4 371 yang sesuai dengan rumus molekul $C_{21}H_{25}O_5N$. Hal ini mengungkapkan bahwa pada C-13 terikat satu gugus OH, dengan demikian rantai samping yang terikat pada nitrogen dari cincin B adalah 2-hidroksipropil. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa senyawa A-4 merupakan senyawa turunan laurolitsin yaitu (+)-N-(2-hidroksipropil)-laurolitsin, $C_{21}H_{25}O_5N$, yang diberi nama prunosin D. Data spektra 1H , ^{13}C NMR serta HMBC dari senyawa A-4 dipaparkan dalam Tabel 9. Analisis HMBC senyawa A-4 dapat dilihat pada Gambar 42.



Gambar 42. Analisis HMBC senyawa A-4

Hasil analisis spektra dari senyawa A-3 dan A-4 memberikan dua senyawa dengan struktur yang sama. Kemungkinan kedua senyawa tersebut merupakan isomer yang disebabkan perbedaan stereokimia OH dan H pada karbon C-13 yaitu bentuk (*R*) dan (*S*). Untuk menentukan konfigurasi tersebut dapat dibandingkan dengan senyawa A-1 dan A-2.

Pada senyawa A-1 pergeseran kimia dari C6a, C-12 dan C-13 ada pada medan yang lebih rendah daripada δ C6a, C-12 dan C-13 senyawa A-2 (lihat Tabel 6). Hal tersebut memberikan konfigurasi *R* untuk senyawa A-1 dan *S* untuk senyawa A-2. Keadaan tersebut dialami juga oleh senyawa A-3 dan A-4 dimana pergeseran kimia C6a, C-12 dan C-13 dari senyawa A-3 ada pada medan yang lebih rendah daripada δ C6a, C-12 dan C-13 dari senyawa A-4. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa A-3 mengalami konfigurasi *R* dan senyawa A-4 mengalami konfigurasi *S*. Konfigurasi senyawa A-3 dan A-4 dapat diperkirakan seperti pada Gambar 43.



Gambar 43. Konfigurasi senyawa A-3 dan A-4

Table 9. Data spektra NMR ^{13}C (100 MHz) and ^1H (400 MHz) senyawa A-3 dan A-4^a

Posisi	Senyawa A-3			Senyawa A-4		
	δ ^{13}C	δ ^1H (J dalam Hz)	HMBC	δ ^{13}C	δ ^1H (J dalam Hz)	HMBC
1.	142,3			142,3		
1a.	126,4			126,7		
1b.	126,3			126,6		
2.	148,5			148,5		
3.	113,4	6,50 s	1,1b,2,4,	113,3	6,65 s	1,1b,2,4,
3a.	129,7			130,2		
4	28,4	2,51 d (13)	1b,3,3a,5	29,2	2,52 d (13,9)	1b
4'		2,93 m	5		2,66 d (15,6)	1b,3a,5
5	52,5	2,77 d (3,4)		49,6	3,18 d (5,6)	6a
5'		3,04 m	3a,4		3,20 d (4,4)	3a,4,6a
6a.	61,4	3,30 d (11)		60,5	3,26 d (13,7)	
7	34,8	2,54 d (13)	6a,7a	34,4	2,46 dd (11,9; 4,1)	1b,6a,7a
7'		2,68 m	6a,9,11a,1b,7a		3,00 dd (13,9; 3,4)	1b,6a,7a
7a.	129,8			129,9		
8.	114,4	6,66 s	7,11a,10	114,3	6,84 s	7,11a,10
9.	145,3			145,3		
10.	145,8			145,8		
11.	110,4	7,75 s	1a,7a,11a,9	110,3	7,87 s	1a,7a,11a,9
11a.	123,3			123,7		
12	62,8	2,29 m	6a,13,5,14	61,7	2,27 dd (2,7; 12,7)	6a,13,5,14
12'		2,74 d (3)	6a		2,79 dd (10,7; 12,7)	5
13	65,7	3,79 m		62,9	3,95 m	
CCH ₃	20,7	1,07 d (6)	12,13	19,9	1,25 d (6)	12,13
OMe-1	60,4	3,44 s	1	60,4	3,57 s	1
OMe-10	56,3	3,76 s	10	56,5	3,91 s	10

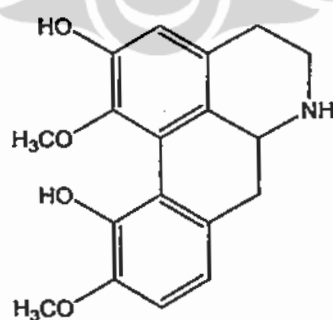
^a dalam CDCl₃

4.6. Senyawa A-5

Senyawa A-5 berbentuk amorf berwarna coklat keunguan dengan $[\alpha]_D^{25} + 145^\circ$ (MeOH, $c = 0,0016$) dan UV spectrum pada λ_{max} 306 nm. Spektrum ^1H NMR (Lampiran 15) senyawa A-5 memperlihatkan profil kerangka alkaloida aporfina dengan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,75 (1H, s); 6,82 (1H, d, $J = 8$ Hz) dan 6,83 ppm (1H, d, $J = 8$ Hz) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,66 dan 3,91 ppm yang menunjukkan adanya gugus

metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,59 (1H, *d*); 2,65 (1H, *d*); 2,69 (1H, *t*); 2,83 (1H, *d*); 2,97 (1H, *m*); 3,35 (*m*, 1H) serta satu sinyal proton metin pada δ 2,79 (1 H, *d*). Dua sinyal dengan sistem AB pada spektrum ini menandakan adanya dua proton dengan posisi orto (kopling konstan 8).

Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C MNR (Lampiran 15) pada pergeseran kimia 28,6; 42,5; 37,8; ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 111,1; 115,4; 119,2; 119,7; 124,6; 129,3; 129,4; 130,8; 140,7; 143,6; 147,9; 149,1 ppm. Hasil analisis data NMR tersebut dan studi pustaka, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa A-5 adalah lindcarpin². Lindcarpin, $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}$, adalah alkaloida aporfin yang sebelumnya telah diisolasi dari *Lindera pipericarpa* Boerl, familia Lauraceae dengan $[\alpha]_D^{25}$: + 166° (EtOH, *c* = 1,35). Data ^{13}C NMR dan ^1H NMR senyawa A-5 dapat dilihat pada Tabel 10.



Struktur senyawa A-5 (Lindcarpin)

Tabel 10. Data spektra ^{13}C NMR and ^1H NMR senyawa A-5^a

Posisi	δ ^{13}C	δ ^1H
1.	140,7	
1a.	124,6	
1b.	130,8	
2.	147,9	
3.	115,4	6,75 s
3a.	129,3	
4	28,6	2,69 t
4'		3,35 m
5	42,5	2,59 d (13)
5'		2,97 m
6a.	62,2	2,79 d (4,2)
7	37,8	2,65 d (10)
7'		2,83 d (3,9)
7a.	129,4	
8.	119,2	6,82 d (8)
9.	111,1	6,83 d (8)
10.	149,1	
11.	143,6	
11a.	119,6	
OMe-1	56,1	3,66 s
OMe-10	53,9	3,91 s

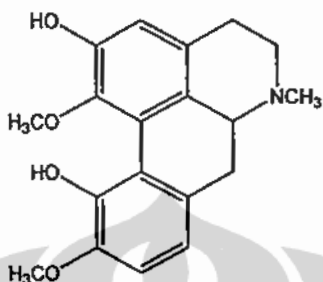
^adalam CDCl_3

4.7. Senyawa A-6

Senyawa A-6 berupa kristal jarum halus berwarna putih, dengan $[\alpha]_D^{25}$: + 181,2 (MeOH, $c = 0,0003$) dan UV spectrum pada λ_{max} 314 dan 314 nm. Spektrum ^1H NMR (Lampiran 16) senyawa A-5 memperlihatkan profil kerangka alkaloida aporfin dengan adanya satu sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,70 ppm (1H, s) dan dua sinyal yang tumpang tindih terlihat pada pergeseran kimia 6,83 (1H, s) dan 6,85 (1H, s) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik, dua sinyal terlihat pada pergeseran kimia 3,61 ppm (3H, s,) dan 3,91 ppm (s, 3H) menunjukkan adanya dua

gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,57 (1H, t); 2,64 (1H,s); 2,66 (1H, m); 3,07 (1H,d, $J = 3,2$ Hz); 3,12 (1H,d, $J = 6,4$ Hz); 3,18 (1H, d, $J = 4,6$ Hz) serta satu sinyal proton metin pada 3,03 ppm (1H, d, $J = 3,2$). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 16) pada pergeseran kimia 28,1; 52,6; 35,1 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilena yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 111,2; 114,9; 119,4; 119,7; 125,0; 127,1; 129,2; 130,0; 141,0; 143,6; 148,3; 149,3 ppm. Adanya gugus metil yang terikat pada N dari cincin B terlihat pada δ_{H} 2,61 dan δ_{C} 43,2. Percobaan HMQC dan HMBC (Lampiran 17) memperlihatkan adanya korelasi antara proton N-CH₃ dengan C-5 dan C-6a hal ini membuktikan bahwa gugus metil terikat pada N dari cincin B. Spektrum COSY (Lampiran 17) juga memperlihatkan ada dua pasang spin-spin proton N-CH₃ dengan CH-5' dan N-CH₃ dengan CH-6a. Spektrum HMBC memperlihatkan korelasi proton pada δ_{H} 6,70 dengan C-1, C-3a, dan C-2, yang membuktikan bahwa posisi proton tersebut adalah H-3. Demikian pula posisi untuk proton H-8 dengan δ_{H} 6,83 terbukti dengan adanya korelasi dengan C-9, C-11a, C-10 dan proton H-9 dengan δ_{H} 6,85 terbukti dengan adanya korelasi dengan C-7a, C-8, C-11. Dengan membandingkan spektrum senyawa A-6 dengan referensi maka dapat disimpulkan bahwa senyawa A-6 adalah *N*-metilindcarpin^{2,82}. Data ^{13}C NMR dan ^1H NMR senyawa A-6 dapat dilihat pada Tabel 11. *N*-metilindcarpin, C₁₉H₂₁O₄N, adalah alkaloid aporfin

turunan dari lindcarpin yang pernah diisolasi dari tumbuhan familia Lauraceae: *Beilschmiedia podagrica*, *Lindera pipericarpa* Boerl., *Phoebe clemensii* Allen dan Magnoliaceae: *Magnolia acuminata*.



Struktur senyawa A-6 (*N*-metilindcarpin)

Tabel 11. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa A-6^a

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)	HMBC	COSY
1.	141,0			
1a.	125,0			
1b.	130,0			
2.	148,3			
3.	114,9	6,70 s	C-1, C-3a, C-2	
3a.	127,1			
4	28,1	3,18 d (4,6)	C-1b	
4'		2,66 m	C-1b	
5	52,6	2,57 t	C-3a	H-5'
5'		3,12 d (6,4)	C-3a, C-6a	H-5, H-6a, N-CH ₃
6a.	62,7	3,03 d (3,2)		H-5, N-CH ₃ , H-7
7	35,1	2,64 s	C-6a, C-11a, C-8	H-6a
7'		3,07 d (3,2)	C-6a, C-11a, C-8	
7a.	129,2			
8.	119,4	6,83 s	C-9, C-11a, C-10	
9.	111,2	6,85 s	C-7a, C-8, C-11	
10.	149,3			
11.	143,6			
11a.	119,7			
OMe-1	62,3	3,61 s	C-1	
OMe-10	56,2	3,91 s	C-10	
NMe	43,2	2,61 s	C-5, C-6a	H-5', H-6a

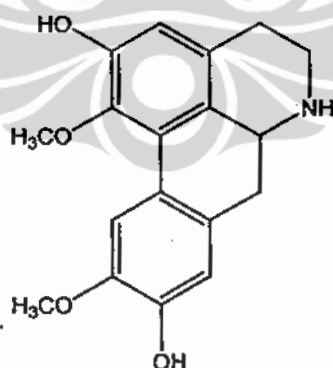
^adalam CDCl₃

4.8. Senyawa A-7

Senyawa A-7 berupa serbuk amorf coklat keunguan dengan $[\alpha]_D^{25}$: + 103,8 (MeOH, $c = 0,0005$). Spektrum ^1H NMR (Lampiran 18) senyawa A-7 memperlihatkan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,65 (1H, s); 6,80 (1H, s) dan 7,91 ppm (1H,s) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,55 ppm (s) dan 3,85 ppm (s) yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilena diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,65 (1H, m); 2,69 (1H, m); 2,71 (1H, m); 2,95 (1H, m); 2,98 (1H, m); 3,34 (1H, m), serta satu sinyal proton metin pada δ 3,77 ppm (1H, dd). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 18) pada pergeseran kimia 29,1; 43,2; 36,8 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 110,3; 113,8; 114,2; 123,8; 125,6; 128,0; 130,1; 130,3; 141,9; 145,1; 148,6; dan 148,2 ppm. Hasil analisis dengan percobaan HMQC dan HMBC (Lampiran 19) memperlihatkan bahwa satu proton aromatik (H-3) pada δ 6,65 (s) terikat pada posisi C-3 (113,4 ppm), hal ini terlihat adanya korelasi antara δ 6,65 (s) dengan C-1 (141,9 ppm), C-2 (148,6 ppm), C-3a (128,0 ppm), dan C-4 (29,1 ppm), sedangkan satu proton (H-8) pada δ 6,80 (s) yang posisinya pada C-8 (114,2 ppm) berkorelasi dengan C-7 (36,8 ppm), C-10 (145,6 ppm), C-11a (123,8 ppm) sedangkan H-11 pada 7,91 ppm (s) berkorelasi dengan C-7a (130,3 ppm); C-11a (123,8 ppm) dan C-10 (145,6

ppm). Analisis dengan percobaan HMBC juga menunjukkan bahwa gugus metoksi aromatik OCH₃ (δ_H 3,55 dengan δ_C 60,4) terikat pada C-1 (141,9) dan OCH₃ (δ_H 3,85 ppm dengan δ_C 56,2 ppm) terikat pada C-10 (145,6 ppm). Dua sinyal dalam spektrum ¹³C pada pergeseran kimia 148,2 ppm (C-2) dan 145,1 ppm (C-9) menunjukkan adanya gugus OH pada kedua posisi itu. Spektrum ini memberikan petunjuk bahwa senyawa A-7 adalah alkaloid laurolitsin atau norboldin², C₁₈H₁₉O₄N. Data spektra NMR dari senyawa A-7 dapat dilihat pada **Tabel 12**.

Laurolitsin disebut juga norboldin adalah alkaloid aporfin yang juga telah diisolasi dari familia Annonaceae: *Xylopia papuana*, familia Hernandiaceae: *Hernandia sp*, familia Lauraceae : *Actinodaphne nitida*; *A. acutivena*; *Litsea turiosa*; *L. japonica*, *L. glutenosa* (var *glabaria*); *L. sebifera* L; *L. grandis*; *L. gracilipea*; *Neolitsea pubescens*; *N. sericea*, *Phoebe clemensii* Allen².



Struktur senyawa A-7 (laurolitsin)

Tabel 12. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400MHz) senyawa A-7^a

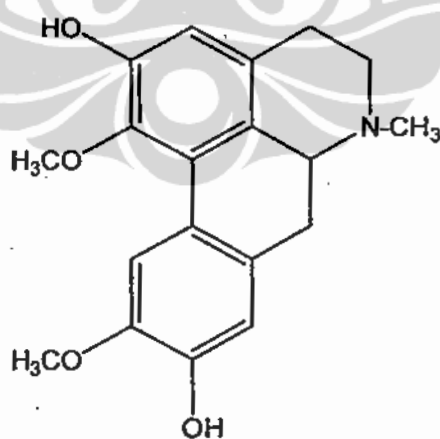
Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	HMBC
1.	141,9		
1a.	125,6		
1b.	130,1		
2.	148,2		
3.	113,8	6,65 s	4,3a,2,1
3a.	128,0		
4	29,1	2,69 m	3,5,
4'		2,98 m	3,3a
5	43,2	2,95 m	1b,4,6a
5'		3,34 m	1b,4,6a,
6a.	53,9	3,77 dd	7,7a
7	36,8	2,65 m	11a,6a
7'		2,71 m	6a,8,11a
7a.	130,3		
8.	114,2	6,80 s	11a,10,7
9.	145,1		
10.	145,6		
11.	110,3	7,91 s	11a,7a,10
11a.	123,8		
OMe-1	60,4	3,55 s	1
OMe-10	56,2	3,85 s	10

^adalam CDCl_3

4.9. Senyawa A-8

Senyawa A-8 berupa amorf berwarna coklat dengan $[\alpha]_D^{25}$: + 92,3 (MeOH, $c = 0,0002$) dan UV spectrum pada λ_{max} 315 nm. Spektrum ^1H NMR (Lampiran 20) senyawa A-8 memperlihatkan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,62 (1H, s), 6,81 (1H, s,) dan 7,87 ppm (1H, s) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,57 (s) dan 3,89 ppm (s) yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, di samping itu adanya proton-proton alifatik (metilen, metin) diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,58- 3,83 ppm. Kerangka aporfin juga

diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 20) pada pergeseran kimia 29,8; 53,0; 33,1 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, dan 60,6 ppm untuk karbon metin C-6a, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 110,3; 113,5; 114,5; 123,4; 124,8; 126,2; 128,9; 130,0; 142,5; 145,5; dan 145,9; dan 148,8 ppm. Adanya gugus metil yang terikat pada N dari cincin B terlihat pada pergeseran kimia δ_{H} 2,58 (3H, s) dan δ_{C} 43,1. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR ini memberikan petunjuk bahwa senyawa A-8 adalah alkaloid boldin^{2,3}. Data spektrum NMR senyawa A-8 dapat dilihat pada Tabel 13. Boldin adalah alkaloida aporfin yang juga telah diisolasi dari familia Lauraceae : *Actinodaphne nitida*; *Litsea turiosa*; *L. glutenosa* (var *glabaria*); *L. grandis*; *L. gracilipea*; *Neolitsea pubescens*; *N. sericea*, Magnoliaceae: *Liriodendron*, Monimiaceae: *Laurelia novae-selandiae*; *Peumus boldus* Molina².



Struktur senyawa A-8 (boldin)

Tabel 13. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa A-8 dan boldin^a

Posisi	Senyawa A-8		Boldin ³	
	δ ^{13}C ppm	δ ^1H ppm	δ ^{13}C ppm	δ ^1H ppm
1.	142,5		142,0	
1a.	126,2		126,8	
1b.	124,8		125,9	
2.	148,8		148,1	
3.	113,5	6,62 s	113,3	6.68 s
3a.	128,9		129,9	
4	29,8		28,9	
5	53,0		53,1	
6a.	60,6		62,6	
7	33,1		34,2	
7a.	130,0		130,2	
8.	114,5	6,81 s	114,2	6.81 s
9.	145,5		145,1	
10.	145,9		145,6	
11.	110,3	7,87 s	110,1	7.87 s
11a.	123,4		123,6	
OMe-1	56,4	3,57 s	60,2	3.57 s
OMe-10	53,5	3,89 s	56,1	3.89 s
N-Me	43,1	2,58 s	44,0	2.58 s

^adalam CDCl_3

4.10. Senyawa A-9

Senyawa A-9 berupa cairan kental berwarna kuning dengan rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$: -17,8 (MeOH, $c = 0,0045$) dan UV spectrum pada λ_{max} 300 nm. Spektrum massa (LCMS) dari senyawa A-9 memperlihatkan puncak m/z 596,8077 ($M+1$), yang sesuai dengan rumus molekul $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_6$. Berat molekul yang tinggi ini menunjukkan bahwa molekul senyawa A-9 ini adalah suatu dimer. Salah satu alkaloida dimer adalah alkaloida kelompok bisbensilisokuinolin (BBIK).

Dalam spektrum ^1H NMR (Lampiran 21) terlihat adanya satu sinyal dari N-metil pada pergeseran kimia 2,50 ppm (3H, s), dua belas sinyal dari proton-proton gugus metilen pada δ 2,54 (1H, s); 2,71 (1H, m); 2,72 (1H, m); 2,81(1H, m); 2,85 (1H, m); 2,89 (1H, m); 2,96 (1H, m,); 3,03 (1H, m); 3,04 (1H, m); 3,05 (1H, m); 3,19 (1H, m); 3,28 (1H, m) dan tiga sinyal dari proton-proton gugus metoksi pada 3,80; 3,82; 3,85 ppm serta dua sinyal proton metin pada pergeseran kimia 4,25 (1H, dd) dan 3,69 ppm (1H, t).

Spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 21), percobaan HMQC dan HMBC (Lampiran 22), mengungkapkan bahwa proton-proton pada δ_{H} 2,96 dan 3,28 terikat pada karbon C-3' (40,5 ppm), proton pada δ_{H} 2,81 (2H) terikat pada C-4' (28,7 ppm), proton pada δ_{H} 2,89 dan 3,04 terikat pada C- α' (41,3 ppm), proton pada δ_{H} 2,71 dan 3,03 terikat pada C-3, proton pada δ_{H} 2,54 dan 2,72 terikat pada C-4 (25,6 ppm), proton pada δ_{H} 2,85 dan 3,19 ppm terikat pada C- α , sedangkan proton-proton metin δ_{H} 4,25 dan 3,69 terikat pada C-1' (56,0 ppm) dan C-1 (64,5 ppm), selanjutnya proton-proton tersebut disebut sebagai H-3', H-4', H-3, H-4, H- α' , H- α , H-1' dan H-1. Disamping itu resonansi dari proton-proton aromatik terlihat pada pergeseran kimia 6,31 (1H, s); 6,45 (1H, s); 6,50 (1H, d, $J = 1,8$ Hz); 6,57 (1H, s); 6,77 (1H, s); 6,82 (2H, d, $J = 8,2$ Hz); 6,87 (1H, d, $J = 8,0$ Hz); 6,90 (1H, d, $J = 8,0$ Hz); dan 7,13 ppm (2H, d, $J = 8,3$ Hz).

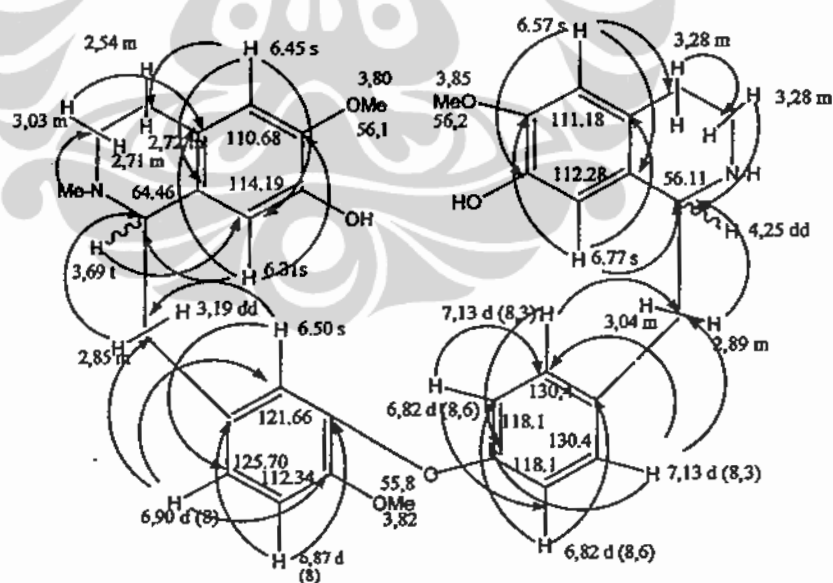
Spektrum ^{13}C NMR dan percobaan NMR 2 dimensi, mengungkapkan bahwa proton-proton tersebut berturut-turut, terikat pada karbon C-8 (114,2 ppm), C-5 (110,7 ppm), C-10 (121,7 ppm), C-5' (112,7 ppm), C-8' (112,3

ppm), C-11' (118,1 ppm) dan C-13' (118,1 ppm), C-13 (112,3 ppm), C-14 (125,7 ppm), C-10' (130,4 ppm) dan C-14' (130,4 ppm), selanjutnya disebut H-8, H-5, H-10, H-5', H-8', H-11', H-13', H-14', H-10' dan H-14'. Sinyal dari proton N-metil memperlihatkan korelasi dengan karbon C-1 dan C-3, hal ini menunjukkan N-metil terikat pada cincin A dari salah satu unit bisbensilisokuinolin. Proton-proton gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,80; 3,82; dan 3,85 ppm berturut-turut terikat pada karbon dengan pergeseran kimia 56,1; 55,8; dan 56,2 ppm, dari spektrum HMBC diketahui bahwa proton-proton tersebut ada korelasi berturut-turut dengan karbon C-6 (145,6 ppm), C-12 (δ_C 149,4 ppm) dan C-6' (δ_C 145,7 ppm). Letak ketiga gugus metoksi tersebut didukung dengan percobaan NOE-diff (Lampiran 23). Adanya dua pasang sinyal dengan kopling konstan yang sama pada pergeseran kimia ; 6,82 ppm (2H, *d*, *J* = 8,3 Hz) dan 7,13 ppm (2H, *d*, *J* = 8,3 Hz), maka ada kesimetrian pada cincin C dari salah satu unit bisbensilisokuinolin. Dari analisis spektrum HMBC, kedua pasang proton tersebut adalah H-10' dengan H-14' dan H-11' dengan H-13', yang ada pada cincin C', sedangkan jembatan yang menghubungkan kedua unit BBIK pada cincin C' dan C ada pada posisi C-12' dengan sinyal pada medan paling rendah δ_C 156,4; sementara itu posisi jembatan pada cincin C terletak pada posisi 11 dengan sinyal pada δ_C 145,3. Posisi kedua karbon yang sangat *downfield* itu memberikan petunjuk bahwa kedua unit dihubungkan dengan satu oksigen membentuk ikatan diaril eter. Adanya dua proton aromatik yang bersebelahan (orto) di posisi C-13 dan C-14 pada cincin C diperlihatkan

dalam spektrum ^1H NMR yang berupa dua sinyal doublet pada pergeseran kimia 6,87 ppm (H-13', *d*, $J = 8$ Hz) dan 6,90 ppm (H-14', *d*, $J = 8$ Hz) dengan sistem AB. Kedudukan tersebut didukung dengan spektrum HMBC yang memperlihatkan adanya korelasi antara sinyal H-13 dengan karbon C-9 (132,0 ppm) dan C-11 (145,3 ppm) dan korelasi sinyal H-14 dengan karbon C-10 (121,7 ppm), C-12 (149,4 ppm) dan C- α (39,9 ppm). Demikian pula sinyal dari proton H-10 pada 6,50 ppm (s) memperlihatkan korelasi dengan karbon C- α (39,9 ppm) dan C-14 (125,7 ppm). Satu sinyal proton metoksi pada pergeseran kimia 3,82 ppm mempunyai korelasi dengan karbon C-12 (149,4 ppm), dengan demikian pada cincin C terdapat gugus metoksi yang terikat pada posisi 12.

Spektrum HMBC memperlihatkan resonansi satu sinyal proton aromatik pada δ_{H} 6,57 (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-4' (28,7), C-7' (144,1), C-8a' (129,7), di samping itu satu proton lainnya pada δ_{H} 6,77 (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-1' (56,1), C-4a' (125,9) dan C-6' (145,7). Satu dari tiga sinyal metoksi (δ_{H} 3,86) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-6' (145,7). Adanya korelasi ini membuktikan bahwa proton dengan pergeseran kimia 6,57 dan 6,77 berturut-turut adalah H-5' yang terikat pada C-5' (111,2 ppm) dan H-8' yang terikat pada C-8 (112,9), dan gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,86 ppm terikat posisi C-6' dalam cincin B', karena sinyal karbon C-7' terlihat pada medan rendah (144,1 ppm), maka pada posisi ini yang terikat adalah gugus OH.

Spektrum HMBC memperlihatkan resonansi satu sinyal proton aromatik pada δ_H 6,45 (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-4 (25,6 ppm), C-7 (143,9 ppm), C-8a (128,7 ppm), disamping itu satu proton lainnya pada δ_H 6,31 ppm (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-1 (64,5 ppm), C-4a (125,1 ppm) dan C-6 (145,6 ppm). Satu dari tiga sinyal metoksi (δ_H 3,80 ppm) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-6 (145,6 ppm). Adanya korelasi ini membuktikan bahwa proton dengan pergeseran kimia 6,45 dan 6,31 adalah H-5' yang terikat pada C-5 (110,7 ppm) dan H-8 yang terikat pada C-8 (114,2 ppm), dan gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,80 ppm terikat posisi C-6 dalam cincin B, karena sinyal karbon C-7 terlihat pada daerah medan rendah (143,9 ppm), maka pada posisi ini yang terikat adalah gugus OH. Analisis HMBC senyawa A-9 dapat dilihat pada **Gambar 44**.



Gambar 44. Analisis HMBC senyawa A-9

Dari analisis spektra NMR dan spektrum massa yang memperlihatkan puncak m/z 596,8077 ($M+1$), dapat disimpulkan bahwa senyawa A-9 adalah alkaloida bisbensilisokuinolin tipe I yaitu tipe ekor ke ekor dengan jembatan diaril eter dari C-11 ke C-12' (tipe 11-12'). Hasil analisis data spektroskopi senyawa A-9 dan membandingkannya dengan senyawa-senyawa BBIK dari pustaka, maka disimpulkan bahwa senyawa A-9 adalah (-)-*N'*-desmetil-grisabin⁵¹, $C_{36}H_{40}N_2O_6$. Dengan adanya dua pusat kiral pada C-1 dan C-1', diperlukan pengukuran menggunakan metode-metode tertentu seperti spektroskopi CD (*Circular Dichroism*) untuk mengetahui konfigurasi absolut senyawa ini. Hasil penelusuran pustaka melalui *Science Finder* menunjukkan bahwa senyawa dengan struktur ini belum pernah dilaporkan, maka diduga senyawa ini adalah baru. Data spektrum NMR senyawa A-9 dapat dilihat pada **Tabel 14**.

Tabel 14. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa A-9^a

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)	HMBC
1	64,5	3,69 <i>t</i>	8, 4a, 8a, 9
3	47,5	2,71 <i>m</i> 3,03 <i>m</i>	4a 4a
4	25,6	2,54 <i>m</i> 2,72 <i>m</i>	3
4a	125,1		
5	110,7	6,45 <i>s</i>	4,8a,7
6	145,6		
7	143,9		
8	114,2	6,31 <i>s</i>	1,4a,6
8a	128,7		
α	39,9	2,85 <i>m</i> 3,19 <i>m</i>	1,8a,10,14 1, 9,10,14
9	132,0		
10	121,7	6,50 <i>d</i> (1,8)	α ,14
11	145,3		
12	149,4		
13	112,3	6,87 <i>d</i> (8,0)	9,11
14	125,7	6,90 <i>d</i> (8,0)	α ,10,12
1'	56,0	4,25 <i>dd</i> (3,6; 10,0)	4a', 8', 9'
3'	40,5	2,96 <i>m</i> 3,28 <i>m</i>	1,4a'
4'	28,7	2,81 <i>m</i> 3,05 <i>m</i>	3',4a'
4a'	125,9		
5'	111,2	6,57 <i>s</i>	4',8a',7
6'	145,7		
7'	144,1		
8'	112,3	6,77 <i>s</i>	1',6',4a'
8a'	129,7		
α'	41,3	2,89 <i>m</i> 3,04 <i>m</i>	1',9' 1',10,14'
9'	132,0		
10'	130,4	7,13 <i>d</i> (8,3)	α' ,12',14'
11'	118,1	6,82 <i>d</i> (8,6)	9',12',13'
12'	156,4		
13'	118,1	6,82 <i>d</i> (8,6)	9',11',12'
14'	130,4	7,13 <i>d</i> (8,3)	10',12', α'
OMe-6'	56,2	3,85 <i>s</i>	6'
OMe-6	56,1	3,80 <i>s</i>	6
OMe-12	55,8	3,82 <i>s</i>	12
N-Me	42,5	2,50 <i>s</i>	1,3

^adalam CDCl_3

4.11. Senyawa A-10

Senyawa A-10 berupa zat padat seperti minyak berwarna kuning kecoklatan dengan rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$: - 34,4 (MeOH, c = 0,0015) dan UV spectrum pada λ_{max} 299 nm. Spektrum massa (LCMS) memperlihatkan puncak m/z 639,0025 (M+1), yang sesuai dengan rumus molekul $C_{39}H_{46}N_2O_6$. Berat molekul yang tinggi ini menunjukkan bahwa molekul senyawa A-10 ini adalah dimer. Salah satu dimer dari alkaloida adalah kelompok bisbensilisokuinolin (BBIK).

Dalam spektrum 1H NMR (Lampiran 24) terlihat adanya dua sinyal dari N- metil pada pergeseran kimia 2,47 (3H, s) dan 2,51 ppm (3H, s), dua belas sinyal dari proton-proton gugus metilen pada δ_H 2,56 (2H, m); 2,59 (1H, m); 2,60 (1H, m); 2,70 (2H, m); 2,75 (2H, m); 2,84 (2H, m); 3,05 (1H, m); 3,15 ppm (1H, m) dan lima sinyal dari proton-proton gugus metoksi pada δ 3,56; 3,59; 3,77, 3,80, 3,81 serta dua sinyal proton metin pada pergeseran kimia 3,57 (1H, t) dan 3,61 ppm (1H, t).

Spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 24), percobaan HMQC dan HMBC (Lampiran 25), mengungkapkan bahwa proton-proton pada δ_H 2,70 (2H, m) terikat pada karbon C-3 (δ_C 46,8), δ_H 2,56 (2H, m) terikat pada C-4 (δ_C 25,4), δ_H 2,75 (1H, m) dan 3,05 (1H, m) terikat pada C- α (δ_C 40,2), δ_H 2,71 dan 2,84 (2H, m) terikat pada C-3' (δ_C 46,7), δ_H 2,60 (2H, m) terikat pada C-4' (δ_C 25,2), δ_H 2,75 (1H, m) dan 3,15 terikat pada C- α' (δ_C 40,4), sedangkan proton-proton metin δ_H 3,57 (1H, t) dan 3,61 (1H, t) terikat pada C-1 (δ_C 64,6) dan C-1' (δ_C 64,8), selanjutnya proton-proton tersebut disebut sebagai H-3, H-4, H- α , H-3', H-4', H- α' , H-1 dan H-1'. Pada N-metil, proton metil pada sinyal

δ_H 2,47 (3 H, s) terikat pada karbon dengan pergeseran kimia 42,5 ppm dan proton metil pada sinyal δ_H 2,51 (s, 3H) terikat pada karbon dengan pergeseran kimia 42,5 ppm. Disamping itu resonansi dari proton-proton aromatik terlihat pada pergeseran kimia 6,01 (1H, s); 6,06 (1H, s); 6,51 (1H, s); 6,54 (1H, s); 6,72 (1H, d, $J = 2$ Hz); 6,82 (d1H, $J = 8,3$ Hz); 6,86 (1H, d, $J = 8,3$ Hz); 6,77 (1H, d, $J = 8,5$ Hz); 6,77 (1H, d, $J = 8,5$ Hz); 6,99 (1H, d, $J = 8,3$ Hz); dan 6,99 ppm (1H, d, $J = 8,3$ Hz). Spektra ^{13}C NMR dan HMQC, mengungkapkan bahwa proton-proton tersebut berturut-turut, terikat pada karbon C-8' (δ_C 110,8 ppm), C-8 (δ_C 111,1), C-5' (δ_C 110,9), C-5 (δ_C 111,1), C-10 (δ_C 122,4), C-14 (δ_C 126,0), C-13 (δ_C 112,4) dan C-11' (δ_C 116,6), C-13' (δ_C 116,6), C-10' (δ_C 130,6) dan C-14' (δ_C 130,6), selanjutnya masing-masing disebut H-8', H-8, H-5', H-5, H-10, H-14, H-13, H-11', H-13, H-10' dan H-14'.

Sinyal dari proton N-metil (2,47 ppm) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-1 dan C-3, hal ini menunjukkan N-metil terikat pada cincin A; dari salah satu unit bisbensilisokuinolin, demikian pula dengan sinyal N'-metil (2,51 ppm). Proton-proton gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,56; 3,59; 3,77; 3,80; dan 3,81 ppm berturut-turut terikat pada karbon dengan pergeseran kimia 55,4; 55,5; 56,0; 55,6 dan 55,6 ppm, dari spektrum HMBC diketahui bahwa proton-proton tersebut ada korelasi berturut-turut dengan karbon C-7 (δ_C 146,2), C-7' (δ_C 146,3), C-12 (δ_C 149,6), C-6' (δ_C 147,2) dan C-6 (δ_C 147,2). Adanya dua pasang sinyal proton dengan pergeseran kimia karbon yang sama: 6,77 ppm (1H, d, $J = 8,5$ Hz); 6,99 ppm (1H, d, $J = 8,3$ Hz) dan 6,77 ppm (1H, d, $J = 8,5$ Hz); 6,99 ppm (1H, d, $J = 8,3$ Hz),

memperlihatkan ada kesimetrian pada cincin C dari salah satu unit bisbensilisokuinolin, dari analisis spektrum HMBC kedua pasang proton simetri tersebut adalah H-10' dengan H-13' dan H-11' dengan H-14'. Dengan demikian jembatan yang menghubungkan kedua unit BBIK pada cincin C' ada pada posisi C-12' dengan pada δ_C 156,2, sementara itu posisi jembatan pada cincin C terletak pada posisi C-11 δ_C 144,4. Posisi kedua jembatan yang sangat *downfield* itu memberikan petunjuk bahwa kedua unit dihubungkan dengan satu oksigen, yang membentuk jembatan diaril eter. Adanya dua proton aromatik yang bersebelahan di posisi C-13 dan C-14 pada cincin C diperlihatkan dalam spektrum 1H NMR yang berupa dua sinyal doublet pada pergeseran kimia 6,86 ppm (*d*, $J = 8,3$ Hz) dan 6,82 ppm (*d*, $J = 8,3$ Hz) dengan sistem AB. Kedudukan tersebut didukung dengan spektrum HMBC yang memperlihatkan adanya korelasi antara sinyal H-13 dengan karbon C-9 (132,8 ppm) dan C-11 (144,4 ppm) dan korelasi sinyal H-14 dengan karbon C-10 (122,4 ppm), C- α (40,2 ppm). Demikian pula sinyal dari proton H-10 (*s*) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-12 (149,6 ppm) dan C-14 (126,0 ppm). Satu sinyal proton metoksi pada pergeseran kimia 3,77 ppm mempunyai korelasi dengan karbon C-12 (149,6 ppm), dengan demikian pada cincin C terdapat gugus metoksi yang terikat pada posisi 12.

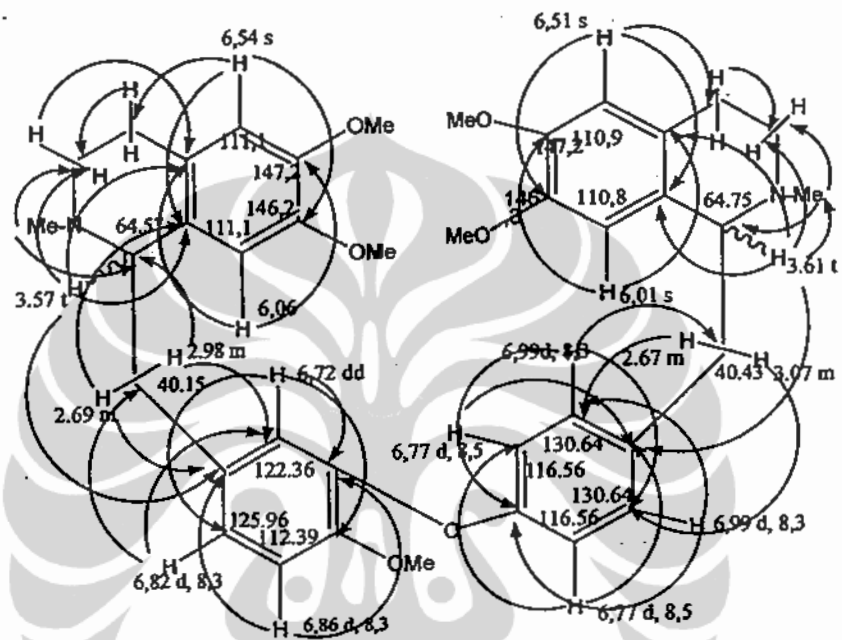
Spektrum HMBC memperlihatkan satu sinyal proton aromatik pada 6,51 ppm (*s*) mempunyai korelasi dengan karbon C-4' (25,2 ppm), C-7' (146,3 ppm), C-8a' (128,9 ppm), disamping itu satu proton lainnya pada δ_H 6,01 (*s*) mempunyai korelasi dengan karbon C-4a' (125,7 ppm) dan C-6'

(147,2 ppm). Dua dari lima sinyal metoksi (δ_H 3,59) dan (δ_H 3,80) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-7' (δ_C 146,3) dan C-6' (δ_C 147,2). Adanya korelasi ini membuktikan bahwa proton dengan pergeseran kimia 6,51; 6,01 ppm adalah H-5' yang terikat pada C-5' (δ_C 110,9) dan H-8' yang terikat pada C-8' (δ_C 110,8), dan gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,59 ppm terikat posisi C-7' dan gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,80 ppm terikat pada posisi C-6' dari cincin B'.

Spektrum HMBC juga memperlihatkan satu sinyal proton aromatik pada δ_H 6,54 ppm (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-4 (δ_C 25,4), C-7 (δ_C 146,2) dan C-8a (128,9), disamping itu satu proton lainnya pada δ_H 6,06 (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-4a (δ_C 125,8) dan C-6 (δ_C 147,2). Dua dari lima sinyal metoksi (δ_H 3,56) dan (δ_H 3,81) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-7 (δ_C 146,2) dan C-6 (δ_C 147,2). Adanya korelasi ini membuktikan bahwa proton dengan pergeseran kimia 6,54 dan 6,06 ppm adalah H-5 yang terikat pada C-5 (δ_C 111,1) dan H-8 yang terikat pada C-8 (δ_C 111,1), dan gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,56 dan 3,81 ppm terikat pada posisi C-7 dan C-6 dalam cincin B.

Hasil analisis spektrum NMR dan spektrum massa, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa A-10 adalah alkaloida bisbensilisokuinolin tipe I. Dari penelusuran pustaka diketahui data spektra NMR senyawa ini mirip dengan (-)-(1*S*,1'*R*)-*O*,*O*'-dimetil-grisabin⁵⁸, namun karena konfigurasi dari senyawa A-9 belum diketahui maka disimpulkan bahwa senyawa ini adalah

(-)-O,O'-dimetil-grisabin. Analisis HMBC senyawa A-10 dapat dilihat pada Gambar 45. Data spektrum NMR senyawa ini dapat dilihat pada Tabel 15.



Gambar 45. Analisis HMBC senyawa A-10

Tabel 15. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa A-10^a

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)	HMBC
1	64,6	3,57 <i>t</i>	3,N-Me,4a,8a,9
3	46,8	2,70 <i>m</i> 2,84 <i>m</i>	1,4a
4	25,4	2,56 <i>m</i> 2,59 <i>m</i>	3
4a	125,8		
5	111,1	6,54 <i>s</i>	4,7,8a
6	147,2		
7	146,2		
8	111,1	6,06 <i>s</i>	4a,6
8a	128,9		
α	40,2	2,75 <i>m</i> 3,05 <i>m</i>	8a,9 1,10
9	132,8		
10	122,4	6,72 <i>d</i> (2)	11,12,14
11	144,4		
12	149,6		
13	112,4	6,86 <i>d</i> (8,3)	9,11
14	126,0	6,82 <i>d</i> (8,3)	α ,10,12
1'	64,8	3,61 <i>t</i>	3',N'Me,4a',8a',9
3'	46,7	2,84 <i>m</i>	1',4a
4'	25,2	2,60 <i>m</i>	3'
4a'	125,7		
5'	110,9	6,51 <i>s</i>	4',7',8a'
6'	147,2		
7'	146,3		
8'	110,8	6,01 <i>s</i>	4a',6'
8a'	128,9		
α'	40,4	2,75 <i>m</i> 3,15 <i>m</i>	9',10 1',8a
9'	133,7		
10'	130,6	6,99 <i>d</i> (8,3)	α' ,12',14'
11'	116,6	6,77 <i>d</i> (8,5)	9',12',13'
12'	156,2		
13'	116,6	6,77 <i>d</i> (8,5)	9',11', 12'
14'	130,6	6,99 <i>d</i> (8,3)	α' ,9',10',12',13'
OMe-6	55,6	3,81 <i>s</i>	6
OMe-7	55,4	3,56 <i>s</i>	7
OMe-6'	55,6	3,80 <i>s</i>	6'
OMe-7'	55,5	3,59 <i>s</i>	7'
OMe-12	56,0	3,77 <i>s</i>	12
N-Me'	42,5	2,47 <i>s</i>	1',3'
N-Me	42,5	2,51 <i>s</i>	1,3

^adalam CDCl_3

4.12. Senyawa A-11

Senyawa A-11 berupa zat padat seperti minyak berwarna kuning kecoklatan dengan rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$: -28,6 (MeOH, $c = 0,0006$) dan UV spectrum pada λ_{max} 300 nm. Spektrum massa (LCMS) memperlihatkan puncak m/z 624,8645 (M+1), yang sesuai dengan rumus molekul $C_{38}H_{44}N_2O_6$. Berat molekul yang tinggi ini menunjukkan bahwa molekul senyawa A-11 ini adalah alkaloida kelompok bisbensilsokuinolin (BBIK).

Dalam spektrum 1H NMR (Lampiran 26) terlihat adanya dua sinyal dari proton N- metil pada pergeseran kimia 2,48 (3H, s) dan 2,51 (3H, s), dua belas sinyal dari proton-proton gugus metilen pada δ 2,52 (1H, *m*); 2,52 (1H, *m*); 2,59 (1H, *m*); 2,59 (1H, *m*); 2,76 (1H, *m*); 2,79 (1H, *m*); 2,79 (1H, *m*); 2,80 (1H, *m*); 2,82 (1H, *m*); 3,13 (1H, *m*); 3,19 (1H, *m*); dan 3,22 ppm (1H, *m*), empat sinyal dari proton-proton gugus metoksi pada δ 3,58; 3,78; 3,81; dan 3,83 serta dua sinyal proton metin pada pergeseran kimia 3,67 (1H, *m*) dan 3,70 ppm (1H, *m*). Spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 26) dan percobaan HMQC dan HMBC (Lampiran 27), mengungkapkan bahwa proton-proton pada pergeseran kimia 2,79 (1H, *m*) dan 3,22 ppm (1H, *m*) terikat pada karbon C-3 (46,4 ppm), 2,52 ppm (1H, *m*) dan 2,59 ppm (1H, *m*) terikat pada C-4 (25,3 ppm), 2,80 ppm (1H, *m*) dan 2,82 ppm (1H, *m*) terikat pada C- α (40,6 ppm), 2,76 ppm (1H, *m*) dan 2,79 ppm (1H, *m*) terikat pada C-3' (46,7 ppm), 2,52 ppm (1H, *m*) dan 2,59 ppm (1H, *m*) terikat pada C-4' (25,2 ppm); 3,13 ppm (1H, *m*) dan 3,19 ppm (1H, *m*) terikat pada C- α' (40,4 ppm) sedangkan proton-proton metin pada 3,67 (1H, *m*) dan 3,70 ppm (1H, *m*) terikat pada C-1 (64,8

ppm) dan C-1' (64,9 ppm), selanjutnya proton-proton tersebut disebut sebagai H-3, H-4, H- α , H-3', H-4', H- α' , H-1 dan H-1'. Untuk N-metil, proton metil pada sinyal δ_H 2,48 ppm (3 H, s) terikat pada karbon dengan pergeseran kimia δ 42,5 ppm dan proton metil pada sinyal δ_H 2,51 (1H, s) terikat pada karbon dengan pergeseran kimia δ 42,5 ppm.

Disamping itu resonansi dari proton-proton aromatik terlihat pada pergeseran kimia 6,00 (1H, d, $J = 3,7$ Hz); 6,11 (1H, s); 6,52 (1H, s); 6,54 (1H, s); 6,74 (1H, s); 6,81 (1H, s); 6,82 (1H, s); 6,84 (1H, d, $J = 7,8$ Hz); 6,84 (1H, d, $J = 7,8$ Hz); 7,00 (1H, d, $J = 8,7$ Hz); dan 7,00 ppm (1H, d, $J = 8,7$ Hz). Spektrum ^{13}C NMR dan percobaan NMR 2 dimensi, mengungkapkan bahwa proton-proton tersebut berturut-turut, terikat pada karbon C-8 (111,3 ppm), C-8' (114,4 ppm), C-5 (110,7 ppm), C-5' (δ_C 110,1 ppm), C-14 (121,1 ppm), C-10 (118,0 ppm) dan C-13 (117,9 ppm), C-11' (112,3 ppm), C-13' (112,3 ppm), C-10' (130,9 ppm) C-14' (δ_C 130,9 ppm), selanjutnya disebut H-8, H-8', H-5, H-5', H-14, H-10, H-13, H-11', H-13', H-10' dan H-14'.

Sinyal dari proton N-metil (3,67 ppm) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-1 dan C-3, hal ini menunjukkan N-metil terikat pada cincin A, dari salah satu unit bisbensilisokuinolin, demikian pula dengan sinyal N'-metil (3,70 ppm) yang juga ada korelasi dengan C-1' dan C-3'. Proton-proton gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,58; 3,78; 3,81; dan 3,83 ppm berturut-turut terikat pada karbon dengan pergeseran kimia 55,6; 55,9; 55,9; dan 56,2 ppm dari spektrum HMBC diketahui bahwa proton-proton tersebut ada korelasi berturut-turut dengan karbon C-6' (145,9 ppm), C-6 (146,6 ppm),

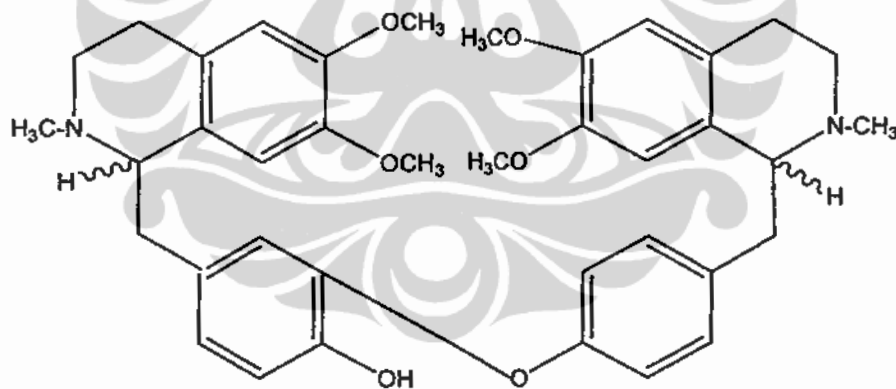
C-7' (147,6 ppm), C-7 (143,6 ppm). Adanya dua pasang sinyal proton dengan pergeseran kimia karbon yang sama: 6,84 (2H, *d*, $J = 7,8$ Hz) dan 7,00 ppm (2H, *d*, $J = 8,7$ Hz) memperlihatkan ada kesimetrian dari salah satu unit bisbensilisokuinolin, analisis HMBC menunjukkan pasangan proton tersebut adalah H-10' dengan H-14' dan H-11' dengan H-13' dalam cincin C'. Jembatan yang menghubungkan kedua unit BBIK pada cincin C' ada pada posisi C-12' dengan sinyal *downfield* pada δ_c 155,7, sementara itu posisi jembatan pada cincin C terletak pada posisi 11 dengan pada δ_c 146,5. Posisi kedua jembatan yang sangat *downfield* itu memberikan petunjuk bahwa kedua unit dihubungkan dengan satu oksigen, membentuk diaril eter.

Spektrum HMBC memperlihatkan adanya korelasi antara sinyal H-13 dengan karbon C-9 (133,5 ppm) dan C-11 (146,5 ppm) dan korelasi sinyal H-14 dengan karbon C-10 (118,0 ppm), C- α (40,6 ppm). Demikian pula sinyal dari proton H-10 (*s*) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-12 (148,0 ppm) dan C-14 (121,1 ppm). Satu sinyal karbon (C-12) dengan pergeseran kimia pada 148,0 ppm, menunjukkan adanya ikatan antara karbon dengan atom yang bersifat elektronegatif. Pada senyawa A-10 posisi ini ditempati oleh gugus metoksi, namun pada senyawa A-11, karbon C-12 terikat gugus OH.

Spektrum HMBC memperlihatkan resonansi dua dari lima sinyal metoksi (3,81 ppm) dan (3,58 ppm) dengan karbon C-7' (147,6 ppm) dan C-6' (145,9 ppm). Adanya korelasi ini membuktikan bahwa gugus metoksi pada pergeseran kimia δ 3,81 ppm terikat posisi C-7' dan gugus metoksi pada

pergeseran kimia 3,58 ppm terikat pada posisi C-6' dalam cincin B' dan dua sinyal metoksi lainnya (3,83 ppm) dan (3,78 ppm) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-7 (146,2 ppm) dan C-6 (143,6 ppm), maka gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,83 dan 3,78 ppm terikat pada posisi C-7 dan C-6 dalam cincin B

Hasil analisis spektrum NMR dan spektrum massa, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa A-11 adalah alkaloida bisbensilisokuinolin tipe I dan dengan membandingkan data spektrum NMR senyawa A-11 dengan data dari pustaka, maka disimpulkan bahwa senyawa ini adalah (-)-dauricin⁷². Adanya dua Struktur senyawa A-11 dapat dilihat pada Gambar 46. Data spektrum NMR senyawa ini dapat dilihat pada Tabel 16.



Gambar 46. Struktur senyawa A11

Tabel 16. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa A-11^a

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)	HMBC
1	64,8	3,67 <i>m</i>	α , 3
3	46,4	2,79 <i>m</i> 3,22 <i>m</i>	1,4a,8a
4	25,3	2,52 <i>m</i> 2,59 <i>m</i>	
4a	125,3		
5	110,7	6,52 <i>s</i>	4, 7,8a
6	146,6		
7	143,6		
8	111,3	6,00 <i>d</i> (3,7)	1,4a,6
8a	128,5		
α	40,4	2,80 <i>m</i> 2,82 <i>m</i>	10 14
9	133,5		
10	118,0	6,81 <i>d</i> (2,7)	12,14
11	146,5		
12	148,0		
13	117,9	6,82 <i>s</i>	9,11,12
14	121,1	6,74 <i>s</i>	9,10,12
1'	64,9	3,70 <i>m</i>	3', α'
3'	46,6	2,76 <i>m</i> 2,79 <i>m</i>	1',4a',8a'
4'	25,2	2,52 <i>m</i> 2,59 <i>m</i>	1 1
4a'	125,3		
5'	110,1	6,54 <i>s</i>	4',7',8a'
6'	145,9		
7'	147,6		
8'	114,4	6,11 <i>s</i>	1',4a',6'
8a'	128,6		
α'	40,4	3,13 <i>m</i> 3,19 <i>m</i>	10' 14'
9'	131,5		
10'	130,9	7,00 <i>d</i> (8,7)	12', α'
11'	112,3	6,84 <i>d</i> (7,8)	9'
12'	155,7		
13'	112,3	6,84 <i>d</i> (7,8)	9'
14'	130,9	7,00 <i>d</i> (8,7)	12', α'
OMe-6	55,9	3,78 <i>s</i>	6
OMe-6'	55,6	3,58 <i>s</i>	6'
OMe-7	56,2	3,83 <i>s</i>	7
OMe-7'	55,9	3,81 <i>s</i>	7'
N-Me	41,1	2,48 <i>s</i>	1,3
N-Me'	42,5	2,51 <i>s</i>	1',3'

^adalam CDCl_3

4.13. Senyawa A-12

Senyawa A-12 berbentuk amorf kuning kecoklatan dengan rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$: + 65 (MeOH, $c = 0,002$) dan UV spectrum pada λ_{max} 296 dan 278 nm. Spektrum massa (LCMS) memperlihatkan puncak m/z 610,8836 ($M+1$), yang sesuai dengan rumus molekul $C_{37}H_{42}N_2O_6$. Berat molekul yang tinggi ini menunjukkan bahwa molekul senyawa A-12 ini adalah dimer. Fragmentasi dari 305,9366 menunjukkan kehilangan satu monomer dari molekul. Salah satu dimer dari alkaloida adalah kelompok bisbensilisokuinolin (BBIK).

Dalam spektrum 1H NMR (Lampiran 28) terlihat adanya dua sinyal dari N- metil pada pergeseran kimia 2,43 ppm (3 H s) dan 2,49 ppm (3 H, s), dua belas sinyal dari proton-proton gugus metilen pada δ 2,49 (1H, *m*); 2,58 (1H, *m*); 2,67 (1H, *m*); 2,69 (1H, *m*); 2,78 (1H, *m*); 2,80 (1H, *m*); 2,81 (1H, *d*, $J = 6,0$ Hz); 2,84 (1H, *m*); 2,99 (1H, *d*, $J = 5,0$ Hz); 3,10 (1H, *d*, $J = 5,0$ Hz); 3,08 (1H, *m*); 3,10 (1H, *m*); 3,22 (1H, *m*) dan tiga sinyal dari proton-proton gugus metoksi pada δ 3,81; 3,81; 3,82 serta dua sinyal proton metin pada pergeseran kimia 3,73 (1H, *t*) dan 3,63 ppm (1H, *t*). Spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 28) dan percobaan HMQC (Lampiran 29), mengungkapkan bahwa proton-proton pada pergeseran kimia 2,78 dan 3,22 ppm terikat pada karbon C-3 (46,6 ppm), 2,58 dan 2,80 ppm terikat pada karbon C-4 (24,9 ppm), 2,81 dan 2,99 ppm terikat pada karbon C- α (40,5 ppm), 2,67 dan 3,08 ppm terikat pada karbon C-3' (47,3 ppm), 2,49 dan 2,69 ppm terikat pada karbon C-4' (25,3 ppm), 2,84 dan 3,10 ppm terikat pada karbon C- α' (40,5 ppm), selanjutnya proton-proton tersebut disebut sebagai H-3, H-4, H- α , H-4',

H-3, dan H- α' , sedangkan proton-proton metin dengan pergeseran kimia 3,74 dan 3,63 ppm berturut-turut terikat pada C-1 (64,4 ppm) dan C-1' (64,6 ppm). Disamping itu resonansi dari proton-proton aromatik terlihat pada δ 6,52 (1H, s); 6,21 (1H,s); 6,59 (1H, *d*, *J* = 1,7 Hz); 6,83 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz); 6,81 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz); 6,45 (1H, s); 6,31 (1H, s); 7,01 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz); 6,80 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz); 6,80 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz) dan 7,01 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz). Spektrum ^{13}C NMR dan percobaan HMQC, menunjukkan bahwa proton-proton tersebut berturut-turut, terikat pada karbon C-5 (110,7 ppm), C-8 (114,0 ppm), C-10 (121,0 ppm), C-13 (112,3 ppm), C-14 (125,0 ppm), C-5' (110,6 ppm) dan C-8' (114,3 ppm), C-10' (130,6 ppm), C-11' (118,1 ppm), C-13' (118,1ppm) dan C-14' (130,6 ppm), selanjutnya disebut sebagai H-5, H-8, H-10, H-13, H-14, H-5', H-8', H-10', H-11', H-13', dan H-14'.

Sinyal dari proton N-metil memperlihatkan korelasi dengan karbon C-1 dan C-3, hal ini menunjukkan N-metil terikat pada cincin A dari salah satu unit bisbensilisokuinolin, sementara itu korelasi juga diperlihatkan sinyal proton N'-metil dengan karbon C-1' dan C-3' yang menunjukkan terikat pada cincin A' dari unit BBIK yang lainnya. Proton-proton gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,81; 3,81; dan 3,85 ppm yang berturut-turut terikat pada karbon dengan pergeseran kimia 55,8; 56,1; dan 55,8 ppm diketahui mempunyai korelasi berturut-turut dengan karbon C-6 (145,4 ppm), C-6' (145,6 ppm) dan C-12 (149,0 ppm). Adanya dua pasang sinyal dengan pergeseran kimia yang sama: H-10'/ H-14' dan H-11'/H-13', maka ada kesimetrian pada cincin C' dari salah satu unit BBIK, sementara itu jembatan yang menghubungkan kedua

unit BBIK pada cincin C' ada pada posisi C-12' dengan sinyal *downfield* pada δ_c 155,6, sementara itu posisi jembatan pada cincin C terletak pada posisi 11 dengan sinyal pada medan rendah δ_c 145,6. Posisi kedua karbon yang sangat *downfield* itu memberikan petunjuk bahwa kedua unit dihubungkan dengan satu oksigen, membentuk diaril eter.

Adanya dua proton aromatik yang bersebelahan (orto) H-13' dan H-14' pada cincin C' diperlihatkan dalam spektrum ^1H NMR yang berupa dua sinyal dublet pada pergeseran kimia 6,80 (1H, *d*, $J = 8,7$ Hz) dan 7,01 ppm (1H, *d*, $J = 8,7$ Hz) demikian pula dengan H-10' dan H-11' pada pergeseran kimia 7,01 ppm (1H, *d*, $J = 8,7$ Hz) dan 6,80 ppm (1H, *d*, $J = 8,7$ Hz). Kedudukan tersebut didukung dengan spektrum HMBC (Lampiran 29) yang memperlihatkan adanya korelasi antara sinyal H-13' dengan karbon C-9' (133,9 ppm), C-11' (118,1 ppm), C-12' (155,6 ppm) dan korelasi sinyal H-14' dengan karbon C- α' (40,5 ppm), C-10' dan C-12' (155,6 ppm), demikian pula sinyal dari proton H-10' memperlihatkan korelasi dengan karbon C- α' (40,5 ppm), C-12' (155,6 ppm) dan C-14' (130,6 ppm), sementara proton H-11' ada korelasi dengan C-9' (133,9 ppm), C-12' (155,6 ppm) dan C-13' (118,1 ppm).

Pada cincin C juga terdapat dua proton yang bersebelahan yaitu H-13 dan H-14, posisi ini didukung dengan adanya spektrum dublet dari proton H-13 pada pergeseran kimia 6,83 (1H, *d*, $J = 8,7$ Hz) dan H-14 pada pergeseran kimia 6,81 ppm (1H, *d*, $J = 8,7$ Hz). Dalam spektrum HMBC juga memperlihatkan adanya korelasi dari sinyal proton H-13 dengan karbon C-9 (132,1 ppm), C-11 (145,6 ppm) dan adanya korelasi sinyal proton H-14

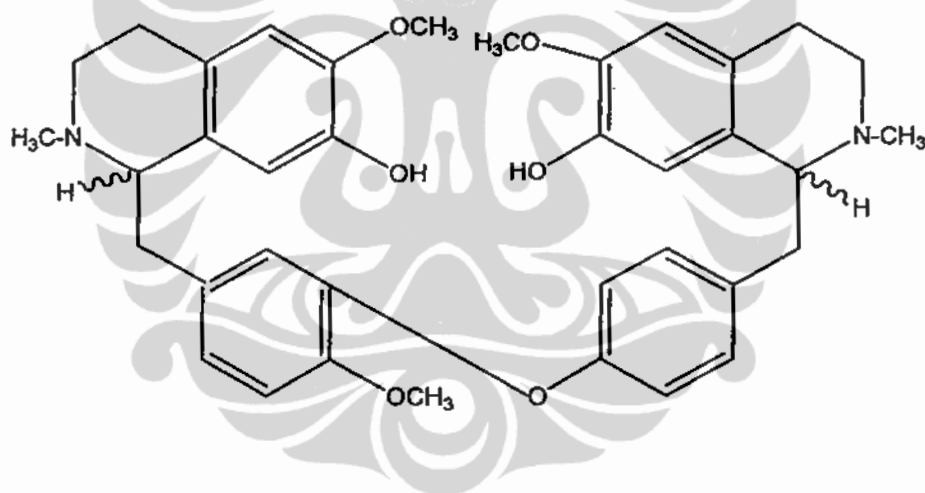
dengan karbon C-12 (149,0 ppm). Satu sinyal proton metoksi pada pergeseran kimia 3,82 ppm mempunyai korelasi dengan karbon C-12 (149,0 ppm), dengan demikian pada cincin C terdapat gugus metoksi yang terikat pada posisi C-12.

Spektrum HMBC memperlihatkan resonansi satu sinyal proton aromatik pada δ 6,52 (s) yang mempunyai korelasi dengan karbon C-4 (24,9 ppm), C-7 (143,6 ppm), C-8a (129,6 ppm), disamping itu satu proton lainnya pada δ 6,21 (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-1 (64,4 ppm), C-4a (125,0 ppm) dan C-6 (145,4 ppm). Satu dari tiga sinyal metoksi (3,81 ppm) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-6 (145,7 ppm). Adanya korelasi ini membuktikan bahwa proton dengan pergeseran kimia 6,52 dan 6,21 ppm adalah H-5 dan H-8 yang terikat pada C-5 (110,7 ppm) dan C-8 (114,0 ppm), dan gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,86 ppm terikat posisi C-6 dalam cincin B, karena sinyal karbon C-7 terlihat pada 143,6 ppm, maka pada posisi ini yang terikat adalah gugus OH.

Spektrum HMBC memperlihatkan resonansi satu sinyal proton aromatik pada δ 6,45 (s) yang mempunyai korelasi dengan karbon C-4' (25,3 ppm), C-7' (143,6 ppm), dan C-8a' (129,3 ppm), disamping itu satu proton lainnya pada δ 6,31 ppm (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-1' (64,6 ppm), C-4a' (125,0 ppm) dan C-6' (145,6 ppm). Satu dari tiga sinyal metoksi (3,81 ppm) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-6' (145,6 ppm). Adanya korelasi ini membuktikan bahwa proton dengan pergeseran kimia 6,45 dan 6,31 ppm adalah H-5' dan H-8' yang terikat pada C-5' (110,6 ppm)

dan C-8' (114,3 ppm), dan gugus metoksi pada pergeseran kimia 3,81 ppm terikat posisi C-6' dalam cincin B', karena sinyal karbon C-7' terlihat pada 143,6 ppm, maka pada posisi ini yang terikat adalah gugus OH.

Hasil analisis spektrum NMR dan spektrum massa, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa A-12 adalah alkaloida bisbensilisokuinolin tipe I dan dengan membandingkan data spektra NMR senyawa A-12 dengan data spektra dari literatur, maka disimpulkan bahwa kemungkinan senyawa A-12 adalah (+)-thaligrisin⁵¹. Struktur senyawa A-12 dapat dilihat pada Gambar 47. Data spektra NMR senyawa ini dapat dilihat pada Tabel 17.



Gambar 47. Struktur senyawa A-12

Tabel 17. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa A-12^a

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)	HMBC
1	64,4	3,74 <i>t</i>	3,4a,8a, α
3	46,6	2,78 <i>m</i> 3,22 <i>m</i>	
4	24,9	2,58 <i>m</i> 2,80 <i>m</i>	3
4a	125,0		
5	110,7	6,52 <i>s</i>	4, 7,8a,
6	145,4		
7	143,6		
8	114,0	6,21 <i>s</i>	1,4a,6
8a	129,6		
α	40,5	2,81 <i>d</i> (6,0) 2,99 <i>d</i> (5,0)	10 1
9	132,1		
10	121,0	6,59 <i>d</i> (1,7)	11,12,14
11	145,6		
12	149,0		
13	112,3	6,83 <i>d</i> (8,7)	9,11
14	125,0	6,81 <i>d</i> (8,7)	12
1'	64,6	3,63 <i>t</i>	3',4a',8a', α' ,9'
3'	47,3	2,67 <i>m</i> 3,08 <i>m</i>	
4'	25,3	2,49 <i>m</i> 2,69 <i>m</i>	3'
4a'	125,0		
5'	110,6	6,45 <i>s</i>	4',7,8a'
6'	145,6		
7'	143,6		
8'	114,3	6,31 <i>s</i>	1',6',4a'
8a'	129,3		
α'	40,5	2,84 <i>m</i> 3,10 <i>m</i>	10' 14'
9'	133,9		
10'	130,6	7,01 <i>d</i> (8,7)	12',14', α'
11'	118,1	6,80 <i>d</i> (8,7)	9',12', 13'
12'	155,6		
13'	118,1	6,80 <i>d</i> (8,7)	9',11',13'
14'	130,6	7,01 <i>d</i> (8,7)	10',12', α'
OMe-6	55,8	3,81 <i>s</i>	6
OMe-6'	56,1	3,81 <i>s</i>	6'
OMe-12	55,8	3,82 <i>s</i>	12
N-Me	42,2	2,49 <i>s</i>	1,3
N-Me'	42,5	2,43 <i>s</i>	1',3'

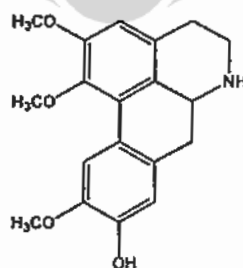
^adalam CDCl_3

4.14. Senyawa B-1

Senyawa B-1 berupa zat padat amorf berwarna kehitaman dengan $[\alpha]_D^{25}$: +129,2° (MeOH, $c = 0,0016$) dan serapan UV pada λ_{max} 303 nm (MeOH). Spektrum 1H NMR senyawa B-1 (Lampiran 30) memperlihatkan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,57 ppm (1H, s), 6,78 ppm (1H, s) dan 7,98 ppm (1H, s) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan tiga sinyal pada pergeseran kimia 3,59 (s), 3,81 (s) dan 3,85 ppm (s) yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilena diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,71 (1H, *d*, $J = 13,9$ Hz); 2,88 (1H, *m*); 3,03 (1H, *m*); 3,17 (1H, *m*); 3,49 (1H, *m*); dan 3,51 ppm (1H, *m*), serta satu sinyal proton metin pada δ 3.63 (1H, *m*). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C MNR (Lampiran 30) pada pergeseran kimia 28,5; 42,7; dan 35,9 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilena yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, dan δ 60,1 ppm untuk karbon metin C-6a, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 110,5; 113,3; 114,3; 123,5; 126,7; 126,9; 128,5; 129,2; 144,1; 145,2; 145,6; dan 152,2 ppm. Percobaan dengan NOE-diff (Lampiran 31) memperlihatkan bahwa iradiasi sinyal proton pada pergeseran kimia 7,98 ppm (H-11) menyebabkan perubahan sinyal proton metoksi δ 3,81 ppm, ini membuktikan kedudukan gugus metoksi dengan pergeseran kimia 3,81 ppm terletak pada posisi C-10 dan iradiasi sinyal proton pada pergeseran kimia 6,57 ppm (H-3) menyebabkan perubahan sinyal proton gugus metoksi dengan pergeseran kimia 3,85 ppm,

ini membuktikan gugus metoksi dengan sinyal pada pergeseran kimia 3,85 ppm terikat pada posisi C-2. Adanya satu sinyal karbon dengan pergeseran kimia pada 145,6 ppm maka ada satu karbon lagi yang mengikat suatu gugus yang bersifat elektronegatif selain gugus metoksi, dengan demikian gugus yang terikat pada posisi C-9 adalah gugus OH. Hasil analisis spektrum ^1H NMR, ^{13}C NMR, HMQC (Lampiran 31) dan dengan membandingkan struktur molekul dari literatur maka dapat disimpulkan bahwa senyawa B-1 adalah alkaloida laurotetanin², $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}$. Data spektrum ^1H dan ^{13}C NMR dari senyawa B-1 dapat dilihat pada Tabel 18.

Laurotetanin disebut juga litsoein adalah alkaloida aporfin yang juga telah diisolasi dari familia Lauraceae: *Actinodaphne obovata*; *Litsea citrata*; *L. glutenosa var glabaria*; *L. cubeba*; *L. sebifera*; *L. wightiana*; *Neolitsea sericea*; *N. acuminatissima*, *Cassyta racemosa*; *Cryptocarya odorata*; *Lindera pipericarpa*; *L. benzoin* L (Blume), Monimiaceae: *Dryadodaphne guinoensis*; *Nemuaron visielillardii*; *Palmeria fengeriana*; *Peumus boldus*, Hernandiaceae: *Hernandia jamaicensis*; *Illigera spp.*



Struktur senyawa B-1(laurotetanin)

Tabel 18. Data spektra ^{13}C NMR (100 Hz) dan ^1H NMR (400 Hz) senyawa B-1^a

Posisi	δ , ^{13}C	δ ^1H (J dalam Hz)
1	144,1	
1a	126,9	
1b	128,5	
2	152,2	
3	110,5	6,57 <i>s</i>
3a	126,7	
4	28,5	2,71 <i>d</i> (13,9)
		3,17 <i>m</i>
5	42,7	3,49 <i>m</i>
		3,51 <i>m</i>
6a	60,0	3,63 <i>m</i>
7	35,9	2,88 <i>m</i>
		3,03 <i>m</i>
7a	129,2	
8	114,3	6,78 <i>s</i>
9	145,6	
10	145,2	
11	111,3	7,98 <i>s</i>
11a	123,5	
OMe-1	55,8	3,59 <i>s</i>
OMe-2	53,4	3,85 <i>s</i>
OMe-10	55,7	3,81 <i>s</i>

^a dalam CDCl_3

4.15. Senyawa B-2

Senyawa B-2 berupa zat padat amorf kehitaman. Spektrum ^1H NMR senyawa B-2 (Lampiran 32) memperlihatkan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,58 (1H, *s*), 6,81 (1H, *s*) dan 8,04 ppm (1H, *s*)

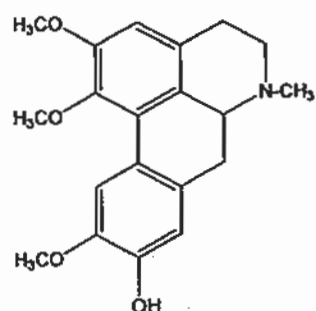
yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan tiga sinyal pada pergeseran kimia 3,65 (3H, s), 3,85 (3H, s), dan 3,89 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,76 (2H, m); 2,99 (1H, d, $J = 4,1$ Hz); 3,25 (1H, m); 3,31 (1H, d, $J = 4,1$ Hz); dan 3,36 ppm (1H, m), serta satu sinyal proton metin pada δ 3.63 (1H, t). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C MNR (Lampiran 32) pada pergeseran kimia 28,7; 53,1; dan 33,9 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, dan 62,4 ppm untuk karbon metin C-6a, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 110,2; 111,2; 113,9; 123,7; 126,4; 127,1 128,6; 129,7; 144,3; 144,9; 145,6; dan 152,1 ppm.

Adanya gugus N-metil yang terikat pada cincin B terlihat pada pergeseran kimia 2,57 ppm (s, 3H). Selain ^{13}C NMR, spektrum HMQC (Lampiran 33) juga mengungkapkan bahwa proton-proton aromatik dengan pergeseran kimia 6,58 (H-3), 6,81 (H-8) dan 8,04 ppm (H-11) berturut-turut terikat pada C-3 (110,19 ppm), C-8 (114,0 ppm) dan C-11 (111,2 ppm). Pergeseran kimia karbon lainnya menduduki posisi C-1 (144,3 ppm), C-2 (152,1 ppm), C-1a (128,6 ppm), C-1b (126,4 ppm), C-4a (127,1 ppm), C-7a (129,7 ppm), C-9 (144,9 ppm), C-10 (145,4 ppm) dan C-11a (123,7 ppm).

Spektrum HMBC (Lampiran 33) memperlihatkan korelasi sinyal resonansi proton H-3 dengan C-1, C-1b, C-2, dan C-4. Hal tersebut mendukung bahwa proton dengan sinyal pada pergeseran kimia 6,58 ppm

terikat pada posisi C-3, dan pada karbon C-1 dan C-2 terikat pada unsur elektronegatif seperti oksigen, dalam hal ini gugus metoksi yang sinyal resonansi proton-protonnya (δ_H 3,65 dan 3,85) juga memperlihatkan korelasi dengan C-1 dan C-2. Spektrum HMBC juga memperlihatkan korelasi sinyal resonansi proton H-8 dengan C-10 dan C-11a yang mendukung proton dengan sinyal pada pergeseran kimia 6,81 ppm terikat pada C-8. Demikian pula halnya dengan sinyal proton pada pergeseran 8,04 ppm memperlihatkan korelasi dengan C-9 (144,9 ppm), C-7a (129,7 ppm) dan C-1a (128,6 ppm) yang mendukung posisi H-11. Analisis HMBC juga menunjukkan bahwa pada karbon C-10 terikat gugus metoksi (δ_H 3,89), dengan demikian pada C-9 terikat gugus hidroksi. Data spektra 1H NMR, ^{13}C NMR (Tabel 19) dan NMR 2 D ini memberikan petunjuk bahwa senyawa B-2 adalah alkaloida *N*-metillaurotetanin², $C_{20}H_{23}O_4N$.

N-metillaurotetanin disebut juga lauroschoztzin, rogersin adalah alkaloida aporfin yang juga telah diisolasi dari familia Lauraceae: *Actinodaphne obovata*; *Litsea citrata*; *L. glutenosa var glabaria*; *L. cubeba*; *L. sebifera*; *L. wightiana*; *Neolitsea sericea*; *N. pubescens*, *Cassyta racemosa*; *Cryptocarya odorata*; Monimiaceae: *Nemuaron visielilardii*, *Palmeria fengeriana*; *Peumus boldus* Molina, Hernandiaceae: *Hernandia spp.*, Magnoliaceae: *Liriodendron*, Papaveraceae: *Eschscholtzia californica*, Rhamnaceae: *Colubrina faralaorta faralaorta*, *Phyllica rogersii* Pillans



Struktur senyawa B-2 (*N*-metillaurotetanin)

Tabel 19. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa B-2

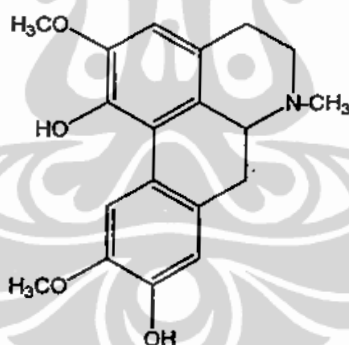
Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)
1	144,3	
1a	128,6	
1b	126,4	
2	152,1	
3	110,2	6,58 s
3a	127,1	
4/4'	28,7	2,76 m; 2,76 m
5/5'	53,1	3,25 m; 3,36 m
6a	62,4	3,62 m
7/7'	33,9	2,99 d (4,1); 3,31 d (4,1)
7a	129,7	
8	113,9	6,81 s
9	144,9	
10	145,4	
11	111,8	8,04 s
11a	123,7	
OMe-1	60,1	3,65 s
OMe-2	55,8	3,85 s
OMe-10	56,0	3,89 s
NMe	43,5	2,57 s

4.16. Senyawa B-3

Senyawa B-3 berupa zat padat amorf berwarna keunguan dengan rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$: + 25° (MeOH, c = 0,0005). Spektrum ^1H NMR senyawa B-3 (Lampiran 34) memperlihatkan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,50 (1H, s), 6,79 (1H, s) dan 8,01 ppm (1H, s) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,89 ppm (3H, s), dan 3,91 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, di samping itu adanya proton-proton alifatik (gugus metilen, metin) diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,57, dan 3,05 ppm. Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 34) pada pergeseran kimia 28,9; 53,4; dan 34,1 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, dan δ 62,6 ppm untuk karbon metin C-6a, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 108,7 111,6; 113,9; 119,6; 123,8; 124,2; 127,0; 129,7; 140,4; 144,6; 145,0; dan 145,7 ppm.

Adanya gugus metil yang terikat pada N dari cincin B terlihat pada pergeseran kimia 2,55 ppm (s, 3H). Percobaan NOE-diff (Lampiran 35) menunjukkan bahwa gugus metoksi dengan resonansi proton pada pergeseran kimia 3,91 ppm terikat pada karbon C-2, sementara gugus metoksi lainnya dengan pergeseran kimia 3,89 ppm terikat pada C-10. Data spektra ^1H NMR dan ^{13}C NMR ini memberikan petunjuk bahwa senyawa B-3 adalah alkaloida isoboldin, $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}$, dugaan ini didukung pula dengan

membandingkan spektrum isoboldin dari pustaka³ (Tabel 20). Isoboldin disebut juga *N*-metillaurelliptin adalah alkaloida aporfin yang juga telah diisolasi dari familia Lauraceae: *Beilschmiedia elliptica*; *B. podagrica*; *B. tawa*; *Litsea xylanica*; *Cassyta racemosa*; *C. Pubescens*; *Nectandra saligna*; *N. pichurim*; *Phoebe porfiria*; Monimiaceae: *Laurelia norae-selandica*; *Peumus boldus*, Papaveraceae: *Corydalis stewartii*; *C. Pallida var tenuis*; *Glaucium elegana*; *G. funbrilligerumcava*, Annonaceae: *Monodora angolensis*; *Schefferomitra subsequalis*, Berberidaceae: *Nandina domestica*, Leguminosae: *Erythrina lysistemon*; *E. abyssinica*; *E. poepigiana*; *E. fuaca*; *E. lithisperma*, Symplocaceae: *Symplocos celastrinea*, Menispermaceae: *Cocculus trilobus*.



Struktur senyawa B-3 (Isoboldin)

Tabel 20. Data spektra ^1H NMR dan ^{13}C NMR Senyawa B-3 dan Isoboldin³

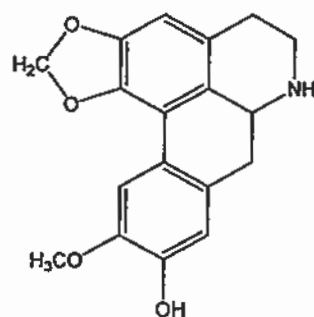
Posisi	Senyawa B-3		Isoboldin	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm)
1	140,4		140,6	
1a	119,6		119,7	
1b	123,8		123,5	
2	145,7		146,5	
3	108,7	6,53 s	109,2	6,50 s
3a	127,0		126,7	
4	28,9		28,4	
5	53,4		52,9	
6a	62,6		62,4	
7	34,1		33,7	
7a	129,7		129,1	
8	113,9	6,79 s	114,9	6,72 s
9	145,0		145,4	
10	144,6		145,3	
11	111,6	8,01 s	113,6	7,95 s
11a	124,2		123,0	
OMe-2	56,1	3,91 s	55,8	3,94 s
OMe-10	56,2	3,89 s	55,8	3,86 s
NMe	43,9	2,53 s	43,6	2,52 s

4.17. Senyawa B-4

Senyawa B-4 berupa kristal jarum halus putih keunguan dengan rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$: + 30° (MeOH, c = 0,0001). Spektrum ^1H NMR senyawa B-4 (Lampiran 36) memperlihatkan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,52 (1H, s), 6,79 (1H, s) dan 7,64 ppm (1H, s) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan satu sinyal pada pergeseran kimia 3,93 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik, serta dua sinyal resonansi proton-proton metilen dioksi pada pergeseran kimia 5,92 ppm (1H, s) dan 6,07 ppm (1H, s). Adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,69 (2H, m,); 2,79 (m, 1H); 3,00 (m,

2H); 3,36 (*m*, 1H), serta satu sinyal proton metin pada δ 3,93 (*m*, 1H). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C MNR (Lampiran 36) pada pergeseran kimia 29,4; 43,3; 36,4 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, dan 62,6 ppm untuk karbon metin C-6a, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 107,1; 110,1; 114,6; 123,1; 126,7; 127,6; 127,9; 128,9; 141,5; 145,4 (2x); 146,0 ppm.

Adanya proton-proton dari gugus metilen dioksi yang terikat pada C-1 dan C-2 di cincin A terlihat pada pergeseran kimia 5,92 (1H, *d*, $J = 1,4$ Hz) dan 6,07 ppm (1H, *d*, $J = 1,4$ Hz) demikian pula pada spektrum ^{13}C NMR terlihat sinyal yang khas untuk karbon dari metilen dioksi yaitu pada δ 100,5 ppm. Pada percobaan COSY (Lampiran 36) terlihat adanya kopling spin-spin proton H-6 dengan H-7 dan H-5 dengan H-4. Spektra ^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, dan dengan membandingkan spektrum actinodaphnin dari pustaka, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa B-4 adalah alkaloida actinodaphnin, $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}$. Actinodaphnin adalah alkaloida aporfin yang juga pernah diisolasi dari familia Hernandiaceae: *Illigera luzonensis*, Lauraceae: *Actinodaphne obovata*; *Cassyta americana*; *C. melantha*; *Litsea glutenosa*; *L. sebifera*; *Neolitsea sericea*. Rotasi optik actinodaphnin menurut pustaka adalah $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $+ 39^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$)².



Senyawa B-4 (actinodaphnin)

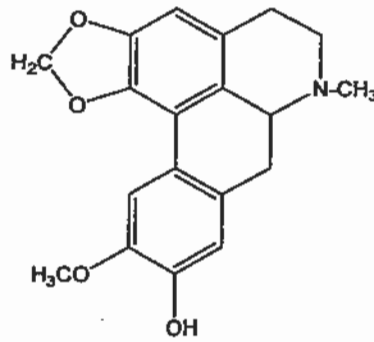
Tabel 21. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa B-4

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)
1	145,4	
1a	123,1	
1b	127,9	
2	145,4	
3	107,1	6,52 s
3a	126,7	
4	29,4	2,69 m
		3,00 m
5	43,3	3,00 m
		3,36 m
6a	64,7	3,93 m
7	36,4	2,69 m
		2,79 m
7a	128,9	
8	114,5	6,79 s
9	146,6	
10	145,1	
11	110,1	7,64 s
11a	127,6	
OMe-10	56,1	3,93 s
OCH ₂ O	100,5	5,92 d (1,4)
		6,07 d (1,4)

4.18. Senyawa B-5

Spektrum ^1H NMR senyawa B-5 (Lampiran 37) memperlihatkan adanya tiga sinyal berbentuk singlet pada pergeseran kimia 6,51 (1H, s), 6,81 (1H, s,) dan 7,61 ppm (1H, s) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik, dan satu sinyal

pada pergeseran kimia 3,91 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya gugus metoksi aromatik. Adanya proton-proton metilen diperlihatkan pada pergeseran kimia 2,76 (2H, m); 3,06 (1H, d, $J = 4,6$ Hz); 3,09 (2H, d, $J = 4,4$ Hz); 3,25 (1H, m); dan 3,36 ppm (1H, m), serta satu sinyal proton metin pada δ 3,62 (1H, m). Kerangka aporfin juga diperlihatkan dalam spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 37) pada pergeseran kimia 28,8; 53,4; dan 33,5 ppm yang menunjukkan karbon-karbon gugus metilen yang pada kerangka aporfin ada pada posisi berturut-turut C-4, C-5, C-7, dan 62,2 ppm untuk karbon metin C-6a, sedangkan adanya karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 106,6; 109,9; 114,0; 123,8; 126,3; 127,5; 128,3; 129,5; 144,2; 145,0; dan 145,2 (2x) ppm. Adanya proton-proton dari gugus metilen dioksi yang terikat pada C-1 dan C-2 di cincin B terlihat pada pergeseran kimia 5,94 (1H, s) dan 6,09 ppm (1H, s) demikian pula pada spektrum ^{13}C NMR terlihat sinyal yang khas untuk karbon yang terikat dengan oksigen dari metilen dioksi yaitu pada δ_{C} 100,6. Dengan membandingkan spektrum *N*-metilactinodaphnin dari literatur, maka diduga senyawa B-5 adalah alkaloida *N*-metilactinodaphnin $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}$. *N*-metilactinodaphnin dengan nama lain cassythicin adalah alkaloida aporfin yang pernah diisolasi dari familia Lauraceae: *Cassyta americana*; *C. melantha*; *Litsea glutenosa*; *Neolitsea sericea*.²



Struktur senyawa B-5 (*N*-metilactinodaphnin)

Tabel 22. Data spektra ^{13}C NMR (100 MHz) dan ^1H NMR (400 MHz) senyawa B-5

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)
1	145,2	
1a	128,3	
1b	126,3	
2	145,2	
3	106,6	6,51 s
3a	127,5	
4	28,8	2,76 m
		2,76 m
5	53,4	3,25 m
		3,26 m
6a	62,2	3,62 m
7	33,5	3,06 d (4,6)
		3,09 d (4,6)
7a	129,5	
8	114,0	6,81 s
9	145,0	
10	144,1	
11	109,9	7,61 s
11a	123,8	
OMe-10	56,1	3,91 s
OCH ₂ O	100,6	5,94 d (1,2)
		6,09 d (1,2)
NMe	43,4	2,49 s

4.19. Senyawa B-6 dan senyawa B-7

Senyawa B-6 merupakan zat padat amorf kehitaman dan senyawa B-7 berbentuk zat padat amorf kehitaman dengan $[\alpha]_D^{25}$: + 150° (MeOH, c = 0,0004).

Spektrum ^1H NMR senyawa B-6 (Lampiran 37) memperlihatkan adanya tiga sinyal pada pergeseran kimia 6,67 ppm (1H, s), 6,88 ppm (1H, d, $J = 8,3$ Hz) dan 7,06 ppm (1H, d, $J = 7,3$ Hz) yang menunjukkan ada tiga proton aromatik dan tiga sinyal pada pergeseran kimia 3,72 (3H, s), 3,89 (3H, s), dan 3,90 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya tiga gugus metoksi aromatik, disamping itu adanya proton-proton alifatik diperlihatkan pada pergeseran kimia antara 2,64 sampai dengan 3,65 ppm. Adanya gugus metil yang terikat pada N dari cincin B terlihat pada pergeseran kimia 2,53 ppm (3H, s).

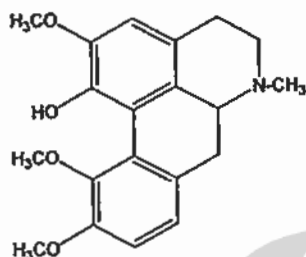
Hasil pengukuran ^1H NMR senyawa B-7 (Lampiran 37) memperlihatkan adanya tiga sinyal resonansi proton-proton aromatik pada pergeseran kimia 6,69 ppm (1H, s), 6,86 (1H, d, $J = 8,1$ Hz) dan 7,05 ppm (1H, d, $J = 8,3$ Hz), dan tiga sinyal pada pergeseran kimia 3,86 (3H, s), 3,87 (3H, s), dan 3,89 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya tiga gugus metoksi aromatik, di samping itu adanya proton-proton alifatik diperlihatkan pada pergeseran kimia antara 2,14 sampai dengan 3,50 ppm Spektrum ^{13}C NMR (Lampiran 38) dari senyawa ini memperlihatkan pola kerangka aporfin, adanya sinyal pada pergeseran kimia 29,7; 41,1; 34,5; dan 62,2 ppm, menunjukkan karbon-karbon C-4, C-5, C-7, C-6a yang mengikat proton-

proton metilen dan metin, adanya pergeseran kimia pada 53,1; 56,0; dan 56,1 ppm menunjukkan karbon yang mengikat gugus-gugus metoksi pada cincin aromatik. Sinyal dari karbon-karbon aromatik terlihat pada pergeseran kimia 111,5; 111,3; 118,9; 121,4; 122,1; 125,2; 125,8; 127,2; 143,5; 144,0, 150,6; dan 152,4 ppm yang kedudukannya berturut-turut ada pada posisi C-3, C-9, C-8, C-1a, C-11a, C-4a, C-1b, C-7a, C-11, C-1, C-2, dan C-10.

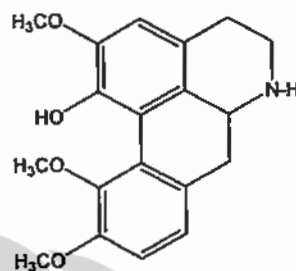
Sama seperti senyawa B-6, pada senyawa B-7 juga terdapat sinyal resonansi doublet dari proton-proton aromatik dengan sistem AB dengan kopling konstan sekitar 8 Hz, maka pada kedua senyawa ini mempunyai dua proton aromatik yang letaknya bersebelahan (orto). Percobaan NOE-diff (Lampiran 38) iradiasi proton aromatik pada pergeseran kimia 6,69 ppm memberikan perubahan pada sinyal proton metoksi pada pergeseran kimia 3,89 ppm. Perbedaan senyawa B-7 dengan senyawa B-6, adalah tidak adanya sinyal proton N-metil pada senyawa B-7. Hasil perbandingan dengan struktur senyawa corydin dan norcorydin dari literatur, maka diduga senyawa B-6 adalah corydin², C₂₀H₂₂O₄N sedangkan senyawa B-7 adalah norcorydin², C₁₉H₂₁O₄N.

Norcorydin adalah alkaloida aporfin yang juga pernah diisolasi dari tanaman . familia Annonaceae: *Annona aquamosa*; *Popowia species*, Menispermaceae: *Stephania dinklagei*, Papaveraceae: *Papaver bractetum*. Sedangkan corydin disebut juga glaucentrin, pernah diisolasi dari tanaman familia Annonaceae: *Annona sp*, Lauraceae: *Cinnamomum sp*, Liliaceae: *Baeaometra sp*, Menispermaceae: *Stephania dinklagei*; *S. venosa*,

Papaveraceae: *Corydalis tuber*, *Dicentra aximia*; *D. formosa*; *D. oregana*;
Glaucium oxolobum; *G. fibrilligenum*; *G. comiculatum*; *G. elegans*,
 Ranunculaceae: *Thalictrum dioicum*.



Struktur senyawa B-6 (Corydin)



Struktur senyawa B-7(Norcorydin)

Tabel 23. Data spektrum ^1H NMR Senyawa B-6

Posisi	δ ^1H (J dalam Hz)
1	
1a	
1b	
2	
3	6,67 s
3a	
4	
5	
7	
7a	
8	7,06 d (7,3)
9	6,87 d (8,3)
10	
11	
11a	
OMe-2	3,90 s
OMe-10	3,88 s
OMe-11	3,72 s
NMe	2,53 s

Tabel 24. Data spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR Senyawa B-7

Posisi	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (J dalam Hz)
1	144,2	
1a	121,4	
1b	125,8	
2	150,6	
3	111,5	6,69 s
3a	125,2	
4	29,7	
5	41,1	
6a	34,5	
7	34,5	
7a	127,2	
8	118,9	7,05 d (8,1)
9	111,4	6,86 d (8,1)
10	152,4	
11	143,5	
11a	122,1	
OMe-2	53,1	3,89 s
OMe-10	56,0	3,87 s
OMe-11	56,1	3,62 s

4.20. Senyawa C-1 dan senyawa C-2

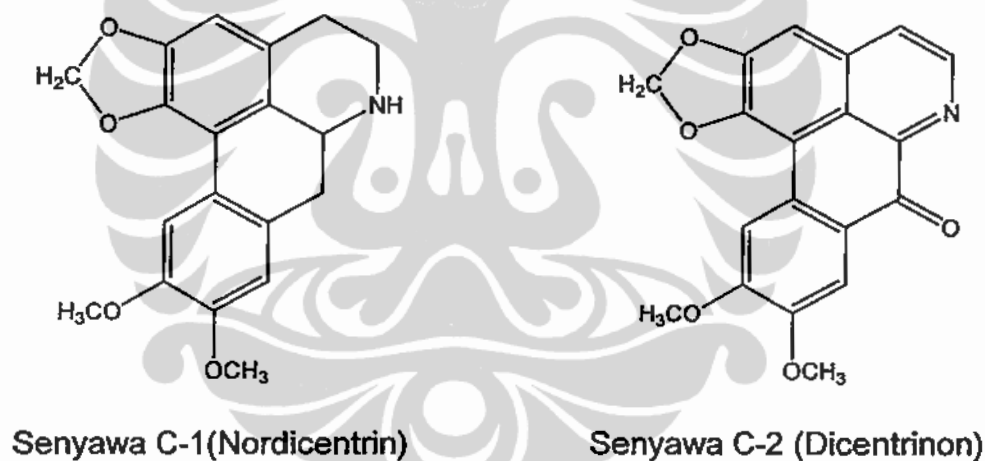
Spektrum ^1H NMR senyawa C-1 (Lampiran 39) memperlihatkan adanya tiga sinyal proton aromatik pada pergeseran kimia 6,59 (1H, s), 6,71 (1H, s) dan 7,94 ppm (1H, s) dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,65 (1H, s) dan 3,86 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya dua gugus metoksi aromatik, di samping itu adanya proton-proton alifatik diperlihatkan pada pergeseran kimia antara 2,62 sampai dengan 3,38 ppm. Adanya resonansi dua proton dari metilen dioksi yang terikat pada C-1 dan C-2 terlihat pada pergeseran kimia 5,94 (1H, d, $J = 1,2$ Hz) dan 5,95 ppm (1H, d, $J = 1,5$ Hz). Hasil analisis dan perbandingan antara spektrum ^1H NMR senyawa C-1 dengan (-)-

nordicentrin dari literatur dapat dilihat pada Tabel 26, dari hasil perbandingan ini maka diduga senyawa C-1 adalah nordicentrin $C_{19}H_{19}O_4N$.

Hasil pengukuran 1H NMR senyawa C-2 (Lampiran 39) memperlihatkan adanya lima sinyal resonansi proton-proton aromatik pada pergeseran kimia 7,13 (1H, s), 7,72 (1H, d, $J = 5,4$ Hz), 7,93 (1H, s), 8,62 (1H, s), dan 8,83 ppm (1H, d, $J = 5,1$ Hz), dan dua sinyal pada pergeseran kimia 3,94 (3H, s) dan 4,03 ppm (3H, s) yang menunjukkan adanya dua gugus metoksi aromatik. Spektrum ini tidak memperlihatkan sinyal dari proton-proton alifatik yang biasanya terlihat pada spektrum aporfin. Pergeseran kimia dari resonansi proton-proton aromatik yang muncul ada pada daerah *downfield* yaitu sekitar 7 ppm menunjukkan ciri dari senyawa oksoaporfin.

Proton-proton senyawa C-2 muncul pada daerah lebih *downfield* dari pada proton aromatik alkaloida aporfin lain dan proton pada posisi C-11 adalah yang paling *downfield*. Adanya dua puncak doublet pada daerah 7,72 dan 8,83 ppm dengan kopling konstan sekitar 5,4 Hz juga merupakan ciri khas dari alkaloida oksoaporfin. Nilai kopling konstan yang kecil ini disebabkan adanya atom nitrogen tetangga. Adanya singlet pada pergeseran kimia 6,08 ppm dari dua proton metilen dioksi, juga merupakan ciri metilen dioksi pada oksoaporfin, ini disebabkan adanya karbonil tetangga pada C-7 yang menyebabkan efek induksi. Biasanya untuk oksoaporfin, metilen dioksi ini terikat pada C-1, C-2 atau C-9, C-10.

Senyawa C-2 mempunyai tiga proton singlet, dua proton doublet, satu metilen dioksi dan dua gugus metoksi, maka dapat diduga senyawa ini adalah dicentrinon, $C_{19}H_{13}O_5N$. Perbandingan antara spektrum 1H NMR senyawa C-2 dengan dicentrinon dari literatur dapat dilihat pada Tabel 25. Alkaloida nordicentrin sebelumnya telah diisolasi ada dalam bentuk (+) nordicentrin dari tanaman genus *Lindera* familia Lauraceae dan (-) nordicentrin dari *Stephania pierrei* Diels familia Menispermaceae. Dicentrinon sebelumnya telah diisolasi dari tanaman familia Hernandiaceae: *Hernandia jamaicensis*, Lauraceae: *Lindera oldhamii*, *Ocotea macropoda*, dan *O.leucoxyton*.



Tabel 25. Data Spektrum ^1H NMR Senyawa C-2 dan Dicentrinon⁸⁴

Posisi	Senyawa C-2	Dicentrinon ⁸⁴
	δ $^1\text{H}^a$ (J dalam Hz)	δ $^1\text{H}^b$ (J dalam Hz)
1		
1a		
1b		
2		
3	7,13 s	6,85 s
3a		
4	7,72 d (5,4)	7,54 d (5,2)
5	8,83 d (5,1)	8,48 d (5,2)
6a		
7		
7a		
8	7,94 s	7,58 s
9		
10		
11	8,62 s	7,59 s
11a		
OMe	3,94 s	3,74 s
OMe	4,03 s	3,81 s
OCH ₂ O	6,08 s	6,14 s

^a dalam CDCl₃, ^b dalam CDCl₃ - CD₃OD

Tabel 26. Data Spektrum ^1H NMR Senyawa C-1 dan Nordicentrin

Posisi	Senyawa C-1	(-) Nordicentrin ⁴¹	(+) Nordicentrin ⁸⁵
	δ $^1\text{H}^a$ (J dalam Hz)	δ $^1\text{H}^a$ (J dalam Hz)	δ $^1\text{H}^b$ (J dalam Hz)
1			
1a			
1b			
2			
3	6,58 s	6,47 s	6,58 s
3a			
4			
5			
6a			
7			
7a			
8	6,71 s	6,69 s	6,96 s
9			
10			
11	7,93 s	7,62 s	7,83 s
11a			
OMe	3,65 s	3,86 s	4,04 s
OMe	3,86 s	3,87 s	4,02 s
OCH ₂ O	5,94 d (1,2)	5,87 d (1,3)	6,07 d (1,3)
	5,95 d (1,5)	6,02 d (1,3)	6,20 d (1,3)

^a dalam CDCl₃ dan ^b dalam (CF₃COOH)

4.21. Uji Bioaktivitas

Pengujian bioaktivitas meliputi uji anti malaria terhadap *Plasmodium falciparum*, uji toksisitas dengan metode BSLT dan uji sitotoksitas terhadap sel murine leukemia P-388.

4.21.1. Uji Antimalaria Ekstrak Alkaloida Terhadap *P. falciparum*

Ekstrak alkaloida total dari kulit batang *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa* diuji untuk mengetahui aktivitas hambatannya terhadap pertumbuhan parasit malaria *P. falciparum* FCR3 (*for chloroquine resistance*), sertifikat dari plasmodium 3D7 (*chloroquine sensitive*) dapat dilihat pada Lampiran 40. Perbandingan yang digunakan adalah artemisinin dan chloroquine. Hasil pengujian tersaji dalam Tabel 27.

Tabel 27. Hasil pengujian penghambatan ekstrak *A. sphaerocarpa* dan *A. pruinosa* terhadap pertumbuhan *P. falciparum* FCR3.

Dosis (mg/mL)	Laju pertumbuhan (%)	IC ₅₀
Ekstrak <i>A. sphaerocarpa</i>	100	2,5 x 10 ⁻⁶ µg/mL
10 ⁻¹⁰	89,189	
10 ⁻⁹	37,838	
10 ⁻⁸	37,838	
10 ⁻⁷	18,919	
10 ⁻⁶	24,324	
10 ⁻⁵	4,545	
Ekstrak <i>A. pruinosa</i>	100	Tidak dapat dihitung
10 ⁻¹⁰	91,892	
10 ⁻⁹	89,189	
10 ⁻⁸	89,189	
10 ⁻⁷	81,081	
10 ⁻⁶	72,972	
10 ⁻⁵	54,054	
Chloroquine (<i>P. falciparum</i> 3D7)		3 x 10 ⁻⁹ M
Artemisinin (<i>P. falciparum</i> FCR3)		1 x 10 ⁻⁸ M

Data pengaruh konsentrasi pada laju pertumbuhan (*growth rate*) parasit pada Tabel 27 dianalisis dengan program komputer Sigma-plot 2000. Hasil analisis

data diperoleh IC_{50} untuk ekstrak *A. sphaerocarpa* adalah $2,5 \times 10^{-9}$ mg/mL yang setara dengan $2,5 \times 10^{-6}$ μ g/mL, sedangkan untuk *A. pruinosa* tidak dapat dihitung karena tidak terlihat ada pengaruhnya terhadap pertumbuhan parasit. IC_{50} adalah nilai yang dinyatakan untuk senyawa yang menghasilkan 50% penghambatan pertumbuhan relatif terhadap kontrol. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak *A. sphaerocarpa* dan *A. pruinosa* dengan laju pertumbuhan plasmodium dapat dilihat pada Lampiran 42.

4.21.2 Uji Toksisitas Ekstrak Alkaloida Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach (BSLT)

Ekstrak alkaloida total dari kulit batang *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa* diuji untuk mengetahui toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Toksisitas ditentukan dengan melihat nilai LC_{50} yang dihitung berdasarkan analisis probit. Hasil pengujian toksisitas disajikan pada Tabel 28.

Tabel 28. Hasil uji toksisitas ekstrak *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa* terhadap larva *Artemia salina*.

Bahan uji	Konsentrasi (ppm)	Mortalitas (%)	LC_{50}
Ekstrak <i>A. pruinosa</i>	50	0,00	106,46
	100	60,61	
	200	94,00	
	400	100,00	
Ekstrak <i>A. sphaerocarpa</i>	50	0,00	126,65
	100	32,35	
	200	90,24	
	400	100,00	

Hasil pengujian memperlihatkan bahwa kedua ekstrak memiliki toksisitas yang aktif, karena ekstrak dikatakan aktif jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

4.21.3. Uji Sitoksisitas Ekstrak Alkaloida Terhadap Sel Murine Leukemia

P-388

Pengujian sitotoksisitas terhadap sel murine leukemia P-388 dilakukan pada ekstrak alkaloida total *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa alkaloida total *A. pruinosa* memberikan nilai dengan IC_{50} 5,1 $\mu\text{g/mL}$ dan 34,2 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak *A. sphaerocarpa*. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 29.

4.21.4. Uji Sitoksisitas Senyawa A-1, A-3, A-4, Lindcarpin dan A-10 Terhadap Sel Murine Leukemia P-388

Selanjutnya percobaan dilanjutkan pada senyawa baru pruinosa A, B, C, D, dan lindcarpin, serta satu senyawa BBIK (A-10) yang diisolasi dari kulit batang *A. pruinosa*. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 29.

Tabel 29. Hasil uji sitotoksisitas ekstrak *A. pruinosa*, *A. sphaerocarpa* dan senyawa A-1, A-2, A-3, A-4, lindcarpin, serta A-10 terhadap sel murine P-388

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Optical Density							
	A	B	C	D	E	F	G	H
100	0,002	0,046	0,005	0,019	0,0450	0,032	,038	0,001
30	-0,002	0,067	0,020	0,044	0,056	0,095	-0,068	0,037
10	0,009	0,083	0,022	0,097	0,079	0,125	0,883	0,047
3	0,149	0,110	0,031	0,105	0,107	0,157	1,027	0,073
1	0,177	0,147	0,105	0,100	0,096	0,166	1,030	0,151
0,3	0,162	0,163	0,073	0,102	0,098	0,247	1,102	0,147
0	0,183	0,148	0,076	0,217	0,203	0,156	1,126	0,140
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	5,1	34,2	3,9	24,0	38,0	52,0	16,0	10,0

Keterangan: A = ekstrak *A. pruinosa*, B = ekstrak *A. sphaerocarpa*, C = senyawa A-1 (pruinosa A), D = senyawa A-2 (pruinosa B), E = senyawa A-3 (pruinosa C) F = senyawa A-4 (pruinosa D), G = lindcarpin H = senyawa A-10.

Derajat sitotoksisitas suatu zat uji terhadap sel murine leukemia P-388 adalah sangat sitotoksik jika $IC_{50} < 2 \mu\text{g/mL}$, aktif jika nilai IC_{50} 2-4 $\mu\text{g/mL}$ untuk

senyawa murni, dan $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak. Kontrol positif digunakan Artonin E dengan $IC_{50} 0,4 \mu\text{g/ml}$.

Hasil uji bioaktivitas memperlihatkan bahwa ekstrak alkaloida total *A. sphaerocarpa* aktif terhadap parasit malaria *P. falciparum* dengan $IC_{50} 2,5 \times 10^{-6}$ ppm. Hal ini disebabkan ekstrak ini mengandung norcorydin yang diketahui aktif terhadap *P. falciparum*⁷⁵. Sementara itu ekstrak *A. pruinosa* tidak memperlihatkan pengaruhnya terhadap pertumbuhan *P. falciparum*, padahal dari ekstrak ini berhasil diisolasi empat senyawa bisbenzilisokuinolin (BBIK). Hasil penelusuran pustaka dehatrin⁸³ (BBIK yang mengandung dua jembatan diaril eter) dan (+)-costaricin⁷⁸ (BBIK yang mengandung satu jembatan diaril eter) mempunyai aktivitas antiplasmodium. Tidak aktifnya ekstrak *A. pruinosa* kemungkinan disebabkan senyawa yang terkandung di dalamnya tidak aktif secara *in vitro*, sehingga perlu dilakukan uji secara *in vivo* menggunakan hewan tikus yang diinfeksi dengan *P. berghei*. Dengan cara ini dapat diketahui apakah senyawa dapat diubah oleh enzim-enzim pencernaan menjadi metabolit yang aktif.

Ekstrak alkaloida *A. pruinosa* aktif terhadap sel murine P-388 ($IC_{50} = 5,1 \mu\text{g/mL}$) selanjutnya empat senyawa baru dan salah satu senyawa bisbenzilisokuinolin hasil isolasi dari ekstrak ini diuji aktivitasnya.

Menurut ketentuan dari Alley (1988), senyawa baru turunan lindcarpin yaitu pruinosa A, (+)-(R)-N-(2-hidroksipropil)-lindcarpin, aktif dengan $IC_{50} = 3,9 \mu\text{g/mL}$, sedangkan isomernya pruinosa B yaitu (+)-(S)-N-(2-hidroksipropil)-lindcarpin tidak aktif dengan $IC_{50} 24,0 \mu\text{g/mL}$ demikian pula

dengan lindcarpin tidak aktif dengan IC_{50} 16,0 $\mu\text{g/mL}$. Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan penambahan gugus 2-hidroksipropil pada lindcarpin (pruinosa A) meningkatkan aktifitasnya terhadap sel murine P-388, tetapi sebaliknya perbedaan konfigurasi dari 2-hidroksipropil (pada pruinosa B) akan menurunkan aktifitas. Struktur pruinosa A memiliki bagian lindcarpin (aporfina) yang bersifat agak planar⁴⁷ dan 2-hidroksipropil yang bersifat kiral. Bagian lindcarpin mungkin dapat menyisip (interkalasi) ke dalam DNA sel murine sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel⁶⁶, hambatan tersebut ditingkatkan dengan adanya interaksi antara 2-hidroksipropil dengan suatu enzim tertentu dari sel dengan konfigurasi yang cocok. Untuk mengetahui kerja dari senyawa ini perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan melihat daya hambatnya pada enzim-enzim tertentu seperti DNA topoisomerase. Adanya perbedaan struktur menyebabkan senyawa A-3 dan A-4 (*R* dan *S*-*N*-2-hidroksipropil-lauroilsin) serta A-10 yaitu (-)-*O*,*O'*-dimetil-grisabin tidak aktif dengan nilai IC_{50} berturut-turut 38,0, 52,0, dan 10 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil pengujian toksisitas dengan metode BSLT dari ekstrak kulit batang *A. sphaerocarpa* dan *A. pruinosa* menunjukkan kedua ekstrak tersebut bersifat toksik dengan nilai LC_{50} berturut-turut 126,7 dan 106,5 $\mu\text{g/mL}$. Umumnya hasil BSLT menunjukkan adanya korelasi dengan bioaktivitas lain seperti antikanker atau antimikroba. Dengan demikian kedua ekstrak tersebut diharapkan mempunyai aktivitas sebagai antikanker ataupun bioaktivitas lainnya, hal ini telah dibuktikan bahwa ekstrak *A. sphaerocarpa*

aktif terhadap *P. falciparum* sedangkan ekstrak *A. pruinosa* aktif terhadap sel leukemia murine P-388.

Ekstrak dari daun *C. ferrea* tidak diuji bioaktivitasnya, walaupun begitu kedua alkaloida yang terkandung di dalamnya yaitu dicentrinon sudah diketahui mempunyai aktivitas apoptosis sel kanker nasofaring dan bersifat menghambat DNA Topoisomerase II¹³, dan nordicentrin dilaporkan mempunyai ED₅₀ 0,6 µg/mL pada sel murine P-388⁴¹.



KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Alkaloida yang berhasil diisolasi dari kulit batang *A. pruinosa* Nees adalah dua senyawa baru turunan lindcarpin yaitu: pruinosa A, (+)-(R)-N-(2-hidroksipropil)-lindcarpin, dan pruinosa B, (+)-(S)-N-(2-hidroksipropil)-lindcarpin, dua senyawa baru turunan laurolicin yaitu pruinosa C, (+)-(R)-N-(2-hidroksipropil)-laurolicin, dan pruinosa D, (+)-(S)-N-(2-hidroksipropil)-laurolicin, serta satu bisbenzilisokuinolin (-)-N'-desmetil-grisabin, bersama dengan tujuh alkaloida yang sudah dikenal yaitu lindcarpin, N-metillindcarpin, laurolicin, boldin, (-)-O,O-dimetil-grisabin, (-)-dauricin, dan (+)-thaligrisin.

Alkaloida yang berhasil diisolasi dari kulit batang *A. sphaerocarpa* (Bl) Nees adalah laurotetanin, N-metillaurotetanin, isoboldin, actinodaphnin, N-metilactinodaphnin, corydin, dan norcorydin. Alkaloida yang berhasil diisolasi dari daun *C. ferrea* Bl adalah nordicentrin dan dicentrinon.

Aktivitas terhadap parasit malaria *P. falciparum* dijumpai pada ekstrak alkaloida kulit batang *A. sphaerocarpa* dengan nilai IC_{50} $2,5 \times 10^{-6}$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan ekstrak alkaloida *A. pruinosa* tidak mempengaruhi pertumbuhan *P. falciparum*.

Ekstrak alkaloida dari kulit batang *A. pruinosa* dan *A. sphaerocarpa* aktif terhadap larva udang *Artemia salina* dengan nilai LC_{50} berturut-turut 106,5 dan 126,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Ekstrak alkaloida kulit batang *A. pruinosa* aktif terhadap sel murine leukemia P-388 dengan IC_{50} 5,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan ekstrak alkaloida total kulit batang *A. sphaerocarpa* tidak aktif dengan IC_{50} 34,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Senyawa hasil isolasi dari *A. pruinosa* yaitu pruinosa A aktif terhadap sel murine leukemia P-388 dengan IC_{50} 3,9 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan pruinosa B, C, D, lindcarpin dan (-)-O,O-dimetil-grisabin tidak aktif dengan IC_{50} berturut-turut 24,0, 38,0, 52,0, 16,0, dan 10,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

5.2. Saran

- Perlu dilakukan uji bioaktivitas lainnya pada senyawa-senyawa hasil isolasi.
- Perlu dilakukan isolasi senyawa lainnya dari fraksi nonpolar dan fraksi metanol dari ketiga simplisia dalam penelitian ini.
- Perlu dilakukan isolasi alkaloida dan senyawa lain dari tumbuhan familia Lauraceae yang ada di Indonesia.
- Perlu dilakukan usaha pengkoleksian (herbarium) tumbuhan-tumbuhan yang mengandung alkaloida yang ada di seluruh Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lawrence, H.M. George, (cetakan ke tiga 1963). *Taxonomy of Vascular Plants*. The Macmillan Company, New York: 512-513.
2. Guinaudeau, H., M. Leboeuf, A. Cave (1975). Aporphine Alkaloids. *Lloydia* 38 (4): 275-338.
3. Guinaudeau, H.; M. Leboeuf; A. Cave (1979). Aporphine Alkaloids II. *J. Nat. Prod.* 42 (4): 325-357.
4. Sosef, M.S.M., L.T. Hong, S. Prawirohatmodjo (editors) (1998). *Plant Resources of South-East Asia, Timber trees: Lesser-known timbers*. Prosea; Bogor Indonesia 5 (3) : 45-47.
5. Kim, M. R., H. J. Jung, B. S. Min, S. R. Oh, C.S. Kim, K.S. Ahn, W.S. Kang, H. K. Lee (2002). Constituents from the stems of *Actinodaphne lancifolia*. *Phytochemistry* 59 : 861-865.
6. Burkill, I.H., W. Birtwistle, F.W. Foxworthy, J.B. Scrivenor, J.G. Watson (1935): *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. Governments of The Straits Settlements and Federated Malay States 1 : 42-43.
7. Uprety, H., D.S. Bhakuni, M.M. Dhar (1972). Aporphine Alkaloids of *Litsea Sebifera*, *L. Wightiana* and *Actinodaphne Obovata*. *Phytochemistry* 11 : 3057-3059.
8. Din, Laily B., A. Hamid A. Hadi, A. Latiff (1994). Isolation of dicentrine from *Actinodaphne sesquipedalis* (Lauraceae). *ACGC Chemical Research Communications* 2 : 5-6.

9. Bandara, B. M. R., D. Cortes, U. L. B. Jayasinghe, V. Karunaratne, S. Sotheeswaran, G.P. Wannigama (1989). Aporphine alkaloids from *Litsea gardneri* and *Actinodaphne speciosa*. *Planta Medica* 55 (4): 393.
10. Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Diterjemahkan oleh: Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Jilid II: 812-814.
11. Ng, F.S.P. (1989). *Tree Flora of Malaya; A Manual for Foresters*. Longman Malaysia 4 : 102-109.
12. Usman, H., M.N. Jalaluddin, T. Halim, E.H. Hakim, S.A. Achmad, Y.M. Syah, J. Latip, I.K. Said (2006). Senyawa Kalkon Baru Bersifat Anti-Bakteri Dari Tumbuhan *Cryptocarya costata* (Lauraceae)/New Chalcone Compound having Anti-Bactery Property from *Cryptocarya costata* (Lauraceae). *Berkala MIPA* 16 (1) : 37-40.
13. Pudjiastuti, P. (2006). Konstituen Tumbuhan Tingkat rendah *Plaglochila sandel Dozy* dan Tumbuhan Tingkat tinggi *Beilschmielia brevipes*, *B.glauca* Lee dan *Cryptocarya kurzii* (f) serta Uji Sitotoksik dan Apoptosis Sel Alkaloid Aporfin dan Oxoaporfin pada sel KB. *Disertasi Doctor, Program Studi Kimia, Pascasarjana, FMIPA Universitas Indonesia*.
14. Fu, X., T. Sevenet, F. Remy, M. Pais, A. Hamid A. Hadi, L.M. Zeng (1993). Flavanone and Chalcone Derivatives from *Cryptocarya kurzii*. *J. Nat. Prod.* 56 (7): 1153-1163.

15. Fu, X., T. Sevenet, A. Hamid A.Hadi, F. Remy, M. Pais (1993). Kurzilactone from *Cryptocarya kurzii*. *Phytochemistry* 33 (5) : 1272-1274.
16. Dumontet, V., C. Gaspard, N.V. Hung, J. Fahy, L. Tchertanov, T. Sevenet, F. Gueritte (2001). New Cytotoxic Flavonoids from *Cryptocarya infectoria*. *Tetrahedron* 57 :6189-6196.
17. Achmad, S.A., E.H. Hakim, L. Makmur, E. Azminah, E. L. Ghisalberti, A.H. White (1992). Structural Studies of two Bioactive Furanosesquiterpenes from *Cryptocarya densiflora* (Lauraceae). *Aust. J. Chem.* 45 (2) : 445-450.
18. Achmad, S.A., E.H. Hakim, L.D. Juliawaty, L. Makmur, Y.M. Syah (1994). Chemical Studies of Indonesian Rain Forest Plant : Triterpenoid from *Cryptocarya crassinervia* and *Litsea elliptica*. *Asahi Garasu Zaidan Josei Kenkyu Seika Hokoku*, 691-695.
19. Collett, L.A., M.T. Davies-Colemana, D.E.A. Rivett, S.E. Drewes, M.M. Horn (1996). Absolute Configuration of α -Pyrone from *Cryptocarya latifolia* and *Syncolostemon densiflorus*. *Phytochemistry* 44 (5) : 935-938.
20. Cavalheiro, A.J., M. Yoshida (2000). 6-[ω -arylalkenyl]-5,6-dihydro- α -pyrones from *Cryptocarya moschatta* (Lauraceae). *Phytochemistry* 53 : 811-819.

21. Juliawaty, L.D., M. Kitajima, H. Takayama, S. A. Achmad, N. Aimi (2000). A 6- substituted-5, 6-dihydro-2-pyrone from *Cryptocarya strictifolia*. *Phytochemistry* 54 : 989-993.
22. Juliawaty, L.D., Y. Watanabe, M. Kitajima, S. A. Achmad., H. Takayama, N. Aimi (2002). First total synthesis and determination of the absolute configuration of strictifolione, a new 6-(ω -phenylalkenyl)-5, 6-dihydro- α -pyrone, isolated from *Cryptocarya strictifolia*. *Tetrahedron Letters* 43 : 8657-8660.
23. Chang, W.T., S.S. Lee, F.S. Chueh, K.C.S. Liu (1998). Formation of Pavine Alkaloids by Callus Culture of *Cryptocarya chinensis*. *Phytochemistry* 48 (1) : 119-124.
24. Bick, I.R.C., T. Sevenet, W. Sinchai, B. W. Skelton, A.H. White (1981). Alkaloids of *Cryptocarya longifolia* : X-ray Crystal Structure of Thalifoline and Longifolonine. *Aust. J. Chem.* 34 : 195-200.
25. Borthakur, N., P.K. Mahanta, R.C. Rastogi (1980). Alkaloids and Olefinic Acids from *Cryptocarya amygdalina*. *Phytochemistry* 20 : 501-504.
26. Saidi, N., (2007). Chemical Constituents of *Cryptocarya* Species (Lauraceae). PhD Thesis, University of Malaya, Malaysia.
27. Harborne, J.B.(1973). *Phytochemical Methods, A Guide to Modern Technique of Plant Analysis*. Chapman and Hall, London: 166-204.
28. Corner, E.J.H. (1988). *Wayside Trees of Malaya* edisi 3 (1) : 371-381.

29. Keng, H. (1978). *Malayan Seed Plants: Synopsis of Orders and Families of Malayan Gymnosperms, Dicotyledons and Monocotyledons*. Singapore University Press. 34-35.
30. Backer, C.A., R.C. Bakhuizen Van Den Brink (1963). *Flora of Java (Spermatophytes only)*. NV.P. Noordhoff-Groningen-Netherlands 1 : 124-125.
31. Wikipedia, *Lauraceae*, The Free Encyclopedia, *Wikipedia Foundation Inc. USA*.
32. Kostermann, A.J.G.H. (1957). *Lauraceae. Reinwardtia* 4 : 234-235.
33. Tanaka, H., T. Nakamura, K. Ichino, K. Ito (1989). Two Lactonic Compound, Lancifolide and isolancifolide, from *Actinodaphne lancifolia*. *Phytochemistry* 28 (2) : 626-628.
34. Tanaka, H., T. Nakamura, K. Ichino, K. Ito (1989). Secoisolancifolide and secoisobtusilactone in *Actinodaphne longifolia*. *Phytochemistry* 28 : 1905-1907.
35. Bhakuni, D.S., N.C. Gupta, S. Satish, S.C. Sharma, Y.N. Shukla, J.S. Tandon (1971). Chemical Constituents of *Actinodaphne augustifolia*, *Croton spasiiflorus*, *Duabanga sonneratiodes*, *Glycosmis mauritiana*, *Hedyotis auricularia*, *Lyonia ovalifolia*, *Micromelum pubescens*, *Pyrus pashia* and *Rhododendron niveum*. *Phytochemistry* 10 : 2247-2249.
36. Yu, Jiangping, Xin. Zhou, Lianguan. Gu (2001). Analysis of Chemical constituents of essential oil from leaves of *Actinodaphne cupularis* (Hembls.) Gamble. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 13 (3): 26-29.

37. Sreenivas, A., P.S. Sastry (1994). Synthesis of trilaurin by developing pisa seeds (*Actinodaphne hookeri*). *Archives of Biochemistry and Biophysics* 311(2): 229-34.
38. Johns, S.R., J. A. Lambertson, A. A. Sioumis (1969). Alkaloids of *Actinodaphne nitida* (Lauraceae). *Aust. J. Chem.* 22: 2257.
39. Backhouse, N., C. Delporte, M. Givernau, B.K. Cassels, A. Valenzuela, H. Speisky (1994). Anti-inflammatory and antipyretic effects of boldine. *Agents Actions* 42 : 114-117.
40. Lu, S.T., S. J. Wang, F. S. Lin (1969). Studies on the alkaloids of Formosan lauraceous plants. XIV. Alkaloids of *Actinodaphne acutivena* and *Litsea haytae*. *J. Pharm. Soc. Jap.* 89:1313.
41. Likhitwitayawuid, K., C.K. Angerhofer, H. Chai, J.M. Pezzuro, G.A. Cordell, N. Ruangrunsi (1993). Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Tubers of *Stephania pierrei*. *J. Nat. Prod.* 56 (9) : 1468-1478.
42. Ogata, Y., (1986). Medicinal Herb Index in Indonesia, PT Essai, Jakarta.
43. Lee, S.S., C.H. Chen, Y.C. Liu (1993). Additional Alkaloids from *Cryptocarya chinensis*. *J. Nat. Prod.* 56 (2) : 227-232.
44. Lin, F.W., P.L. Wu, T.S. Wu (2001). Alkaloids from the Leaves of *Cryptocarya chinensis* HEMSL. *Chem. Pharm. Bull.* 49 (10) 1292-1294.

45. Lee, S.S., Y.J. Lin, C.K. Chen, K.C.S. Liu, C.H. Chen (1993).
Quaternary Alkaloids from *Litsea cubeba* and *Cryptocarya konishii*. *J. Nat. Prod.* 56 (11): 1971-1976.
46. Trease, G. E. and W. C. Evans (1983). *Pharmacognosy*. Edisi ke duabelas, Bailere Tindall, London, 537-538..
47. Cordell, G. A. (1981), *Introduction to Alkaloids A Biogenetic Approach*. John Willey & Son, Inc : 1-24, 388-408.
48. Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. (terjemahan: Kosasih Padmawinata). Penerbit ITB Edisi Keenam : 281-286.
49. Shama, M., and J. L. Moniot (1978). *Isoquinoline Alkaloids Research*. Plenum Press-Nem York and London: 1-394.
50. Manitto, P., (1981), *Biosynthesis of Natural Products*. Ellis Horwood Limited: 9-13.
51. Guinaudeau, H., A.J. Freyer, M. Shama (1986). Spectral Characteristics of the Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. *Natural Product Report* : 476-488.
52. Guha, K. P., B. Mukherjee, R. Mukherjee (1979). Bisbenzylisoquinoline Alkaloids – A Review. *J. Nat. Prod.* 42 (1) : 1-84
53. Schiff Jr, Paul. L. (1983). Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. *J. Nat. Prod.* 46 (1): 1-43.
54. Schiff Jr, Paul. L. (1987). Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. *J. Nat. Prod.* 50 (4): 529-599.

55. Schiff Jr, Paul. L. (1991). Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. *J. Nat. Prod.* 54 (3): 645-749.
56. Sun, S-W., C-H. Kuo, S-S. Lee, C-K. Chen (2000). Determination of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Chromatography A* (891): 189-194.
57. Sun, S-W., C-H. Kuo, S-S. Lee, C-K. Chen (1998). Determination of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A* (799): 337-342.
58. Sedmera, P., N. T. Nghia, I. Valka, A. Cave, D. Cores, V. Simanek (1990). A New Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from *Phaeanthus vietnamensis* and Its Antibacterial Activity. *Heterocycles* 30 (1) : 205-209.
59. Bohlke, M., H. Guinaudeau, C.K. Angerhofer, V. Wongpanich, D.D. Soejarto, N.R. Farnsworth, G.A. Mora, L.J. Poveda (1996). Costaricine, a New Antiplasmodial Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from *Nectandra salicifolia* Trunk Bark. *J. Nat. Prod.* 59 (6) : 576-579.
60. Suau, R., R. Rico, J.M. Lopez-Romero, F. Najera, A. Cuevas (1998). Isoquinoline Alkaloids from *Berberis vulgaris* Subsp. *Australis*. *Phytochemistry* 49 (8) : 2545-2549.
61. Frappier, F., A. Jossang, J. Soudon, F. Calvo, P. Rasoanaivo, S. R- Urverg, J. saez, J. Schrevel, and P. Grellier (1996). Bisbenzylisoquinolines as Modulator of Chloroquine Resistance in

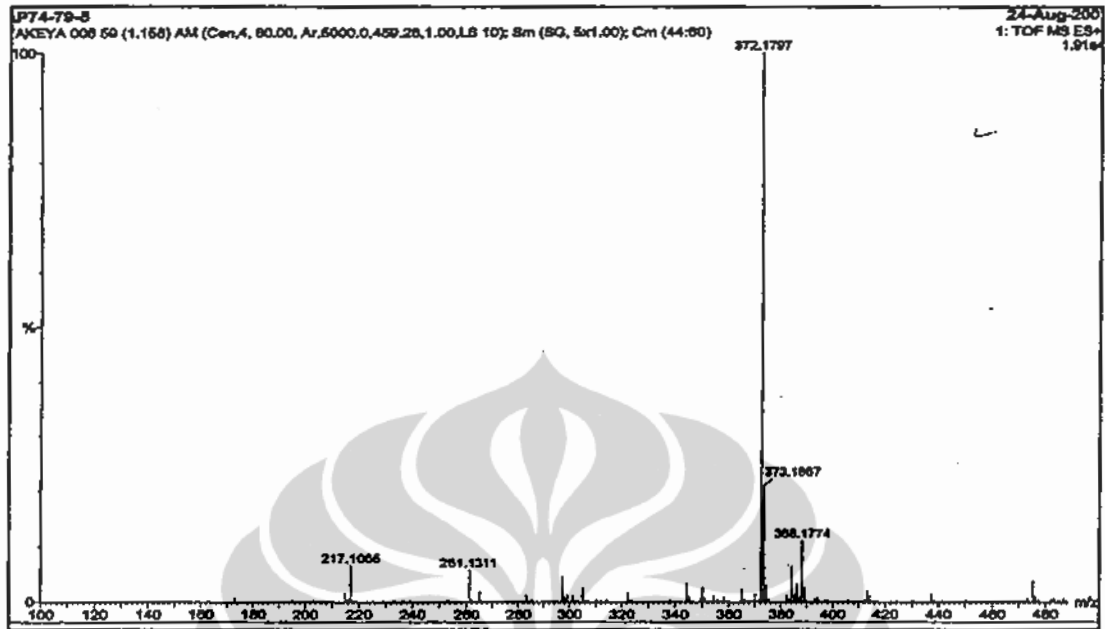
- Plasmodium falciparum and Multidrug Resistance in Tumor Cells. *Antimicrobial, Agents and Chemotherapy* 40 (6): 1476-1481.
62. Otshudi, A.L., S. Apers, L. Pieters, M. Claeys, C. Pannecoque, E. De Clercq, A. van Zeebroeck, S. Lauwers, M. Frederich, A. Forrich, A. Foriers (2005). Biologically active bisbenzylisoquinoline alkaloids from the root bark of *Epinetrum villosum*. *Journal of Ethnopharmacology* 102 : 89-94.
63. Ganiswara, S.G (1995). *Farmakologi dan terapi* edisi 4, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran-Universitas Indonesia, Jakarta: 545-557, 702-713.
64. Dalimartha, S. (1999). *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan*. Penebar Swadaya: 2-5.
65. Robin dan Kumar, Alih Bahasa: Staf pengajar Lab. PA. FK Unair, *Patologi I*, edisi 4, Airlangga University Press, 207-227.
66. Patrics, G. (2001). *Medicinal Chemistry*, BIOS Scientific Publisher Limited, UK: 34-39.
67. Colegate, S. M., R.J. Molyneux (1993). *Bioactive Natural Products, Detection, Isolation, and Structural Determination*. CRC Press Boca Raton-Ann Arbor-London- Tokyo: 15-25, 442-446.
68. Harmita, M. Radji (2005). *Analisis Hayati*. Edisi kedua, Departemen Farmasi FMIPA –Universitas Indonesia Kampus Depok : 86-88.
69. Linn, T.Z., S. Awale, Y. Tezuka, A.H. Banskota, S. K. Kalauni, F. Attamimi, J. Ueda, P.B. Setia Asih, D. Syafruddin, K. Tanaka, S.

- Kadota (2005). Cassane- and Norcassane-Type Diterpenes from *Caesalpinia crista* of Indonesia and their Antimalarial Activity against the Growth of *Plasmodium falciparum*. *J. Nat. Prod.* 68 (5) : 706-710.
70. Alley, M.C., D.A. Scudiero, A.M. Monks, M.L. Hursey, M.J. Czerwinski, D.L. Fine, B.J. Abbott, J.G. Mayo, R.H. Shoemaker. (1988). Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay. *Cancer Research* 48: 589-601.
71. Nurdiansyah, H. (2004). Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Rosc) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. Skripsi, Jurusan Farmasi, FMIPA ISTN, Jakarta: 40-43.
72. Yanagida, A. J. (1983). Contribution a l' etude chimique des annonacees: Alcaloides de *Enantia polycarpa* engl.& diels, *Polyalthia nitidissima* benth. Tesis doctoral, Universite Paris-Sud.
73. Wagner, H., L.Z. Lin, O. Seligmann (1984). Alkaloids from *Thalictrum faberi*. *Planta Medica* : 14-16.
74. Wu, W.N., M.D. Moyer (2004). API-ionspray MS and MS/MS study on the Structural Characterization of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 34 (1) : 53-66.
75. Wright, C.W., S.J. Marshall, P.T. Russell, M.M. Anderson, J.D. Phillipson, G.C. Kirby, D.C. Warhurst, P.L. Schiff, Jr. (2000). In Vitro Antiplasmodial, Antiamoebic, and Cytotoxic Activities of Some Monomeric Isoquinoline Alkaloids. *J. Nat. Prod.* 63 (12) : 1638-1640.

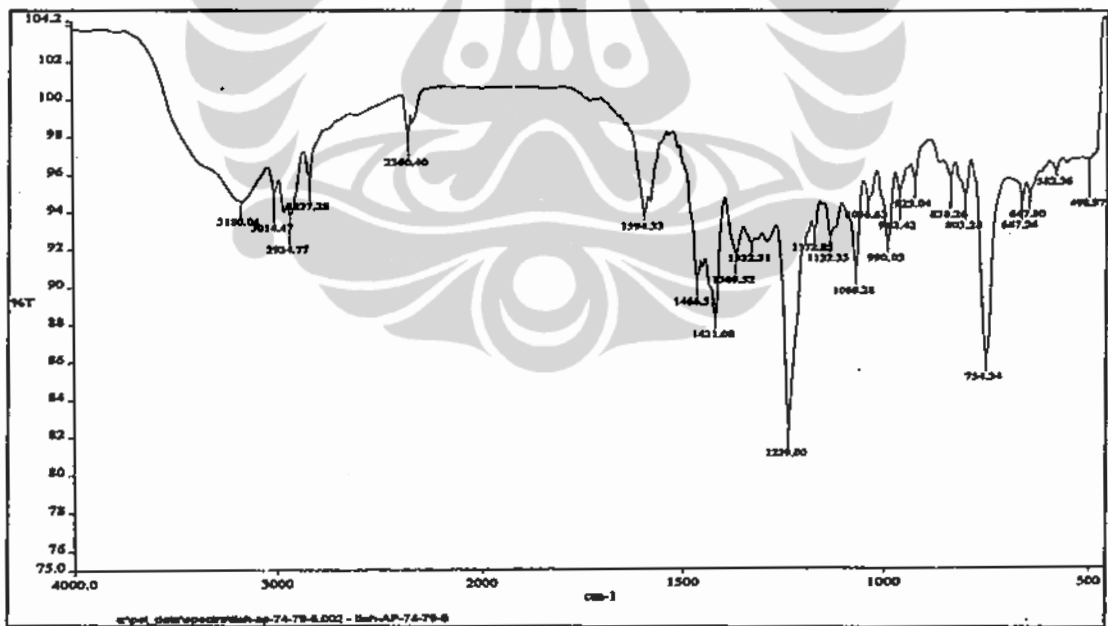
76. Verpoorte, R., J. Schripsema (1994). Isolation, Identification, and structure elucidation of Alkaloids, A General Overview. *Alkaloids, Modern Methods of Plant Analysis* 15 : 1-21.
77. Granell, S., I. Andreu, D. Marti, A. Cave, R. Aragon E. Estornell, D. Cortes, M.C. Zafra-Polo (2004). Bisbenzyltetrahydroisoquinolines, a New Class of Inhibitors of the Mitochondrial Respiratory Chain Complex I. *Letter of Planta Medica* 70 : 266-268.
78. Bohlke, M., H. Guinaudeau, C.K. Angerhofer, V. Wongpanich, D.D. Soejarto, N.R. Farnsworth, G.A. Mora, L.J. Poveda (1996). Costaricine, a New Antiplasmodial Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from *Nectandra salicifolia* Trunk Bark. *J. Nat. Prod.* 59 (6) : 576-579.
79. Chang, F.R., Y.C. Wu (2005). New Bisbenzylisoquinolines, Fatty Acid Amidic Aporphines, and a Protoberberine from Formosan *Cocculus orbiculatus*. *J. Nat. Prod.* 68 (7) : 576-579.
80. Cortes, D., B. Figadere, J. Saez, P. Protais (1992). Displacement Activity of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids at Striatal ³H-SCH 23390 and ³H-Raclopride Binding Sites. *J. Nat. Prod.* 55 (9) : 1281-1286.
81. Jones, Jr, B.S., A.E. Luchsinger (1986). *Plant Systematics*. McGraw-Hill Book Company: 141-147.
82. Saidi, M., K.M. Semnani (2001). Isolation and Identification Alkaloids from Sorkhe hesar (*Glaucium grandiflorum*). *Archief of SID. Mazandaran University-Iran* 30(11): 31-37.

83. Kitagawa, I., K. Minagawa., R. Zhang., K. Hori., M. Doi., M. Inoue., T. Ishida., M. Kimura., T. Uji., and H. Shibuya (1993). Dehatrine an Antimalarial Bisbenzylisoquinoline alkaloid from the Indonesian Medicinal Plant *Bellscheidia Madang*, Isolated as a Mixture of Rotational Isomers. *Chem. Pharm. Bull.* 41(5): 997-999.
84. Zhou, Bing-Nan., R.K. Johnson., M.R. Mattern., X. Wang., S.M. Hecht., H.T. Beck., A. Ortiz., and D.G.I. Kingston (2000). Isolation and Biochemical Characterization of New Topoisomerase I Inhibitor from *Ocotea leucoxyton*. *J. Nat. Prod.* 63: 217-221.
85. Guinaudeau, H., M. Lebeuf., A. Cavé (1994). Aporphinoid Alkaloids V. *J. Nat. Prod.* 57(8): 1033-1135.
86. Tan, Drs., Drs. K. Rahardja (1978). Obat-obat Penting, Khasiat dan Penggunaannya. Edisi ke tiga. 119-128.
87. Fattorusso, E., O.T-Scafati (2008). *Modern Alkaloids. Structure, Isolation, Synthesis and Biology.* Wiley-VCH: 3-23.
88. Stévigny, C., C. Bailly., J.Q-Leclercq (2005). Cytotoxic and Antitumor Potentialities of Aporphinoid Alkaloids. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents.* 5: 173-182.

LAMPIRAN 1

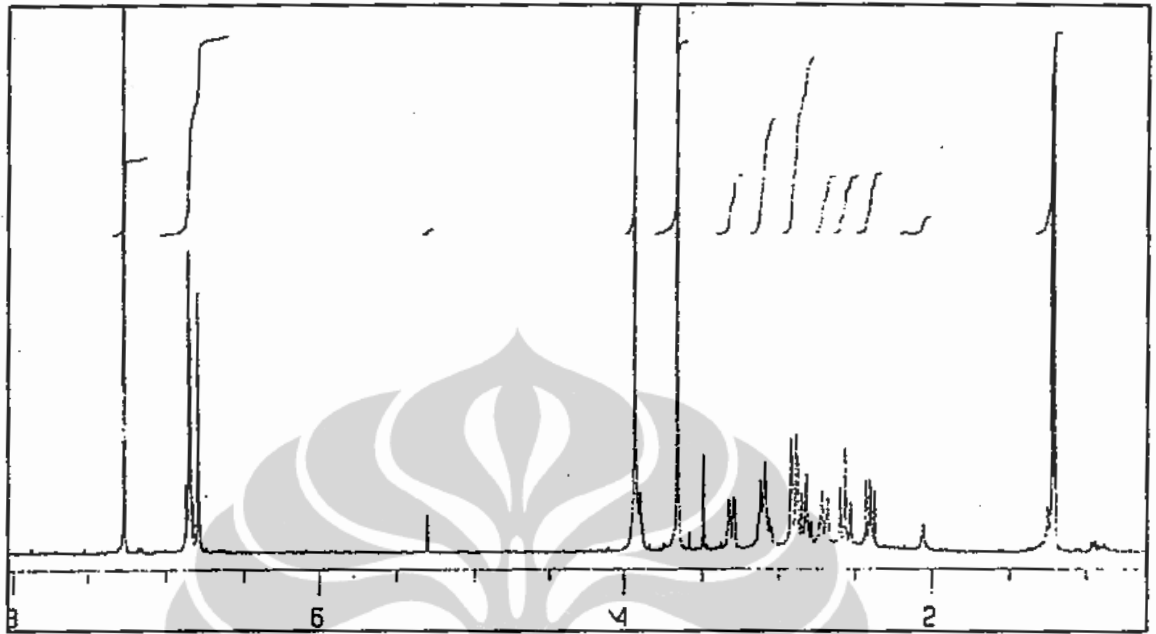


Spektrum HRESIMS senyawa A-1

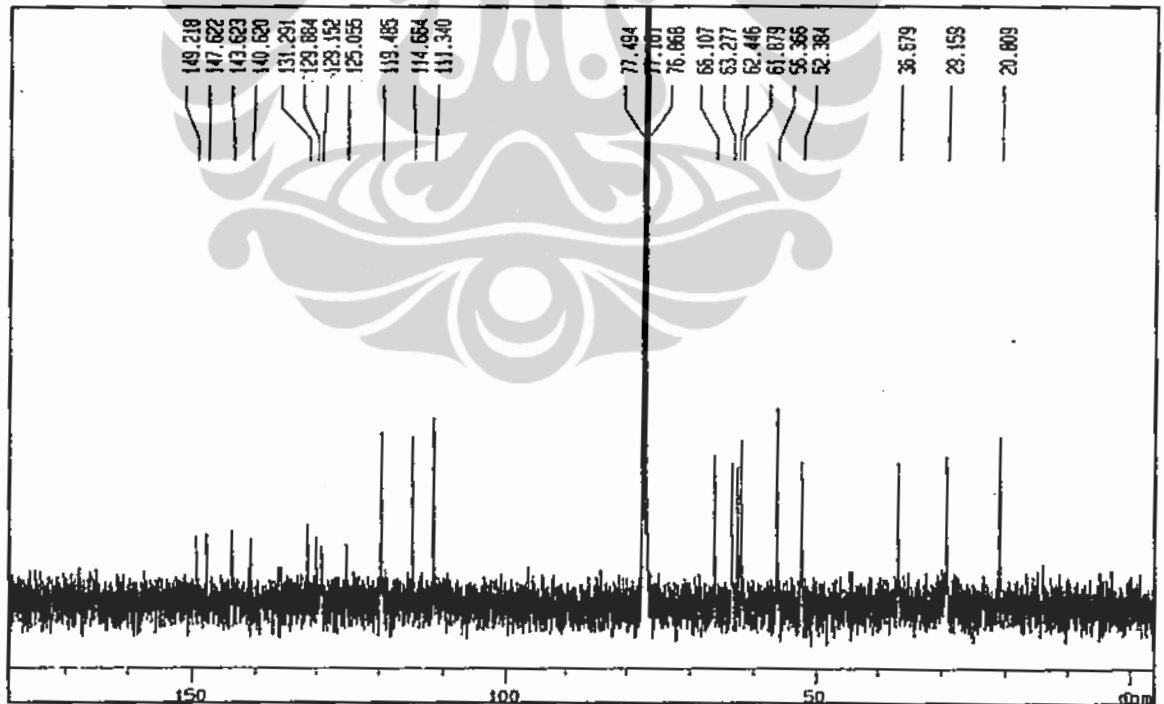


Spektrum FTIR senyawa A-1

LAMPIRAN 2

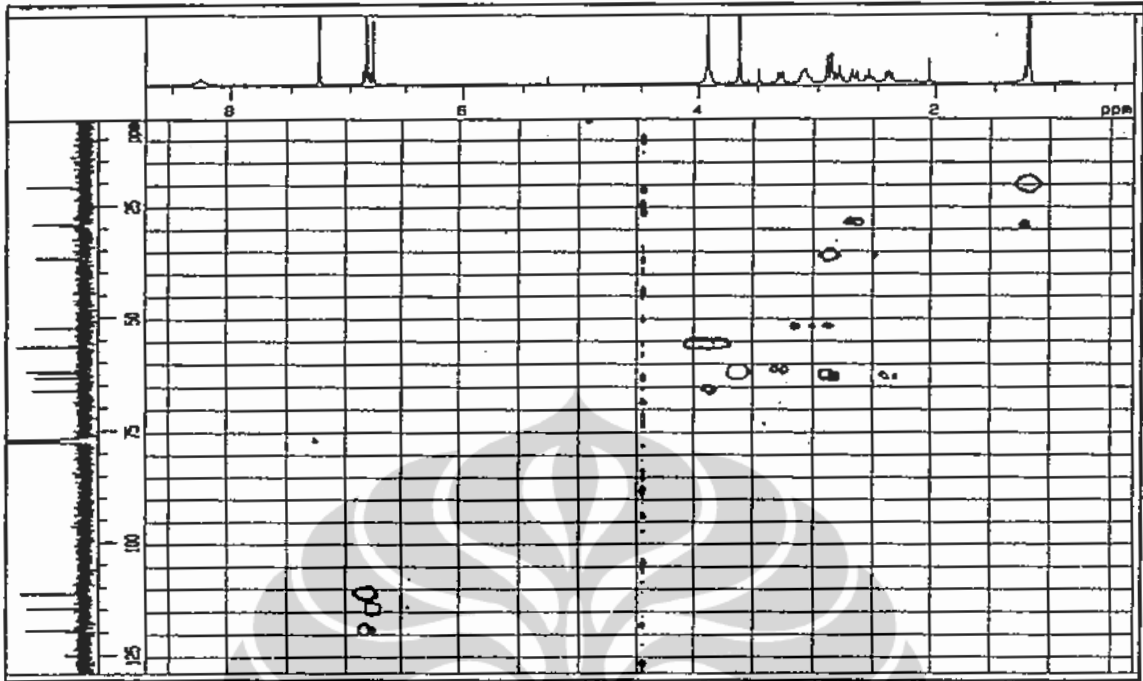


Spektrum ^1H NMR senyawa A-1

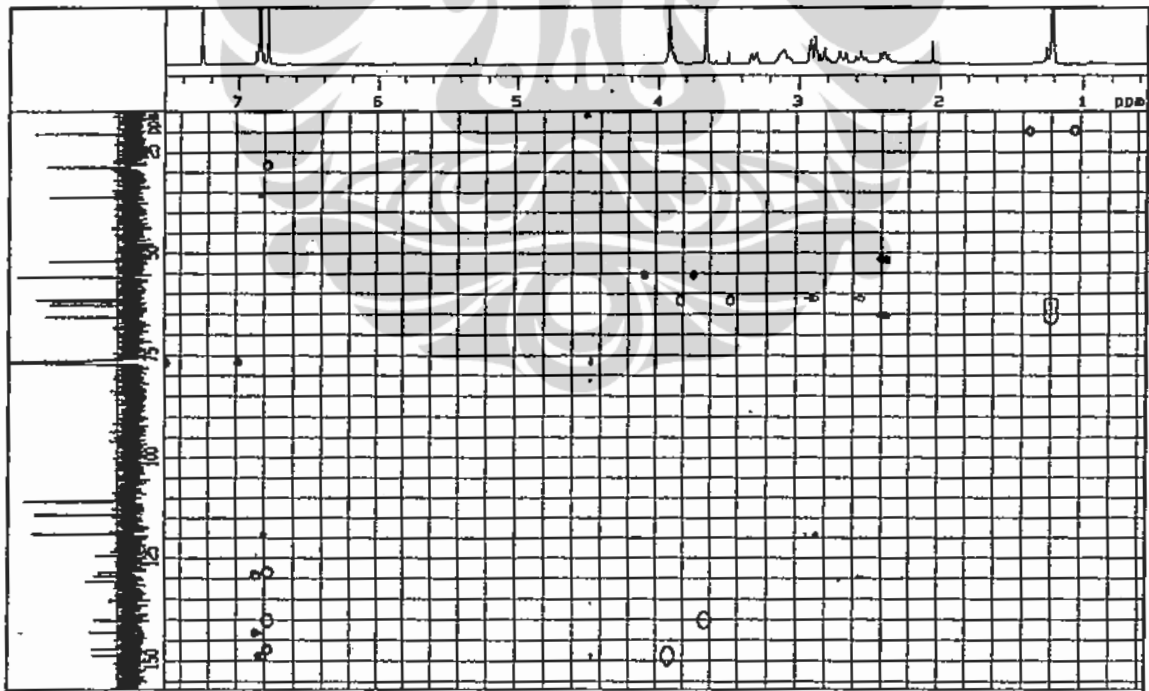


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-1

LAMPIRAN 3

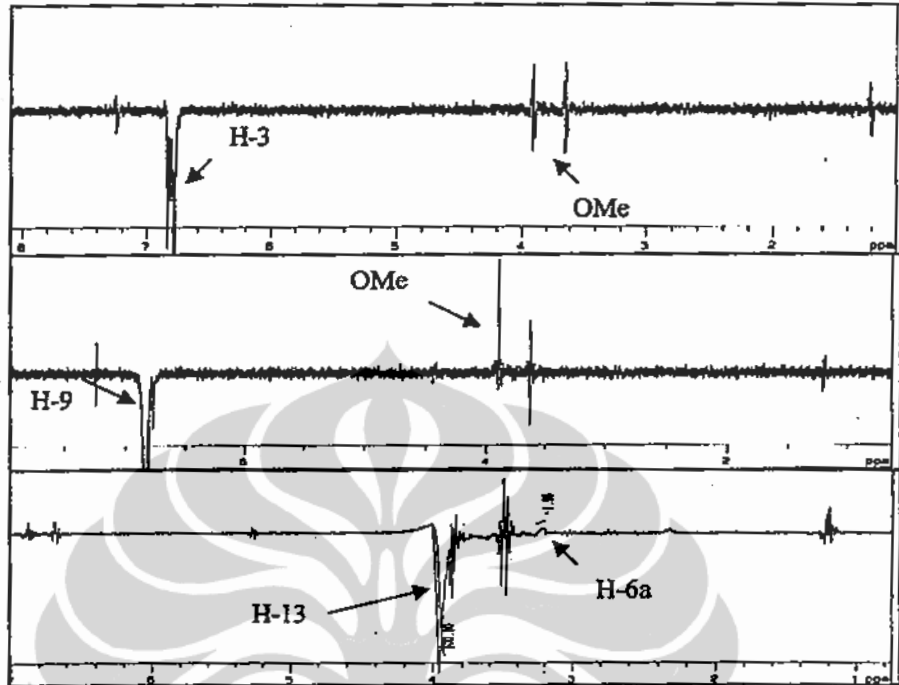


Spetrum HMQC senyawa A-1

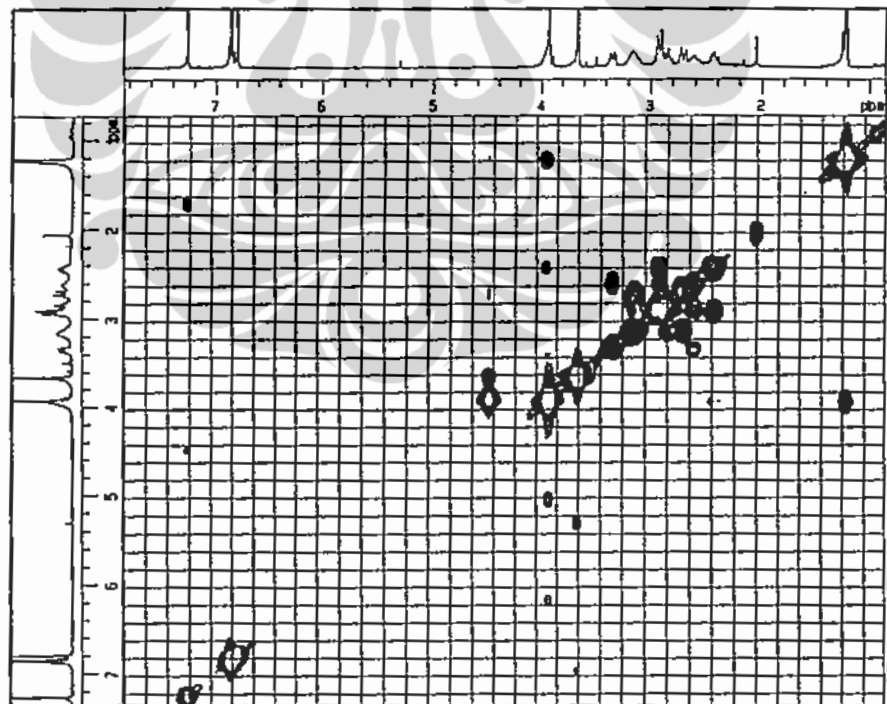


Spetrum HMBC senyawa A-1

LAMPIRAN 4

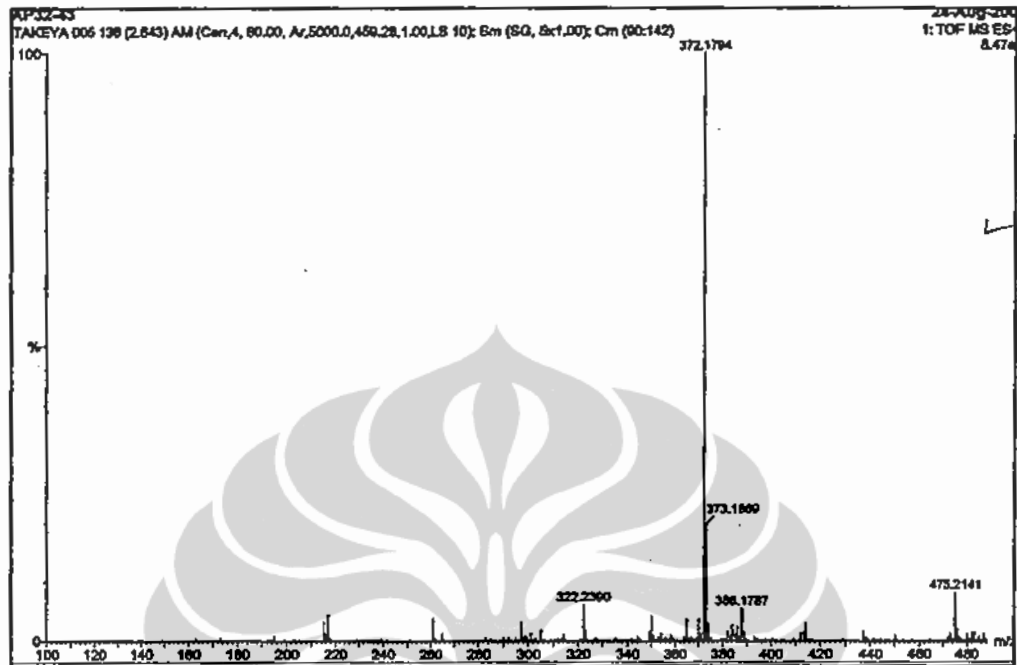


Spektrum NOE-DIFF senyawa A-1

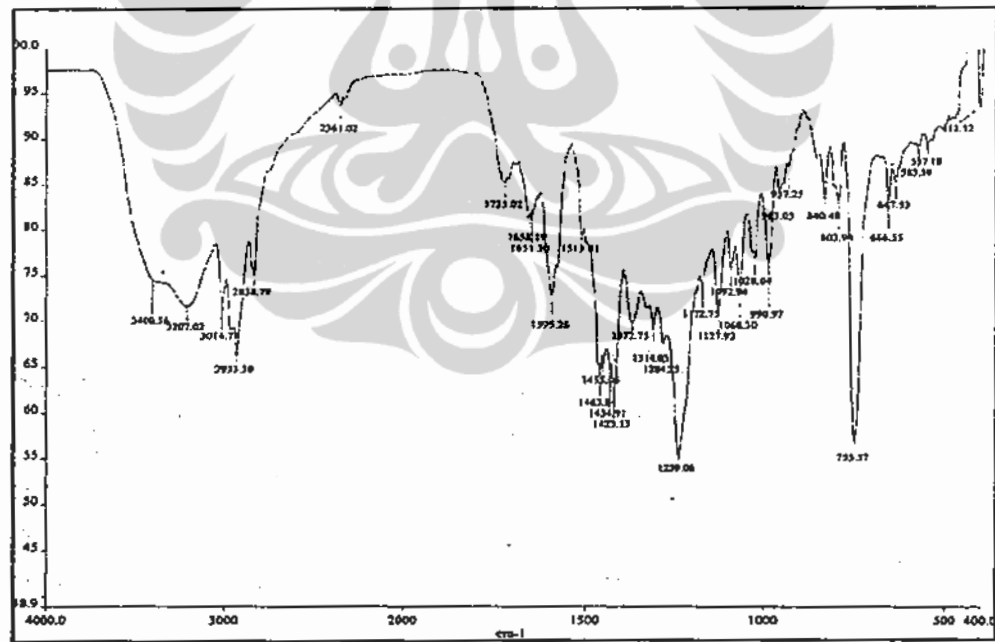


Spektrum COSY senyawa A-1

LAMPIRAN 5

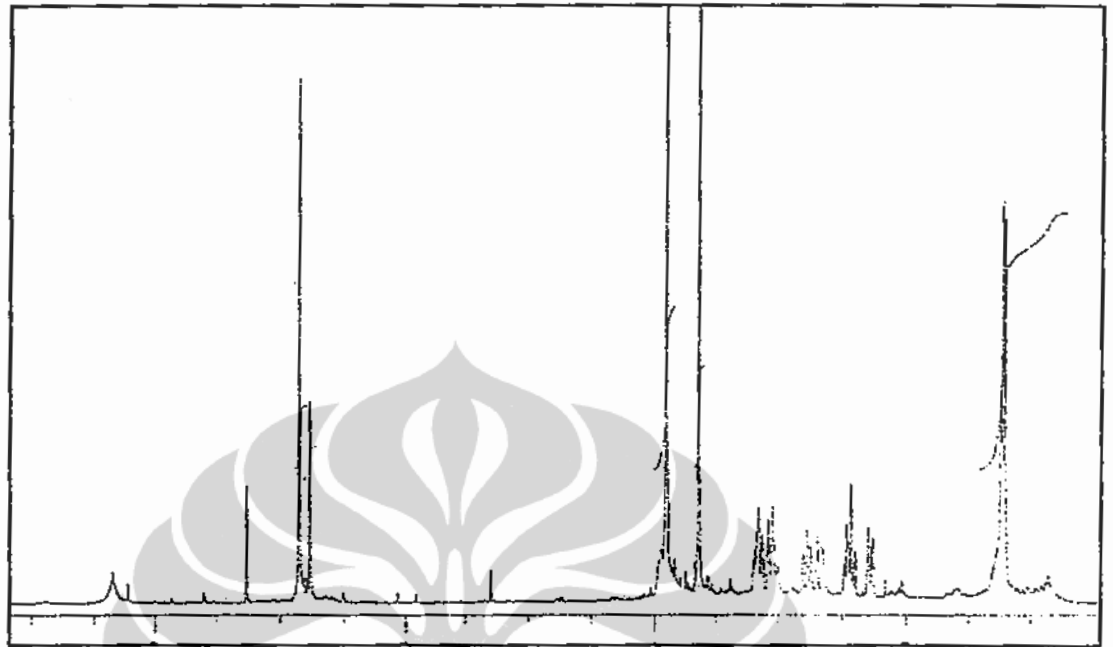


Spektrum HRESIMS senyawa A-2

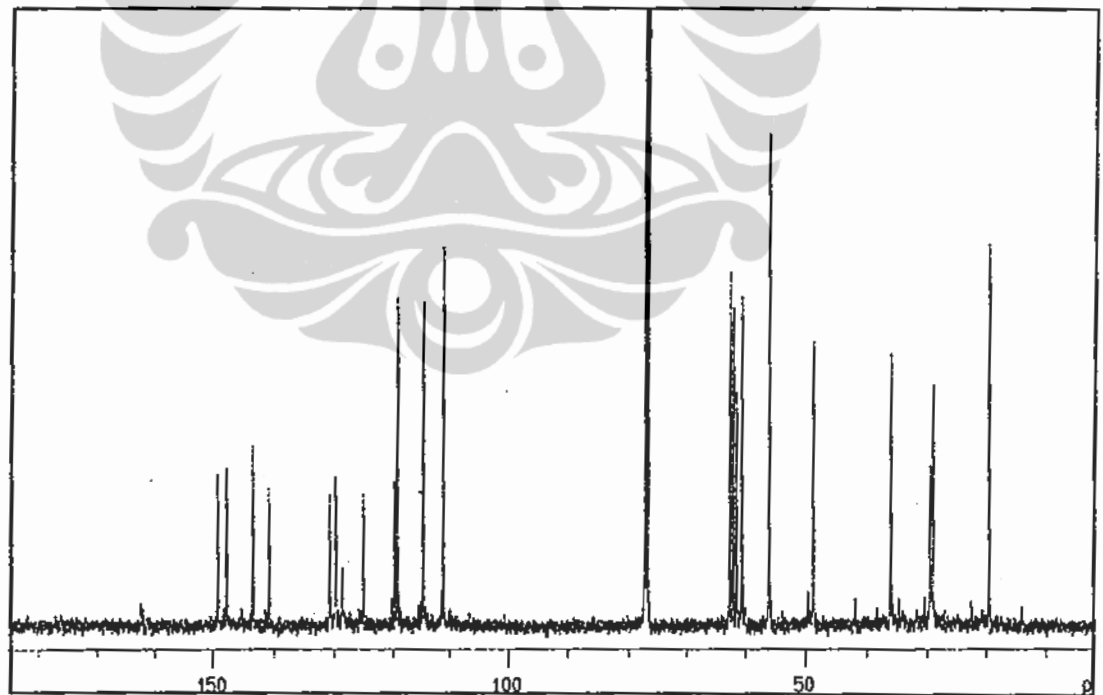


Spektrum FTIR senyawa A-2

LAMPIRAN 6

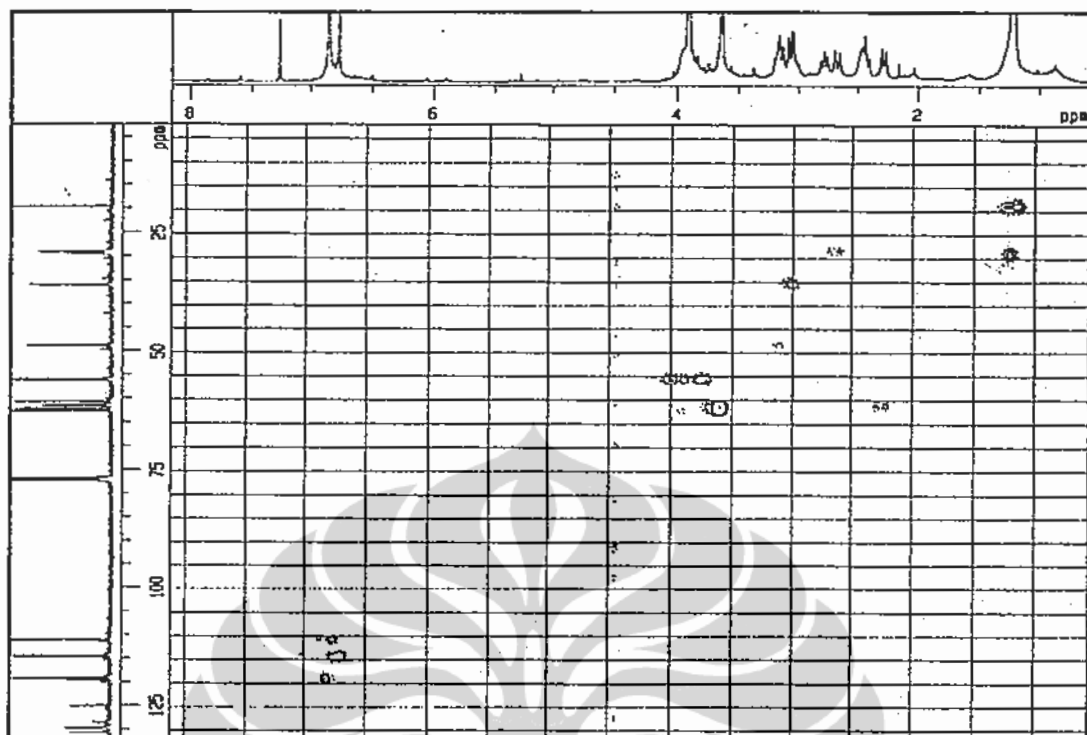


Spektrum ^1H NMR senyawa A-2

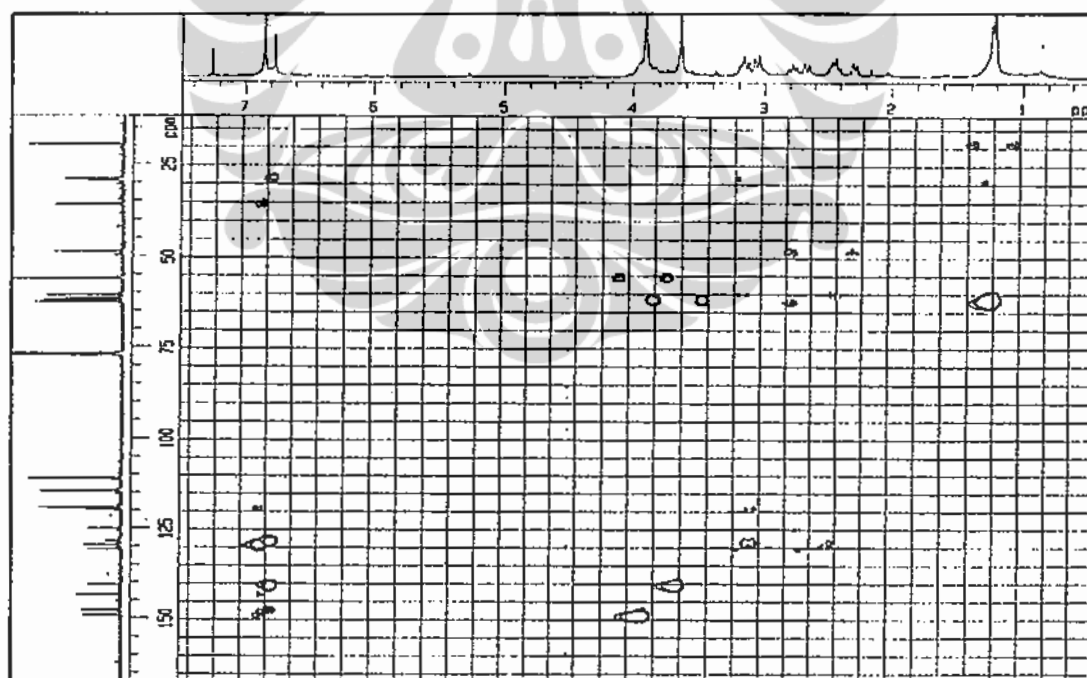


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-2

LAMPIRAN 7

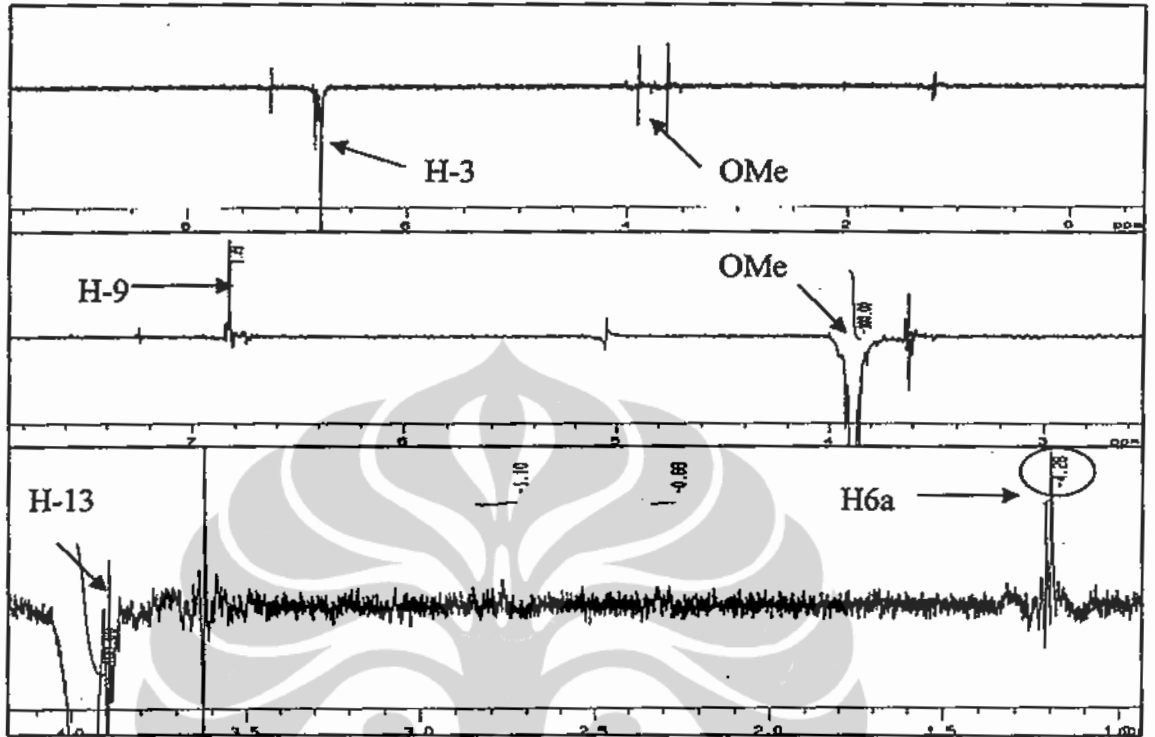


Spektrum HMQC senyawa A-2

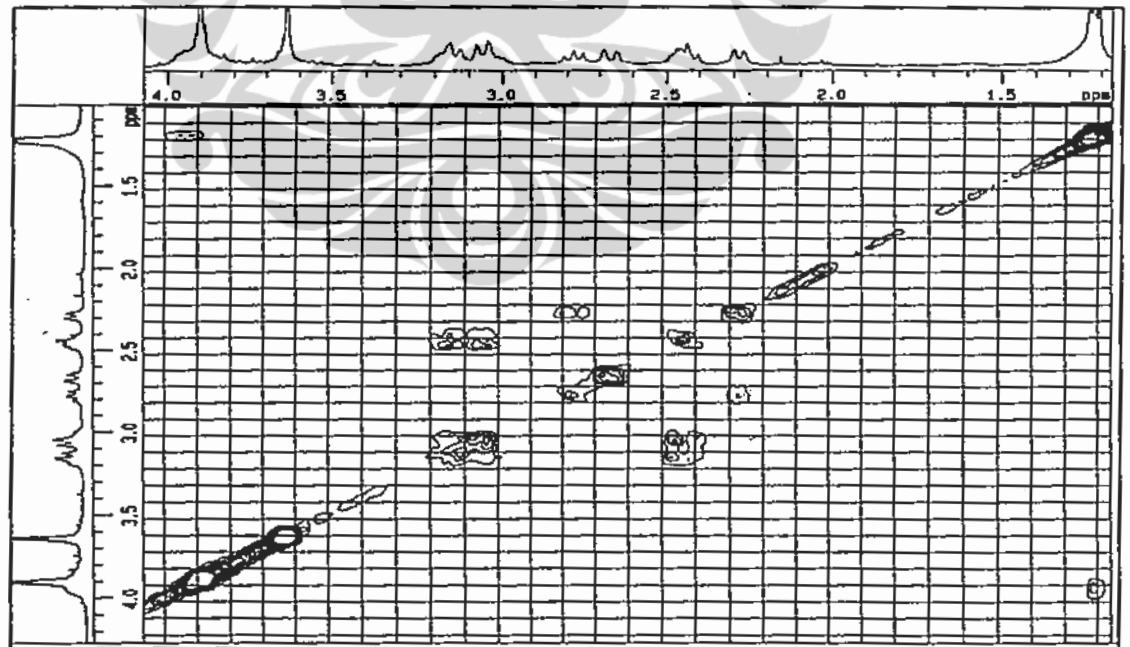


Spektrum HMBC senyawa A-2

LAMPIRAN 8

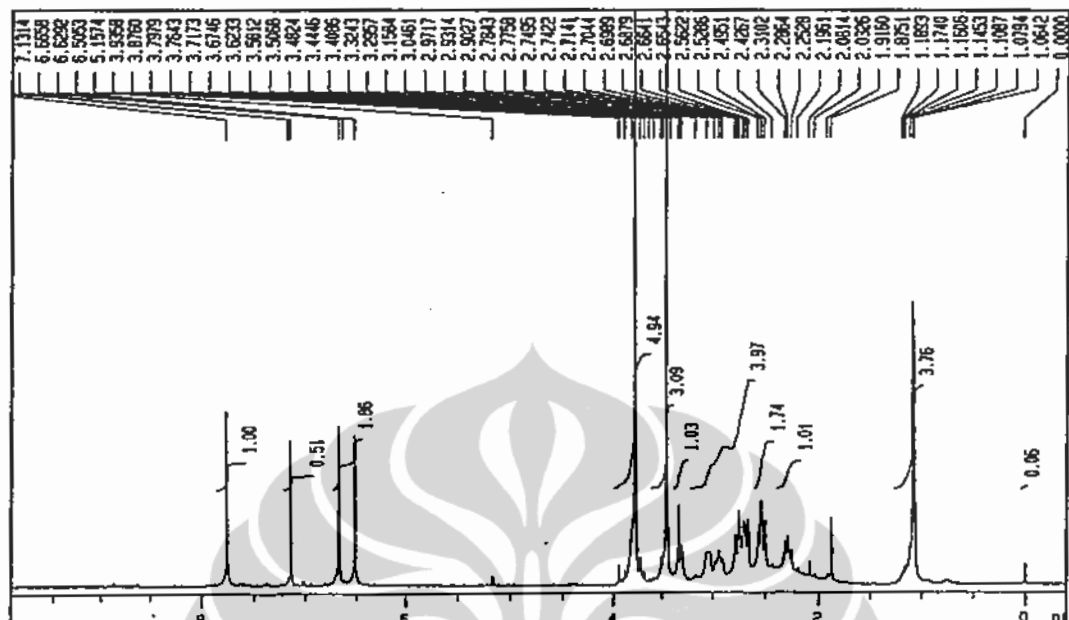


Spektrum NOE-DIFF senyawa A-2

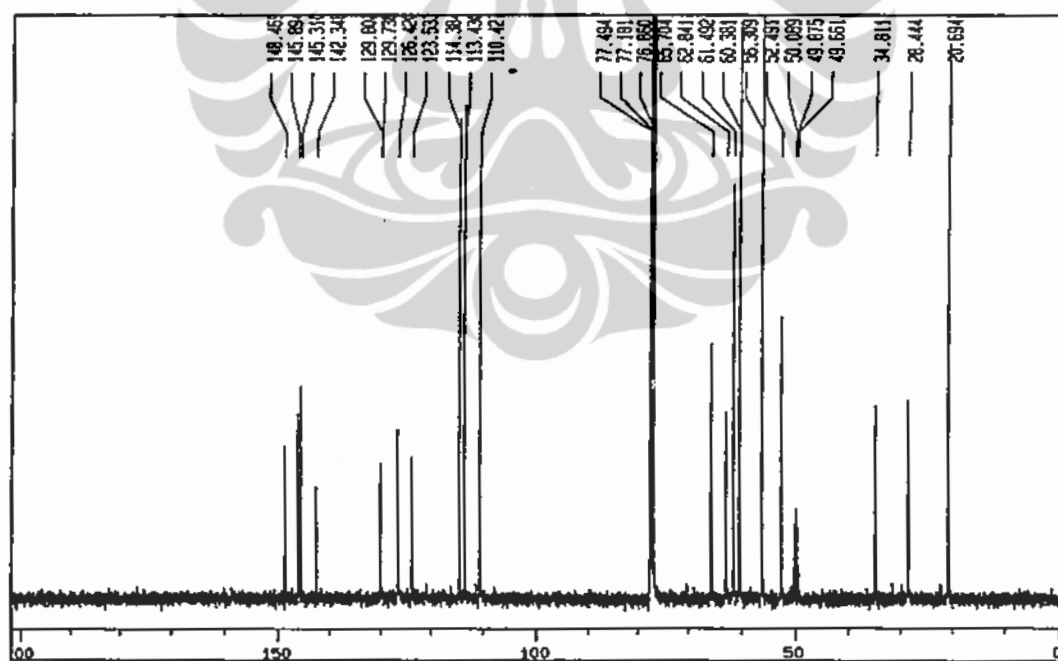


Spektrum COSY senyawa A-2

LAMPIRAN 9

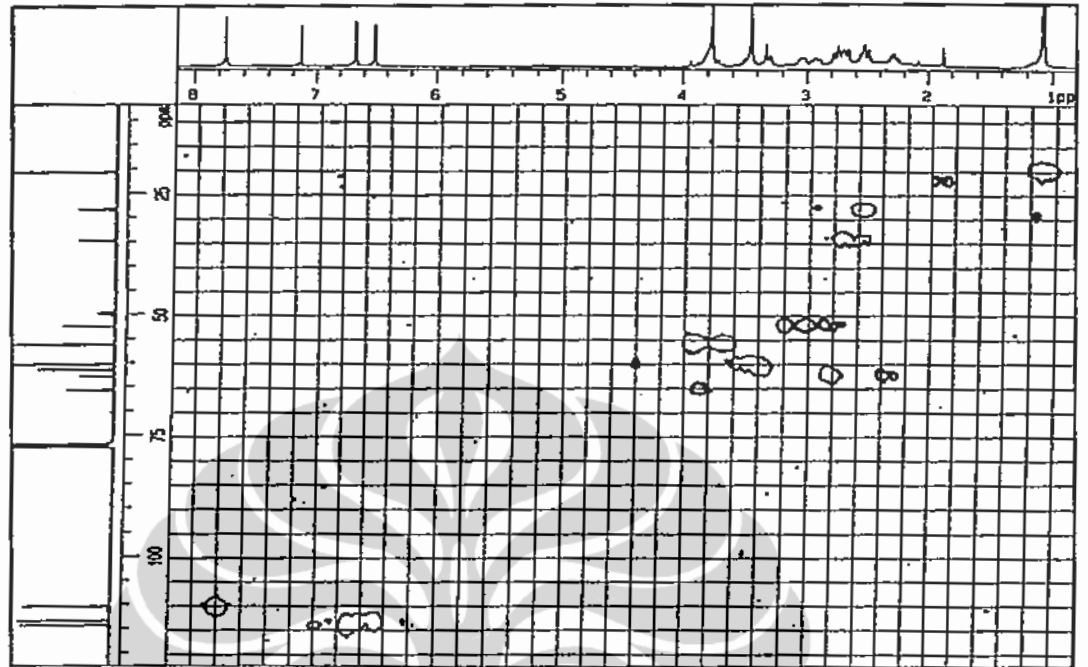


Spektrum ^1H NMR senyawa A-3

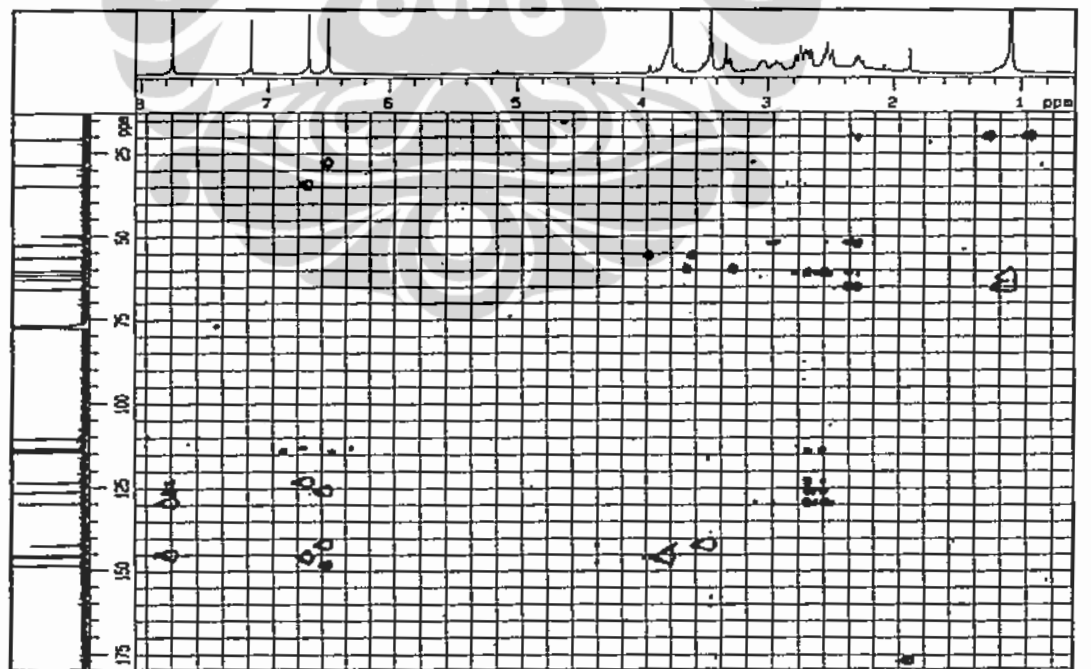


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-3

LAMPIRAN 10

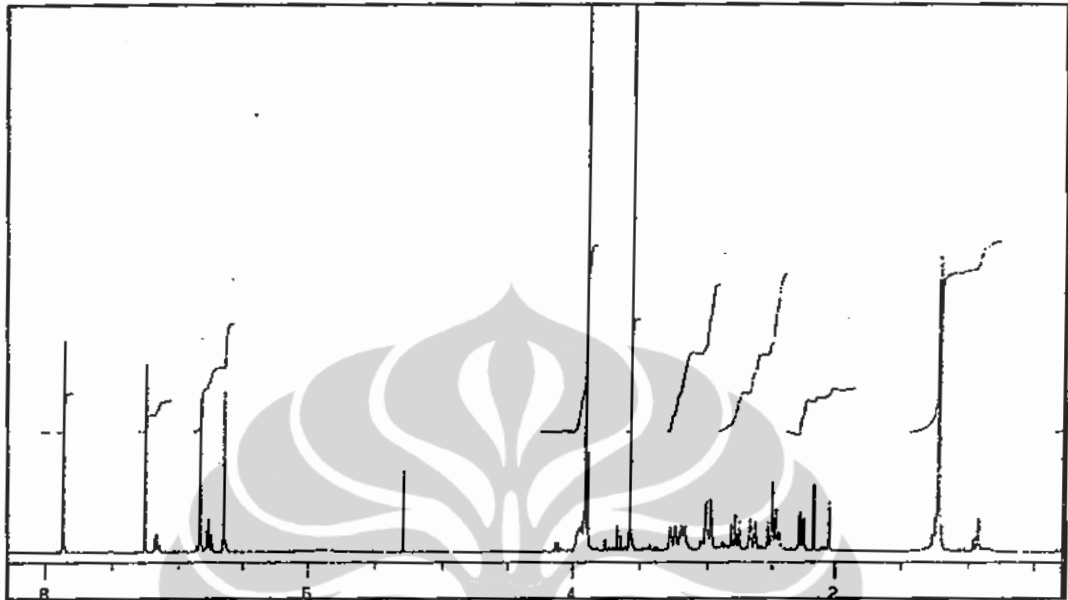


Spektrum HMQC senyawa A-3

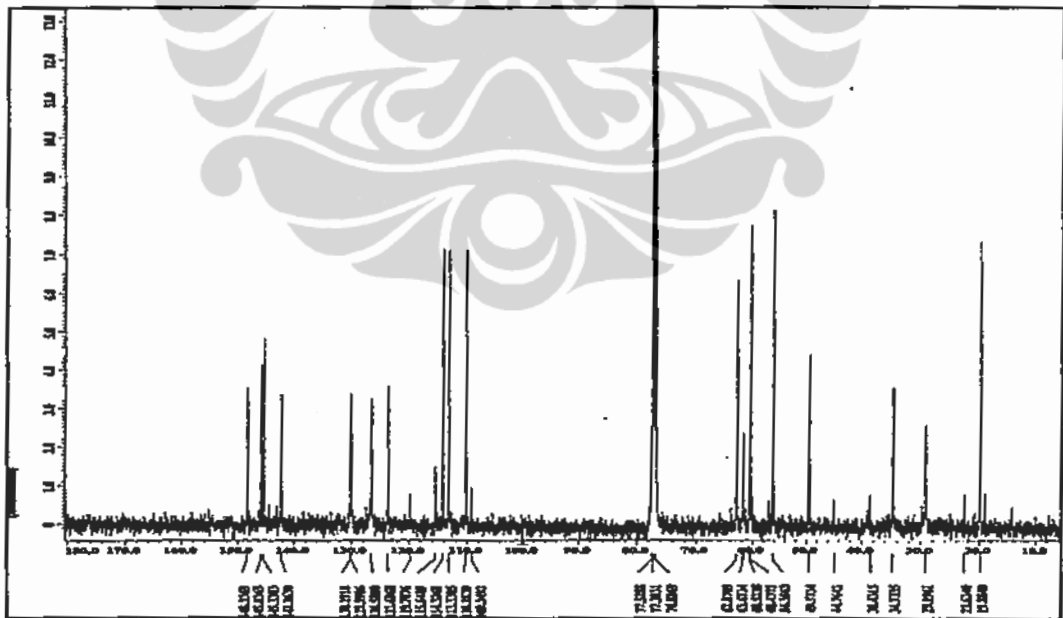


Spektrum HMBC senyawa A-3

LAMPIRAN 12

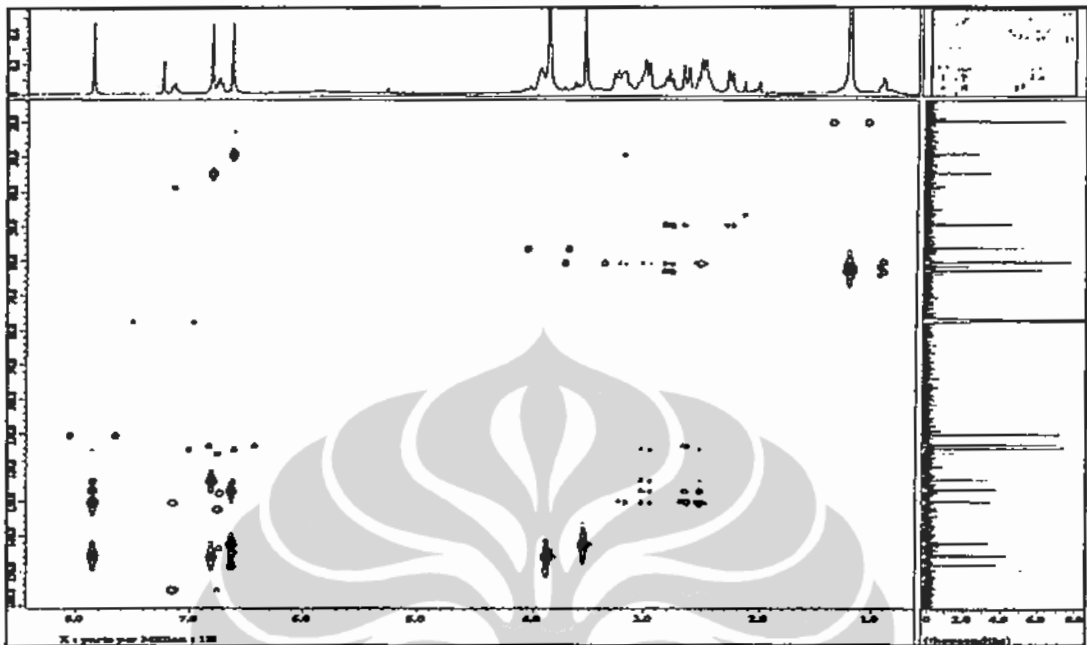


Spektrum ^1H NMR senyawa A-4

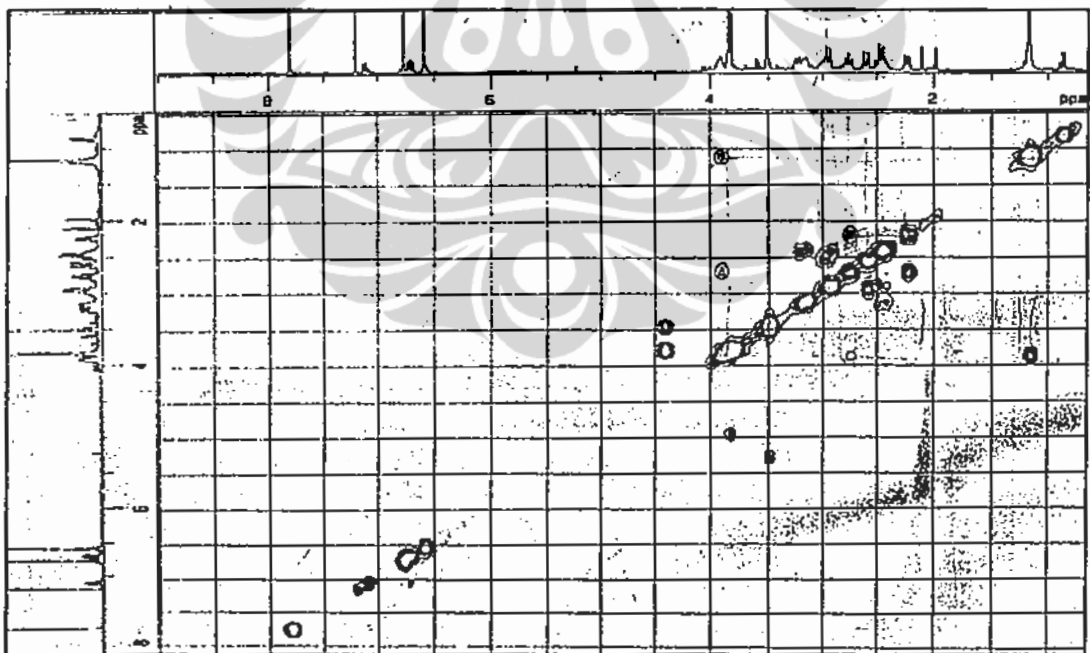


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-4

LAMPIRAN 13

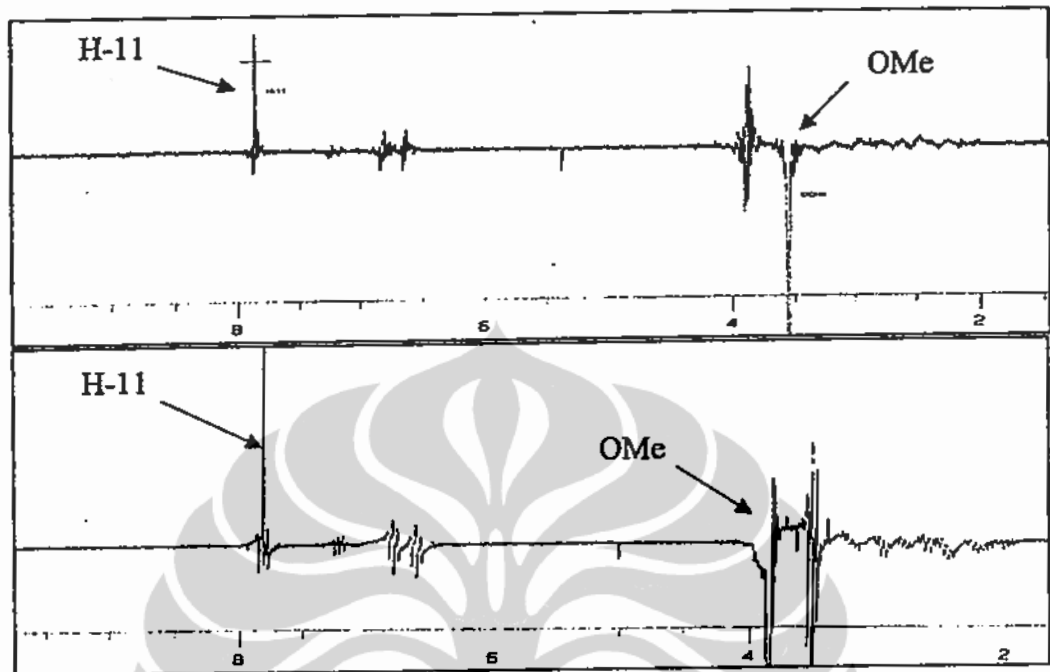


Spektrum HMBC senyawa A-4

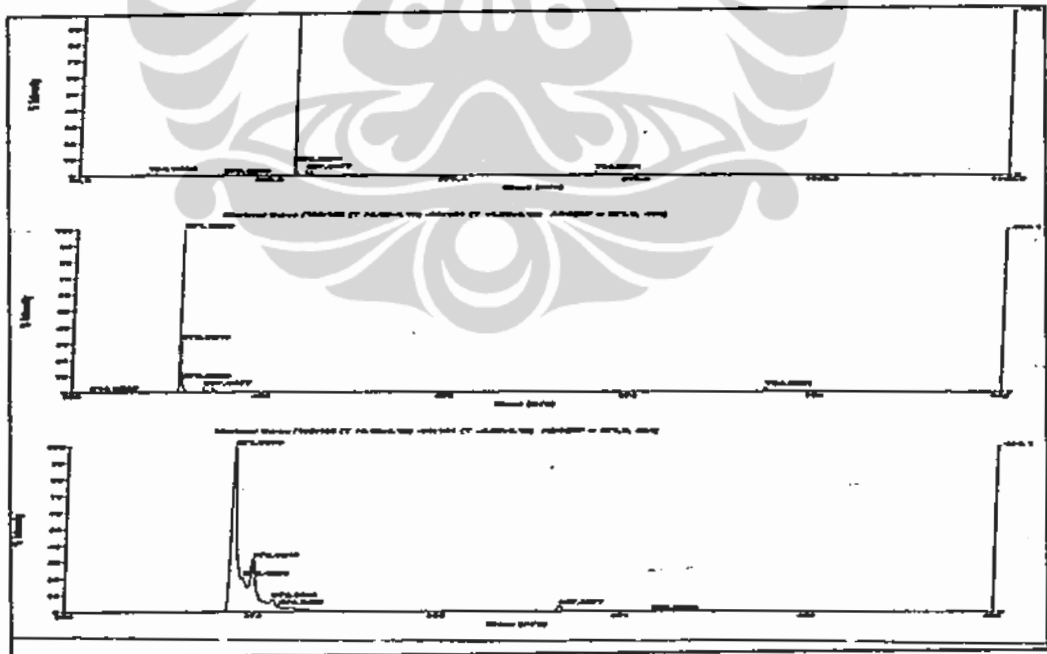


Spektrum COSY senyawa A-4

LAMPIRAN 14

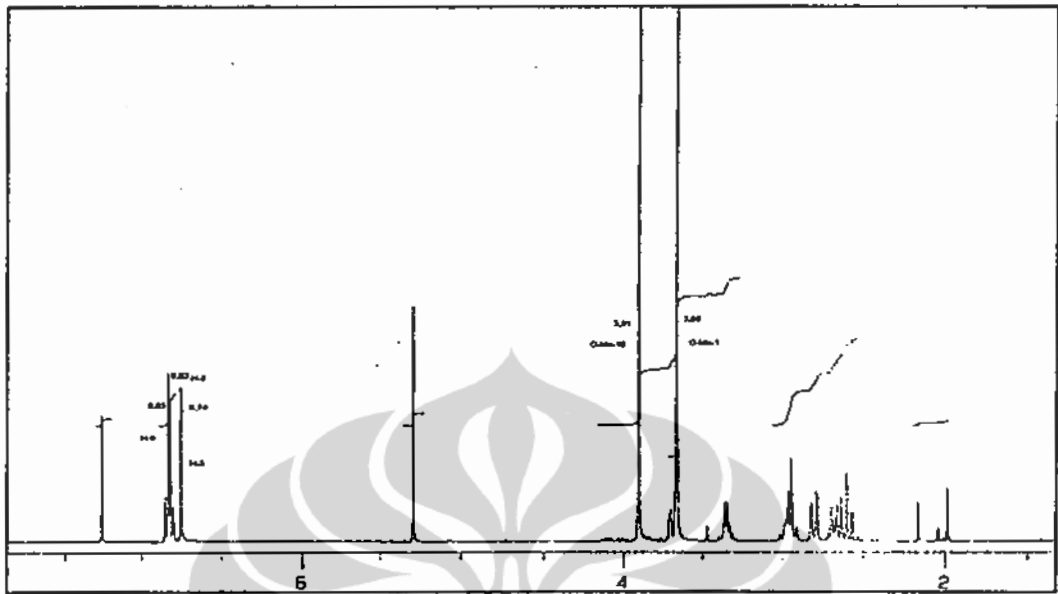


Spektrum NOE-DIFF senyawa A-4

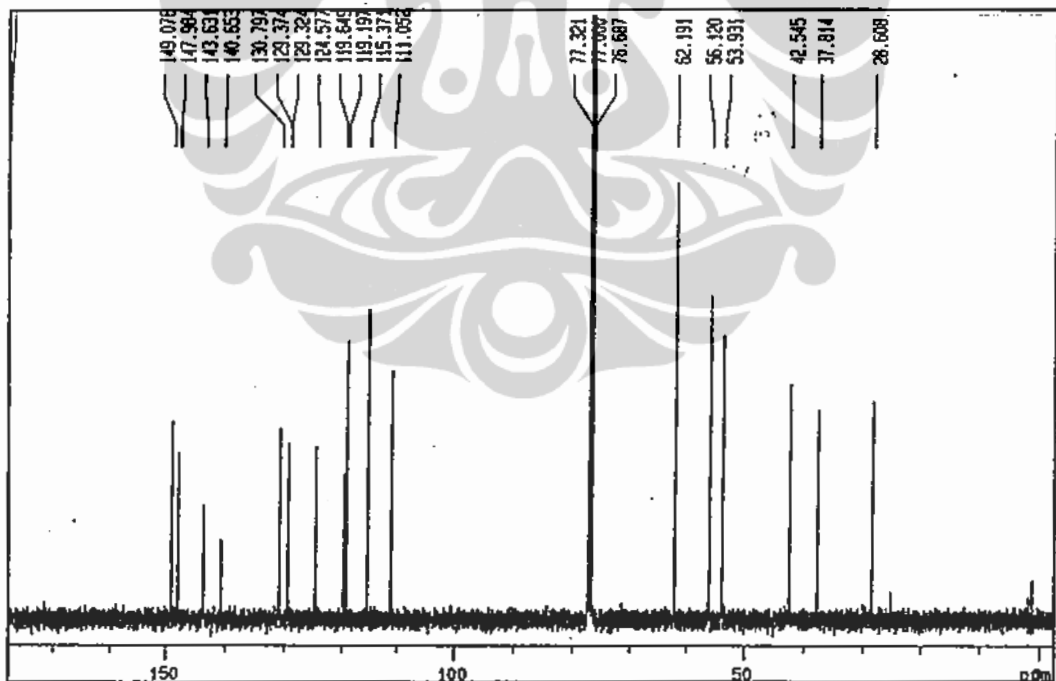


Spektrum LCMS senyawa A-4

LAMPIRAN 15

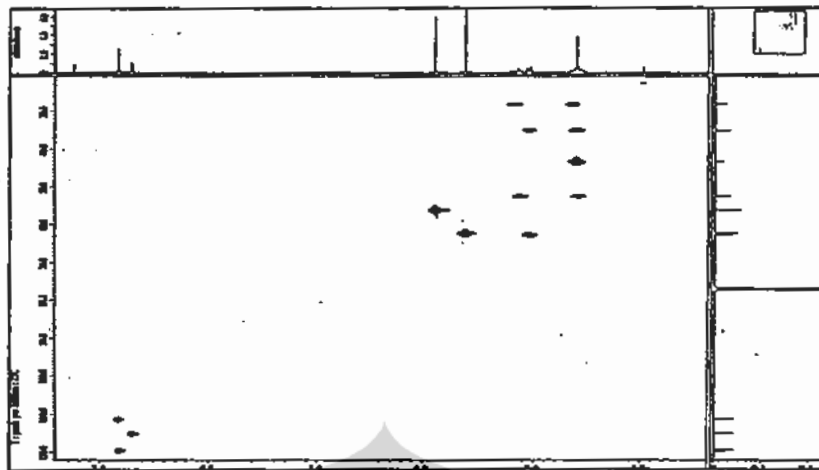


Spektrum ^1H NMR senyawa A-5

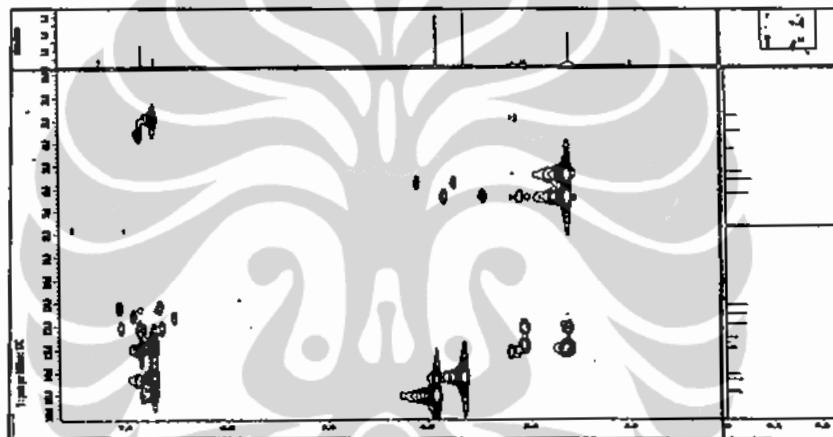


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-5

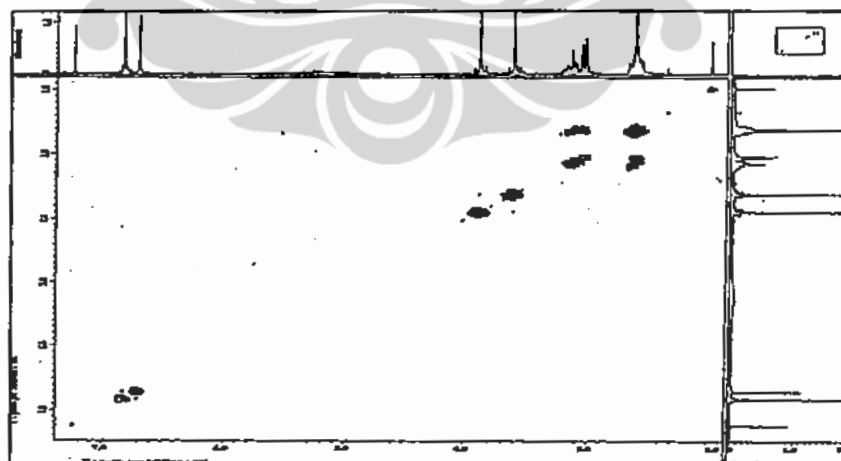
LAMPIRAN 17



Spektrum HMQC senyawa A-6

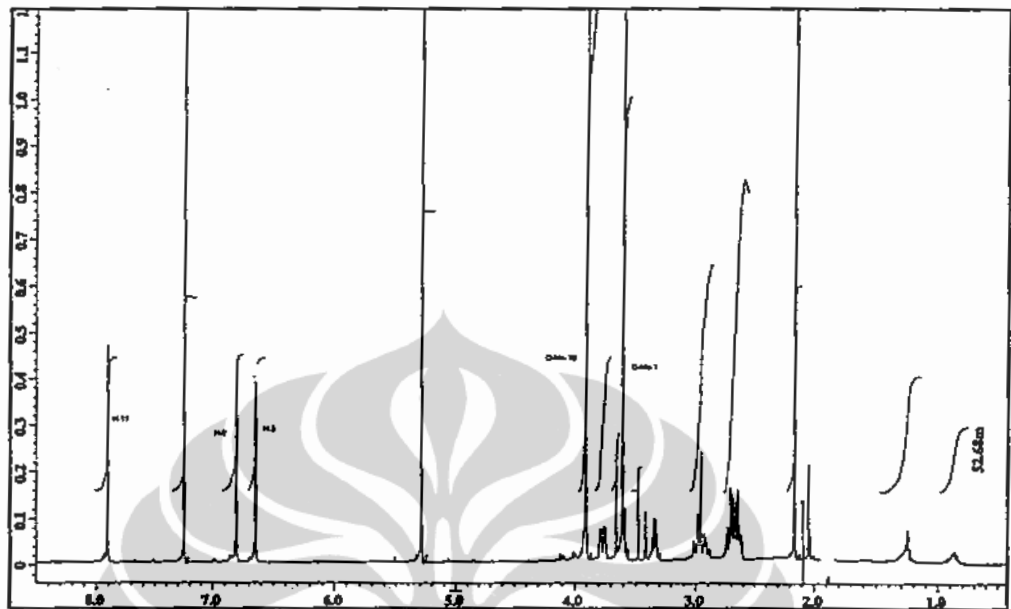


Spektrum HMBC senyawa A-6

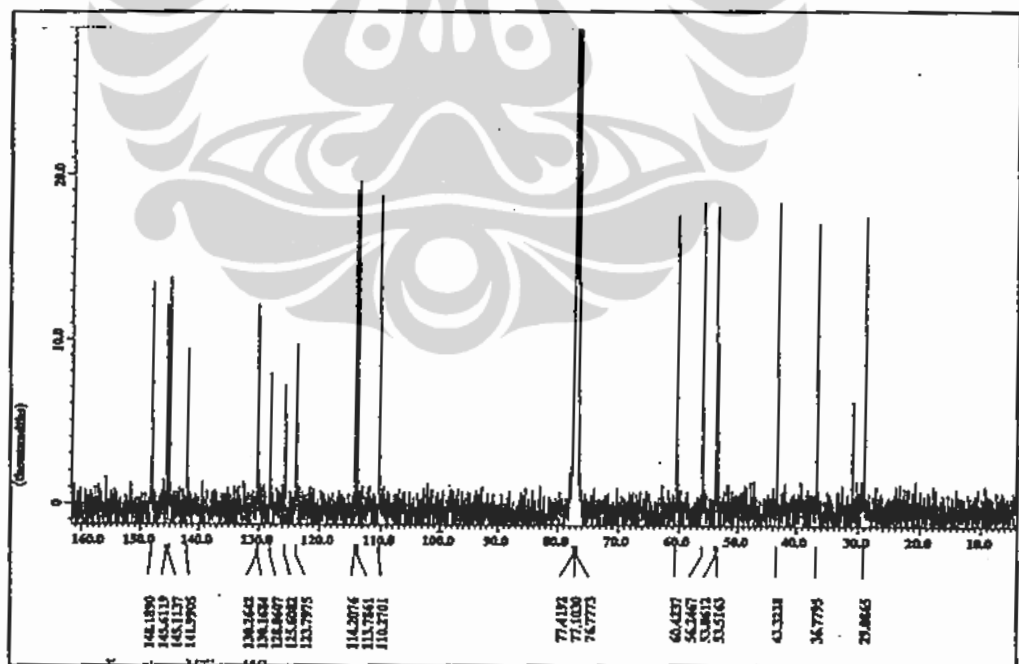


Spektrum COSY senyawa A-6

LAMPIRAN 18

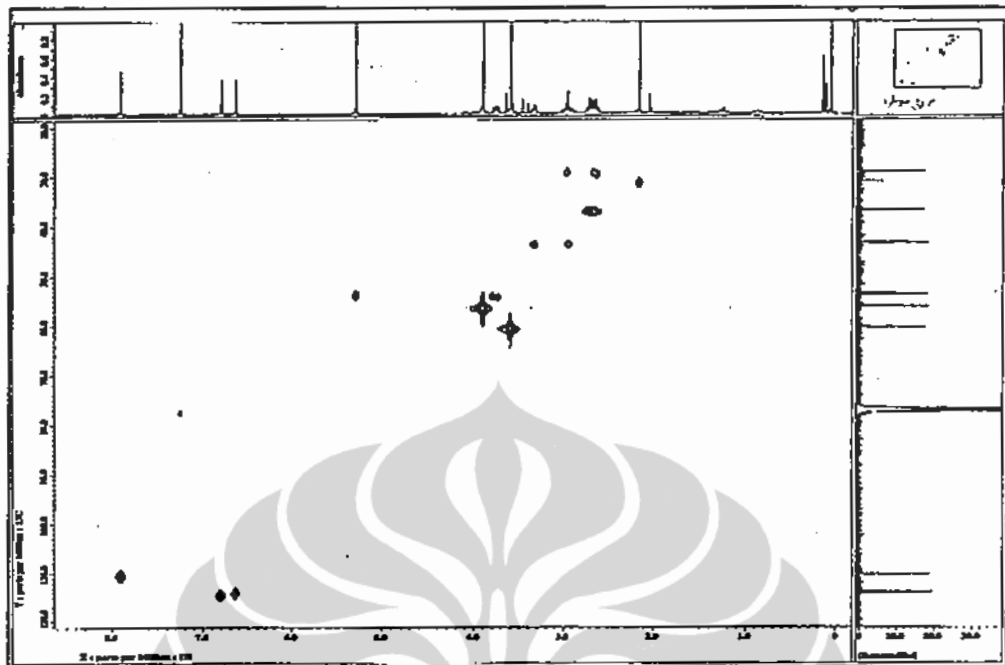


Spektrum ^1H NMR senyawa A-7

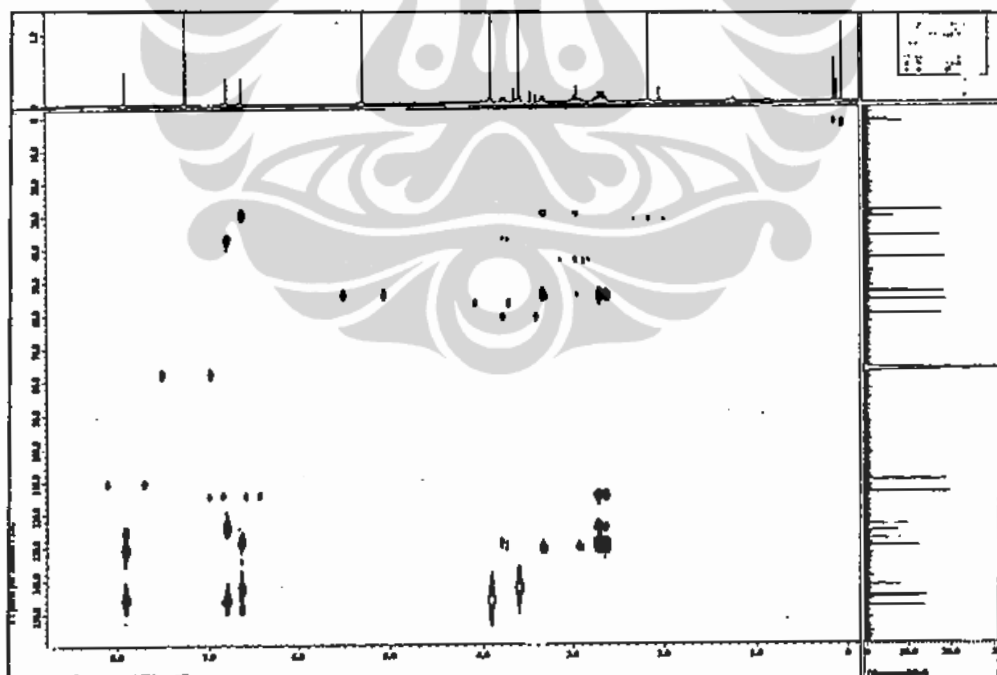


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-7

LAMPIRAN 19

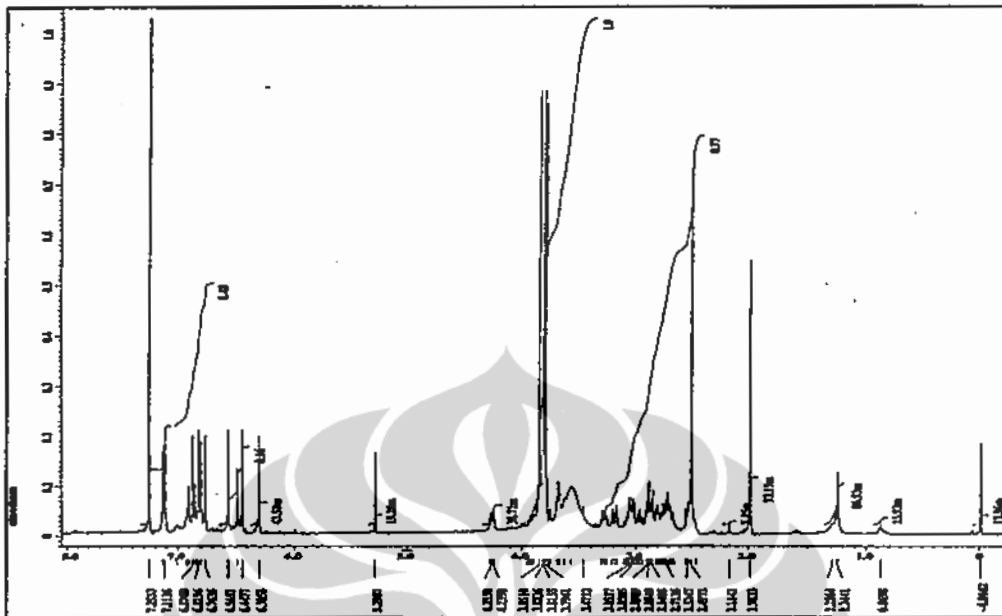


Spektrum HMQC senyawa A-7

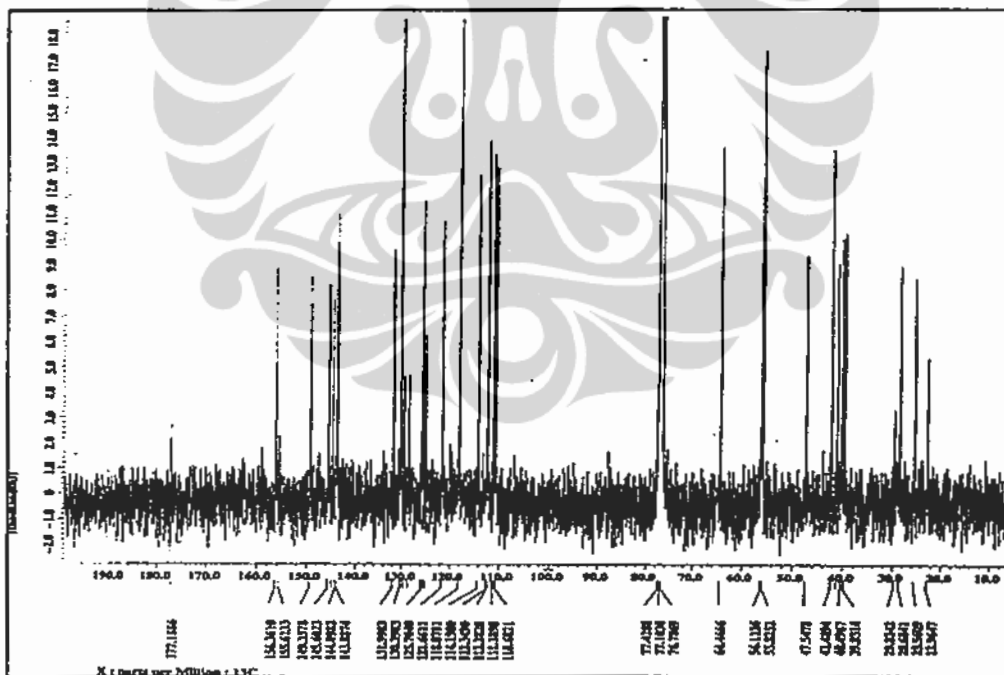


Spektrum HMBC senyawa A-7

LAMPIRAN 21

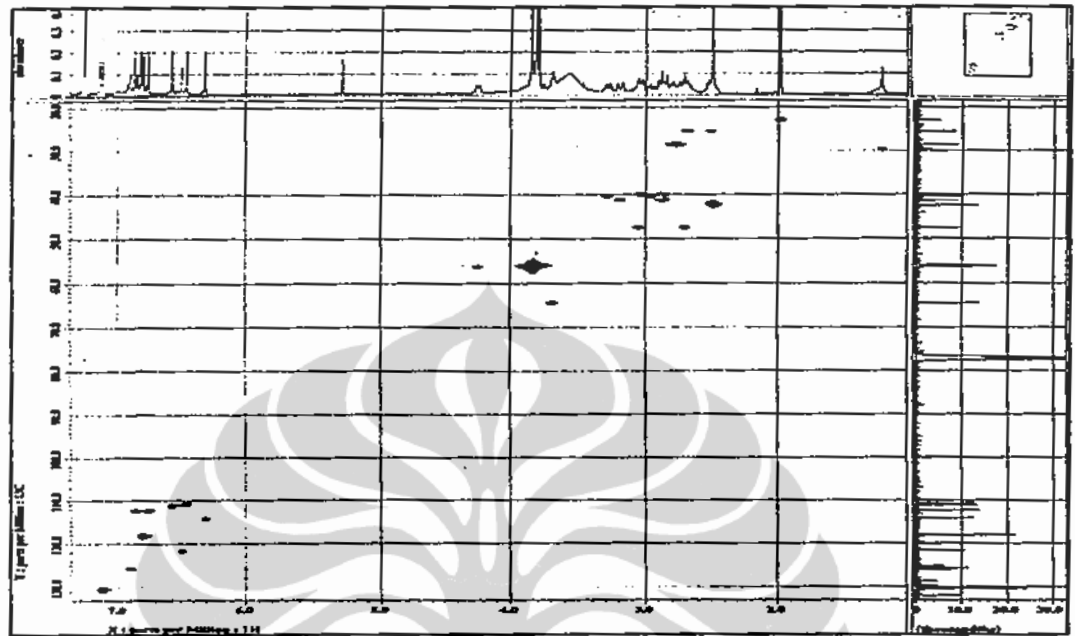


Spektrum ^1H NMR senyawa A-9

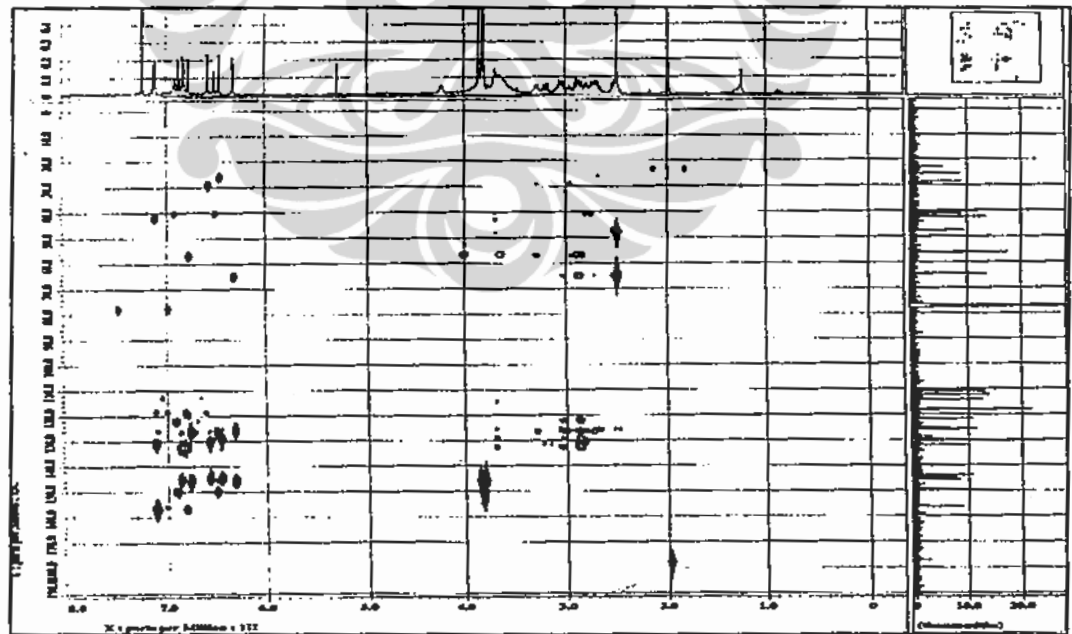


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-9

LAMPIRAN 22

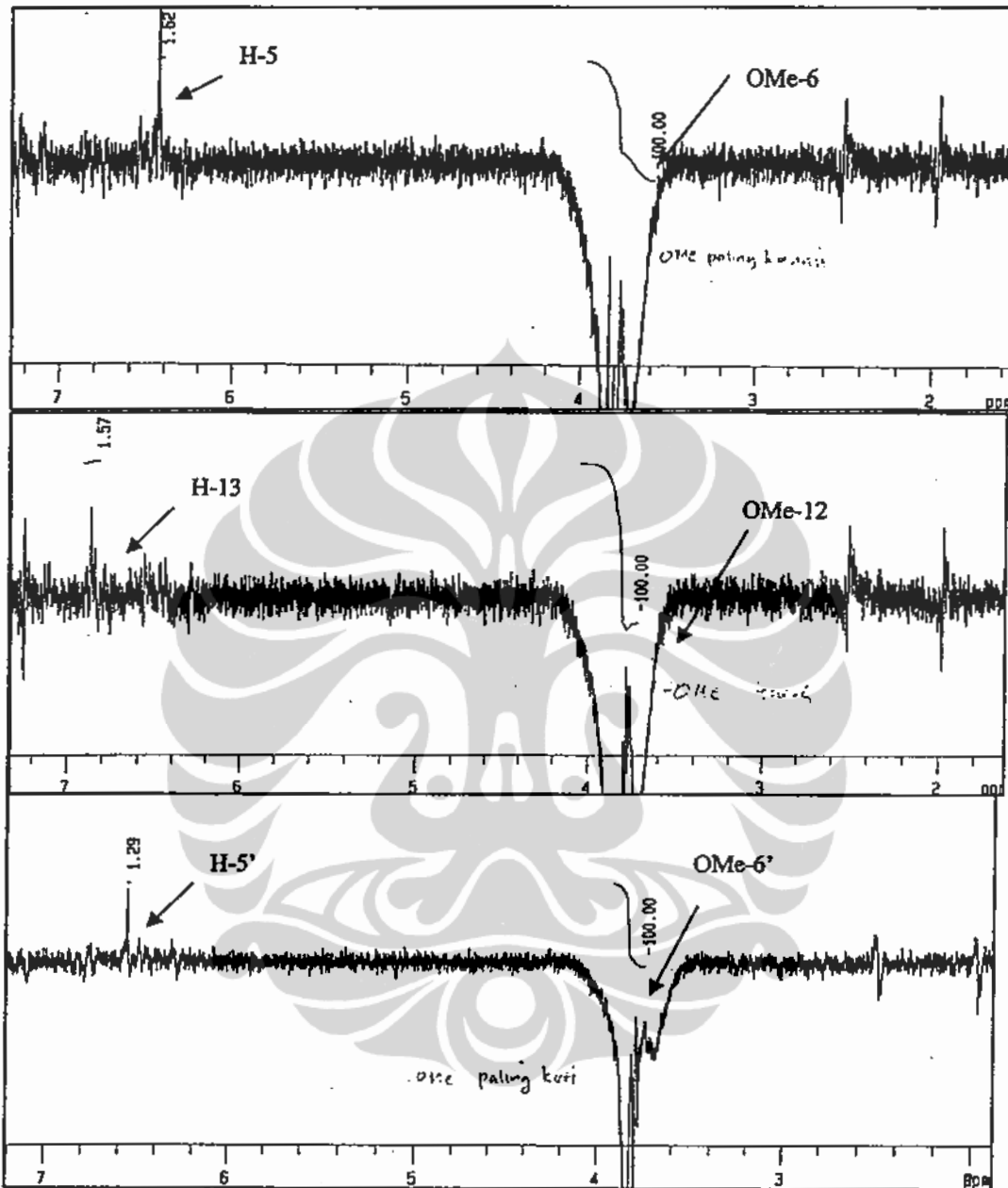


Spektrum HMQC senyawa A-9



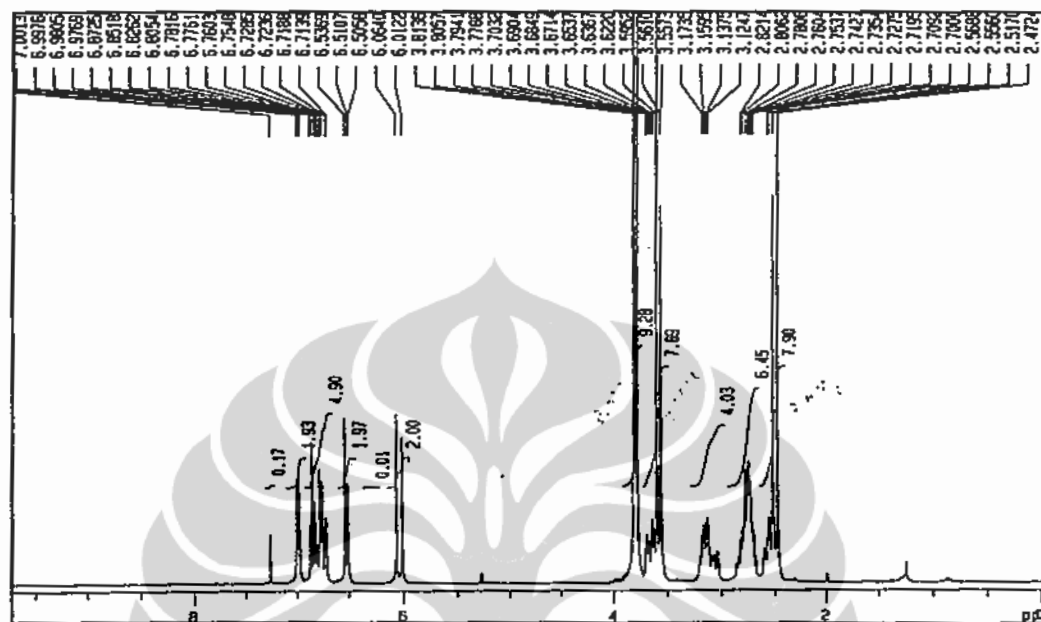
Spektrum HMBC senyawa A-9

LAMPIRAN 23

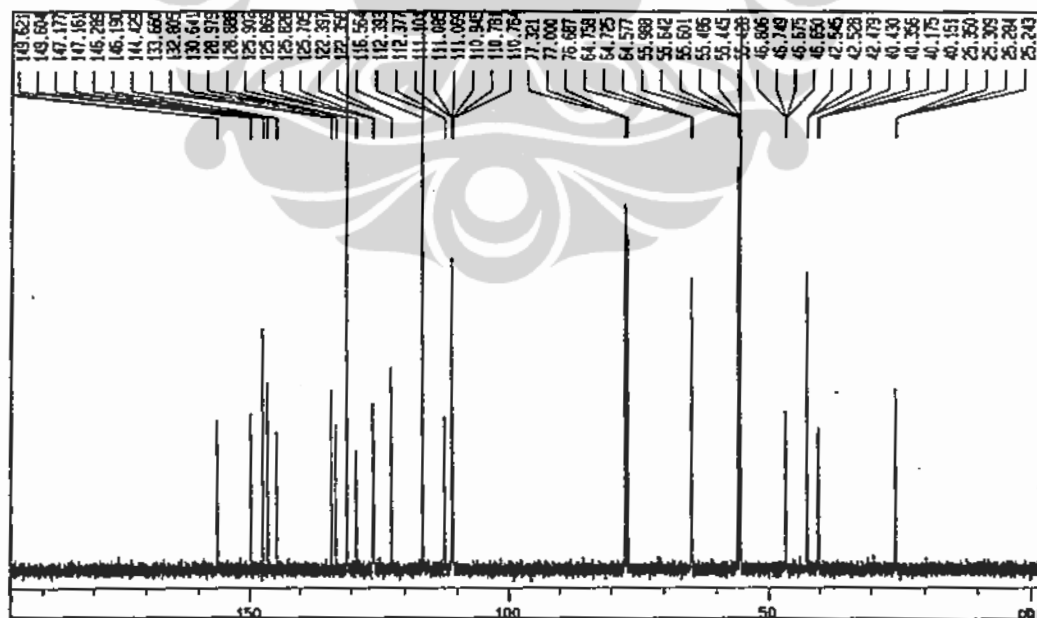


Spektrum NOE-Diff senyawa A-9

LAMPIRAN 24

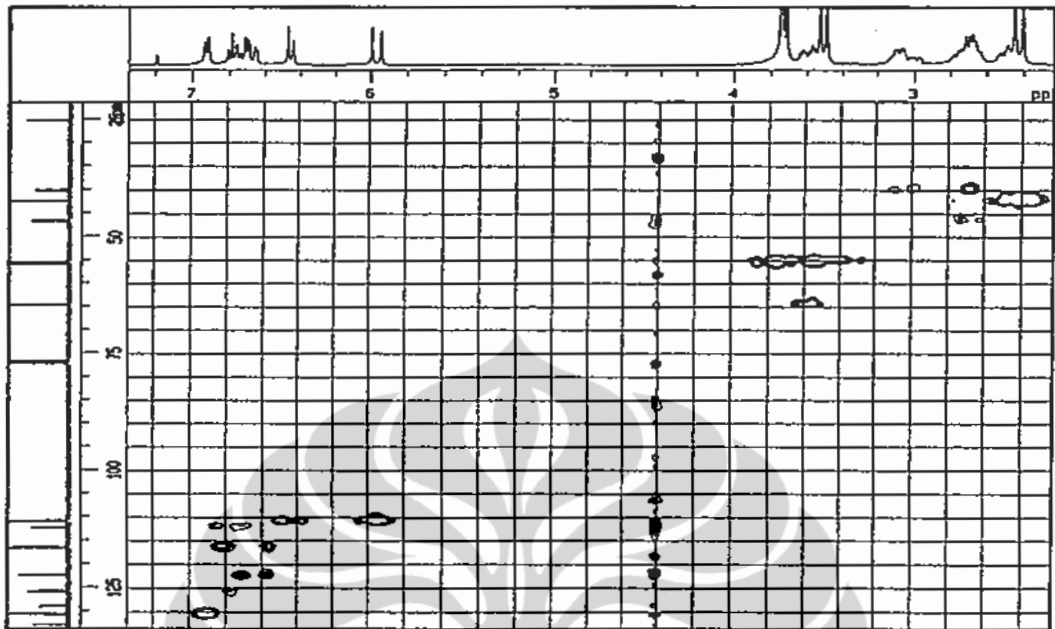


Spektrum ^1H NMR senyawa A-10

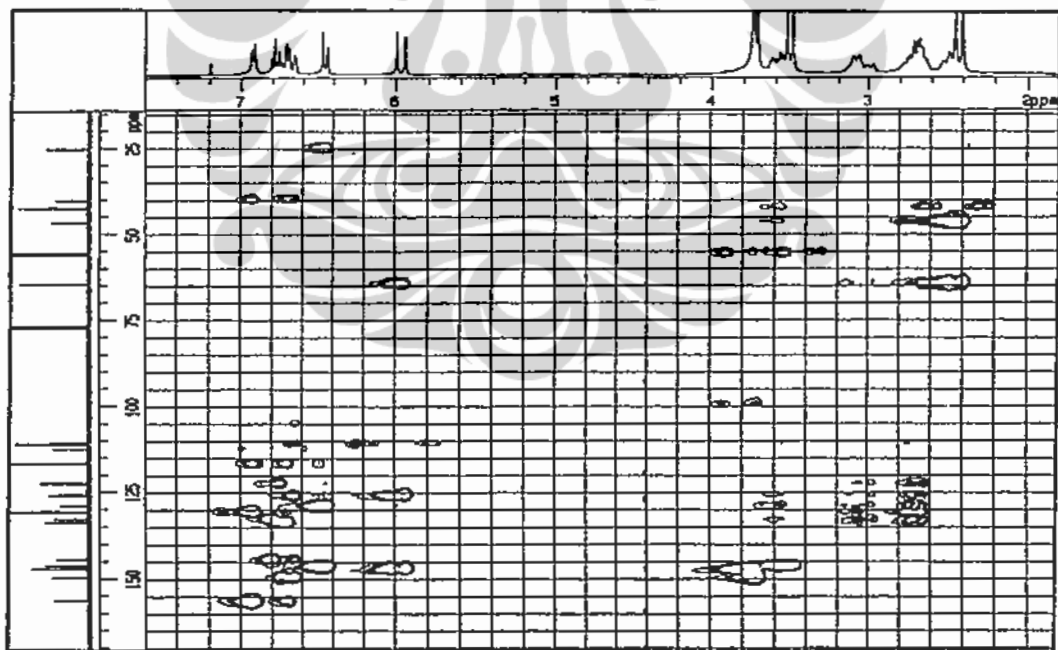


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-10

LAMPIRAN 25

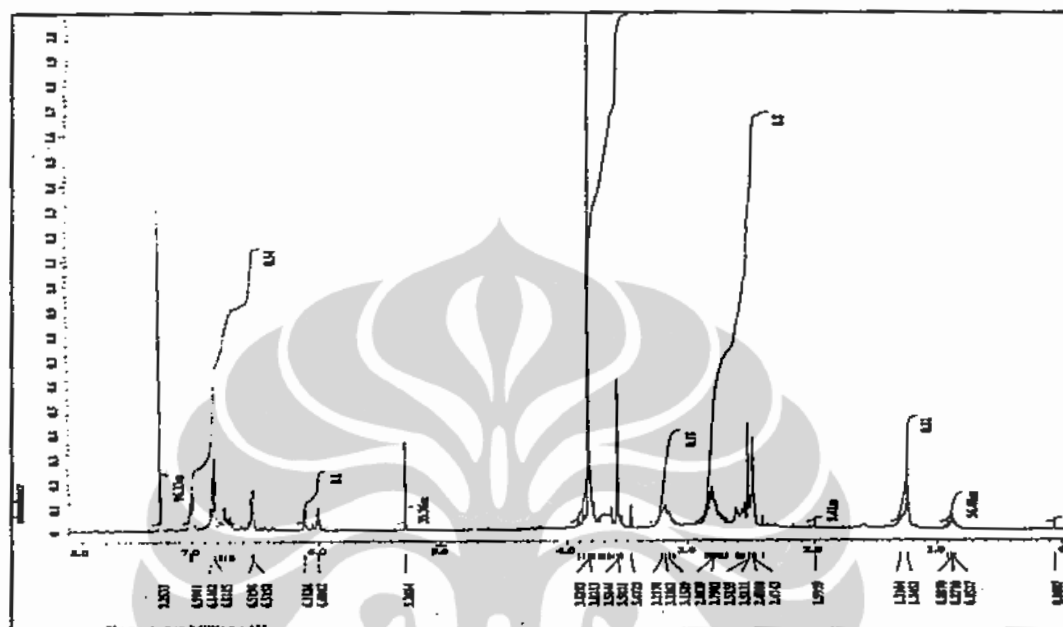


Spektrum HMQC senyawa A-10

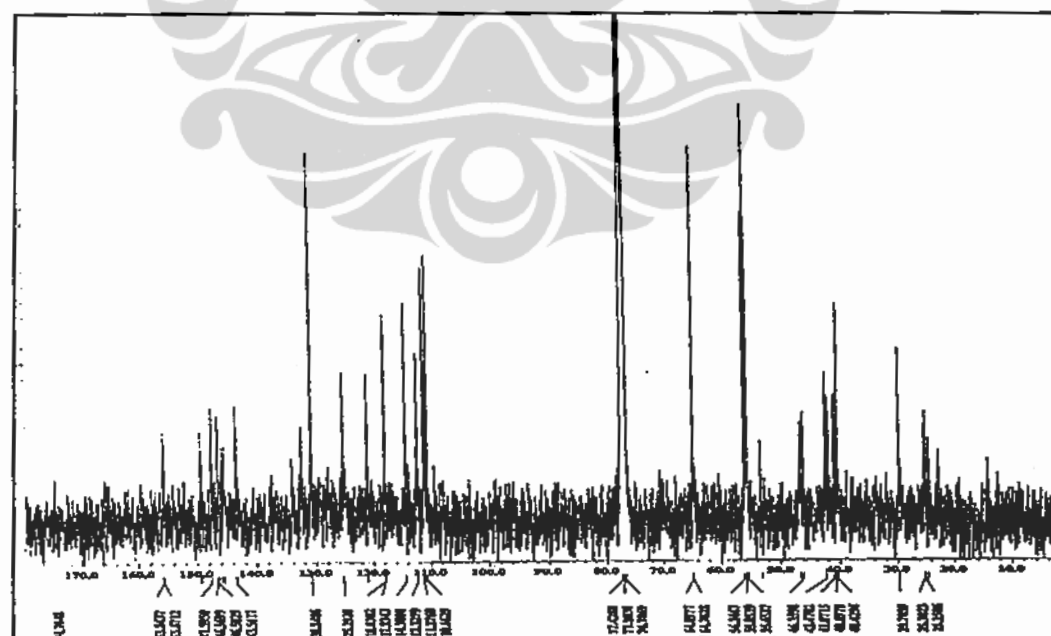


Spektrum HMBC senyawa A-10

LAMPIRAN 26

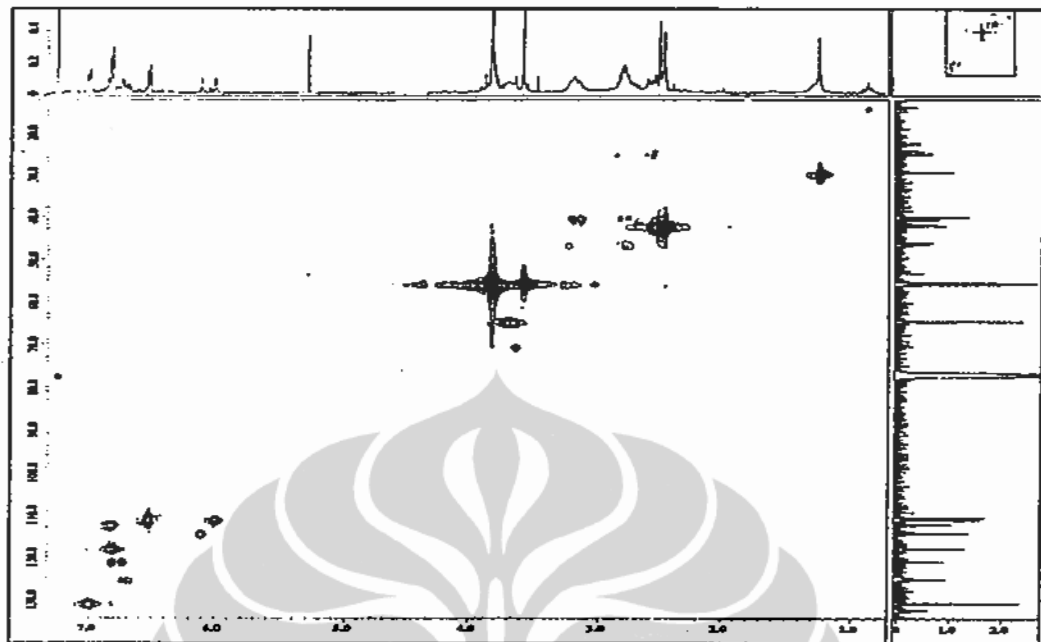


Spektrum ^1H NMR senyawa A-11

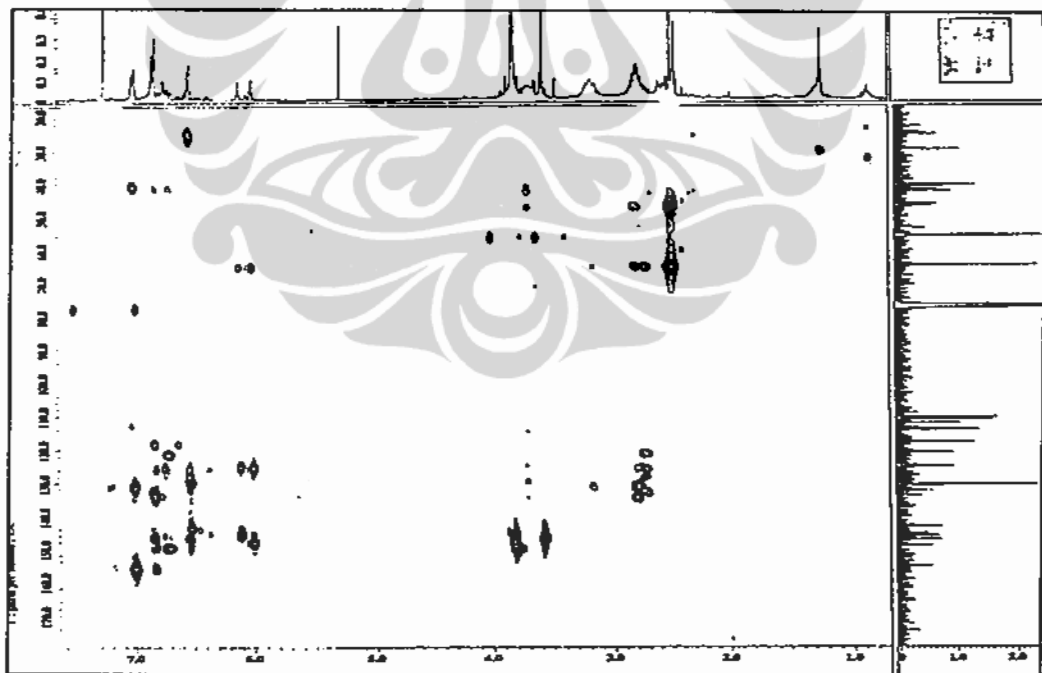


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-11

LAMPIRAN 27

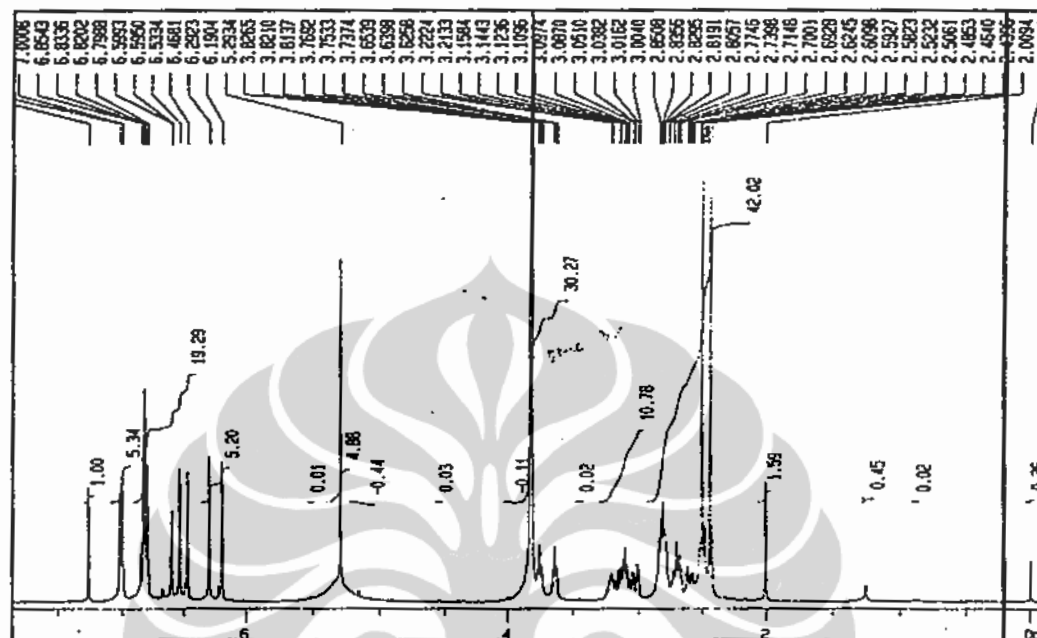


Spektrum HMQC senyawa A-11

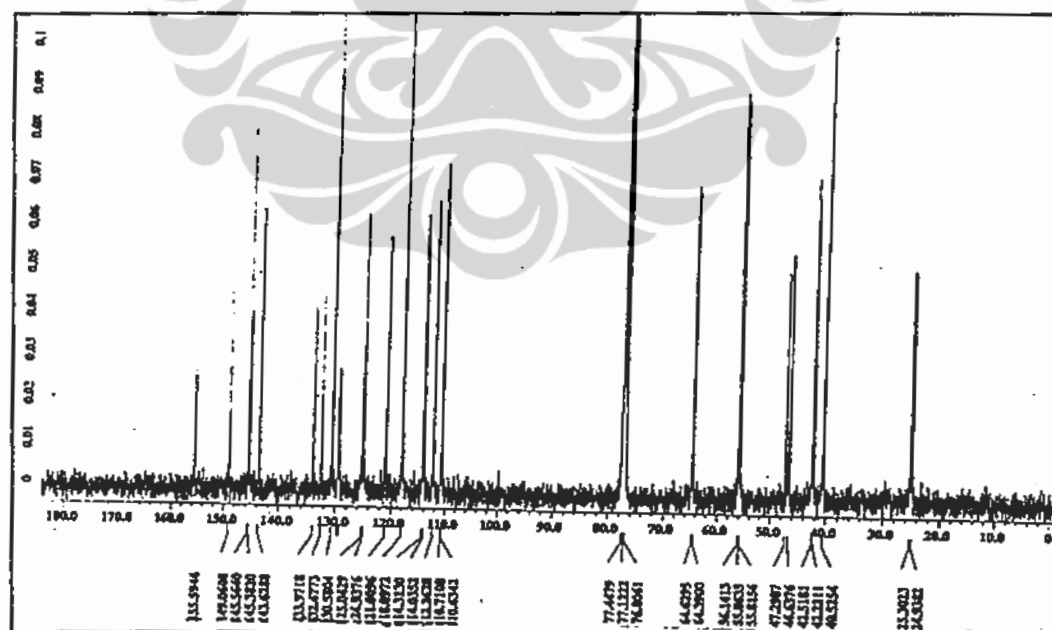


Spektrum HMBC senyawa A-11

LAMPIRAN 28

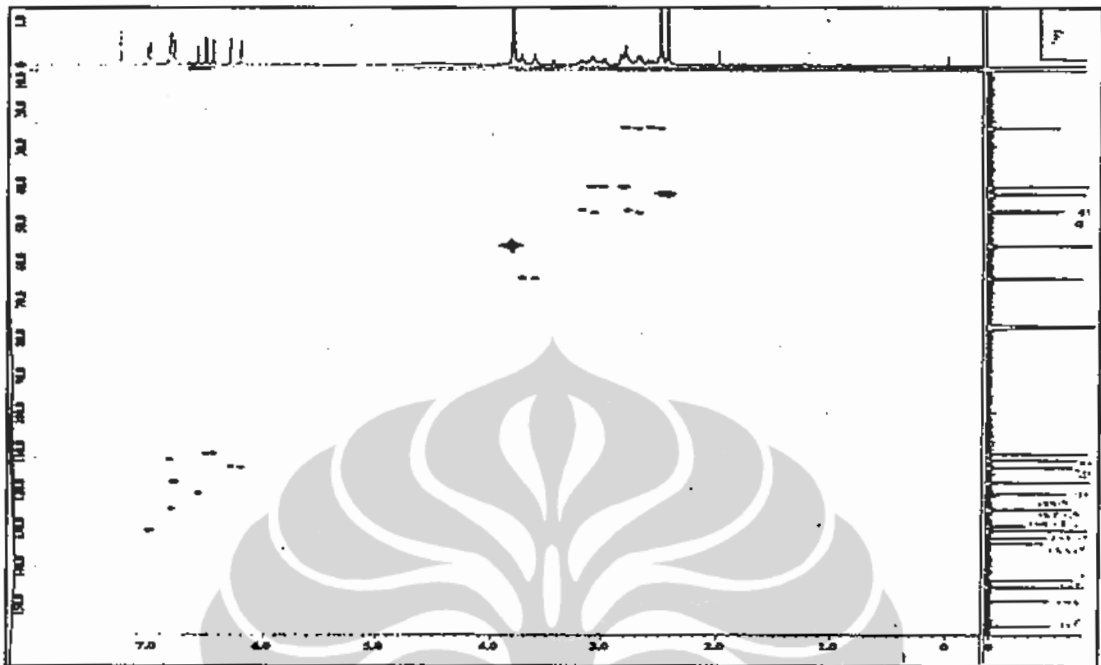


Spektrum ^1H NMR senyawa A-12

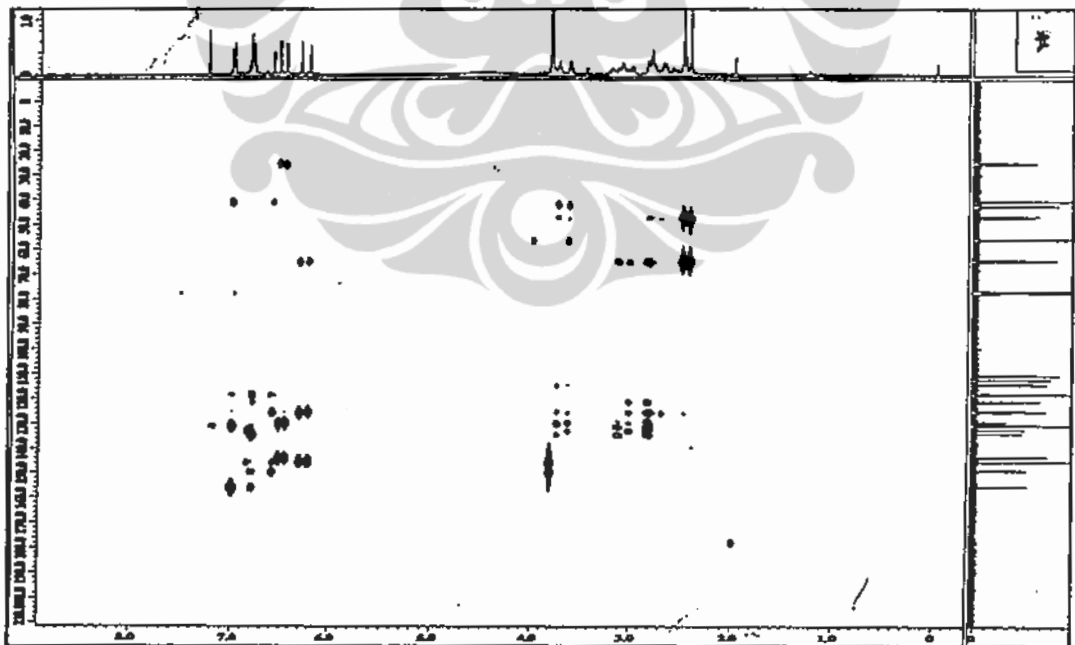


Spektrum ^{13}C NMR senyawa A-11

LAMPIRAN 29

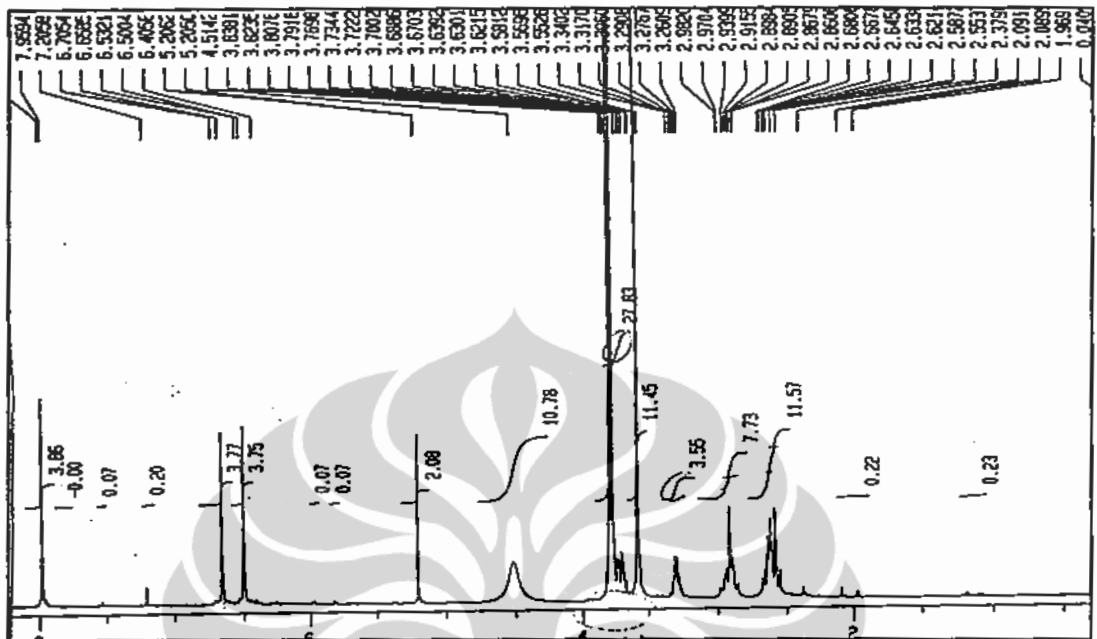


Spektrum HMQC senyawa A-12

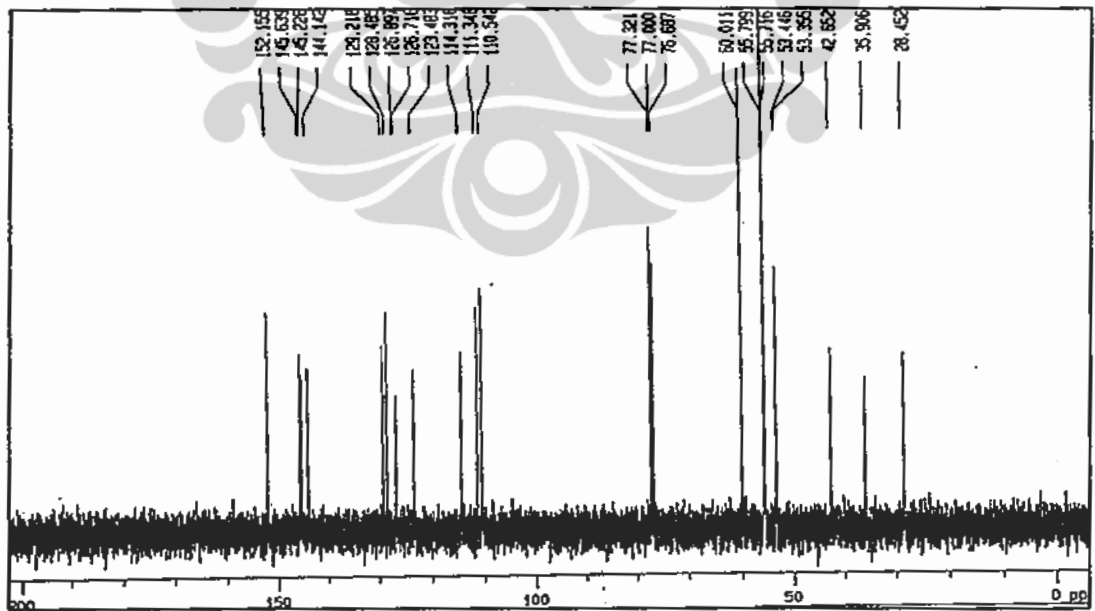


Spektrum HMBC senyawa A-12

LAMPIRAN 30

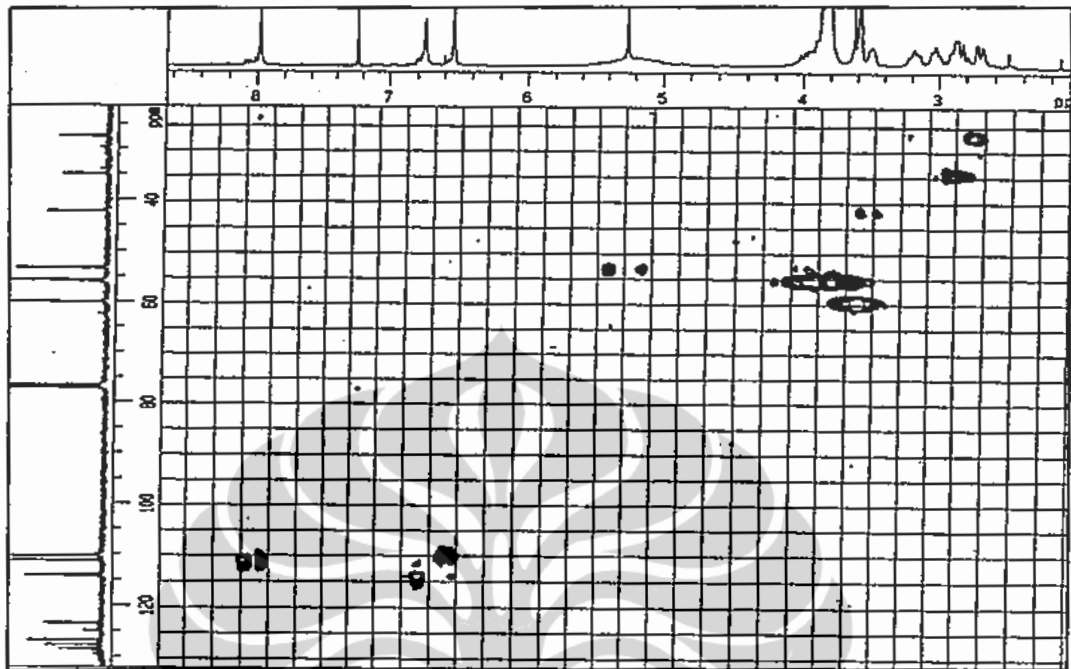


Spektrum ^1H NMR senyawa B-1

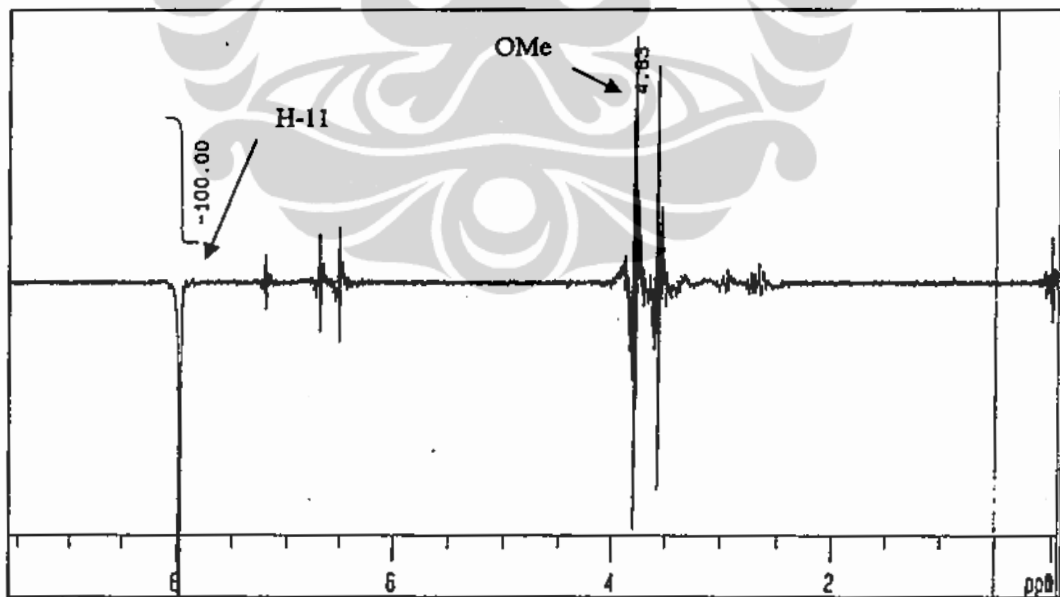


Spektrum ^{13}C NMR senyawa B-1

LAMPIRAN 31

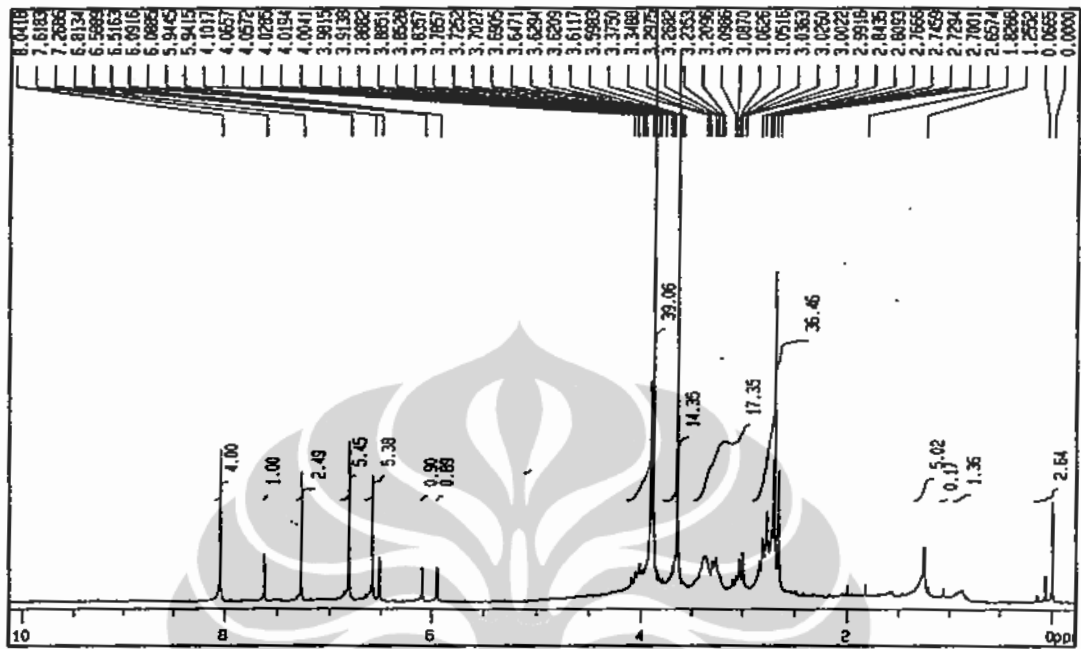


Spektrum HMQC senyawa B-1

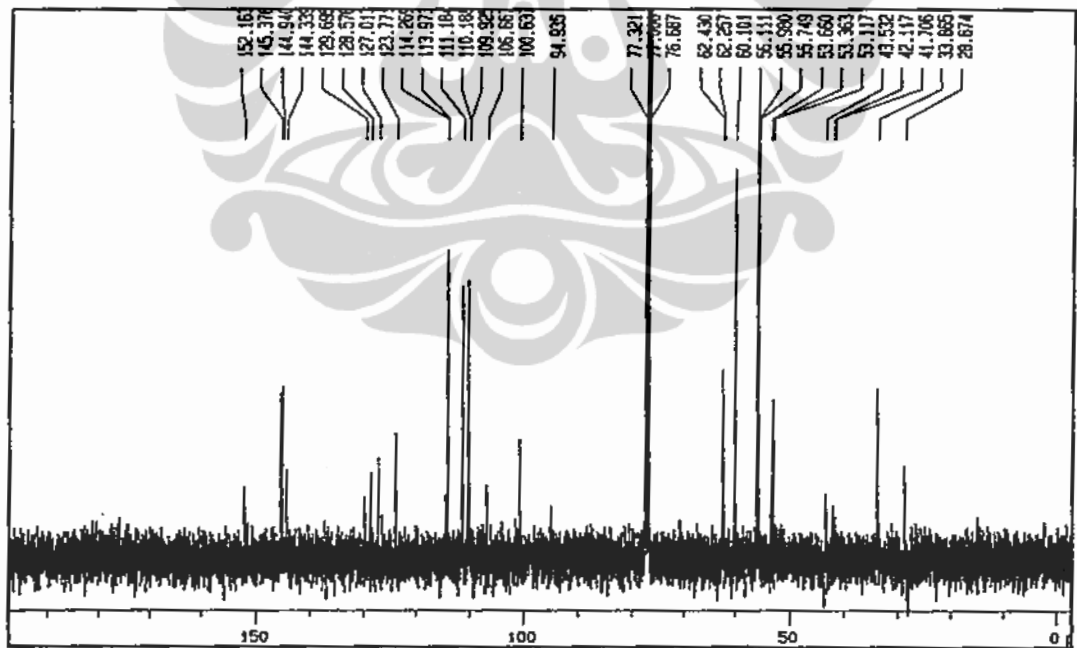


Spektrum NOE-Diff senyawa B-1

LAMPIRAN 32

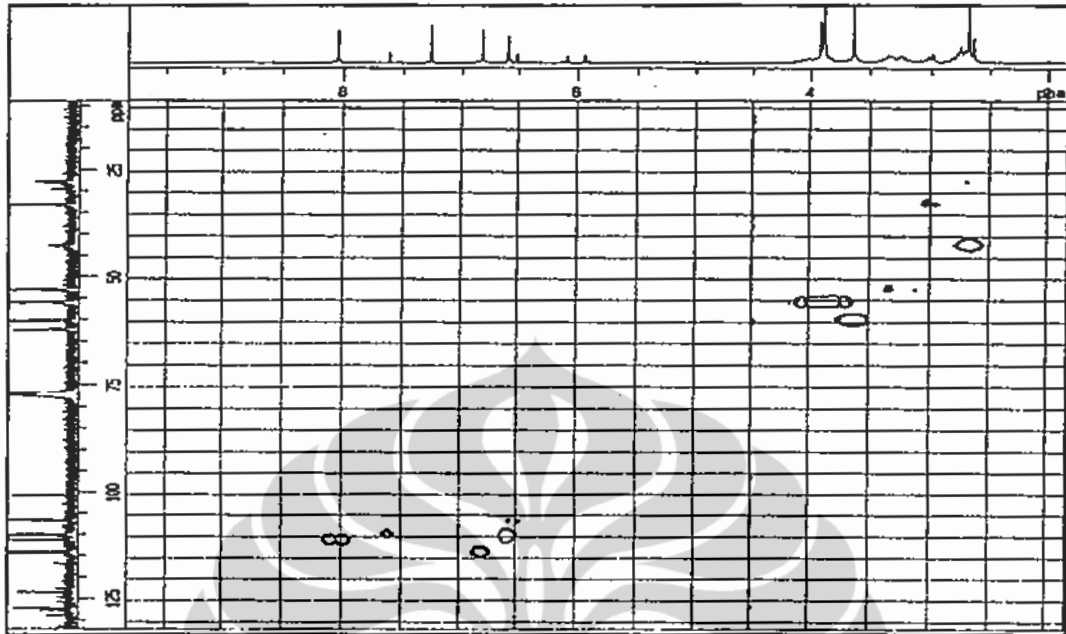


Spektrum ^1H NMR senyawa B-2

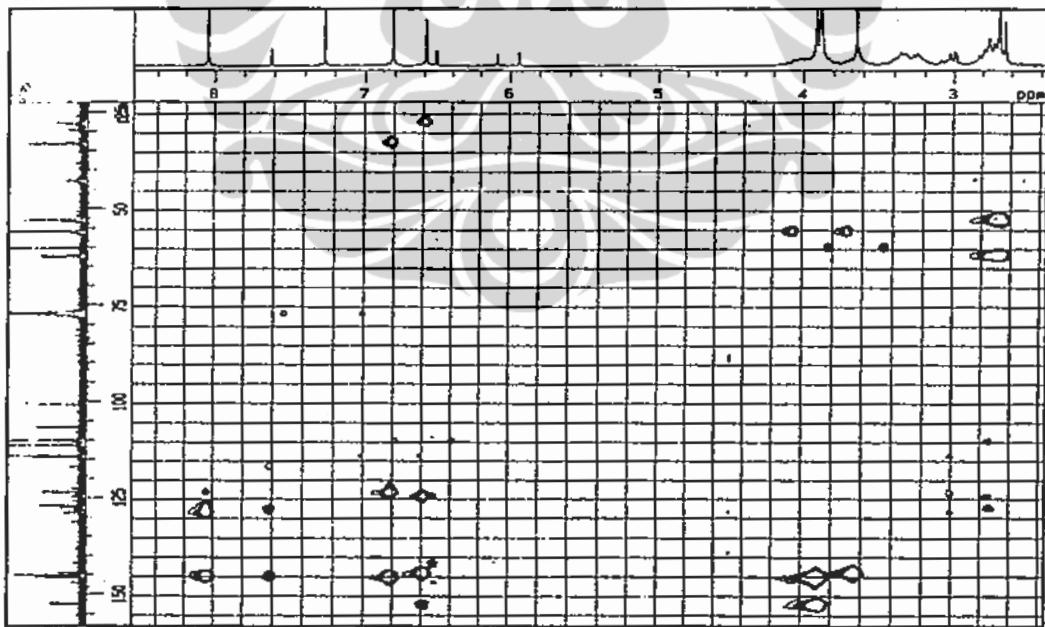


Spektrum ^{13}C NMR senyawa B-2

LAMPIRAN 33

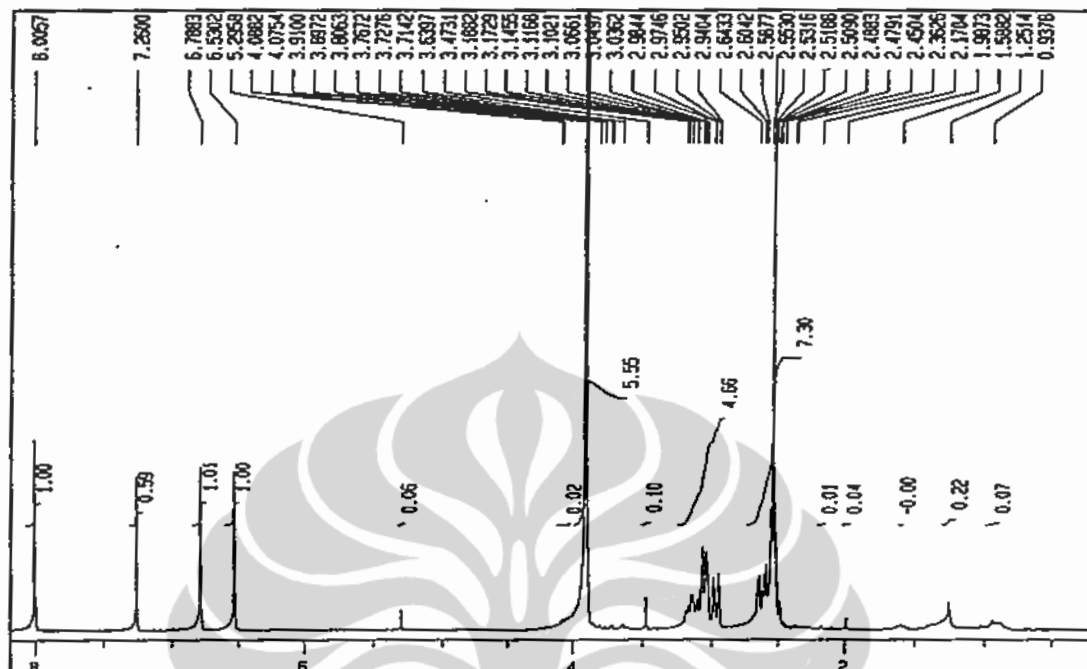


Spektrum HMQC senyawa B-2

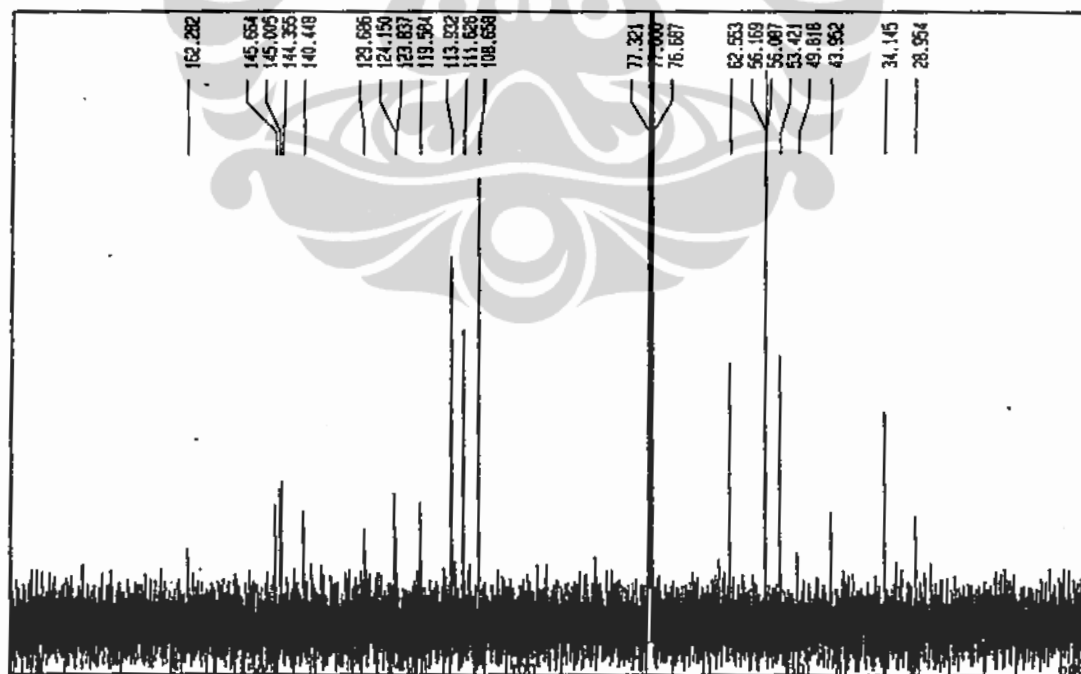


Spektrum HMBC senyawa B-2

LAMPIRAN 34



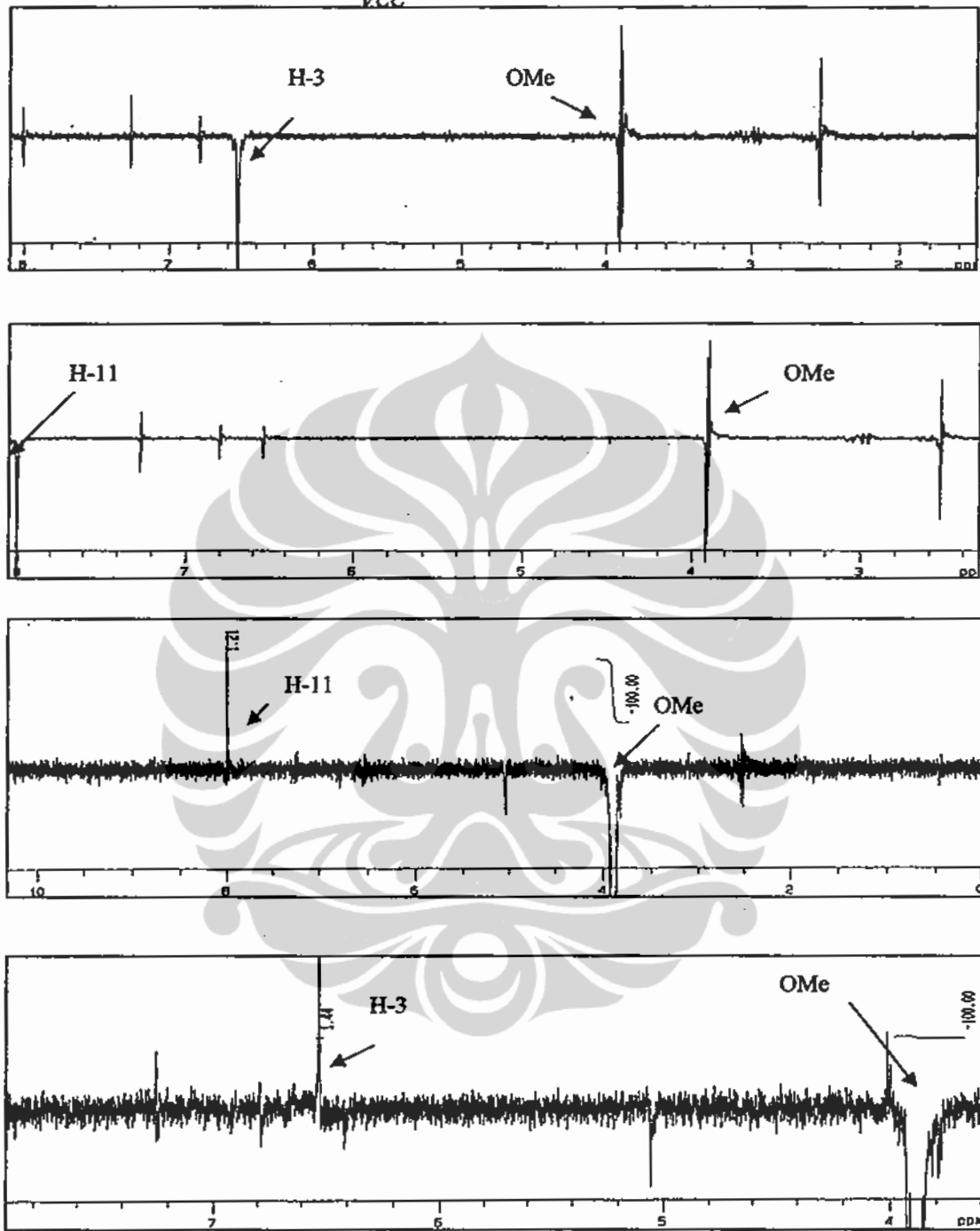
Spektrum ¹H NMR senyawa B-3



Spektrum ¹³C NMR senyawa B-3

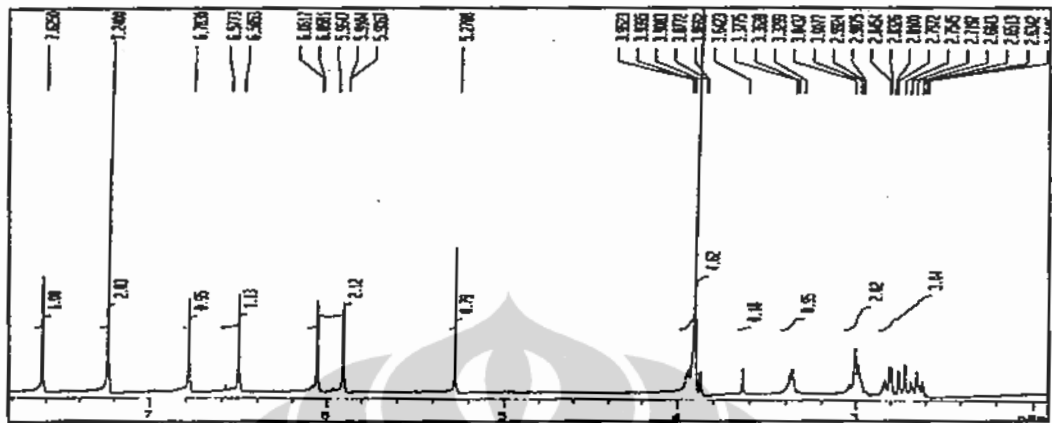
LAMPIRAN 35

1224

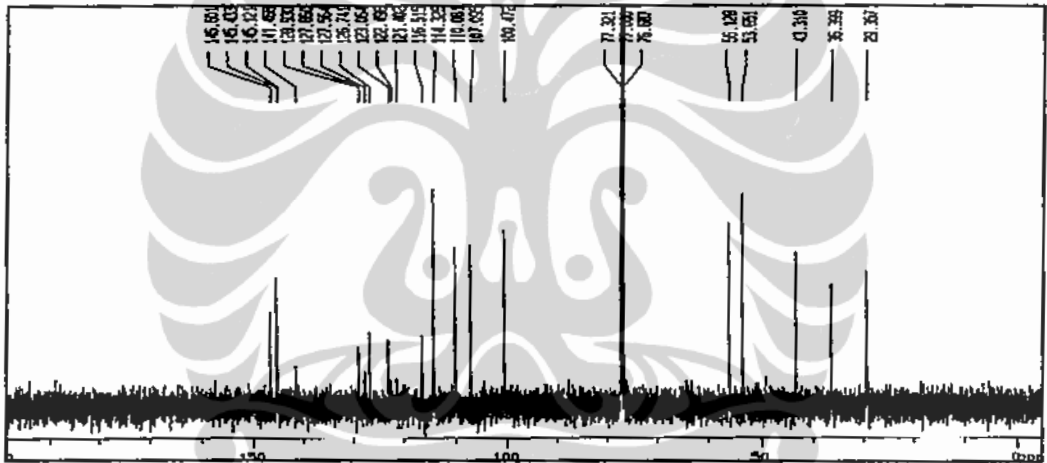


Spektrum NOE-Diff senyawa B-3

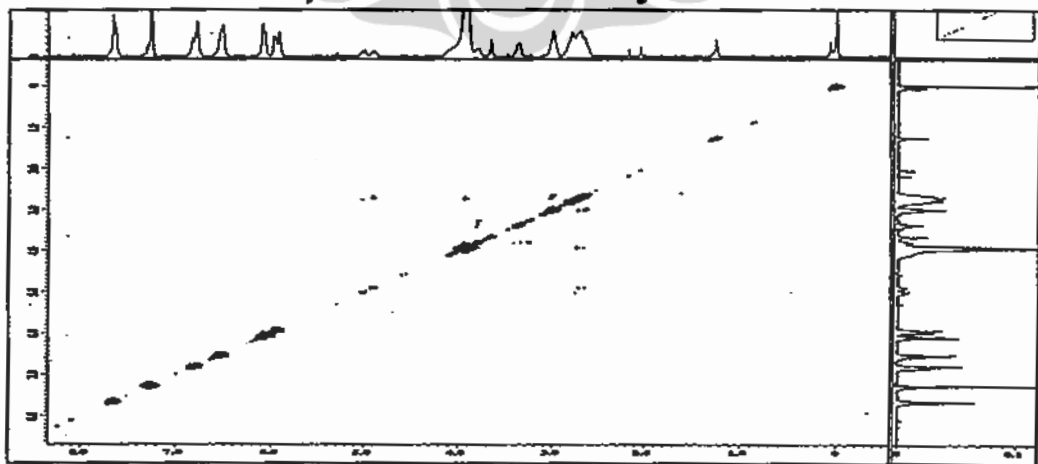
LAMPIRAN 36



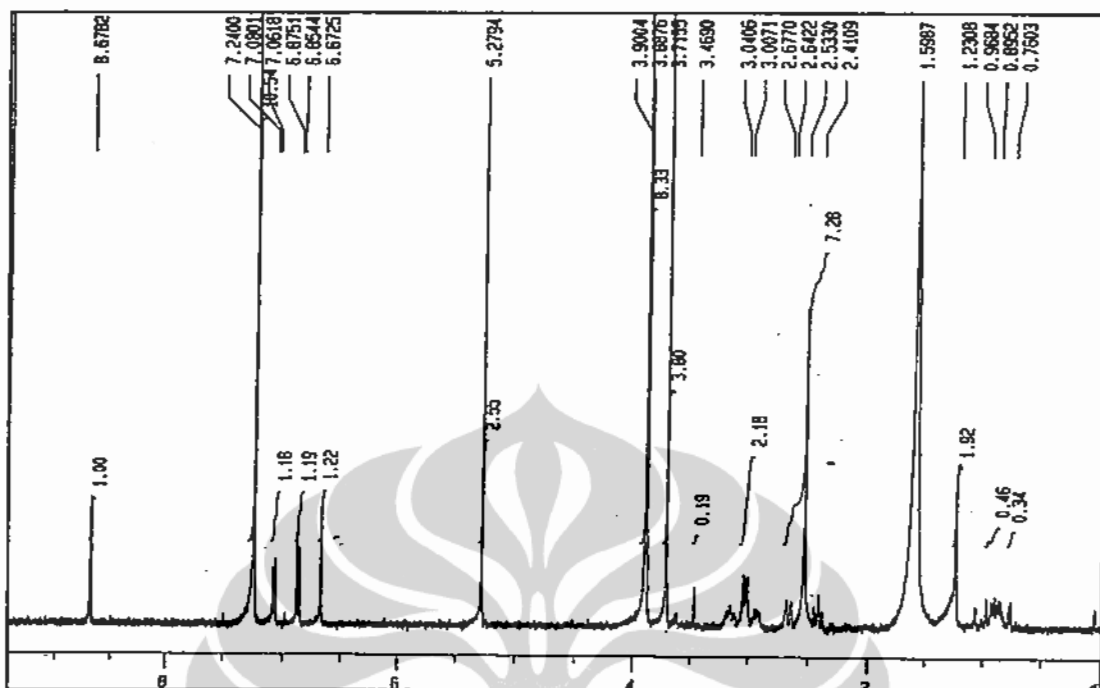
Spektrum ^1H NMR senyawa B-4



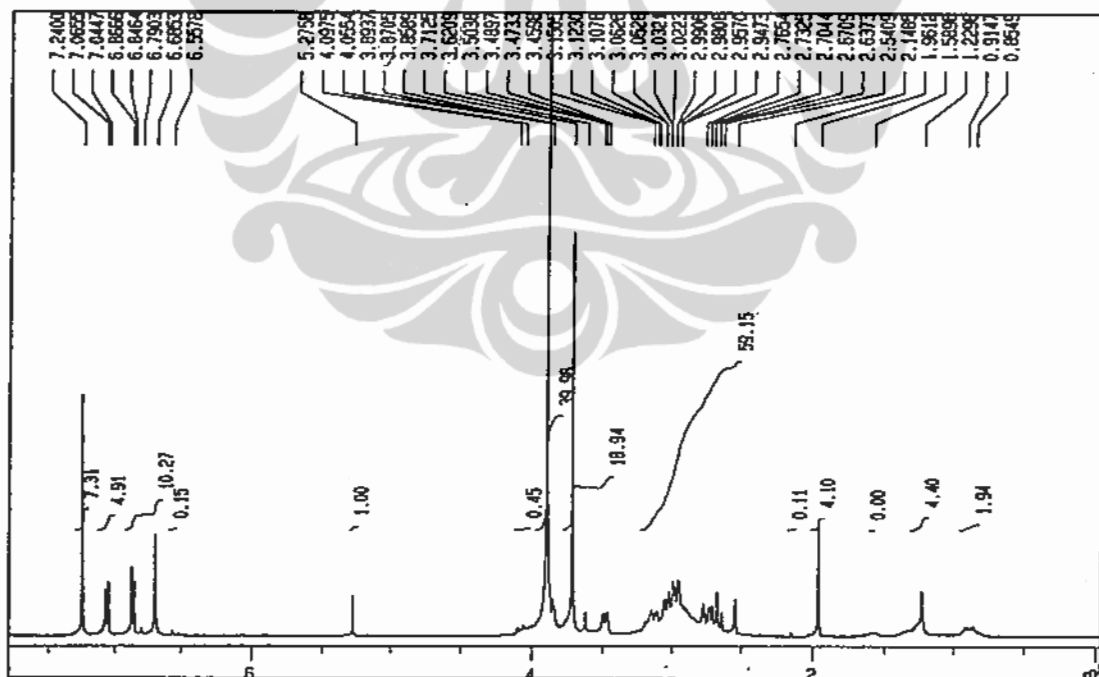
Spektrum ^{13}C NMR senyawa B-4



LAMPIRAN 37

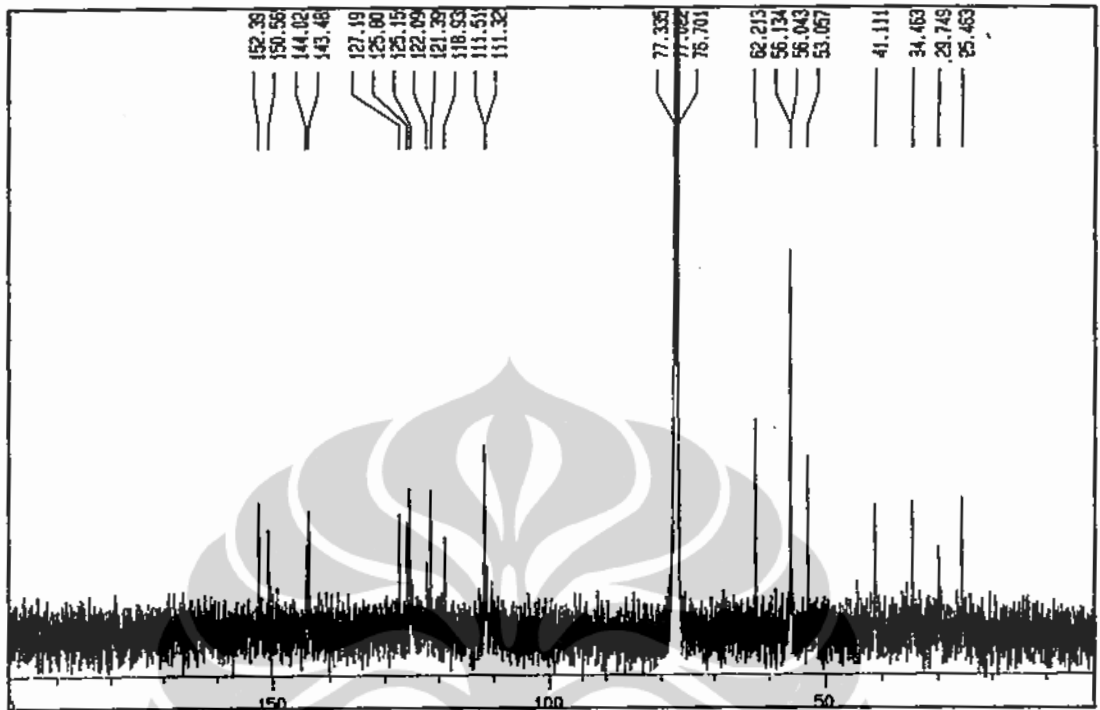


Spektrum ^1H NMR senyawa B-6

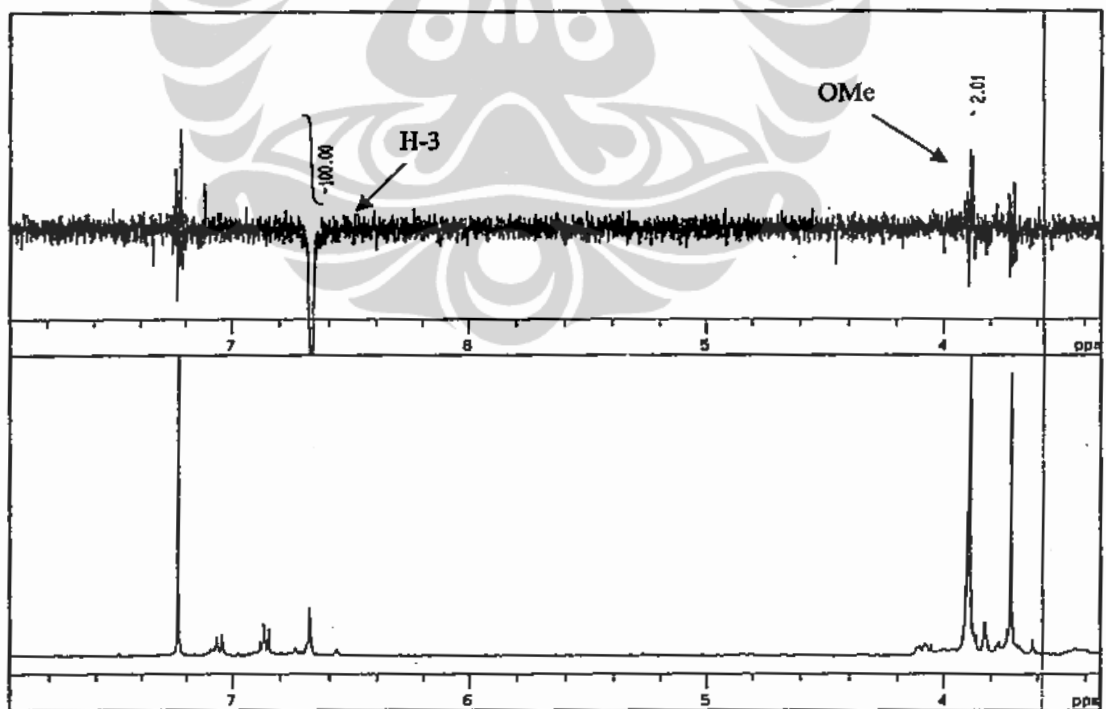


Spektrum ^1H NMR senyawa B-7

LAMPIRAN 38



Spektrum ^{13}C NMR senyawa B-7



Spektrum NOE-Diff senyawa B-7

LAMPIRAN 39



Spektrum ^1H NMR senyawa C-1



Spektrum ^1H NMR senyawa C-2

LAMPIRAN 40

LEMBAGA
BIOLOGI MOLEKULER
EIJKMAN

Consignment Certificate

This is to certify that the material attached herein is:

Plasmodium falciparum Clone 3D7 that was received from Prof . K. Kita, The University of Tokyo, Japan, and has been regularly propagated *in vitro* at The Eijkman Institute for Molecular Biology since January 2005.

The 3D7 clone is a chloroquine sensitive.



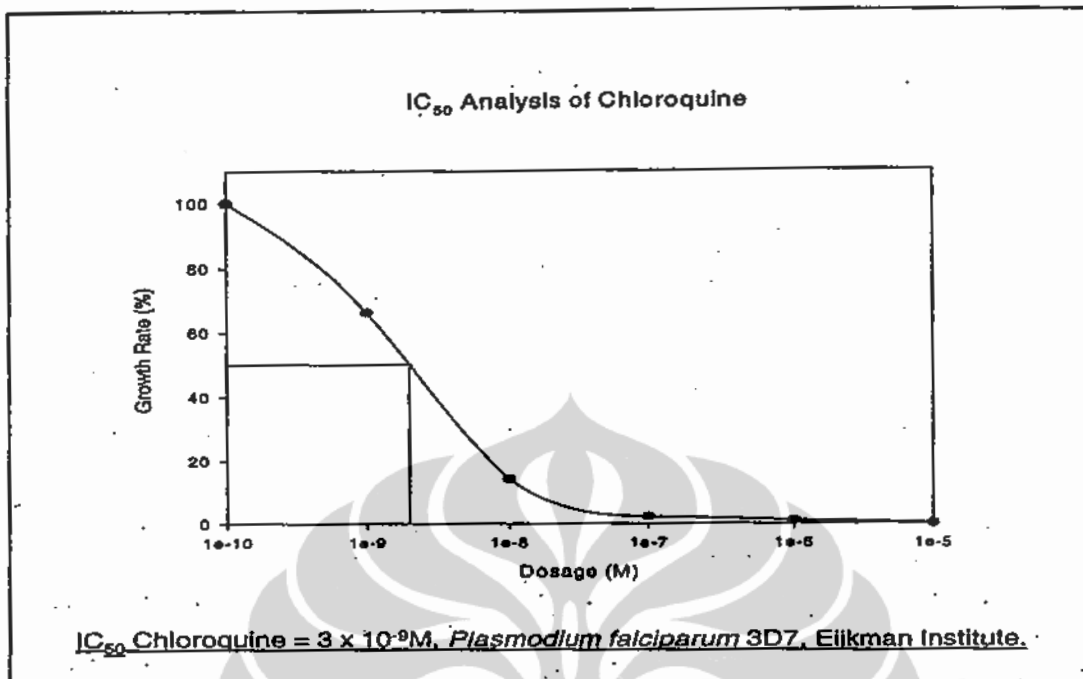
Syafruddin, M.D., Ph.D.

Eijkman Institute for Molecular Biology
Senior Research Fellow
Tel : +62-21-391 7131
Fax : +62-21-314 7982
E-mail : fdin@eijkman.go.id

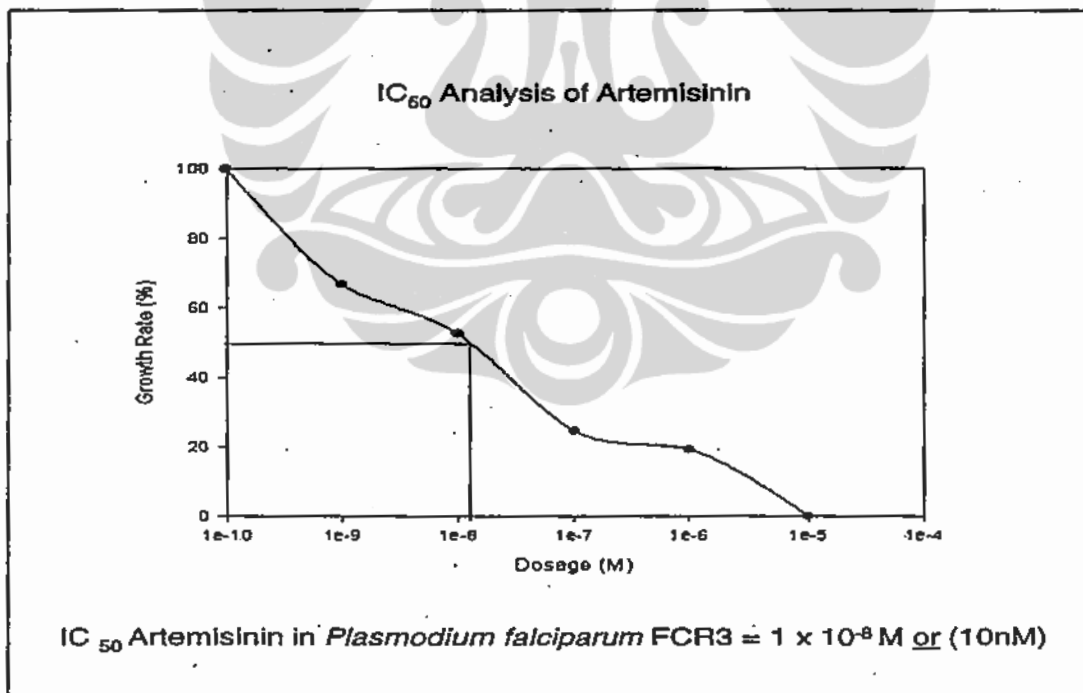
JL. DIPONEGORO 88, JAKARTA 10430 • TEL. 02-21-314 8885 - 391 7131 • FAX. 02-21-314 7982

Sertifikat *Plasmodium falciparum* Clone 3D7

LAMPIRAN 41

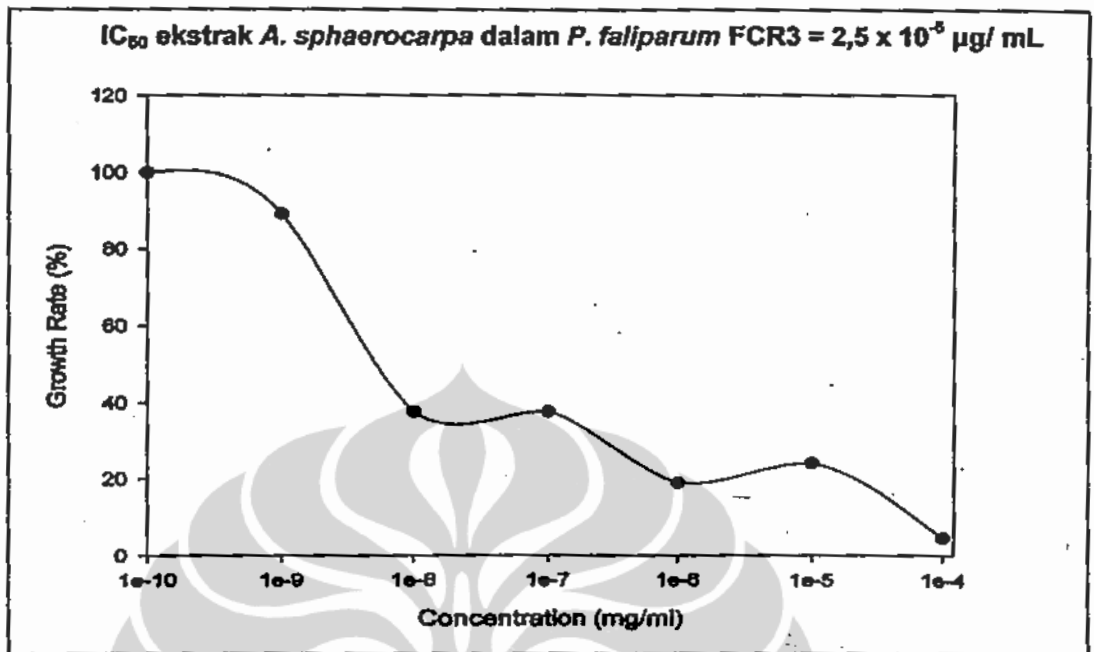


Grafik kadar chloroquine vs pertumbuhan *P. falciparum* 3D7

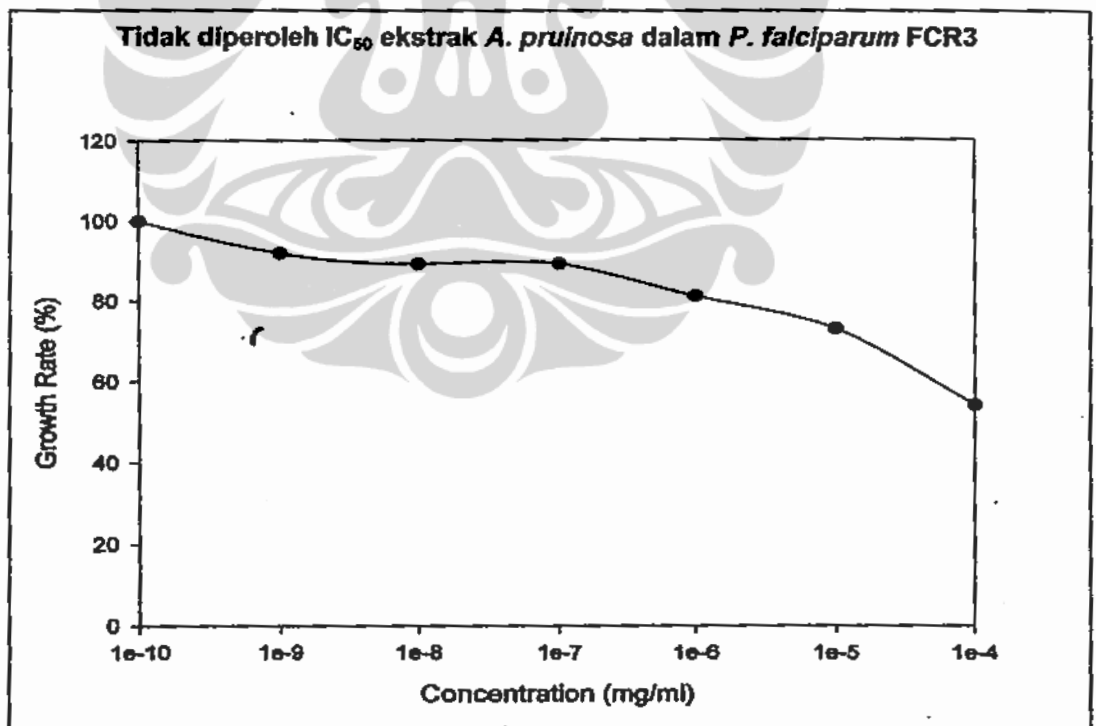


Grafik kadar artemisinin vs pertumbuhan *P. falciparum* FCR3

LAMPIRAN 42



Grafik kadar ekstrak *A. sphaerocarpa* vs pertumbuhan *P. falciparum*



Grafik kadar ekstrak *A. pruinosa* vs pertumbuhan *P. falciparum*