Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 9, No. 2, 2004, 58 - 61
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 40/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410-0177

Senyawa Aktif Brine Shrimps dari *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk

Suryati [a], Vivi Susanti [b], Dachriyanus [c,*]

a. Politeknik Engineering Universitas Andalas
b. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas
c. Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas

Diterima tanggal : 19 Juli 2004, Disetujui tanggal : 23 Agustus 2004

Abstract

In continuation of our work on the chemistry of biologically active constituents of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk leave been isolated a new compound from *n*-hexane fraction of the methanolic extract of the dried leaves as a compound X. This compound were tested by "Brine Shrimps Lethality Bioassay " which give significant activity with LC_{50} 11.6 µg/ml. The polyketide compound was isolated as yellowish green needles with melting point of 180 -182 ^{O}C. The determination of structure was carry out by spectroscopy methods.

Keywords : *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk, Senyawa X , "Brine Shrimps Lethality Bioassay"

Pendahuluan

Penelitian lanjutan yang dilakukan terhadap ekstrak tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* yang diduga kaya akan kandungan metabolit sekunder dengan aktifitas yang beragam, membuat studi mengenai species ini terus dilanjutkan guna penemuan bahan obat baru untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Dengan semakin pesatnya penelitian mengenai penemuan senyawa anti-kanker yang baru seiring banyaknya timbul penyakit degeneratif dewasa ini dilakukan uji toksisistas terhadap ekstrak, fraksi dan senyawa hasil isolasi dari tumbuhan ini. Pada Penelitian terdahulu telah berhasil di isolasi senyawa rhodomyrtone dan combretol yang menunjukkan aktifitas antimikroba (Dachriyanus, *et al*., 2002; Dachriyanus, *et al*., 2004; Dachriyanus, 2004). Isolasi diarahkan pada penemuan senyawa baru sekaligus pengujian bioassay untuk mengetahui kandungan kimia aktif yang terdapat didalamnya yang berhubungan dengan aktifitas biologis ataupun farmakologisnya (Donatus, *et al*., (Ed), 1983).

Obat-obat antikanker erat kaitannya dengan senyawa yang bersifat sitotoksik. Uji toksisitas dilakukan dengan metoda "Brine Shrimps", dimana metoda ini merupakan skrining awal adanya aktifitas sitotoksik. Metoda ini dipilih karena merupakan suatu uji aktifitas ekstrak tumbuhan yang berlangsung cepat, sederhana, tidak memerlukan kondisi aseptis dan tidak mahal serta menggunakan hewan uji berupa udang *Artemia salina* yang telurnya dapat dibeli dipasaran dan juga dapat dengan mudah diperlakukan di bawah kondisi laboratorium .

Dari uji pendahuluan terhadap ekstrak dan fraksi tumbuhan ini diperkirakan tumbuhan ini mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik. Ukuran toksisistas suatu senyawa dilihat dari nilai LC_{50}, dimana suatu substansi akan bersifat toksik bila memiliki nilai LC_{50} yang kecil dari 1000 µg/mL. Untuk itu dicoba untuk mengisolasi komponen dari fraksi aktif tumbuhan ini serta kemungkinan pengembangan dalam bidang pengobatan kanker (Meyer, *et al*., 1982).

Metodologi Penelitian

Umum

Kromatografi kolom, kromatografi radial, Spektrometer Bruker ADV-600 untuk pengukuran spektrum ^{1}H-RMI (500 MHz) dan – ^{13}C-RMI (125 MHz), Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu, Spektrometer IR Biorad (Digilab FTS-45), Spektrometer Massa Fison VG Autospec Instrument (energi ionisasi 70 eV), Fisher-John Melting Point Apparatus, pipet mikro, Silika gel BDH (40-63 µm) (Merck®), Silika gel 60 PF_{254} gipshaltig (Merck®), wadah pembiakan larva udang, pipet pasteur, air laut dan kista *Artemia salina* Leach.

Bahan Tumbuhan

Sampel dikoleksi dari daerah sekitar Kampus Unand Limau Manis, Padang. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) dengan nomor koleksi DR-174.

Penulis untuk korespondensi: Telp.62-751-71682,Fax.62-751-7311
E-mail : dachriyanus@telkom.net

Ekstraksi dan Isolasi

Daun kering (5,5 kg) dihaluskan dengan mesin grinder, dan dimaserasi dengan metanol. Ekstrak metanol diuapkan *in vacuo* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol (233,3 g). Ekstrak kental metanol difraksinasi dengan *n*-heksana (57 g), etil asetat (60 g) dan butanol (102 g). Kemudian ekstrak kental metanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat diuji aktifitas aktifitas toksisitasnya dengan metoda "Brine Shrimps" Fraksi yang aktif dikolom kromatografi, fraksi yang memberikan pola yang sama pada KLT digabung, lalu dilanjutkan dengan kromatografi radial dan rekristalisasi dengan etil asetat – heksana.

Pengujian Toksisitas dengan Metoda "Brine Shrimps"

Telur *Artemia salina* Leach dimasukkan ke dalam wadah berisi air laut, dalam 24 jam akan menetas membentuk larva, dan baru digunakan setelah 48 jam. Bahan uji yang digunakan sebanyak 40 mg dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1000, 100, 10 µg/mL. Jumlah larva udang yang digunakan untuk setiap pengamatan 10 ekor. Kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Dengan analisa probit dapat dihitung nilai LC_{50} (Meyer,et al.,1982).

Hasil dan Pembahasan

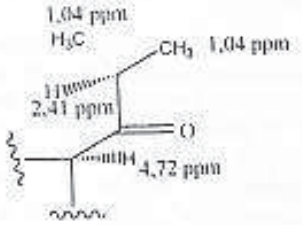
Pengujian pendahuluan uji toksisitas terhadap ekstrak kental metanol, fraksi *n*-heksana dan etil asetat dilakukan dengan metoda "Brine Shrimps" diperoleh harga LC_{50} berturut-turut adalah 181,33 µg/mL ; 154,33 µg/mL ; 104,33 µg/mL.

Dari proses isolasi yang dilakukan dengan metoda kromatografi didapatkan senyawa X (120 mg) berupa kristal jarum berwarna kuning kehijauan dengan titik leleh 180-182 °C dengan [M$^+$] 428,5 dengan rumus molekul $C_{25}H_{32}O_6$. IR menunjukkan serapan maksimum pada bilangan gelombang 3436,14 cm^{-1}, 2920,24 cm^{-1}, 2850,49 cm^{-1}, 2360,67 cm^{-1}, 1656,57 cm^{-1} dan 1031,84 cm^{-1} , ^{1}H NMR dalam $CDCl_3$ δ 1,04 ; 1,05 d, δ 2,36 ; 2,39; 2,42 t, δ 1,29 ; 1,37 ; 1,46 ; 1,62 ; 2,41 ;4,72 s. ^{13}C NMR δ 26,02 ; 22,52 ; 24,16 ; 24,62 ; 15,72 (Me), δ 45,42 ; 56,76; 128,42 (C) ; 175,66 ; 192,42 ; 185,39 ; 212,42 (C=O), δ 34,65 ; 46,65 (CH). HSQC senyawa X dalam $CDCl_3$ δ (15,72 1,04); (1,05 ; 22,51 1,37) ; (26,02 ; 1,29) ; (24,16; 1,46). HMBC (15,72 ; 2,41) ; (26,02 ; 1,37); (C 34,65 ; 1,05 ; 1,04 ; 4,72); (45,42 ; 1,46) ; (56,76 ; 1,29 . 1,37); (C 113,29 ; H 4,72) ; (C 175,66 ; H 1,46 . 4,72); (C 192,42 ; 1,29 1,37) ; (C 212,42 ; 1,29 . 1,37 . 1,46) .

Tabel 1. Korelasi atom C dengan proton berdasarkan data spektrum ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, COSY, HSQC dan HMBC

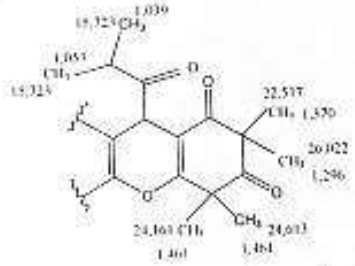
No.	δ_C (ppm)	Jenis C	δ_H (ppm)	HMBC
2'	15,723	CH_3	2,394	2,408
4-Me,5-Me	26,022	CH_3	1,461	1,370
2-Me,7-Me	22,517	CH_3	1,370	
2-Me,7-Me	24,161	CH_3	1,296	
4-Me,5-Me	24,623	CH_3	1,461	
2'-Me_2	34,651	CH	1,039;1,053	1,039;1,053;4,718
4 , 5	45,419	C	-	1,461
9	46,651	CH	4,718	
2 , 7	56,763	C	-	1,296;1,370
9a,8a	113,290	C	-	4,718
10a,4a	175,657	C	-	1,461; 4,718
1'	185,395	C=O	-	
1 , 8	192,425	C=O	-	1,296; 1,370
3 , 6	212,425	C=O	-	1,296;1,370;1,461

Dari spektrum ^{1}H-NMR senyawa X dalam pelarut $CDCl_3$ menunjukkan adanya enam buah atom hidrogen yang muncul pada pergeseran kimia 1,04 ppm (doublet); 1,29 ppm; 1,37 ppm; 1,46 ppm; 4,72 ppm (singlet) dan satu buah sinyal triplet dengan pergeseran kimia 2,41 ppm.

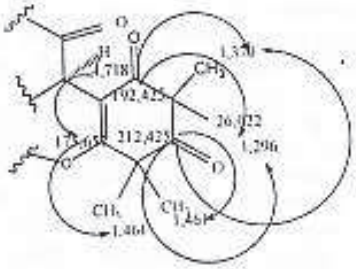


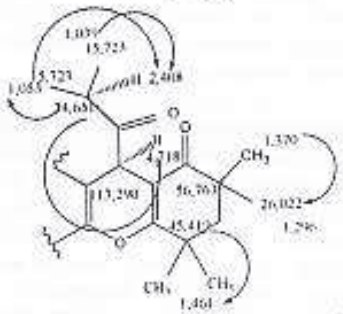
Sinyal singlet dengan pergeseran kimia 4,72 ppm diduga berasal dari proton yang terletak di tengah kerangka/ cincin yang dipengaruhi oksigen yang berasal dari gugus karbonil, sehingga proton ini sangat tidak terlindungi. Sinyal doublet dengan pergeseran kimia 1,04 ppm diperkirakan terletak pada cabang isobutil yang berasal dari dua buah gugus metil yang dipengarahi satu proton tetangganya yang berasal 0dari gugus metin. Sinyal 2,41 ppm muncul sebagai triplet yang diduga berasal dari gugus metin yang dipengaruhi oleh dua gugus metil sehingga muncul sebagai sinyal multiplet.

Dari pemeriksaan HSQC diketahui proton yang terikat langsung dengan atom karbonnya, proton dengan pergeseran 1,37 ppm terikat langsung dengan atom karbon pada pergeseran 22,52 ppm, sementara atom karbon dengan pergeseran 26,02 ppm mengikat langsung atom hidrogen dengan pergeseran kimia 1,29 ppm yang masing-masingnya dengan integrasi 6 proton. Selanjutnya atom karbon dengan pergeseran 24,62 ppm dan 24,16 ppm mengikat proton dengan pergeseran kimia yang sama yaitu 1,46 ppm dengan integrsi masing-masing 6 proton.

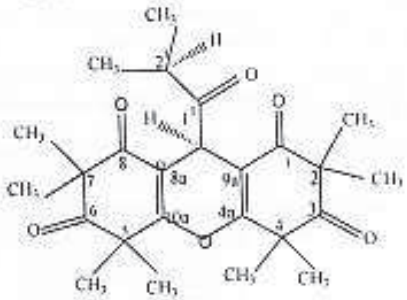


Dari spektrum HMBC terlihat adanya korelasi antara atom karbon dengan protonnya sejauh 2 – 3 ikatan.





Dari keseluruhan data spektrum diatas, diperkirakan struktur lengkap senyawa X adalah:



Kesimpulan

Hasil uji toksisitas dengan metoda "Brine Shrimps" didapatkan nilai LC_{50} 11,6 µg/mL , hal ini berarti senyawa X mempunyai aktifitas toksisitas yang sangat kuat yang diperkirakan juga akan memiliki aktifitas sitotoksik yang kuat disamping juga akan aktif secara farmakologis. Dari data-data spektroskopi telah dapat ditentukan struktur senyawa X yang merupakan senyawa baru yang belum pernah dilaporkan sebelumnya dari ekstrak tumbuhan ini. Tetapi untuk penetapan struktur secara pasti diperlukan spektrum dengan resolusi tinggi (high resolution spectroscopy).

Acknowledgement

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Drs. Rusjdi Tamin yang telah melakukan identifikasi sampel, Prof. Dr. Peter Proksch atas fasilitas pengukuran spektrum dan kepada DAAD sebagai penyandang dana.

DAFTAR PUSTAKA

Dachriyanus, Salni, M. V. Sargent, B. W. Skelton, I. Soediro, M. Sutisna, A. H. White and E. Yulinah, 2002, "Rhodomirtone, an Antibiotic from *Rhodomyrtus tomentosa*", *Aust. J. Chem.*, **55**, 229-232.

Dachriyanus, R. Fahmi, M. V. Sargent, B. W. Skelton and A. H. White, 2004, "5-Hydroxy-3,3',4',5',7'-pentamethoxyflavone (combretol)", *Acta Cryst.*, E60, 086-088.

Dachriyanus, 2004, "Cytotoxic compound from Karamuntiang (*Rhodomyrthus tomentosa*)", *DAAD Research Report*.

Donatus, I.A., D. Kurniawan , D. Wahyono, Taroeno dan Mulyono (Ed), 1983, "Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat", Jurusan Farmasi, UGM, Yogyakarta, 1-10.

Meyer, B.N., N.R Ferrigni, J.E Putnam L,B Jacobsen, D.E Nichols and JL Mc.Laughin, 1982, "Brine Shrimps : A Convenient General Bioassay for Active plant Constituens", *J.of Medicinal Plan Medica*, **45** : 31-34.