

AKTIVITAS SITOTOKSIK ALKALOID DARI *Cryptocarya archboldiana* Allen**CYTOTOXIC ACTIVITY OF ALKALOIDS ISOLATED FROM *Cryptocarya archboldiana* Allen**

Suwandri¹, Euis Holisotan Hakim², Yana Maolana Syah², Lia Dewi Juliawaty²

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jenderal Soedirman
Kampus UNSOED Karangwangkal Jl. Dr. Soeparno Purwokerto 53123

²Kelompok Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia,
Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10, Bandung, 40132, Indonesia
Email: suwandri_w@yahoo.com (Suwandri)

ABSTRAK

Cryptocarya merupakan salah satu genus terbesar dari famili Lauraceae dan sebagian besar spesiesnya tumbuh di hutan hujan tropis Asia-Pasifik antara lain hutan di Indonesia. Secara umum genus *Cryptocarya* mengandung metabolit sekunder utama golongan alkaloid, 2-piron dan flavonoid serta memiliki berbagai aktivitas biologis. Tiga senyawa alkaloid yang telah dikenal telah diisolasi dari tumbuhan *Cryptocarya archboldiana*; boldin, laurilitin, dan retikulin. Struktur molekul ketiga senyawa tersebut telah ditetapkan berdasarkan analisis spektroskopi (UV, ¹H dan ¹³C NMR) serta perbandingan dengan data spektrum senyawa yang telah dilaporkan. Senyawa laurilitin menunjukkan aktivitas sitotoksitas yang moderat, sedangkan boldin dan retikulin memiliki aktivitas yang lemah terhadap sel murine leukemia P388.

Kata kunci: *C. archboldiana*, alkaloid, sitotoksik, aporfin, benzilisokuinolin.

ABSTRACT

Cryptocarya is one of the largest genus of Lauraceae and most of the species grow in the tropical rain forests of Asia-Pacific, include in Indonesian forest. Generally *Cryptocarya* contains alkaloids, 2-piron, and flavonoids as well as has a variety of biological activities. Three alkaloids have been isolated from *Cryptocarya archboldiana*; boldine, laurilitine, and reticuline. The molecular structure of all these compounds have been established by spectroscopic analysis (UV, ¹H, and ¹³C NMR) and comparison with the spectral data of compounds that have been reported. The cytotoxic of laurilitine showed moderate activity, while boldine and reticuline have weak activity against P388 murine leukemia cells.

Key words: *C. archboldiana*, alkaloid, cytotoxic, aporphine, benzyloquinoline.

Pendahuluan

Cryptocarya merupakan salah satu genus dari famili Lauraceae, terdiri dari 350 spesies (Kosterman, 1964). Beberapa spesies *Cryptocarya* telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti penyakit kulit, nyeri otot, nyeri sendi, sakit kepala, mual, infeksi karena jamur dan bakteri (Heyne, 1987).

Secara umum genus *Cryptocarya* mengandung metabolit sekunder utama golongan alkaloid, 2-piron, dan flavonoid yang karakteristik untuk genus ini. Beberapa metabolit sekunder dari spesies *Cryptocarya* memperlihatkan berbagai aktivitas biologis seperti antifertilitas, antitumor, menghambat perkembangan sel kanker payudara, antivirus, antimikroba, penenang, menghambat perkecambahan, dan menghambat proses siklooksigenase (Zschocke dan Van Staden, 2000).

Di Indonesia, terdapat ratusan spesies *Cryptocarya* dan dikenal dengan nama daerah medang atau huru. Sebagian spesies *Cryptocarya* ini merupakan tumbuhan endemik Indonesia. Tumbuhan *Cryptocarya* tersebar di seluruh kepulauan Indonesia, namun sebagian besar di wilayah bagian

timur seperti Sulawesi dan Papua. Belum banyak kajian fitokimia dari tumbuhan *Cryptocarya* Indonesia. Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dilaporkan bahwa turunan calkon dan flavonoid dari *C. costata* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel murine leukemia (Usman dkk., 2006). Dalam rangka melanjutkan penelitian yang dilakukan oleh grup riset ini mengenai fitokimia dan aktivitas biologis metabolit sekunder tumbuhan Lauraceae, maka telah dilakukan isolasi dan karakterisasi serta uji aktivitas sitotoksik metabolit sekunder *C. archboldiana* Allen. Berdasarkan studi literatur, dari daun tumbuhan *C. archboldiana* telah berhasil diisolasi senyawa armepavin, suatu alkaloid benziltetrahidroisokuinolin (Johns dkk., 1969).

Metode

Alat

Spektrum UV diukur dengan spektrofotometer Varian 100 Conc. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ diukur dengan spektrometer JEOL ECA 500 yang beroperasi pada 500 MHz (^1H) dan 125 MHz (^{13}C). Spektrum MS diperoleh dengan menggunakan spektrometer Waters LCT Premier XE TOFF MS. Kromatografi cair tekan (KCV) dilakukan

dengan menggunakan Si-gel 60 GF₂₅₄ (Merck), kromatografi radial dilakukan dengan menggunakan Si-gel 60 PF₂₅₄ (Merck), analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada pelat berlapis Si gel Kieselgel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm (Merck).

Bahan Tanaman

Bahan tumbuhan berupa kulit batang *C. archboldiana* Allen dikumpulkan dari Papua. Spesimen tumbuhan diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong.

Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kering kulit batang *C. archboldiana* sebanyak 1,6 kg dimaserasi dengan 5 L MeOH selama 24 jam. Maserasi dilakukan tiga kali. Filtrat hasil maserasi tersebut diuapkan pada tekanan rendah menghasilkan ekstrak MeOH pekat sebanyak 204,5 g. Ekstrak MeOH dilarutkan kembali dalam MeOH-H₂O (2:1), lalu diasamkan dengan asam sitrat 2% sampai pH 2-3. Residu yang tidak larut dipisahkan dengan penyaringan. Bagian yang larut kemudian dipartisi dengan EtOAc menghasilkan fraksi EtOAc non-alkaloid. Fraksi MeOH-H₂O dibasakan dengan amonia sampai pH 8-9 yang selanjutnya dipartisi dengan EtOAc menghasilkan fraksi EtOAc alkaloid (8,7 g). Komponen

alkaloid difraksinasi dengan teknik kromatografi tekan (fase diam Si-gel; fase gerak metilen klorida:MeOH 9,5:0,5) menghasilkan 7 fraksi yaitu fraksi 1 sampai 7. Fraksi 1-3 digabung (494 mg), kemudian difraksinasi dan dimurnikan lebih lanjut dengan teknik kromatografi tekan (Silika gel, CH₂Cl₂:EtOAc:MeOH 18:1:1) diperoleh senyawa murni, yaitu **boldin** (20 mg). Fraksi 4 didapatkan telah murni dan dihasilkan senyawa **retikulin** (74 mg). Fraksi 5-7 digabung (224 mg), lalu difraksinasi dan dimurnikan lebih lanjut dengan teknik kromatografi tekan (Si-gel, metilen klorida:EtOAc:MeOH 18:1:1) diperoleh senyawa **laurוליםin** (26 mg).

Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik senyawa yang telah diisolasi dilakukan secara *in vitro* terhadap sel murine leukemia P-388 menggunakan MTT [3-(4,5-dimetiltiazolo-2-il)2,5-difeniltetrazolium bromida].

Hasil dan Pembahasan

Senyawa **retikulin** diperoleh berupa *gum* berwarna coklat. Spektrum UV senyawa ini dalam pelarut metanol memperlihatkan serapan-serapan maksimum pada λ_{maks} 208 (4,88) dan 283 (4,20) nm. HR-ESIMS m/z : [M+H]⁺ 330,1689 (perhitungan [M+H]⁺ untuk

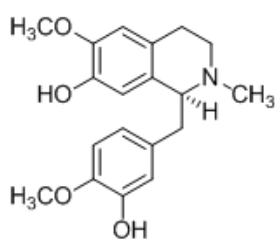
$C_{19}H_{24}NO_4=330,1705$). Spektrum 1H NMR senyawa **retikulin** memperlihatkan sinyal-sinyal proton singlet pada δ_H 3,76 (s) ppm yang menunjukkan adanya dua gugus metoksi dan satu sinyal singlet pada δ_H 2,35 ppm yang menunjukkan adanya gugus NCH_3 . Spektrum 1H NMR senyawa **retikulin** juga memperlihatkan 5 sinyal proton aromatik. Sinyal proton singlet pada δ_H 6,58 (s, H-5) dan 6,46 (s, H-8) menunjukkan kedua proton berkedudukan *para* pada gugus fenil tetrasubstitusi. Adapun ketiga sinyal proton aromatik 6,75 (d, $J = 2,0$ Hz, H-2'); 6,74 (d, $J = 7,8$ Hz, H-5'); 6,58 (dd, $J = 2,4; 7,3$ Hz, H-6') menunjukkan gugus fenil lainnya memiliki sistem ABX untuk proton-protonnya. Sinyal proton pada δ_H 2,97 (dd, $J=6,1; 14,0$) dan 3,13 (m); 2,70-2,80 (m); 2,50-2,67 (m) ppm menunjukkan adanya tiga gugus metilen yaitu masing-masing untuk H-1a, H-3 dan H-4. Selain itu, dapat dilihat satu sinyal proton pada δ_H 3,64 (t, $J=6,1$ Hz) ppm untuk gugus metin H-1. Analisis data spektroskopi senyawa **retikulin** juga diperkuat dengan membandingkan data 1H dan ^{13}C NMR-nya dengan data NMR dari **retikulin** yang diisolasi dari *C. rugulosa* (Saidi dkk., 2011) (Tabel 1). Perbandingan data NMR keduanya menunjukkan kesesuaian yang tinggi.

Senyawa **laurolictsin** diperoleh berupa *gum* berwarna coklat. Spektrum UV senyawa ini dalam pelarut metanol memperlihatkan serapan-serapan maksimum pada λ_{maks} 222 (4,44), 280 (4,08), 303 (4,08) nm. Spektrum UV ini menunjukkan adanya kromofor untuk alkaloid aporfin tersubstitusi pada posisi C-1, C-2, C-9 dan C-10. Spektrum MS menunjukkan ion molekuler (M+H) pada m/z 314,1736 yang bersesuaian dengan rumus molekul $C_{18}H_{19}NO_4$. Spektrum 1H NMR senyawa **laurolictsin** memperlihatkan 3 sinyal proton aromatik singlet pada δ_H 6,62; 6,71 dan 8,12 ppm yang sesuai dengan karakteristik sinyal proton aromatik singlet pada H-3, H-8 dan H-11. Adanya sinyal proton singlet yang tidak terperisai (δ_H 8,12 ppm) merupakan sinyal proton yang karakteristik untuk posisi H-11 alkaloid aporfin. Adanya ketiga sinyal proton aromatik tersebut juga sesuai dengan keberadaan cincin aromatik dari alkaloid aporfin yang tersubstitusi pada C-1, C-2, C-9 dan C-10 sebagaimana lazimnya aporfin pada tumbuhan *Cryptocarya*. Sinyal pada δ 3,86 dan 3,80 menunjukkan adanya dua gugus metoksi. Sementara itu, spektrum ^{13}C NMR menunjukkan 18 sinyal. Analisis data spektroskopi senyawa **laurolictsin**

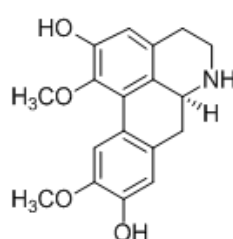
juga diperkuat dengan membandingkan data ^1H dan ^{13}C NMR-nya dengan data NMR dari **retikulin** yang diisolasi dari *Litsea rotundifolia* (Tabel 1). Perbandingan data NMR keduanya menunjukkan kesesuaian yang tinggi (Yan dkk., 2000).

Senyawa **boldin** diperoleh sebagai padatan berwarna coklat. Senyawa **boldin** mempunyai spektrum

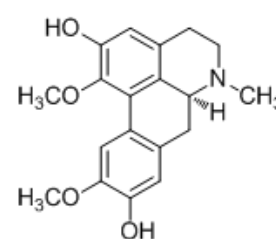
UV dan ^1H NMR yang mirip dengan senyawa **laulolitsin**, namun pada spektrum ^1H NMR terdapat sinyal pada δ 2,45 yang menunjukkan N-CH₃. Spektrum MS senyawa **laulolitsin** menunjukkan ion molekuler (M+H) pada m/z 327,1421 yang bersesuaian dengan rumus molekul C₁₉H₂₁NO₄ (Tewari dkk., 1972).



Retikuline



Laulolitsine



Boldine

Tabel 1. Spektrum ^1H NMR senyawa retikulin dan laulolitsin

No	δ_{H} (multiplicitas, J dalam Hz)			
	Retikulin	Retikulin ⁽⁶⁾	Laulolitsin	Laulolitsin ⁽⁷⁾
3	6,62 (s)	6,49 (s)	6,75 (s)	6,78 (s)
3a	-	-	-	-
4	2,57 (t, 13,1) 2,92 (m)	-	2,58 (dd, 13,5, 3,6) 2,91 (dd, 14,5, 3,6)	2,55 (dd, 10,3, 4) 2,87 (dd, 13,6, 4)
5	2,94 (m) 3,29 (m)	-	2,98 (m)	2,96 (m)
6a	3,75 (dd, 5,0; 13,2)	3,51 (dd, 4,4; 14,0)	3,02 (m)	2,97 (m)
7	2,57 (t, 13,2) 2,71 (dd, 5,0; 13,2)	-	2,40 (m)	2,37 (d, 12,1) 2,33 (d, 10,1)
8	6,71 (s)	6,66 (s)	6,62 (s)	6,62 (s)
11	8,12 (s)	7,87 (s)	8,10 (s)	8,10 (s)
1-OCH ₃	3,80 (s)	3,55 (s)	3,86 (s)	3,86 (s)
10-OCH ₃	3,86 (s)	3,76 (s)	3,82 (s)	3,2 (s)
6-NCH ₃	-	-	2,47	2,47

Tabel 2. Sifat sitotoksik senyawa hasil isolasi

No.	Senyawa	IC ₅₀ (µg/mL)
1.	Boldin	22,0
2.	Retikulin	50,9
3.	Laurolicin	5,2

Senyawa-senyawa yang diisolasi, dievaluasi sifat sitotoksitasnya terhadap sel murine leukemia P388. Dari data bioaktivitas yang tercantum pada Tabel 2 menunjukkan bahwa senyawa 3 memiliki sifat sitotoksitas moderat, sedangkan senyawa 1 dan 2 memiliki sifat sitotoksitas yang lemah.

Kesimpulan

Tiga senyawa alkaloid telah diisolasi dari kulit batang *C. archboldiana* Allen, satu kerangka benziltetrahidroisokuinolin yaitu retikulin serta dua kerangka aporfin yakni boldin dan laurolicin. Hasil uji aktivitas sitotoksik dari senyawa-senyawa tersebut terhadap sel murin leukemia P-388 memperlihatkan ketiganya memiliki sifat sitotoksik yang moderat hingga lemah.

Daftar Pustaka

- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Yayasan Sarana Wanajaya.
- Johns, S.R., Lamberton, J.A., dan Tweeddale, H.J. 1969. Identification of (-)-armepavin as the major leaf alkaloid of *Cryptocarya archboldiana* (Lauraceae). *Aust. J. Chem*, 22: 1313.
- Kosterman, A.J.G.H. 1964. *Bibliographia Lauracearum*. Bogor: Ministry of National Research.
- Saidi, N., Morita, H., Litaudon, M., Mukhtar, M., Awang, K. dan Hadi, A.H.A. 2011. Benzylisoquinoline alkaloids from bark of *Cryptocarya rugulosa*. *Indo. J. Chem.*, 11(1): 59-66.
- Tewari, S., Bhakuni, D.S. dan Dhar, M.M. 1972. The aporphine alkaloids of *Litsea glutinosa*. *Phytochemistry*, 11:1149-1152.
- Usman, H., Hakim, E.H., Harlim, T., Jalaludin, M.N., Syah, Y.M., Achmad, S.A., Takayama, H. 2006. Cytotoxic chalcones and flavanones from the tree bark of *Cryptocarya costata*. *Z. Naturforsch*, 61c:184-188.
- Yan, X.H., Wei, X.Y., Xie, H.H., Liu, M.F. dan Zhang, F.X. 2000. Aporphine alkaloids of *Litsea rotundifolia* and *L. rotundifolia* Var *Oblongifolia*", 8(4):324-328.

Zschocke, S. dan Van Staden, J. 2000.
Cryptocarya species-substitute
plant for Ocotea bullata: A
pharmacological investigation
interm of Cyclooxygenase-1 and

-2 inhibition". J.
Ethnopharmacology, 71:473-8.

