

**INDOLE ALKALOIDE, SENYAWA AKTIF PADA CEMPIRIT
(*ERVATAMIA SPHAEROCARPA*) BURCK.**

Indole Alkaloid, the Active Compound of Cempirit (*Ervatamia sphaerocarpa* Burck.)

Tri Murningsih

Puslitbang Biologi - LIPI
Jl. Ir. H. Juanda No. 18 Bogor 16122

ABSTRACT

Cempirit [*Ervatamia sphaerocarpa* Burck. (Apocynaceae)] is a sticky plant found in Indonesia. This species had long been used as traditional medicine for skin diseases and ulceration of nose. Major biologically active compound was isolated from bark of *E. sphaerocarpa* by using combination of chromatography techniques (Thin Layer Chromatography, Column Chromatography and High Performance Liquid Chromatography). The structure of this compound was elucidated by spectroscopic methods, mainly by NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spectral. This compound was determined as indole alkaloid called Tabernaemontanine.

Kata kunci: *Ervatamia sphaerocarpa*, Apocynaceae, indol alkaloida, tabernaemontanine

PENDAHULUAN

Cempirit (*Ervatamia sphaerocarpa* Burck.) merupakan satu jenis tumbuhan dalam keluarga Apocynaceae. Salah satu ciri khas dari tumbuhan dalam keluarga ini adalah mengandung getah. Demikian pula *E. sphaerocarpa* bergetah dan dikenal sebagai sumber senyawa beracun, mempunyai rasa pahit namun digunakan untuk obat tradisional. Di beberapa negara Asia seperti Cina, Filipina, Malaysia dan Indonesia tumbuhan ini digunakan untuk obat sakit kulit seperti eksim, borok (pada hidung), beri-beri, tumor dan sifilis (Burkill, 1935).

Ditinjau dari kandungan senyawa metabolit sekunder, tumbuhan genus *Ervatamia*, *Tabernaemontana* dan *Paglantha* (Apocynaceae) mempunyai hubungan kekerabatan yang sangat dekat (Gunasekera *et al.* 1980). Penelitian mengenai kandungan kimianya telah dilakukan pada beberapa jenis di antaranya pada kulit akar *T. divaricata* (L.) R. Br. (sin. *E. coronaria* (Jacq.) Stapf.), kulit batang *E. heyneana* dan *P. dichotoma* (Roxb.) Mgf. (sin. *E. dichotoma* (Roxb.) Burck.) dan batang serta kulit akar *T. dichotoma*. Hasilnya memperlihatkan bahwa senyawa aktif yang terdapat

dalam ketiga jenis tumbuhan di atas adalah alkaloida. Pada umumnya tipe senyawa alkaloida yang berasal dari tumbuh-tumbuhan famili Apocynaceae adalah alkaloida indol yang telah dibuktikan secara *in-vitro* sebagai senyawa anti-kanker (Gunasekera *et al.* 1980; Rastogi *et al.* 1982; Perera *et al.* 1985).

Indonesia mempunyai beberapa jenis *Ervatamia*, 5 jenis diantaranya terdapat di Kebun Raya Bogor sebagai tanaman koleksi yaitu *E. divaricata*, *E. floribunda*, *E. orientalis*, *E. pandacaqui* dan *E. sphaerocarpa*. Uji pendahuluan kandungan senyawa alkaloida terhadap ke lima jenis *Ervatamia* diatas telah dilakukan dan hasilnya menunjukkan bahwa ke lima jenis tersebut positif mengandung alkaloida (Wahyudi, 1982). Secara visual terlihat bahwa kandungan alkaloida dari *E. sphaerocarpa* lebih tinggi dibanding dengan jenis-jenis lainnya, di samping populasinya di lapangan cukup besar.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan dan referensi, kandungan senyawa alkaloida dari beberapa jenis *Ervatamia* lainnya yang mempunyai sifat penghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Gunasekera *et al.* 1980), maka dipikirkan perlu

untuk melakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa aktif (alkaloida) dari tumbuhan *E. sphaerocarpa*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan penelitian berupa kulit batang *E. sphaerocarpa* berasal dari daerah Malang, Jawa Timur. Sebanyak 1 kg kulit batang yang telah kering dimaserasi dengan campuran alkohol-amoniak (19:1) berulang-ulang sampai semua alkaloida tersari sempurna. Sari alkohol-amoniak dipekatkan kemudian diasamkan dengan melarutkannya dalam asam klorida 2,0 N sampai pH : 2,0, larutan disaring dan disari dengan n-heksana untuk menghilangkan senyawa-senyawa non alkaloida (asam-asam lemak), selanjutnya larutan dibuat netral atau sedikit alkalis dengan menambah amonium hidroksida (NH₄OH). Larutan ini disari berulang-ulang dengan kloroform, dan hasilnya dipekatkan. Ekstrak alkaloida kasar yang diperoleh difraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom. Kromatografi kolom (KK) dilakukan dengan menggunakan fasa diam alumina (Al₂O₃) dan fasa bergerak campuran benzena-kloroform dengan perbandingan 4:1, 12 dan 1:4, kloroform dan kloroform-metanol dengan perbandingan 99:1, 49:1 dan 19:1. Fraksi-fraksi yang sama berdasarkan pengujian secara kromatografi lapis tipis (KLT) dikumpulkan. Fraksi terbesar dimurnikan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) menggunakan kolom nukleosil 50-5 (20 x 300 mm) dengan pelarut kloroform-metanol (3:1) hasil pemurnian mendapatkan 4 komponen dengan komponen utama sebanyak 44 mg. Komponen utama (A) selanjutnya diambil data spektroskopinya antara lain, spektrofotometer ultra lembayung (UV) dan infra merah (IR), spektrometer massa (MS) dan spektrometer resonansi magnetik inti (NMR) untuk pengukuran proton (¹H-NMR) dan karbon (¹³C-NMR). Alat yang digunakan adalah JEOL GX-400 dengan pelarut deuterium kloroform (CDCl₃) dan sebagai internal standard digunakan TMS (tetrametilsilan)

HASIL

Komponen utama (A) berupa kristal putih mempunyai titik leleh pada suhu 215-217 °C dan memberikan fluoresensi biru di bawah sinar lembayung ultra (UV) dengan Rf 0,51.

Data-data spektroskopik dari komponen A adalah :

UV (X_{max} metanol, nm) :
230 dan 340 nm.

IR (KBr, cm⁻¹):

3450 (s), 2970 (m), 1720 (s), 1640 (s),
1450 (m), 1325 (s), 1280-1200 (b), 1180
(m).

MS (m/z,%)

354 (M⁺, 65); 322 (64); 279 (19); 196 (8);
182 (100); 172 (12); 164 (25); 158 (15);
152 (45); 130 (18); 122 (28).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃ dan TMS sebagai standar dalam ppm) 5 :

0,96 (3H, t, J=7,20 Hz; C-22-CH₃), 1,50
(1H, m; H-20), 1,53 (1H, m; H-21a), 1,71
(1H, m; H-21b), 2,43 (1H, d, J=3,6 Hz; H-
6a), 2,54 (3H, s; C-23-N-CH₃), 2,60 (3H, s;
C-18-OCH₃), 2,72 (1H, m; H-15), 2,75 (1H,
d, J=3 Hz; H-19a), 3,00 (1H, t; H-5), 3,14
(1H, d, J=3,6 Hz; H-6b), 3,26 (1H, d, J=3
Hz; H-19b), 3,43 (2H, d,d, J=3,6 dan 3,9
Hz : H-14), 3,93 (1H, d,d, J=3,5 dan 3,7
Hz; H-16), 7,32 (1H, d, J=8 HZ; H-9), 7,36
(1H, d,d, J=8 Hz; H-10), 7,62 (1H, d,d J=8
Hz; H-11), 7,80 (1H, d, J=8 Hz; H-12).

¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃ dan TMS sebagai standar dalam ppm) 5 :

12,56 (C-22), 18,47 (C-14), 25,30 (C-21),
31,75 (C-15), 42,53 (C-20), 42,86 (C-23),
43,34 (C-5), 45,62 (C-19), 46,43 (C-6),
50,06 (C-18), 56,72 (C-16), 111,83 (C-9),
120,06(0-10), 120,65(0-8), 120,65(0-11),
126,35(0-12) 128,46(0-7), 133,87(0-13),
136,83 (C-2), 171,76 (C-17), 190,55 (C- 3).

PEMBAHASAN

Hasil isolasi dengan menggunakan cara gabungan kromatografi (KLT, KK dan KCKT) dari kulit batang *E. sphaerocarpa*, telah diperoleh 4 senyawa murni namun hanya ada satu komponen utama (A). Penentuan struktur kimia dari komponen A ini dilakukan berdasarkan data spektroskopik yang meliputi UV, IR, MS dan terutama NMR.

Senyawa A membentuk kristal dengan MeOH mempunyai titik leleh pada suhu 215-217 °C dan memberikan fluoresensi biru di bawah sinar lembayung ultra (UV) dengan Rf 0,51. Spektrum UV

menunjukkan adanya resapan khas yang merupakan karakteristik dari 2-asilindol yaitu 240 dan 320 nm.

Spektrum merah infra (IR) mem perl ihatkan adanya 2 gugus karbonil yaitu, karbonil terkonyugasi (1637 cm^{-1}) dan ester karbonil (1714 cm^{-1}). Resapan pada 1714 cm^{-1} ini menunjang data UV adanya gugus asil (240 dan 320 nm) dan resapan NH pada 3425 cm^{-1} (Gambar 1).

Tabel 1. ^1H - NMR assignment dari komponen A

^1H (Nomor)	Pergeseran kimia (δ)
5	3,00 (1H,t)
6	2,43 (1H,d, J=3Hz)
	3,14(1H,d,J=3Hz)
9	7,32 (1H, d, J=8Hz)
10	7,36 (1H, d,d, J=8Hz)
11	7,68 (1H, d,d, J=8Hz)
12	7,80 (1H,d, J=8Hz)
14	3,43 (2H, d,d, J=3,6 dan 3,9 Hz)
15	2,72 (1H,m)
16	3,93 (1H, d,d, J=3,5 dan 3,7 Hz)
18	2,60 (3H, s)
19	2,75 (1H,d, J=3Hz)
	3,26 (1H, d, J=3Hz)
20	1,50 (1H,m)
21	1,71 (1H, m)
	1,53(1-1, m)
22	0,96 (3H, t, J=7,2 Hz)
23	2,54 (3H, s)

Dari spektrum masa diketahui bahwa komponen A mempunyai berat molekul 354 (M^+) dengan rumus molekul $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ (HRMS) dengan fragmentasi m/z (% intensitas) 322 (64); 279 (19); 196(8); 182(100); 172(12); 164(25); 158(15); 152 (45); 130(18); 122 (28) (Gambar 2 dan 3).

Spektrum proton Resonansi Magnetik Inti (NMR) menunjukkan signal-signal proton dari olefinik proton pada δ (geseran kimia) 7,32, 7,36, 7,68 dan 7,80 (masing-masing 1H) dan merupakan proton dari inti aromatik, signal 3,43 (2H) merupakan metilen proton (CH_2) yang bergeser kearah medan yang lebih rendah (down field) akibat adanya efek anisotropik dari karbonil, metilen proton 3,26 (1H) dan 2,75 (1H. d) juga bergeser ke medan rendah akibat adanya sheilding dari gugus amina (N-CH_3), demikian pula metin proton 3,93 (1H) bergeser ke medan rendah akibat adanya sheilding

dari gugus metilester (COOCH_3). Signal-signal proton lainnya adalah metilen pada pergeseran kimia 1,53 (1H) dan 1,71 (1H) serta 2,43 (1H) dan 3,14(1 H). Metin proton 1,50 (1H), 2,72 (1H) dan 3,0 (1H). Metoksi proton 2,60 (3H, s) bergeser kemedan tinggi akibat efek anisotropik gugus N amina dan inti aromatik (Brown *et al.* 1988), metil amina proton 2,54 (3H, s) dan metil proton 0,96 (3H, t, J=7,20) (Gambar 4 dan 6),

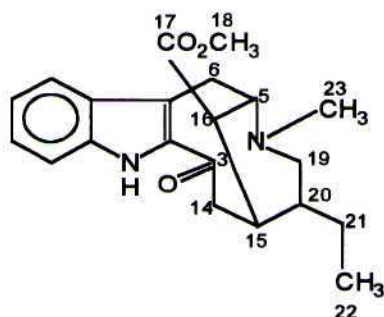
Tabel 2. ^{13}C - NMR assignment dari komponen A

C (Nomor)	Pergeseran kimia (δ)
2	136,83 (s)
3	190,55 (s)
5	43,34 (d)
6	46,43 (t)
7	128,46 (s)
8	120,65 (s)
9	111,83 (d)
10	120,06 (d)
11	120,65 (d)
12	126,35 (d)
13	133,87 (s)
14	18,47 (t)
15	31,75 (d)
16	56,72 (d)
17	171,76 (s)
18	50,06 (q)
19	45,62 (t)
20	42,53 d)
21	25,30(t)
22	12,56(q)
23	42,86 (q)

Spektrum pada karbon ^{13}C -RMI terdeteksi sebanyak 21 signal atom karbon terdiri dari 2 atom karbon (karbonil) pada δ 190,55 (s) (karbonil terkonyugasi) dan 171,76 (s) (ester karbonil), 4 atom karbon kuartemer dari inti indole pada δ 136,83 (s), 133,87 (s), 128,46 (s) dan 120,65 (s), signal atom karbon pada geseran kimia 120,65 (s,d) terdapat 2 signal atom karbon yang tumpang tindih (overlap) karena intensitas puncak lebih tinggi dibanding intensitas olefinik karbon lainnya, yaitu satu atom karbon kuartemer diatas dan atom karbon dari inti aromatik (Silverstein *et al.* 1981). Empat metin karbon pada 56,72 (d), 43,34 (d), 42,53 (d) dan 31,75 (d), empat metilen karbon pada 46,43 (t), 45,62 (t), 25,30 (t) dan 18,47 (t), tiga metil karbon

yaitu metil ester karbon pada 50,06 (q), metil amin karbon pada 42,86 (q) dan metil karbon pada 12,56 (q) (Gambar 5 dan 6).

Dari data spektroskopik dan hasil assignment spektrum ^1H - NMR dan ^{13}C - NMR (tabel 1 dan 2) dapat diidentifikasi bahwa komponen A merupakan senyawa alkaloida turunan indol. Dari hasil penelusuran pustaka dapat diketahui bahwa tipe alkaloida indol dari komponen A adalah tipe iboga yang dinamakan Tabernaemontanina. Selama ini belum ada laporan yang menyatakan alkaloida Tabernaemontanina ini terdapat pada *E. sphaerocarpa*, tetapi dilaporkan terdapat pada jenis Apocynaceae lainnya yaitu *Rauwolfia discolor* yang terdapat di Madagaskar (Combes *et al.* 1966).



Tabernaemontanina

KESIMPULAN DAN SARAN

Komponen utama yang terkandung dalam kulit batang *E. Sphaerocarpa* adalah senyawa alkaloida indol yang disebut Tabernaemontanina. Mengacu pada hasil penelitian terdahulu, pada umumnya senyawa alkaloida indol mempunyai sifat dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, maka perlu dilakukan bioesai terhadap sel-sel kanker atau tumor untuk mengetahui lebih jauh aktivitas biologi senyawa tabernaemontanina.

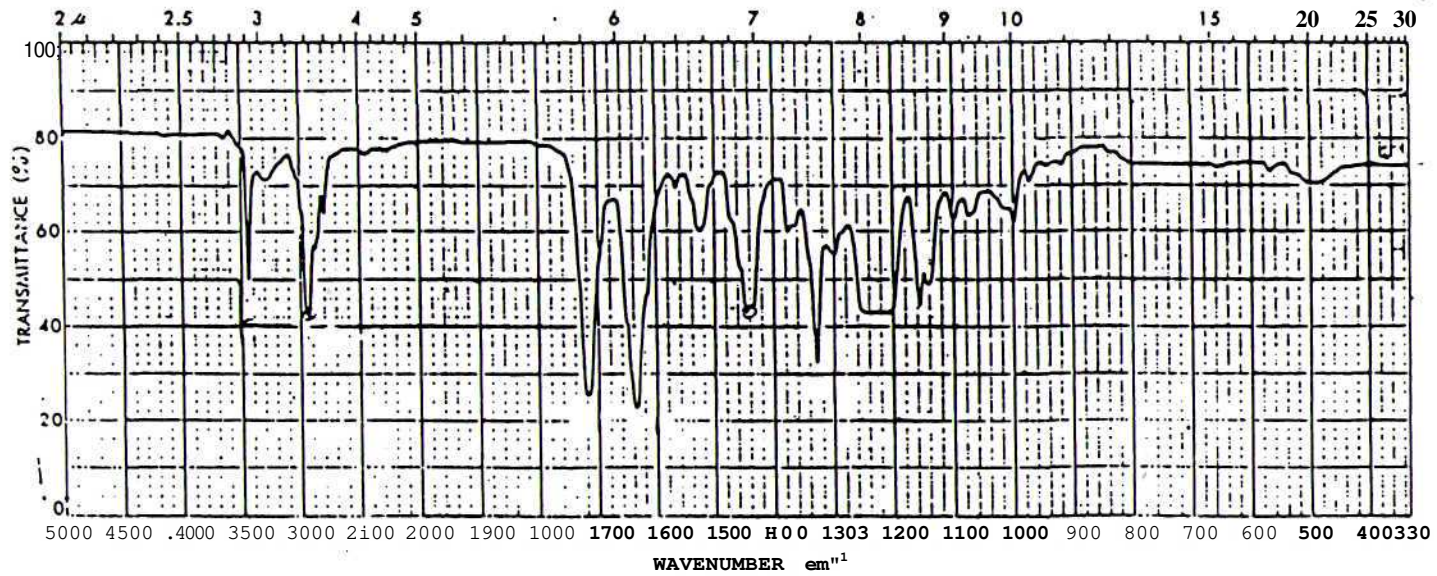
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Yasuo Fujimoto (The Institute of Physical and Chemical Research, Wako, Saitama 351-01, Japan) atas bimbingan dan pengambilan data spektroskopik.

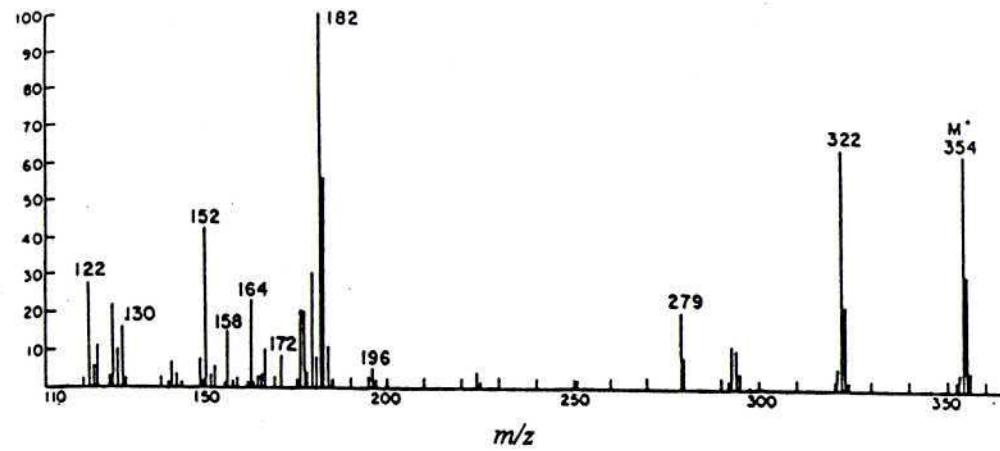
Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Dr. Chairul yang telah saran-saran dalam penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

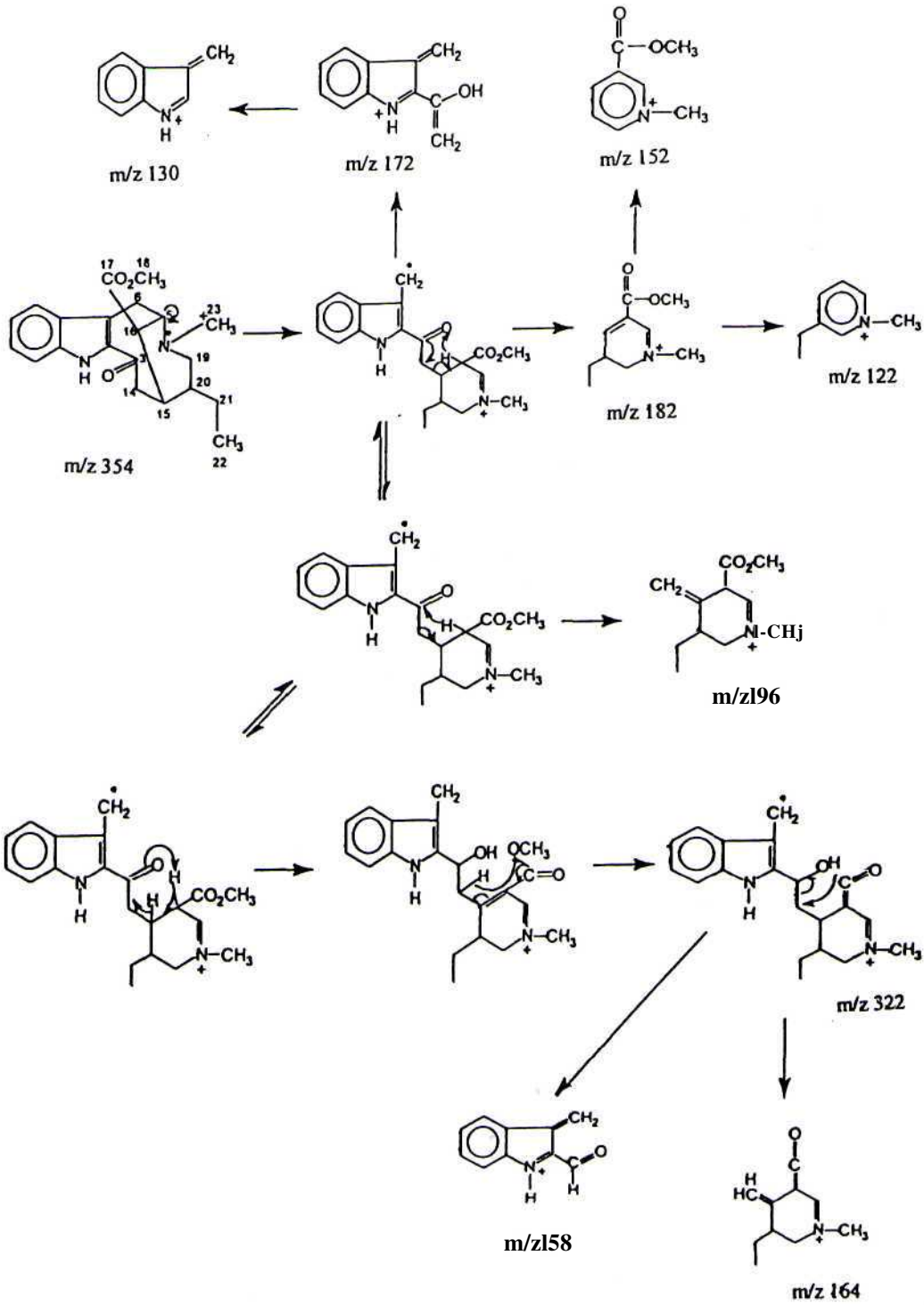
- Brown DW. Floyd AJ dan Sainsbuiy M. 1988.** Organic Spectroscopy. John Wiley & Sons Ltd. him 76-77.
- Burkill IH, 1035.** A Dictionary of The Economic Product of The Malay Peninsula. Crown Agent for The Colonies Mill Bank, London.
- Combes Q. Fonzes L dan Wintemlitz F. 1066.** Sur Les Alcaloides Des *Rauwolfia* De Madagascar. *Phytochemistry* 5, 1065-1073.
- Gunasekera SP, Cordell GA dan Farnsworth NFL. 1980.** Anticancer Indole Alkaloids of *Ervatamia heyneana*. *Phytochemistry* 19, 1213-1218.
- Masskrt G. Thepenler P. Jacquier MJ. Olivier LLM. Verpoorte R dan Celaude C. 1987.** Alkaloids of *Strychnos johnsonii*. *Phytochemistry* 26, 2839-2846.
- Perera P. Sandbeig F, Vanbeek TA dan Verpoorte R 1085.** Alkaloids of Stem and Rootbark of *Tabernaemontana dichotoma*. *Phytochemistry* 24, 2097-2104.
- Rastogi K. Kapil RS dan PopJ SP. 1980.** New Alkaloids From *Tabernaemontana divaricata*. *Phytochemistry* 19, 1209-1212.
- Silverstein RM. Bassler QC dan Morrill TC. 1981.** Spectrometric Identification of Organic Compounds. John Wiley & Sons Ltd. him 249-278.
- Talapatra B. Patra A dan Talapatra SK. 1075.** Terpenoids and Alkaloids of The Leaves of *Tabernaemontana coronaria*. *Phytochemistry* 14, 1652-1653.
- Wahyudi. 10892.** Analisa Kandungan Kimia *Ervatamia sphaerocarpa*. *Laporan Teknik Penelitian Peningkatan Pendayagunaan Sumber Daya Hayati*, LBN-LIPI 1981-1982. Djajasasmita M. & Sastraadmadja, D.D. (Penyunting). Lembaga Biologi Nasional - LIPI. him. 71-73.



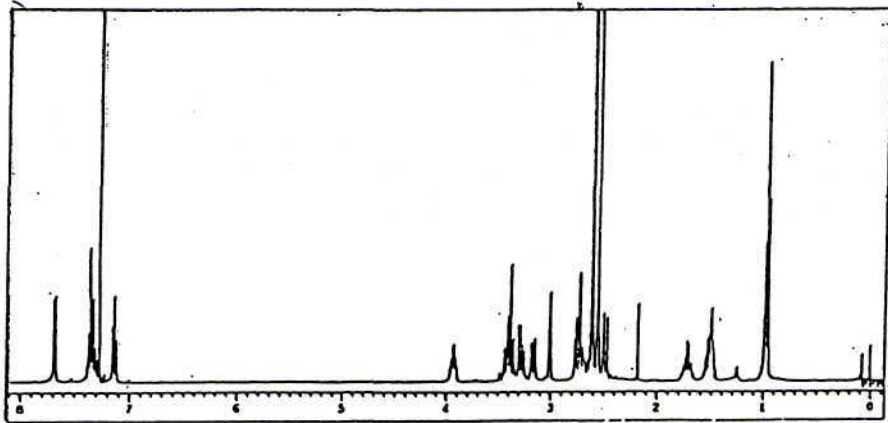
Gambar 1. Spektrum Merah Infra Komponen A



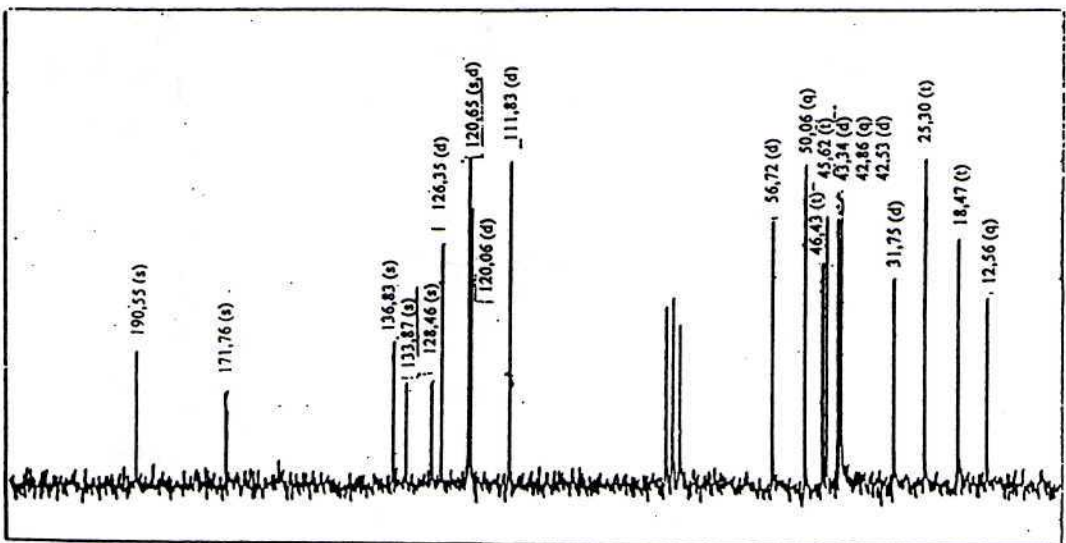
Gambar 1. Spektrum Massa Komponen A



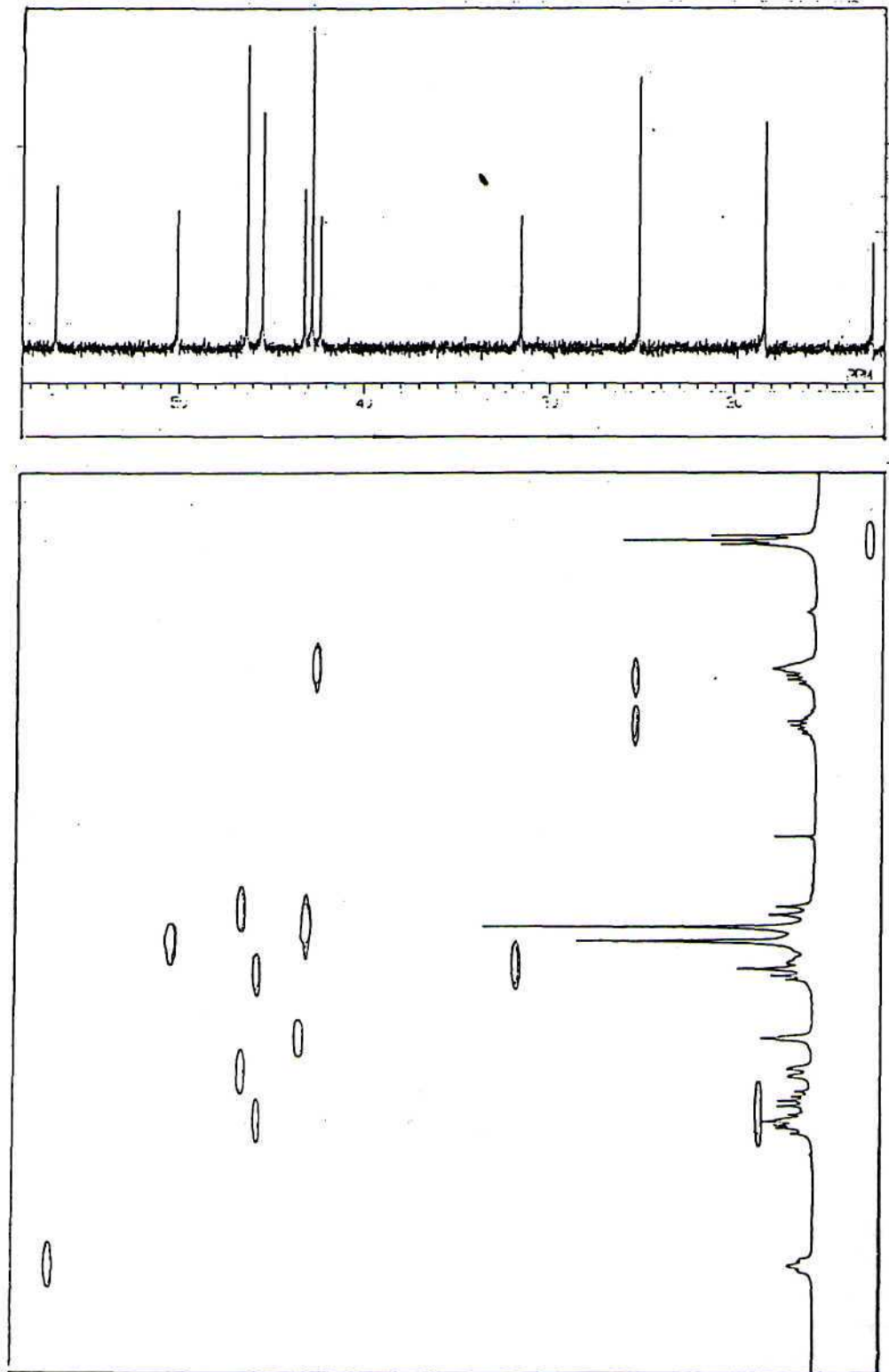
Gambar 3. Skema proses fragmentasi dari komponen A



Gambar 4. Spektrum ¹H-NMR komponen A



Gambar 5. Spektrum ¹³C-NMR komponen A



Gambar 6. Spektrum HMQC komponen A