

SITOTOKSIK ISOPRENOID ALAM DARI DAUN TEMBAKAU TERINFEKSI VIRUS MOZAIK

Meiny Suzery*, Bambang Cahyono*, Eko Widayadi**

*Laboratorium Kimia Organik MIPA, Universitas Diponegoro, Kampus tembalang Semarang 50275

** PT EISAI Indonesia, Medicinal Research garden, POB 170 Cianjur, Jawa Barat

ABSTRAK

Telah berhasil diisolasi suatu senyawa isoprenoid dari fraksi n-heksan dari daun tembakau terinfeksi virus mozaik yang mempunyai aktifitas sebagai sitotoksik. Pemisahan dilakukan dengan teknik kromatografi, penentuan struktur dilakukan dengan metoda spektroskopi: UV, IR dan Massa serta uji aktivitas dengan metode Brine Schrimp Lethality Test.

Dari hasil analisis spektroskopi dan perbandingan dengan literatur disarankan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa isoprenoid: 4,6 dihidroksi 2 cembrenoid dengan m/e 281. Uji bioassay dengan Brine schrimp lethality menghasilkan L_{D50} 11,8767 $\mu\text{g/ml}$, diduga bersifat sitotoksik

Kata Kunci: nikotin tabacum , virus mozaik, isoprenoid.

ISOPRENOID SITOTOXIC OF NICOTINA TABACUM INFECTED BY MOZAIC VIRUS

ABSTRACT

It have been isolated isoprenoid from leaf *Nicotiana tabacum*, infected by mozaic virus and containing biological activity as sitotoxic. The fractionation of n-hexane extract has been done by coulumn chromatography and structure elusidation by UV, infra red and mass spectroscopy. The result showed the isolated pure compound was suggested as 4,6 dihidroksi 2 cembrenoid, a natural isoprenoid, the bioactivity test proposed as sitotoxic, L_{D50} 11,8767 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: Nicotiana tabacum, mozaic virus, isoprenoid.

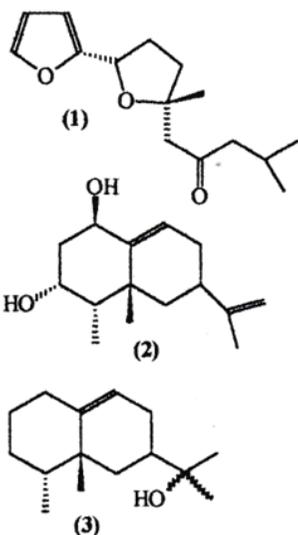
PENDAHULUAN

Tembakau merupakan tanaman yang terdapat hampir di setiap wilayah Indonesia. Sampai sejauh ini tembakau mempunyai peranan sebagai bahan baku rokok saja. Hampir pada semua areal perkebunan tembakau yang dibudidayakan masyarakat selalu terdapat satu atau lebih tanaman tembakau yang terkena infeksi oleh mikroorganisme, seperti cendawan, bakteri ataupun virus.

Adanya serangan mikroorganisme terhadap tanaman dapat menyebabkan terben-

tuknya senyawa fitotoksin dan senyawa fitoalleksin dalam tanaman. Senyawa fitotoksin ini merupakan hasil sintesis dari mikroba dalam tanaman. Sedang senyawa fitoalleksin adalah senyawa yang dihasilkan tanaman dan digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen yang menyerang tanaman tersebut.¹⁾ sebagai contoh senyawa fitoalleksin adalah ipomeranon (1) yang merupakan sesquiterpenoid laktone, dapat diperoleh dalam kentang yang terinfeksi

oleh "Black-rot fungus", Capsidiol (2) dan Debneyol (3) yang merupakan sesquiterpenoid dengan gugus hidroksil yang berasal dari tanaman tembakau yang terinfeksi virus mozaik.^{2,3)}



METODOLOGI PENELITIAN

Bahan ; Sampel yang dipakai berupa serbuk daun tembakau terinfeksi virus mozaik yang diperoleh dari daerah Kledung, Parakan Kabupaten Temanggung Jawa Tengah. Pelarut yang digunakan untuk isolasi berderajat teknis, sedangkan untuk analisis berderajat p.a. Bahan lain yang dipakai untuk pemisahan dan analisis adalah silika gel GF₂₅₄, plat KLT GF₂₅₄, NaCl dan DMSO.

Alat-alat ; Peralatan yang dipakai adalah ekstraksi sokhlet, kromatografi kolom, perlengkapan uji aktivitas dengan metode "Brine shrimp Lethality", alat-alat spektrometer seperti UV-Vis, IR, FTIR-820 IPC, dan Spektrometer Massa.

Penyiapan sampel ; Serbuk daun tembakau terinfeksi virus mozaik diekstraksi dengan pelarut normal heksan menggunakan sokhlet, ekstrak yang diperoleh, disaring dan dipekatkan dengan *Rotary Evaporator*. Pemisahan dilakukan menggunakan teknik kromatografi dengan pelarut kloroform. Fraksi-fraksi yang diperoleh, selanjutnya dipisahkan dan direkristalisasi.

Karakterisasi ; Kristal yang diperoleh, diidentifikasi melalui penentuan harga Rf-nya dengan KLT, ditentukan harga titik lelehnya dengan alat Fisher John Melting Point dan Electrothermal I A 9000 series di UGM Yogyakarta. Analisis spektrum UV/Vis dilakukan dengan alat spektrofotometer UV/Vis Milton Roy Spectronic 3000 dan untuk mengetahui spektrum IR-nya dianalisis dengan alat spektrofotometer IR Shimadzu FTIR-820 IPC di UGM Yogyakarta. Untuk mengetahui spektrum massa dari kristal yang diperoleh, dilakukan analisis dengan spektrometer Massa Shimadzu di UGM Yogyakarta dan Spektrometer Massa Finningan Mat di Batan Serpong Jakarta.

Uji Aktivitas ; Penentuan aktivitas L_{D50}/L_{C50} dilakukan dengan metoda Brine shrimp Lethality test. 100 μ l masing larutan ditempatkan dalam mikroplate, kemudian diberi 30 *Artemia sailna* dan setelah 24 jam diamati jumlah *Artemia sailna* yang hidup dan mati. Data tersebut diolah dengan "Bliss methode" untuk menentukan harga L_{D50}/L_{C50} .

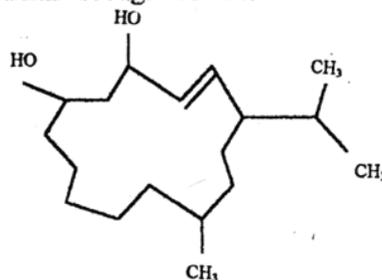
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil analisis dengan KLT, maka dapat dikatakan bahwa crude tersebut paling sedikit mengandung 7 senyawa dan dapat dipisahkan dengan menggunakan pelarut kloroform. Untuk pemisahan masing-masing senyawa diatas, digunakan teknik kromatografi dengan fasa diam silika gel GF₂₅₄, dan menggunakan fasa penggerak kloroform. Pada fraksi pertama, setelah pemurnian diperoleh senyawa berbentuk kristal berwarna putih dan berfluoresensi biru keunguan pada penampakan dengan alat lampu UV dengan titik leleh adalah 56-58°C. Analisis spektrofotometer UV/Vis memberikan serapan maksimal pada λ maks. 242,1 nm dan 276,4 nm. Serapan pada panjang gelombang ini disebabkan oleh adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$ dari gugus C=C dan C-O. Analisis dengan spektrofotometer IR menghasilkan puncak-puncak karakteristik pada ν^{KBr} (dalam cm^{-1}) 3448,5 dan 3651,0 (regang O-H), 2850,6 (regang C-H pada $-CH_2-$), 2918,1 dan 2954,7 (regang C-H pada $-CH_3$), 1541,0 dan 1629,7 (regang C=C), 1463,9 dan 1473,5 (lentur C-H pada $-CH_3$ dan $-CH_3$ dan $-CH_2$), 1382,4 (Gem dimetil), dan 719,4 (lentur $>C=C<$).

Dari data spektra di atas dapat disimpulkan bahwa senyawa ekstraks n-heksan daun tembakau terinfeksi virus mozaik adalah bukan senyawa aromatik. Senyawa tersebut memiliki gugus hidroksil, gugus metil, gugus metin dan ikatan rangkap dua karbon-karbon.

Analisis dengan spektroskopi massa menunjukkan M^+ pada 281 dan terdapat pecahan ion pada m/e 183 (98), 169 (14), 155 (14). Selanjutnya berkurang $n \times 14$ satuan massa sampai harga m/e 43.

Dari literatur telah diketahui bahwa senyawa cembreniol yang terdapat dalam *Nicotiana tabacum* dengan kerangka sembrane mempunyai berat molekul 306 yang mempunyai aktivitas sebagai anti tumor¹⁶⁾. Berdasarkan keterangan diatas, serta adanya relevansi antara data spektra UV, IR dan spektra massa dengan struktur dan pola fragmentasi yang sesuai untuk senyawa isoprenoid yang mempunyai kerangka dasar cembrane, dan dengan adanya rengang dari gugus hidroksil pada spektra IR maka disarankan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa golongan isoprenoid dengan kerangka dasar Cembrane yang tersubstitusi gugus hidroksil yang berasal dari (4) yang telah kehilangan dua gugus metil dan mengalami penambahan atom hidrogen pada kedua ikatan rangkapnya. Senyawa yang diusulkan adalah senyawa dengan berat molekul 282 dan dengan struktur yang disarankan sebagai berikut :



Struktur yang disarankan Senyawa Hasil Isolasi

Uji aktivitas senyawa dengan metode "Brine Shrimp Lethality" dan data diolah dengan program "Basil" ("Bliss method") sehingga diperoleh harga $L_{D50}/L_{C50} = 11,8767$. Ekstrak atau senyawa murni yang memiliki aktivitas sebagai sitotoksik¹⁵⁾ sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai aktivitas sebagai sitotoksik.

KESIMPULAN

Berdasarkan data-data hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa diperoleh senyawa murni golongan isoprenoid dengan kerangka dasar Cembrane yang tersubstitusi gugus hidroksil dengan berat molekul 282 dan mempunyai aktivitas sitotoksik dengan $L_{D50}/L_{C50} = 11,8767$.

SARAN

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut terhadap senyawa fraksi lain dari ekstrak neheksan daun tembakau terinfeksi virus mozaik untuk senyawa fraksi pertama perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas sitotoksik, sehingga dapat dikembangkan sebagai obat tumor.

DAFTAR PUSTAKA

1. Curt R. Enzell and Inger Wahlberg, 1990, *J. Pure & Appl. Chem.* 62(7), 1353-1356.
2. Mann., J., 1978, *Secondary Metabolism*, Oxford University Press, New York.
3. Birnbaum, George, 1974 *Canadian Journal Chemistry*, 52, 993-1005.
4. Wibberleey, M. S., Lenton John., and Neill Steven J., 1994, *Journal of Phytochemistry*, 37(2), 349-351.
5. Meyer, B.N., et all, 1982, *Journal of Planta Medica*, 45, 31, 34.