LAPORAN PENELITIAN

SENYAWA *ANTIFEEDANT* DARI BIJI KOKOSSAN (*LANSIUM DOMESTICUM* CORR VAR. KOKOSSAN), HUBUNGAN STRUKTUR KIMIA DENGAN AKTIVITAS *ANTIFEEDANT* (TAHAP II)

Oleh

Tri Mayanti, MSi (Ketua)
Dr. Wawan Hermawan, MS (Anggota)
Nurlelasari, MSi (Anggota)
Desi Harneti, MSi (Anggota)

DIBIAYAI OLEH DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PELAKSANAAN PEKERJAAN PENELITIAN
NOMOR : 013/SP3/PP/DP2M/II/2006
TANGGAL 1 PEBRUARI 2006

UNIVERSITAS PADJADJARAN
BANDUNG
NOVEMBER 2006

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada saat ini pengembangan pestisida nabati diarahkan pada penemuan senyawa-senyawa yang tidak hanya efektif dalam mengendalikan serangga tetapi juga mempunyai aktivitas yang selektif terhadap satu atau jumlah terbatas serangga fitofagoes. Latar belakang pemikiran ini adalah sasaran untuk mengurangi dampak ekologis lingkungan yang merugikan seandainya tiga kriteria yaitu: efektif, spesifik dan aman dapat serasi dengan prinsip pengelolaan serangga hama yang modern maka produk alami ini dapat memenuhi kriteria *agent* pengendali biorasional.

Agent pengendali biorasional dari produk alami dapat dibagi ke dalam dua kelompok. Kelompok pertama adalah yang mengubah pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi serangga, disebut pengendali pertumbuhan serangga atau *insect growth regulator*. Kelompok kedua adalah yang mengubah perilaku serangga, termasuk ke dalam kelompok ini feromon, penolak (*repellent)*, penarik (*attractant*), antimakan (*antifeedant*) dan stimulant serta penolak peletakan telur (*oviposisi*). Terdapat anggapan bahwa yang memiliki prospek komersial yang baik adalah feromon dan *antifeedant* (Ruslan dkk, 1989) .

Keberadaan dan potensi senyawa *antifeedant* telah lama dikenal, terutama di Amerika Serikat terutama mulai 1930. Senyawa *antifeedant* didefinisikan sebagai suatu zat yang apabila diujikan terhadap serangga akan menghentikan aktivitas makan secara sementara atau permanen tergantung potensi zat tersebut (Miles, et.al., 1985). Menurut Isman et.al (1996) *antifeedant* adalah substansi pengubah perilaku yang mencegah makan melalui aksi langsung pada peripheral sensilla (organ perasa) serangga. Definisi ini menghilangkan senyawa yang menekan makan melalui sistem saraf pusat (diikuti *ingestion* dan absorpsi) atau senyawa yang memiliki toksisitas subletal. Senyawa *antifeedant* telah menjadi perhatian yang menarik sebagai salah satu alternatif dalam perlindungan tanaman pangan oleh karena senyawa ini tidak membunuh, mengusir atau menjerat serangga hama tetapi hanya menghambat makan (Tjokronegoro, 1987). Senyawa *antifeedant* juga banyak digunakan dalam bioteknologi tanaman guna menciptakan tanaman yang tahan terhadap serangan serangga hama (Russel, 1991).

Aktivitas *antifeedant* dapat dijadikan suatu evaluasi awal untuk penemuan senyawa baru yang bersifat aktif *antifeedant* dari tumbuhan tersebut. Penemuan senyawa-senyawa baru yang dapat berfungsi sebagai pengendali hama dapat dilakukan dengan cara pemisahan menggunakan berbagai teknik ekstraksi dan kromatografi yang dipantau dengan uji hayati pada setiap tahap pengerjaannya. Senyawa aktif baru yang diperoleh diharapkan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai suatu senyawa yang potensial dan memiliki keunggulan untuk dapat diaplikasikan dalam bidang pertanian.

1.2. Dasar Pemikiran

Suku Meliaceae merupakan penghasil zat-zat pahit bermanfaat sebagai substansi *antifeedant* serangga dan penghambat pertumbuhan dengan toksisitas rendah terhadap mamalia (Omar et.al., 2005). *Lansium domesticum* Corr sebagai salah satu jenis tumbuhan dari suku Meliaceae merupakan sumber senyawa-senyawa terpenoid dengan berbagai aktivitas hayati yang menarik. Jenis ini memiliki tiga kultivar yaitu: duku, kokossan dan pisitan. Lima senyawa triterpena baru dengan aktivitas *antifeedant* terhadap *Sitophilus oryzae* telah dilaporkan dari kulit kayu duku (Omar et. al., 2005). Enam buah tetranortriterpenoid, yaitu dukunolida A-F telah diisolasi dari biji duku (Nishizawa et.al., 1985 dan 1989), tiga senyawa triterpena glikosida, lansiosida A-C, dari kulit buah duku juga telah dilaporkan (Nishizawa et.al, 1982). Senyawa asam 3-okso-24-sikloarten-21-oat yang dapat menghambat pertumbuhan tumor kulit pada aktivasi virus Epstein Barr telah diisolasi dari daun duku (Nishizawa et. al, 1989).

Penelitian terhadap kultivar lain dari *L. domesticum* yaitu kokossan dan pisitan belum banyak dilakukan. Satu-satunya laporan dari tumbuhan kokossan adalah ditemukannya senyawa golongan onocerandiendiona dari kulit buah oleh Kosela dkk (1992). Mengingat suku Meliaceae merupakan sumber melimpah bagi senyawa-senyawa insektisidal maka usaha untuk memperoleh senyawa *antifeedant* dari tumbuhan kokossan menarik untuk dilakukan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum *L. domesticum* Corr.

Tumbuhan *L. domesticum* Corr. termasuk famili Meliaceae dan penyebaran tumbuhan ini berasal dari Peninsula, Thailand sampai Borneo dalam jumlah besar. Pada jumlah kecil, *L. domesticum* Corr. ditanam di Vietnam, Myanmar, India, Srilanka, Hawaii, Australia, Suriname, dan Puerto Rico (Coronel & Verheij, 1992).

Tumbuhan *L. domesticum* Corr. ini tumbuh subur di daerah tropis dengan ketinggian 800 m atau dekat permukaan laut; tanah dengan drainase yang baik dan pH tanah sedikit asam sampai netral sekitar 5,5-6,6; curah hujan yang cukup sekitar 2.000-3.000 mm; suhu 25^0-35^0 C. Tumbuhan ini tidak dapat menyesuaikan diri selama musim kering sehingga meranggas selama 3-4 minggu. Di Indonesia, *L. domesticum* Corr. sering ditanam di kebun rumah dengan tanaman lain seperti pohon mangga (Morton, 1987).

2.1.1 Taksonomi *L. domesticum* Corr.

Taksonomi tumbuhan *L. domesticum* Corr. menurut USDA Natural Resources Conservation Service (2004), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Meliaceae
Genus	: *Lansium* Correa
Spesies	: *Lansium domesticum* Correa

Beberapa nama daerah di Indonesia untuk tumbuhan *L. domesticum* Corr. ini diantaranya yaitu dukuh, dukem, langsat, langsep, langsa, celoring, kokosan, dan lain-lain.

Menurut Hasskarl (Heyne, 1987) membedakan jenis ini menjadi tiga kultivar di Jawa yaitu :

a. Duku (Indonesia, Jawa) = dukuh (Sunda)
b. Pisitan (Sunda) = celoring (Jawa) = celoreng (Jawa Timur)
c. Kokosan (Sunda) = langsep (Jawa) = langsat (Jawa Timur)

2.1.2 Morfologi *L. domesticum* Corr.

Tumbuhan *L. domesticum* Corr. (Gambar 2.1) termasuk tumbuhan berukuran besar yang memiliki tinggi 15 hingga 20 m dengan diameter batang 35-40 cm. Tumbuhan ini dapat dikenali dari alur-alur yang dalam dan menjulur tinggi pada batangnya. Kulit batang kasar, batang bagian dalam berwarna coklat kehijauan atau coklat pucat.

Gambar 2.1 Bagian buah tumbuhan *L. domesticum* Corr. kultivar kokosan

Daunnya berbentuk bulat telur dengan panjang sekitar 23-51 cm dan jumlah daun kelipatan ganjil (5-7 daun). Daun kokosan memiliki ciri-ciri sebagai berikut :
Irisan paradermal daun kokosan memperlihatkan sel-sel epidermis yang bentuknya juga memanjang tidak beraturan. Dinding selnya beralun. Letak stomata tidak beraturan dan terdapat pada permukaan bawah bertipe aktinositik dengan 5-7 sel tetangga yang tidak sama besarnya. Bulu-bulu yang terletak pada permukaan

epidermis daun kokosan lebih rapat. Kedua sel palisade tampak jelas dapat dibedakan dari sel bunga karangnya.

Bunganya termasuk bunga lengkap bertandan warna putih keabu-abuan. Buahnya berbentuk elips atau bulat seperti telur, beruntai, lekat pada batang atau cabang-cabangnya berwarna kuning kusam. Kulit buah berwarna kekuningan sampai putih transparan, sedangkan daging buah terdiri atas 5-6 segmen. Buahnya berisi 1-3 biji yang kehijauan (Morton, 1987).

2.1.3 Kegunaan *L. domesticum* Corr.

Menurut De Clereq, air rebusan dari kulit batang bagian dalam dengan kulit batang *Pterocarpus indica* Willd biasa digunakan sebagai obat disentri. Menurut Boorsma, kulit batang dan kulit buahnya mengandung asam lansium, jika 50 mg dari zat ini disuntikkan pada katak, setelah 3-4 jam dapat menyebabkan kelumpuhan jantung. Bijinya yang hijau sangat pahit dan bila digerus dengan air dapat digunakan sebagai obat cacing dan penolak demam (Heyne, 1987).

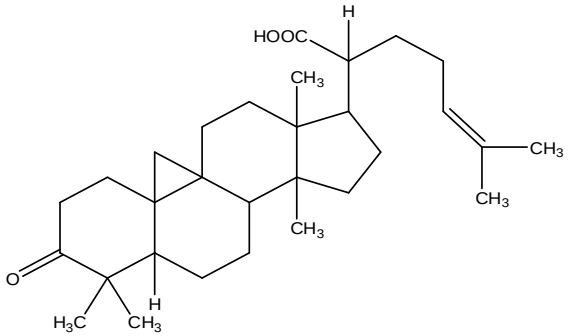
Untuk mengobati penyakit malaria dapat digunakan batangnya. Kulit yang masih segar mengandung 0,2% minyak atsiri kekuningan, resin berwarna coklat, dan asam pereduksi. Dari kulit buahnya yang kering diperoleh oleoresin semi-cairan yang hitam tersusun dari 0,17% minyak atsiri dan 22% resin. Resin diduga tidak beracun dan bermanfaat untuk menghentikan diare dan kejang usus terhadap usus kelinci secara *in vitro* sebagai hewan uji. Ekstrak daunnya dapat dimanfaatkan sebagai obat tetes mata untuk mencegah inflamasi.

Kulit buah dapat dimanfaatkan sebagai repellan nyamuk dengan cara dikeringkan dan dibakar; dan mengandung senyawa antibakteri. Daging buah dan batang pohon dimanfaatkan oleh masyarakat tradisional untuk racun panah. Cat kayu diperoleh dengan distilasi dan dimanfaatkan untuk menghitamkan gigi (Morton, 1987).

2.1.4. Kandungan Kimia *L. domesticum* Corr.

Penelitian terhadap tumbuhan *L. domesticum* Corr. dilakukan oleh Nishizawa *et al.* (1989), yang berhasil mengisolasi senyawa golongan triterpena sikloartanoid dari daun *L. domesticum* Corr. kultivar duku. Senyawa minor triterpena sikloartanoid baru ini adalah asam 3-okso-24-sikloarten-21-oat yang dielusidasi strukturnya dengan menggunakan spektroskopi dan difraksi sinar-X. Asam 3-okso-24-sikloarten-21-oat

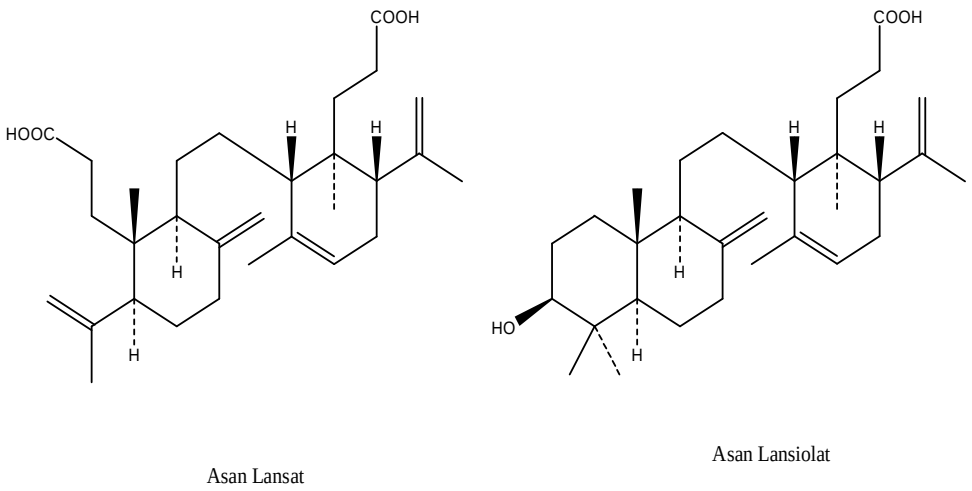
ini bersifat sebagai penghambat timbulnya tumor kulit. Struktur senyawa asam 3-okso-24-sikloarten-21-oat seperti diperlihatkan pada Gambar 2.2. Kristal asam 3-okso-24-sikloarten-21-oat tidak berwarna dengan rumus molekul $C_{30}H_{46}O_3$ dan titik leleh 185-186 ^{0}C. Senyawa mayor pada daun duku yaitu asam lansiolat pada seperti ditunjukkan Gambar 2.3. Beberapa turunannya memperlihatkan aktivitas yang signifikan dapat menghambat tumbuhnya tumor kulit yaitu dalam aktivasi virus Epstein-Barr.



Gambar 2.2 Struktur asam 3-okso-24-sikloarten-21-oat

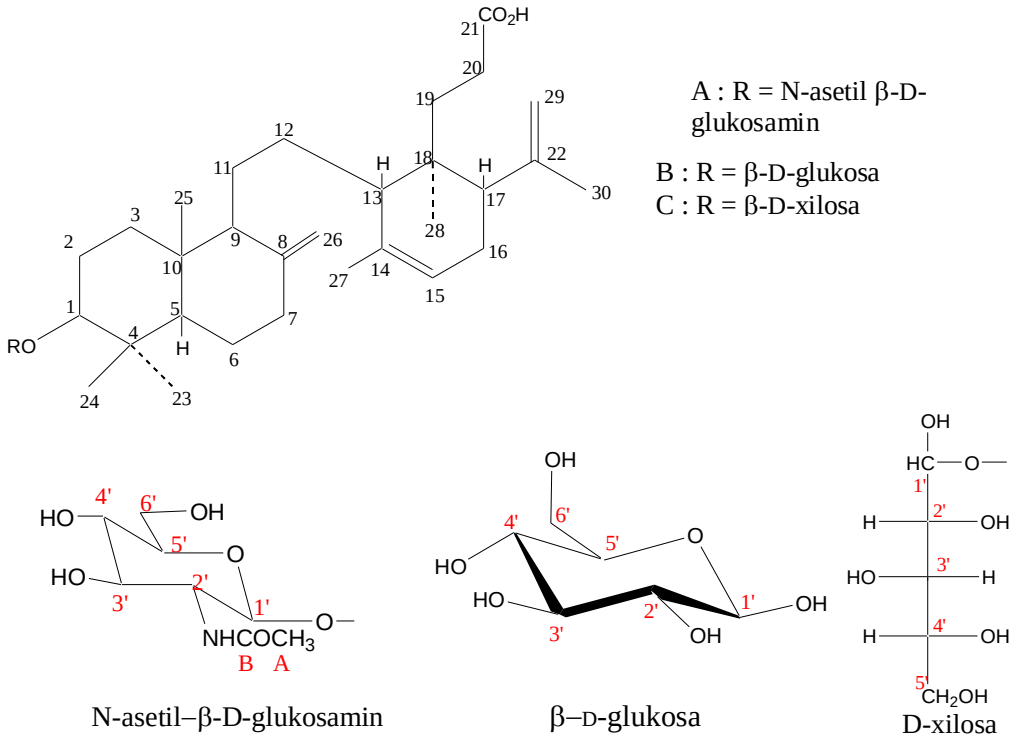
Kulit buahnya mengandung beberapa senyawa diantaranya berupa asam lansat (asam 3-sikloheksena-1-propanoat) atau 2-[2-[2-(2-karboksietil)-2-metil -6-metilen-3-(1-metiletenil)sikloheksil]etil]-1,3-dimetil-6-(1-metiletenil)-[15-1α,2β(1R*, 2R*, 3R*), 6β]] yang diisolasi oleh Kiang *et al.* (1967). Asam lansat ($C_{30}H_{46}O_4$) merupakan senyawa mayor pada kulit buah dengan data spektrum IR (KBr) 1725, 1645 dan 890 cm^{-1}. Senyawa minornya yaitu asam lansiolat juga ditemukan oleh Nishizawa *et al.* (1983) merupakan triterpen dari golongan lanosta (Lanosta-9(11), 25-dien-3-ol, 23, 24, 24-trimetil-(3β). Struktur asam lansat dan asam lansiolat ditunjukkan pada Gambar 2.3.

Selain itu, Nishizawa *et al*. (1983) juga berhasil mengisolasi lansiosida yang merupakan triterpen glikosida dari kulit buah (asam-3-sikloheksen-1-propanoat) atau 2-[2-(dekahidro-6-hidroksi-5, 5, 8-trimetil-2-metilena-1-naftalenil)etil]-1, 3-dimetil-6-(1-metil)-[15-[1α(1R*, 2R*, 3R*)4αβ 8aα]]. Senyawa lansiosida ini ada 3 jenis yaitu lansiosida A, B, dan C. Lansiosida A ($C_{38}H_{61}NO_8.H_2O$) mengikat N-asetil-β-D-glukosamin pada C-3 dengan data spektrum IR (KBr) 3400, 1705, 1640, 1560, 890 cm^{-1}. Lansiosida A memiliki aktivitas menghambat leukotrien D_4 pada usus penyerapan babi. Lansiosida B ($C_{36}H_{58}O_8$) mengikat gula β-D-glukosa pada C-3.



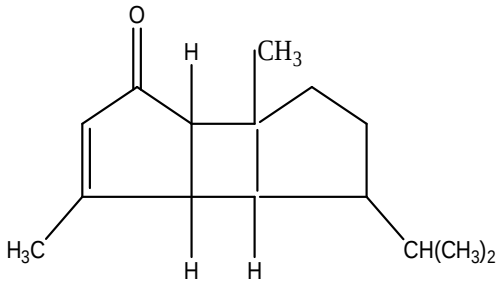
Gambar 2.3 Struktur asam lansat dan asam lansiolat

Lansiosida B berupa padatan amorf dengan data spektrum IR ($CHCl_3$) 3400, 1705, 1640, dan 890 cm^{-1}. Lansiosida C ($C_{35}H_{56}O_7$) berupa padatan amorf mengikat gula β-D-xilosa pada C-3. Struktur lansiosida A, B dan C ditunjukkan pada Gambar 2.4.



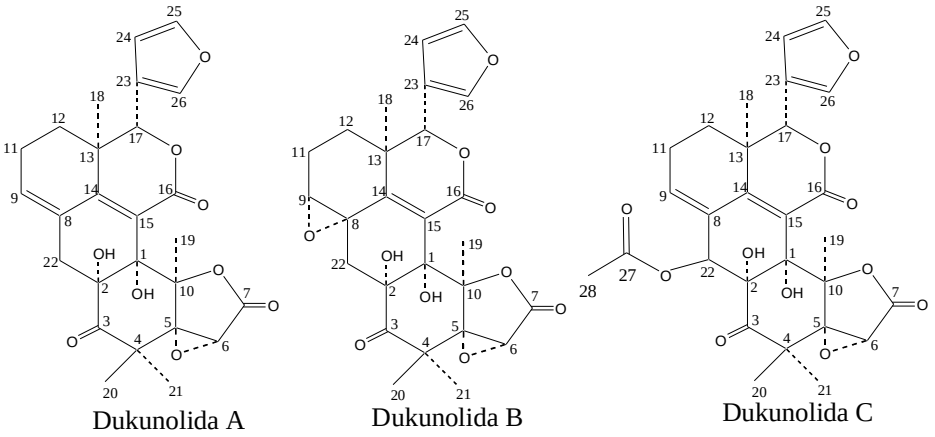
Gambar 2.4 Struktur lansiosida A, B, dan C (Nishizawa *et al.*, 1983)

Vyehara *et al.* (1988) menemukan senyawa yang bersifat toksik yaitu cis-cisoid-cis isomer dari 3-okso-α-bourbonen. Struktur 3-okso-α-bourbonen seperti ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur 3-okso-α-bourbonen (Vyehara *et al.*, 1988)

Nishizawa *et al.* (1985) berhasil mengisolasi tiga senyawa yang diberi nama dukunolida A, B, dan C. Dukundida merupakan golongan tetranortriterpenoid. Struktur dukunolida A, B, dan C ini seperti terlihat pada Gambar 2.6 dan data spektrum IR, ^{1}H-RMI, ^{13}C-RMI pada Tabel 2.2 , 2.3, dan 2.4.



Gambar 2.6 Struktur dukunolida A, B, dan C (Nishizawa *et al.*, 1985)

Tabel 2.2 Data spektrum IR dukunolida A, B, dan C (ν_{max} dalam $CHCl_3$) (Nishizawa *et al*.,1985)

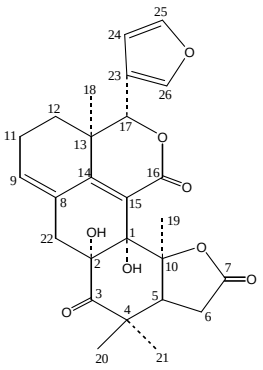
Senyawa	ν_{max} (cm^{-1})
Dukunolida A	3550, 3300, 1790, 1735, 1670, 1625, 1582, 1500, 960
Dukunolida B	3530, 3275, 1785, 1725, 1670, 950
Dukunolida C	3550, 3300, 1790, 1745, 1670, 1625, 1590, 1510, 950

Tabel 2.3 Data spektrum ^{1}H-RMI dukunolida A, B, dan C (400 MHz dalam $CDCl_3$) (Nishizawa *et al.*,1985)

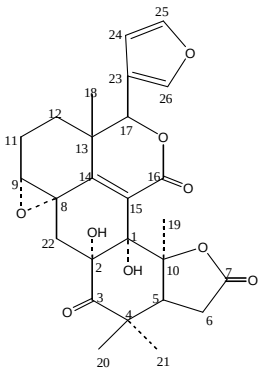
H pada karbon	Senyawa		
	Dukunolida A	Dukunolida B	Dukunolida C
1 (OH)	7,87	7,80	7,83
2 (OH)	3,53	3,54	3,78
5	-	-	-
6	3,81	3,91	4,08
9	6,22	3,39	6,26
11	2,30		2,36
12	1,49		1,50
17	5,29	5,34	5,30
18	1,10	1,14	1,13
19	1,74	1,73	1,77
20	1,09	1,08	1,03
21	1,48	1,48	1,52
22	2,59		5,84
24	6,46	6,41	6,46
25	7,44	7,43	7,45
26	7,52	7,49	7,52
28			2,15

Pada penelitian berikutnya, Nishizawa *et al*. (1988) telah mengisolasi lagi tiga senyawa dari biji buah *L. domesticum* Corr. yang diberi nama dukunolida D, E, dan F. Dukunolida D ($C_{26}H_{28}O_8$) merupakan 5,6-deoksidukunolida A. Dukunolida E ($C_{26}H_{28}O_9$) merupakan 5,6-deoksidukunolida B, sedangkan dukunolida F merupakan stereoisomer dukunolida E pada konfigurasi R C-13 dan C-17.

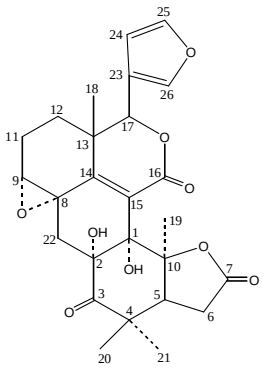
Selain dukunolida A, B, C, D, E, dan F, Nishizawa *et al.* (1988) juga mengisolasi senyawa minor mexicanolida yang merupakan senyawa minor pada ekstrak biji buah *L. domesticum* Corr. Struktur mexicanolida pada Gambar 2.8.



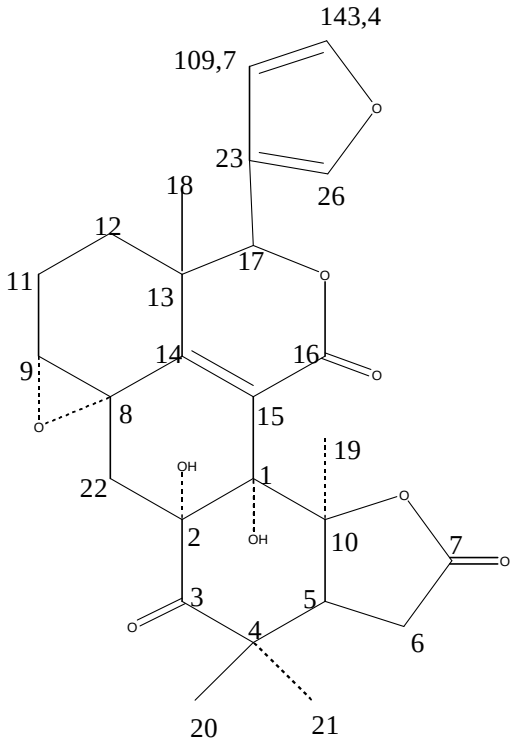
Dukunolida D



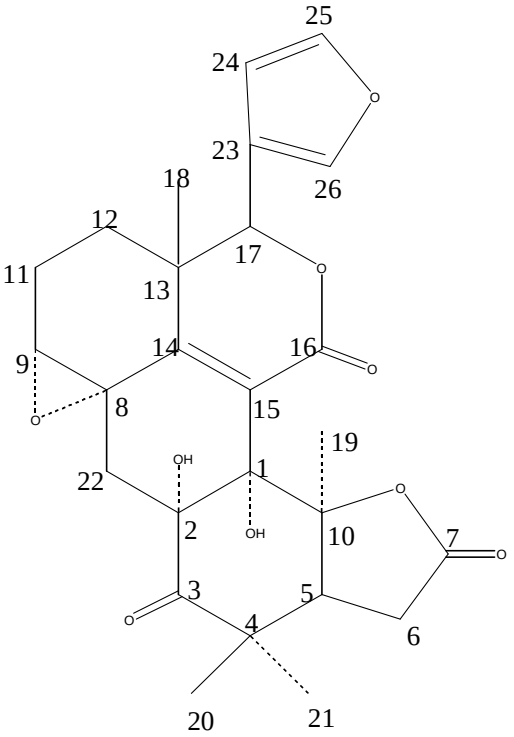
Dukunolida E



Dukunolida F



Dukunolida E



Dukunolida E

Gambar 2.7 Struktur dukunolida D, E, dan F (Nishizawa *et al.*, 1988)

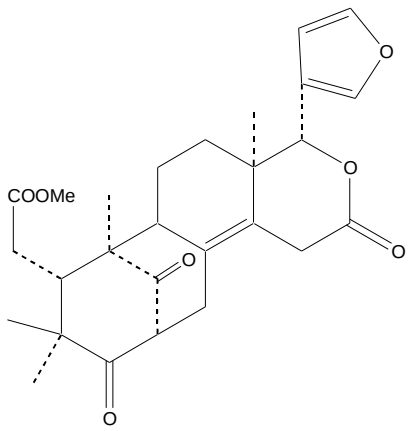
Tabel 2.4 Data spektrum ^{13}C-RMI dukunolida A, B, dan C (400 MHz dalam $CDCl_3$) (Nishizawa *et al.*,1985)

Senyawa

karbon	Dukunolida A	Dukunolida B	Dukunolida C
1	78,1	81,1	80,3
2	87,7	86,8	87,3
3	210,4	209,3	208,7
4	43,1	43,2	43,8
5	72,5	73,2	72,1
6	57,9	58,4	58,0
7	169,1	167,0	168,5
8	125,3	52,7	127,1
9	140,1	62,1	138,5
10	77,3	78,0	78,8
11	22,2	19,7	22,1
12	30,2	23,5	29,8
13	37,9	37,3	38,1
14	156,0	160,1	155,4
15	113,0	123,2	113,3
16	167,4	166,4	167,1
17	80,3	80,2	80,3
18	22,2	23,5	20,3
19	20,1	20,6	20,4
20	15,5	18,4	15,7
21	23,6	23,8	24,7
22	34,0	35,4	67,7
23	119,2	118,9	119,0
24	109,5	109,7	109,9
25	143,2	143,4	143,3
26	141,5	141,9	141,6
27(CO)	-	-	170,5
28(CH_3)	-	-	20,9

Tabel 2.5 Data spektrum IR dukunolida D, E, dan F (ν_{max} dalam $CHCl_3$) (Nishizawa *et al*.,1985)

Senyawa	ν_{max} (cm^{-1})
Dukunolida D	3400, 1765, 1720, 1620, 940
Dukunolida E	3500, 1770, 1725, 1675, 1620, 1580, 950
Dukunolida F	3500, 1770, 1725, 1675, 1620, 1580, 950



Gambar 2.8 Struktur mexicanolida (Nishizawa *et al.*, 1985)

Penelitian terhadap ekstrak kulit buah *L. domesticum* Corr. dilakukan oleh Kawai dan Yasushiro (1989) yang digunakan dalam perawatan rambut sebagai anti ketombe *(dandruff deterrent*) dan penguat (*hair tonic*).

III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan struktur kimia senyawa hasil isolasi dengan metode spektroskopi.
2. Mengungkapkan hubungan antara struktur kimia dan aktivitas *antifeedant* sehingga diperoleh informasi mengenai gugus fungsi yang bertanggung jawab terhadap aktivitas *antifeedant* tersebut.

3. Peningkatan *broad spectrum* bioaktivitas dan studi *mode of action* senyawa hasil isolasi.

3.2. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat bermanfaat untuk:

a. Mengungkapkan pemanfaatan biji kokosan dalam bidang pertanian sebagai bahan insektisidal alami
b. Mempelajari kemungkinan untuk memperoleh tanaman varietas baru yang memiliki sifat antifeedant melalui rekayasa genetika.
c. Mempelajari kemungkinan penggunaan senyawa antifeedant sebagai prototype sintesis senyawa pengendali hama.
d. Membuka kemungkinan usaha budidaya tanaman kokosan.

Keberhasilan usaha isolasi senyawa aktif dan sintesis parsial dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada pengembangan ilmu kimia bahan alam hayati terutama dalam hal metode isolasi dan transformasi senyawa aktif dari bahan alam. Disamping itu senyawa aktif yang diisolasi diharapkan dapat menjadi *leading compound* yang dapat dikembangkan menjadi senyawa yang memiliki keunggulan.

IV. METODE PENELITIAN

6.1. Bahan Penelitian

Isolat L-1, L-2, L-3 dan L-4 yang diperoleh pada penelitian Tahap I untuk penentuan struktur. Serangga uji untuk memahami mekanisme kerja senyawa *antifeedant* adalah larva *Epilachna sparsa* instar ke-4.

6.2. Lokasi dan Waktu

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Penelitian Lingkungan dan Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA Unpad, Jl. Singaperbangsa no: 2 Bandung, Laboratorium Fisiologi Hewan, Jurusan Biologi FMIPA Unpad, Jl Raya Jatinangor Km 21, mulai bulan Pebruari hingga November 2006. Pengukuran spektrum NMR atas bantuan dari Osaka Perfecture University Jepang dan Universitas Kebangsaan Malaysia.

6.3. Metode Penelitian

Isolat yang diperoleh diukur spektrum ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, APT, COSY, HMQC, HMBC dan NOESY lalu ditentukan strukturnya. Untuk mempelajari hubungan struktur dan keaktifan dibandingkan antara struktur senyawa aktif dan tidak aktif.

Mekanisme kerja senyawa *antifeedant* dipelajari dengan mengamati perubahan fisiologi larva *Epilachna sparsa* instar ke-3 yang telah diperlakukan dengan senyawa aktif. Larutan uji dari senyawa hasil isolasi dibuat pada konsentrasi 5%, dioleskan pada permukaan daun leunca yang selanjutnya diletakkan pada cawan petri. Empat ekor larva *Epilachna sparsa* instar ke-4 didedahkan. Pada petri lain empat ekor larva diperlakukan sebagai kontrol didedahkan dengan daun leunca yang diolesi metanol. Evaluasi dilakukan setelah 24 jam, selanjutnya seluruh larva difiksasi untuk pembuatan preparat jaringan.

Proses fikasasi dilakukan selama 24 jam dalam larutan formol alkohol yang tersusun dari alkohol 70% dan formalin. Preparat jaringan dibuat dengan menggunakan parafin dan pewarnaan hematoksilin-eosin dengan modifikasi. Mula-mula larva didehidrasi dengan dengan alkohol selama kira-kira 45 menit dilanjutkan dengan larutan xilol. Larva selanjutnya difiltrasi dengan parafin yang dicairkan dalam oven dengan suhu 60°C dilanjutkan dengan embedding atau penanaman preparat jaringan di dalam blok kertas. Setelah itu organ disayat dengan menggunakan mikrotom putar dan sayatan usus lalu dibuat foto mikrografnya untuk analisis.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Karakterisasi dan Penentuan Struktur Isolat

Dari hasil isolasi pada penelitian tahap I telah diperoleh empat buah isolat yaitu L-1, L-2, L-3 dan L-4. Isolat L-1 yang merupakan komponen mayor diperoleh sebanyak 6,1 g berbentuk kristal putih (aktivitas 78%) dengan karakter sebagai berikut: titik leleh 178-180° C, IR (KBr, cm^{-1}) 3470, 2978, 1722, 1631, 1162. Isolat L-1 diduga merupakan komponen yang tidak memiliki gugus kromofor,

mengandung gugus fungsi O-H, C=O dan C=C. Isolat L-2 berbentuk kristal putih diperoleh sebanyak 11,2 mg (aktivitas 0%) dengan karakter: titik leleh 200° C (dekomposisi), UV (λ_{maks} 274,6 nm, abs 0,573), IR (KBr, cm^{-1}) 3563,2931, 1758, 1437, 1290, 1158. Isolat L-2 diduga merupakan komponen yang mengandung gugus dengan transisi elektronik n-π^*, gugus O-H, dan C=O. Isolat L-3 diperoleh berbentuk bubuk putih sebanyak 22,5 mg (aktivitas 0 %) dengan karakter: titik leleh: 263,5-265° C, IR (KBr, cm^{-1}) 3421, 2933,1638, 1167, 1073. Isolat L-3 diduga merupakan komponen yang tidak memiliki gugus kromofor, mengandung gugus O-H, C=C dan C-O-C. Isolat L-4 diperoleh berbentuk bubuk putih sebanyak 23,7 mg (aktivitas 70%) dengan karakter: titik leleh 274° C (dekomposisi), IR (KBr, cm^{-1}) 3414, 2933, 1642, 1463, 1165, 1074. Isolat diduga merupakan komponen yang tidak memiliki gugus kromofor, mengandung gugus O-H, C=C, C-O-C dan C-CO-C.

5.1.1. Analisis Struktur Isolat L-1

Spektrum ^{13}C-NMR isolat L-1 menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan senyawa yang mengandung 26 atom C sehingga diduga sebagai senyawa golongan tetranortriterpenoid (Gambar 5.1). Sebelas sinyal yang muncul pada pergeseran kimia di bawah 50 ppm berasal dari atom C dengan ikatan jenuh. Lima sinyal pada pergeseran kimia 51-100 ppm berasal dari atom C teroksigenasi, enam sinyal pada pergeseran kimia 101-150 ppm berasal dari atom C berikatan rangkap dan empat sinyal pada pegeseran kimia di atas 150 ppm berasal dari atom C karbonil (Gambar 5.1).

Spektrum APT (*Attached Proton Test*) memperlihatkan dua belas sinyal positif (sebidang dengan sinyal karbon pelarut) yang berasal dari karbon kuartener dan karbon metilen, empat belas sinyal negatif yang berasal dari karbon metil dan metin (Gambar 5.2).

Gambar 5.1. Spektrum ^{13}C-NMR Isolat L-1

Gambar 5.2. Spektrum APT Isolat L-1

Spektrum ^{1}H-NMR memberikan informasi mengenai lingkungan proton melalui harga pergeseran kimia, jumlah proton melalui integrasi dan jumlah proton tetangga melalui multiplisitas. Dua buah sinyal yang muncul pada pergeseran kimia 0,98 ppm dan 1,07 ppm diduga berasal dari proton CH_3 sedangkan sebuah sinyal pada pergeseran kimia 3,67 ppm diduga berasal dari gugus metoksi (CH_3-O-). Hal tersebut terlihat dari intensitas sinyal yang tinggi serta bentuk singlet (Gambar 5.3). Proton-proton yang terikat pada karbon teroksigenasi muncul pada pergeseran kimia 3,2 – 4,3 ppm sedangkan proton dari karbon sp_2 muncul pada pergeseran kimia 4,9-5,9 ppm.

Gambar 5.3. Spektrum ^{1}H-NMR Isolat L-1

Spektroskopi NMR dua dimensi seperti HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) dan HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity) memberikan era baru pada elusidasi struktur senyawa organik karena secara teknik lebih meningkatkan sensitivitas spektra NMR dari inti yang lain proton. HMQC menunjukkan korelasi antara karbon dengan proton yang diikatnya sedangkan HMBC menunjukkan hubungan antara proton dengan karbon dengan jarak 1 hingga 3 ikatan. Spektroskopi dua dimensi lain yaitu ^{1}H-^{1}H COSY menunjukkan hubungan proton-proton visinal:

Analisis spektrum ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR, APT, HMQC, ^{1}H-^{1}H COSY, HMBC ditabulasikan dalam Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Analisis Spektrum NMR Isolat L-1

Dari Tabel 5.1 di atas dapat dirancang suatu struktur dengan pendekatan terhadap struktur dukunolida yang telah diisolasi dari biji duku (*Lansium domesticum* Corr cv. Duku). Sebagian besar harga pergeseran kimia ^{13}C-NMR dukunolida mirip dengan pergeseran kimia isolat L-1 (Gambar 5.4). Spektrum ^{13}C-NMR menunjukkan sebuah sinyal gugus karbonil keton (-CO-) pada δ 208,8 ppm, tiga buah gugus karbonil ester (-COO-) pada δ 164,6 ppm, δ 167,9 ppm dan δ 171,7 ppm. Lima sinyal dari karbon sp_3 teroksigenasi muncul pada δ 51,9 ppm, δ 55,7 ppm, δ 68,8 ppm, δ 75,3 ppm, dan δ 80,8 ppm. Empat sinyal dari karbon sp_2 (-C=C-) muncul pada δ 107,

7 ppm, δ 110,1 ppm, δ 116,0 ppm 119,8 ppm dan 119,8 ppm. Dua buah sinyal dari karbon sp_2 teroksigenasi muncul pada δ 141,3 ppm dan δ 142,8 ppm. Sebelas sinyal lain pada daerah δ 11 ppm – δ 50 ppm berasal dari karbon sp_3.