

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan salah satu negara dengan biodiversitas terbesar di dunia, salah satu diantaranya adalah tumbuhan. Rutaceae merupakan salah satu famili tumbuhan terbesar yang ditemukan di hutan tropis Indonesia (Heyne, 1987). Famili tumbuhan ini dikenal sebagai jeruk-jerukan dan pemanfaatannya antara lain sebagai bahan pangan dan obat tradisional (Heyne, 1987; Hartley, 2001). *Melicope* merupakan salah satu genus terbesar dari famili Rutaceae yang terdiri dari 235 species yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis. *Melicope* dikenal masyarakat dengan nama “kisampang”. Secara etnomedisin, rebusan daun *Melicope* dimanfaatkan untuk pengobatan diare, demam, darah tinggi, kanker, pengendali hama ulat dan kutu pada daun tembakau (Hartley, 2001). Kegunaan daun *Melicope* dalam pengobatan tradisional tentunya berhubungan dengan senyawa metabolit sekundernya.

Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan *Melicope* antara lain senyawa golongan alkaloid, kumarin, flavonoid, asilfloroglusinol, asam sinamat, lignan dan terpenoid (Ali,2006; Chen, 2003; Johnson, 2010; Komala,2006; Tjahjandarie, 2018; Saputri, 2018; 2019). Keunikan senyawa metabolit sekunder *Melicope* mengandung senyawa hibrid sikloadisi [2+2] dan [4+2]. Senyawa hibrid *Melicope* belum pernah ditemukan pada tumbuhan lain. Senyawa hibrid tersebut berasal dari penggabungan alkaloid-alkaloid, alkaloid-kumarin, alkaloid-asam sinamat, dan alkaloid-asilfloroglusinol. Biosintesis senyawa hibrid sikloadisi [2+2] melalui reaksi dari ikatan rangkap menghasilkan cincin siklobutana. Senyawa hibrid sikloadisi [4+2], secara biosintesis terbentuk melalui reaksi dari  $\alpha,\beta$ -keton tak jenuh (dienon) dengan ikatan rangkap menghasilkan cincin sikloheksena. Senyawa hasil sikloadisi [4+2] *Melicope* yang ditemukan sampai saat ini berasal dari penggabungan alkaloid-alkaloid (Goerge, 2016; Nakashima, 2011; 2012a; 2012b). Senyawa alkaloid merupakan prekursor dan mempunyai peranan penting dalam pembentukan senyawa hibrid sikloadisi [2+2] dan [4+2] *Melicope*.

Senyawa N-metilflindersin (**1**) atau 2,2,6-trimetil-pyrano[3,2-c]kuinolin-5-on merupakan prekursor pembentukan senyawa hibrid. Senyawa N-metilflindersin (**1**) mempunyai kromofor  $\alpha,\beta$ -keton tak jenuh sehingga dapat berfungsi sebagai diena sekaligus ena menghasilkan keragaman senyawa hibrid. Senyawa melikodin A (**8**) merupakan satu-

satunya senyawa hibrid [4+2] yang ditemukan pada tumbuhan *Melicope* yang berasal dari penggabungan alkaloid-asilfloroglusinol (Nakashima, 2012b). Ikatan rangkap dari  $\alpha,\beta$ -keton tak jenuh senyawa N-metilflindersin (**1**) bereaksi dengan kromofor ikatan rangkap dari senyawa turunan kumarin, asilfloroglusinol dan asam sinamat menghasilkan berbagai variasi senyawa hibrid sikloadisi [2+2] diantaranya melikodenin C (**46**), D (**47**), E (**7**) yang telah ditemukan pada daun *M. denhamii* (Nakashima, 2012a; 2012b). Ditinjau dari struktur senyawa turunan kumarin, asilfloroglusinol dan asam sinamat memberi peluang menghasilkan kerangka baru senyawa hibrid sikloadisi [2+2] dan [4+2] yang berasal dari penggabungan kumarin-asam sinamat, kumarin-asilfloroglusinol atau asam sinamat-asilfloroglusinol. Biosintesis senyawa hibrid terbentuk melalui reaksi enzimatik yang dihasilkan tumbuhan *Melicope*. Penemuan senyawa hibrid tersebut memberi kontribusi ilmiah yang penting pada aspek fitokimia tumbuhan *Melicope* Indonesia dan memberi peluang untuk menemukan senyawa baru hidrid sikloadisi [2+2] dan [4+2] lainnya pada tumbuhan *Melicope*.

Senyawa hibrid sikloadisi [2+2] dan [4+2] yang ditemukan pada *M. denhamii* mengenai informasi tentang aktivitas biologisnya sangat terbatas. Senyawa melikodenin A–G (**44-48**) yang ditemukan dari daun *M. denhamii* telah diuji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker *colon* manusia DLD-1. Senyawa melikodenin G (**48**) merupakan senyawa hibrid alkaloid-kumarin memperlihatkan sitotoksitas yang sangat tinggi terhadap kanker DLD-1 dibandingkan dengan senyawa hibrid lainnya (Nakashima, 2012a). Aktivitas sitotoksik dari senyawa hibrid *Melicope* perlu dikaji secara luas sehingga informasi secara komprehensif tentang hubungan struktur dengan toksisitas senyawa hibrid ditinjau dari segi pengaruh cincin, stereokimia, kromofor, ukuran molekul dan kerangka senyawa.

Senyawa golongan alkaloid furokuinolin merupakan senyawa metabolit sekunder lainnya yang ditemukan pada tumbuhan *Melicope* dan telah diuji terhadap sel kanker *colon* manusia tipe HT-29, sel kanker murine leukemia P-388 dan sel kanker paru-paru A-549. Senyawa alkaloid konfusamelin dan dutadrupin memperlihatkan toksisitas yang sangat tinggi terhadap sel kanker *colon* manusia tipe HT-29, sel kanker murine leukemia P-388 dan sel kanker paru-paru A-549 (Chen, 2003). Beragamnya efek fisiologis yang luas mengenai toksisitas senyawa metabolit sekunder tumbuhan *Melicope* terhadap sel DLD-1 dan HT-29, sel P-388 dan sel A-549 tidak menutup kemungkinan adanya keaktifan yang signifikan terhadap berbagai jenis sel kanker yang lain seperti sel kanker payudara dan sel kanker rahim. Perbedaan toksisitas terhadap sel kanker dari senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan

*Melicope* dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor tersebut antara lain melalui kajian berupa golongan senyawa, kerangka senyawa, ikatan molekul, sudut ikatan, kepolaran, kromofor, pengaruh cincin dan stereokimia.

Berdasarkan keterangan diatas, maka tujuan desertasi antara lain melakukan pengkajian lebih lanjut terhadap senyawa metabolit sekunder dari empat spesies *Melicope spp* (*M. denhamii* (Seem) T. G Hartley, *M. quercifolia* T. G. Hartley, *M. glabra* (Blume) T. G. Hartley, dan *M. xanthoxyloides* (F. Muell) T.G. Hartley), mempelajari pola pembentukan senyawa hibrid sikloadisi [2+2] dan [4+2]. Selain kajian fitokimia, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari hubungan struktur dan keaktifan senyawa *Melicope* terhadap sel kanker payudara MCF-7, sel kanker murin leukemia P-388 dan sel kanker rahim HeLa dengan menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*) untuk memperoleh *lead compound* antikanker. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstraksi, pemisahan dan pemurnian menggunakan kromatografi cair vakum, kromatografi kolom dengan berbagai fasa diam (silika gel, sefads LH-20, dan poliamid) dan kromatografi radial. Penentuan struktur molekul senyawa hasil isolasi ditetapkan dengan spektroskopi ultraviolet (UV), inframerah (IR), resonansi magnet inti 1D ( $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ ) dan 2D NMR (COSY, NOEs, HMQC dan HMBC) serta spektroskopi massa resolusi tinggi (HRESIMS). Selanjutnya, senyawa-senyawa hasil isolasi ditentukan sifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7, sel kanker murin leukemia P-388 dan sel kanker rahim HeLa melalui metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*) menggunakan garam [3-(4,5-dimetiltiazo-2-il)2,5-difeniltetrazolium bromide] *assay* (Chen, 2003; Nakashima, 2012a, Saputri, 2019).

## 1.2 RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang penelitian di atas maka rumusan masalah adalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah keragaman struktur senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun *Melicope*?
2. Bagaimanakah tipe kerangka senyawa hibrid sikloadisi [2+2] dan [4+2] yang terdapat pada daun *Melicope*?
3. Bagaimanakah pola pembentukan senyawa hibrid sikloadisi [2+2] dan [4+2] tersebut?

4. Bagaimanakah hubungan struktur dengan keaktifan senyawa terhadap sel MCF-7, sel P388 dan HeLa?

### 1.3 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan Penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengungkapkan keragaman struktur senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada bagian daun *Melicope* Indonesia.
2. Mengungkapkan keragaman struktur senyawa hibrid yang terdapat pada bagian daun *Melicope* Indonesia.
3. Mengungkapkan gambaran mekanisme reaksi kimia pembentukan senyawa hibrid yang terdapat pada bagian daun *Melicope* Indonesia.
4. Menentukan hubungan struktur dengan keaktifan senyawa tumbuhan *Melicope* terhadap sel kanker payudara MCF-7, sel kanker murin leukemia P-388 dan sel kanker rahim HeLa.

### 1.4 MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini memberikan implikasi pada aspek pendidikan, ilmiah dan praktis.

1. Aspek Pendidikan: penelitian ini memberikan informasi keragaman senyawa metabolit sekunder *Melicope*, khususnya senyawa hibrid dari sikloadisi [2+2] dan [4+2]. Proses pembentukan senyawa hibrid akan memberi gambaran pola pembentukan senyawa hibrid beserta asal-usul monomer penyusunnya. Dengan ditemukannya senyawa hibrid, penelitian ini akan memberikan pengetahuan baru dan dapat disusun sebagai buku teks yang dapat dijadikan rujukan tentang keragaman senyawa hibrid *Melicope* Indonesia.
2. Aspek Ilmiah: penelitian ini memberikan informasi tentang model pembuktian ilmiah senyawa hibrid *Melicope* melalui reaksi sikloadisi [2+2] dan [4+2] termasuk peluang menemukan senyawa baru, kerangka baru serta mengungkapkan pola hubungan struktur-aktivitas antikanker dalam rangka memperoleh *lead compound Melicope*. Senyawa baru

yang berhasil dipisahkan dari tumbuhan *Melicope* Indonesia diharapkan dapat memberi kontribusi ilmiah sehingga dapat dipublikasikan pada jurnal internasional yang bereputasi.

3. Aspek Praktis: *lead compound* senyawa hibrid atau senyawa alkaloid, flavonoid, kumarin, asilfloroglusinol dan asam sinamat *Melicope* akan dapat diaplikasikan sebagai alternatif pengembangan obat kanker baru.