

KANDUNGAN KIMIA SPESIES *ZINGIBER CASSUMUNAR*

Rohaiza Saat

Fakulti Sains Gunaan , Universiti Teknologi MARA
Cawangan Pahang, 26400 Bandar Jengka, Pahang

Abstrak: Rizom kering spesies *Zingiber cassumunar* diekstrak dengan menggunakan kloroform secara Soxhlet selama 20 jam. Pemisahan dan penulenan komponen kimia telah dijalankan dengan menggunakan beberapa kaedah kromatografi dan strukturnya ditentukan melalui pelbagai kaedah spektroskopi, spektroskopi inframerah (IM), resonans magnet nukleus (RMN) dan kromatografi gas-spektroskopi jisim (KG-SJ). Lima komponen kimia tulen telah berjaya diasingkan daripada *Z. cassumunar*. Komponen tersebut telah dikenalpasti sebagai kurkumin, 1-(3',4'-dimetoksifenil)-butadiena, (*E*)-4-(3',4'-dimetoksifenil) but-3-en-1-il asetat, (*E*)-4-(3',4'-dimetoksifenil) but-3-en-1-ol dan *cis*-3-(2',4',5'-trimetoksifenil)-4-[(*E*)-2''',4''',5'''-trimetoksistiril] sikloheks-1-en. Kajian bioaktiviti ke atas ekstrak mentah dan kurkumin terhadap anak udang, *Artemia salina* menunjukkan nilai ED₅₀ 10.37 ppm dan 542.88 ppm.

Kata kunci: *Zingiber cassumunar*, Sebatian tulen, Ketoksikan anak udang (*Artemia salina*)

Pengenalan

Zingiberaceae merupakan sejenis tumbuhan monokotiledan yang hidup subur di kawasan hutan tropika dan sub tropika terutamanya di negara Asia, India dan Australia. Famili Zingiberaceae mempunyai lebih kurang 47 genus dan hampir 1500 spesies. Di Semenanjung Malaysia sahaja terdapat kira-kira 23 genus dengan 150 spesies Zingiberaceae yang boleh didapati secara semula jadi [1]. Tumbuhan ini lazimnya tumbuh dengan subur di kawasan lembah dan di lereng bukit hutan tanah pama, khususnya tanah yang gembur. *Zingiber* (halia), *Curcuma* (kunyit), *Alpinia* (lengkuas), *Kaempferia* (cekur), *Nicolaia* (kantan), *Costus* (setawar) dan *Amomum* (tepus) adalah di antara beberapa genus tumbuhan Zingiberaceae yang mudah ditemui di hutan Malaysia. Selain daripada itu beberapa spesies famili ini banyak ditanam di halaman rumah oleh masyarakat Malaysia untuk pelbagai tujuan. Antaranya termasuklah *Zingiber officinale* (halia), *Zingiber cassumunar* (bonglai), *Zingiber zerumbet* (lempoyang), *Curcuma domestica* (kunyit), *Alpinia galanga* (lengkuas), *Kaempferia galanga* (cekur), *Nicolaia speciosa* dan *Costus speciosus*.

Sejak dahulu lagi masyarakat Malaysia telah menggunakan tumbuhan Zingiberaceae sebagai bahan perisa dalam masakan untuk menambahkan lagi kelazatan dan aroma makanan. Kini dengan meningkatnya keperluan masyarakat, maka penggunaan spesies Zingiberaceae telah diperluaskan sehingga ke bidang industri makanan terutamanya dalam pembuatan roti, kek, biskut, jeruk dan minuman [2]. Selain daripada itu tumbuhan ini juga dijadikan bahan utama pembuatan kosmetik dalam industri farmaseutik [3]. Tumbuhan Zingiberaceae juga dipercayai mempunyai nilai perubatan yang tinggi oleh masyarakat terdahulu dan telah digunakan secara meluas sebagai ramuan dalam perubatan tradisional.

Contohnya rizom *Z. cassumunar* telah digunakan untuk merawat penyakit sengal-sengal tulang (reumatik) dan penyakit lelah [4]. Kajian biologi yang telah dilakukan ke atas tumbuhan ini menunjukkan bahawa spesies ini mengandungi bahan yang berfungsi sebagai antibengkak, melegakan sakit tekak, ketegangan rahim dan memanaskan badan [5]. Rizom *Zingiber cassumunar* juga dilaporkan mempunyai kesan antikulat terhadap *Rhizoctonia soloni* yang menyebabkan penyakit *Phaseolus aureus* pada biji benih sayur-sayuran [6]. Kajian terbaru oleh sekumpulan penyelidik telah mendapati sebatian tulen yang berjaya dipisahkan dari spesies ini bersifat sitotoksik dan berpotensi merencatkan sel HIV [7]. Kemajuan teknologi dalam bidang fitokimia dan farmakologi telah menghasilkan banyak kajian tentang keberkesanan spesies Zingiberaceae sebagai bahan ubat untuk penyakit-penyakit tertentu. Dalam kertas kerja ini, kami ingin melaporkan pengasingan dan pengenalpastian sebatian semula jadi daripada rizom spesies *Zingiber cassumunar*.

EKSPERIMEN

Keterangan Am Eksperimen

Rizom segar *Z. cassumunar* telah diperolehi dari Pasar Awam Larkin, Johor Bahru. Kromatografi lapisan nipis (KLN) dilakukan dengan menggunakan plat Merck 'precoated' gel silika F₂₅₄ (ketebalan 0.2 mm). Kromatografi turus vakum dilakukan dengan menggunakan gel silika Merck (230-400 mesh), manakala gel silika Merck (70-230 mesh) digunakan untuk kromatografi turus graviti. Spektrum inframerah (IM) dirakam dengan menggunakan Spektrofotometer Perkin Elmer FT 1600 dengan filem cecair dan cakera KBr. Spektrum RMN ¹H dan ¹³C masing-masing direkodkan dengan menggunakan spektrometer RMN Varian Unity INOVA 400 yang beroperasi pada 400 MHz dan 100 MHz. Spektrum kromatografi gas-spektroskopi jisim (KG-SJ) direkodkan dengan menggunakan alat Hewlett Packard siri 5890 dan siri 5989.

Pengasingan dan Pengenalpastian Komponen Kimia

Rizom *Z. cassumunar* yang telah dikeringkan dan dikisar halus (177.8 g) diekstrak dengan kloroform menggunakan radas Soxhlet selama 20 jam. Seterusnya hasil pengekstrakan dipekatkan dengan alat 'rotary evaporator' bagi menghasilkan ekstrak mentah (18.00 g, 10.4 %). Pemingkatan menggunakan kromatografi turus vakum dengan petroleum eter - eter dan diikuti oleh campuran petroleum eter - etil asetat dengan kekutuban menaik sebagai pelarut menghasilkan 26 fraksi. Fraksi-fraksi digabungkan berdasarkan analisis KLN kepada 5 fraksi. Fraksi-fraksi dituliskan secara kromatografi turus graviti dan penghabluran semula. Struktur komponen tulen dikenalpasti melalui pencirian menggunakan RMN, IM dan SJ.

Kajian Bioaktiviti Bagi Ekstrak Z. cassumunar

Hasil ekstrak mentah *Z. cassumunar* dan kurkumin diuji ketoksikannya menggunakan anak udang (*Artemia salina*) [8].

1. Penetasan Anak Udang (*Artemia salina*)

Air garam laut disediakan dengan melarutkan garam "Instant Ocean" (2.0 g) di dalam 100 mL air suling. Kemudian air garam laut dituras dan dimasukkan ke dalam bekas penetasan (akuarium) yang mempunyai 2 bahagian. Salah satu bahagian dibalut dengan kertas hitam untuk menghalang kemasukan cahaya. Sebanyak 2 spatula kecil telur anak udang (*Artemia salina*) dimasukkan ke dalam bahagian gelap dan bekas penetasan ditutup rapat. Telur dibiarkan selama 48 jam bagi membolehkan proses penetasan berlaku. Selepas 48 jam, anak udang cukup matang dan sedia untuk digunakan dalam ujian ketoksikan.

2. Penyediaan Sampel

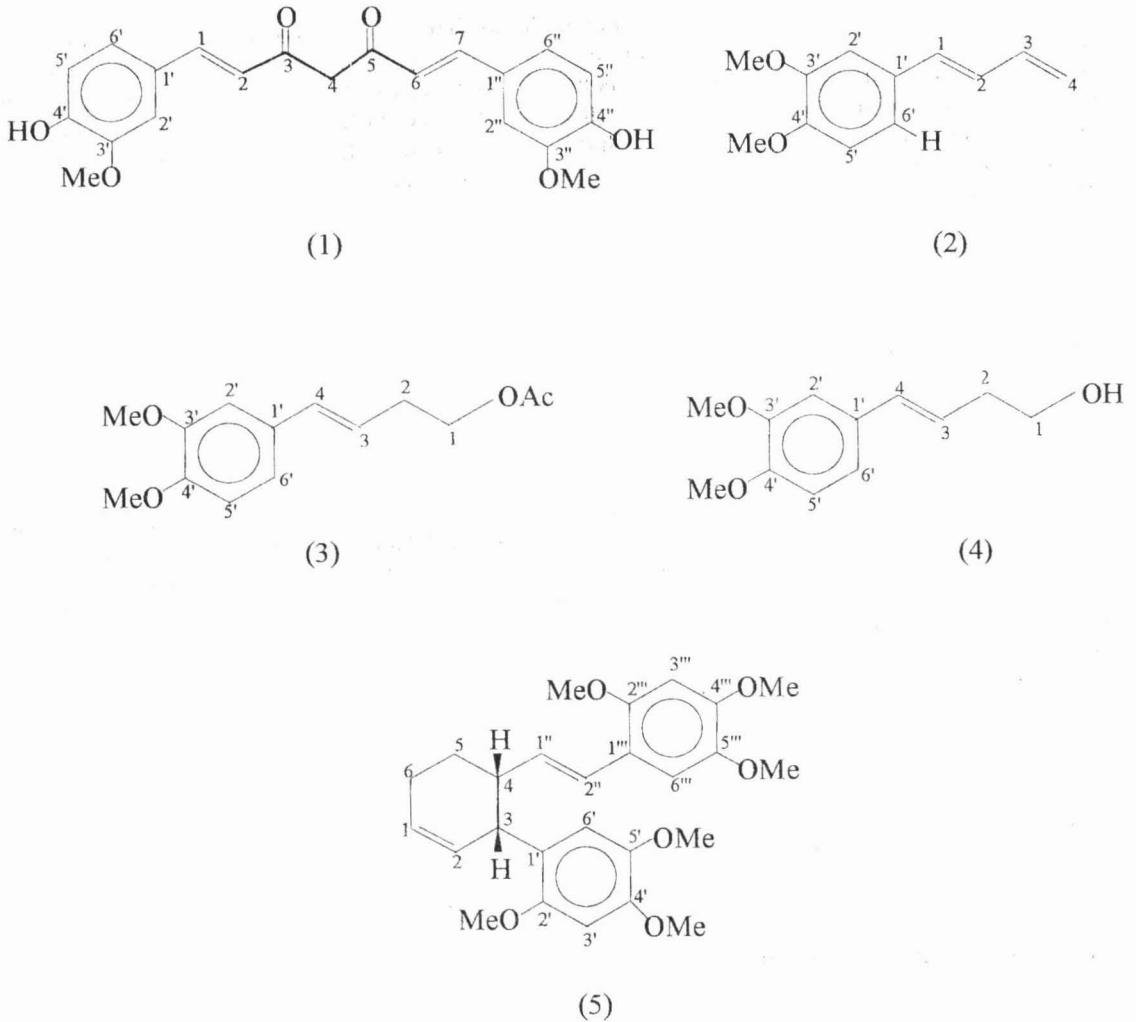
Sampel (20.0 mg) dimasukkan ke dalam botol sampel dan dilarutkan di dalam metanol (2 mL). Sampel untuk ujian disediakan dalam 3 kepekatan iaitu pada 10, 100 dan 1000 ppr. Setiap satu sampel memerlukan 9 vial iaitu 3 vial untuk setiap satu kepekatan. Sampel dipindahkan ke dalam setiap set vial sebanyak 5, 50 dan 500 µL dengan menggunakan pipet mikro. Selain daripada itu, 2 vial kawalan juga disediakan dengan vial kawalan pertama mengandungi air garam (5 mL), manakala vial kawalan kedua mengandungi beberapa titis metanol yang dibiarkan meruap.

3. Ujian Ketoksikan

Air garam (2 mL) dimasukkan terlebih dahulu ke dalam setiap vial sebelum 10 ekor anak udang dimasukkan ke dalam setiap satu vial. Kemudian air garam ditambahkan lagi sehingga mencapai isipadu 5 mL per vial. Bilangan anak udang yang mati dalam setiap vial dikira selepas 24 jam dan bilangan bagi setiap kepekatan dipuratakan. Data yang diperolehi dianalisis dengan menggunakan Perisian Data Finney untuk menentukan nilai dos efektif, ED₅₀ bagi sampel.

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Kajian ke atas rizom *Zingiber cassumunar* telah menghasilkan berbagai-bagai sebatian semula jadi yang menarik daripada segi biologi dan kimia. Lima sebatian tulen telah berjaya diasingkan daripada rizom *Z. cassumunar* seperti dalam Rajah 1. Empat sebatian yang telah dipisahkan iaitu 1-(3',4'-dimetoksifenil)-butadiena, (*E*)-4-(3',4'-dimetoksifenil)but-3-en-1-il asetat, (*E*)-4-(3',4'-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol dan *cis*-3-(2',4',5'-trimetoksifenil)-4-[(*E*)-2''',4''',5'''-trimetoksistiril] sikloheks-1-en dilaporkan turut dipisahkan daripada rizom *Z. cassumunar* Roxb dari negara Indonesia dan Thailand [9-11]. Persamaan ini kemungkinan disebabkan oleh faktor iklim dan cuaca yang tidak banyak perbezaan. Namun begitu sebatian kurkumin belum pernah lagi dilaporkan dipisahkan daripada *Z. cassumunar* sebelum ini.



Rajah 1: Komponen tulen daripada *Zingiber cassumunar*

Kurkumin (1) merupakan sebatian berbentuk hablur berwarna kuning (0.08 g, 0.04 %) sebagai hablur berwarna kuning; takat lebur 175-177°C, ruj. [28] 175°C, SJ: j/c 368 [M]⁺ C₂₁H₂₀O₆, 177(100), 350 (38), 145 (46); IM ν_{maks} cm⁻¹: 3506.4, 1627.7, 1603.1 dan 1508.8; RMN ¹H: δ 3.93 (6H, s, 2 x OMe), 5.80 (1H, s, H-4), 5.87 (2H, s, 2 x OH), 6.50 (2H, d, J = 15.9 Hz, H-2 dan H-6), 6.90 (2H, dd, J = 8.5 Hz, H-5' dan H-5''), 7.08 (2H, dd, J = 8.5 dan 1.8 Hz, H-6' dan H-6''), 7.14 (2H, d, J = 1.8, H-2' dan H-2''), 7.60 (2H, d, J = 15.9 Hz, H-1 dan H-7); RMN ¹³C: δ 56.20, 56.20, 101.60, 109.80, 109.80, 115.00, 115.00, 121.90, 121.90, 123.00, 123.00, 127.90, 127.90, 141.10, 141.10, 147.00, 147.00, 148.00, 148.00, 183.80, 183.80.

1-(3',4'-dimetoksifenil)-butadiena (2) berupa sebatian cecair berwarna kuning keperangan yang tidak stabil pada suhu bilik. SJ: j/c 190 [M]⁺ C₁₂H₁₄O₂, 159 (100), 144 (73), 115 (92); IM ν_{maks} cm⁻¹: 3018.6, 2934.9, 2836.1, 1670.6 dan 1026.8; RMN ¹H: δ 3.86 (3H, s, OMe), 3.91 (3H, s, OMe), 5.13 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-4), 5.30 (1H, d, J = 16.4 Hz, H-4), 6.45 (1H, dd, J = 9.2 Hz, 16.4 Hz, H-3), 6.50 (1H, d, J = 16.4 Hz, H-1), 6.66 (1H, dd, J = 16.4 Hz, 11.0 Hz, H-2), 6.80 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.89 (1H, dd, J = 8.1 Hz, 2.0 Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2').

(*E*)-4-(3',4'-dimetoksifenil)but-3-en-1-il asetat (3) adalah sebatian cecair kuning muda; SJ: j/c 250 [M]⁺ C₁₄H₁₈O₄, 190 (78), 159 (89), 43 (100); IM ν_{maks} cm⁻¹: 2929.1, 1514.1, 1735.1, dan 1264.1; RMN ¹H: δ 2.06 (3H, s, OCOMe), 2.52 (2H, k, J = 7.0 Hz, H-2), 3.88 dan 3.90 (6H, s, 2 x OMe), 4.17 (2H, t, J = 7.0 Hz, H-1), 6.00 (1H, dt, J = 16.0 Hz, 7.0 Hz, H-3), 6.39 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-4), 6.81 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.89 (1H, dd, J = 8.5 Hz, 2.0 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'); RMN ¹³C: δ 21.00, 32.20, 55.90, 56.00, 63.80, 108.10, 111.50, 119.80, 123.80, 130.10, 132.20, 148.90, 149.00, 171.00.

(*E*)-4-(3',4'-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol (4) merupakan sebatian cecair kuning gelap. SJ: j/c 208 [M]⁺ C₁₂H₁₆O₃, 177 (100), 146 (37); IM ν_{maks} cm⁻¹: 3440.5, 2936.9, 1603.8, 1513.8, 1263.9 dan 1026.7; RMN ¹H: δ 2.48 (2H, k, J = 6.7 Hz, H-2), 3.70 (2H, t, J = 6.7 Hz, H-1), 3.88 (3H, s, OMe), 3.90 (3H, s, OMe), 6.05 (1H, dt, J = 16.0 Hz, 6.7 Hz, H-3), 6.44 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-4), 6.78 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.89 (1H, dd, J = 8.5 Hz, 2.0 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'); RMN ¹³C: δ 36.10, 55.90, 56.00, 62.00, 108.10, 111.50, 119.80, 124.20, 130.10, 132.20, 148.90, 149.00.

Cis-3-(2',4',5'-trimetoksifenil)-4-[(*E*)-2''',4''',5'''-trimetoksistiril] sikloheks-1-en (5) merupakan sebatian cecair kuning keperangan. SJ: j/c 440 [M]⁺ C₂₆H₃₂O₆, 220 (100), 189 (67), 145 (10); IM ν_{maks} cm⁻¹: 2934.1, 1607.6, 1521.9, 1043.5, 1031.8 dan 872.8; RMN ¹H: δ 1.70 (2H, m, H-5), 2.20 (2H, m, H-6), 2.80 (1H, m, H-4), 3.60-3.90 (18H, s, 6 x OMe), 4.10 (1H, m, H-3), 5.94 (1H, d lebar, J = 10.4 Hz, H-1), 5.66 (1H, d lebar, J = 10.4 Hz, H-2), 5.75 (1H, dd, J = 14.8 Hz, 8.0 Hz, H-1''), 6.41 (1H, d, J = 14.8 Hz, H-2''), 6.40-6.80 (4H, s, 4 x ArH); RMN ¹³C: δ 24.40, 24.80, 42.60, 45.80, 55.80, 55.90, 56.20, 56.20, 56.60, 56.60, 108.90, 110.50, 114.80, 119.00, 122.00, 128.00, 128.50, 129.00, 131.40, 132.40, 143.20, 147.60, 148.20, 148.90, 149.00, 151.00.

Jadual 1: Ujian ketoksikan terhadap *Artemia Salina*

| Kepekatan Sampel (ppm) | Bilangan anak udang yang mati (ekor) | |
|------------------------|--------------------------------------|----------|
| | Ekstrak mentah | Kurkumin |
| 10 | 5 | 0 |
| | 5 | 0 |
| | 5 | 0 |
| 100 | 10 | 0 |
| | 10 | 1 |
| | 10 | 0 |
| 1000 | 10 | 8 |
| | 10 | 8 |
| | 10 | 7 |

| Sampel | Nilai ED ₅₀ (ppm) |
|----------------|------------------------------|
| Ekstrak mentah | 10.37 |
| Kurkumin | 542.88 |

Analisis data kematian anak udang dengan program Finney bagi sampel ekstrak mentah dan kurkumin (dalam jadual 1), menunjukkan nilai ED₅₀ masing-masing 10.37 ppm dan 542.88 ppm. Ekstrak mentah kloroform *Z. cassumunar* menunjukkan nilai ED₅₀ yang sangat toksik. Nilai ketoksikan tinggi yang ditunjukkan oleh ekstrak mentah *Z. cassumunar* ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh kesan 'sinergi'. Sebatian kurkumin juga bersifat toksik dan ini menyokong kenyataan kajian terdahulu yang melaporkan bahawa kurkumin adalah sebatian yang aktif biologi.

KESIMPULAN

Kajian ke atas spesies *Zingiber cassumunar* telah menghasilkan 5 sebatian tulen iaitu kurkumin, 1-(3',4'-dimetoksifenil)butadiena, (E)-4-(3',4'-dimetoksifenil)but-3-en-1-il asetat, (E)-4-(3',4'-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol dan *cis*-3-(2',4',5'-trimetoksifenil)-4-[(E)-2^{'''},4^{'''},5^{'''}-trimetoksistiril] sikloheks-1-en. Ini merupakan laporan pertama pengasingan kurkumin daripada genus *Zingiber* secara amnya dan daripada spesies *Z. cassumunar* secara khususnya. Kajian bioaktiviti ke atas ekstrak mentah dan kurkumin terhadap anak udang, *Artemia salina* menunjukkan nilai ED₅₀ masing-masing 10.37 ppm dan 542.88 ppm.

PENGHARGAAN

Penulis merakamkan terima kasih kepada Puan Mek Zum Mohamed dan Encik Azmi yang merekodkan spektrum RMN. Encik Ayob Jabal yang merakamkan spektrum SJ. Akhir sekali setinggi-tinggi penghargaan kepada IRPA yang membiayai projek ini melalui Vot 72053.

RUJUKAN

1. Holttum, R. E. 1950. "The Zingiberaceae of the Malay Peninsula", *Gard. Bull. Sing.*, 13, 1-249.
- Burkill, I. H. 1966. "A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsular." Ministry of Agriculture and Cooperatives. Kuala Lumpur. 2335-2346.
2. Ibrahim, H. and Rahman, A. 1988. "Several Ginger Plants (Zingiberaceae) Potential Value." Proceedings of The Seminar on Malaysian Traditional Medicine. Kuala Lumpur. 159-161.
3. Amatayakul, T. and Dampawan, P. 1979. "Chemistry and Crystal Structures of Some Constituents of *Zingiber cassumunar*" *Aust. J. Chem*, 32, 71-88.
4. Masuda, T. and Jitoe, A. 1995. "Phenylbutenoid Monomers from the Rhizomes of *Zingiber cassumunar*", *Phytochemistry*, 39, 459-461.
5. Kishore, N. and Dwivedi, R. S. 1992. "Zerumbone : a potential fungitoxic agent isolated from *Zingiber cassumunar* Roxb.", *Mycopathologia*, 120,155.
6. Dai, J. R., Cardellina, John, H., McMahon, James, B. and Michael, R. 1997. "Zerumbone, an HIV-inhibitory and cytotoxic sesquiterpene of *Zingiber aromaticum* and *Z. zerumbet*." *Nat. Prod. Lett.* 10, 115-118.
7. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. and McLaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Medica*, 45, 31-34.
8. Tuntiwachwuttikul, P., Pancharoen, O., Jaipetch, T. dan Reutrakul, V. 1981. "Phenylbutanoids from *Zingiber cassumunar*." *Phytochemistry*. 20. 1164.
9. Masuda, T. and Jitoe, A. 1995. "Phenylbutenoid Monomers from the Rhizomes of *Zingiber cassumunar*." *Phytochemistry*. 39. 459-461.
10. Amatayakul, T., Cannon, J. R., Dampawan, P. and Dechatiwongse, T. 1979. "Chemistry and Crystal Structures of Some Constituents of *Zingiber cassumunar*." *Aust. J. Chem*. 32. 71-74.
11. Jitoe, A., Masuda, T. and Nakatani, N. 1993. " Phenylbutenoid Dimers From The Rhizomes of *Zingiber cassumunar*." *Phytochemistry*. 32. 357-363.