

PEMISAHAN DAN PENENTUAN STRUKTUR MINYAK LEMAK
DAN ALKALOID PIROLIZIDINA DARIPADA BIJI
CROTALARIA CLEOMIFOLIA

NOOR WIRI BINTI MAZLAN

UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA

PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

19 Julai 2010


NOOR WINI BINTI MAZLAN
P 43920

PENGHARGAAN

Segala puji-pujian bagi Allah S. W. T. Tuhan yang Maha Esa serta selawat dan salam ke atas junjungan besar Nabi Muhammad S. A. W. Syukur alhamdulillah ke hadrat Illahi kerana dengan limpah kurnia-Nya, saya diberi kekuatan, ketabahan serta keyakinan untuk menyiapkan tesis ini.

Di kesempatan ini, ingin saya merakamkan setinggi-tinggi penghargaan buat Prof. Emeritus Dato' Dr. Ikram M. Said selaku penyelia di atas nasihat, bimbingan serta bantuan kepada saya.

Terima kasih tidak terhingga juga saya tujukan buat Prof. Dr. Bohari Yamin dan P. M Dr. Jalifah Latip di atas bantuan dan nasihat buat saya. Tidak dilupakan juga buat pegawai sains iaitu Pn Fauziana dan Pn. Hidayah serta semua penolong pegawai sains terutama En. Ujang, En. Bakri, En. Isa, En. Mat Nor dan pembantu makmal En. Safa Rizal dan Pn. Liza.

Penghargaan ini juga ditujukan buat Universiti Malaysia Terengganu dan Kementerian Pengajian Tinggi di atas bantuan kewangan program Skim Latihan Akademik Bumiputra (SLAB) serta geran penyelidikan oleh Kementerian Sains, Teknologi dan Inovasi (02-01-02-SF0181) serta Fakulti Sains dan Teknologi terutama Kumpulan Penyelidikan Sebatian Semulajadi (KPSS), Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan di atas segala kemudahan yang diberikan sepanjang saya menjalani penyelidikan ini.

Tidak ketinggalan ucapan terima kasih yang tidak terhingga buat keluarga terutamanya kakak yang disayangi di atas segala sokongan, harapan dan kasih sayang yang diberikan. Buat teman-teman seperjuangan terutama ahli KPSS (Warie, Madihah, Alino, Indah, Husna, Kak Rohaiza, Kak Yati, Pak Agus, Kak Amalia dan Kak Masila) terima kasih di atas segala bantuan, sokongan serta kesudian berkongsi suka duka sepanjang mengikuti pengajian ini.

ABSTRAK

Kajian fitokimia ke atas ekstrak biji *Crotalaria cleomifolia* (kacang hantu) daripada Simpang Pulai-Berinchang, Cameron Highlands dijalankan untuk menentukan komponen-komponen kimianya iaitu kandungan minyak dan lemak serta memisah dan menentukan struktur alkaloid pirolizidina. Pengekstrakan dilakukan pada suhu bilik dalam dua jenis pelarut yang berbeza kepolaran iaitu heksana dan metanol secara berturutan. Ekstrak heksana biji *Crotalaria cleomifolia* ditentukan komposisi minyak dan lemak dengan kaedah piawai daripada *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) dan *American Oil Chemist's Society* (AOCS). Manakala ekstrak metanol setelah dikeringkan telah diperlakukan pengekstrakan asid-bes untuk mendapatkan campuran alkaloid. Kerja-kerja pemisahan dan penulenan seterusnya tertumpu kepada ekstrak alkaloid dengan menggunakan kaedah kromatografi seperti Kromatografi Lapisan Nipis (TLC), Kromatografi Cecair Vakum (VLC), Kromatografi Turus (CC) dan Kromatografi Radial (RC). Hasil daripada penelitian mendapati peratus minyak lemak kasar per berat kering bagi minyak biji *Crotalaria cleomifolia* daripada ekstrak heksana ialah 71.02 g (5.3%) dan ekstrak metanol 30.77 g (2.3%). Minyak biji *Crotalaria cleomifolia* dianalisis untuk sifat kimia iaitu nilai iodin (85), nilai peroksida (0.6) dan nilai asid (4.3). Komponen – komponen asid lemak yang hadir dalam minyak biji *Crotalaria cleomifolia* seperti asid palmitik (5.07%), asid behenik (1.63%), asid oleik (28.6%), asid linoleik (57.59%) dan asid linolenik (5.53%) telah dikenalpasti oleh kromatografi gas (GC) x kromatografi gas-spektroskopi jisim (GC-MS) (ToF). Kandungan triasilgliserol (TAG) politaktepu yang hadir dalam minyak biji *Crotalaria cleomifolia* ialah PLL (18.04%), POL+SLL (11.92%), OOL (7.04%) dan PLLn (6.31%) telah dikenalpasti oleh kromatografi cecair prestasi tinggi (HPLC). Ekstrak alkaloid 13.05 g (42.4%) ditulenkan dengan pelbagai kaedah kromatografi dan mendapati lima sebatian alkaloid pirolizidina telah berjaya dipisahkan daripada biji *Crotalaria cleomifolia*. Dua sebatian alkaloid pirolizidina baru iaitu integerrimina A (1) dan nilgirina A (2) pertama kali dilaporkan dalam genus *Crotalaria* dan tiga sebatian alkaloid pirolizidina iaitu integerrimina (3), nilgirina (4) dan usaramina (5) merupakan komponen kimia yang pernah dilaporkan dalam genus *Crotalaria*. Struktur bagi semua komponen tulen yang diperolehi ditentukan strukturnya dengan kaedah spektroskopi seperti ultralembayung (UV), inframerah (IR), kromatografi gas - spektroskopi jisim (GC-MS), resonans magnet nukleus (NMR; ^1H , ^{13}C , APT, COSY, NOESY, HMQC dan HMBC) serta perbandingan dengan literatur.

ISOLATION AND STRUCTURE ELUCIDATION OF OILS, FATS AND PYRROLIZIDINE ALKALOIDS FROM *CROTALARIA CLEOMIFOLIA* SEED

ABSTRACT

A phytochemical investigation was carried out on the seed extracts of *Crotalaria cleomifolia* (*kacang hantu*) collected in Cameron Highlands. The study was conducted to determine the components of the oils and fats as well as to isolate and identify pyrrolizidine alkaloids from the seed extracts. The extraction was carried out at room temperature by using hexane and methanol successively. Oils and fats from hexane extract of *Crotalaria cleomifolia* seed is characterized by using standard methods of Association of Official Analytical Chemists (AOAC) and American Oil Chemist's Society (AOCS). The defatted methanol extract was subjected to acid – base extraction to give a mixture of alkaloids. The isolation and purification of pyrrolizidine alkaloids were carried out by using various chromatographic techniques such as Thin Layer Chromatography (TLC), Vacuum Liquid Chromatography (VLC), Column Chromatography (CC) and Radial Chromatography (RC). The hexane extract yielded 71.02 g (5.3%) and methanol extract 30.77 g (2.3%). The seed oil was analyzed for their chemical properties such as iodine value (85), peroxide value (0.6) and acid value (4.3). Components such as palmitic acid (5.07%), behenic acid (1.63%), oleic acid (28.6%), linoleic acid (57.59%) and linolenic acid (5.53%) present in the *Crotalaria cleomifolia* seed oil were detected by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectroscopy (ToF) (GC x GC-MS) (ToF). Triacylglycerol composition such as PLL (18.04%), POL+SLL (11.92%), OOL (7.04%) and PLLn (6.31%) were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The crude alkaloid 13.05 g (42.4%) was purified by using chromatographic techniques to give five pyrrolizidine alkaloids (PAs). Two novel pyrrolizidine alkaloids; integerrimine A (1) and nilgirine A (2) were reported for the first time in *Crotalaria* genus. Three other compounds isolated were integerrimine (3), nilgirine (4) and usaramine (5) which have been reported previously in *Crotalaria* genus. The structures of all pure compounds were elucidated and characterized by spectroscopic methods such as ultraviolet (UV), infrared (IR), gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS), nuclear magnetic resonance (NMR; ^1H , ^{13}C , APT, COSY, NOESY, HMQC and HMBC) and comparison with literature data.