

SENYAWA 7-HIDROKSI-6-METOKSI KUMARIN YANG BERSIFAT SITOTOKSIK DARI KULIT BATANG *Chisocheon macrophyllus* (MELIACEAE)

Nurlelasari¹, Muffihah, L.F.,¹ Wardoyo, M.M.,² Harneti, D.,¹ Puspa, H.,¹ dan Awang, K.³

¹Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

²Laboratorium Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

³Laboratory of Phytochemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Malaya, Kuala Lumpur 59100, Malaysia.

E-mail: desiharneti@unpad.ac.id

ABSTRAK

Senyawa fenil propanoid, 7-hidroksi-6-metoksi kumarin telah diisolasi dari kulit batang *Chisocheon macrophyllus* (Meliaceae). Struktur kimia senyawa 7-hidroksi -6-metoksi kumarin diidentifikasi berdasarkan data-data spektroskopi meliputi UV, IR, NMR-1D, NMR-2D dan massa serta perbandingan dengan data spektra yang diperoleh dari literatur. Senyawa 7-hidroksi -6-metoksi kumarin menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} 16,5 μ g/mL. Senyawa fenil propanoid, 7-hidroksi -6-metoksi kumarin dilaporkan untuk pertama kali pada genus *Chisocheon*.

Kata kunci: Meliaceae, *Chisocheon macrophyllus*, fenilpropanoid, kumarin, skopoletin.

ABSTRACT

A phenyl propanoid compound, 7-hydroxy-6-methoxycoumarin has been isolated from the bark of *Chisocheon macrophyllus* (Meliaceae). The chemical structure of isolated compound was identified on the basis of spectroscopic data including UV, IR, 1D-NMR, 2D-NMR and mass along with comparison with those spectral data previously reported. 7-hydroxy-6-methoxycoumarin compound showed cytotoxic effect against P-388 murine leukemia cell with IC_{50} value of 16.5 μ g/mL. 7-hydroxy-6-methoxycoumarin compound was reported for the first time from genus of *Chisocheon*.

Key words: Meliaceae, *Chisocheon macrophyllus*, pheeyepropanoid, coumarin, scopoletin.

PENDAHULUAN

Chisocheon adalah salah satu genus dari famili Meliaceae. Tumbuhan ini tersebar luas di daerah tropis dan subtropis seperti di Indo-China, Papua Nugini, Cina selatan, Thailand, Malaysia, Nepal, India, Bhutan dan Myanmar (Vossen dan Umali, 2002). Beberapa spesies tumbuhan ini telah dipergunakan secara tradisional sebagai obat pencuci perut, bahan obat dan kosmetika serta banyak dimanfaatkan sebagai racun pada ikan (Lim, 2008).

Kandungan senyawa pada genus *Chisocheon* telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas yang sangat bermanfaat baik dalam bidang kesehatan maupun pertanian, diantaranya sebagai antimalarial, antimikro bakteri, sitotoksik (Maneerat *et al.*, 2008; Phongmaykin *et al.*, 2008; Mohamad *et al.*, 2009),

sitotoksik (Wong *et al.*, 2011; Mohamad *et al.*, 2008; Awang *et al.*, 2007), antitumor (Yang *et al.*, 2009) dan anti inflamasi (Yang *et al.*, 2011).

Inada *et al.*, (1993) melaporkan bahwa dari daun *Chisocheon macrophyllus* (Meliaceae) ditemukan satu senyawa triterpenoid yang memiliki aktivitas antitumor yaitu 24- hidroksidamara -20,25-dien-3-on, dan 3 senyawa triterpenoid yang sudah dikenal yaitu asam moronat, asam oleanolat dan asam betulonat. Dalam penelitian berkelanjutan kami terhadap pencarian senyawa bioaktif dari tumbuhan *Chisocheon* Indonesia, ekstrak etil asetat kulit batang *C. macrophyllus* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388. Pada paper ini kami akan menjelaskan isolasi, identifikasi struktur senyawa fenil propanoid, 7-hidroksi-6-metoksi kumarin (skopoletin) yang beraktivitas sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388.

BAHAN DAN METODE

Umum. Titik leleh diukur dengan peralatan titik leleh Fisher-John (tidak terkoreksi). Spektra IR diperoleh dari spektrofotometer FTIR spectrum One Perkin Elmer pada KBr. Spektra ¹H- dan ¹³C-NMR diperoleh dengan spektrometer JEOL JNM ECA-500. Spektra MS diperoleh dengan Mariner Biospectrometry-Finnigan instrument. Pemisahan kromatografi dilakukan pada silika gel G₆₀, silika gel (70-230 dan 200-400 mesh, Merck). KLT plat diisi dengan silika gel GF₂₅₄ (Merck, 0,25 mm) dan deteksi dilakukan dengan penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol diikuti dengan pemanasan.

Bahan tanaman. Kulit batang *C. macrophyllus* diperoleh dari Kebun Raya Bogor, Jawa Barat pada bulan September 2011. Tumbuhan ini dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat penelitian Biologi, LIPI, Bogor dan contoh specimen (No.Bo-1295453) tersimpan di Herbarium tersebut.

Ekstraksi dan Isolasi. Kulit batang *C. macrophyllus* (3,1 kg) kering dihaluskan, diekstraksi menggunakan teknik maserasi (ekstraksi padat-cair) dengan pelarut *n*-heksan, etilasetat, dan metanol pada suhu ruangan. Maserat etilasetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak etil asetat (53,5 g), selanjutnya dipisahkan dengan teknik kromatografi cair vakum dengan fase diam silika gel dan fase gerak campuran pelarut berupa *n*-heksan, etilasetat, metanol; 10%, secara bergradien sehingga diperoleh 9 fraksi (A-I). Fraksi D selanjutnya dipisahkan kandungan kimianya dengan teknik kromatografi cair vakum hingga diperoleh 9

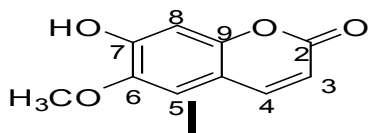
fraksi gabungan (D1-D9). Fraksi D5 dan D6 selanjutnya dipisahkan dengan teknik kromatografi kolom dengan fase diam silika gel G₆₀ (70-230 mesh) dan fase gerak berupa perbandingan pelarut tetap kloroform: metanol (9,75:0,25) sehingga dihasilkan isolat D5-6 yang selanjutnya direkristalisasi pada suhu ruangan menggunakan pelarut *n*-heksan dan diperoleh padatan murni (31 mg). Seluruh tahapan pemisahan dipantau dengan kromatografi lapis tipis di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Isolat murni D5-6 tersebut dielusidasi strukturnya dengan metode spektroskopi UV, IR, 1D-NMR, 2D-NMR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skopoletin diperoleh sebagai pada tanamorf berwarna kuning tua (jingga), HR-ESI-TOFMS menunjukkan puncak $[M+H]^+$ pada m/z 193,0448 yang sesuai dengan rumus molekul C₁₀H₈O₄. Spektra UV dalam pelarut metanol menunjukkan adanya lima puncak pada panjang gelombang 345, 295, 253, 226 dan 204 nm. Spektra dalam pereaksi penggeser (MeOH + NaOH) menunjukkan adanya pergeseran batokromik pada pita λ (345 nm) ke 391 nm, pita 3 (253 nm) ke 274 nm, dan pita 5 (204 nm) ke 212 nm. Pergeseran batokromik ini menunjukkan adanya gugus -OH bebas yang dapat memperpanjang konjugasi pada sejumlah ikatan rangkap.

Keberadaan gugus OH dikuatkan dari spektrum IR pada 3425 cm⁻¹, dan adanya regang C-O ester dan C=O ester lakton pada 1292 cm⁻¹ dan 1707,00 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya ester siklik (lakton) beranggota enam. Selain itu terdapat pula regang C=C aromatik pada 1566 cm⁻¹ juga lentur C-H ke luar bidang daricincin aromatik pada daerah 1141 cm⁻¹.

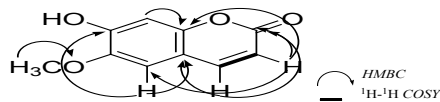
Jumlah karbon yang ada di dalam struktur senyawa dapat ditentukan dari spektrum ¹³C-NMR. Dapat diamati terdapat sepuluh sinyal karbon yang terdiri dari enam karbon aromatik pada δ_c (ppm): 103,3 (C-8), 108,1 (C-5), 111,2 (C-10), 145,4 (C-6), 151,0 (C-7), 150,0 (C-9), dua karbonolifenik pada δ_c (ppm): 112,2 (C-4), 144,3 (C-3), dan satu karbonil ester pada δ_c (ppm): 162,7 (C-2) (Tabel 1). Adanya karbon sp³ yang teroksidasi pada senyawa ini teramati pada δ_c 56,3 ppm yang memperkuat keberadaan gugus metoksi pada senyawa ini. Berdasarkan data-data MS, UV, IR dan ¹³C-NMR dapat disimpulkan adanya kerangka bisiklik dengan gugus metoksi sebagai salah satu substituenya.



Gambar 1. Struktur kimia skopoletin

Jenis karbon (metil, metin, metilen atau karbon kuarterner) ditentukan dengan percobaan DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) 135°. Dugaan kerangka bisiklik dengan gugus metoksi sebagai substituenya dikuatkan dengan spektrum ¹H-NMR. Diketahui terdapat sinyal yang menunjukkan adanya karakteristik proton metoksi dan

hidroksil pada δ_H 3,84 ppm (s, H-6) dan 4,83 ppm (br.s, H-7), proto naromatik pada δ_H ppm: 6,78 (s, H-8), 6,79 (s, H-5). Adanya cincin lakton direpresentasikan oleh proton olifenik pada δ_H (ppm): 6,14 (d, $J=9,75$ Hz, H-4) dan proton olifenik yang kurang terperisai pada δ_H (ppm): 7,58 (d, $J=9,75$ Hz, H-3), sehingga dapat diduga struktur kimia senyawa adalah skopoletin.



Gambar 2. Korelasi HMBC skopoletin

Keberadaan gugus fungsi pada struktur parsial dapat dibuktikan dengan menggunakan korelasi HMBC dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2. Spektrum HMBC menunjukkan bahwa keberadaan gugus karbonil pada C-3 dapat dibuktikan dengan adanya korelasi H-3 (δ_H 7,58) dengan jarak empat ikatan (penjodohan jarak jauh) terhadap C-5 (δ_c 108,1), korelasi dengan jarak tiga ikatan terhadap C-9 (δ_c 150,0), dan korelasi dengan jarak dua ikatan terhadap C-2 (δ_c 162,7). Selanjutnya terdapat pula korelasi antara H-4 (δ_H 6,14) dengan jarak tiga ikatan terhadap C-2 (δ_c 162,7) dan korelasi dengan jarak dua ikatan terhadap C-10 (δ_c 111,2). Selanjutnya korelasi H-5 (δ_H 6,79) dengan jarak lima ikatan terhadap C-10 (δ_c 111,2) dan korelasi dengan jarak tiga ikatan terhadap C-7 (δ_c 151,0). Terdapat pula korelasi H-7 (δ_H 6,78) dengan jarak tiga ikatan terhadap C-9 (δ_c 150,0). Korelasiantara proton metoksi (δ_H 3,84) dengan jarak dua ikatan terhadap C-6 (δ_c 145,4) membuktikan bahwa posisi gugus metoksi terikat pada karbon dengan δ_c 145,4 ppm. Sedangkan gugus hidroksil terikat pada karbon dengan δ_c 151,0 ppm.

Tabel 1. Data NMR senyawa skopoletin

Posisi C	¹ H-NMR δ_H (ppm), (GH ₁ -mult, Hz)	¹³ C-NMR δ_c (ppm)	HMBC (H→C)	¹ H- ¹ H COSY
2	-	162,7	-	-
3	7,58 (1H, d, 9,75)	144,3	5,9,2	H-4
4	6,14 (1H, d, 9,75)	112,2	2,10	H-3
5	6,79 (1H, s)	108,1	10,7	-
6	-	145,4	-	-
7	-	151,0	-	-
8	6,78 (1H, s)	103,3	9	-
9	-	150,0	-	-
10	-	111,2	-	-
-OCH ₃	3,84 (1H,s)	56,3	6	-

SIMPULAN

Berdasarkan hasil interpretasi spektrum UV, IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMQC, HMBC, ¹H-¹H COSY dan data-data pembanding, isolat berupa padatan amorf berwarna kuning pucat sebanyak 31 mg yang diisolasi dari 3,1 kg serbuk kulit batang *C. macrophyllus* ditetapkan sebagai senyawa fenil propanoid yaitu 7-hidroksi-6-metoksi kumarin (skopoletin). Senyawa fenil propanoid, 7-hidroksi-6-metoksi kumarin ini baru pertama kali dilaporkan dari tumbuhan *C. macrophyllus*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Indonesia atas dana Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (Universitas Padjadjaran, 2012-2013, DS). Terimakasih kami sampaikan Prof. Dr. Yana M. Syah, pada Program Studi Kimia, FMIPA, Institut Teknologi Bandung atas pengukuran spektra NMR dan massa. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Suzany Dwi Ellita di Laboratorium Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Program Studi Kimia, FMIPA, Institut Teknologi Bandung untuk pengukuran aktivitas sitotoksik terhadap sel murin leukimia P-388.

DAFTAR PUSTAKA

- Awang, K., Lim, C.S. Mohamad K., Morita, H., Hirasawa, Y., Takeya, K., Thoison, O. & Hadi, A.H.A. 2007. Erythrocarpines A-E, new cytotoxic limonoids from *Chisocheton erythrocarpus*. *Bioorg. Med. Chem.* 15: 5997-6002.
- Inada, A., Sukemawa, M., Murata, H., Nakanishi, T., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashima, A., Darnaedi, D. & Murata, J. 1993. Phytochemical studies on Maleaceous Plant. Part VIII. Structures and Inhibitory Effects on Epstein-Barr Virus Activation of Triterpenoids from Leaves of *Chisocheton macrophyllus* King. *Chem. Pharm. Bull.* 41: 617-619.
- Lim, C.S. 2008. Master Science Thesis, Department of Chemistry, University Malaya, Malaysia
- Maneerat, W., Laphookhieo, S., Syers, J.K., Kiattansakul., Koysoomboon, S. & Chantrapromna, K. 2008. Antimalaria, Antimicrobial and Cytotoxic limonoid from *Chisocheton siamensis*. *Phyto-medicine*, 15: 1130-1135
- Mohamad, K., Hirasawa, Y., Lim C.S., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Takeya, K. & Morita, H. 2008. Ceramicines A and walsogyne A, novel limonoids from two species of Meliaceae. *Tetrahedron Letter*, 49: 4276-4278.
- Mohamad, K., Hirasawa, Y., Litaudon, M., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Takeya, K., Ekasari, W., Widyawaruyanti, A., Zaini, N.C. & Morita, H. 2009. Ceramicines B-D, new antiplasmodial limonoids from *Chisocheton ceramicus*. *Bio-organic & Medicinal Chemistry*, 17: 727-730.
- Phongmaykin, J., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Suttisri, R. & Saifah, E. 2008. A New Sesquiterpene and Other Terpenoid Constituents of *Chisocheton penduliflorus*. *Arch Pharm Res.* 31: 1.
- Vossen V.D., H.A.M. & Umali, B.E. (Editors). 2002. Plant resources of south-east Asia no. 14 vegetable oils and fats. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia. 150.
- Wong, C.P., Shimada, M., Nagakura, Y., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Mohamad, K., Shiro, M. & Morita, H. 2011. Ceramicines E-I, New Limonoids from *Chisocheton ceramicus*. *Chem. Farm Bull.* 59: 407-411.
- Yang, M.H., Wang, J.S., Luo, J.G., Wang, X.B. & Kong, L.Y. 2009. Tetranortriterpenoids from *Chisocheton paniculatus*. *J. Nat. Prod.* 72: 2014-2018.
- Yang, M.H., Wang J.S, Luo J.G., Wang X.B. & Kong L.Y. 2011. Chisopanins A-K, 11 New new protolimonoids from *Chisocheton paniculatus* and their anti-inflammatory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 19: 1409-1417.