

# ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR SENYAWA LIGNAN DAN ASAM LEMAK DARI EKSTRAK DAGING BUAH *PHALERIA MACROCARPA*

Vivi Lisdawati<sup>1</sup>, Sumali Wiryowidagdo<sup>2</sup>, L. Broto S. Kardono<sup>3</sup>

**Abstract.** Application of an *in vitro* anticancer bioassays were guided fractionation of bioactive higher plant and extracts led to the isolation of a variety of natural products with potential anticancer activity. Presented herein are interesting structural features of the ethyl acetate mesocarp active fraction of *Phaleria macrocarpa*, fam. *Thymelaeaceae*. These fractions were fractionated by using open column silica gel chromatography following identification, resulted in the isolation of known lignan 5-[4(4-Methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro[3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol, and also unidentified fatty acid compound. Their structures identification were based on chemical and spectroscopic methods such as ultraviolet-visible (UV-Vis) spectra data, fourier transform infra red (FTIR) spectrometric, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), the proton nuclear magnetic resonance spectral data (<sup>1</sup>H-RMI and combination of 2D <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY, TOCSY and NOESY RMI. Using taxonomy chemotaxonomy Dahlgren and Congruist system approached indicate that the lignan compound have cytotoxic activity.

**Key words:** FTIR; <sup>1</sup>H-RMI; <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY, TOCSY dan NOESY RMI; LC-MS; lignan; *P. macrocarpa*; *Thymelaeaceae*; UV-Vis; 5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro[3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,-triol

## PENDAHULUAN

Penemuan berbagai senyawa obat baru dari bahan alam semakin memperjelas peran penting metabolit sekunder tanaman sebagai sumber bahan baku obat. Metabolit sekunder adalah senyawa hasil biogenesis dari metabolit primer. Umumnya dihasilkan oleh tumbuhan tingkat tinggi, yang bukan merupakan senyawa penentu kelangsungan hidup secara langsung, tetapi lebih sebagai hasil mekanisme pertahanan diri organisma<sup>(1,2)</sup>.

Aktivitas biologi tanaman dipengaruhi oleh jenis metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Aktivitas biologi ditentukan pula oleh struktur kimia dari senyawa. Unit struktur atau gugus molekul mempengaruhi aktivitas biologi karena berkaitan dengan mekanisme kerja senyawa terhadap reseptor di dalam tubuh<sup>(3, 4, 5)</sup>. Oleh karena itu, selain dibutuhkan data

lengkap kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas biologi tanaman secara ilmiah, struktur molekul senyawa kimia bahan alam juga memegang peranan penting untuk pengembangannya menjadi bahan baku senyawa obat baru<sup>(6, 7)</sup>.

Kandungan senyawa metabolit sekunder yang termasuk ke dalam golongan metabolit yang telah terbukti bekerja sebagai derivat antikanker, antara lain: golongan alkaloid vinblastin, vinkristin, dan vindesin dari *Catharantus* (*Vinca*); senyawa racun polifenol etoposida dan teniposida dari *Epipodophyllo*; senyawa terpenoid paklitaksel dan docetaksel dari *Takson*; serta derivat kamptotekin dan irinotekan dari *Camptothecin*<sup>(8, 9, 10)</sup>.

Derivat polifenol lain dengan aktivitas sitostatika adalah senyawa lignan. Senyawa lignan paling baru yang telah terbukti sebagai sitostatika secara *invitro*

<sup>1</sup> Puslitbang Biomedis dan Farmasi Badan Litbangkes.

<sup>2</sup> Departemen Farmasi, FMIPA - UI

<sup>3</sup> Pusat Penelitian Kimia, Puspiptek LIPI – Serpong.

adalah senyawa peperomins A, B, C, dan E, 7,8-trans-8,8'-trans-7',8'-cis-7,7'-bis(5-methoxy-3,4-methylenedioxyphenyl)-8-acetoxymethyl-8'-hydroxymethyltetrahydrofuran, 7,8-trans-8,8'-trans-7',8'-cis-7-(5-methoxy-3,4-methylenedioxyphenyl)-7'-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-8,8'-diacetoxymethyltetrahydrofuran, sesamin dan isoswertin; diujikan terhadap sel kanker HL-60, MCF-7, dan HeLa cell lines<sup>(11, 12)</sup>. Senyawa lignan sendiri merupakan senyawa golongan polifenol alam yang secara biosintesis termasuk kedalam senyawa turunan asam amino protein aromatik, yaitu fenilalanin dan fenilpropanoid. Golongan senyawa ini merupakan bangun dasar pembentuk lignin dan juga berkaitan dengan pengaturan tumbuh dan pertahanan diri tanaman terhadap penyakit. Umumnya struktur lignan berkaitan dengan aktivitas supresi fungsi gen bila berkerja sebagai sitostatika, dimana mekanisme kerja menghambat langkah biosintesis protein sel kanker<sup>(1, 4)</sup>.

Beberapa penelitian fitokimia terhadap sejumlah tanaman dari famili *Thymelaeaceae* berhasil memperoleh senyawa isolasi dengan aktivitas antikanker, a.l. yaitu: daphnoretin (flavon) dan syringaresinol (aromatik) dari *Wikstroemia elliptica* serta enkleine (5-Hydroxy-4,7-dimethoxybenz[g]isoquinolin-1(2H)-one, 9Cl dari *Enkleiasiamensis*<sup>(13, 14)</sup>.

Tanaman mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl., fam. *Thymelaeaceae*, secara luas di Indonesia telah digunakan sebagai obat alternatif kanker (sitostatika)<sup>(5)</sup>. Penapisan fitokimia pada ekstrak buah tanaman menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol/polifenol, tanin, serta senyawa sterol/terpenoid. Penapisan farmakologi untuk aktivitas antikanker secara *in vitro* dari ekstrak kasar fraksi non polar, semi polar dan polar bagian daging buah

serta kulit biji tanaman telah diujikan terhadap sel leukemia *L1210*. Fraksi semi polar (etil asetat) merupakan fraksi yang memiliki aktivitas inhibisi paling tinggi terhadap perkembangbiakan sel leukemia *L1210*, dengan nilai *inhibition concentration* ( $IC_{50}$ ) 5.76  $\mu\text{g/ml}$  untuk bagian daging buah dan < 5.0  $\mu\text{g/ml}$  untuk bagian kulit biji. Artinya, dengan dosis < 5.0 - 5.76  $\mu\text{g/ml}$  ekstrak buah mahkota dewa dapat menghambat perkembangbiakan sel leukemia *L1210* setelah inkubasi 24 jam pada kondisi percobaan<sup>(15)</sup>.

Berdasarkan penelitian penapisan fitokimia dan farmakologi yang telah dilakukan tersebut di atas, maka dilakukan penelitian lanjutan yaitu isolasi senyawa kimia murni dari fraksi etil asetat daging buah mahkota dewa, yang telah diuji aktivitas antikankernya.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan dan Alat

Ekstrak kasar fraksi etil asetat dari daging buah mahkota dewa, yang telah diuji aktivitas antikankernya dengan nilai  $IC_{50}$  5.76  $\mu\text{g/ml}$ .

Kolom silika gel gelas dengan panjang kolom 35.0 cm: diameter 4.5 cm dan panjang 55,0 cm: diameter 2,5 cm; *Liquid Chromathography-Mass Spectrometry Mariner Biospectrometry*: UV/Vis. Simadzu, Detektor (Perkin Elmer Series 200), LC (Hewlet Packard – Series 1100), eluen (Me70%), kolom phenomenex ukuran 2 x 150 mm berisi  $C_{18}$ ; Spektrometri Fourier Transformasi Infra Merah; Spektrometer RMI Varian Inova Unity Plus (400 MHz).

### Cara Kerja

Isolasi ekstrak kasar menggunakan metode modifikasi standar pemurnian bahan alam. Fraksinasi awal dengan teknik kromatografi kolom terbuka dan

kromatografi lapis tipis (KLT) berdasarkan perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran antara dua fase<sup>(6, 16)</sup>. Fase diam silika gel 60 (E.Merck 7734) dan fase gerak *n*-heksan; *n*-heksan:etil asetat; etil asetat; etil asetat:metanol; serta metanol, menggunakan berbagai perbandingan dengan rentang 0–100 %. Fraksinasi awal menghasilkan 78 fraksi tumpukan.

Proses analisis kromatogram dari masing-masing fraksi menggunakan lem-peng aluminium silika gel Merck GF<sub>254</sub>. Noda diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366nm, kemudian disemprot dengan pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% dalam metanol dan dipanaskan<sup>(6, 17)</sup>. Fraksi gabungan yang menunjukkan kesamaan hasil kromatogram lalu disatukan hingga dari 78 fraksi awal kemudian menjadi 19 fraksi gabungan (A s/d. S). Terhadap fraksi gabungan G (fraksi 20-29) dan K (fraksi 51 – 60) yang menunjukkan noda spesifik dan jumlah cukup besar dilakukan pemurnian isolat menggunakan teknik rekristalisasi, pencucian berulang, dan fraksinasi kembali<sup>(18, 19)</sup>. Fraksi 20-29 (Fraksi G) diperoleh sejumlah 626,6 mg dan fraksi 51-60 (Fraksi K) sejumlah 430,0 mg.

#### Isolasi Fraksi G

Isolasi dengan teknik rekristalisasi memakai pelarut aceton dan pencucian berulang menggunakan *n*-heksan:diklorometan. Analisis KLT satu dimensi menggunakan eluen *n*-heksan:diklorometan (1:9) dan metanol<sup>(17, 20)</sup>. Uji noda dengan pereaksi Dragendorf menunjukkan noda berwarna jingga kecoklatan dan dengan pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam metanol 5% memberikan bercak noda berwarna ungu. Analisis KLT dua dimensi menggunakan diklorometan : metanol (5%) untuk eluasi pertama dan etil asetat : metanol (2,5%) untuk eluasi kedua. Uji noda dengan cara dipanaskan lalu diberi uap H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam

metanol 5% menghasilkan noda berwarna ungu. Analisis spektroskopi <sup>1</sup>H-RMI menggunakan spektrometer RMI (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) dengan pelarut CDCl<sub>3</sub>.

#### Isolasi Fraksi K

Isolasi pada fraksi K menggunakan teknik fraksinasi kembali dengan kolom kromatografi gelas panjang 55,0 cm dan diameter 2,5 cm; pelarut *n*-heksan:etil asetat (60:40 s/d. 30:70). Uji noda dengan pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam metanol 5% dan pereaksi Dragendorff. Fraksinasi kedua memberikan 8 fraksi hasil. Pemurnian dilakukan terhadap fraksi ke-7 karena fraksi mudah di rekristalisasi dengan teknik pencucian endapan menggunakan pelarut CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dan metanol<sup>(16, 18, 19)</sup>. Uji noda menggunakan pereaksi Dragendorf menunjukkan noda berwarna jingga kecoklatan dan dengan pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam metanol 5% memberikan bercak noda berwarna kuning terang.

Uji spektrometri massa menggunakan sejumlah 0,8 mg isolat dilarutkan dalam 0,8 ml metanol 95% dan disuntikkan ke-dalam alat LC-MS dengan laju alir 0,2 ml/mnt. Uji gugus fungsi dengan FTIR menggunakan ± 1mg isolat yang digerus dengan 300 mg kalium bromid IR P. Uji spektrofotometer dengan spektrofotometri UV-Vis. menggunakan sejumlah ± 1 mg isolat dilarutkan dalam 1-2 ml etanol 95% dan dianalisis menggunakan ultraviolet sinar tampak untuk mengetahui λ<sub>maks</sub>. Senyawa. Efek hipsokromik, batokromik, hipokromik atau hiperkromik dari senyawa diamati dalam larutan asam HCl 0,1 N dan larutan basa NaOH 0,1 N<sup>(21, 22)</sup>.

Uji spektroskopi proton satu dimensi <sup>1</sup>H-RMI dan spektroskopi proton dua dimensi <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY, TOCSY, serta NOESY RMI menggunakan spektrometer RMI (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) terhadap isolat yang dilarutkan dalam pelarut CD<sub>3</sub>OD

dengan internal standar TMS. Data geseran kimia (  $\delta$  ) diberikan dalam ppm dan regangan kimia senyawa dalam bentuk s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet, dan dd = double doublet (23, 24).

## HASIL

Telah dilakukan isolasi terhadap ekstrak kasar etil asetat dari bagian daging buah tanaman mahkota dewa. Fraksinasi ekstrak berdasarkan metode modifikasi isolasi bahan alam dengan teknik gradasi polaritas pelarut untuk memisahkan masing-masing golongan senyawa. Dari masing-masing fraksi diperoleh isolat dengan data sebagai berikut:

### Isolat Fraksi G

Serbuk amorf berwarna putih sejumlah 16,6 mg. Kromatogram memberikan nilai R<sub>f</sub>/0.68. Hasil spektrometri 1H-RMI dapat dilihat pada Gambar 1.

### Isolat Fraksi K

Kristal roset berwarna putih sejumlah 12 mg, T<sub>L</sub> : 212 - 214° C. Kromatogram memberikan nilai R<sub>f</sub>/0.58.

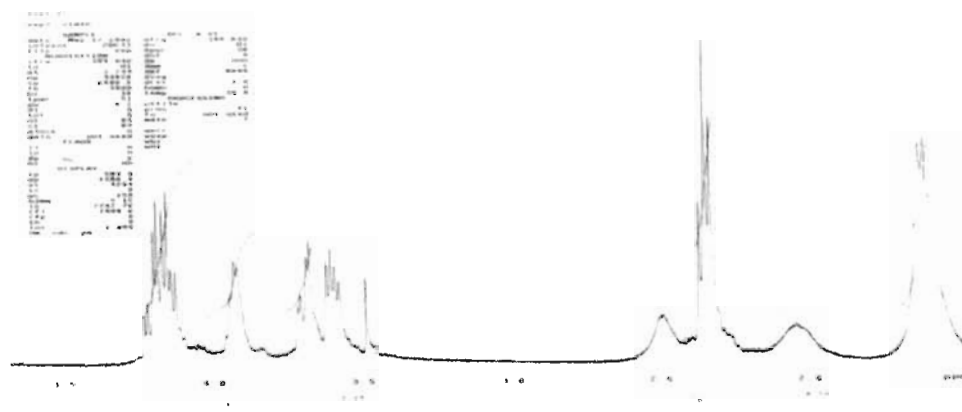
## Data Fisikokimia

### Lignan:

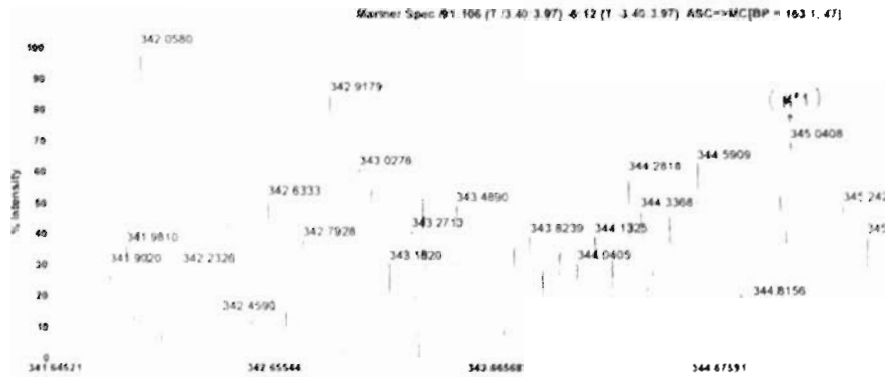
*5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro [3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol.*

Kristal roset berwarna putih: R<sub>f</sub> 0,58; T<sub>L</sub> : 212 - 214° C; EIMS m/z (rel.int.) : 345 [M]<sup>+</sup>; UV (MeOH)  $\lambda_{maks.}$  (log $\epsilon$ ) : 210 (4.70), 220 (4.47), 290 nm (4.42); (MeOH + NaOH 0,1 N) : 212 (4.54), 240 (3.83), 330 nm (4.01); (MeOH + HCl 0,1 N) : 210 (4.67), 220 (4.41), 290 nm (4.39) (hipokromik); IR  $\nu_{maks.}$  (KBr): 3600-3450; 1650; 1597 dan 850; 1138 dan 1062 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H RMI (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): (  $\delta_H$  ) 7.68 (2H, *d*, J = 9.2 Hz, H-1' dan H-3'); 6.78 (2H, *d*, J = 9.2 Hz, H-4' dan H-6'); 6.38 (1H, *d*, J = 2.0 Hz, H-4); 6.18 (1H, *d*, J = 2.0 Hz, H-6); 3.86 (1H, *m*, H-8'); 3.78 (3H, *s*, -OMe); 3.62 (2H, *m*, H-7 dan H-7'); 3.34 (2H, *m*, H-9); 3.22 (2H, *m*, H-9); 3.10 (1H, *m*, H-8).

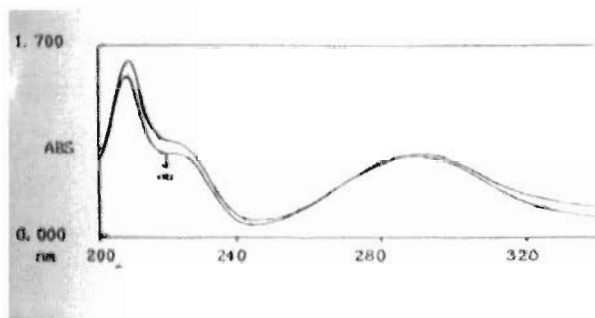
Hasil elusidasi isolat K secara spektroskopi massa resolusi tinggi menunjukkan adanya nilai peak M<sup>+</sup> pada m/z 345.0408 seperti dapat dilihat pada Gambar 2.



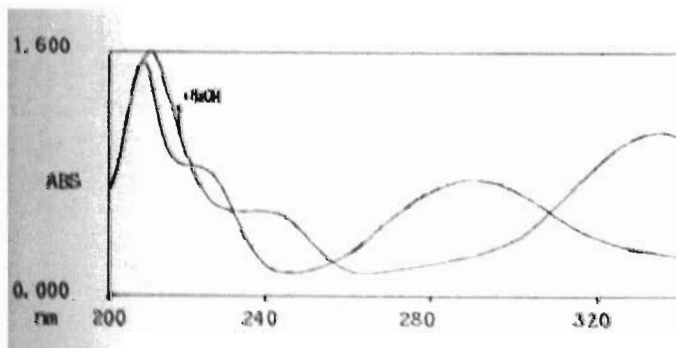
Gambar 1. Data spektra satu dimensi 1H-RMI 400 MHz dari senyawa isolat fraksi G.



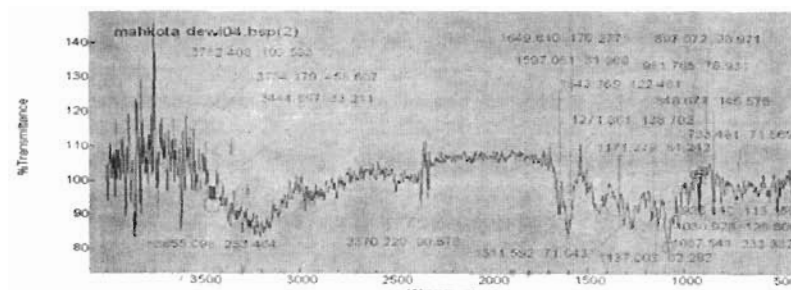
Gambar 2. Spektrum LC-MS senyawa 5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro [3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol



Gambar 3. Spektrum UV-Vis. senyawa 5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro [3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol dengan efek hipokromik



Gambar 4. Spektrum UV-Vis. senyawa 5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro [3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol dengan efek batokromik



Gambar 5. Spektrum IR senyawa 5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro [3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol

Tabel 1. <sup>1</sup>H-RMI, 400 MHz. dari isolat K

H	δ <sub>H</sub> (ppm)	Multiplisitas
H-1', H-3'	7,68	2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9.2 Hz
H-4', H-6'	6,78	2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9.2 Hz
H-4	6,38	1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.0 Hz
H-6	6,18	1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.0 Hz
H-8'	3,86	1H, multiplet
-OCH <sub>3</sub>	3,78	3H, singlet
H-7, H-7'	3,62	2H, multiplet
H-9'	3,34	2H, multiplet
H-9	3,22	2H, multiplet
H-8	3,10	1H, multiplet

Data spektrum UV-Vis.dalam larutan asam HCl 0,1N dan basa NaOH 0,1N seperti terlihat pada Gambar 3. dan Gambar 4. menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 220, 240 dan 290 nm. Data spektrum IR dari isolat K dapat dilihat pada Gambar 5. Data spektra satu dimensi <sup>1</sup>H-RMI 400 MHz. dapat dilihat pada Tabel.1.

**PEMBAHASAN**

Penelitian untuk mendapatkan isolat murni pada fraksi etil asetat buah mahkota

dewa dilakukan berdasarkan atas tingginya potensi inhibisi fraksi terhadap sel leukemia L1210 (IC50 5,76 µg/ml). Penelitian kemudian memperoleh data ilmiah struktur molekul senyawa kimia murni golongan lignan yang bermanfaat untuk pengembangan ke arah senyawa baru sitostatika spesifik.

Metode isolasi yang digunakan adalah metode modifikasi standar pemurnian bahan alam dengan teknik fraksinasi serta analisis data kromatogram (17,19,21). Metode ini terbukti secara efisien mengelompokkan golongan senyawa kimia yang ke-

ungkinan sama dengan memakai sistem kromatogram sebagai pembanding dari setiap fraksi. Fraksinasi menghasilkan 78 fraksi hasil, yang kemudian digabungkan berdasarkan kesamaan bentuk kromatogramnya menjadi 19 fraksi.

Pada isolat fraksi G, analisis data hanya ditunjang oleh data spektrometri  $^1\text{H}$ -RMI (Gambar 1.) karena keterbatasan jumlah isolat. Hasil spektrometri  $^1\text{H}$ -RMI menunjukkan senyawa merupakan suatu senyawa alifatik serupa asam lemak. Berbagai penelitian membuktikan bahwa senyawa asam lemak termasuk golongan senyawa yang memiliki aktivitas sitostatika. Penelitian yang dilakukan *Ohuchi & Levine*, menunjukkan kemampuan senyawa alpha-tocopherol dari ekstrak tanaman *Croton tiglium* L. menghambat proses dealkilasi fosfolipid, produksi prostaglandin berlebih dan perubahan morfologi sel alter selama masa inkubasi dari sel tumor 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate dalam Madin-Darby Canine Kidney cells (MDCK)<sup>(16)</sup>. Asam lemak tak jenuh seperti docosahexaenoic acid (DHA), asam linolenat, dan asam linoleat berikatan dengan posisi C-2' dari generasi kedua taxon yang dapat menyebabkan MDR dari hasil ABC transport pada proses metabolisme tubuh. Dua dari senyawa konyugasi, DHA-SB-T-1214 dan DHA-SB-T-1213, telah dinyatakan mampu menghambat proses perkembangan tumor kolon secara *invivo*<sup>(16)</sup>. Beberapa senyawa asam lemak dari famili Thymelaeaceae yang telah diisolasi antara lain: senyawa baru biflavanone (1) dengan ikatan C-3/C-3", senyawa baru daphnane-tipe diterpene (2) yang mengalami asilasi senyawa asam lemak tak jenuh, dan senyawa baru kumarin-glikosida (3), dari akar *Stellera chamaejasme* L. (Thymelaeaceae), genus *Stellera*, *Daphne*, dan *Wikstroemia*<sup>(11)</sup>.

Pada isolat fraksi K, fraksinasi kembali menggunakan kolom kromatografi silika gelas dilakukan berdasarkan sifat semi polar fraksi yang berasal dari hasil eluasi pelarut semi polar *n*-heksan:etil asetat (75:25). Isolat merupakan derivat senyawa golongan alkaloid, protein, atau polifenol<sup>(6)</sup>.

Hasil spektroskopi massa resolusi tinggi dengan nilai peak ion molekular  $\text{M}^+$  pada  $m/z$  345.0408 (Gambar 2.) dibandingkan dengan *data base peak* senyawa kimia menunjukkan bahwa formulasi elementer untuk molekul senyawa adalah  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_6$ . Untuk menentukan jumlah cincin dan ikatan rangkap dari senyawa digunakan rumus indeks kekurangan hidrogen *Silverstein* dan diperoleh nilai  $F = 10$ , yang berarti senyawa memiliki 10 cincin dan ikatan hidrogen pada struktur molekulnya<sup>(8, 22)</sup>.

Data spektrum UV-Vis. (Gambar 3. & Gambar 4.) menunjukkan adanya serapan pada 220, 240 dan 290 nm. Nilai serapan ini menggambarkan sistem aromatis dalam senyawa. Spektrum senyawa juga menunjukkan terjadinya pergeseran batokromik bila ditambahkan basa dan pergeseran hipokromik bila ditambahkan asam. Dari literatur diketahui bahwa spektrum UV-Vis. golongan senyawa lignan memberikan serapan khas pada 210, 230 dan 280 nm dengan pita pergeseran batokromik dan hipokromik yang sama dengan isolat<sup>(9, 20)</sup>.

Hasil spektroskopi spektrum IR (Gambar 5.) menunjukkan adanya pita serapan lebar pada bilangan gelombang  $3600 - 3450 \text{ cm}^{-1}$  yang jelas khas sebagai suatu vibrasi dari gugus OH. Pita serapan pada  $1650 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi lain dari adanya sistem aromatis yang juga terlihat pada pita serapan  $1597 \text{ cm}^{-1}$ . Pita serapan kuat pada  $850 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan suatu disubstitusi aromatis pada posisi para sedangkan pita serapan pada 1138 dan

1062  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi dari ikatan C-O-C<sup>(21, 23, 24)</sup>.

Hasil  $^1\text{H}$ -RMI 400 Mhz. pada Tabel 1. memperlihatkan sinyal-sinyal pergeseran kimia yang menunjukkan adanya 2 pasang H dublet tipe cincin aromatis AB pada ( $\delta_{\text{H}}$ ) 7,68 ppm dan 6,78 ppm (2H,*d*,  $J = 9,2$  Hz); serta 6,38 dan 6,18 ppm (masing-masing 1H,*d*,  $J = 2,0$  Hz) sebagai gambaran dari adanya 2 pasang proton olefinik dari sistem aromatis AB. Pergeseran ini menunjukkan bahwa senyawa isolat mempunyai 2 bagian cincin aromatis ter-substitusi. Cincin aromatis bagian kiri memiliki awan perisai elektron lebih rendah sehingga akan muncul pada daerah medan magnetik rendah (cincin B) sedangkan cincin aromatis bagian kanan memiliki awan perisai elektron lebih tinggi sehingga muncul di daerah medan magnetik lebih tinggi (cincin A). Cincin aromatis B disubstitusi pada posisi *para* dan cincin aromatis A disubstitusi pada posisi *orto*, *meta* dan *para*. Sinyal berbentuk singlet pada 3,78 ppm menunjukkan adanya gugus metoksi yang terikat pada suatu sistem aromatis. Bentuk multiplisitas di daerah pergeseran kimia ( $\delta_{\text{H}}$ ) 3,62, 3,34, 3,22 dan 3,10 ppm menunjukkan senyawa memiliki cincin furofuran<sup>(10, 14, 22)</sup>. Keseluruhan data  $^1\text{H}$ -RMI menunjukkan senyawa isolat memiliki struktur golongan lignan, yaitu senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> dimer (polifenol), yang merupakan senyawa khas famili Thymelaeaceae. Sebagai struktur pembanding digunakan senyawa lignan (+) – *Siringaresinol* dari tanaman *Wikstroemia elliptica*, fam Thymelaeaceae (Gambar 6.).

Senyawa pembanding ini telah diketahui memiliki aktivitas biologi sebagai sitostatika yang terutama berasal dari gugus fenolnya<sup>(20)</sup>.

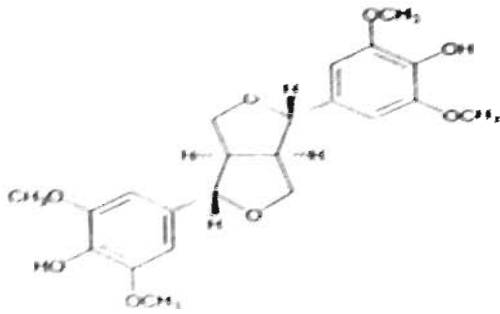
Postulasi struktur senyawa isolat memberikan perkiraan harga geseran kimia

proton berdasarkan data dari CD-ROM program ChemOffice 5.0 version software, mengarah ke bentuk struktur molekul 5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro[3,4-c]furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol. Perkiraan harga geseran kimia ini kemudian dibandingkan dengan hasil analisis data proton dua dimensi  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY, TOCSY maupun NOESY RMI yang membuktikan korelasi proton-proton yang ada dalam postulasi struktur.

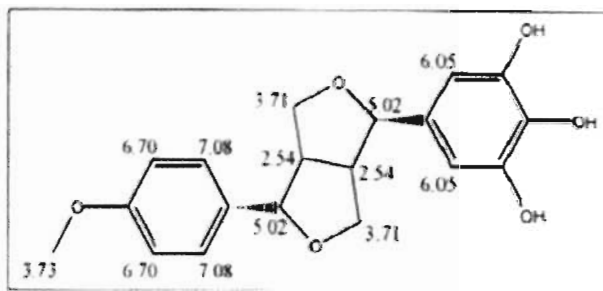
Data  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY RMI menunjukkan spektrum korelasi proton pada  $\delta_{\text{H}} = 6,7$  ppm (H-4' dan H-6') dengan  $\delta_{\text{H}} = 7,8$  ppm (H-1' dan H-3'); kemudian  $\delta_{\text{H}} = 4,8$  ppm (H-7 dan H-7') dengan  $\delta_{\text{H}} = 3,1$  ppm (H-8 dan H-8'). Data  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -TOCSY RMI menunjukkan spektrum korelasi dari proton pada  $\delta_{\text{H}} = 6,80$  ppm (H-4') dengan  $\delta_{\text{H}} = 7,7$  ppm (H-6');  $\delta_{\text{H}} = 6,1$  ppm (H-4 dan H-6); dan  $\delta_{\text{H}} = 4,8$  ppm (H-7') dengan  $\delta_{\text{H}} = 3,1$  ppm (H-9). Data  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY RMI menunjukkan spektrum korelasi dari proton pada  $\delta_{\text{H}} = 4,8$  ppm, yaitu antara (H-7') dengan (H-8'); dan  $\delta_{\text{H}} = 3,1$  ppm antara (H-8) dengan (H-9); yang semuanya membuktikan bahwa proton-proton tersebut memiliki suatu kedekatan ruang.

Harga semua geseran kimia ini relatif memiliki kesesuaian antara perkiraan geseran kimia secara program *ChemOfficed 5.0 version software* dengan spektroskopi 2 dimensi  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY, TOCSY maupun NOESY RMI, dengan mengingat adanya pengaruh medan magnetik pada alat. Postulasi struktur senyawa juga memenuhi harga indeks kekurangan hidrogen yang memberikan nilai  $F = 10$ , yaitu adanya 6 ikatan rangkap dan 2 cincin furo furan. Oleh karenanya struktur molekul senyawa lignan hasil isolat ditentukan seperti terlihat pada Gambar 7.





Gambar 6. Senyawa lignan (+) – *Syringaresinol (Lirioresinol B)*



Gambar 7. Struktur molekul senyawa  $C_{19}H_{20}O_6$ : *5-[4(4-methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro[3,4-c]furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada seluruh rekan-rekan dari Lab. Kimia Bahan Alam P2K Puspiptek LIPI - Serpong: Dra. Puspa Dewi, MSc., Risna, Dini, Mimin, dan Bapak Ngadiman. Terimakasih.

### DAFTAR RUJUKAN

1. Dewick, PM. Medicinal Natural Product. John Willey Son Ltd., England 1997;hal. ix + 447.
2. Wiryowidagdo, Sumali. Kimia dan Farmakologi Bahan Alam. Dirjen Dikti - Universitas Indonesia. Jakarta 2000; viii + 339 hlm.
3. Cutler, S.J., H. Cutler. Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals. CRC Press LLC. Boca Raton. USA 2000;1-13, 17-22, 73-92.
4. Duke, J.A. & Steven, F. A Field Guide to Medicinal Plants of Eastern and Central North, 1990.
5. Dalimartha, Setiawan. Ramuan Obat Tradisional Untuk Pengobatan Kanker. Swadaya. Jakarta, 2000; 1-28.
6. Harborne, J.B., et al., Phytochemical Dictionary: a Handbook of Bioactive Compounds from Plants, 2nd ed., Taylor & Francis Ltd., London., 1999;396, 487, 494.
7. Juaristi, E. Introduction to Stereochemistry & Conformational Analysis. John Willey & Sons, Inc., Canada, 1991; xv + 310.
8. ----, Dictionary of Natural Product on CD-ROM. Version 10:1. Tenth Anniversary Release, Chapman & Hall/CRC, London, 2001.
9. Ayres, D.C., L. Balakrisnan, N.P., and M.K. Rao Vasudeva. The Dwindling Plant Species of Andaman and Nicobar Island: An assessment of threatened plants of India. Naba Mudran Private Limited. Calcutta, 1983;186 - 202.

10. Kardono, LBS., Structure Elucidation of Bioactive Constituents of Two Indonesian Medicinal Plants. Thesis, University of Illinois at Chicago, Chicago, 1992:hal.xviii + 199.
11. Jiang ZH, et al., Biflavanones, diterpenes, and coumarins from the roots of *Stellera chamaejasme* L. Chem Pharm Bull, Tokyo, Jan 50(1) 2002: 9-137.
12. Xu S, et al., Bioactive compounds from *Peperomia pellucida*. J Nat Prod. Feb 2006;69(2):50-247.
13. Dean, AJ., 1995. Analytical Chemistry Handbook. Mc. Graw Hill, Inc. New York 1995: hal. 4.20-4.53.
14. Derome, AE., Modern NMR Techniques for Chemistry Research. Pergamon Press. Oxford, 1987: hal. xvii + 277.
15. Lisdawati, V., Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), Bioasai Antikanker invitro dengan Sel Leukemia L1210, dan Isolasi serta Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia dari Buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.]. Tesis. Universitas Indonesia, Depok 2002: hal. i-v; 6 – 107.
16. Perrin, DD., & Armarego, WLF. Purification of Laboratory Chemicals, Third ed., Pergamon Press, Oxford, United Kingdom 1988: hal. xi + 391.
17. Ohuchi, K. & Levine L. Alpha-Tocopherol inhibits 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate-stimulated deacylation of cellular lipids, prostaglandin production, and changes in cell morphology of Madin-Darby canine kidney cells, Biochim Biophys Acta, Jul 14 1980; 619(1): 9 – 11.
18. Sewell, PA & Clarke, B. Chromatographic Separations, Analytical Chemistry by Open Learning, John Willey & Sons Inc., New York 1987: 14.
19. Stahl, E. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi, ITB, Bandung 1985: hal 1-10.
20. Rao, CBS. Chemistry of Lignans. Andhra University Press., India 1978: xii + 375.
21. Creswell, CJ. et al. terjemahan: Padmawinata, K & Iwang, S., Analisis Spektrum Senyawa Organik. ITB – Bandung 1982: hal. x + 351.
22. Silverstein, B. & Morrill. Terjemahan: Hastomo, AJ & Anny, PB., Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik. ed. ke-4, Erlangga, Jakarta 1986: hal. viii + 400.
23. Duddeck, H & William, D. Structure Elucidation by Modern NMR: A Workbook Steinkopff Verlag Darmstadt, Springer-Verlag, New York 1989: hal.1– 28.
24. Williams, DH., & Ian, F. Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, Fourth ed.Rev., Mc. Graw-Hill Book Comp, London 1990: hal 4-62; 71-79; 104-142; 164-182.