

SKOPOLETIN 7-HIDROKSI-6-METOKSI KUMARIN DARI KULIT BATANG

Chisocheton celebicus (MELIACEAE)

Dewa G. Katja^{1,2}, Andre A. Sonda¹, Desi Harneti P. Huspa¹, Tri Mayanti¹,¹Unang Supratman.

¹Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Sumedang-Bandung KM 21 Jatinangor, Sumedang, 45363, kimia@unpad.ac.id

²Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat 95115, dewakatja@yahoo.com

ABSTRAK

Skopoletin 7-hidroksi-6-metoksi kumarin telah diisolasi dari kulit batang *Chisocheton celebicus* (Meliaceae) menggunakan pelarut etil asetat, kemudian dipisahkan dengan teknik kromatografi dan dihasilkan isolat murni berupa senyawa fenil propanoid (2,5 mg). Struktur kimia skopoletin 7-hidroksi-6-metoksi kumarin diidentifikasi berdasarkan data-data spektroskopi meliputi IR, NMR-1D, NMR-2D dan massa, serta perbandingan dengan data spektra yang diperoleh dari literatur. Penemuan senyawa dari kulit batang *Chisocheton celebicus* dilaporkan untuk pertama kalinya dalam penelitian ini.

Kata kunci: Meliaceae, *Chisocheton celebicus*, skopoletin, fenil propanoid, kumarin.

ABSTRACT

Scopoletin 7-hydroxy-6-methoxy coumarin has been isolated from the bark of *Chisocheton celebicus* (Meliaceae) in ethyl acetate and separated using several chromatography and it has been pure isolated the phenyl propanoid compound (2,5 mg). The chemical structure of isolated compound was identified on the basis of spectroscopic data including IR, 1D-NMR, 2D-NMR and mass along with comparison with those spectral data previously reported. The discovery of these compound from the bark *C. celebicus* reported for the first time in this study.

Key words: Meliaceae, *Chisocheton celebicus*, scopoletin, phenyl propanoid, coumarin

PENDAHULUAN

Chisocheton celebicus adalah salah satu spesies dari genus *Chisocheton* yang terdistribusi secara luas di daerah tropis dan subtropis seperti Nepal, India, Bhutan, Myanmar, Indo-China, Thailand, Malaysia dan Papua Nugini (Vosen & Umali, 2002). *Chisocheton* pada umumnya sering ditemukan di dataran rendah hutan hujan tropis dan beberapa spesies tumbuhan ini secara tradisional telah digunakan sebagai obat pencuci perut, berbau khas (tengik) dan susah untuk dikeringkan serta dimanfaatkan sebagai racun untuk penangkapan ikan (Lim, 2008).

Genus *Chisocheton* telah banyak dilaporkan dan menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antikanker, sitotoksik, antitumor, antiinflamasi, antimalaria, antimikroba, antilipid dan apoptosis (Wong *et al.*, 2011; Mohamad *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009; Awang *et al.*, 2012; Najmuldeen *et al.*, 2012). Senyawa aktif yang diisolasi dari genus *Chisocheton* adalah ceramicin A, merupakan golongan limonoid baru yang diisolasi dari kulit batang *C. ceramicus*, beraktivitas sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 (Mohammad *et al.*, 2008). Senyawa triterpenoid yang diisolasi dari daun *C. macrophyllus* memiliki sifat antitumor terhadap sel tumor pada EBV-EA (Inada *et al.*, 1993). Ceramicin B merupakan senyawa limonoid yang diisolasi dari kulit batang *C. ceramicus* memiliki aktivitas antilipid (Wong *et al.*, 2013). Senyawa malayanin A dan malayanin B, merupakan senyawa limonoid yang diisolasi dari kulit batang *C. erythrocarpus* Hiern, beraktivitas antimalaria dan insektisida (Awang *et al.*, 2012). Senyawa 7-hidroksi- -sitosterol, diisolasi dari kulit batang *C. tomentosus* yang

beraktivitas apoptosis (Najmuldeen *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini kami akan menjelaskan isolasi, identifikasi struktur senyawa skopoletin 7-hidroksi-6-metoksi kumarin.

BAHAN DAN METODE

Umum. Peralatan titik leleh Fisher-John, rotary evaporator R-200 Buchii dengan pompa vacum Vac V-500 Buchii, penangas air B-490 Buchii, kolom kromatografi terbuka berbagai ukuran, lampu UV Vilbert lountart (254 nm dan 365 nm) spektrofotometer FTIR One Perkin Elmer pada KBr. Spektra ¹H-NMR dan ¹³C-NMR dengan spektrometer JEOL JNM ECA-500, pektra massa dengan menggunakan LC-MS, Mariner Biospectrometry-Finngan, Hitachii L 6200, sistem ECI (Electrospray Ionisation), positif ion mode dan Shimadzu LCMS solution, negatif ion mode. Pemisahan dengan kromatografi menggunakan silika gel G₆₀ (70-230 mesh dan 200-400 mesh, Merk), silika gel GF₂₅₄ (Merk, 0,25 mm) untuk kromatografi lapis tipis, pereaksi penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol dan dipanaskan.

Bahan tumbuhan. Kulit batang tumbuhan *C. celebicus* diperoleh dari Kebun Raya Bogor Jawa Barat pada 11 September 2012. Tumbuhan ini dideterminasi di Herbarium Bogoriense Bogor Jawa Barat dan contoh specimen ini tersimpan di Herbarium tersebut.

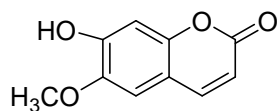
Ekstraksi dan Isolasi. Kulit batang tumbuhan *C. celebicus* (1,5 kg) kering dilalulaskan, diekstraksi menggunakan metode maserasi (ekstrak padat-cair) dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol pada suhu ruangan. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat etil asetat (13,73 g). Selanjutnya dipisahkan dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan fasa diam silika gel G₆₀ dan fasa gerak campuran pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol yang dielusikan bertahap secara bergradien 10% sehingga diperoleh 29 fraksi. Setiap fraksi dilakukan pemeriksaan dengan kromatografi lapis tipis dan diperoleh 8 fraksi gabungan (A-H). Fraksi E (3,2 g) dipisahkan dengan teknik kromatografi kolom dengan fase diam silika gel G₆₀ (230-400 mesh) dan fase geraknya berupa perbandingan pelarut tetap *n*-heksana : etil asetat (9:1) dihasilkan 116 fraksi.

Setiap fraksi dianalisis dengan kromatografi lapis tipis dan diperoleh 7 fraksi gabungan (E1-E7). Fraksi E4 (278,7 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan fase diam ODS dengan fase geraknya berupa pelarut metanol : air (4:6) dan dihasilkan isolat murni berupa padatan amorf, berwarna kuning pucat sebanyak 2,5 mg. Setiap tahapan pemisahan dipantau dengan kromatografi lapis tipis dibawah sinar UV (254 nm dan 365 nm). Isolat murni tersebut diidentifikasi strukturnya berdasarkan data-data spektroskopi IR, NMR-1D, NMR-2D, MS dan ditetapkan sebagai senyawa skopoletin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

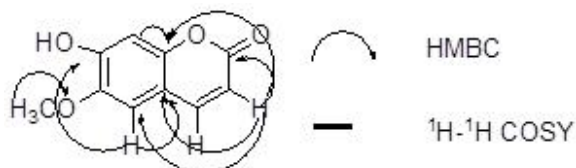
Skopoletin diperoleh berupa padatan amorf berwarna kuning pucat, HR-ESI-TOFMS menunjukkan puncak [M+H]⁺ pada *m/z* 192 yang sesuai dengan rumus molekul C₁₀H₈O₄. Spektrum IR menunjukkan adanya gugus -OH pada bilangan gelombang 3357,07 cm⁻¹, adanya regang C-O ester dan C=O ester lakton beranggota enam masing-masing pada daerah 1292,36 cm⁻¹ dan 1712,86 cm⁻¹ mengindikasikan adanya ester siklik (lakton) beranggota enam. Selain itu terdapat regang C=C aromatik pada daerah 1564 cm⁻¹ juga lentur C-H ke luar bidang dari suatu cincin aromatik pada daerah 1136,12 cm⁻¹ dan adanya pita kombinasi lemah dan overton mengindikasikan kuat bahwa struktur isolat mengandung cincin aromatik yang tersubstitusi.

Jumlah karbon yang ada dalam struktur senyawa ditentukan berdasarkan data spektrum ¹³C-NMR. Isolat memiliki 10 sinyal karbon yang terdiri dari enam karbon aromatik pada δ_c (ppm): 103,7 (C-8), 109,9 (C-5), 112,0 (C-10), 146,0 (C-6), 151,1 (C-7), 151,9 (C-9), dua karbon olefenik pada δ_c (ppm): 113,2 (C-4), 144,7 (C-3) dan satu karbonil ester pada δ_c (ppm): 161,3 (C-2) (Tabel 1). Adanya karbon sp³ yang teroksidasi, teramati pada δ_c 56,72 ppm yang memperkuat adanya gugus metoksi pada senyawa ini. Berdasarkan data-data MS, IR dan ¹³C-NMR disimpulkan adanya kerangka bisiklik dengan gugus metoksi sebagai substituen pada senyawa ini.



Gambar 1. Struktur kimia skopoletin

Jenis karbon (metil, metin, metilen atau karbon kurterner) dilakukan pengukuran DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) 135° . Dugaan kerangka bisiklik dengan gugus metoksi sebagai substituenya dikuatkan dengan spektrum $^1\text{H-NMR}$. Diketahui adanya sinyal yang menunjukkan karakteristik proton metoksi dan hidroksil pada δ_{H} 3,89 ppm (s, H-6) dan 4,5 ppm (br.s, H-7), proton aromatik pada δ_{H} (ppm): 6,79 (s, H-8), 7,19 (s, H-5). Adanya cincin lakton dipresentasikan oleh proton olifenik yang kurang terpirisai pada δ_{H} (ppm): 6,18 (d, $J=9,75$ Hz, H-4) dan proton olifenik yang kurang terpirisai pada δ_{H} (ppm): 7,85 (d, $J=9,75$ Hz, H-3), dan diduga struktur kimia adalah senyawa skopoletin.



Gambar 2. Korelasi HMBC skopoletin (5000 Hz)

Berdasarkan hasil analisis di atas, gugus fungsi pada struktur parsial dapat dibuktikan dengan menggunakan korelasi HMBC dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2. Spektrum menunjukkan bahwa keberadaan gugus karbonil pada C-3 dapat dibuktikan dengan adanya korelasi H-3 (δ_{H} 7,85 ppm) dengan jarak empat ikatan (penjodohan jarak jauh) terhadap C-5 (δ_{C} 109,9 ppm), korelasi dengan jarak tiga ikatan terhadap C-9 (δ_{C} 151,9 ppm), dan korelasi dengan jarak dua ikatan terhadap C-2 (δ_{C} 161,3 ppm). Selanjutnya terdapat pula korelasi antara H-4 (δ_{H} 6,18 ppm) dengan jarak tiga ikatan terhadap C-2 (δ_{C} 161,3 ppm) dan korelasi dengan jarak dua ikatan terhadap C-10 (δ_{C} 112,0 ppm) dan korelasi dengan jarak tiga ikatan terhadap C-7 (δ_{C} 151,1 ppm). Terdapat pula korelasi H-7 (δ_{H} 6,79 ppm) dengan jarak tiga ikatan terhadap C-9 (δ_{C} 151,9 ppm). Korelasi

antara proton metoksi (δ_{H} 3,89 ppm) dengan jarak dua ikatan terhadap C-6 (δ_{C} 146,0 ppm) membuktikan bahwa posisi gugus metoksi terikat pada karbon dengan δ_{C} 146,0 ppm, sedangkan gugus hidroksil terikat pada karbon dengan δ_{C} 151,1 ppm.

Tabel 1. Data NMR senyawa skopoletin

Posisi C	$^1\text{H-NMR}$ δ_{H} (ppm), (δ_{H} ,mult.Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$ δ_{C} (ppm)	HMBC ($\text{H}_\tau \rightarrow \text{C}$)	$^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY
2	-	161,3	-	-
3	7,85 (1H,d, 9,75)	144,7	5,9,2	H-4
4	6,18 (1H,d,9,75)	113,3	2,10	H-3
5	7,19 (1H, s)	109,9	6,9,7,3	-
6	-	146,0	-	-
7	-	151,1	-	-
8	6,79 (1H, s)	103,7	10,6,7	-
9	-	151,9	-	-
10	-	112,0	-	-
- OCH ₃	3,89 (1H, s)	56,7	6	-

Berdasarkan hasil interpretasi spektrum IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HMQC, HMBC, $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ dan data-data pembandingan, isolat berupa padatan amorf berwarna kuning pucat sebanyak 2,5 mg yang diisolasi dari 1,5 kg serbuk kering kulit batang *C. celebicus*, ditetapkan sebagai senyawa skopoletin 7-hidroksi-6-metoksi kumarin. Senyawa skopoletin dari tumbuhan *C. celebicus* baru pertama kali dilaporkan dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Indonesia yang telah memberikan beasiswa melalui Biaya Pendidikan Dalam Negeri (BPDN). Terimakasih kami sampaikan Prof. Dr. M. Hanafi beserta staf pada Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Serpong yang telah membantu pengukuran NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Awang, K., Chong, L., Marthi, M.T., Mokhtar, R.M., Chan, G., Litaudon, M., Gueritte, F., and Mohamad, K. 2012. Malayanines A and B, two novel limonoids from *Chisocheton erythrocarpus* Hiern, *Tetrahedron Letters*, 53: 5355-5359.
- Inada, A., Sukemawa, M., Murata, H., Nakanishi, T., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashima, Darnaedi, D., and Murata, J. 1993. Phytochemical studies on Maleaceous Plant. Part VII. Structures and Inhibitory Effects on Epstein-Barr Virus Activation of Triterpenoids from leaves of *Chisocheton macrophyllus* King. *Chem. Pharm. Bull.* 41(3): 617-619.
- Lim, C.S. 2008. Chemical Constituents of *Chisocheton erythrocarpus* hiern. Department of Chemistry Faculty of Science University Malaya.
- 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 Letters*, 49: 4276-4278.
- Najmuldeen, I.A., Ibrahim, A., Tasyriq, M., Lionel, L.A.I., Mohamad, K., Awang, K., and Hasima, N. 2012. 7-hidroxy-sitosterol from *Chisocheton tomentosus* Induces Apoptosis via Dysregulation of Cellular Bax/Bcl-2 Ratio and Cell Cycle Arrest by Downregulating ERK1/2 Activation. Volume 2012. Article ID 765316, 12 pages. Doi: 10.1155/2012/765316
- Vossen, V.D., H.A.M., and 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., Shio, M., and Morita, H. 2011. Ceramicines E-I, New Limonoids from *Chisocheton ceramicus*. *Chem. Frm Bull.* 59:407-411
- Wong, C.P., Kaneda, T., Hamid, A., Hadi, A., Morita, H. 2013. Ceramicine B, a limonoid with anti-lipid droplets accumulation activity from *Chisocheton ceramicus*. *J. Nat. Med.* Doi: 10.1007/s11418-013-0755-2.
- Yang, M.H., Wang, J.S., Luo, J.G., Wang, X.B., and Kong, L.Y. 2009. Tetranortriterpenoids from *Chisocheton paniculatus*. *J. Prod.* 72: 2014-2018