

SENYAWA FENOL DARI KULIT BATANG CALOPHYLLUM MACROPHYLLUM SCHEFF

Jamilah, M. Hanafi. Puspa Dewi
Pusat Penelitian Kimia –LIPI
Kawasan PUSPIPTEK. Serpong. Tangerang 15314

Abstrak

Satu senyawa berhasil diisolasi dari kulit batang *Calophyllum macrophyllum* Scheff dengan berat molekul 286, dari fraksi n-heksana. Elusi dengan n-heksana-etil asetat secara gradien dengan fasa diam silika. Elusidasi struktur ditentukan dengan spektroskopi LC-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR. Dari data IR menunjukkan adanya gugus hidroksil (OH), karbonil (C=O), serta gugus C=C aromatik (1400-1600 cm⁻¹). Dengan spektrofotometer UV-VIS memberikan serapan pada lamda maksimum 327,5; 248,0; 232. nm.

Kata kunci :*Calophyllum macrophyllum* Scheff, gradien, hidroksi, karboni dan aromatik

PENDAHULUAN

Calophyllum macrophyllum Scheff banyak tumbuh di hutan hujan tropis, dan terdiri dari 200 spesies, sebahagian besar (190 spesies) tersebar luas di semenanjung Malaysia, Sumatra, Kalimantan dan Papua Nugini. Hanya 8 spesies yang tumbuh di Amerika Latin dan sekitar 20 spesies terdapat di Madagaskar. Papua Nugini merupakan daerah yang terbanyak ditumbuhi oleh spesies *Calophyllum*. Genus *Calophyllum* termasuk dalam famili Guttiferae (Clusiaceae). Penelitian tanaman *Calophyllum* meningkat dengan pesat semenjak ditemukan senyawa turunan kumarin dalam *Calophyllum teysmanii* yang sangat aktif sebagai ant-HIV-tipe 1.(Chihiro Ito, 2005)

Calophyllum mengandung senyawa neoflavonoid, biflavonoid, benzofenon santon, kumarin. Senyawa santon yang terkandung dalam *C. caledonicum* terdiri dari kalosanton, dimetilkalabasanton, kalothwaitessanton, calozeylosanton, makrulasanton yang mempunyai aktivitas antimalaria. Uji dilakukan dengan menggunakan parasit *plasmodium falciparum*. Aktivitas antimalaria sangat ditentukan oleh substitusi gugus fungsi prenil, dimetilalil, kromen dan gugus hidroksi (Hay A.E 2004).

Senyawa kumarin yang terkandung dalam tumbuhan *Calophyllum* mempunyai aktivitas anti-HIV, dapat melemahkan virus HIV tipe-1. Chihiro Ito telah berhasil mengisolasi senyawa kumarin dari *C. teysmannii*, diantaranya brasimarin A, B, C. Senyawa prenil kumarin diantaranya 4-propil kumarin, 4-fenilkumarin, kаланolide A, mammea, kalorumarin A, kalanona dan brasimarin juga mempunyai aktivitas antitumor, uji dilakukan dengan menggunakan virus Raji cell. Senyawa yang mengandung gugus prenil menunjukkan aktivitas antitumor yang sangat tinggi. Senyawa lainnya mempunyai aktivitas antiplatelet dan antifungi (Linuma M, 1996,1994). Senyawa santon

lainnya mempunyai aktivitas sebagai antikanker (Dharmaratne 1996, Yimjo 2004). Penelitian kami terdahulu tentang isolasi senyawa kumarin dari *C. soulattri* Burm f dan *C. incrasaptum* yang menunjukkan aktivitas antikanker. Dalam penelitian ini berhasil diisolasi senyawa fenol dari *C. macrophyllum* Scheff (dari fraksi n-heksana) yang mana fraksi n-heksana memperlihatkan aktivitas antioksidan.

Morfologi tumbuhan *C. macrophyllum* Scheff.

Tumbuhan *C. macrophyllum* tingginya mencapai 25 m, diameter 60 cm, dengan batang lurus, kayunya berserat panjang, kusut, liat dan sangat lentur, kulit luar warna coklat, kulit dalam kemerahmerahan, mempunyai banyak getah (Soerianaga & Lemmens, 1994)

C. macrophyllum Scheff. tersebar di beberapa tempat misalnya Jawa Barat, Kalimantan, Irian dan pulau Jawa dan dapat tumbuh didataran rendah dan lereng gunung sampai ketinggian 1700 m diatas permukaan laut. (Soerianaga & Lemmens, 1994).

METODE PENELITIAN

Umum

Peralatan untuk elusidasi struktur terdiri dari ¹H-NMR, ¹³C-NMR 1D, 2D tipe JNM-ECA-400 merek Jeol 500 MHz, (CDCl₃ dengan δ (ppm)). Penentuan berat molekul dengan alat LC-MC merek Mariner Biored (70 eV). Untuk penentuan gugus fungsi digunakan alat FTIR tipe Prestige 21 merek Shimadzu, pelet dibuat dengan menggunakan bubuk KBr. Penentuan gugus kromofor dengan alat UV-VIS merek Hitachi model 2000 U (pelarut MeOH). Penentuan titik leleh digunakan alat Fisher Scientific serial 903N 0056. Penampakan noda digunakan reagen H₂SO₄ dalam metanol dan reagen FeCl₃ dalam MeOH untuk mendeteksi gugus OH,

yang ditunjukkan dengan timbulnya warna biru.

Tumbuhan

Bagian tumbuhan yang diteliti adalah kulit batang, yang dikoleksi dari Gunung kerinci. Jambi. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarim – LIPI Cibinong

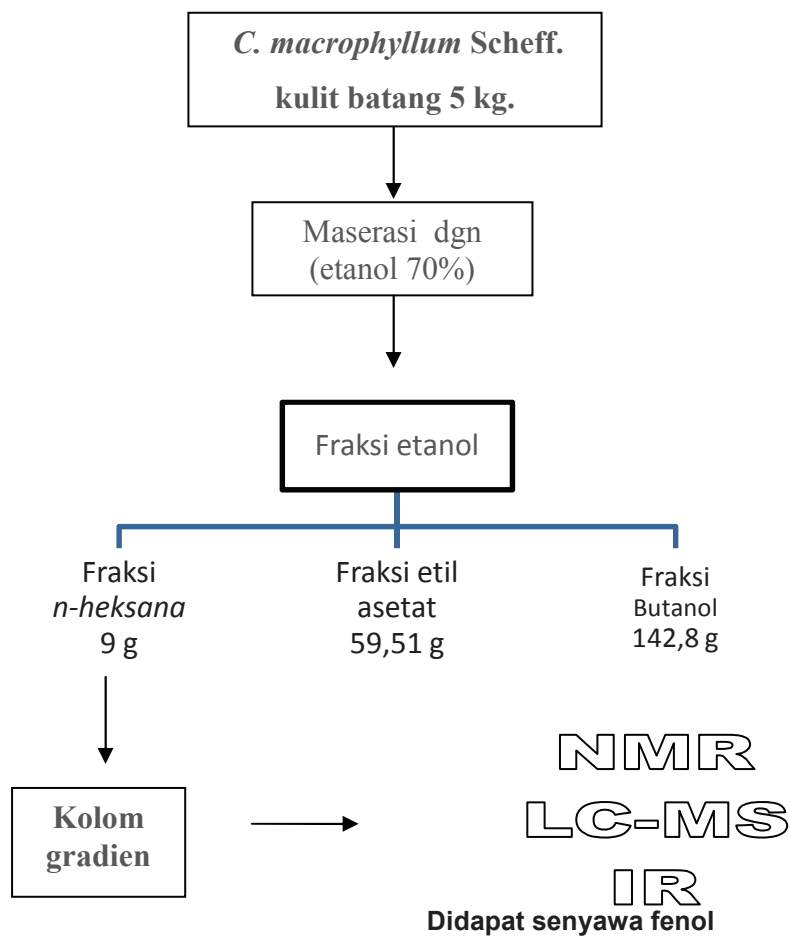
Maserasi dan isolasi

Bagan kerja sebagai seperti dalam Gambar 1. Ekstrak *n*-heksana sebanyak 9 gram dipisahkan dengan kolom silika dengan fasa diam Silika 200-300 mesh sebanyak 90 gr dengan eluent *n*-heksana - etil asetat yang kepolarannya dinaikkan secara bertahap, hasil elusi ditampung masing-masing sebanyak 15 mL. TLC digunakan untuk memantau hasil pemisahan. Fraksi yang memberikan spot yang sama digabung, lalu dipisahkan kembali dengan kolom kromatografi, lakukan kristalisasi dengan menggunakan beberapa pelarut, didapat senyawa murni. Kristal yang didapat dianalisa

dengan LC-MS untuk menentukan BM dan melihat kemurnian. Bila hasil LC-MS senyawa sudah murni dilanjutkan dengan elusidasi struktur dengan menggunakan NMR 1D dan 2D, serta penentuan gugus fungsi dengan IR dan UV-VIS.

Uji aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan reagen 1,1-diprenyl-2-picrylhydrazyl dengan konsentrasi sampel awal 1000 ppm (2 mg/2mL). Untuk uji antioksidan konsentrasi sampel dibuat menjadi 25, 50, 100 dan 200 ppm dalam metanol setelah ditambahkan DPPH, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit Efek hambatan senyawa baru fenol terhadap radikal bebas 1,1-diprenyl-2-picrylhydrazyl dapat diamati dengan perubahan warna 1,1-diprenyl-2-picrylhydrazyl dari ungu menjadi kuning. Ini menunjukkan terjadinya penangkapan radikal bebas oleh senyawa fenol dari hasil isolasi (Hanato 1998)



Gambar 1. Bagan kerja

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji anti oksidat dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol (Tabel 1). Dari Tabel tersebut menunjukkan bahwa senyawa fenol yang didapat dari *C. macrophyllum* Scheff. mempunyai aktivitas antioksidan dengan $IC_{50} = 1,86$ ppm, uji dilakukan dengan menggunakan Vitamin C dan quercetin sebagai standar.

Senyawa fenol hasil isolasi berupa kristal kuning, dengan LC-MS menunjukkan molekuler ion pada $(M + 1)^+ = 287519$, BM 286,19 dengan rumus molekul $C_{18}H_{24}O_3$. Dari spektrum UV-VIS mempunyai serapan maksimum pada λ_{maks} 232,0; 248,0 dan 327,5 nm, menunjukkan senyawa yang didapat mempunyai gugus aromatik

Dari spektrum IR, menunjukkan adanya gugus C=O dengan adanya C=O stretching pada 1608 cm^{-1} . (lit; C=O stretching $1600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$). Bilangan gelombang 1375 cm^{-1} merupakan C-H bending dari gugus metil (lit 1350-1450), dan 2927 cm^{-1} merupakan C-H stretching dari metil (lit 2850-2960 cm^{-1}). Dari spektrum UV-VIS adanya serapan maksimum pada λ_{maks} 232,0; 248,0 dan 327,5 nm menunjukkan bahwa senyawa yang didapat mempunyai gugus aromatik.

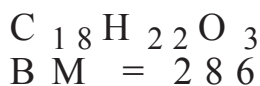
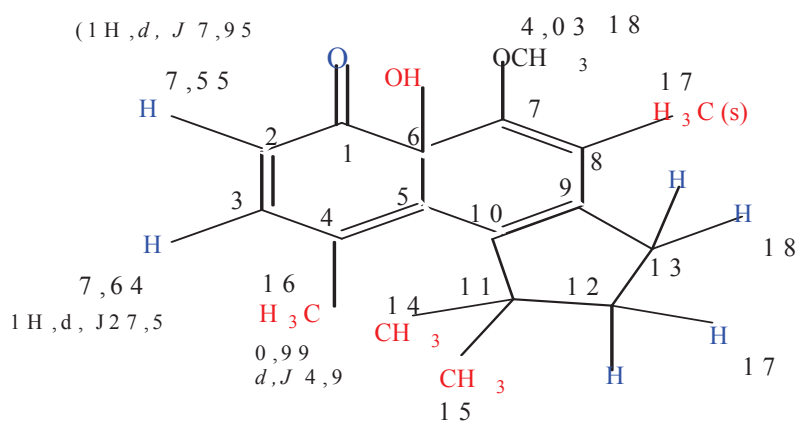
Senyawa yang didapat mengandung gugus aromatik, diperkuat oleh data IR dengan adanya C=C stretching aromatik pada

1585; 1637; 1664 dan 1710 cm^{-1} . (lit $1500\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$) dan didukung oleh data proton NMR dengan adanya dua buah proton aromatik pada δ_H 7,55 (1H, *d*, *J* 7,96) dan 7,64 (1H, *d*, *J* 27,5),

Dari $^1\text{H-NMR}$ disimpulkan ada satu gugus OH pada posisi C-6, dengan pergeseran kimia proton δ_H 7,8 ppm dan pergeseran kimia karbon δ_C 80,8 ppm, Serta ada empat gugus metil yaitu pada pergeseran kimia proton δ_H 0,75 (3H, *s*); 0,96 (3H, *d*, *J* 4,9); 1,68 (3H, *m*) dan 1,71 (3H), ini sesuai dengan data karbon NMR dengan adanya pergeseran kimia karbon pada δ_C 14,7; 27,5; 29,9; dan 39,0 ppm. Ada satu gugus metoksi pada pergeseran kimia proton δ_H 4,03 ppm dan karbon NMR pada δ_C 158,9 ppm. Dua gugus metilen (CH_2) ditandai dengan adanya pergeseran kimia karbon pada δ_C 18,4 dan δ_C 30,6 ppm (DEPT), diperkuat oleh data IR dengan adanya C-H cissoring (metilen) pada 1435; 1467 dan 1487 cm^{-1} (lit $400\text{-}1480\text{ cm}^{-1}$), dan data proton NMR pada $\delta_H = 6,76\text{-}6,78$ (2H, *t*, *J* = 7,65 Hz) dan δ_H 6,87- 6,93 (2H, *dd*, *J* = 7,9 dan 7,95 Hz), sehingga total proton 22 dengan tiga gugus oksigen, rumus molekul senyawa yang didapat adalah $C_{18}H_{22}O_3$, BM 286. Sehingga struktur senyawa yang didapat dapat dilihat pada gambar 2.

Tabel 1. Data hasil uji antioksidan

Sampel awal	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi n-butanol	Senyawa fenol
(5 gk)	9 g	59,51 g	142,8 g	
Antioksidan IC_{50} (ig/ml)	407,39	54,43	113,89	1,86

Gambar 2. Struktur senyawa fenol dari *C. macrophyllum* Scheff

Spektrum IR juga memperkuat adanya gugus metil dengan bilangan gelombang 1375 cm^{-1} merupakan C-H bending dari metil (lit 1350-1450), dan 2927 cm^{-1} merupakan C-H stretching dari metil (lit 2850-2960 cm^{-1}). Dari spektrum UV-VIS adanya serapan maksimum pada λ_{maks} 232,0; 248,0 dan 327,5 nm menunjukkan bahwa senyawa yang didapat mempunyai gugus aromatik., dan dengan reagen FeCl_3 timbu warna biru yang menunjukkan adanya gugs hidroksi (senyawa fenol).

Tabel 2. Data pergeseran Kimia Proton dan karbon senyawa fenol dari *C.macropyllum* Scheff.

No	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	201,8 (C=O)	-
2	110,9 (CH)	7,55 (1H,d, J 7,96)
3	107,2 (CH)	7,64 (1H,d, J 27,5)
4	100,0 (C)	-
5	153,6 (C)	-
6	80,8 (C-OH)	7,8 (s)
7	158,9 (C-OCH ₃)	4,03 (3H, t, J 7,9)
8	137,0 (C)	-
9	136,8 (C)	-
10	150,7 (C)	-
11	147,7 (C)	-
12	37,1 (CH ₂)	6,89-6,93 (dd, J 7,9 & 7,95)
13	30,6 (CH ₂)	6,77-6,79 (2H, d, J 7,65)
14	39,0 (CH ₃)	0,71 (3H)
15	29,9 (CH ₃)	1,68 (H ₃ , m)
16	27,5 (CH ₃)	0,96 (d, J 4,9)
17	14,7 (CH ₃)	0,75 (3H, s)
18	158,9 (OCH ₃)	4,03 (3H, s)

DAFTAR PUSTAKA

1. Limuna M., Tosa H., Toriyama. N; Tanaka T; Ito T;; Chelladurant V.1996. Six xanthones from *Calophyllum Austroindicum*. *Phytochemistry* vol 43, No 3, 681-685
2. Limuna M., Ito. T; Tosa H; Tanaka T., Miyake .R and Chelladurant. 1997. Prenilated Xanthonoids from *Calophyllum Apetalum*. , *Phytochemistry* vol 46, No 8, 1423-1429.

3. Limuna M., Tosa H., Tanaka T., Yonemori S. 1994. Two xanthones from root bark of *Calophyllum inophyllum*., *Phytochemistry* vol 35, No 7, 527-532
4. Dharmaratne H.R.W., Perera D.S.M., Marasinghe G.P.K., Jamie 1999. A chromene acid from *Calophyllum cordato-oblongum*., *Phytochemistry* 15, 111-113.
5. Dharmaratne H.R.W., Perera D.S.M., Marasinghe G.P.K., Jamie J. 1999. A Chromene acid from *Calophyllum cordato-oblongum*., *Phytochemistry* 15, 111- 113.
6. Soerianegara, Lemmens. R.H.M.J. 1994. Plant Resources of South- East, Timber trees mayor commercial timbers., Bogor. Indonesia. No 5 (1), 114-132.
7. Crane, S., Aurore G., Joseph H., Mouloungui Z., Bourgeois P. 2005. Composition of fatty acids triacylglycerolls and unsaponifiable matter in *Calophyllum Calaba* L. oil from Guadeloupe., *Phytochemistry* 66, 1825-1831.
8. Itoigawa M., Ito C., Tan H. T.W., Kuchide M., Tokuda H., Nishino H., Furukawa H. 2001. Cancer Chemopreventive agents, 4-phenylcoumarins from *Calophyllum inophyllum*. *Cancer letters*, 169, 15-19.
9. Kirk R. Gustafon. Heide R., Bokesch., Fuller R.W. 1994, Calanone, A novel coumarin from *Calophyllum teysmannii*. *Tetrahedron Letters*,vol 35, no 32, 5821-5824
10. Taher M, Idris,M.S., Ahmad F., Arbain D.2005. A Polyisoprenylated ketone from *Calophyllum enervosum*.,*Phytochemistry*, 66, 723-726.

TANYA JAWAB

Penanya : Florentina Maria Titin S (UPI)

Pertanyaan :

Fraksi yang diuji heksan, kenapa fenol dihasilkan dalam heksan?

Jawaban :

Karena waktu partisi kami menggunakan heksan campur air (1 : 1), sehingga kemungkinan didapat senyawa fenol (semipolar).