

HOPEAPHENOL-O-GLYCOSIDE, A COMPOUND ISOLATED FROM STEM BARK *Anisoptera marginata* (Dipterocarpaceae)

Hopeafenol-O-glukosida, Senyawa Hasil Isolasi dari Kulit Batang *Anisoptera marginata* (Dipterocarpaceae)

Sri Atun

Chemistry Education, Faculty of Mathematic and Science, Yogyakarta State University, Karangmalang, Yogyakarta, 55281, Indonesia

Received October 7, 2008; Accepted March 4, 2009

ABSTRACT

Isolation and structure elucidation of some compounds from stem bark of *Anisoptera marginata* had been done. The isolation of those compounds was carried out by chromatography method and structure elucidation was performed by interpretation of spectroscopic data, including UV, IR, ^1H and ^{13}C NMR 1D and 2D, and FABMS. From acetone extract stem bark *A. marginata* we isolated five known compounds namely bergenin (1), (-)- ϵ -viniferin (2), (-)-ampelopsin A (3), vaticanol B (4), (-)-hopeaphenol (5), and a glycoside compound namely hopeaphenol-O-glycoside (6).

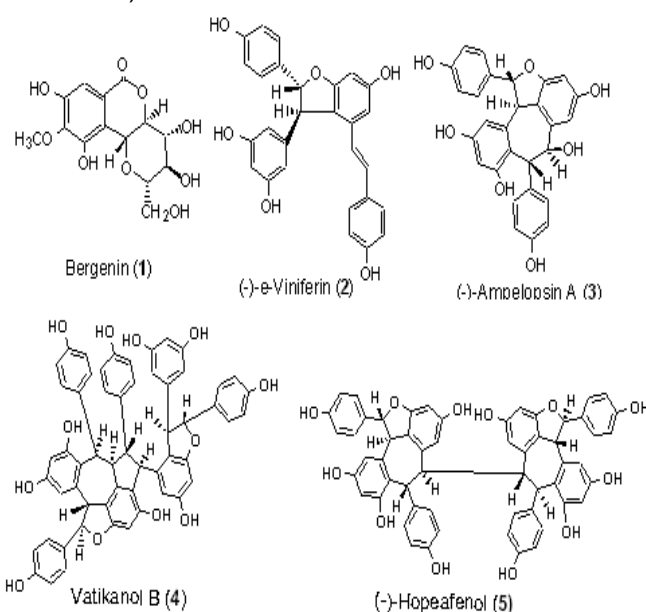
Keywords: Dipterocarpaceae; *Anisoptera marginata*; hopeaphenol-O-glycoside

PENDAHULUAN

Dipterocarpaceae merupakan salah satu kelompok tumbuhan hutan tropis yang banyak terdapat di Indonesia. Famili tumbuhan ini terdiri dari 16 genus dan sekitar 600 spesies, 9 genus diantaranya terdapat di Indonesia, yaitu *Anisoptera*, *Cotylelobium*, *Dipterocarpus*, *Dryobalanops*, *Hopea*, *Parashorea*, *Shorea*, *Upuna*, dan *Vatica*. Kesembilan genus tersebut tersebar mulai dari Aceh sampai Papua, dengan populasi terbesar terdapat di Kalimantan [1,2]. Dari sejumlah 40 spesies tumbuhan Dipterocarpaceae yang telah diselidiki, sebanyak 32 spesies diantaranya telah dilaporkan mengandung monomer dan oligomer resveratrol, yang dapat dibedakan atas dimer, trimer, tetramer, heksamer, heptamer, dan oktamer resveratrol. Kelompok oligostilbenoid merupakan senyawa yang banyak dilaporkan, karena memiliki struktur molekul yang bervariasi [3–17], dan menunjukkan aktivitas biologi yang menarik, misalnya antibakteri [4], antikanker [8-11], dan anti-HIV [3].

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sri Atun [11] terhadap ekstrak aseton kulit batang tumbuhan *Anisoptera marginata* (Dipterocarpaceae) dari fraksi relatif kurang polar telah diperoleh sebanyak lima senyawa metabolit sekunder yang sudah dikenal, yaitu bergenin (1), (-)- ϵ -viniferin (2), (-)-ampelopsin A (3), vaticanol B (4), dan (-)-hopeafenol (5), sedangkan dari fraksi relatif lebih polar menunjukkan masih adanya beberapa senyawa yang potensial untuk dipisahkan dan diidentifikasi struktur molekulnya. Berdasarkan kenyataan tersebut, maka perlu dilakukan penelitian

lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa-senyawa dari fraksi relatif polar, sehingga dari tumbuhan ini dapat diperoleh informasi keanekaragaman struktur molekul senyawa metabolit sekundernya. Dalam artikel ini akan dilaporkan tentang isolasi dan penentuan struktur senyawa dari fraksi relatif polar ekstrak aseton kulit batang *A. marginata*. Struktur senyawa tersebut ditetapkan berdasarkan analisis spektrum UV, IR, MS dan NMR termasuk spektroskopi ID dan 2D NMR (^1H - ^1H COSY, HMQC, dan HMBC).



* Corresponding author. Tel : +62-274-586168 ext. 310
Fax : +62-274-540713; Email address : Atun_1210@yahoo.com

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan kulit batang *A. marginata* yang digunakan dalam penelitian ini dikumpulkan pada bulan September 2002 dari Kebun Percobaan Haurbentes, Jasinga, Banten. Specimen tumbuhan ini diidentifikasi oleh Herbarium Bogorienses, Kebun Raya Bogor, Bogor. Bahan untuk kolom kromatografi antara lain si-gel Merk 60 GF₂₅₄ (230-400 mesh), Si-gel Merk 60 (200-400 mesh), dan plat aluminium berlapis si-gel Merk Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,25 mm. Beberapa pelarut yang digunakan antara lain aseton, methanol, kloroform, etil asetat, heksana, dengan kualitas teknis dan p.a. Pereaksi warna yang digunakan adalah serum sulfat dalam asam sulfat 2,5%.

Alat

Spektrum UV dan IR diukur masing-masing dengan spektrofotometer varian Cary 100 Conc dan FTIR 8300 Shimadzu, spektrum ¹H dan ¹³C NMR diukur dengan menggunakan spektrometer Jeol JNM A-5000 yang bekerja pada 600 MHz (¹H) dan 150 MHz (¹³C) dengan menggunakan puncak residu dan pelarut terdeuterasi sebagai standar. Spektrum massa FAB-MS diperoleh dengan menggunakan Jeol JMS-AM 20. Kromatografi cair vakum (KCV) dilakukan dengan menggunakan si-gel Merk 60 GF₂₅₄ (230-400 mesh), kromatografi kolom gravitasi menggunakan Si-gel Merk 60 (200-400 mesh), dan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada plat aluminium berlapis si-gel Merk Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,25 mm.

Prosedur Kerja

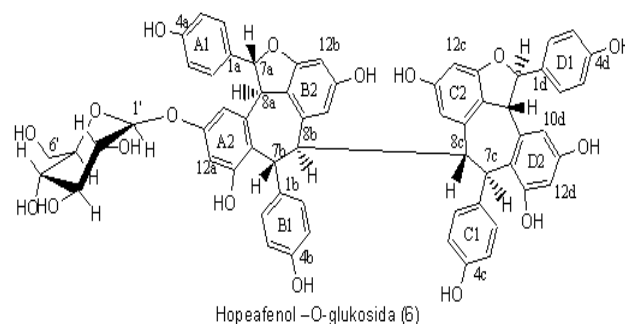
Serbuk halus kulit batang *A. marginata* sebanyak 3,5 kg dimaserasi dengan Me₂CO pada suhu kamar selama 3 x 24 jam (@ 5 L). Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan pada tekanan rendah, selanjutnya dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana (3 x 1 L), CH₂Cl₂ (3 x 1 L). Masing-masing ekstrak diuapkan pada tekanan rendah, sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana (5 g), ekstrak CH₂Cl₂ (5 g), dan ekstrak Me₂CO (150 g). Sebagian dari ekstrak Me₂CO kulit batang *A. marginata* (60 g) difraksinasi dua kali dengan kromatografi cair vakum (250 g, φ : 10 cm, t : 10 cm, dengan pengelusi campuran *n*-heksana-EtOAc, EtOAc, MeOH melalui peningkatan gradien kepolaran), menghasilkan 10 fraksi. Dari penggabungan berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis diperoleh 4 fraksi utama, yaitu MI (1-3, 390 mg), MII (4-6, 9 g), MIII (7-8, 13 g), dan MIV (9-10, 8 g). Fraksi utama pertama (MI, 390 mg) difraksinasi dengan kromatografi radial,

menggunakan eluen CHCl₃-MeOH sehingga diperoleh (-)-ε-viniferin (2) (10 mg) dan (-)-ampelopsin A (3) (12 mg). Fraksi utama kedua (MII, 9 g) difraksinasi kembali dengan kromatografi cair vakum (250 g, φ : 10 cm, t : 10 cm), menggunakan eluen CH₂Cl₂-MeOH = 9 : 1, menghasilkan 3 fraksi gabungan : MII-1 (1-5, 162 mg), MII-2 (6-7, 2,3 g), dan MII-3 (8-10, 2,1 g). Selanjutnya fraksi gabungan ketiga (MII-3, 2,1 g) difraksinasi kembali dengan kromatografi gravitasi dengan eluen CH₂Cl₂-MeOH = 9 : 1, diperoleh vatikanol B (4) (180 mg) dan (-)-hopeafenol (5) (470 g). Fraksi utama keempat MIV (8 g) difraksinasi kembali dengan kromatografi cair vakum (250 g, φ : 10 cm, t : 10 cm, dengan pengelusi campuran CHCl₂-MeOH = 9 : 1), menghasilkan 10 fraksi, yang berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis dikelompokkan menjadi 3 fraksi gabungan : MIV-1 (1-5, 100 mg), MIV-2 (6-8, 2 g), dan MIV-3 (9-10, 2 g). Fraksi gabungan kedua (MIV-2, 2 g) difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi gravitasi dengan eluen CH₂Cl₂-MeOH = 8 : 2, dilanjutkan dengan rekristalisasi dengan MeOH-*n*-heksana, diperoleh bergenin (1) (35 mg). Selanjutnya dari fraksi MIV-3 (2 g) dipisahkan dengan kromatografi gravitasi dengan eluen CHCl₃-MeOH = 9:1, diperoleh senyawa hopeafenol-O-glukosida (6) sebanyak 350 mg.

Hopeafenol-O-glukosida (6) UV (MeOH) λ_{max}. (log ε) : 205 (5.6); 282 (3.76) nm, IR (KBr) ν_{max}. : 3400; 1614; 1597; 1513; 1445; 1334; 1228; 1173; 1089; 1011; 834 cm⁻¹, ¹H dan ¹³C NMR (Me₂CO-d₆, 600 MHz dan 150 MHz) terdapat pada Tabel 1. FABMS *m/z* 1068 [M⁺] (C₆₂H₅₂O₁₇).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hopeafenol-O-glukosida (6) diperoleh sebagai padatan berwarna kuning pucat. Spektrum UV senyawa isolat 6 memperlihatkan serapan pada λ_{maks} 205 dan 282 nm, spektrum IR memperlihatkan adanya gugus -OH (3274 cm⁻¹), C=C aromatik (1608 dan 1454 cm⁻¹), dan 1,4-disubstitusibenzena (833 cm⁻¹), data tersebut karakteristik untuk senyawa fenolik. Spektrum massa FABMS senyawa isolat 6 menunjukkan ion molekul pada *m/z* 1068 [M]⁺, sesuai dengan rumus molekul C₆₂H₅₄O₁₇, sehingga dengan data NMR (¹H dan



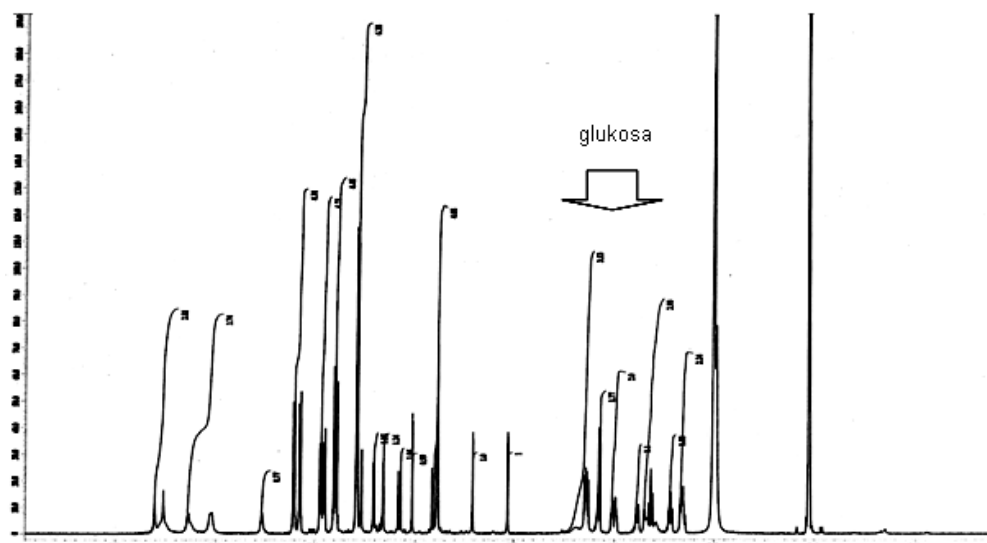
Tabel 1. Data spektrum NMR senyawa isolat 6 hasil isolasi dari *A. marginata*

No. karbon	δ_H (m, J Hz)	δ_C	HMBC (H→C)
1a	-	131,0	-
2a,6a	7,22 (d, 8,5)	130,4	C-7a, C-4a, C-1a
3a,5a	6,58 (d, 8,5)	115,9	C-1a, C-4a
4a	-	158,6	-
7a	5,82 (d, 12,2)	88,4	C-2a,6a; C-8a; C-1a; C-14a; C-9a;
8a	4,28 (d, 12,2)	49,6	C-1a; C-9a; C-7a; C-10a; C-10b
9a	-	142,0	-
10a	-	122,9	-
11a	-	158,7	-
12a	5,42 (d, 2,0)	115,2	C-10a, C-14a, C-11a, C-13a
13a	-	158,0	-
14a	6,03 (d, 2,0)	100,7	C-9a; C-10a, C-8a, C-13a, C-12a
1b	-	135,0	-
2b,6b	6,90 (d, 8,0)	129,2	C-2b,6b; C-7b; C-4b; C-1b
3b,5b	6,78 (d, 8,0)	116,0	C-1b, C-4b
4b	-	155,6	-
7b	5,78 (d, 2,3)	41,1	C-10a; C-8b; C-10b; C-8c; C-1b; C-9b;
8b	4,00 (d, 2,3)	48,1	C-8c; C-10b; C-7b
9b	-	141,8	-
10b	-	118,7	-
11b	-	159,2	-
12b	5,78 (d, 2,3)	95,5	C-10b; C-14b,
13b	-	157,4	-
14b	5,06 (d, 2,3)	111,2	C-9b; C-12b; C-13b
1c	-	134,9	-
2c,6c	6,94 (d, 8,2)	129,3	C-3c,5c; C-4c;
3c,5c	6,81 (d, 8,2)	116,2	C-1c; C-4c; C-2c,6c
4c	-	155,6	-
7c	5,78 (d, 2,3)	41,28	C-11d; C-10d; C-1c; C-9d;
8c	4,00 (d, 2,3)	48,22	C-10c; C-8b; C-7c; C-10d;
9c	-	140,6	-
10c	-	121,1	-
11c	-	158,8	-
12c	6,41 (br s)	106,9	C-10c, C-14c, C-13c, C-11c
13c	-	158,6	-
14c	6,53 (br s)	101,2	C-12c; C-10c; C-11c;
1d	-	130,6	-
2d,6d	7,22 (d, 8,5)	130,2	C-3d,5d; C-7d, C-4d, C-1d
3d,5d	6,58 (d, 8,5)	115,3	C-1d; C-4d,
4d	-	158,4	-
7d	6,16 (d, 12,2)	88,0	C-1d; C-9d; C-11c
8d	4,28 (d, 12,2)	49,6	C-7d; C-10d; C-10c
9d	-	141,9	-
10d	-	120,9	-
11d	-	157,4	-
12d	6,31 (br s)	106,4	C-14d, C-11d
13d	-	158,7	-
14d	6,58 (br s)	101,3	C-10d, C-12d,
Glu 1	4,15 (d, 7,9)	105,6	C-13a
2	3,43 (m)	71,5	C-1, C-3
3	3,32 (m)	74,9	C-2, C-4
4	3,32 (m)	76,8	C-5, C-3
5	3,62 (t, 9,8; 2,5)	77,8	C-3
6	3,70 (m) dan 3,78 (m)	62,5	-

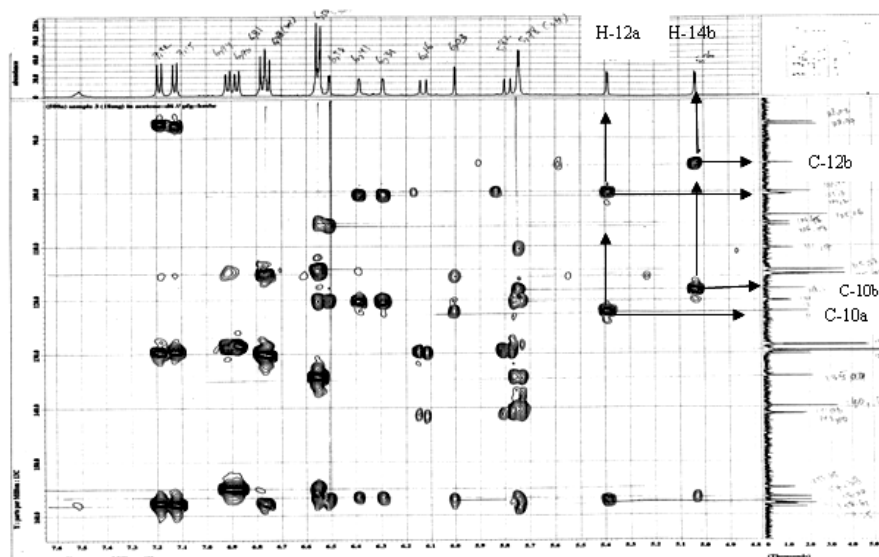
* diukur dengan aseton-d₆ 600 MHz (¹H) dan 150 MHz (¹³C)

¹³C) (Tabel 1) mengindikasikan bahwa senyawa tersebut merupakan tetramer resveratrol yang mengikat satu molekul glukosa. Rincian mengenai unit-unit struktur yang terdapat dalam senyawa 6 selanjutnya diperoleh dari analisis spektrum NMR (¹H dan ¹³C), serta spektrum korelasi 2-dimensi HSQC, HMBC dan COSY yang terdapat pada Tabel 1.

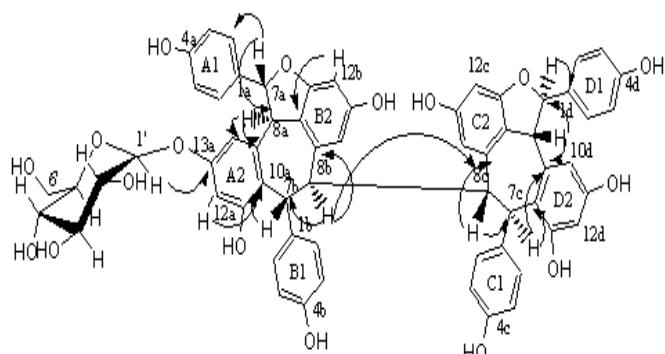
Spektrum ¹H NMR (Gambar 1) menunjukkan adanya sederetan sinyal proton di daerah aromatik dan alifatik. Adanya empat pasang sinyal proton kopling orto di daerah aromatik menunjukkan adanya empat unit cincin 4-hidroksifenil pada daerah δ 7,22 (d, 8,5) dan 6,58 (d, 8,5); 6,90 (d, 8,0) dan 6,78 (d, 8,0); 6,94 (d, 8,2) dan 6,81 (d, 8,2); serta 7,22 (d, 8,5) dan 6,58



Gambar 1. Spektrum ^1H NMR dari senyawa isolate 6 dalam aseton- d_6 600 MHz



Gambar 2. Spektrum HMBC senyawa isolat 6



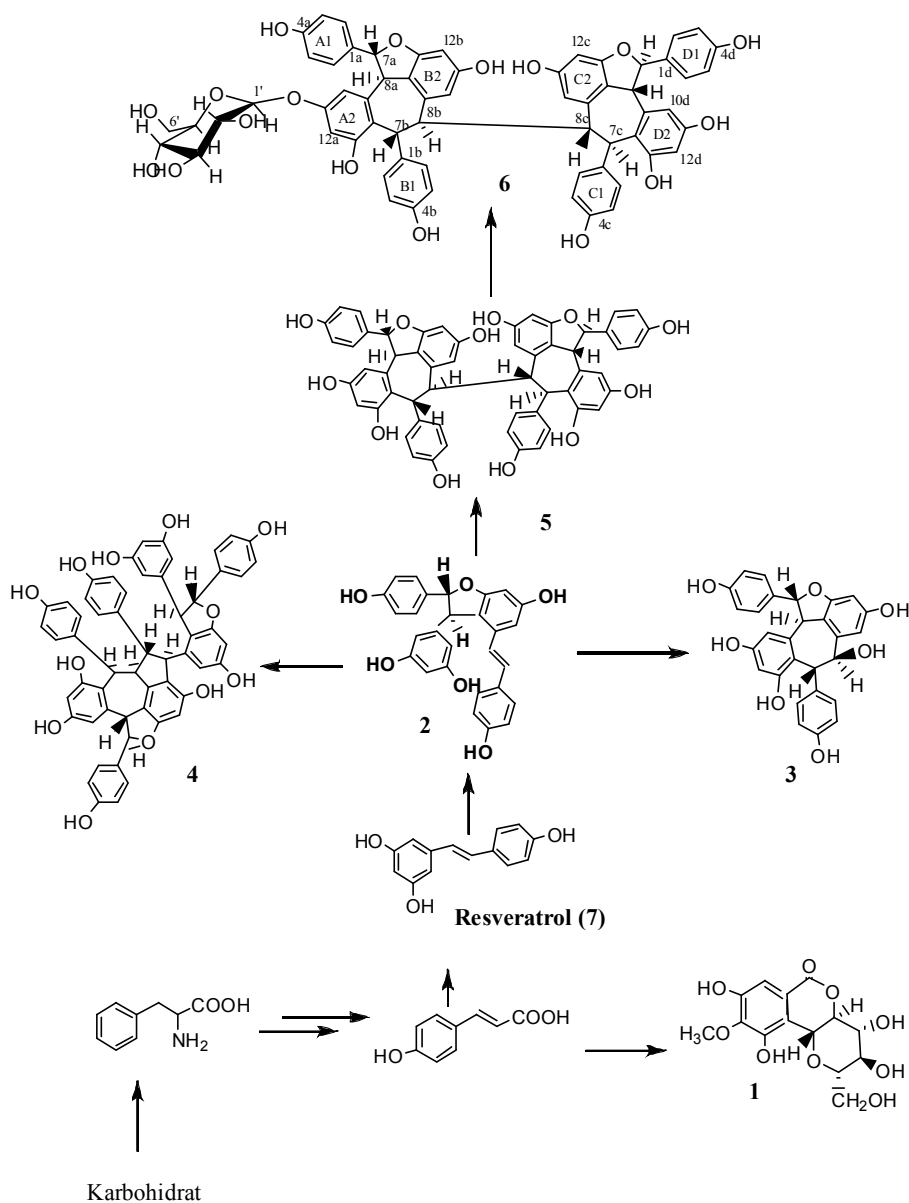
Gambar 3. Beberapa korelasi HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) yang penting dari senyawa isolat 6

(*d*, 8,5) ppm. Sinyal proton aromatik dengan kopling meta masing-masing terdapat pada daerah 5,42 (*d*, 2,0) dan 6,03 (*d*, 2,0); 5,78 (*d*, 2,3) dan 5,06 (*d*, 2,3); 6,41 (*br s*) dan 6,53 (*br s*); serta 6,31 (*br s*) dan 6,58 (*br s*) ppm menunjukkan adanya cincin 3,5-dihidroksi-disubstitusibenzena. Selanjutnya dua pasang sinyal proton pada δ 5,82 (*d*, 12,2) dan δ 4,28 (*d*, 12,2) ppm, serta 6,16 (*d*, 12,2) dan 4,28 (*d*, 12,2) ppm menunjukkan adanya dua cincin *trans*-dihydrobenzofuran. Dua pasang sinyal proton pada daerah alifatik yaitu pada δ 5,78 (*d*, 2,3; H-7b dan H-7c) dan 4,00 (*d*, 2,3; H-8b dan H-8c) ppm masing-masing terdiri dari 2 proton menunjukkan kedua pasang proton tersebut memiliki lingkungan kimia yang sama.

Sebagai tambahan adanya sinyal proton di daerah alifatik berturut-turut pada daerah 4,15 (*d*, 7,9 Hz); 3,43 (*m*); 3,32 (*m*); 3,32 (*m*); 3,62 (*t*, 9,8; 2,5 Hz); 3,70 (*m*) dan 3,78 (*m*) menunjukkan adanya satu unit glukosa.

Sinyal-sinyal ^{13}C NMR untuk karbon yang bukan kuartener dapat teridentifikasi secara tepat dengan bantuan spektrum HMQC, sebagaimana tercantum pada Tabel 1. Disamping itu, spektrum HMQC juga menunjukkan adanya sinyal-sinyal proton dari sembilan gugus hidroksil fenol pada δ 7,2 - 8,4 ppm. Selanjutnya, hubungan antar unit struktur sebagaimana diperlihatkan oleh struktur senyawa isolat 6 diperoleh dari pengukuran HMBC (Gambar 2 dan 3) yang memperlihatkan adanya korelasi ^1H - ^{13}C jarak jauh antara H-7a dengan C-2a,6a;

C-8a; C-1a; C-14a; C-9a; serta korelasi antara H-8a dengan C-1a; C-9a; C-7a; C-10a; C-10b, dan adanya korelasi antara H-12b dengan C-10b; C-14b yang menunjukkan bahwa unit resveratrol A berkondensasi dengan unit resveratrol B melalui pembentukan cincin *trans*-dihydrobenzofuran. Demikian juga adanya korelasi antara H-7d dengan C-1d; C-9d; C-11c serta H-8d dengan C-7d; C-10d; dan C-10c menunjukkan bahwa unit resveratrol D berkondensasi dengan unit resveratrol C melalui pembentukan cincin *trans*-dihydrobenzofuran. Dengan demikian senyawa isolat 6 memiliki dua unit *trans*-dihydrobenzofuran, serta menunjukkan geseran kimia baik proton maupun karbon yang mirip dengan hopeafenol (5).



Gambar 4. Hubungan biogenesis senyawa hasil isolasi dari tumbuhan *A. marginata*

Namun, hopeafenol (5) menunjukkan data-data NMR baik proton maupun karbon setengah jumlah yang seharusnya, oleh karena dua unit dimernya simetris. Adanya unit O-glukosa yang terikat pada gugus fenol (C-13a) mengakibatkan senyawa isolat 6 menjadi tidak simetris, sehingga semua proton dan karbonnya terdeteksi dalam spektrum NMR. Adanya unit O-glukosa yang terikat pada C-13a ditunjukkan oleh adanya korelasi HMBC antara H-1 dengan C-13a. Hopeafenol (5) merupakan tetramer resveratrol yang sebelumnya juga ditemukan dalam ekstrak aseton kulit batang *A. marginata* [11] dan sering ditemukan dalam tumbuhan famili Dipterocarpaceae yang lainnya [3,4,14,15], sedangkan bentuk glukosidanya belum pernah dilaporkan. Dengan demikian penemuan hopeafenol-O-glukosida (6) dalam ekstrak aseton kulit batang *A. marginata* merupakan yang pertama yang akan menambah keanekaragaman struktur senyawa oligoresveratrol dalam tumbuhan famili Dipterocarpaceae.

Hubungan biogenesis lima senyawa oligoresveratrol dan bergenin (1) dari tumbuhan *A. marginata* dapat ditunjukkan dalam Gambar 4. Penelitian mengenai biosintesis oligoresveratrol belum pernah dilaporkan. Namun, beberapa peneliti telah menyarankan bahwa resveratrol (7) dan (-)- ϵ -viniferin (2) merupakan prekursor utama pembentukan senyawa-senyawa oligoresveratrol. Berdasarkan pengamatan terhadap struktur senyawa oligoresveratrol yang telah ditemukan pada tumbuhan *A. marginata*, ternyata sebagian besar senyawa ini mengandung cincin heterosiklik oksigen dalam bentuk *trans*-2-aril-2,3-dihidrobenzofuran. Cincin tersebut dapat terbentuk melalui reaksi kopling oksidatif dua radikal resveratrol atau 3,5,4'-trihidroksistilbena (7). Berdasarkan pengamatan ini dapat disarankan hubungan biogenesis antara senyawa-senyawa tersebut yang berasal dari satu jalur tertentu. Selanjutnya, reaksi kopling oksidatif dua radikal resveratrol disertai reaksi kimia lainnya secara enzimatik menghasilkan dimer, tetramer, hingga membentuk senyawa glukosida.

KESIMPULAN

Dari fraksi relatif polar ekstrak aseton *A. marginata* dapat diisolasi dan diidentifikasi struktur satu senyawa oligoresveratrol glukosida yaitu hopeafenol-O-glukosida (6) merupakan senyawa yang belum pernah dilaporkan dari tumbuhan *A. marginata* khususnya dan famili Dipterocarpaceae pada umumnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Prof. Masatake Niwa dan Dr. Yoshiaki Takaya dari Faculty of Pharmacy, Meijo University, Tempaku,

Nagoya, Japan yang telah membantu pengukuran NMR dan FABMS.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cronquist, A., 1981, *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, New York : Columbia In Press.
2. Newman, M.F., (1999), *Pedoman Identifikasi Pohon-Pohon Dipterocarpaceae*, Bogor : Prosea Indonesia.
3. Dai, J.R., Hallock Y.F., Cardellina J.H., and Boyd M.R., 1998, *J. Nat. Prod.* **61**, 351-353.
4. Eun-Kyoung, Chai, S.H., Constant, H.L., Santisuk, V.R., Vichai, R., Christopher, W.W., Farnsworth, N.R., Cordell, G.A., Pezzuto, J.M., and Kinghorn, A.D., 1999, *J. Org. Chem.*, **64**, 6976-6983.
5. Ito, T., Tanaka, T., Ido, Y., Nakaya, K., Linuma, M., and Riswan, S., 2000, *J. Chem. Pharm. Bull.* **48** (7), 1001-1005.
6. Ito, T., Tanaka, T., Ido, Y., Nakaya, K., Linuma, M., Takashi, Y., Naganawa, H., Ohyama, M., Nakanishi, Y., Bastow, K.F., and Lee, K.H., 2001, *Tetrahedron*, **57**, 7309-7314.
7. Tanaka, T., Ito, T., Ido, Y., Son, T.K., Nakaya, K., Linuma, M., Ohyama, M., and Chelladurai, V., 2000, *Phytochemistry*, **53**, 1015-1019.
8. Tanaka, T., Ito, T., Nakaya, K., Linuma, M., and Riswan, S., 2000, *Phytochemistry*, **54**, 63-69.
9. Tanaka, T., Ito, T., Ido, Y., Nakaya, K., Limuna, M., and Chelladurai, V., 2001, *Chem. Pharm. Bull.* **49** (6), 785-787
10. Atun, S., Achmad, S.A., Hakim, E.H., Syah, Y.M., Ghisalberti, E.L., Juliawaty, L.D., and Makmur, L., 2003, *Biochem. System. and Ecol.*, **32** (11), 1051-1053.
11. Atun, S., 2004, *Fitokimia beberapa spesies Dipterocarpaceae Indonesia dari genus Vatica, Anisoptera, Hopea, dan Dipterocarpus*, Disertasi yang tidak dipublikasikan, FPS ITB, Bandung.
12. Ito, T., Ali, Z., Furusawa, M., Tanaka, T., Ali, Z., Iliya, I., Nakaya, K., Murata, J., Darnaedi, D., and Linuma M., 2005, *Chem. Pharm. Bull.*, **53** (2), 219-224
13. Sri Atun, Nurfina A., Retno A., and Niwa M., 2006, *Indo. J. Chem*, **6** (1), 75-78.
14. Atun, S., Achmad, S.A., Niwa, M., Retno, A., and Nurfina, A., 2006, *Biochem. System. And Ecol.*, **34**, 642-644.
15. Atun, S., Nurfina, A., Retno, A., and Niwa, M., 2006, *Indo. J. Chem*, **6** (3), 307-311
16. Ito, T., Ali, Z., Furusawa, M., Iliya, I., Tanaka, T., Nakaya, K., Murata, J., and Darnaedi, D., 2006, *Chem. Pharm. Bull.*, **54** (3), 363-367

17. Ito, T., Ali, Z., Furusawa, M., Iliya, I., Tanaka, T., Nakaya, K., Murata, J., Darnaedi, D., and Linuma, M., 2007. *Chem. Pharm. Bull.* 55 (10) 1535—1539