



Suatu senyawa stilben terprenilasi dari kayu akar tumbuhan *Artocarpus altilis* §

Euis Holisotan Hakim,[†] Valentina Adimurti,[†] Lukman Makmur,[†]
Sjamsul Arifin Achmad,^{*†} Norio Aimi,[‡] Mariko Kitajima,[‡] Didin Mujahidin,[†]
Yana Maolana Syah,[†] dan Hiromitsu Takayama[‡]

[†] Kelompok Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung,
Jalan Ganeca 10, Bandung 40132

[‡] Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University, 1-33, Yayoi-cho, Inage-ku,
Chiba 263-8522, Japan

Sari

Suatu stilben terprenilasi, *trans*-4-(3-metil-*E*-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben telah ditemukan untuk pertama kalinya dari ekstrak kloroform kayu akar tumbuhan *Artocarpus altilis* (Moraceae), yang dikenal dengan nama *Sukun*. Struktur molekul senyawa ini telah ditetapkan berdasarkan data fisika dan spektroskopi UV, IR, MS, ¹H dan ¹³C NMR. Senyawa ini bersifat toksik (LC₅₀ = 45,7 µg/mL) terhadap benur udang *Artemia salina* Leach.

Kata kunci: *Artemia salina*; *Artocarpus altilis*; Moraceae; *Sukun*; *trans*-4-(3-metil-*E*-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben.

Abstract

A prenylated stilbene from the root trunk of *Artocarpus altilis*

A prenylated stilbene, *trans*-4-(3-methyl-*E*-but-1-enyl)-3,5,2',4'-tetrahydroxystilbene had been isolated for the first time from the chloroform extract of the root trunk of *Artocarpus altilis* (Moraceae), locally known as *Sukun*. The structure of this compound was elucidated based on physical and spectroscopic data UV, IR, MS, ¹H and ¹³C NMR. It showed strong toxicity (LC₅₀ = 45,7 µg/mL) against *Artemia salina* Leach shrimp.

Keywords: *Artemia salina*; *Artocarpus altilis*; Moraceae; *Sukun*; *trans*-4-(3-methyl-*E*-but-1-enyl)-3,5,2',4'-tetrahydroxystilbene.

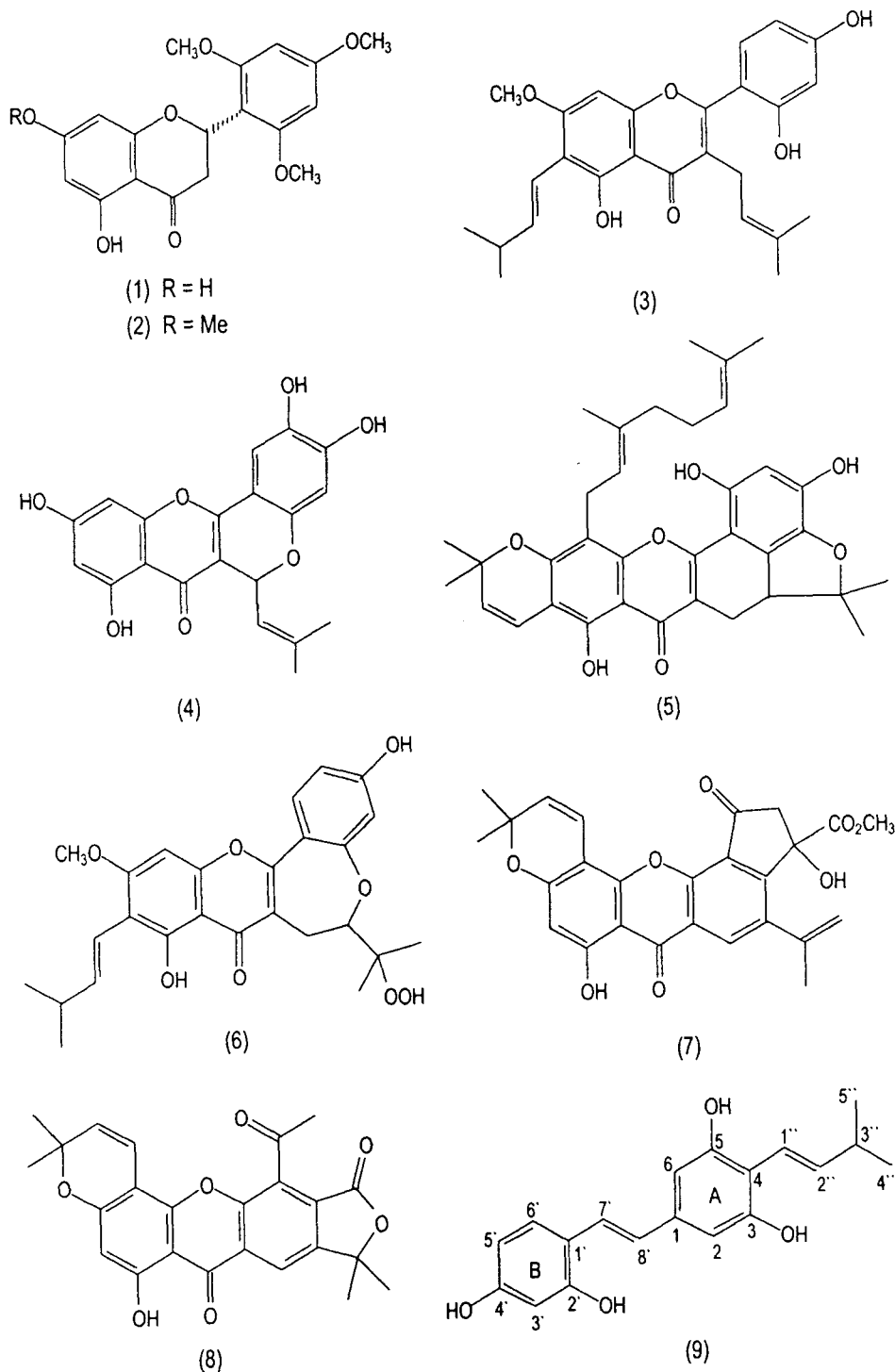
1 Pendahuluan

Artocarpus adalah salah satu genus yang terpenting dari famili Moraceae. *Artocarpus* terdiri dari lebih kurang 50 spesies dan terdistribusi mulai dari Sri Lanka, India, Pakistan, Indocina, dan Asia Tenggara, akan tetapi pusat keanekaragamannya terdapat di wilayah Indonesia.¹ Telah dilaporkan pula bahwa *Artocarpus* adalah sumber bagi senyawa-senyawa kimia yang berguna, termasuk senyawa medisinal yang bersifat antiinflamasi, antihipertensi, antiplatelet, antibakteri, dan sitotoksik terhadap sel kanker L-1210.² Dalam rangka upaya kami yang berkelanjutan untuk mengungkapkan dan menemukan senyawa-senyawa kimia yang berguna dari tumbuh-tumbuhan Indonesia, maka penelitian terhadap sejumlah spesies *Artocarpus* telah kami lakukan pula. Sebagai hasil penelitian ini, berbagai senyawa fenol berupa turunan flavonoid dan santon dengan kerangka karbon yang beraneka ragam telah ditemukan, seperti artoindonesianin E (1)³ dan heteroflavanon A (2),⁴

artokarpin (3),⁴ artoindonesianin (4),⁵ artoindonesianin A (5) dan artoindonesianin B (6),⁶ artoindonesianin C (7),⁷ dan artonol B (8).⁸ Akhir-akhir ini, uji aktivitas terhadap ulat sutera *Bombyx mori*⁹ dan sitotoksisitas¹⁰ dari senyawa-senyawa tersebut terhadap sel tumor P388 telah kami lakukan pula. Sebelumnya, telah kami laporkan pula mengenai temuan artoindonesianin B (6) yang bersifat sitotoksik terhadap sel tumor P388 dari *Artocarpus altilis*,¹¹ di samping beberapa senyawa flavonoid yang telah ditemukan oleh peneliti lain, seperti isosiklomulberin, siklomulberin, isosiklomorusin, siklomorusin, dan sikloaltilis.¹² Sehubungan dengan itu, penelitian terhadap spesies *Artocarpus altilis* (Park.) Fosb. yang dikumpulkan dari Sulawesi Selatan telah kami lanjutkan. Pada kesempatan ini akan dilaporkan mengenai penemuan dan penentuan struktur suatu senyawa stilben terprenilasi, yaitu *trans*-4-(3-metil-*E*-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben (9), yang ditemu kan untuk pertama kalinya dari ekstrak kloroform kayu akar tumbuhan *A. altilis* ini. Struktur senyawa 9 telah

§ Bagian ke-26 dari seri "Ilmu Kimia Tumbuhan Moraceae Indonesia". Untuk Bagian ke-25 lihat pustaka (3)

* Korespondensi dialamatkan kepada yang bersangkutan: Tel. 022 - 253 4173; Fax. 022 - 250 4154; E-mail: sjamsul@indo.net.id



ditetapkan berdasarkan analisis spektrum UV, IR, MS, dan NMR, termasuk 1D dan 2D NMR seperti ^1H - ^1H COSY, HMQC, dan HMBC.

2 Percobaan

Umum. Pada percobaan ini data fisik titik leleh ditentukan dengan menggunakan alat penetapan titik leleh mikro. Spektrum UV dan IR diukur masing-masing dengan spektrofotometer Varian Cary 100 Conc. dan ONE Perkin Elmer. Spektrum ^1H dan ^{13}C NMR diukur

menggunakan spektrometer JEOL JNM A6000 yang bekerja pada 600,2 MHz (^1H) dan 150,9 MHz (^{13}C) menggunakan TMS sebagai standar internal. Spektrum massa tumbukan elektron (EIMS) diperoleh menggunakan spektrometer massa JEOL JMS-AM20. Kromatografi cair vakum (KCV) dilakukan menggunakan Si gel Merck 60 GF₂₅₄, kromatografi tekan dengan Si gel Merck 60 (230 - 400 mesh), analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada pelat aluminium berlapis Si gel Merck Kieselgel 60 F₂₅₄, 0,25 mm, dan uji aktivitas dengan benur udang *Artemia salina* Leach.

Pengumpulan bahan tumbuhan. Bahan tumbuhan berupa kayu akar *A. altilis* dikumpulkan pada bulan Juli 1999 dari desa Manorang Salo, Kecamatan Mariorawa, Kabupaten Soppeng, Sulawesi Selatan. Spesies ini diidentifikasi oleh Herbarium Jurusan Biologi, Universitas Hasanuddin, dan dikonfirmasi oleh Herbarium Departemen Biologi, Institut Teknologi Bandung, dan spesimennya tersimpan di kedua herbarium tersebut.

Ekstraksi dan isolasi. Kayu akar yang telah dikeringkan dan digiling (3,6 kg) dimaserasi dengan metanol. Setelah pelarut diuapkan pada tekanan rendah, diperoleh ekstrak metanol berupa residu berwarna coklat (72 g). Ekstrak metanol dilarutkan kembali dalam metanol encer (40%) kemudian dipartisi berturut-turut dengan heksana, benzena, kloroform, dan etil asetat. Dari ekstrak kloroform, setelah pelarut diuapkan pada tekanan rendah, diperoleh ekstrak berupa padatan berwarna coklat (35,8 g). Ekstrak kloroform ini (35,8 g) difraksinasi dengan kromatografi cair vakum menggunakan berturut-turut eluen heksana, campuran heksana-etil asetat, etil asetat-metanol, etil asetat, dan metanol dengan kepolaran yang terus ditingkatkan, menghasilkan 42 fraksi. Penggabungan fraksi-fraksi tersebut berdasarkan analisis KLT menghasilkan enam fraksi utama. Fraksi utama keempat (6,8 g) difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi cair vakum menggunakan campuran kloroform-benzena (90%) sebagai eluen, menghasilkan enam fraksi gabungan. Fraksi gabungan keempat yang menghasilkan zat padat berwarna kuning (0,1 g), setelah fraksinasi lebih lanjut dan kristalisasi dari campuran benzena-kloroform menghasilkan *trans-4-(3-metil-E-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben (9)* (8,5 mg) berupa kristal berwarna kuning, t.l. 202-203 °C, yang homogen pada KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda.

trans-4-(3-Metil-E-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben (9) diperoleh sebagai kristal berwarna kuning, t.l. 202-203 °C; IR (KBr) ν_{maks} 3306 (OH), 1615, 1571, 1449 cm^{-1} (aromatik), 971 cm^{-1} (*trans* C=C); UV (MeOH) λ_{maks} (log ϵ) 222 (4,43), 244 (4,63), 351 (4,58) nm; (MeOH + NaOH) 211 (4,62), 248 (4,58), 368 (4,65) nm; $^1\text{H-NMR}$ (aseton- d_6 , 600.2 MHz) δ 8,48 (1H, s, OH-4'), 8,28 (1H, s, OH-2'), 8,20 (2H, s, OH-3 dan OH-5), 7,34 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-6'), 7,24 (1H, d, $J = 16,5$ Hz, H-7'), 6,77 (1H, d, $J = 16,5$ Hz, H-8'), 6,63 (1H, berimpit, H-2''), 6,59 (1H, d, $J = 16,1$, H-1''), 6,54 (2H, s, H-2 dan H-6), 6,38 (1H, d, $J = 2,3$ Hz, H-3'), 6,32 (1H, dd, $J = 2,3$ dan 8,2 Hz, H-5'), 2,38 (1H, m, H-3''), 1,03 (6H, d, $J = 6,7$ Hz, Me-4'' dan Me-5''). $^{13}\text{C-NMR}$ (aseton- d_6 , 150,9 MHz) δ 159,6 (C-4'), 157,6 (C-3 dan C-5), 157,3 (C-2'), 141,4 (C-2''), 138,9 (C-1), 128,5 (C-6'), 126,3 (C-8'), 124,4 (C-7'), 119,8 (C-1'), 117,8 (C-1''), 112,7 (C-4), 108,9 (C-5'), 106,2 (C-2 dan C-6), 104,0 (C-3'), 34,4 (C-3''), 23,8 (C-4'' dan C-5''). EIMS m/z [M]⁺ 312 (5,0), 289 (13,0), 154 (100), 136 (67,0), 107 (17,0).

Uji biologi. Pada pengujian toksisitas menggunakan benur udang *Artemia salina*, sesuai dengan cara yang diuraikan oleh Meyer dkk.,¹³ senyawa **9** memperlihatkan LC_{50} 45,7 $\mu\text{g/mL}$.

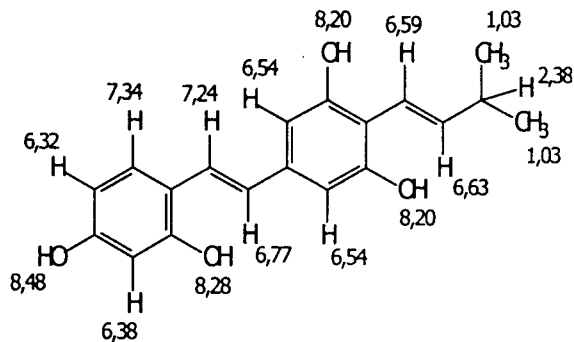
3 Pembahasan

Pada ekstraksi kayu akar *A. altilis* dengan metanol, kemudian partisi ekstrak metanol dengan kloroform telah ditemukan suatu senyawa stilben terprenilasi, yaitu *trans-4-(3-metil-E-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben (9)*. Senyawa ini diperoleh melalui beberapa tahap fraksinasi, diikuti oleh pemilihan fraksi berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis (KLT), dan pemisahan kromatografi.

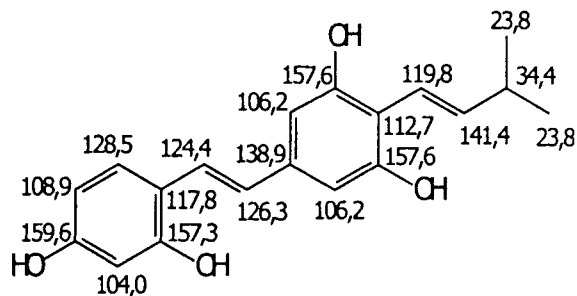
Senyawa *trans-4-(3-metil-E-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben (9)* diperoleh sebagai kristal berwarna kuning, t.l. 202-203°C. Spektrum IR (KBr) senyawa **9** memperlihatkan adanya gugus hidroksi 3306 (cm^{-1}), C=C dan struktur aromatik (1615, 1571, 1449 cm^{-1}), *trans* C=C (971 cm^{-1}), sedangkan spektrum UV (MeOH) memperlihatkan serapan pada λ_{maks} (log ϵ) 222 (4,43), 244 (4,63), 351 (4,58) nm. Spektrum IR dan UV ini merupakan ciri khas untuk *trans*-stilben.¹⁴ Selanjutnya, EIMS menunjukkan ion molekul pada m/z 312 yang selaras dengan rumus molekul $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$, untuk monoprenil stilben. Sinyal-sinyal ^1H dan ^{13}C NMR senyawa **9** dapat dijelaskan secara rinci dengan bantuan spektrum NMR dua dimensi (2D), seperti spektrum korelasi homonuklir (^1H - ^1H COSY), spektrum korelasi heteronuklir ^1H - ^{13}C COSY kuantum rangkap (HMQC), dan spektrum korelasi heteronuklir jarak jauh (HMBC). Spektrum ^1H NMR senyawa **9** memperlihatkan adanya satu set sinyal pada δ 6,77 (1H, d, $J = 16,5$ Hz) dan 7,24 (1H, d, $J = 16,5$ Hz) untuk suatu sistem AB dari *trans*-stilben. Senyawa **9** juga menunjukkan adanya satu set sinyal berupa satu singlet untuk dua proton aromatik pada δ 6,54 (2H, s) dan satu singlet untuk dua gugus fenol pada δ 8,20 (2H, br.s) untuk sistem aromatik yang tersubstitusi secara simetri pada cincin A, di mana kedua gugus fenol tersebut terikat pada posisi 3 dan 5. Spektrum ^1H NMR juga memperlihatkan adanya satu set sinyal pada δ 6,32 (1H, dd, $J = 2,3$ dan 8,2 Hz), 6,38 (1H, d, $J = 2,3$ Hz), dan 7,34 (1H, d, $J = 8,2$ Hz) untuk sistem ABX pada cincin B yang mengandung dua gugus fenol yang terikat pada posisi 2' dan 4' masing-masing dengan sinyal singlet yang melebar pada δ 8,28 dan 8,48. Di samping itu, senyawa **9** juga memperlihatkan adanya satu set sinyal pada δ 1,03 (6H, d, $J = 6,7$ Hz), 2,38 (1H, m), 6,59 (1H, $J = 16,1$ Hz) dan 6,63 (1H, berimpit) yang menunjukkan adanya suatu gugus 3-metil-but-1-enil, sedangkan konstanta kopling sebesar 16,1 Hz mengisyaratkan konfigurasi *trans* ikatan rangkap antara C-1''-C-2''. Berdasarkan data ^1H NMR seperti dikemukakan di atas (Gambar 1) dapat disimpulkan bahwa senyawa **9** adalah *trans-4-(3-metil-E-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben*. Kesimpulan ini didukung

oleh spektrum ^{13}C NMR dan HMQC senyawa **9** yang menunjukkan adanya resonansi yang terpisah untuk 19 atom karbon, termasuk di antaranya dua gugus metil, satu gugus metin alifatik, sembilan gugus metin sp^2 , tiga atom karbon kuartener, dan empat gugus oksiaril, yang sesuai untuk struktur *trans*-4-(3-metil-*E*-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben **9** (Gambar 2). Bukti selanjutnya mengenai pola substitusi pada struktur senyawa **9** diperoleh dari pengukuran-pengukuran HMBC. Spektrum korelasi jarak jauh ^1H - ^{13}C (HMBC) memperlihatkan korelasi-korelasi antara proton pada C-2 dan C-6 (δ 6,54) dan proton pada C-2'' (δ 6,63) dengan atom karbon kuartener C-4 (δ 112,7). Begitu pula, spektrum HMBC memperlihatkan korelasi jarak jauh antara proton pada C-2 dan C-6 (δ 6,54) dan C-1'' (δ 6,59) dengan atom karbon oksiaril pada C-3 dan C-5 (δ 157,6). Selanjutnya, terdapat pula korelasi jarak jauh antara proton pada C-3'' (δ 2,38) dengan atom-atom karbon metin pada C-1'' (δ 119,8) dan C-2'' (δ 141,4). Data HMBC ini mendukung adanya substituen 3-metil-but-1-enil pada posisi C-4 cincin A. Spektrum HMBC senyawa **9** juga memperlihatkan adanya korelasi jarak jauh antara proton aromatik pada C-6' (δ 7,34) dengan satu atom karbon vinil C-7' (δ 124,4) dan dua atom karbon oksiaril pada C-2' (δ 157,3) dan C-4' (159,6). Percobaan-percobaan HMBC ini mendukung pula pola substitusi C-1', 2', 4' pada cincin B (Gambar 3). Bukti selanjutnya mengenai struktur senyawa **9** diperoleh dari perbandingan data ^1H dan ^{13}C NMR senyawa **9** yang sama dengan data yang telah dilaporkan sebelumnya untuk senyawa *trans*-4-(3-metil-*E*-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben.¹⁵ Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa **9** adalah *trans*-4-(3-metil-*E*-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben, yang merupakan penemuan turunan stilben yang pertama dari *A. altilis*. Senyawa **9** ini, yang ditemukan dari *A. altilis*, menyusul penemuan senyawa ini sebelumnya dari *A. integer*,¹⁵ diberi nama trivial artoindonesianin F. Senyawa **9** atau artoindonesianin F memperlihatkan toksisitas yang tinggi terhadap benur udang *Artemia salina* dengan LC_{50} 45,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sebanding dengan yang diperlihatkan oleh sejumlah senyawa flavon terprenilasi yang telah ditemukan pada beberapa spesies *Artocarpus*. Telah dilaporkan pula sebelumnya bahwa senyawa **9** yang ditemukan pada *A. integer* bersifat antimalaria pada uji hayati terhadap kultur *Plasmodium falciparum*.¹⁵ Akhirnya, dapat pula disarankan bahwa secara biogenesis senyawa stilben terprenilasi **9** berasal dari

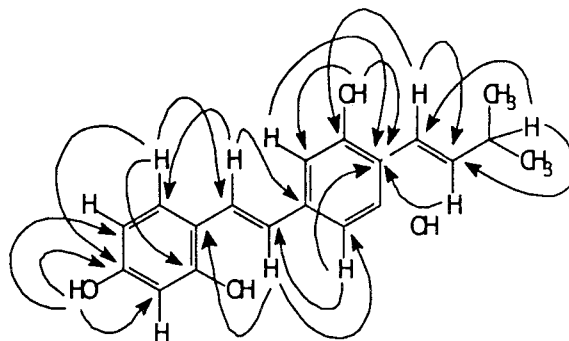
jalur biosintesis primer yang sama seperti senyawa-senyawa flavon terprenilasi yang bersama-sama ditemukan pada spesies *Artocarpus* (Gambar 4). Penelitian kimia tumbuhan *A. altilis* masih kami lanjutkan.



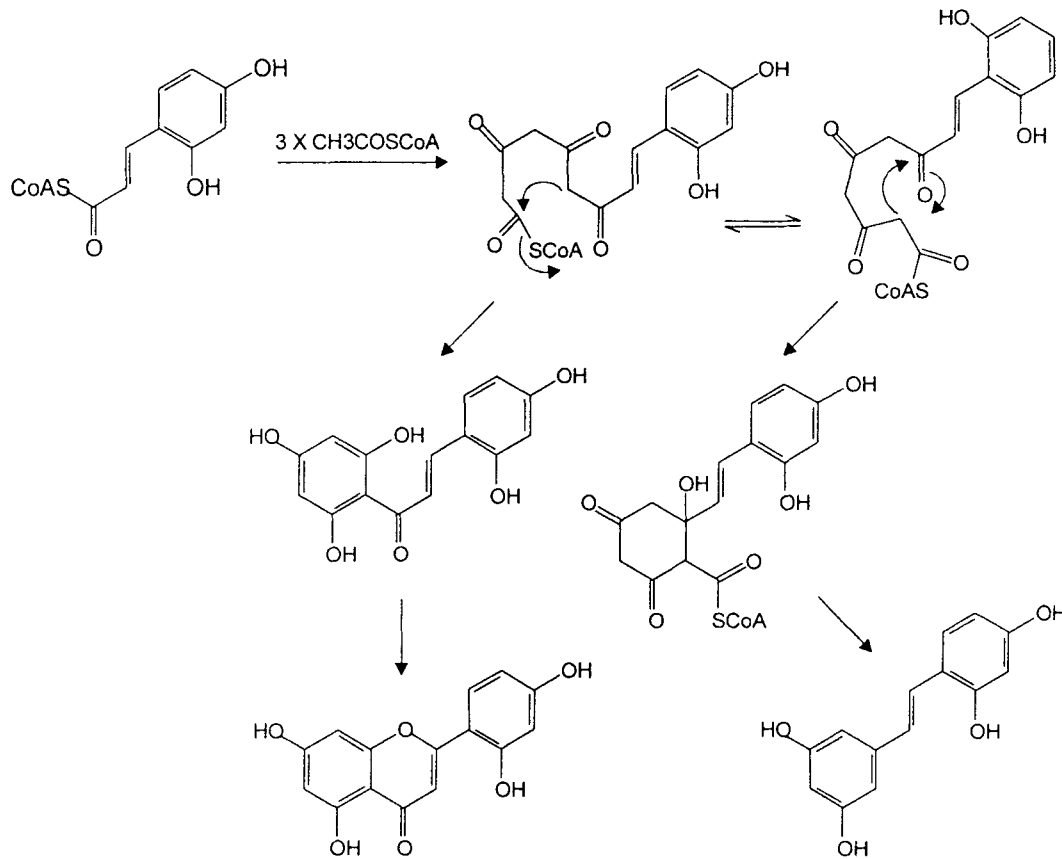
Gambar 1 Distribusi sinyal ^1H NMR pada senyawa **9**.



Gambar 2 Distribusi sinyal ^{13}C NMR pada senyawa **9**.



Gambar 3 Beberapa korelasi HMBC yang utama senyawa **9**.



Gambar 4 Hubungan biogenesis flavonoid dan stilben dari *Artocarpus*

4 Kesimpulan

Melanjutkan penemuan artoindonesianin B (6) pada penelitian kami sebelumnya terhadap tumbuhan *A. altilis*, maka pada penelitian sekarang ini telah berhasil pula ditemukan untuk pertama kalinya dari spesies ini suatu senyawa stilben, yaitu *trans*-4-(3-metil-*E*-but-1-enil)-3,5,2',4'-tetrahidroksistilben (9), yang diberi nama trivial artoindonesianin F. Penemuan kedua senyawa artoindonesianin B (6) dan artoindonesianin F (9) dari satu spesies yang sama menunjukkan adanya hubungan biogenesis antara turunan flavonoid dan stilben tersebut. Senyawa 9 memperlihatkan toksisitas yang tinggi terhadap benur udang *Artemia salina*, sebanding dengan bioaktivitas sitotoksik banyak turunan flavonoid yang ditemukan pada *Artocarpus*. Penelitian kimia terhadap *A. altilis* masih kami lanjutkan.

5 Ucapan terima kasih

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, atas bantuan dana melalui Hibah Tim Batch IV. Terima kasih disampaikan pula kepada Herbarium Jurusan Biologi, Universitas Hasanuddin, dan Herbarium Departemen Biologi, Institut Teknologi Bandung, yang telah membantu mengidentifikasi spesimen tumbuhan.

6 Daftar pustaka

1. Verhey, E.W.M. dan Coronel, R.E. (Eds.) Plant Resources of South-East Asia, No.2, Edible fruits and nuts, PROSEA, Bogor. (1992).
2. Nomura, T., Hano, Y. dan Aida, M. Isoprenoid-Substituted Flavonoids from *Artocarpus* Plants (Moraceae), *Heterocycles*, **47**(2), 1179-1205. (1998).
3. Hakim, E.H., Aripin, A., Achmad, S.A., Aimi, N., Kitajima, M., Makmur, L., Mujahidin, D., Syah, Y.M., dan Takayama, H. Artoindonesianin E Suatu Senyawa Baru Turunan Flavanon dari Tumbuhan *Artocarpus champeden*, *Proc. ITB*. **33**(3), 69-73. (2001).
4. Hakim, E.H., Marlina, E.E., Mujahidin, D., Achmad, S.A., Ghisalberty, E.L., dan Makmur, L. Artokarpin dan Heteroflavanon A, Dua Senyawa Flavonoid Bioaktif dari *Artocarpus champeden*, *Proc. ITB*. **30**(1), 31-36. (1998).
5. Achmad, S. A., Hakim, E. H., Juliawaty, L. D., Makmur, L., Suyatno, Aimi, N., dan Ghisalberty, E. L. New Prenylated Flavone from *Artocarpus champeden*, *J. Nat. Prod.*, **59**, 878-879. (1996).
6. Hakim, E.H., Fahriyati, A., Kau, M.S., Achmad, S.A., Makmur, L., Ghisalberty, E.L., dan Nomura, T. Artoindonesianins A and B, Two New Prenylated

- Flavones from the Root of *Artocarpus champeden*, *J. Nat. Prod.*, **62**(3), 613-615. (1999).
7. Makmur, L., Syamsurizal, Tukiran, Achmad, S.A., Aimi, N., Hakim, E.H., Kitajima, M., dan Takayama, H. Artoindonesianin C, a New Xanthone Derivative from *Artocarpus teysmanii*, *J. Nat. Prod.*, **63**, 243-244. (2000).
 8. Makmur, L., Syamsurizal, Tukiran, Syamsu Y., Achmad, S.A., Aimi, N., Hakim, E.H., Kitajima, M., Mujahidin, D., dan Takayama, H. Artonol B dan Sikloartobilosanton dari Tumbuhan *Artocarpus teysmanii* Miq., *Proc. ITB*, **31**(2), 63-58. (1999).
 9. Parenti, P., Pizzigoni, A., Hanozet, G., Hakim, E.H., Makmur, L., Achmad, S.A., dan Giordana, B. A New Prenylated Flavone from *Artocarpus champeden* Inhibits the K⁺-Dependent Amino Acid Transport in *Bombyx mori* Midgut, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **244**, 445-448. (1998).
 10. Hakim, E.H. (Data yang belum dipublikasikan).
 11. Erwin, Hakim, E.H., Achmad, S.A., Syah, Y.M., Aimi, N., Kitajima, M., Makmur, L., Mujahidin, D., dan Takayama, H. Artoindonesianin B Suatu Senyawa yang Bersifat Sitotoksik Terhadap Sel Tumor P388 dari Tumbuhan *Artocarpus altilis*, *Bull. Soc. Nat. Prod. Chem. (Indonesia)*, **1**(1), 20-27. (2001).
 12. Chen, C-C, Huang, Y-L, Ou, J-C, Lin, C-F, dan Pan, T-M. Three New Prenylflavones from *Artocarpus altilis*, *J. Nat. Prod.*, **56**(9), 1594-1597. (1993).
 13. Meyer, N., Ferrigini, N.R., Putnam, J. E., Jacobsen, D. E., Nichols, D. E., dan McLaughlin, J. L. "Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents", *Planta Med.* **45**, 31. (1982).
 14. Christensen, L.P. dan Lam, J. Excelsaocetaphenol, A Stilbene Dimer from *Chlorophora excelsa*, *Phytochemistry*, **28**(3), 917-918. (1989).
 15. Boonlaksiri, C., Onanant, W., Kongsaree, P., Kittakoo, P., Tanticharoen, M., dan Thebtaranonth, Y. An Antimalarial Stilbene from *Artocarpus integer*, *Phytochemistry*, **54**, 415-417. (2000).