

Penentuan struktur kimia antioksidan benzofenon glikosida dari ekstrak *n*-butanol buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.]

Determination of chemical structure of antioxidant compound benzophenon glycoside from *n*-butanol extract of the fruits of Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.]

Risma Marisi Tambunan¹⁾ dan Partomuan Simanjuntak^{1), 2)}

¹⁾ Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

²⁾ Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)

Abstrak

Sebagai lanjutan penelitian studi kimia dari bagian buah Mahkota dewa, telah diisolasi senyawa antioksidan benzofenon glikosida dari ekstrak *n*-butanol. Isolasi, pemurnian dilakukan melalui kromatografi kolom (silika gel, kloroform-metanol) dan penentuan struktur kimianya berdasarkan interpretasi data spektra dari ultra lembayung (UV), infra merah (IR), dan resonansi magnet inti (RMI 1 dimensi dan 2 dimensi). Berdasarkan atas data spektra, isolat diidentifikasi sebagai 6,4'-dihidroksi-4-metoksi- 2-O- α -D-glukopiranosida.

Kata kunci: Mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa*, Thymelaceae, Tumbuhan obat Indonesia, benzofenon glikosida

Abstract

In continuing of chemical study research on the parts of the fruits of Mahkota dewa, we have done isolated one antioxidant compound benzophenon glycoside from *n*-butanol extract. Isolation and purification by column chromatography (SiO₂, chloroform-methanol) and determination of chemical structure based on interpretation spectra of ultraviolet (UV), infrared (IR) and nuclear magnetic resonance 1 dimension (¹H & ¹³C NMR), 2 dimension (¹H-¹H COSY, ¹³C-¹H COSY, HMBC). Based on spectroscopic data, the compound was identified as 6,4',-dihidroksi-4- metoksibenzofenon-2-O- α -D-glucopyranoside.

Key words: Mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa*, Thymelaceae, Indonesian medicinal plant, benzophenone glycoside

Pendahuluan

Tanaman Mahkota dewa yang pada awalnya dijauhi karena dianggap sangat beracun kini semakin banyak dicari orang baik dalam bentuk mentah maupun hasil olahannya. Banyak sudah bukti menunjukkan bahwa ekstrak buah Mahkota dewa dengan kadar yang tepat berhasil mengatasi beberapa penyakit yang ringan seperti gigitan serangga, iritasi kulit dan jerawat sampai penyakit yang cukup berat

seperti kanker, *diabetes mellitus*, lever dan stroke (Wahjoedi, 2003)

Untuk mengungkap lebih jauh manfaat Mahkota dewa, beberapa penelitian ilmiah yang jumlahnya sangat terbatas telah dilakukan, tetapi hasilnya masih berkisar pada pada uji farmakologi, penapisan fitokimia. Hasil uji antioksidan dan maupun uji sel kanker telah dilaporkan bahwa buah mahkota dewa mempunyai daya inhibisi yang cukup tinggi, dan

hasil penapisan fitokimia disebutkan bahwa tumbuhan mahkota dewa mengandung kelompok senyawa alkaloid, polifenol, saponin, flavonoid, dan asam-asam lemak (Wahjoedi, 2003; Ning, 2004) Sri Hartati *et al.*, di dalam tulisannya melaporkan bahwa mereka telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi suatu senyawa glukosida benzofenon yaitu phalerin (1) dari ekstrak metanol daun Mahkota dewa (Sri Hartati, *et al.*, 2005). Dalam tulisan ini akan dilaporkan hasil isolasi dan identifikasi dari ekstrak *n*-butanol buah Mahkota dewa yang mempunyai daya aktivitas sebagai senyawa antioksidan (Soeksmanto, 2006). Senyawa kimia tersebut adalah 6,4'-dihidroksi-4-metoksi benzofenon-2-O- α -D-glukopiranosida (5) yang diidentifikasi berdasarkan spektra ultra violet, infra merah, resonansi magnet inti (RMI proton, karbon dan DEPT) dan RMI 2 dimensi (^1H - ^1H COSY, ^{13}C - ^1H COSY, HMBC). Beberapa senyawa turunan senyawa benzofenon glikosida telah banyak diisolasi dari beberapa jenis tanaman seperti telefonon A (2) dan B (3) dari akar tanaman *Polygala telephioides*, Rolygalaceae (Li, 2000); senyawa iriflofenon 2-O- α -glukopiranosida (4) dari herbal tanaman *Coleogyne ramosissima*, Rosaceae (Ito, 2000).

Metodologi

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mahkota dewa yang diperoleh dari desa

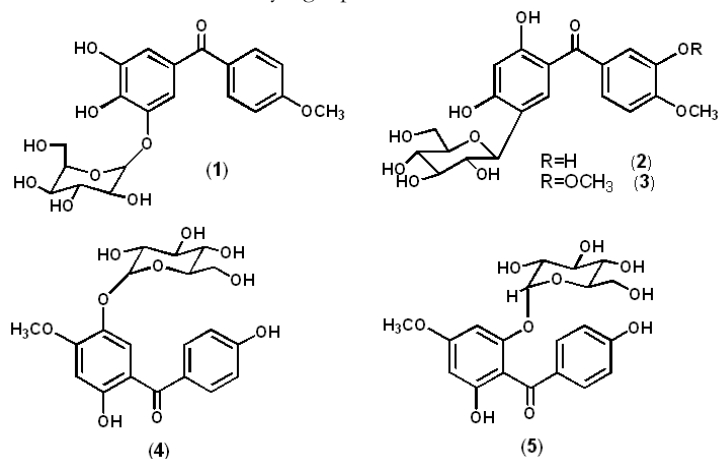
Karyasari Leuwiliang Bogor, dan determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriensis, Puslit Biologi-LIPI, Bogor. Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut-pelarut metanol, etilasetat, kloroform, *n*-butanol (kualitas teknis), akuades, silika gel, dan HCl 9%.

Alat

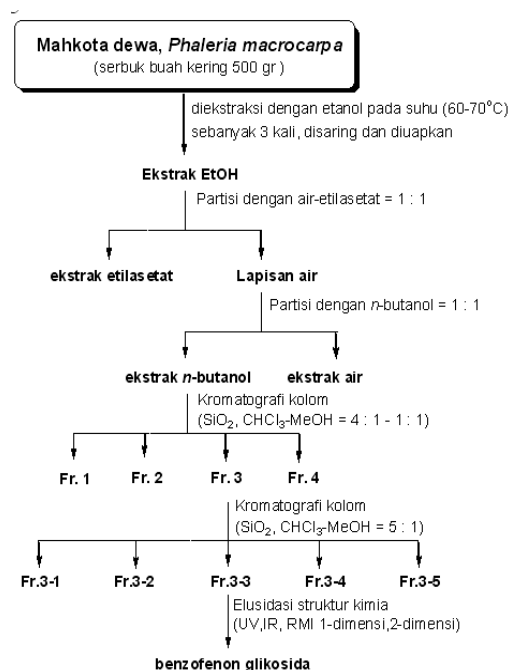
Spektra infra merah (IR) diukur dalam lapisan tipis KBr dengan menggunakan Shimadzu FT-IR 8500 spektrophotometer, spektra ultra lembayung (UV) pada Hitachi U-3500 spectrometer. Spektra ^1H (500 MHz) dan ^{13}C (125 MHz) NMR diperoleh dengan menggunakan JEOL JNM Lambda 500 spectrometer, sementara spektra massa diukur dengan JMS SX-102 A mass spectrometer metode FAB-MS dan high resolution.

Ekstraksi dan Isolasi

Ekstraksi dilakukan dengan cara meng-ekstraksi simplisia secara refluks dengan etanol selama 3 jam dan dilakukan 3 kali pengulangan dan diuapkan dengan penguap berpusing Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dipartisi dengan etilasetat sebanyak 3 kali, dan lapisan air kemudian dipartisi kembali dengan *n*-butanol sebanyak 3 kali. Sehingga diperoleh 3 jenis ekstrak yaitu ekstrak etilasetat, ekstrak *n*-butanol dan ekstrak air. Ekstrak *n*-butanol difraksinasi dengan kromatografi kolom (SiO_2 , kloroform-metanol = 4 : 1 – 1 : 1), kemudian fraksi 3 (Fr.-3) dimurnikan kembali dengan kromatografi kolom secara isokratik (SiO_2 , kloroform-metanol = 5 : 1) dan diperoleh fraksi 3-3 yang telah murni yang berwarna kuning yang disebut sebagai isolat murni. Selanjutnya senyawa murni yang diperoleh diukur



Gambar 1. Beberapa struktur kimia turunan senyawa benzofenon glikosida. Hasil isolasi dari daun Mahkota dewa (1); isolasi dari akar *Polygala telephioides* (2,3); isolasi dari herbal *Coleogyne ramosissima* (4) dan hasil isolasi buah Mahkota dewa (5)



Gambar 2. Skema prosedur isolasi senyawa benzofenon dari Mahkota dewa

pada instrumentasi spektrometri Ultra lembayung (UL), infra merah (IM), resonansi magnet inti RMI 1 dimensi (RMI proton, karbon dan DEPT), RMI 2 dimensi (^1H - ^1H COSY, ^{13}C - ^1H COSY, dan HMBC).

Hidrolisis senyawa isolat

Senyawa isolat (20 mg) dilarutkan dalam 10 mL 9% HCl-MeOH, distirer pada suhu kamar selama 2 jam sambil dimonitor dengan analisis KLT setiap 20 menit. Hasil hidrolisis dimurnikan dengan analisis kromatografi kolom (SiO_2 , kloroform - MeOH = 8 : 1) dan diperoleh 2 senyawa berbentuk serbuk putih (gula) dan serbuk kuning (aglikon). Bagian gula yang termetilasi dan senyawa metil- β -glukosa standar diinjeksikan pada kromatografi gas dengan kondisi sebagai berikut :

Kolom : 2% OV-17
Suhu kolom : 160 °C
Fase gerak : nitrogen
Kecepatan alir : 50 mL/menit
Suhu injeksi : 180 °C
Detektor : FID

Hasil Dan Pembahasan

Isolat murni yang diperoleh berbentuk serbuk berwarna kuning dengan titik lebur (TL) 130 °C.

Penyidikan spektrum pada RMI proton untuk isolat menunjukkan bahwa sinyal yang

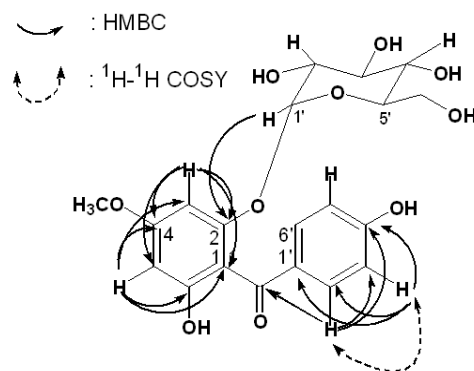
terdapat pada daerah medan tinggi (high field) yaitu pada pergeseran kimia δH 3,75 ppm (s) adalah spesifik untuk proton dari suatu gugus metoksi (OCH_3). Sedangkan pada δH 4,05 – 4,57 menunjukkan adanya proton-proton yang beresonansi dengan gugus hidroksil yang karakteristik untuk suatu senyawa gula (karbohidrat). Adanya sinyal proton pada daerah medan rendah (low field) yaitu δH 5,63 – 8,27 menunjukkan bahwa senyawa isolat mempunyai cincin aromatic yang tersubstitusi.

Dari data spektra RMI karbon dan analisis DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) diperoleh 20 sinyal karbon yang terdiri dari satu karbon untuk metoksi (OCH_3); satu karbon untuk metilena ($-\text{CH}_2-$); sebelas karbon untuk metin (6 $-\text{CH}=\text{}$ dan 5 $-\text{CH}-$) dan tujuh karbon tipe kuarternar (6 $-\text{C}=\text{}$; dan 1 gugus karbonil).

Spektra infra merah (IM) memberikan informasi adanya gugus hidroksil pada bilangan gelombang 3300-3500 cm^{-1} , dan karbonil pada 1682 cm^{-1} .

Serapan pada ultra violet (UV) pada panjang gelombang 294 nm juga memberikan informasi adanya gugus karbonil yang tersubstitusi pada cincin aromatik.

Sehingga berdasarkan data spektra RMI (proton, karbon), infra merah dan ultra lembayung bahwa struktur kimia senyawa isolat dapat ditentukan sebagai suatu senyawa benzofenon yang mempunyai gugus gula.



Gambar 3. Korelasi di antara proton dengan proton (^1H - ^1H COSY) dan proton dengan karbon (HMBC) untuk senyawa isolat

Tabel I. Pergeseran kimia proton untuk senyawa isolat

No	Senyawa isolat (NMR 500 MHz, <i>d</i> -Py)	Menurut literatur (*) (NMR 500 MHz, CD ₃ OD)	Aglikon (hasil hidrolisis) (NMR 500 MHz, <i>d</i> -Py)
1	-	-	-
2	-	-	-
3	7,05 (s)	6,17 (d, <i>J</i> =2,1 Hz)	5,98 (s)
4	-	-	-
5	6,60	6,39 (d, <i>J</i> =2,1 Hz)	5,98 (s)
6	-	-	-
1'	-	-	-
2'	8,26 (d, <i>J</i> =8,5 Hz)	7,69 (d, <i>J</i> =8,8 Hz)	7,62 (dd, <i>J</i> =9,0; 2,2 Hz)
3'	7,13 (d, <i>J</i> =8,5 Hz)	6,78 (d, <i>J</i> =8,8 Hz)	6,78 (dd, <i>J</i> =8,8; 2,0 Hz)
4'	-	-	-
5'	7,13 (d, <i>J</i> =8,5 Hz)	6,78 (d, <i>J</i> =8,8 Hz)	6,78 (dd, <i>J</i> =8,8; 2,0 Hz)
6'	8,26 (d, <i>J</i> =8,5 Hz)	7,69 (d, <i>J</i> =8,8 Hz)	7,62 (dd, <i>J</i> =9,0; 2,2 Hz)
1''	5,64 (d, <i>J</i> =7,5 Hz)	4,86 (d, <i>J</i> =7,8 Hz)	-
2''	4,05 (t, <i>J</i> =7,5; 9,0 Hz)	3,13 (dd, <i>J</i> =7,8; 9,2 Hz)	-
3''	4,26 (m)	3,37 (m)	-
4''	4,28 (m)	3,25 (m)	-
5''	4,16 (m)	3,85 (m)	-
6''	4,55 (dd, <i>J</i> =6,0; 12,0 Hz)	3,64 (dd, <i>J</i> =5,8; 12,2 Hz)	-
OMe	3,76 (s)	3,77 (s)	3,77 (s)
CO	-	-	-

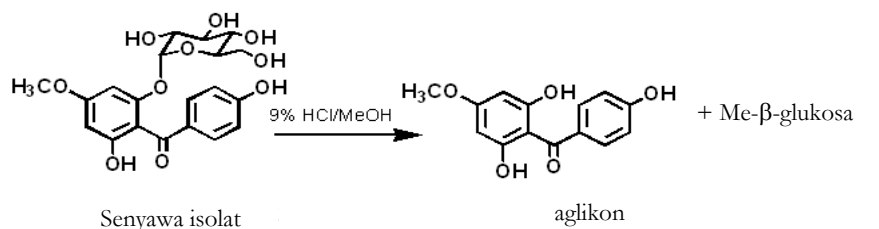
Tabel II. Pergeseran kimia karbon untuk senyawa isolat

No	Senyawa isolat (NMR 125 MHz, <i>d</i> -Py)	Menurut literatur (*) (NMR 125 MHz, CD ₃ OD)	Aglikon (hasil hidrolisis) (NMR 125 MHz, <i>d</i> -Py)
1	112,47 (s)	111,05 (s)	108,01 (s)
2	158,29 (s)	157,71 (s)	161,26 (s)
3	94,12 (d)	94,22 (d)	94,35 (d)
4	163,59 (s)	163,52 (d)	165,69 (d)
5	96,72 (d)	96,09 (d)	94,35 (d)
6	158,51 (s)	158,29 (s)	161,26 (s)
1'	110,3 (s)	131,02 (s)	115,56 (s)
2'	114,7 (d)	115,31 (d)	133,01 (d)
3'	132,3 (d)	132,87 (d)	132,79 (d)
4'	162,5 (s)	163,45 (s)	163,04 (s)
5'	132,3 (d)	132,87 (d)	132,79 (d)
6'	114,7 (d)	115,31 (d)	133,01 (d)
1''	102,97 (d)	101,79 (d)	-
2''	74,66 (d)	74,06 (d)	-
3''	78,32 (d)	77,12 (d)	-
4''	71,13 (d)	70,55 (d)	-
5''	78,98 (d)	77,60 (d)	-
6''	62,41 (t)	61,89 (t)	-
OMe	55,29 (q)	55,24 (q)	55,79 (q)
CO	194,52 (s)	196,34 (s)	198,59 (s)

Pergeseran kimia (proton dan karbon) untuk senyawa isolat pada Tabel I dan Tabel II.

Untuk menentukan posisi gugus metoksi dan gugus gula pada aglikon dapat dikonfirmasi dengan menganalisis spektra RMI 2 dimensi

yaitu ¹H-¹H COSY (COrrrelation SpectroscopY) dan HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Conectivity). Analisis ¹H-¹H COSY untuk bagian cincin aromatika menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara H-2' (8,26) dengan H-3



Gambar 4. Hidrolisis senyawa isolat dengan 9% HCl dalam metanol

(7,13); H-5' (7,13) dengan H-6' (8,26). Sedangkan hasil analisis HMBC memberikan korelasi antara H-5 (6,60) dengan C-4 (163,59), C-6 (158,51), C-3 (94,12), C-1 (112,47); antara H-3 (7,05) dengan C-1 (112,47), C-2 (158,29), C-4 (163,59), C-5 (96,72); antara H-2' dengan C-3' (132,3), C=O (194,52); antara H-3' (7,13) dengan C-1' (110,3), C-4' (162,5); antara H-1'' (4,05) dengan C-2 (158,29); antara H-2'' (4,26) dengan C-1'' (102,97), C-3'' (78,32), C-4'' (71,13). Korelasi antara proton dengan proton (^1H - ^1H) dan korelasi antara proton dan karbon (HMBC) (Gambar 3).

Hidrolisis senyawa isolat dengan 9% HCl dalam metanol memberikan senyawa aglikon dan senyawa gula (Gambar 4). Identifikasi pada kromatografi gas untuk isolat gula menunjukkan retensi waktu yang sama dengan senyawa metil-β-glukosa pada 32'36'', sedangkan spektra RMI (proton dan karbon) untuk senyawa aglikon menunjukkan bahwa gugus gula tidak kelihatan lagi dan muncul gugus hidroksil pada C-2 yang mempunyai pergeseran kimia karbon pada δC 133,01 ppm yang lebih besar daripada δC pada C-2 (114,7 ppm) untuk senyawa isolat dan senyawa

hasil isolasi dari *Gnidia involucreata* (δC 115,31 ppm) (Tabel II). Hal ini terjadi karena terbentuknya ikatan hidrogen $\text{H}\cdots\text{O}\cdots\text{H}$ dari gugus hidroksil C-2 dan hidrogen dari C-6' yang mengakibatkan adanya pengaruh atom oksigen terhadap pergeseran kimia karbon dari C-6'.

Sehingga struktur kimia senyawa isolat yang diperoleh dapat ditentukan sebagai 6,4'-dihidroksi-4-metoksibenzofenon-2-O-α-D-glikosida (2) yang dikonfirmasi dengan spektra massa menunjukkan rumus formula $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ dengan bobot molekul m/z 423 ($\text{M}+\text{H}^+$); 261 ($\text{M}+\text{H} - \text{glukosa}$). Struktur kimia ini sama dengan senyawa kimia hasil isolasi dari tumbuhan *Gnidia involucreata* (Thymelaeaceae) (Ferrari *et al.*, 2000).

Kesimpulan

Hasil isolasi, pemurnian dan elusidasi struktur kimia dari ekstrak *n*-butanol Mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* diperoleh senyawa 6,4'-dihidroksi-4-metoksi benzofenon-2-O-α-D-glukopiranosida, dan hasil hidrolisisnya dengan 9% HCl dalam methanol menghasilkan senyawa 2,6,4'-trihidroksi-4-metoksibenzofenon.

Daftar Pustaka

- Ferrari, J., C. Terreaux, S. sahpaz, J. D. Msonthi, J. Wolfender, and K. Hostettmann (2000). Benzophenone glycosides from *Gnidia involucreata*, *Phytochem.*, 54, h. 883-889.
- Harmanto, N. (2004). Mahkota dewa, obat pusaka para dewa, Penerbit Agromedia Pstaka, Tangerang, 109 h.
- Hartati, S. M., S. Mubarika, I. G. Gandjar, M. T. Hamann, K.V. Rao and S. Wahyuono, (2005). Phalerin, glukosida benzophenon baru diisolasi dari ekstrak metanolik dan Mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.], *Majalah Farmasi Indonesia*, 16 91), h. 51-57.
- Ito, H., E. Nishitani, T. Konoshima, M. Takasaki, M. Kozuka, and T. Yoshida (2000). Flavonoid and benzophenone glycosides from *Coleogyne ramosissima*, *Phytochem.* 54, h. 695-700.
- Li, J., and T. Nohara (2000). Benzophenone C-glucosides from *Polygala telephioides*, *chem. Pharm. Bull.* 48 (9), h. 1354-1355.

- Soeksmanto, A., Y. Hapsari, and P. Simanjuntak (2007). Analisis antioksidan beberapa bagian tanaman Mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae), Jurnal Ilmu Kefarmasian (in press).
- Wahjoedi, B. (2003). Pameran produk obat tradisional dan seminar sehari Mahkota dewa, Puslitbang Farmasi dan obat tradisional, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, DEP.KES R.I, Jakarta 6 Agustus 2003.