



AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA KUMARIN TER-*O*-GERANILASI DARI AKAR *Limonia acidissima* L.

Tjitjik Srie Tjahjandarie^{1*}, Ratih Dewi Saputri¹, Mulyadi Tanjung¹

¹Natural Products Chemistry Research Group, Organic Chemistry Division,
Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya 60115,
Indonesia

*Corresponding author email: tjitjiktjahjandarie@fst.unair.ac.id

ABSTRACT

Five *O*-geranylated coumarins namely as auraptene (1), 7-((2'*E*,6'*E*)-5'-hydroxy-3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)coumarin (2), 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hydroxy-3',7'-dimethylocta-2',5'-dienyloxy) coumarin (3), 6-methoxy-7-oxygeranyl coumarin (4), and 8-oxygeranylpsoralen (5) were isolated from the roots of *Limonia acidissima* L. Their structures were determined based on spectroscopic data such as UV, IR, MS and NMR. Compounds 1–5 were evaluated for their radical scavenging against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), showing their IC₅₀ were 462; 13; 260; 210 and 234 µg/ml, respectively.

Keywords: *Limonia acidissima* L., *O*-geranylated coumarins, antioxidant activity, DPPH

ABSTRAK

Lima senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi yakni auraptene (1), 7-(2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi)kumarin (2), 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi)kumarin (3), 6-metoksi-7-oksigeranilkumarin (4), dan 8-oksi-geranilpsoralen (5) telah diisolasi dari akar *Limonia acidissima* L. Struktur senyawa kumarin tergeranilasi ditetapkan berdasarkan analisis spektroskopi UV, IR, MS dan NMR. Uji aktivitas antioksidan senyawa 1–5 terhadap radikal DPPH memperlihatkan IC₅₀ 462; 13; 260; 210 dan 234 µg/ml.

Kata kunci: *Limonia acidissima* L., kumarin ter-*O*-geranilasi, aktivitas antioksidan, DPPH

Submitted on: 7 November 2017

Accepted on: 21 Desember 2017

DOI: <https://doi.org/10.25026/jtpc.v4i2.143>

PENDAHULUAN

Limonia acidissima L. (sinonim: *Feronia limonia*) dikenal dengan nama kawista dan merupakan salah satu spesies famili jeruk-jerukan (Rutaceae). Secara tradisional, tumbuhan ini dimanfaatkan masyarakat sebagai obat seperti diare, disentri, tumor, asma, luka, lemah jantung, hepatitis dan buahnya dapat dikomsumsi [1]. Pemanfaatan tumbuhan

ini dalam pengobatan tradisional tentunya berhubungan dengan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan *Limonia acidissima* L.

Kumarin merupakan jenis senyawa fenolik utama yang ditemukan pada tumbuhan *Limonia acidissima* L. [2]. Ciri khas senyawa kumarin pada tumbuhan ini mempunyai substituen isoprenil (C₅) dan geranil (C₁₀) yang

terikat pada inti aromatik kumarin. Berdasarkan substituen tersebut maka senyawa kumarin *Limonia acidissima* L. terdiri dari jenis kumarin terisoprenilasi, kumarin ter-*O*-isoprenilasi, furanokumarin, piranokumarin, dan kumarin ter-*O*-geranilasi. Senyawa kumarin *Limonia acidissima* L. memperlihatkan aktivitas antimalaria dan antioksidan [3].

Kajian fitokimia senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi dari *Limonia acidissima* L. sampai saat ini belum ada laporan penelitian yang berasal dari Indonesia. Pada kesempatan kali ini akan dilaporkan penemuan lima senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi, yakni aurapten (**1**), 7-((2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi)kumarin (**2**), 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi) kumarin (**3**), 6-metoksi-7-oksigeranilkumarin (**4**), dan 8-oksigeranilpsoralen (**5**) dari akar *Limonia acidissima* L.. Selain itu juga akan dilaporkan aktivitas antioksidan kelima senyawa kumarin terhadap DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

METODE PENELITIAN

Prosedur Umum

Kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom tekan menggunakan silika gel 60 GF₂₅₄ (Merck), kromatografi radial menggunakan silika gel 60 PF₂₅₄ (Merck) dan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm (Merck). Spektrum UV ditetapkan dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800. Spektrum IR ditentukan dengan spektrofotometer IR Perkin Elmer. Spektrum massa ditentukan dengan spektrometer HR-ESI-MS merck Waters LCT XE ESI. Spektrum NMR ditentukan dengan spektrometer NMR JEOL ECA 400 yang

beroperasi pada 400 MHz (¹H-NMR) dan 100 MHz (¹³C-NMR). Uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH ditentukan menggunakan metode spektrometri.

Bahan tumbuhan

Bahan tumbuhan berupa akar *Limonia acidissima* L. diperoleh dari Desa Panjunan, Kecamatan Palang, Kabupaten Tuban, Jawa Timur. Spesimen tumbuhan diidentifikasi di Herbarium Bogorienses, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Biologi, Cibinong, Bogor, Jawa Barat.

Ekstraksi dan isolasi kumarin ter-*O*-geranilasi

Ekstraksi akar *Limonia acidissima* L. sebanyak 4,0 kg dengan maserasi menggunakan metanol pada suhu kamar. Ekstrak metanol yang diperoleh dipisahkan dengan alat penguap bertekanan rendah sehingga diperoleh ekstrak kental metanol (123.3g). Ekstrak metanol selanjutnya dipartisi dengan *n*-heksana menghasilkan dua lapisan, ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol. Ekstrak metanol selanjutnya ditambahkan asam sitrat 5% sampai pH 3-4 kemudian dipartisi dengan etil asetat menghasilkan dua lapisan, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol asam. Pemisahan ekstrak etil asetat (35 g) dengan KCV menggunakan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, 1:1 dan 3:7) menghasilkan empat fraksi utama A-D. Pemisahan fraksi B (563 mg) menggunakan kromatografi kolom tekan dengan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1 sampai 7:3) menghasilkan empat sub fraksi B₁-B₄. Pemurnian subfraksi B₁ (152,4 mg) menggunakan kromatografi radial dengan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1 sampai 7:3) menghasilkan senyawa aurapten (**1**) sebanyak 18 mg dan senyawa 8-oksi-

geranilpsoralen (**5**) sebanyak 12 mg. Pemisahan fraksi C (1,2 g) dengan kromatografi kolom tekan dengan eluen yang sama dengan pemurnian fraksi B menghasilkan empat subfraksi C₁-C₄. Pemurnian subfraksi C₁ (152,4 mg) menggunakan kromatografi radial dengan campuran eluen *n*-heksana:CHCl₃ (9:1 sampai 3:7) menghasilkan senyawa 7-((2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi) kumarin (**2**) sebanyak 8 mg, 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi) kumarin (**3**) sebanyak 6 mg dan 6-metoksi-7-oksigeranilkumarin (**4**) sebanyak 12 mg.

Auraptin (**1**), berwujud padatan kuning, titik leleh t.l. 62-64°C. Spektrum UV (MeOH) λ_{maks} nm (log ε): 224 (3,21), 289 (3,08) dan 324 (3,43) nm. Spektrum IR (Kbr) ν_{maks} (cm⁻¹): 3083; 3055 (C-H aromatik), 2974; 2896; 2879 (C-H alifatik), 1730 (C=O α-piran), 1612; 1452 (C=C aromatik), 1236; 1203 (C-O-C eter). HRESIMS *m/z* [M+H]⁺ 299,1650 (perhitungan untuk rumus molekul C₁₉H₂₃O₃, 299,1647). Spektrum ¹H dan ¹³C NMR (CDCl₃) dapat dilihat pada Tabel-1.

7-((2'*E*,6'*E*)-5'-Hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi) kumarin (**2**) berwujud padatan kuning, UV (MeOH) λ_{maks} nm (log ε): 224 (3,21), 289 (3,08) dan 324 (3,43) nm. Spektrum ¹H dan ¹³C NMR (CDCl₃) dapat dilihat pada Tabel-2.

7-(2'*E*,5'*E*)-7'-Hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi) kumarin (**3**) berwujud padatan kuning, UV (MeOH) λ_{maks} nm (log ε): 224 (3,21), 289 (3,08) dan 324 (3,43) nm. Spektrum ¹H dan ¹³C NMR (CDCl₃) dapat dilihat pada Tabel-3.

6-Metoksi-7-oksigeranilkumarin (**4**) berwujud padatan kuning, UV (MeOH) λ_{maks} nm (log ε): 224 (3,21), 289 (3,08) dan 324 (3,43) nm. Spektrum ¹H dan ¹³C NMR (CDCl₃) dapat dilihat pada Tabel-4.

8-Oksi-geranilpsoralen (**5**) berwujud padatan kuning, UV (MeOH)

λ_{maks} nm (log ε): 224 (3,21), 289 (3,08) dan 324 (3,43) nm. Spektrum ¹H dan ¹³C NMR (CDCl₃) dapat dilihat pada Tabel-5.

Uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH

Penentuan uji aktivitas antioksidan senyawa **1-5** terhadap radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) menggunakan analisis spektrometer UV pada panjang gelombang λ 517 nm [4], [5], [6]. Persentase konsentrasidaya hambat senyawa **1-5** terhadap radikal DPPH dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi senyawa} = (A_0 - A_s / A_0) \times 100.$$

Dimana A₀ merupakan absorbansi DPPH dan A_s merupakan absorbansi campuran senyawa aktif dan DPPH. Kontrol positif uji aktivitas antioksidan menggunakan asam askorbat [7-9].

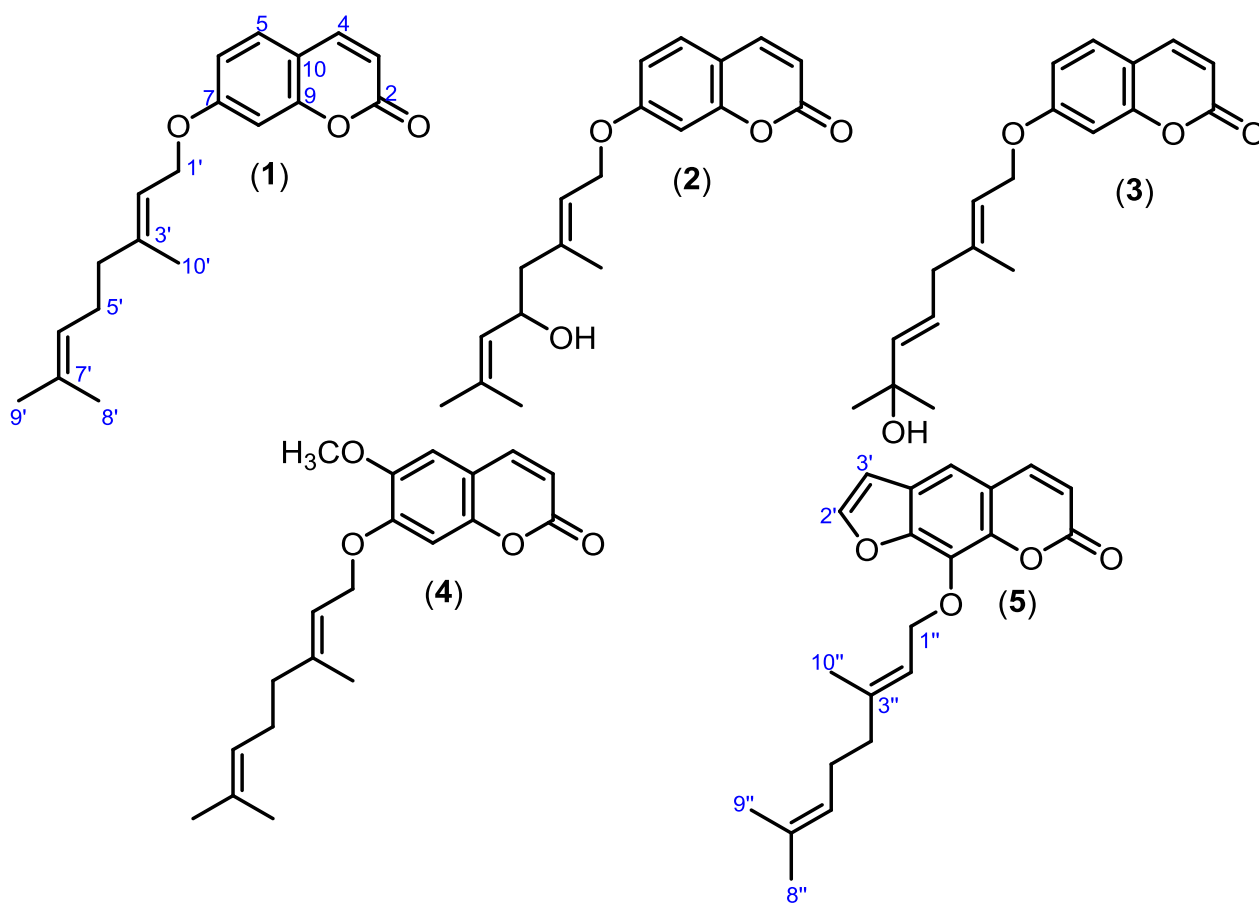
HASIL DAN PEMBAHASAN

Lima senyawa kumarin ter-*o*-geranilasi, yakni auraptin (**1**), 7-((2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi)kumarin (**2**), 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi) kumarin (**3**), 6-metoksi-7-oksigeranilkumarin (**4**), dan 8-oksigeranilpsoralen (**5**) telah berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat akar *Limonia acidissima* L.

Auraptin (**1**) berwujud padatan kuning muda memperlihatkan ion kuasimolekul positif [M+H]⁺ pada *m/z* 299,1650 yang sesuai dengan rumus molekul C₁₉H₂₃O₃ berdasarkan hasil pengukuran HR-ESI-MS. Spektrum ¹H-NMR (400 MHz) senyawa **1** dalam CDCl₃ memperlihatkan tiga sinyal proton aromatik dari sistem ABX pada pergeseran kimia δ_H 7,34 (*d*, *J* = 8,6 Hz); 6,83 (*dd*, *J* = 8,6; 2,4 Hz); dan 6,80 ppm (*d*, *J* = 2,4 Hz) dan sepasang sinyal

doublet cis-vinilik ($J = 9,6$ Hz) pada δ_H 7,61 dan 6,23 ppm yang khas untuk senyawa kumarin di posisi H-4 dan H-3 yang khas untuk senyawa kumarin monosubstitusi di C-7. Sinyal proton sisa pada spektrum 1H -NMR memperlihatkan adanya dua sinyal proton metin pada δ_H 5,45 ppm (t , $J = 6,6$ Hz), 5,06 ppm (t , $J = 6,6$ Hz), tiga sinyal proton metilen pada δ_H 4,58 ppm (d , $J = 6,5$ Hz); 2,12 ppm (m), 2,10 (m), serta tiga sinyal proton *singlet* dari metil pada pergeseran kimia δ_H 1,75; 1,65; dan 1,59 ppm memberi

indikasi bahwa senyawa **1** mempunyai substituen geranil terikat di C-7. Spektrum ^{13}C -NMR (percobaan APT, 100 MHz) senyawa **1** memperlihatkan 19 sinyal atom karbon yang terpisah secara sempurna, konsisten untuk struktur senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi. Sinyal karbon pada δ_C 65,6 ppm merupakan sinyal karbon eter dan memberi konfirmasi senyawa **1** mempunyai substituen ter-*O*-geranilasi di C-7.



Gambar 1. Struktur kumarin ter-*O*-geranilasi hasil isolasi

Berdasarkan pengukuran HMBC (Tabel-1), sinyal proton metilen pada δ_H 4,58 (H-1') memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon oksiaril pada

δ_C 162,2 (C-7), satu sinyal karbon metin pada δ_C 118,5 (C-2') dan satu sinyal karbon kuarterner pada δ_C 142,5 (C-3'). Berdasarkan data tersebut maka

disimpulkan bahwa senyawa **1** adalah senyawa aurapten [3]. Korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dalam dua atau tiga ikatan pada spektrum HMBC yang utama untuk mendukung struktur senyawa aurapten hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel-1.

7-(2'*E*,6'*E*)-5'-Hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi) kumarin (**2**) berwujud padatan kuning. Spektrum ¹H-NMR senyawa **2** (Tabel-2) mirip dengan senyawa **1** yakni adanya sistem ABX dan sepasang sinyal *doublet cis* vinilik. Perbedaan utama pada spektrum ¹H-NMR senyawa **2** memperlihatkan tiga sinyal proton metin pada δ_H 5,55; 5,16; 4,51, dua sinyal proton metilen pada δ_H 4,59; 2,25, dan tiga sinyal proton *singlet* dari metil pada pergeseran kimia δ_H 1,80; 1,69; dan 1,67 ppm. Spektrum ¹³C-NMR senyawa **2** memperlihatkan 19 sinyal karbon yang terpisah secara sempurna. Korelasi ¹H-¹³C dalam dua atau tiga ikatan pada spektrum HMBC (Tabel-2), dua sinyal proton metil pada δ_H 1,69 (H-8) dan 1,67 (H-9) masing-masingnya memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon metin pada δ_C 127,2 (C-6') dan satu sinyal karbon kuarternar pada δ_C 135,5 (C-7'). Sinyal proton hidroksi pada δ_H 4,51 (H-5') memperlihatkan korelasi dengan δ_C 135,5 (C-7'). Berdasarkan data tersebut maka disimpulkan bahwa senyawa **2** adalah senyawa 7-(2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi) kumarin [10]. Korelasi sinyal proton dengan sinyal karbon pada spektrum HMBC yang untuk mendukung struktur senyawa **2** dapat dilihat pada Tabel-2.

Spektrum ¹H-NMR senyawa 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi) kumarin (**3**) mempunyai kerangka kumarin yang sama dengan senyawa **1** dan **2** yakni adanya sistem ABX dan sepasang proton *cis* vinilik (Tabel-3). Perbedaan yang prinsip,

spektrum ¹H-NMR senyawa **3** dengan senyawa **1** dan **2** adalah pada sinyal proton ter-*O*-geranilasi di C-7. Spektrum ¹³C-NMR senyawa **3** mempunyai 18 sinyal karbon yang mewakili 19 atom karbon. Spektrum HMBC senyawa **3**, sinyal *singlet* proton metil pada δ_H 1,32 (H-8'/H9') memperlihatkan korelasi dengan dua sinyal karbon metin alkena pada δ_C 140,4 (C-6') dan sinyal karbon alkohol δ_C 70,7 (C-7'). Sinyal proton metilen pada pergeseran kimia δ_H 2,78 (H-4') memperlihatkan korelasi dengan tiga sinyal karbon metin yakni pada δ_C 140,4 (C-6'), δ_C 123,8 (C-5'), 119,2 (C-2'), satu sinyal karbon metil pada 16,8 (C-10'). Berdasarkan spektrum HMBC maka disimpulkan bahwa senyawa **3** adalah senyawa 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi) kumarin [11]. Spektrum HMBC yang mendukung struktur senyawa **3** dapat dilihat pada Tabel-3.

6-Metoksi-7-oksigeranilkumarin (**4**) berwujud padatan kuning muda. Spektrum ¹H-NMR senyawa **4** memperlihatkan dua sinyal *singlet* proton aromatik pada δ_H 6,85 dan 6,83 ppm dan sepasang sinyal *doublet cis*-vinilik ($J = 9,5$ Hz) pada δ_H 7,62 dan 6,27 ppm yang khas untuk senyawa kumarin disubstitusi. Sinyal proton senyawa **4** memperlihatkan adanya sinyal proton geranil dan metoksi. Spektrum ¹³C-NMR senyawa **4** memperlihatkan 20 sinyal atom karbon yang terpisah secara sempurna. Spektrum HMBC (Tabel-4) memperlihatkan adanya korelasi antara sinyal proton metilen pada δ_H 4,69 (H-1') memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon oksiaril pada δ_C 152,0 (C-7), satu sinyal karbon metin pada δ_C 118,3 (C-2') dan satu sinyal karbon kuarternar pada δ_C 142,1 (C-3') yang menunjukkan *O*-geranil terikat di C-7. Sinyal *singlet* proton aromatik pada δ_H 6,83 (H-8) memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon oksiarin pada

δ_C 146.6 (C-6) dan satu sinyal karbon kuarterner pada δ_C 111.2 (C-10) sedangkan sinyal proton metoksi berkorelasi dengan sinyal karbon oksiarin pada δ_C 146.6 (C-6). Analisis spektrum HMBC tersebut maka disimpulkan bahwa senyawa **4** adalah senyawa 6-

metoksi-7-oksigeranilkumarin [10]. Korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dalam dua atau tiga ikatan pada spektrum HMBC yang utama untuk mendukung struktur senyawa auranpten hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel-4.

Tabel-1. Data spektrum NMR senyawa auranpten (**1**) dalam $CDCl_3$

No.C	δ_H (multiplisitas)	δ_C	HMBC
2	-	161,4	-
3	6,23 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,6 Hz)	113,0	C-2; C-10
4	7,61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,6 Hz)	143,6	C-2; C-5; C-6; C-8; C-9
5	7,34 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,6 Hz)	128,8	C-4; C-6; C-7; C-9
6	6,83 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,6; 2,4 Hz)	113,3	C-7; C-8; C-10
7	-	162,2	-
8	6,80 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,4 Hz)	101,7	C-6; C-7; C-9
9	-	155,9	-
10	-	112,5	-
1'	4,58 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5 Hz)	65,6	C-7; C-2'; C-3'
2'	5,45 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,6 Hz)	118,5	C-1'; C-4'; C-10'
3'	-	142,5	-
4'	2,10 (2H, <i>m</i>)	39,6	C-2'; C-6'; C-10'
5'	2,12 (2H, <i>m</i>)	26,3	C-3'; C-4'
6'	5,06 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,6 Hz)	123,7	C-8'; C-9'
7'	-	132,1	-
8'	1,59 (3H, <i>s</i>)	17,8	C-6'; C-7'; C-9'
9'	1,65 (3H, <i>s</i>)	25,8	C-6'; C-7'; C-8'
10'	1,75 (3H, <i>s</i>)	16,9	C-2'; C-3'; C-4'

Tabel-2. Data spektrum NMR senyawa 7-(2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi kumarin (**2**) dalam $CDCl_3$

No.C	δ_H (multiplisitas)	δ_C	HMBC
2	-	161,3	-
3	6,23 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,5 Hz)	113,0	C-2; C-10
4	7,62 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,5 Hz)	143,4	C-2; C-5; C-9
5	7,35 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,6 Hz)	128,7	C-4; C-7; C-9
6	6,82 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,6; 2,4 Hz)	113,1	C-8; C-10
7	-	161,9	-
8	6,79 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,4 Hz)	101,4	C-7; C-9
9	-	155,8	-
10	-	112,5	-
1'	4,59 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5 Hz)	65,1	C-7; C-2'; C-3'
2'	5,55 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,5 Hz)	121,7	C-4'; C-10'
3'	-	138,9	-
4'	2,25 (2H, <i>m</i>)	47,7	C-2'; C-3'; C-5'; C-6'; C-10'
5'	4,51 (1H, <i>m</i>)	66,3	C-7'
6'	5,16 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,6 Hz)	127,2	C-4'; C-10'
7'	-	135,5	-
8'	1,69 (3H, <i>s</i>)	25,7	C-6'; C-7'; C-9'
9'	1,67 (3H, <i>s</i>)	18,2	C-6'; C-7'; C-8'
10'	1,80 (3H, <i>s</i>)	17,0	C-2'; C-3'; C-5'

Tabel-3. Data spektrum NMR senyawa 7-(2'*E*,5'*E*)-7'-hidroksi -3',7'- dimetilokta-2',5'-dieniloksi kumarin (3) dalam CDCl₃

No.C	δ _H (multiplisitas)	δ _C	HMBC
2	-	161,3	-
3	6,24 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,4 Hz)	113,0	C-2; C-5; C-9
4	7,63 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,4 Hz)	143,5	C-2; C-10
5	7,36 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,6 Hz)	128,7	C-4; C-7; C-9
6	6,85 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,6; 2,4 Hz)	113,2	C-8; C-10
7	-	162,0	-
8	6,81 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,4 Hz)	101,5	C-6; C-7; C-9
9	-	155,8	-
10	-	112,4	-
1'	4,59 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,6 Hz)	65,4	C-7; C-2'; C-3'
2'	5,49 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,6 Hz)	119,2	C-4', C-10'
3'	-	141,1	-
4'	2,78 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,1 Hz)	42,1	C-2'; C-5'; C-6'; C-10'
5'	5,61 (1H, <i>m</i>)	123,8	C-4'; C-6'; C-8'; C-9'; C-10'
6'	5,68 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,5 Hz)	140,4	C-9', C-10'
7'	-	70,7	-
8'	1,32 (3H, <i>s</i>)	29,8	C-6'; C-7'; C-9'
9'	1,32 (3H, <i>s</i>)	29,8	C-6'; C-7'; C-8'
10'	1,74 (3H, <i>s</i>)	16,8	C-2'; C-3', C-4'

Tabel-4. Data spektrum NMR senyawa 6-metoksi-7-oksigeranilkumarin (1) dalam CDCl₃

No.C	δ _H (multiplisitas)	δ _C	HMBC
2	-	161.6	-
3	6,27 (<i>d</i> , 9,5)	113.3	C-2; C-10
4	7,62 (<i>d</i> , 9,5)	143.4	C-2; C-5; C-9
5	6,85 (<i>s</i>)	107.9	C-7; C-10
6	-	146.6	-
7	-	152.0	-
8	6,83 (<i>s</i>)	101.1	C-6; C-10
9	-	149.8	-
10	-	111.2	-
1'	4,69 (<i>d</i> , 6,5)	66.3	C-7; C-2'; C-3'
2'	5,48 (<i>t</i> , 5,3)	118,3	C-3'; C-4'
3'	-	142.1	-
4'	2,08 (<i>m</i>)	39.5	C-2'; C-5', C-6'
5'	2,08 (<i>m</i>)	26.1	C-3'; C-4', C-7'
6'	5,06 (<i>t</i> , 5,3)	123.6	C-7'; C-10'
7'	-	131.9	-
8'	1,65 (<i>s</i>)	17.7	C-6'; C-7'; C-9'
9'	1,59 (<i>s</i>)	25.6	C-6'; C-7'; C-8'
10'	1,77 (<i>s</i>)	16.8	C-2'; C-3'; C-4'
6-OCH ₃	3,91 (<i>s</i>)	56.3	C-6

Tabel-4. Data spektrum NMR senyawa 8-oksi-geranilpsoralen (**5**) dalam CDCl₃

No.C	δ_H (multiplisitas)	δ_C	HMBC
2	-	160.7	-
3	6,37 (d, 9,6)	114.8	C-2; C-10
4	7,77 (d, 9,6)	144.4	C-2; C-5; C-9
5	7,36 (s)	113.3	C-4; C-7; C-3'
6	-	125.9	-
7	-	148.8	-
8	-	131.5	-
9	-	143.3	-
10	-	116.5	-
1'	-	-	-
2'	7,69 (d, 2,2)	146.4	C-6; C-7
3'	6,81 (d, 2,2)	106.8	C-6; C-7, C-2;
1''	5,03 (d, 7,2)	70,2	C-8; C-2''; C-3''
2''	5,59 (t, 7,2)	119,5	C-3''; C-4''
3''	-	143,3	-
4''	2,00 (m)	39,7	C-2''; C-6''; C-10''
5''	2,00 (m)	26,4	C-3''; C-4''
6''	5,02 (t, 7,2)	123,8	C-8''; C-9''
7''	-	131,8	-
8''	1,69 (s)	16,6	C-6''; C-7''; C-9''
9''	1,64 (s)	25,7	C-6''; C-7''; C-8''
10''	1,56 (s)	17,8	C-2''; C-3''; C-4''

Tabel-5. Nilai IC₅₀ senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi hasil isolasi

Senyawa	IC ₅₀ (μ g/ml)
Auraptin (1)	462
7-(2' <i>E</i> ,6' <i>E</i>)-5'-Hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi kumarin (2)	13
7-(2' <i>E</i> ,5' <i>E</i>)-7'-Hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',5'-dieniloksi kumarin (3)	260
6-Metoksi-7-oksigeranilkumarin (4)	210
8-Oksi-geranilpsoralen (5)	234
Asam askobat	58

8-Oksi-geranilpsoralen (**5**) berwujud padatan kuning muda. Spektrum ¹H-NMR senyawa **5** memperlihatkan dua sinyal singlet proton aromatik pada δ_H 6,85 dan 6,83 ppm dan sepasang sinyal *doublet cis*-vinilik ($J = 9,5$ Hz) pada δ_H 7,62 dan 6,27 ppm yang khas untuk senyawa kumarin disubstitusi. Sinyal proton senyawa **5** memperlihatkan adanya sinyal proton geranil dan metoksi. Spektrum ¹³C-NMR senyawa **5** memperlihatkan 20 sinyal atom karbon yang terpisah secara sempurna. Spektrum HMBC (Tabel-4) memperlihatkan adanya

korelasi antara sinyal proton metilen pada δ_H 4,69 (H-1') memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon oksiaril pada δ_C 152.0 (C-7), satu sinyal karbon metin pada δ_C 118,3 (C-2') dan satu sinyal karbon kuarternar pada δ_C 142.1 (C-3') yang menunjukkan *O*-geranil terikat di C-7. Sinyal singlet proton aromatik pada δ_H 6,83 (H-8) memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon oksiarin pada δ_C 146.6 (C-6) dan satu sinyal karbon kuarternar pada δ_C 111.2 (C-10) sedangkan sinyal proton metoksi berkorelasi dengan sinyal karbon oksiarin

pada δ_C 146.6 (C-6). Analisis spektrum HMBC tersebut maka disimpulkan bahwa senyawa **5** adalah senyawa 6-metoksi-8-oksi-geranilpsoralen [12].. Korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dalam dua atau tiga ikatan pada spektrum HMBC yang utama untuk mendukung struktur senyawa aurapten hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel-4.

Uji aktivitas antioksidan senyawa **1–5** terhadap radikal DPPH memperlihatkan nilai konsentrasi daya hambat IC_{50} adalah 462; 13; 260; 210 dan 234 $\mu\text{g/ml}$. Senyawa **1–4** merupakan kumarin ter-*O*-geranilasi di C-7. Senyawa aurapten (**1**) substituen oksi 3,7-dimetil okta-2,6-diena memperlihatkan aktivitas antioksidan dengan yang paling lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 462 $\mu\text{g/ml}$ diantara semua senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi di C-7. Adanya tambahan gugus metoksi di C-6 pada senyawa 6-metoksi-7-oksigeranilkumarin (**4**) meningkatkan aktivitas antioksidan sebanyak dua kali yakni nilai IC_{50} sebesar 210 $\mu\text{g/ml}$. Oksidasi rantai samping geranil pada senyawa **2–3** yang menghasilkan alilik alkohol memperlihatkan aktivitas antioksidan meningkat. Senyawa **2** dengan adanya tambahan gugus hidroksi di C-5' memperlihatkan nilai IC_{50} sebesar 13 $\mu\text{g/ml}$ dan aktivitasnya 35 kali lebih kuat dibanding senyawa **1**. Senyawa **3** merupakan isomer dari senyawa **2** mempunyai nilai IC_{50} sebesar 260 $\mu\text{g/ml}$ memperlihatkan aktivitas antioksidan dua kali lebih kuat dibanding senyawa **1**. Senyawa **5** memperlihatkan aktivitas antioksidan yang hampir sama dengan senyawa **3** dan **4**. Senyawa **2** memperlihatkan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi, empat kali lebih kuat dibandingkan asam askorbat. Nilai IC_{50} senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi dari akar *Limonia acidissima* L. dapat dilihat pada Tabel-5.

KESIMPULAN

Lima senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi yakni aurapten (**1**), 7-(2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi)kumarin (**2**), 7-(2'*E*,5'*E*)-7'- hidroksi -3',7'- dimetilokta-2',5'-dieniloksi) kumarin (**3**), 6-metoksi-7-oksigeranilkumarin (**4**), dan 8-oksi-geranilpsoralen (**5**) telah diisolasi dari akar *Limonia acidissima* L. Senyawa **2–4** merupakan senyawa kumarin ter-*O*-geranilasi pertama diisolasi dari *Limonia acidissima* L. Senyawa 7-(2'*E*,6'*E*)-5'-hidroksi-3',7'-dimetilokta-2',6'-dieniloksi)kumarin (**2**) mempunyai aktivitas antioksidan yang poten terhadap radikal DPPH.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Menristek Dikti melalui dana riset Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi, PUPT, Universitas Airlangga tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Heyne, K., 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid II, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- [2]. Tjahjandarie, T.S., Saputri, R.D., Tanjung, M., 2016. Oxygeranylated coumarins from the root of *Limonia acidissima* L. and their DPPH radical scavenging activity. *Der Pharmacia Lettre*. 8: 33-36.
- [3]. Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., 2015. Lead compound antimalaria dan antioksidan senyawa alkaloid, flavonoid, dan kumarin dari *Limonia acidissima* L.. *Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi, Universitas Airlangga*. 1-45.
- [4]. Tanjung, M., Tjahjandarie, T.S., Sentosa, M.H., 2013. Antioxidant and cytotoxic agent from the rhizomes of *Kaempferia pandurata*. *Asian Pacific J. Tropical Disease*. 3(5): 401-404.
- [5]. Tanjung, M., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., 2014. Antioxidant activity of two isomeric benzoxepin derivatives from the stem bark of *Bauhinia aculeata* L. *J. Chem. Pharm. Res*. 6: 705-708.

- [6]. Tjahjandarie, T.S., Pudjiastuti, P., Saputri, R.D., Tanjung, M., 2014. Antimalaria and antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Erythrina crista-galli* L. *J. Chem. Pharm. Res.* 6: 786–790.
- [7]. Marlina, E., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., 2016. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari *Macaranga pearsonii* Merr. *J. Kimia Mulawarman.* 13(2): 97-100.
- [8]. Noorhajati, H., Tanjung, M., Aminah, N.S., Suwandi, J.S.A. 2012. Antioxidant activities of extracts of trengguli stem bark (*Cassia fistula* L.), *Int J Basic Appl.Sci.* 12: 85-89.
- [9]. Tanjung, M., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., 2016. 5,9,11-Trihydroxy-2,2-dimethyl-10-(3'-methyl-2'-butenyl)-3-(2''-methyl-3''-butenyl)pyrano[2,3-a]xanthen-12(2H)-one from the stem bark of *Calophyllum pseudomole*. *Molbank.* M906. 3: 1-5.
- [10]. Chen, I-S., Lin, Y-C., Tsai, I-L., Teng, C-M., Ko, F-N., Ishikawa, T., Ishii, H. 1995. Coumarins and anti-platelet aggregation constituents from *Zanthoxylum schinifolium*. *Phytochem.*39(5): 1091-1097.
- [11]. Chang, C-T., Doong, S-L., Tsai, I-L., Chen, I-S., 1997. Coumarins and anti-HBV from *Zanthoxylum schinifolium*. *Phytochem.*45(7): 1419-1422.
- [12]. Nguyen, P-H., Zhao, B.T., Kim, Okhwa., Lee, J.H., Choi, J.S., Min, B.S., Woo, M.H., 2016. Anti-inflammatory terpenylated coumarins from the leaves of *Zanthoxylum schinifolium* with α -glucosidase inhibitory activity. *J. Nat. Med.* 70: 276-281.

How to cited this article :

Tjahjandarie TS, Saputri RD, Tanjung M. 2017. Aktivitas Antioksidan Senyawa Kumarin Ter-o-geranilasi dari Akar *Limonia acidissima* L. *J. Trop.Pharm. Chem.* 2017; (4)2; p.79-87