

SENYAWA OLIGOMER RESVERATROL DARI KULIT KAYU *DIPTEROCARPUS RETUSUS* BLUME DAN EFEK SITOTOKSIKNYA TERHADAP SEL MURIN LEUKEMIA P388

RESVERATROL OLIGOMER COMPOUNDS FROM THE TREE BARK OF *DIPTEROCARPUS RETUSUS* BLUME AND CYTOTOXIC EFFECT AGAINST MURINE LEUKAEMIA P388

Muhtadi*, Euis H. Hakim, Yana M. Syah**, Lia D. Juliawaty**,
Laily bin Din*** dan Jalifah Latip*****

* Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

** Kelompok Penelitian Kimia Organik Bahan Alam Departemen Kimia Institut Teknologi Bandung

*** School of Chemical Sciences & Food Technology Faculty of Science and Technology
Universiti Kebangsaan Malaysia

ABSTRAK

Tiga senyawa oligomer resveratrol, (-)- ϵ -viniferin, (-)- α -viniferin, dan (-)-vaticanol A, telah berhasil diisolasi bersama dengan dua senyawa turunan kumarin, skopoletin dan bergenin dari ekstrak aseton kulit kayu *Dipterocarpus retusus* Blume. Struktur molekul senyawa-senyawa tersebut ditetapkan berdasarkan data spektroskopi UV, IR, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ serta perbandingan dengan data sejenis yang telah dilaporkan sebelumnya. Pengujian aktivitas sitotoksik terhadap sel murin leukemia P388 dari masing-masing senyawa oligostilbenoid menunjukkan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 7,8; 17,5; 27,0; >100 dan >100 $\mu\text{g/ml}$.

Kata kunci: Oligomer resveratrol, *Dipterocarpus retusus* Blume, Efek sitotoksik dan Sel murin leukemia P388

ABSTRACT

Three resveratrol oligomers, (-)- ϵ -viniferin, (-)- α -viniferin and (-)-vaticanol A, together with two derivative coumarin compounds, scopoletin and (-)-bergenin, were isolated from acetone extracts of the tree bark of *Dipterocarpus retusus* Blume. The chemical structure of the isolates were established based on spectroscopic evidence, UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, and by comparison with those related compounds. The result of cytotoxic activities assay against murine leukaemia P388 cells showed their IC_{50} values were 7.8; 17.5; 27.0; >100 and >100 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Key words: Resveratrol oligomers, *Dipterocarpus retusus* Blume, Cytotoxic effect and murine leukaemia P388 cells

PENDAHULUAN

Dipterocarpus atau "keruing" dilaporkan sekurang-kurangnya memiliki 75 spesies dan merupakan genus terbesar ketiga, setelah *Shorea* (150) dan *Hopea* (100) dari 16 genus dalam famili tumbuhan Dipterocarpaceae (Ashton, 1983). Secara fitokimia, kelompok tumbuhan ini dikenal sebagai salah satu famili tumbuhan penghasil senyawa turunan fenol, terutama dari golongan oligomer resveratrol (oligostilbenoid) (Sotheeswaran and Pasupathy, 1993; Zgoda-Pols *et al.*, 2002; Hakim, 2002). Berbeda dengan genus lain dalam famili Dipterocarpaceae seperti *Shorea* dan *Hopea* yang telah dikelompokkan menjadi subgenusnya, *Dipterocarpus* yang merupakan genus utama belum ada satupun laporan taksonomi atau filogenetik yang mengelompokkannya menjadi subgenusnya. Hal ini memberikan peluang untuk mengungkap hubungan filogenetik khususnya berdasarkan kandungan metabolit sekundernya.

Tambahan lagi, kajian kimia khususnya kandungan senyawa fenolik dari *Dipterocarpus* belum banyak dilakukan. Berdasarkan kajian literatur, terdapat 2 (dua) spesies dari genus *Dipterocarpus* yang telah dilaporkan kandungan senyawa fenoliknya, yakni dari *D. grandiflorus* diperoleh senyawa-senyawa, bergenin, ampelopsin A, (+)- α -viniferin, hopeafenol, vaticanol B, vaticanol C, hemsleyanol D, miyabenol C, ϵ -viniferin, ampelopsin F, isoampelopsin F dan shorealaktan (Ito *et al.*, 2004) dan *D. Hasseltii* dilaporkan senyawa-senyawa ϵ -viniferin, laevifonol, (-)- α -viniferin, vaticanol B, hopeafenol, (+)-dipteroindonesin E, dan skopoletin (Muhtadi *et al.*, 2006). Fakta ini memberikan peluang untuk mengungkap kandungan senyawa-senyawa fenolik dari *Dipterocarpus*. Dalam tulisan ini akan disampaikan penemuan (-)- ϵ -viniferin (**3**), (-)- α -viniferin (**4**) dan (-)-vaticanol A (**5**) bersama-sama dengan skopoletin (**1**) dan (-)-bergenin (**2**) dari ekstrak aseton kulit kayu tumbuhan *D.*

retusus serta kajian efek sitotoksiknya terhadap sel murin leukemia P388.

METODE PENELITIAN

Alat: Titik leleh ditentukan dengan 'micro melting point apparatus'. Putaran optik diukur dengan polarimeter Perkin-Elmer 341 dalam MeOH. Spektrum UV dan IR ditetapkan dengan Cary Varian 100 Conc. dan Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spectrophotometers. Spektra ^1H dan ^{13}C -NMR ditentukan dengan spektrofotometer JEOL ECP400, yang beroperasi pada 400 MHz (^1H) dan 100 MHz (^{13}C). Kromatografi cair vakum menggunakan Si-gel 60 GF₂₅₄ (Merck), kromatografi radial menggunakan Si-gel 60 PF₂₅₄ (Merck), dan analisis KLT menggunakan plat KLT Kieselgel 60 GF₂₅₄ 0,25 mm (Merck). Pelarut yang digunakan semuanya berkualitas teknis yang didestilasi.

Bahan: Bahan tumbuhan yang digunakan adalah kulit kayu *D. retusus* Blume, diperoleh dari Hutan Percobaan Cifort - Darmaga Bogor Jawa Barat, pada bulan September 2003. Tumbuhan tersebut diidentifikasi oleh staf Herbarium Bogoriensis, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor.

Jalan Penelitian

Pengumpulan bahan dan determinasi tumbuhan

Pengumpulan bahan tumbuhan penelitian, dilakukan di Hutan Percobaan Cifort - Darmaga Bogor Jawa Barat. Selanjutnya tumbuhan tersebut diidentifikasi oleh staf Herbarium Bogorensis, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor.

Ekstraksi dan Isolasi

Tiga kilogram serbuk kering kulit kayu *D. retusus* Blume diekstraksi dengan aseton. Ekstrak aseton selanjutnya dipekatkan pada tekanan rendah dan diperoleh gum berwarna coklat gelap (131 g). Ekstrak aseton tersebut, selanjutnya dilarutkan kembali dalam campuran MeOH-dietileter sehingga menghasilkan fraksi terlarut MeOH-dietileter, juga berupa gum berwarna coklat gelap (106 g). Sebagian fraksi MeOH-dietileter (20 g) kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom [adsorben Si-gel, eluen campuran heksan-etilasetat (7:3), etilasetat 100%, MeOH 100%] menghasilkan 5 fraksi utama A-E (masing-masing 1,0; 2,2; 3,3; 2,0; dan 6,2 g). Fraksi B (2,2 g) selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi radial (kr) [adsorben Si-gel; eluen yang digunakan mulai kloroform:heksana = 8:2 – etilasetat:MeOH = 8:2] diperoleh 5 fraksi B₁-B₅ berturut-turut (357mg; 110 mg; 165 mg; 159 mg dan 274 mg). Terhadap fraksi B₂ (110 mg) dilakukan

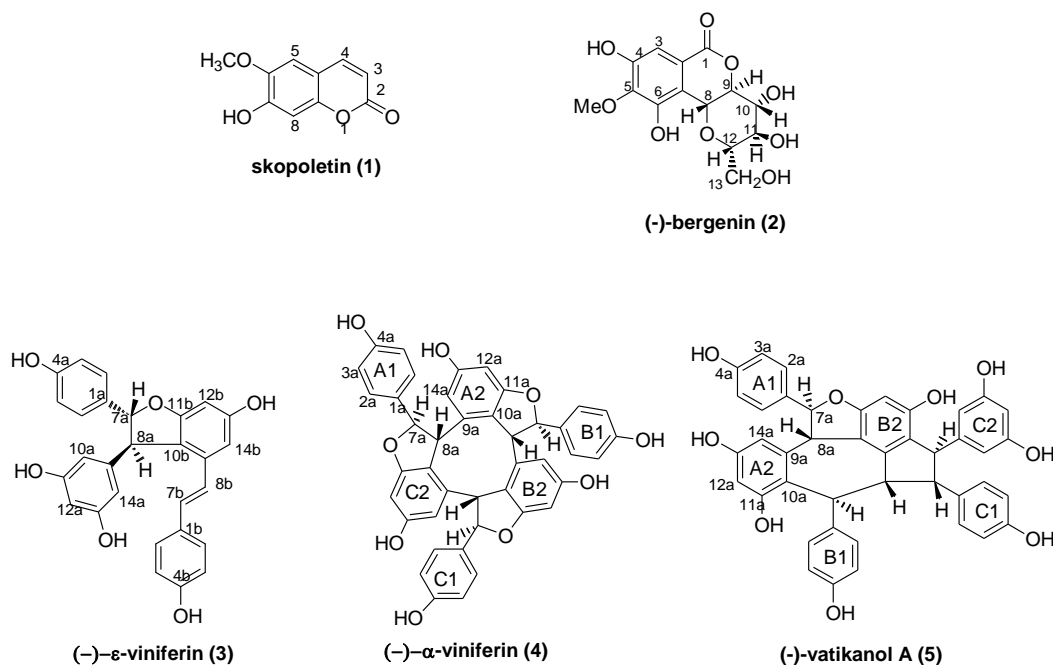
fraksinasi dan pemurnian lebih lanjut dengan metode kromatografi radial (kr) [Si-gel, CHCl₃:heksana = 9:1] diperoleh **skopoletin (1)** sebanyak 12 mg. Fraksi C (3,3 g) difraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum (kcv) [adsorben Si-gel; eluen yang digunakan mulai heksana:etilasetat = 6:4 – etilasetat:MeOH = 8:2] diperoleh 5 fraksi C₁-C₅ berturut-turut (867mg; 371 mg; 380 mg; 521 mg dan 1,125 g). Terhadap fraksi C₁ (867 mg) dilakukan fraksinasi dan pemurnian lebih lanjut dengan metode kromatografi radial (kr) [Si-gel, CHCl₃:MeOH = 9,25:0,75] diperoleh (-)- **ϵ -viniferin (3)** sebanyak 20 mg dan (-)- **α -viniferin (4)** sebanyak 112 mg. Sedangkan dari fraksi C₃ (380 mg) setelah dilakukan fraksinasi dan pemurnian dengan metode kromatografi radial (kr) [Si-gel, CHCl₃:MeOH = 9:1] diperoleh (-)-**vatikanol A (5)** sebanyak 40 mg. Dari fraksi D (2,0 g) difraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum (kcv) [adsorben Si-gel; eluen yang digunakan mulai heksana:etilasetat = 6:4 – etilasetat:MeOH = 8:2] diperoleh 5 fraksi D₁-D₅ berturut-turut (244 mg; 440 mg; 171 mg; 848 mg dan 250 mg). Terhadap fraksi D₃ (171 mg) dilakukan fraksinasi dan pemurnian lebih lanjut dengan metode kromatografi radial (kr) [Si-gel, CHCl₃:MeOH = 9:1] diperoleh (-)-**bergenin (2)** sebanyak 115 mg.

Uji kemurnian senyawa hasil isolasi

- Pemeriksaan titik lebur. Sampel diletakkan di atas objek gelas, ditutup dengan kaca tipis, diamati dibawah termopan (Fisher John, *micro melting point apparatus*), dan dicatat jarak leburnya.
- Uji KLT. Serbuk hasil isolasi dilarutkan dalam aseton, ditotolkan pada plat KLT dengan tiga sistem eluen yang berbeda. Jika dengan tiga sistem eluen yang berbeda, memberikan satu noda kromatogram, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi telah murni.

Pengukuran data spektroskopi

Penentuan struktur molekul yang telah diisolasi dan dimurnikan, ditetapkan dengan cara-cara kimia dan fisika yang lazim dilakukan serta menggunakan peralatan uji yang mutakhir, yang tersedia di Indonesia maupun di luar negeri seperti spektroskopi UV-VIS, FT-IR dan ^1H -NMR. Pengukuran UV-VIS dan FT-IR dilakukan bekerjasama dengan Lab. Kimia Organik Bahan Alam – ITB, sedangkan pengukuran ^1H -NMR dilakukan bekerjasama dengan *School of Chemical Sciences & Food Technology, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia*.



Gambar 1—Struktur kimia senyawa hasil isolasi dari *D. retusus* Blume

Pengujian efek sitotoksik

Aktivitas sitotoksik senyawa 1-5 dinyatakan sebagai IC_{50} , yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menginhibisi 50% sel murin leukemia P-388 melalui pewarnaan pereaksi MTT. Uji dilakukan dengan cara menambahkan berbagai konsentrasi ketiga senyawa tersebut ke dalam biakan sel murin leukemia P388. Setelah diinkubasi selama 48 jam, ke dalam sampel ditambahkan pereaksi warna MTT dan diinkubasikan kembali selama 4 jam. Jumlah sel tumor P388 yang terinhibisi oleh sampel diukur dari serapannya dengan menggunakan alat pembaca pelat mikro pada $\lambda 540$ nm setelah penambahan larutan penghenti pertumbuhan. Nilai IC_{50} dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan kontrol positif pada kurva serapan terhadap berbagai konsentrasi sampel menggunakan grafik semilogaritma.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Skopoletin (1), diperoleh sebagai serbuk putih, t.l. 171-175 °C, UV (MeOH) λ_{maks} (log ϵ) 204 (4,89), 228 (4,54), 257 (bahu) (4,11), 297 (4,12) dan 345 nm (4,43). IR (KBr) ν_{maks} 3536-3239 cm^{-1} (-OH), 1700 dan 1635 cm^{-1} (C=O terkonjugasi), 1616, 1562, dan 1461 cm^{-1} (C=C benzena), 1288 dan 1140 cm^{-1} (C-O oksil aril). Spektrum 1H -NMR. (aseton- d_6 , 400 MHz) δ (ppm): 6,16 (1H, d, $J=9,52$ Hz), 7,84 (1H, d, $J=9,52$ Hz), 6,78 (1H, s), 7,18 (1H, s), 3,88 (3H, s).

(-)-Bergenin (2) diperoleh sebagai kristal putih,

t.l. 140-143 °C dan $[\alpha]_D^{20}$ -33° (c : 0,1 MeOH). UV (MeOH) λ_{maks} (log ϵ) 220 (5,73), 274 (4,22) dan 318 nm (4,81). IR (KBr) ν_{maks} 3424-3195 cm^{-1} (-OH), 2985-2723 cm^{-1} (-CH alifatik), 1702 cm^{-1} (C=O ester), 1612, 1527, dan 1463 cm^{-1} (C=C benzena), 1348-1335 cm^{-1} (C-O-C) dan 1092-1071 cm^{-1} (C-O oksil aril). Spektrum 1H -NMR. (aseton- d_6 , 400 MHz) δ_H (ppm): 7,08 (1H, s, H-3); 4,96 (1H, d, $J=10,4$ Hz, H-8); 4,06 (1H, dd, $J=9,5$; 10,4 Hz, H-9); 3,81 (1H, dd, $J=8,7$; 9,5 Hz, H-10); 3,43 (1H, dd, $J=8,7$; 9,5 Hz; H-11); 3,69 (1H, ddd, $J=1,9$; 6,9; 8,7 Hz; H-12); 4,03 (1H, dd, $J=1,9$; 11,8 Hz, H-13); 3,66 (1H, dd, $J=6,9$; 11,8 Hz, H-13); dan 3,90 (3H, s, OMe) ppm.

(-)-ε-Viniferin (3), diperoleh sebagai serbuk putih, t.l. 190-193 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -40° (c : 0,1 MeOH). UV (MeOH) λ_{maks} (log ϵ) 205 (5,62), 229 (bahu) (5,44), dan 325 nm (5,22), penambahan NaOH terjadi pergeseran batokromik sebesar 19 nm. IR (KBr) ν_{maks} 3430 cm^{-1} (-OH), 2916 dan 2840 cm^{-1} (C-H alifatik), 1614, 1514, dan 1445 cm^{-1} (C=C benzena), 1240 dan 1170 cm^{-1} (C-O oksil aril) dan 831 cm^{-1} (*p*-di-substitusibenzena). Spektrum 1H -NMR (aseton- d_6 , 400 MHz) (dilihat pada Tabel 1).

(-)-α-Viniferin (4) diperoleh sebagai padatan putih kecoklatan, t.l. 235 °C (terurai) dan $[\alpha]_D^{20}$ -50° (c : 0,1 MeOH). UV (MeOH) λ_{maks} (log ϵ) 229 (4,57), dan 286 nm (4,19). IR (KBr) ν_{maks} 3456-3231 cm^{-1} (gugus-OH), 1614, 1515, dan 1486 cm^{-1} (C=C benzena), dan 829 cm^{-1} (*p*-disubstitusibenzena). Spektrum 1H -NMR (aseton- d_6 , 400 MHz) (dilihat pada tabel 1) dan ^{13}C -NMR (aseton- d_6 , 100 MHz) δ (ppm) dilihat

pada tabel 2.

(-)-Vatikanol A (5), diperoleh sebagai padatan putih kecoklatan, t.l. 248 °C (terurai) dan $[\alpha]_D^{20}$ -130° (c : 0,1 MeOH). UV (MeOH) λ_{maks} (log ϵ) 227 (4,57), dan 284 nm (4,19). IR. (KBr) ν_{maks} 3550 - 3231 cm^{-1} (-OH), 1616, 1511, dan 1483 cm^{-1} (C=C aromatik) dan 828 cm^{-1} (*p*-disubstitusibenzena). Spektrum 1H -NMR (aseton- d_6 , 400 MHz) (dilihat pada Tabel 1) dan ^{13}C -NMR (aseton- d_6 , 100 MHz) δ (ppm) dilihat pada Tabel 2.

Evaluasi biologi. Pada pengujian efek sitotoksitas terhadap sel murin leukemia P-388 memperlihatkan harga IC_{50} masing-masing: senyawa **1** >100 $\mu g/ml$; senyawa **2** >100 $\mu g/ml$; senyawa **3** 7,8 $\mu g/ml$; senyawa **4** 17,5 $\mu g/ml$; dan senyawa **5** 27,0 $\mu g/ml$.

Pembahasan

Tiga senyawa oligostilbenoid telah berhasil diisolasi dari kulit kayu *D. retusus* bersama dengan skopoletin (**1**) dan bergenin (**2**), yaitu (-)- ϵ -viniferin (**3**), (-)- α -viniferin (**4**), dan (-)-vatikanol A (**5**). Dalam tulisan ini akan dibahas elusidasi struktur tiga senyawa oligostilbenoid yaitu (-)- α -viniferin (**3**), (-)- ϵ -viniferin (**4**), dan (-)-vatikanol A (**5**).

Senyawa **3**, diperoleh sebagai serbuk putih, t.l. 190-193 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -40° (c : 0,1 MeOH). Spektrum UV menunjukkan adanya kromofor yang khas untuk stilben pada λ_{maks} (MeOH) 205, 229 (bahu), dan 325 nm, penambahan pereaksi geser NaOH terjadi pergeseran batokromik 19 nm. Spektrum IR senyawa **3**, mendukung adanya kerangka stilben dengan munculnya pita-pita serapan untuk gugus hidroksil (3430 cm^{-1}), C=C aromatik (1614, 1514, dan 1445 cm^{-1}), C-O oksil aril (1240 dan 1170 cm^{-1}), dan *p*-disubstitusibenzena (831 cm^{-1}). Pembuktian lebih lanjut berkenaan dengan struktur senyawa **3** dilakukan melalui analisis data spektroskopi 1H -NMR. Spektrum 1H -NMR (tabel 1) menunjukkan sinyal-sinyal proton yang sesuai untuk satu gugus 4-hidroksifenil pada δ 7,21 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{2(6)a}$) dan 6,84 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{3(5)a}$), satu gugus *trans*-4-hidroksistiril pada δ 7,17 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{2(6)b}$) dan 6,73 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{3(5)b}$), 6,90 (1H, d, J = 16,4 Hz, H_{7b}) dan 6,70 (1H, d, J = 16,4 Hz, H_{8b}), satu gugus 1,2,3,5-tetrasubstitusibenzena pada δ 6,68 (1H, d, J = 2,2 Hz, H_{14b}) dan 6,32 (1H, d, J = 2,2 Hz, H_{12b}), satu gugus 3,5-dihidroksifenil pada δ 6,24 ppm (3H, brd, $H_{(10/12/14)a}$), dan satu unit cincin *trans*-2-aril-2,3-dihydrobenzofuran pada δ 5,42 (1H, d, J = 5,5 Hz, H_{7a}) dan 4,48 (1H, d, J = 5,5 Hz, H_{8a}). Karakteristik unit-unit struktur tersebut menyarankan **senyawa 3** memiliki struktur molekul sesuai dengan *trans*- ϵ -viniferin yang telah dilaporkan sebelumnya (Oshima, 1993). Perbandingan data 1H -NMR (tabel 1) **senyawa 3**

dengan (-)-*trans*- ϵ -viniferin standar memperlihatkan kesesuaian yang tinggi.

Senyawa **4**, diperoleh sebagai padatan putih kecoklatan, t.l. 235 °C (terurai), $[\alpha]_D^{20}$ -50° (c : 0,1 MeOH). Seperti halnya dengan senyawa **3** berdasarkan data spektra UV dan IR menunjukkan bahwa senyawa **4** adalah oligomer resveratrol. Berdasarkan data spektrum 1H -NMR (Tabel 1) menunjukkan sinyal-sinyal proton yang khas untuk tiga gugus 4-hidroksifenil pada δ 7,01 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{2(6)a}$) dan 6,70 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{3(5)a}$), 7,02 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{2(6)b}$) dan 6,78 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{3(5)b}$), 7,22 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{2(6)c}$) dan 6,76 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{3(5)c}$), tiga gugus 1,2,3,5-tetrasubstitusibenzena pada δ 6,71 (1H, d, J = 1,8 Hz, H_{14a}) dan 6,22 (1H, d, J = 1,8 Hz, H_{12a}), 5,98 (1H, d, J = 2,0 Hz, H_{14b}) dan 6,24 (1H, d, J = 2,0 Hz, H_{12b}), 6,59 (1H, d, J = 2,0 Hz, H_{14c}) dan 6,20 (1H, d, J = 2,0 Hz, H_{12c}), dan tiga unit cincin *trans*-2-aril-2,3-dihydrobenzofuran pada δ 6,07 (1H, br s, H_{7a}) dan 3,95 (1H, br s, H_{8a}), 4,90 (1H, d, J = 6,2 Hz, H_{7b}) dan 4,60 (1H, d, J = 6,2 Hz, H_{8b}), 5,92 (1H, d, J = 10,0 Hz, H_{7c}) dan 4,60 (1H, d, J = 10,0 Hz, H_{8c}). Karakteristik unit-unit struktur tersebut menyarankan **senyawa 4** memiliki struktur molekul sesuai dengan (-)- α -viniferin yang telah dilaporkan sebelumnya (Pryce, 1977). Perbandingan data 1H -NMR (tabel 1) dan ^{13}C -NMR (tabel 2) **senyawa 4** dengan (-)- α -viniferin standar memperlihatkan kesesuaian yang tinggi.

Senyawa **5**, diperoleh sebagai padatan putih kecoklatan, t.l. 248 °C (terurai), $[\alpha]_D^{20}$ -130° (c : 0,1 MeOH). Seperti halnya dengan senyawa **3** dan **4** berdasarkan data spektra UV dan IR menunjukkan bahwa senyawa **5** adalah oligomer resveratrol juga. Pembuktian lebih lanjut berdasarkan data spektrum 1H -NMR (tabel 1), menunjukkan sinyal-sinyal proton yang sesuai untuk tiga gugus 4-hidroksifenil pada δ 7,26 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{2(6)a}$) dan 6,81 (2H, d, J = 8,8 Hz, $H_{3(5)a}$), 7,04 (2H, d, J = 8,4 Hz, $H_{2(6)b}$) dan 6,59 (2H, d, J = 8,4 Hz, $H_{3(5)b}$), 6,52 (2H, d, J = 8,4 Hz, $H_{2(6)c}$) dan 6,34 (2H, d, J = 8,4 Hz, $H_{3(5)c}$), satu gugus 1,2,3,5-tetrasubstitusibenzena pada δ 6,72 (1H, d, J = 1,8 Hz, H_{14a}) dan 6,25 (1H, d, J = 1,8 Hz, H_{12a}), satu gugus 1,2,3,4,5-pentasubstitusibenzena pada δ 6,21 (1H, s, H_{12b}), satu gugus 3,5-dihidroksifenil pada δ 6,25 (2H, d, J = 2,2 Hz, $H_{(10/14)c}$), 6,19 (1H, t, J = 2,2 Hz, H_{12c}), dan satu unit cincin *trans*-2-aril-2,3-dihydrobenzofuran pada δ 6,16 (1H, br d, J = 4,0 Hz, H_{7a}) dan 4,49 (1H, d, J = 4,0 Hz, H_{8a}), serta adanya 4 sinyal proton alifatik pada δ 5,15 (1H, br s, H_{7b}), 4,49 (1H, d, J = 7,0 Hz, H_{8b}), 3,62 (1H, d, J = 7,0 Hz, H_{7c}) dan 4,17 (1H, br s, H_{8c}). Karakteristik unit-unit struktur tersebut menyarankan **senyawa 5** memiliki struktur molekul sesuai dengan (-)-vatikanol A (Tanaka, 2000). Perbandingan data 1H -NMR (tabel 1) dan ^{13}C -NMR (tabel 2) **senyawa 5** dengan (-)-vatikanol A standar memperlihatkan kesesuaian yang tinggi pula.

Tabel 1—Perbandingan data ¹H-NMR dari senyawa 3, 4, dan 5 dengan (-)-δ-viniferin, (-)-δ-viniferin dan (-)-vatikanol A yang telah dilaporkan.

No.	3 (δ _H , m, J Hz)	3* (δ _H , m, J Hz)	4 (δ _H , m, J Hz)	4* (δ _H , m, J Hz)	5 (δ _H , m, J Hz)	5* (δ _H , m, J Hz)
1a	-	-	-	-	-	-
2(6)a	7,21 (d, 8,8)	7,19 (d, 8,0)	7,01 (d, 8,8)	7,03 (d, 8,5)	7,26 (d, 8,8)	7,28 (d, 8,8)
3(5)a	6,84 (d, 8,8)	6,80 (d, 8,0)	6,70 (d, 8,8)	6,72 (d, 8,5)	6,81 (d, 8,8)	6,83 (d, 8,8)
4a	-	-	-	-	-	-
7a	5,42 (d, 5,5)	5,40 (d, 5,0)	6,07 (br s)	6,21 (br s)	6,16 (br d, 4,0)	6,18 (br d, 3,9)
8a	4,48 (d, 5,5)	4,44 (d, 5,0)	3,95 (br s)	3,98 (br s)	4,49 (d, 4,0)	4,51 (d, 3,9)
9a	-	-	-	-	-	-
10a	6,24 (br d)	6,22 (d)	-	-	-	-
11a	-	-	-	-	-	-
12a	6,24 (br d)	6,22 (br d)	6,22 (d, 1,8)	6,25 (d, 1,8)	6,06 (d, 2,2)	6,10 (d, 2,4)
13a	-	-	-	-	-	-
14a	6,24 (br d)	6,22 (d)	6,71 (d, 1,8)	6,72 (d, 1,8)	6,46 (d, 2,2)	6,48 (d, 2,4)
1b	-	-	-	-	-	-
2(6)b	7,17 (d, 8,8)	7,15 (d, 8,0)	7,02 (d, 8,8)	7,08 (d, 8,5)	7,04 (d, 8,4)	7,07 (d, 8,8)
3(5)b	6,73 (d, 8,8)	6,71 (d, 8,0)	6,78 (d, 8,8)	6,79 (d, 8,5)	6,59 (d, 8,4)	6,60 (d, 8,8)
4b	-	-	-	-	-	-
7b	6,90 (16,4)	6,91 (d, 16,0)	4,90 (d, 6,2)	4,90 (d, 6,4)	5,15 (br s)	5,17 (br s)
8b	6,70 (16,4)	6,65 (16,0)	4,60 (d, 6,2)	4,61 (d, 6,4)	4,49 (d, 7,0)	4,52 (d, 7,3)
9b	-	-	-	-	-	-
10b	-	-	-	-	-	-
11b	-	-	-	-	-	-
12b	6,32 (d, 2,2)	6,30 (d, 2,0)	6,24 (d, 2,0)	6,22 (d, 1,8)	6,21 (s)	6,22 (s, 1H)
13b	-	-	-	-	-	-
14b	6,68 (d, 2,2)	6,70 (d, 2,0)	5,98 (d, 2,0)	5,99 (d, 1,8)	-	-
1c	-	-	-	-	-	-
2/6c	-	-	7,22 (d, 8,8)	7,22 (d, 8,5)	6,52 (d, 8,4)	6,55 (d, 8,8)
3/5c	-	-	6,76 (d, 8,8)	6,77 (d, 8,5)	6,34 (d, 8,4)	6,37 (d, 8,8)
4c	-	-	-	-	-	-
7c	-	-	5,92 (d, 10,0)	5,95 (d, 9,7)	3,62 (d, 7,0)	3,65 (d, 7,0)
8c	-	-	4,68 (d, 10,0)	4,71 (d, 9,7)	4,17 (br s)	4,20 (br s)
9c	-	-	-	-	-	-
10c	-	-	-	-	6,25 (d, 2,2)	6,27 (d, 2,0)
11c	-	-	-	-	-	-
12c	-	-	6,20 (d, 2,0)	6,15 (d, 2,0)	6,19 (t, 2,2)	6,21 (d, 2,0)
13c	-	-	-	-	-	-
14c	-	-	6,59 (d, 2,0)	6,46 (d, 2,0)	6,25 (d, 2,2)	6,27 (d, 2,0)

3, 4 dan 5 diukur dalam aseton-d₆ 400 MHz.

3* diukur dalam aseton-d₆ 500 MHz (Oshima, 1993).

4* diukur dalam aseton-d₆ 400 MHz (Pryce, 1977).

5* diukur dalam aseton-d₆ 500 MHz (Tanaka, 2000)

Tabel 2— Perbandingan data ¹³C-NMR dari senyawa 4 dan 5 dengan (-)-α-viniferin dan (-)-vatikanol A yang telah dilaporkan.

No. C	4	4*	5	5*
1a	132,0	132,0	134,5	134,4
2/6a	128,2	128,1	128,0	128,0
3/5a	115,7	115,7	116,1	116,0
4a	158,2	157,8	157,9	157,9
7a	86,4	86,4	86,6	86,5
8a	46,4	46,4	50,4	50,3
9a	141,2	141,2	144,8	144,7
10a	120,9	120,9	119,4	119,3
11a	160,6	161,6	157,8	157,7
12a	98,0	98,0	101,4	101,3
13a	159,3	159,3	156,4	156,3
14a	106,2	106,2	103,3	103,3
1b	132,5	132,5	138,7	138,7
2/6b	128,7	128,6	129,3	129,2
3/5b	116,1	116,1	114,8	115,4
4b	158,4	158,3	155,8	155,8
7b	95,6	95,6	36,1	36,0
8b	55,7	55,6	48,7	48,6
9b	141,2	141,2	144,9	144,9
10b	118,8	118,8	118,7	118,6
11b	161,6	161,6	159,7	159,9
12b	98,0	98,0	95,4	95,3
13b	159,3	159,3	155,5	155,4

14b	108,6	108,5	122,3	122,2
1c	132,0	132,0	135,8	135,8
2/6c	128,1	128,1	129,7	129,6
3/5c	116,1	116,2	114,9	114,9
4c	157,9	157,8	156,5	156,4
7c	90,0	90,0	64,4	64,3
8c	52,8	52,8	57,5	57,5
9c	138,7	138,7	147,6	147,5
10c	119,7	119,7	106,7	106,7
11c	161,7	161,7	159,4	159,2
12c	96,9	96,9	101,3	101,3
13c	160,7	160,8	159,4	159,2
14c	105,8	105,8	106,7	106,7

4 dan 5 diukur dalam pelarut aseton-d₆ (100 MHz)

4* diukur dalam aseton-d₆ 100 MHz (Pryce, 1977).

5* diukur dalam aseton-d₆ 125 MHz (Tanaka, 2000).

Kajian Efek Sitotoksik Senyawa Hasil Isolasi

Hasil pengujian efek sitotoksitas terhadap sel murin leukemia P-388 memperlihatkan bahwa harga IC₅₀ senyawa (-)-ε-viniferin (**3**) 7,8 μg/ml dengan kategori sangat aktif (Ito, 2003). Dari data ini dapat disarankan bahwa adanya kerangka stilben dan ikatan rangkap pada posisi C_{7b} dan C_{8b} dari kerangka struktur dimer

resveratrol sangat penting dalam aktivitas sitotoksik. Hilangnya ikatan rangkap pada posisi tersebut menghilangkan efek sitotoksik senyawa dimer resveratrol, terbukti dari dimer resveratrol yang tidak memiliki ikatan rangkap pada posisi C_{7b} dan C_{8b} seperti laevinofol memiliki IC₅₀ >100 mg/ml. Fakta ini juga didukung oleh hasil penelitian Ohguchi *et al.* pada beberapa senyawa oligomer resveratrol terhadap efek penghambatan aktivitas tirosinase. Dijelaskan bahwa resveratrol dan (-)-ε-viniferin yang memiliki kerangka stilben memiliki aktivitas penghambatan tirosinase jauh lebih kuat dibandingkan dengan dihidro-resveratrol, vaticanol A, vaticanol G, (+)-α-viniferin, vaticanol B, vaticanol C dan (-)-hopeafenol.

Sedangkan (-)-α-viniferin (**4**) dan (-)-vaticanol A (**5**) menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 berturut-turut sebesar 17,5 dan 27,0 µg/ml. Berdasarkan data ini diketahui adanya kecenderungan bahwa senyawa dengan struktur molekul yang simetri (α-viniferin) memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi daripada senyawa yang tidak simetri (vaticanol A).

Sedangkan skopoletin (**1**) dan bergenin (**2**) merupakan senyawa turunan kumarin dan asam fenolat, ternyata tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel murin leukemia P388. Dari laporan penelitian terdahulu, diketahui bahwa skopoletin

mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, aktivitas antibakteri dan antifungal yang moderat.

KESIMPULAN

Tiga senyawa oligostilbenoid telah berhasil diisolasi dari ekstrak aseton kulit kayu *D. retusus* Blume, yaitu (-)-ε-viniferin, (-)-α-viniferin dan (-)-vaticanol A, bersama-sama dengan senyawa turunan kumarin dan asam fenolat, yaitu skopoletin dan bergenin. Hasil kajian efek sitotoksik dari senyawa-senyawa hasil isolasi, adanya kerangka stilben dalam senyawa dimer resveratrol sangat berperan pada efek sitotoksiknya terhadap sel murin leukemia P388. Senyawa oligomer resveratrol yang simetri memiliki efek sitotoksik yang lebih tinggi dibandingkan senyawa yang tidak simetri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada Dirjen Dikti Depdiknas atas bantuan beasiswa BPPs, Kebun Percobaan Cifort–Darmaga Bogor atas bantuannya dalam menyediakan sampel tumbuhan dan staf Herbarium Bogoriensis Bogor dalam determinasi tumbuhan. Prof. Dr. Ikram M. Said dan Prof. Dr. Laily bin Din dari Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM) atas bimbingannya selama Program Sandwich di UKM dan bantuannya dalam mengukur spektrum ¹H-NMR dan ¹³C-NMR.

DAFTAR ACUAN

- Ashton, P.S., 1983, Dipterocarpaceae. In C.G.G.J. Van Steenis [ed.], *Flora Malesiana*, Series 1, Spermatophyta, vol. 9, Martinus Nijhoff Publishers, The Hague
- Hakim, E.H., 2002, Oligostilbenoid dari tumbuh-tumbuhan Dipterocarpaceae, *Bull. Soc. Nat. Prod. Chem.*, **2**, 1–9
- Ito T., Tanaka T., Iinuma M., Nakaya K., Takahashi Y., Sawa R., Murata J., Darnaedi D., 2004, Two new resveratrol (=5-[1E]-2-(4-Hydroxyphenyl)ethenyl]-benzene-1,3-diol) tetramers with a tetrahydrofuran ring from *Dipterocarpus grandiflorus*. *Helvetica Chimica Acta*, **87**, 479–495
- Ito T., Tanaka T., Nakaya K., Iinuma M., 2003, New resveratrol oligomers in the stem bark of *Vatica pauciflora*. *Tetrahedron*, **59**, 5347–5363
- Ito, T., Tanaka, K. Nakaya, M. Iinuma, Y. Takahashi, H. Naganawa, M. Ohyama, Y. Nakanishi, K.F. Bastow, K. Lee., 2001, A novel bridged stilbenoid trimer and four highly condensed stilbenoid oligomers in *Vatica rassak*, *Tetrahedron*, **57**, 7309–7321
- Kajita, T, Kamiya, K, Nakamura, K, Tachida, H, Wickneswari, R, Tsumura, Y, Yoshimaru, H, Yamazaki, T., 1998, Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in southeast Asia based on nucleotide sequences *matK*, *trnL* intron, and *trnL-trnF* intergenic spacer region in chloroplast DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **10** (2), 202–209
- Muhtadi, Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Achmad, S.A. Latip, J., Ghisalberti, E.L., 2006, Cytotoxic Resveratrol Oligomers from the Tree Bark of *Dipterocarpus hasseltii*, *Journal of Fitoterapia*, Vol. 77, Issues 7-8, 550–555

Oshima, Y., Y. Ueno, K. Hisamichi, M. Takeshita, 1993, Ampelopsin F and G, Novel bridged plant oligostilbenes from *Ampelopsis brevipedunculata* var. *hancei* roots (Vitaceae), *Tetrahedron*, **49**, 5801–5804

Pryce R.J., Langcake P., 1977, α -Viniferin: an antifungal resveratrol trimer from grapevines. *Phytochemistry*, **16**, 1452–1454

Sotheeswaran, S., V. and Pasuphaty, 1993, Distribution of resveratrol oligomers in plants, *Phytochemistry*, **32**, 1083–1092

Tanaka T., Ito T., Nakaya K., Inuma, M., Riswan, S., 2000, Oligostilbenoids in stem bark of *Vatica rassak*. *Phytochemistry*, **54**, 63–69

Tukiran, (2003), *Senyawa Mikromolekul dari Beberapa Tumbuhan Meranti (Shorea) Indonesia*. Disertasi Doktor, Departemen Kimia, Institut Teknologi Bandung

Zgoda-Pols, J.R., A.J. Freyer, L.B. Killmer, and J.R. Porter, 2002, Antimicrobial resveratrol tetramers from the stem bark of *Vatica oblongifolia*, *J. Nat. Prod*, **65**, 1554–1559