

M. W. Wartono, *et al.*, *ALCHEMY jurnal penelitian kimia*, vol. 8, no. 1, hal. 16-23

**AMENTOFLAVON DARI DAUN NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* Linn.)
(AMENTOFLAVONE FROM LEAVES OF NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum*
Linn.))**

M. Widyowartono^{1*}, Dian Wulandari¹, Nestri Handayani¹, Venty Suryanti¹ dan Soerya D. Marliyana¹

¹ Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Jl Ir Sutami 36A Ketingan, Surakarta, Jawa Tengah

*e-mail: m.widyowartono@gmail.com

Received 11 December 2011, accepted 20 January 2012, Published 05 March 2012

ABSTRAK

Satu senyawa biflavonoid yaitu amentoflavon (**1**) berhasil diisolasi dari daun tumbuhan nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn). Ekstraksi menggunakan metode maserasi dan pemurnian dengan kromatografi kolom dengan fasa diam Si-gel dan sephadex LH-20. Elusidasi struktur menggunakan metode spektroskopi UV, IR, ¹H dan ¹³C NMR beserta HMQC dan HMBC. Hasil yang diperoleh dianalisis dan dibandingkan dengan data referensi.

Kata kunci: Amentoflavon, biflavonoid, *Calophyllum inophyllum*, Daun

ABSTRACT

Amentoflavone (**1**), a biflavonoid was isolated from leaves of *Calophyllum inophyllum* Linn. Isolation and purification of the compound used maceration and chromatography methods using Si-gel and sephadex LH-20. The structure was determined by UV, IR, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy includes HMQC/HMBC analysis and comparison with references.

Keywords: Amentoflavone, biflavonoid, *Calophyllum inophyllum*, leaves

PENDAHULUAN

Calophyllum inophyllum Linn. (Clusiaceae) dikenal dengan nama nyamplung di Jawa. Tumbuhan ini tumbuh di daerah tropis antara Afrika, Asia Selatan, Asia Tenggara sampai kepulauan Pasifik. Bagian tumbuhan ini banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Getahnya disadap untuk mendapatkan minyak yang diindikasikan berkhasiat untuk menekan pertumbuhan virus, daunnya berkhasiat sebagai obat oles untuk sakit encok, bahan kosmetik untuk perawatan kulit, penyembuhan luka, seperti luka bakar dan luka potong. (Heyne, 1987).

Senyawa kimia yang telah diisolasi dari tumbuhan nyamplung sebagian besar merupakan senyawa aromatik seperti senyawa turunan santon (Jackson *et al.*, 1969; Al-16

Jeboury and Locksley; 1971; Kumar *et al.*, 1976; Goh and Jantan 1991; Iinuma *et al.*, 1994, 1995; Yimdjo *et al.*, 2004), kumarin (Kawazu *et al.*, 1968; Patil *et al.*, 1993; Itoigawa *et al.*, 2001), benzodipiranon (Khan *et al.*, 1996), flavonoid (Subramanian and Nair, 1971; Iinuma *et al.*, 1994), triterpenoid (Kumar *et al.*, 1976; Yimdjo *et al.*, 2004) dan epimer (Ali *et al.*, 1998). Senyawa-senyawa yang telah diisolasi banyak juga yang telah diuji aktivitasnya antara lain kumarin sebagai anti HIV (Patil *et al.*, 1993) dan uji sitotoksik (Yimdjo *et al.*, 2004; Su *et al.*, 2008).

Laporan tentang kandungan senyawa kimia dari tumbuhan nyamplung semuanya menggunakan sampel dari luar Indonesia, padahal tumbuhan ini juga tumbuh di seluruh Indonesia. Pada penelitian ini kami melaporkan isolasi senyawa amentoflavon (**1**) dari daun nyamplung menggunakan sampel dari Klaten, Jawa Tengah.

METODE PENELITIAN

Alat

Struktur molekul ditetapkan dengan metoda spektroskopi yang meliputi spektroskopi ultra violet (UV), infra merah (IR) dan resonansi magnet inti (^1H dan ^{13}C NMR). Spektrum UV ditentukan dengan spektrofotometer mini UV-Vis 1240. Spektrum infra merah dengan mempergunakan spektrofotometer FTIR Shimadzu Pretige-21 dengan metode pelet KBr. Spektrum ^1H dan ^{13}C NMR dengan alat spektrometer JEOL AS-500 yang bekerja pada 500 MHz (^1H) dan 125 MHz (^{13}C) dengan menggunakan TMS sebagai standar.

Bahan

Daun nyamplung dikumpulkan dari daerah Klaten, Jawa Tengah. Identifikasi tumbuhan dilakukan oleh staf di bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Daun yang digunakan dikeringkan dahulu baru digiling sampai berbentuk serbuk kering. Pelarut yang digunakan untuk maserasi dan kromatografi adalah pelarut teknis yang diredestilasi yaitu *n*-heksana, EtOAc dan MeOH. Pelarut CHCl_3 dan Aseton yang digunakan dengan *grade* pro analisis. Sebagai fasa diam untuk kromatografi cair vakum (KCV) mempergunakan silika gel Merck Si-gel 60 G, kromatografi flash dengan silika gel Merck Si-gel 60 (0,04-0,063 mm), kromatografi kolom dengan sephadeks LH-20. Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada pelat aluminium berlapis silika (Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,25 mm). Lampu UV 254 nm digunakan sebagai penanda dan larutan $\text{CeSO}_4\text{-H}_2\text{SO}_4$ digunakan sebagai pereaksi penampak noda pada KLT.

Metode Isolasi dan Pemurnian

Serbuk kering daun *C. inophyllum* sebanyak 5 kg diekstraksi dengan 17 L metanol dan diperoleh ekstrak kering sebanyak 288,4 g. Sampel sebanyak 40 g dipisahkan sebanyak 2 kali (masing-masing 20 g) dengan KCV (10 cm). Fasa gerak yang digunakan adalah campuran antara *n*-heksana : etil asetat dengan perbandingan; 9:1 (2x); 8:2 (4x); 7:3 (2x); 5:5 (2x); 4:6 (2x); dan 0:10 (2x) dengan volume masing-masing sebanyak 150 mL. Hasil penggabungan kedua proses KCV didapatkan 8 fraksi: A (0,73 g), B (0,17 g), C (0,66 g), D (0,305 g), E (3,21 g), F (3,55 g), G (0,77 g) dan H (1,36 g).

Fraksi H selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi *flash* dan didapatkan 9 fraksi utama (H1 (25 mg), H2 (29 mg), H3 (244 mg), H4 (349 mg), H5 (154 mg), H6 (175 mg), H7 (42 mg), H8 (46 mg), dan H9 (41 mg)). Fraksi H4 dipisahkan kembali menggunakan kromatografi *flash* dan didapatkan 4 fraksi (H4a (34 mg), H4b (42 mg), H4c (169 mg) dan H4d (66 mg)). Fraksi H4c dimurnikan lagi menggunakan kromatografi *flash* dihasilkan 5 fraksi (H4c1 (25 mg), H4c2 (10 mg), H4c3 (10 mg), H4c4 (54 mg) dan H4c5 (9 mg)). Fraksi H4c2 sampai H4c4 untuk selanjutnya digabung. Gabungan ketiga fraksi ini (74 mg) selanjutnya dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi *flash* dan didapat 3 fraksi yaitu fraksi H4c4a (12 mg), H4c4b (24 mg) dan H4c4c (19 mg). Fraksi H4c4b dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan sephadex LH-20 (eluen metanol) dan didapatkan senyawa amentoflavon sebanyak 19 mg. Senyawa ini dianalisis strukturnya menggunakan spektrometer UV-Vis, IR dan NMR meliputi ^1H NMR, ^{13}C NMR APT, HMQC dan HMBC.

Amentoflavon (**1**): serbuk kuning. UV MeOH: λ_{maks} 269 dan 331 nm. (MeOH + NaOH): λ_{maks} 275 dan 379 nm. IR (KBr) cm^{-1} : 3240; 1705; 1651; 1574; 1505 dan 1427; ^1H dan ^{13}C NMR (aseton-*d*6): lihat Tabel 1.

PEMBAHASAN

Spektrum UV dari senyawa amentoflavon menunjukkan dua serapan maksimum pada λ_{maks} 269 dan 331 nm. Serapan ini menunjukkan serapan khas dari golongan flavon. Puncak serapan pada λ_{maks} 331 nm merupakan serapan khas dari sistem sinamoiil, sedangkan serapan pada λ_{maks} 269 nm adalah merupakan serapan dari sistem benzoil. Penambahan pereaksi geser NaOH menunjukkan pergeseran batokromik pada λ_{maks} 275 dan 379 nm yang menunjukkan adanya gugus hidroksi fenolik bebas. Spektrum infra merah menunjukkan adanya gugus hidroksi dengan adanya puncak melebar pada bilangan

gelombang 3240 cm^{-1} . Gugus karbonil ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 1705 dan 1651 cm^{-1} , sedangkan gugus aromatik dengan munculnya serapan pada daerah 1574 dan 1505 cm^{-1} . Berdasarkan analisis spektrum IR dapat disimpulkan senyawa hasil isolasi mempunyai gugus hidroksi, gugus karbonil keton dan cincin aromatik. Spektra ^{13}C NMR APT menunjukkan adanya 30 karbon, yang terdiri dari 28 karbon aromatik (12 metin dan 16 kuartener) dan dua karbonil (Tabel 1).

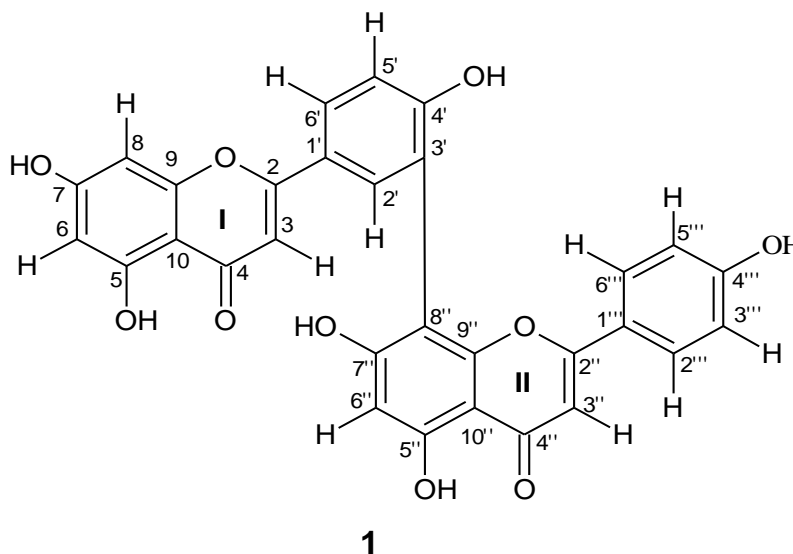
Tabel 1. δ_{H} dan δ_{C} NMR (Aseton-*d*6) serta hubungan dengan data HMQC dan HMBC.

No. C	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm (<i>m, J</i>) (HMQC)	δ_{C} ppm (HMBC)
2	166,1	-	
3	103,3	6,64 (<i>s, 1H</i>)	104,8; 166,1; 183,0
4	183,0	-	
5	163,0	-	
6	99,8	6,19(<i>d,1H, J=2,0</i>)	94,9; 104,8; 163,0; 165,40
7	165,4	-	
8	94,9	6,35(<i>d,1H, J=2,0</i>)	99,8; 104,8; 158,8; 165,4
9	158,8	-	
10	104,8	-	
1'	120,1	-	
2'	132,5	8,30(<i>d,1H, J=1,8</i>)	107,9; 120,1; 127,3; 164,8
3'	124,5	-	
4'	164,8	-	
5'	120,2	7,03 (<i>d,1H, J=8,6</i>)	120,1; 124,5; 164,8
6'	127,3	7,86 (<i>dd,1H, J=8,6; 1,8</i>)	132,5; 164,8
2''	164,3	-	
3''	103,2	6,57 (<i>s, 1H</i>)	103,4; 123,2; 164,3; 183,0
4''	183,0	-	
5''	162,2	-	
6''	102,7	6,22 (<i>s,1H</i>)	103,4; 107,9;124,5; 156,1; 162,2; 171,33
7''	171,3	-	
8''	107,9	-	
9''	156,1	-	
10''	103,4	-	
1'''	123,2	-	
2'''/6'''	129,0	7,69(<i>d,2H, J=8,6</i>)	116,6; 129,0; 161,8; 164,3
3'''/5'''	116,6	6,68 (<i>d,2H, J=8,6</i>)	116,6; 123,2; 161,8
4'''	161,8	-	
5-OH	-	13,15	-
5''-OH	-	13,05	-

Data diatas sesuai untuk senyawa golongan biflavonoid. Hasil ini juga diperkuat dari data spektra ^1H NMR. Analisis spektra menunjukkan adanya 10 puncak proton aromatik yang mewakili 12 proton. Hal ini menunjukkan adanya dua proton simetris yang

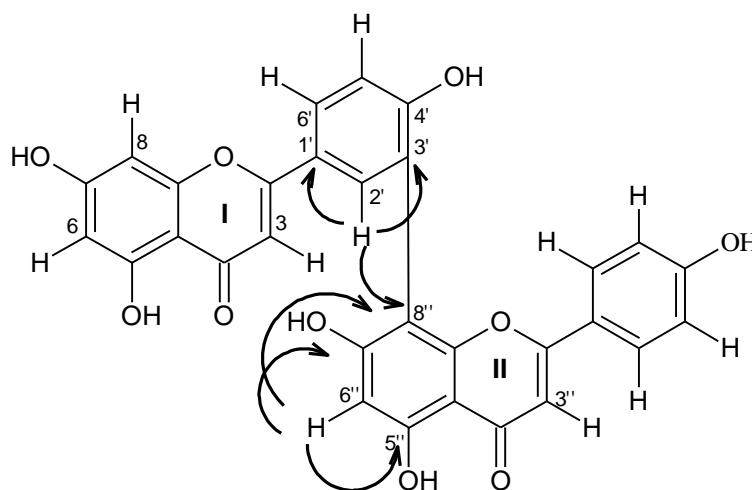
muncul pada satu puncak yang sama. Kedua proton tersebut berada pada geseran kimia δ_H 6,68 (*d*, 2H, $J=8,6$) dan 7,69 ppm (*d*, 2H, $J=8,6$). Data HMQC menunjukkan hubungan antara δ_H 6,68 dengan δ_C 116,5; sedangkan δ_H 7,69 dengan δ_C 128,9 ppm. Puncak pada ^{13}C NMR juga menunjukkan satu puncak mewakili dua karbon. Tetapan kopling sebesar 8,6 menunjukkan kedua proton pada posisi orto. Sistem ini pada cincin aromatik hanya ditunjukkan oleh sistem para disubstitusi. Dimana sistem para disubstitusi pada flavon hanya mungkin pada cincin B.

Data spektrum 1H NMR juga menunjukkan adanya tiga proton aromatik yang memperlihatkan sistem ABX yaitu proton pada δ_H 7,03 (*d*, J : 8,6); 7,86 (*dd*, J : 8,6 dan 1,8); dan 8,30 (*d*, J : 1,8). Proton δ_H 7,03 dan 7,86 ppm mempunyai tetapan kopling sama yaitu 8,6. Tetapan ini menandakan bahwa kedua proton tersebut berkopling orto, sehingga posisi dari kedua proton tersebut pada posisi orto. Proton pada δ_H 7,86 dan 8,30 ppm mempunyai tetapan kopling sama yaitu sebesar 1,8 yang menandakan bahwa kedua proton tersebut berkopling meta, sehingga menunjukkan kedua proton tersebut berada pada posisi meta. Sistem ini adalah khas suatu sistem ABX pada cincin aromatik. Sistem ABX pada senyawa flavon biasanya terdapat pada cincin B.



Puncak proton yang berada pada δ_H 6,19 (*d*, 1H, $J=2,0$) dan 6,35 ppm (*d*, 1H, $J=2,0$) menunjukkan adanya dua proton pada posisi meta. Hal ini biasanya terdapat pada cincin A senyawa flavon yaitu pada C6 dan C8. Dua puncak singlet pada 6,64 (*s*) dan 6,57 (*s*) ppm merupakan proton alkena pada posisi C3 dan C3'' pada cincin C. Puncak pada δ_H 6,22 (*s*) merupakan Proton aromatik pada cincin A, proton ini terikat pada C6''. Dari data jumlah atom karbon dan proton dan adanya sistem ABX, para disubstitusi dan sistem meta

dua proton menunjukkan suatu senyawa biflavonoid yang terikat antara C3' cincin B (unit I) dengan C8'' pada cincin A (Unit II). Jadi posisi ikatan pada unit I dengan unit II pada senyawa hasil isolasi adalah pada C3' dengan C8''. Hal ini didukung oleh data proton pada δ_H 8,30 ppm yang terdapat pada C2' berkorelasi dengan C8'' (107,91 ppm) dimana C 107,9 ppm ini terdapat pada unit II. Sementara proton δ_H 6,22 ppm juga mempunyai korelasi dengan δ_C 107,9 ppm tersebut (Gambar 1). Berdasarkan uraian analisa tersebut dapat diketahui posisi ikatan antara unit I dengan unit II pada senyawa biflavonoid hasil isolasi adalah berada pada posisi C3' dengan C8''. Data HMBC (Tabel 1) menunjukkan korelasi masing-masing proton dengan karbon pada jarak 2-3 ikatan. Dari data-data dan perbandingan dengan referensi (Sanomiya *et al.* 2004) maka struktur senyawa yang kami sarankan adalah amentoflavon (**1**).



Gambar 1. Beberapa hubungan penting proton–karbon dari data HMBC.

KESIMPULAN

Hasil isolasi dari daun *C. inophyllum* adalah senyawa biflavonoid yaitu amentoflavon.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Dirjen Dikti yang telah memberikan hibah penelitian stranas pada penulis dan kepada LIPI Kimia Serpong yang telah memberikan fasilitas pengukuran NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M.S., Mahmud, S., Perveen, S., Ahmad, V.U., and Rizwani, G.H., 1998, Epimers from The Leaves of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*, vol. 50, pp. 1385-1389.
- Al-Jeboury, F.S. and Locksley, H.D., 1971, Xanthonenes in The Heartwood of *Calophyllum inophyllum*: A Geographical Survey, *Phytochemistry*, vol. 10, pp. 603-606.
- Goh, S.H., and Jantan. I., 1991, A Xanthone from *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*, vol. 30, pp. 366-367.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia III*, Penerjemah: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Yayasan Sarana Wahajaya, Jakarta, hal. 1385–1386.
- Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka T., and Yonemori, S., 1994, Two Xanthonenes from Root Bark of *Calophyllum*, *Phytochemistry*, vol. 35, pp. 572-532.
- Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka T., and Yonemori, S., 1995, Two Xanthonenes from Roots of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*, vol. 38, pp. 725-728.
- Itoigawa, M., Ito, C., Tan, H.T.W., Kuchide, M., and Tokuda, H., 2001, Cancer Chemopreventive Agents, 4-phenylcoumarins from *Calophyllum inophyllum*, *Cancer Letters*, vol. 169, pp. 15-19.
- Jackson, B., Locksley H.D., and Scheinmann, F., 1969, The Isolation Of 6-Desoxyjacareubin, 2-(3,3-Dimethylallyl)-1,3,5,6-Tetrahydroxy Xanthone and Jacareubin from *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*, vol. 8, pp. 927-929.
- Kawazu, K., Ohigashi, H., and Mitsui, T., 1968, The Piscicidal Constituents of *Calophyllum inophyllum* Linn., *Tetrahedron Letters*, vol. 9, pp. 2383-2385.
- Khan, N.U., Parveen, N., Singh, M.P., Singh, R., and Achari, B., 1996, Two Isomeric Benzodipyrone Derivatives from *Calophyllum Inophyllum*, *Phytochemistry*, 42, pp. 1181-1183.
- Kumar, V., Ramachandran, S., and Sultanbawa, M.U.S., 1976, Xanthonenes and Triterpenoids from Timber of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*. vol. 15, pp. 2016-2017.
- Patil, A.D., Freyer, A.J., Eggleston, D.S., Haltiwanger, R.C., and Bean, M.F., 1993, The Inophyllums, Novel Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase Isolated from the Malaysian Tree, *Calophyllum inophyllum* Linn., *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 36, pp. 4131-4138.
- Sannomiya, M., Rodrigues, C.M., Coelho, R.G., Dos Santos, L.C., and Lima, C.A.H., 2004, Application of Preparative High-Speed Counter-Current Chromatography for The Separation of Flavonoids from The Leaves of *Byrsonima crassa* Niedenzu (IK). *Journal of Chromatography A*, vol. 1035, pp. 47–51.
- Su, X.H., Zhang, M.L., Li, L.G., Huo, C.H., and Gu, Y.C., 2008, Chemical Constituent of the Plants of The Genus *Calophyllum*, *Chemistry & Biodiversity*, vol. 5, pp. 2579-2608.
- Subramanian, S.S., and Nair, A.G.R., 1971, Myricetin-7-Glucoside from The Andraecium of The Flowers of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*, vol. 10, pp. 1679-1680.

Yimdjo, M.C., Azebaze, A.G., Nkengfack, A.E., Meyer, A.M. and Bodo, B., 2004, Antimicrobial and Cytotoxic Agents from *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*, vol. 65, pp. 2789-2795.