

LIMA SENYAWA CALKON DARI KULIT BATANG *CRYPTOCARYA PHOEBEOPSIS* (LAURACEAE) DAN SIFAT SITOTOKSIKNYA TERHADAP SEL P 388, SEL HCT 166 DAN SEL A549

Fera Kurniadewi¹, Yana M Syah², Lia D². Juliawaty² dan Euis H. Hakim²

¹ Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Jakarta. Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun Jakarta. Indonesia 13220

² Kelompok Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganeca 10 Bandung 40132. Indonesia

Corresponding author: fera@unj.ac.id (Fera Kurniadewi)

Abstrak

Cryptocarya merupakan salah satu genus besar dari famili tumbuhan Lauraceae dan tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Genus ini dikenal sebagai sumber yang kaya akan senyawa flavonoid, alkaloid, piron, dan triterpen. Sebagai bagian dari kajian fitokimia dan evaluasi biologis dari beberapa spesies *Cryptocarya* yang berasal dari Indonesia, kami meneliti tumbuhan *C. phoebeopsis* yang berasal dari Sorong, Papua, Indonesia. Hasil kajian fitokimia terhadap spesies ini menghasilkan lima senyawa calkon yaitu infektokaryon (1), kriptokaryon (2), kurzicalkolakton A (3), B (4) dan calkokaryanon C (5). Penentuan struktur senyawa hasil isolasi dilakukan berdasarkan analisis data spektroskopi (UV, IR, NMR, MS). Hasil uji bioaktivitas senyawa hasil isolasi untuk aktivitas sitotoksiknya terhadap sel murine leukemia P388, sel HCT 116 (kanker usus besar) dan sel A549 (adenokarsinoma paru-paru), terlihat bahwa infektokaryon (1) dan kriptokaryon (2) menunjukkan aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel murine leukemia P388 dan sel HCT 116.

Abstract

Cryptocarya is one of the large genera of Lauraceae and growing in tropical and subtropical regions. This genus is known to be a rich source of flavonoids, alkaloids, pyrones, and triterpenes. As part of our chemical and biological evaluation of the *Cryptocarya* species growing in Indonesia, we examined *C. phoebeopsis* collecting from Sorong, Papua, Indonesia. Our investigation of chemical constituents on this species afforded five chalcone compounds namely infectocaryone (1), cryptocaryone (2), kurzichalcolactone A (3), B (4) and chalcocaryanonone C (5). The structures of these compounds were elucidated based on spectroscopic analysis (UV, IR, NMR, MS). On biological evaluation of these compounds for their cytotoxic activity against murine leukemia P388 cells, HCT 116 (colon cancer) cell line and A549 (Human lung adenocarcinoma epithelial) cell line. it was found that infectocaryone (1) and cryptocaryone (2) exhibited strong inhibition activities against murine leukemia P388 cells and HCT 116 cell line.

Keywords

Calcon, *Cryptocarya phoebeopsis*, Sel Murine Leukemia P388, Sel HCT 116 dan Sel A549

1. Pendahuluan

Tumbuhan *Cryptocarya* yang di Indonesia lebih dikenal dengan nama daerah “medang” atau “huru” termasuk dalam tumbuhan famili Lauraceae. Genus *Cryptocarya* memiliki sekitar 200 spesies yang tersebar di daerah Asia, Australia dan Melanesia [1]. Hasil penelusuran literatur memperlihatkan bahwa kajian fitokimia telah dilakukan terhadap 37 dari 200 spesies *Cryptocarya*, 13 spesies diantaranya berasal dari Indonesia [2]. Dari hasil penelitian tersebut diketahui bahwa *Cryptocarya* menghasilkan beberapa jenis metabolit sekunder antara lain yang termasuk golongan

senyawa alkaloid, α -piron, flavonoid, lignan, terpenoid, dan steroid dimana kandungan kimia yang paling banyak ditemukan dari genus ini adalah senyawa turunan flavonoid, alkaloid dan α -piron [3]. Salah satu spesies *Cryptocarya* yaitu *C. phoebeopsis*, dipilih sebagai sampel penelitian ini, karena kajian fitokimianya belum pernah dilaporkan sebelumnya. Dalam artikel ini disampaikan penemuan senyawa turunan calkon yaitu infektokaryon (1), kriptokaryon (2), kurzicalkolakton A (3), kurzicalkolakton B (4), dan calkokaryanon C (5) (**Gambar 1**) dari ekstrak metanol kulit batang *C. phoebeopsis*.

Struktur molekul kelima senyawa tersebut ditetapkan berdasarkan data spektroskopi UV, IR, NMR 1-D, dan NMR 2-D serta perbandingan dengan data sejenis yang telah dilaporkan. Sedangkan sifat sitotoksiknya ditentukan dengan menggunakan sel murin leukemia P-388, sel HCT 116 dan sel A549.

2. Experimental/Metodologi Penelitian

Umum.

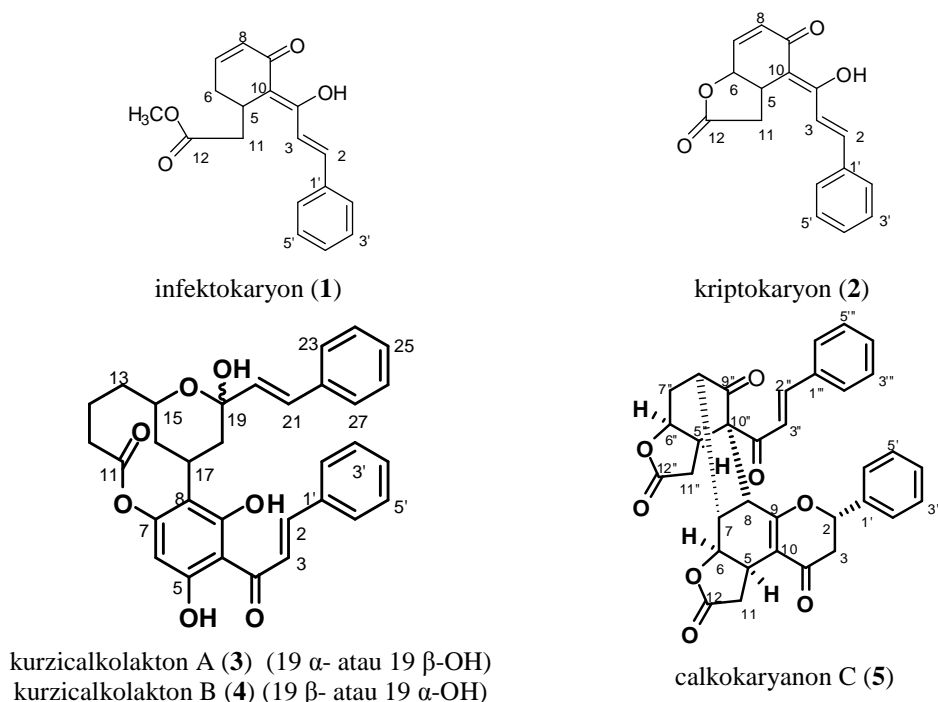
Penentuan titik leleh dilakukan dengan alat ukur titik leleh mikro Fisher-John tanpa koreksi. HPLC menggunakan pompa Shenshu Scientific SSC-346, detektor UV/VIS SSC-5410 dan kolom Shenshu pak PEGASIL. Spektrum UV ditentukan dengan spektrofotometer Varian Conc. 100. Spektrum IR diukur dengan menggunakan spektrofotometer Perkin Elmer FTIR *Spectrum One* dengan metode pelet KBr. Spektrum ^1H NMR dan ^{13}C NMR diukur dengan alat spektrometer JEOL AS 500 yang bekerja pada 500 (^1H) dan 125 (^{13}C) MHz dengan menggunakan puncak residu dan pelarut terdeuterasi sebagai standar. Spektrum MS diukur dengan mempergunakan spektrometer massa JEOL JMS-700 (model EI). Spektrum CD (*circular dichroism*) menggunakan spektropolarimeter JASCO-820 (menggunakan gas N_2).

Kromatografi cair vakum menggunakan Si-gel 60 GF₂₅₄ (Merck), kromatografi kolom tekan menggunakan Si-gel 60 (230-400 mesh) (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. Sampel tumbuhan berupa kulit batang *C. phoebeopsis* berasal dari daerah Sorong, Papua, yang dikumpulkan pada bulan Agustus tahun 2007. Identitas tumbuhan ditetapkan di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Cibinong. Spesimen tumbuhan tersebut disimpan di herbarium tersebut.

Ekstraksi dan Isolasi. Serbuk kulit batang *C. phoebeopsis* (3,02 Kg) dimaserasi dengan metanol (2 x 24 jam). Ekstrak metanol dikeringkan pada tekanan rendah, menghasilkan padatan kental berwarna coklat (97,65 gram). Ekstrak metanol tersebut dilarutkan dalam MeOH-air kemudian dipartisi cair-cair dengan *n*-heksana/EtOAc:3/7). Fraksi yang terlarut dalam *n*-heksana/EtOAc: 3/7 dikeringkan pada tekanan rendah menghasilkan padatan coklat (39,2 gram). Fraksi *n*-heksana/EtOAc tersebut kemudian difraksinasi dengan kromatografi vakum cair (KVC) (silika gel, eluen *n*-heksana-EtOAc, EtOAc) menghasilkan 7 fraksi utama (A-G, masing-masing 0,80, 2,06, 7,11, 5,50, 10,49, 12, 83, 3,98 g). Fraksi D (5,50 g) selanjutnya difraksinasi dengan kromatografi gravitasi (silika gel, eluen CHCl_3 , dan pemurnian dengan HPLC (silika gel, eluen CHCl_3 : MeOH = 500:1) menghasilkan infektokaryon (**1**, 27 mg) dan kriptokaryon (**2**, 72.9 mg). Dengan cara yang sama seperti terhadap fraksi D di atas, dari Fraksi F diperoleh kurzicalkolakton A (**3**, 37.2 mg) dan kurzicalkolakton B (**4**, 8 mg), sementara dari fraksi G diperoleh kalkokaryanon C (**5**, 8 mg).

Uji sifat biologis. Aktivitas sitotoksik kelima senyawa hasil isolasi tersebut dilakukan terhadap sel murin leukemia P-388, sel HCT 116 dan sel A 549 melalui pewarnaan pereaksi MTT. Pengujian dilakukan dengan cara menambahkan berbagai konsentrasi kelima senyawa tersebut ke dalam biakan sel tumor P-388. Setelah diinkubasi selama 48 jam, ke dalam sampel ditambahkan pereaksi warna MTT dan diinkubasikan kembali selama 4 jam. Jumlah sel tumor P-388 yang terinhibisi oleh sampel diukur dari serapannya dengan menggunakan alat pembaca pelat mikro pada λ 540 nm setelah penambahan larutan penghenti pertumbuhan. Nilai IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) dihitung melalui interpolasi garis 50% serapan kontrol positif pada kurva serapan terhadap berbagai konsentrasi sampel menggunakan program OriginPro 70.

Gambar 1. Senyawa turunan Calkon dari kulit batang *C. phoebeopsis*

sampel diukur dari serapannya dengan menggunakan alat pembaca pelat mikro pada λ 540 nm setelah penambahan larutan penghenti pertumbuhan. Nilai IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) dihitung melalui interpolasi garis 50% serapan kontrol positif pada kurva serapan terhadap berbagai konsentrasi sampel menggunakan program OriginPro 70.

Infektokaryon (1), diperoleh berupa gum berwarna coklat, $[\alpha]_D = +28.0$ (c 0,1; MeOH), UV λ_{max} (MeOH) (nm) ($\log \epsilon$) UV λ_{max} (MeOH) (nm) ($\log \epsilon$) 203 (4,69), 283 (4,52), 380 (4,50); UV (MeOH + NaOH) λ_{max} (nm) ($\log \epsilon$) 288 (4,68), 401 (4,40). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3433 (OH), 2923 (C-H alifatik), 1735 (C=O ester), 1631 (C=O terkonjugasi), 1577-1161 (C=C aromatik). Spektrum ^1H NMR (400 MHz, aseton- d_6) (ppm) : 16,20 (1H, s, 4-OH); 7,62 (1H, d , $J=15,6$ Hz, H-2); 7,20 (1H, d , $J=15,6$ Hz, H-3); 3,65 (1H, m , H-5); 2,58 (1H, dd , $J=6,3$; 14,8 Hz, H-6 α); 2,65 (1H, m , H-6 β); 6,83 (1H, ddd , $J=2,9$; 7,8; 10, H-7); 6,12 (1H, dd , $J=2,9$; 10, H-8); 2,42 (1H, dd , $J=6,6$; 14,6 Hz, H-

11 α); 2,63 (1H, dd , $J=6,0$; 14,6 Hz, H-11 β); 7,67 (2H, d , $J=6,8$, H-2'; H-6'); 7,44 (3H, m , H-3'/H-5'; H-4'). Spektrum ^{13}C NMR (100 MHz, aseton- d_6) (ppm): 140,1 (C-2); 119,7 (C-3); 172,6 (C-4); 29,5 (C-5); 29,4 (C-6); 146,2 (C-7); 129,4 (C-8); 189,6 (C-9); 110,0 (C-10); 40,6 (C-11); 172,9 (C-12); 51,9 (C-13); 136,6 (C-1'); 128,9 (C-2', C-6'); 129,6 (C-3', C-5'); 130,6 (C-4'). HREIMS m/z : $[M]^+$ 298.1204 (perhitungan $[M]^+$ untuk $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_4$: 298.1205)

Kriptokaryon (2), diperoleh berupa gum berwarna coklat, $[\alpha]_D = +200.0$ (c 0,1; MeOH), UV λ_{max} (MeOH) (nm) ($\log \epsilon$) 203 (4,29), 287 (4,05), 348 (4,09), 383 (4,32) nm; UV (MeOH + NaOH) λ_{max} (nm) ($\log \epsilon$) 290 (4,21), 408 (4,10). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3567 (OH), 2918 (C-H alifatik), 1776 (C=O ester), 1629 (C=O terkonjugasi), 1579-1147 (C=C aromatik). Spektrum ^1H NMR (400 MHz, aseton- d_6) (ppm) : 15,90 (1H, s, 4-OH); 7,75 (1H, d , $J=15,4$ Hz, H-2); 6,79 (1H, d , $J=15,4$ Hz, H-3); 3,99 (1H, ddd , $J=8,7$; 10,2; 12 Hz, H-5); 5,46 (2H, dd , $J=1,8$; 10,2 Hz, H-6); 6,52 (1H, bd , $J=10,2$, H-7); 6,18

Tabel 1 Data spektrum ^1H , dan ^{13}C - NMR Infektokaryon dan Kriptokaryon (2)

No. C	δ_{H} (multiplisitas, J dlm Hz)		δ_{C}			
	1	2	1	2	1*	2*
2	7,62 (<i>d</i> , 15,6)	7,75 (<i>d</i> , 15,4)	140,1	142,1	140,4	142,2
3	7,20 (<i>d</i> , 15,6)	6,79 (<i>d</i> , 15,4)	119,7	116,7	118,1	116,9
4	-	-	172,6	173,8	172,6	174,1
5	3,65 (<i>m</i>)	3,99 (<i>ddd</i> , 8,7, 10,2 & 12)	29,5	33,7	29,7	33,7
6	2,58 (<i>dd</i> , 6,3 & 14,8) 2,65 (<i>ddd</i> , 2,9, 7,8 & 14,8)	5,46 (<i>dd</i> , 1,8 & 10,2))	29,4	76,1	29,6	76,2
7	6,83 (<i>ddd</i> , 2,9, 7,8 & 10))	6,52 (<i>bd</i> , 10,2)	146,2	139,7	144,1	140,2
8	6,12 (<i>dd</i> , 2,9 & 10)	6,18 (<i>dd</i> , 1,8 & 10,2)	129,4	129,8	129,4	130,0
9	-	-	189,6	185,6	188,3	185,8
10	-	-	110,0	103,3	108,4	103,5
11 α	2,42 (<i>dd</i> , 6,5 & 14,6)	2,59 (<i>dd</i> , 12 & 17,6)	40,6	35,2	40,0	35,2
11 β	2,63 (<i>dd</i> , 6,0 & 14,6)	2,78 (<i>dd</i> , 8,7 & 17,6)				
12	-	-	172,9	174,3	172,7	174,6
13	-	-	51,9	-	51,9	-
1'	-	-	136,6	134,6	135,5	134,8
2'/6'	7,67 (<i>d</i> , 6,8)	7,55 (<i>m</i>)	128,9	128,1	128,1	128,3
3'/5'	7,44 (<i>m</i>)	7,39 (<i>m</i>)	129,6	128,7	129,0	129,0
4'	7,44 (<i>m</i>)	7,39 (<i>m</i>)	130,6	130,4	130,0	130,5
OH-4	16,2 (<i>s</i>)	15,9 (<i>s</i>)	-	-	-	-
CH ₃ O-12	3,65 (<i>s</i>)	-				

*Senyawa **1** dan **2** diukur dalam aseton- d_6 , senyawa **1*** dan **2*** diambil dari Dumontet dkk.

(1H, *dd*, $J=1,8$; 10,2 Hz, H-8); 2,59 (1H, *dd*, $J=12$; 17,6 Hz, H-11 α); 2,78 (1H, *dd*, $J=8,7$; 17,6 Hz, H-11 β); 7,55 (2H, *m*, H-2'; H-6'); 7,39 (3H, *m*, H-3'/H-5'; H-4'). Spektrum ^{13}C NMR (100 MHz, aseton- d_6) (ppm): 142,1 (C-2); 116,7 (C-3); 173,8 (C-4); 33,7 (C-5); 76,1 (C-6); 139,7 (C-7); 129,8 (C-8); 185,6 (C-9); 103,3 (C-10); 35,2 (C-11); 174,3 (C-12); 134,6 (C-1'); 128,1 (C-2', C-6'); 128,7 (C-3', C-5'); 130,4 (C-4').

Kurzicalakton A (3), diperoleh berupa padatan berwarna oranye, $[\alpha]_{\text{D}} = -208,06$ (c 0,01; MeOH), UV λ_{max} (MeOH) (nm) (log ϵ) 210 (3,79), 252 (3,69), 345 (3,69)nm; UV (MeOH + NaOH) λ_{max} (nm) (log ϵ) 252 (3,84), 395 (3,75). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3355 (OH), 2923 (C-H alifatik), 1708 (C=O), 1627 (C=O terkonjugasi), 1550-1161 (C=C aromatik). Spektrum ^1H NMR

(400 MHz, aseton- d_6) (ppm) : 14,14 (1H, *s*, 5-OH); 7,71 (1H, *d*, $J=15,2$ Hz, H-2); 8,20 (1H, *d*, $J=15,2$ Hz, H-3); 6,08 (1H, *s*, H-6); 2,28 (1H, *t*, $J=6,7$ Hz, H-12); 1,60-1,74 (6H, *m*, H-13; H-14; H-16); 3,75 (1H, *m*, H-15); 3,52 (1H, *m*, H-17); 2,13 (1H, *dd*, $J=2,45$; 12,2 Hz, H-18 α); 2,04 (1H, *dd*, $J=2,45$; 12,2 Hz, H-18 β); 6,67 (1H, *d*, $J=16,2$ Hz, H-20); 7,10 (1H, *d*, $J=16,2$ Hz, H-21); 7,52 (1H, *d*, $J=7,3$ Hz, H-23); 7,50 (2H, *d*, $J=7,35$ Hz, H-2'; H-6'); 7,16 (2H, *m*, H-3'; H-5'); 6,92 (1H, *t*, $J=7,95$, H-4'). Spektrum ^{13}C NMR (100 MHz, aseton- d_6) (ppm): 142,6(C-2); 128,6 (C-3); 192,9 (C-4); 162,0 (C-5); 96,5 (C-6); 166,9 (C-7); 105,7 (C-8); 159,5 (C-9); 105,0 (C-10); 174,6 (C-11); 34,0 (C-12); 21,63 (C-13); 35,6 (C-14); 70,9 (C-15); 36,1 (C-16); 24,1 (C-17); 33,9 (C-18); 99,6 (C-19); 130,6 (C-20); 131,9 (C-21); 137,1 (C-22); 127,8 (C-23, C-27); 129,0 (C-24, C-25, C-26); 136,1 (C-1'), 129,6 (C-3', C-4', C-5'); 130,6

Tabel 2. Data spektrum ^1H dan ^{13}C NMR Kurzicalkolakton A (3) dan B (4)

No. C	δ_{H} (multiplisitas, J dlm Hz)		δ_{C}			
	3	4	3	4	3*	4*
2	7,71 (<i>d</i> , 15,2)	7,81 (<i>d</i> , 15,8)	142,6	142,9	143,3	143,1
3	8,20 (<i>d</i> , 15,2)	8,29 (<i>d</i> , 15,8)	128,6	128,5	128,9	128,6
4	-	-	192,9	193,6	193,4	193,8
5	-	-	162,0	163,3	162,6	163,5
6	6,08 (<i>s</i>)	6,07 (<i>s</i>)	96,5	94,8	97,0	94,9
7	-	-	166,9	164,3	167,4	164,5
8	-	-	105,7	106,2	105,5	106,2
9	-	-	159,5	160,6	159,6	161,0
10	-	-	105,0	106,1	106,2	106,1
11	-	-	174,6	174,4	175,1	174,7
12	2,28 (<i>t</i> , 6,7)	2,29 (<i>t</i> , 6,8)	34,0	34,7	34,6	34,7
13	1,60-1,74 (<i>m</i>)	1,50-1,79 (<i>m</i>)	21,6	24,0	22,1	23,9
14	1,60-1,74 (<i>m</i>)	1,50-1,79 (<i>m</i>)	35,6	35,9	36,1	35,9
15	3,75 (<i>m</i>)	3,70 (<i>m</i>)	70,9	70,9	71,4	71,0
16	1,60-1,74 (<i>m</i>)	1,50-1,79 (<i>m</i>)	36,1	36,4	36,5	36,1
17	3,52 (<i>m</i>)	3,54 (<i>m</i>)	24,1	21,9	24,6	21,9
18	2,04 (<i>dd</i> , 2,4 & 12,1)	2,04 (<i>dd</i> , 3,1 & 12,8)	33,9	34,2	34,4	34,2
	2,13 (<i>dd</i> , 2,4 & 12,1)	2,13 (<i>dd</i> , 2,9 & 12,8)				
19	-	-	99,6	99,3	100,0	99,4
20	6,67 (<i>d</i> , 16,2)	6,41 (<i>d</i> , 16,2)	130,6	131,2	132,4	131,4
21	7,10 (<i>d</i> , 16,2)	6,92 (<i>d</i> , 16,2)	131,9	131,0	131,0	131,2
22	-	-	137,1	137,2	137,5	137,3
23	7,52 (<i>d</i> , 7,3)	7,46 (<i>d</i> , 8,5)	127,8	127,7	128,3	127,8
24	7,34 (<i>m</i>)	7,35 (<i>m</i>)	129,0	129,2	129,5	129,3
25	7,34 (<i>m</i>)	7,25 (<i>m</i>)	129,0	128,9	129,5	129,0
26	7,34 (<i>m</i>)	7,35 (<i>m</i>)	129,0	129,2	129,5	129,3
27	7,52 (<i>d</i> , 7,3)	7,46 (<i>d</i> , 8,5)	127,8	128,9	128,3	127,8
1'	-	-	136,1	129,2	136,7	136,6
2'	7,50 (<i>d</i> , 7,4)	7,70 (<i>m</i>)	129,6	127,7	130,0	129,6
3'	7,16 (<i>m</i>)	7,41 (<i>m</i>)	130,6	136,5	130,0	130,0
4'	6,92 (<i>t</i> , 7,9)	7,41 (<i>m</i>)	129,6	129,5	130,0	130,9
5'	7,16 (<i>m</i>)	7,41 (<i>m</i>)	130,6	129,8	130,0	130,0
6'	7,50 (<i>d</i> , 7,4)	7,70 (<i>m</i>)	129,6	129,5	130,0	129,6
OH-5	14,14 (<i>s</i>)	14,50 (<i>s</i>)	-	-	-	-

Senyawa 3 & 4 diukur dalam aseton- d_6 , senyawa 3 & 4* diambil dari Dumontet dkk. (2004).

(C-2', C-6'). HREIMS m/z : $[\text{M}]^+$ 526.2000 (perhitungan $[\text{M}]^+$ untuk $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{O}_7$: 526.2042) Kurzicalkolakton B (4), diperoleh berupa padatan berwarna kuning, $[\alpha]_{\text{D}} = -895,84$ (c 0,02; MeOH), UV λ_{max} (MeOH) (nm) ($\log \epsilon$) 210 (3,79), 252 (3,69), 345 (3,69) nm; UV (MeOH + NaOH) λ_{max} (nm) ($\log \epsilon$) 252 (3,84), 395 (3,75). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3355 (OH), 2923 (C-H alifatik), 1708 (C=O), 1627 (C=O terkonjugasi), 1550-1161 (C=C aromatik). Spektrum ^1H NMR (400 MHz, aseton- d_6) (ppm): 14,5 (1H, s, 5-

OH); 7,81 (1H, *d*, $J=15,8$ Hz, H-2); 8,29 (1H, *d*, $J=15,8$ Hz, H-3); 6,07 (1H, *s*, H-6); 2,29 (1H, *t*, $J=6,8$ Hz, H-12); 1,50-1,79 (6H, *m*, H-13; H-14; H-16); 3,70 (1H, *m*, H-15); 3,54 (1H, *m*, H-17); 2,13 (1H, *dd*, $J=2,9$; 12,8 Hz, H-18 α); 2,04 (1H, *dd*, $J=3,1$; 12,8 Hz, H-18 β); 6,41 (1H, *d*, $J=16,2$ Hz, H-20); 6,92 (1H, *d*, $J=16,2$ Hz, H-21); 7,46 (1H, *d*, $J=8,5$ Hz, H-23; H-27); 7,35 (2H, *m*, H-24; H-26); 7,27 (1H, *m*, H-25); 7,70 (2H, *m*, H-2'; H-6'); 7,41 (3H, *m*, H-3'; H-4'; H-5'). Spektrum ^{13}C NMR (100 MHz, aseton- d_6)

Tabel 3. Data spektrum ^1H , dan ^{13}C - NMR Calkokaryanon C (5)

No. C	δ_{H} (multiplisitas, J dlm Hz)		δ_{C}	
	5	5*	5	5*
2	5,19 (<i>dd</i> , 2,7 & 16,0)	5,20 (<i>dd</i> , 2,8 & 15,3)	80,8	80,9
3 α	2,80 (<i>dd</i> , 16,0 & 17,0)	2,81 (<i>dd</i> , 15,3 & 17,3)	41,6	41,8
3 β	2,54 (<i>dd</i> , 2,7 & 17,0)	2,55 (<i>dd</i> , 2,8 & 17,3)		
4	-	-	190,6	190,8
5	3,42 (<i>brt</i> , 5,6)	3,42 (<i>brt</i> , 6,2)	32,8	32,8
6	4,79 (<i>dd</i> , 2,5 & 7)	4,80 (<i>dd</i> , 2,3 & 4,8)	79,1	79,3
7	2,85 (<i>brd</i> , 8,0)	2,87 (<i>brd</i> , 8,7)	33,7	33,7
8	4,06 (<i>d</i> , 9,5)	4,06 (<i>d</i> , 8,7)	38,3	38,4
9	-	-	168,7	169,0
10	-	-	111,0	111,0
11 α	3,04 (<i>dd</i> , 7,3 & 17,6)	3,06 (<i>dd</i> , 7,4 & 17,8)	37,6	37,7
11 β	2,72 (<i>brd</i> , 17,6)	2,79 (<i>brd</i> , 17,8)		
12	-	-	174,3	174,6
1'	-	-	135,2	135,5
2'	7,16 (<i>dd</i> , 1,5 & 7,2)	7,16 (<i>m</i>)	126,8	127,0
3'	6,86 (<i>m</i>)	6,88 (<i>m</i>)	128,3	128,4
4'	6,86 (<i>m</i>)	6,88 (<i>m</i>)	128,7	128,8
5'	6,86 (<i>m</i>)	6,88 (<i>m</i>)	128,3	128,4
6'	7,16 (<i>dd</i> , 1,5 & 7,2)	7,16 (<i>m</i>)	126,8	127,0
2''	7,77 (<i>d</i> , 15,7)	7,77 (<i>d</i> , 15,7)	144,9	145,1
3''	7,26 (<i>d</i> , 15,7)	7,27 (<i>d</i> , 15,7)	123,7	124,0
4''	-	-	194,8	195,1
5''	3,35 (<i>ddd</i> , 3,0, 8,9 & 11,2)	3,36 (<i>ddd</i> , 2,9, 8,4 & 11,1)	41,7	41,7
6''	4,91 (<i>brdd</i> , 4,9 & 8,9)	4,92 (<i>brdd</i> , 4,0 & 8,4)	78,4	78,4
7'' α	2,67 (<i>brd</i> , 8,9 & 20,5)	2,67 (<i>brd</i> , 20,5)	36,2	36,3
7'' β	2,22 (<i>dd</i> , 3,0 & 20,5)	2,22 (<i>brd</i> , 3,2 & 20,5)		
8''	2,86 (<i>m</i>)	2,87 (<i>m</i>)	34,6	34,7
9''	-	-	205,5	205,9
10''	-	-	62,8	62,9
11'' α	2,69 (<i>dd</i> , 11,2 & 20,0)	2,70 (<i>dd</i> , 11,1 & 19,3)	30,1	30,1
11'' β	2,37 (<i>dd</i> , 3,0 & 20,0)	2,38 (<i>dd</i> , 2,9 & 19,3)		
12''	-	-	173,6	173,9
1'''	-	-	134,4	134,5
2'''	7,43 (<i>m</i>)	7,44 (<i>m</i>)	128,9	128,8
3'''	7,43 (<i>m</i>)	7,44 (<i>m</i>)	129,0	129,1
4'''	7,43 (<i>m</i>)	7,44 (<i>m</i>)	130,9	131,1
5'''	7,43 (<i>m</i>)	7,44 (<i>m</i>)	129,0	129,1
6'''	7,43 (<i>m</i>)	7,44 (<i>m</i>)	128,9	128,8

Senyawa 5 diukur dalam CDCl_3 , senyawa 5 diambil dari Dumontet dkk. (2001).

(ppm): 142,9 (C-2); 128,5 (C-3); 193,6 (C-4); 163,3 (C-5); 94,8 (C-6); 164,3 (C-7); 106,1 (C-8); 160,6 (C-9); 106,1 (C-10); 174,4 (C-11); 34,7 (C-12); 24,0 (C-13); 35,9 (C-14); 70,9 (C-15); 36,4 (C-16); 24,9 (C-17); 34,2 (C-18); 99,3 (C-19); 131,2 (C-20); 131,0 (C-21); 137,2 (C-22); 127,7 (C-23, C-27); 129,2 (C-24, C-26); 128,9 (C-25); 136,5 (C-1'), 129,5 (C-2', C-6'); 129,8 (C-3', C-5'), 130,7 (C-4'). HREIMS m/z : $[\text{M}]^+$ 526.1992 (perhitungan $[\text{M}]^+$ untuk $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{O}_7$: 526.2000)

Calkokaryanon C (5), diperoleh berupa padatan berwarna kuning, $[\alpha]_{\text{D}} = +185,84$ (c 0,02; MeOH), UV λ_{max} (MeOH) (nm) ($\log \epsilon$) 203 (5,04), 304 (5,12) nm; UV (MeOH + NaOH) λ_{max} (nm) ($\log \epsilon$) 206 (5,60), 289 (5,20). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3435 (OH), 2927 (C-H alifatik), 1782 (C=O ester), 1726 (C=O), 1666 (C=O terkonjugasi), 1573-1172 (C=C aromatik). Spektrum ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) (ppm) : 5,19 (1H, *dd*, $J = 2,7$; 16,0 Hz, H-2); 2,81 (1H, *m*,

Tabel 4. Nilai IC₅₀ senyawa hasil isolasi terhadap sel murin leukemia P-388, sel HCT 116 dan sel A549

Senyawa Isolasi	IC ₅₀ (µg/mL)		
	Sel P-388	Sel HCT 116	Sel A549
Infektokaryon (1)	0.23	1.98	4.29
kriptokaryon (2)	0.01	2.42	36.7
Kurzicalkolakton A (3)	6.70	17.0	32.5
Kurzicalkolakton B (4)	18.87	11.6	28.1
Calkokaryanon C (5)	9.16	32.5	> 50

H-3β); 2.54 (1H, *dd*, *J*=2,7; 17,0 Hz, H-3β); 3,42 (1H, *brt*, *J*= 5,6 Hz, H-5); 4,79 (1H, *dd*, *J*=2,5; 7 Hz, H-6); 4,06 (1H, *d*, *J*= 9,5 Hz, H-8); 3.06 (1H, *dd*, *J*=8.0; 20.0 Hz, H-11α); 2.80 (1H, *m*, H-11β); 7, 16 (2H, *dd*, *J*= 1,5; 7,2 Hz, H-2'; H-6'); 6,86 (3H, *m*, H-3';H-4'; H-5'); 7,77 (1H, *d*, *J*=15,7 Hz, H-2''); 7,26 (1H, *d*, *J*=15,7 Hz, H-3''); 3,35 (1H, *ddd*, *J*=3,0; 8,9; 11,2 Hz, H-5''); 4,91 (1H, *brdd*, *J*=4,9; 8,9 Hz, H-6''); 2,67 (1H, *brd*, *J*=8,9; 20,5 Hz, H-7''); 2,22 (1H, *dd*, *J*=3,0; 20,0 Hz, H-7''); 2,87 (1H, *m*, H-8''); 2,69 (1H, *dd*, *J*=11,2; 20,0 Hz, H-11''); 2,37 (1H, *dd*, *J*=3,0; 20,0 Hz, H-11''); 7,43 (5H, *m*, H-2'''-H-6'''). Spektrum ¹³C NMR (100 MHz, CHCl₃) (ppm): 80,8 (C-2); 41,6 (C-3); 190,6 (C-4); 32,8 (C-5); 79,1 (C-6); 33,7 (C-7); 38,3 (C-8); 168,7 (C-9); 111,0 (C-10); 37,6 (C-11); 174,3 (C-11); 135,2 (C-1'); 126,8 (C-2'); 126,8 (C-3'); 128,3 (C-4'); 128,3 (C-5'); 126,8 (C-6'); 144,9 (C-2''); 123,7 (C-3''); 194,8 (C-4''); 41,7 (C-5''); 78,4 (C-6''); 36,2 (C-7''); 34,6 (C-8''); 205,5 (C-9''); 62,8 (C-10''); 30,1 (C-11''); 173,6 (C-12''); 134,4 (C-1'''); 128,9 (C-2'''); 129,0 (C-3'''); 130,9 (C-4'''). HREIMS *m/z*: [M]⁺ 564.1788 (perhitungan [M]⁺ untuk C₃₄H₂₈O₈: 564.1784)

Uji sifat biologis. Aktivitas sitotoksik kelima senyawa tersebut dilakukan terhadap sel murin leukemia P-388, sel HCT 116 dan sel A 549 mengikuti metode MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolium

bromida]. Prinsip dari metode ini adalah perubahan warna pereaksi MTT dari kuning menjadi biru yang disebabkan oleh adanya sel P-388 yang hidup dan apabila sel P-388 tersebut mati maka perubahan warna tidak akan terjadi.

Pada metode ini, aktivitas sitotoksik dinyatakan sebagai IC₅₀, yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menginhibisi 50% sel tumor murine leukemia P-388 melalui pewarnaan pereaksi MTT. Uji aktivitas dilakukan dengan cara menambahkan masing-masing senyawa hasil isolasi pada berbagai konsentrasi secara triplo ke dalam biakan sel murine leukemia P-388. Setelah diinkubasi selama 48 jam, ke dalam sampel ditambahkan pereaksi warna MTT dan diinkubasikan kembali selama 4 jam. Jumlah sel tumor P-388 yang terinhibisi oleh sampel diukur serapannya dengan menggunakan alat pembaca pelat mikro pada λ 540 nm setelah penambahan larutan penghenti pertumbuhan. Nilai IC₅₀ (µg/mL) dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan kontrol positif pada kurva serapan terhadap berbagai konsentrasi sampel menggunakan program OriginPro 70.

3. Results and Discussion/Hasil dan Pembahasan

Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi Infektokaryon (1) dan Kriptokaryon (2)

Senyawa 1 diperoleh berupa gum berwarna coklat dan bersifat optis aktif dengan [α]_D = + 28.0 (*c* 0,1; MeOH). Spektrum UV senyawa ini dalam pelarut metanol memperlihatkan serapan maksimum pada λ_{maks} pada 203, 283 dan 380 nm yang memperlihatkan adanya kromofor senyawa calkon. Hal ini didukung spektrum IR yang memperlihatkan adanya serapan untuk gugus fungsi C=C aromatik (*v*_{maks} 1577-1434 cm⁻¹) dan C=O terkonjugasi (*v*_{maks} 1631 cm⁻¹). Adanya gugus ester yang terikat pada senyawa 1 diperlihatkan dengan munculnya serapan untuk gugus fungsi CH alifatik (*v*_{maks} 2923 cm⁻¹) dan C=O ester (*v*_{maks}

1735 cm^{-1}). Spektrum ^1H NMR senyawa 1 memperlihatkan sinyal-sinyal proton yang khas untuk senyawa calkon, yaitu adanya sinyal *trans* vinilik pada δ_{H} 7,62 dan 7,20 ppm ($J=15,4$ Hz).

Adanya unit fenil yang tidak terhidroksilasi ditunjukkan dengan adanya sinyal multiplet pada δ_{H} 7,55 (2H) dan 7,39 ppm (3H). Sementara sinyal lainnya menunjukkan adanya sinyal proton dari unit *cis* vinilik pada δ_{H} 6,52 dan 6,18 ppm ($J=10,2$ Hz), sinyal singlet dari gugus hidroksi yang terkelasi pada δ_{H} 15,99 ppm serta unit etil ester yang ditunjukkan oleh sinyal-sinyal pada δ_{H} 3,99, 5,46, 2,59 dan 2,78 ppm. Sementara itu data ^{13}C NMR (APT) memperlihatkan adanya 15 sinyal yang mewakili 17 karbon, termasuk dua diantaranya sinyal karbonil ester pada δ_{C} 174,3 ppm dan sinyal C=O terkonjugasi pada δ_{C} 185,6 ppm. Tiga belas sinyal lainnya mewakili 3 C- sp^3 dan 12 C- sp^2 . Selanjutnya, data NMR senyawa 1 menunjukkan kesesuaian yang tinggi dengan senyawa infektokaryon (1) yang dilaporkan oleh Dumontet dkk. [4] (Tabel 1) sehingga disimpulkan bahwa senyawa 1 adalah senyawa infektokaryon (1).

Sementara itu, dengan cara yang sama, struktur senyawa 2 ditentukan. Hasil perbandingan data UV, IR, NMR dari senyawa 2 dan senyawa infektokaryon (1) memiliki tingkat kemiripan yang tinggi. (Tabel 1). Hal yang membedakan terlihat dari hilangnya sinyal unit metoksi eter dan metilen berurutan-turut pada C-12 dan C-6 yang dimiliki senyawa 1. Hal ini disebabkan unit ester tersebut telah membentuk cincin lakton. Adanya unit γ lakton dikonfirmasi dengan spektrum IR yang tidak menunjukkan serapan pada ν_{maks} 1780 cm^{-1} . Berdasarkan data spektroskopi tersebut maka struktur senyawa 2 disarankan senyawa kriptokaryon (2).

Hasil perbandingan data NMR senyawa 2 dengan data yang sama dari kriptokaryon (2) yang dilaporkan oleh Dumontet dkk. [4]

menunjukkan kesesuaian yang tinggi pada parameter NMRnya (Tabel 1).

Kurzicalkolakton A (3) dan Kurzicalkolakton B (4)

Senyawa 3 diperoleh berupa padatan berwarna jingga dan bersifat optis aktif dengan $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -208,06$ (c 0,01; MeOH). Spektrum UV senyawa ini memperlihatkan serapan maksimum yang lazim untuk senyawa turunan calkon (λ_{maks} 210, 252 dan 345 nm). Namun demikian, spektrum IR senyawa ini menunjukkan adanya gugus karbonil ester yang muncul pada ν_{maks} 1627 cm^{-1} , gugus OH pada ν_{maks} 3355 cm^{-1} , CH alifatik 2923 cm^{-1} dan C=C aromatik pada ν_{maks} 1550-1161 cm^{-1} . Hal ini didukung oleh data spektrum ^{13}C NMR yang menunjukkan adanya gugus ester pada δ_{C} 174,6 ppm selain gugus C=O calkon pada δ_{C} 192,9 ppm. Sementara dari spektrum ^1H NMR (Tabel 2) teridentifikasi adanya 2 gugus fenil (10 H pada rentang δ_{H} 6,92-7,52 ppm), dua gugus *trans* vinil (δ_{H} 8,20, 7,71, 7,10 dan 6,67 ppm) dan satu gugus OH terkelasi (δ_{H} 14,14 ppm) yang menunjukkan adanya tambahan gugus stiril pada turunan calkon tersebut, serta dengan adanya OH bebas pada C-5. Adanya proton aromatik singlet pada δ_{H} 6,08 ppm menyarankan cincin A tersubstitusi lima. Dengan demikian, senyawa 3 merupakan turunan calkon yang termodifikasi adanya substituen lain berupa ester dari turunan stiril. Selain unit stiril dan gugus ester, pada spektrum ^{13}C NMR juga tampak adanya lima gugus metilen alkil (δ_{C} 21,6, 33,9, 34,0, 35,6 dan 36,1 ppm), satu metilen alkil (δ_{C} 24,1 ppm) satu metin alkil teroksigenasi (δ_{C} 70,9 ppm) dan satu karbon kuarterner mengikat dua atom oksigen (δ_{C} 99,6 ppm). Ciri-ciri gugus tambahan tersebut mengacu pada suatu turunan calkon yang pernah diisolasi dari tumbuhan *C. kurzii* yaitu senyawa kurzicalkolakton A (3). Data lain yang mendukung adalah hasil perbandingan data NMR senyawa 3 dengan data yang sama dari kurzicalkolakton A (3) yang dilaporkan

Dumontet dkk. [5] memperlihatkan kesesuaian yang tinggi (Tabel 2). Dengan demikian, senyawa 3 ditetapkan sebagai kurzicalkolakton A (3). Senyawa 4 diperoleh berupa padatan berwarna kuning dan bersifat optis aktif $[\alpha]_D = -895,84$ (c 0,02; MeOH). Spektrum Massa dari senyawa kurzicalkolakton A (3) dan senyawa (4) sama-sama menunjukkan ion molekul pada m/z 526. Selain itu, perbandingan spektrum ^{13}C dan $^1\text{H-NMR}$ dari kedua senyawa tersebut memperlihatkan tingkat kesesuaian yang sangat tinggi antara kedua senyawa tersebut (Tabel 2). Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa 3 merupakan stereoisomer dari senyawa 4. Terdapat tiga karbon asimetrik yang terdapat dalam 3 dan 4 pada posisi C-15, C-17 dan C-19. Sinyal dari H-15 dan H-17 dari kedua senyawa tersebut menunjukkan kesesuaian yang sangat tinggi, mengindikasikan bahwa kedua isomer tersebut memiliki konfigurasi yang sama pada posisi ini, salah satu perbedaannya adalah konfigurasi gugus OH pada C-19 apakah α atau β . Dukungan lebih lanjut terhadap kesimpulan ini diperoleh pada perbandingan spektrum ^{13}C dan $^1\text{H-NMR}$ senyawa 3, 4 dengan senyawa kurzicalkolakton A dan B yang telah diisolasi sebelumnya dari *C. obovata* [5]. Perbandingan data spektrum NMR senyawa 4 dengan data yang sama dari kurzicalkolakton B ternyata menunjukkan kesesuaian yang tinggi pada parameter NMR sehingga disimpulkan senyawa 4 merupakan kurzicalkolakton B (4). Senyawa 3 dan 4 merupakan pasangan epimer yang berbeda stereokimia di C-19.

Calkokaryanon C (5)

Senyawa 5 berhasil diisolasi dan dimurnikan berupa padatan berwarna kuning dan bersifat optis aktif $[\alpha]_D = +165,84$ (c 0,03; MeOH). Spektrum UV senyawa ini dalam pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} 203 dan 304 ppm yang memperlihatkan adanya kromofor calkon. Spektrum IR senyawa ini menunjukkan adanya

gugus fungsi yang menunjang keberadaan kromofor senyawa calkon tersebut dimana vibrasi ulur C=C aromatik muncul pada ν_{maks} 1542-1468 cm^{-1} , C=O terkonjugasi (1651 cm^{-1}) dan OH (3423 cm^{-1}). Adanya tambahan unit γ lakton pada senyawa 20 ditunjukkan dengan adanya serapan CH alifatik (2923 cm^{-1}) serta vibrasi ulur dari C=O ester pada 1782 cm^{-1} . Spektrum ^{13}C NMR (APT) (Tabel 3) senyawa 5 memperlihatkan adanya 30 sinyal yang mewakili 34 karbon termasuk diantaranya dua sinyal yang khas untuk C=O ester pada δ_C 174,3 dan 173,6 ppm sementara sisa 28 karbon lainnya merupakan sinyal dari 18 C- sp^2 dan 10C- sp^3 . Data tersebut menunjukkan bahwa senyawa 5 merupakan gabungan antara senyawa calkon dan flavanon. Data spektrum massa memperkuat dugaan ini dimana senyawa 5 memperlihatkan ion molekul pada m/z 564,1788 yang sesuai dengan rumus molekul $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_8$. Spektrum ^1H NMR memperlihatkan adanya ciri khas dari senyawa flavanon yang ditunjukkan dengan adanya sinyal proton dari *trans* vinilik pada δ_H 7,77 dan 7,26 ppm dengan tetapan kopling 15,7 Hz. Sedangkan ciri khas adanya senyawa flavanon ditunjukkan dengan adanya sinyal proton yang muncul sebagai sistem ABX pada δ_H 5,19; 2,80 dan 2,54 ppm. Adanya dua unit γ lakton ditunjukkan berturut-turut pada δ_H 3,42, 4,79; 3,04 dan 2,72 ppm serta pada δ_H 3,35; 4,91; 2,69 dan 2,37 ppm. Kemudian adanya dua unit fenil yang tidak terhidroksilasi seperti lazimnya cincin B pada senyawa turunan flavonoid dari *Cryptocarya* diperlihatkan adanya sinyal proton multiplet berturut-turut pada δ_H 7,44 (5H) serta pada δ_H 7,16 (2H) dan 6,88 ppm (3H). Pembuktian stereokimia dari senyawa 5 diperoleh berdasarkan hasil perbandingan data putaran optik dan spektrum CD (*circular dichroism*). Data-data spektrum diatas memperlihatkan kesesuaian yang tinggi dengan senyawa calkokaryanon C (5) yang dilaporkan oleh Dumontet dkk. (Tabel 3) [4] sehingga

disimpulkan bahwa senyawa **5** merupakan dimer dari kriptokaryon (**2**) dengan kriptokaryanon A yang dikenal dengan nama kalkokaryanon C (**5**).

Hasil Uji Sifat Biologis: Sifat Sitotoksik Senyawa hasil isolasi terhadap Sel Murine Leukemia P388, HCT 116 dan A549. Hasil pengujian sitotoksik terhadap kelima senyawa hasil isolasi diperlihatkan pada tabel 4.

Hasil pada table 4 menunjukkan bahwa senyawa calkon yang mengandung cincin A yang tereduksi pada posisi 5 dan 6 (senyawa **1** dan **2**) memperlihatkan sifat sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel murine leukemia P-388 dan sel HCT 116 namun tidak sitotoksik terhadap sel A549. Adanya cincin A yang tereduksi dan gugus keton yang terkonjugasi memberikan kontribusi yang signifikan terhadap sitotoksitas. Faktor lainnya yang berpengaruh adalah perubahan dari senyawa 5,6-dihidroksicalkon (senyawa **1** dan **2**) menjadi senyawa calkon yang lebih kompleks seperti senyawa **3**, **4**, dan **5** menurunkan efek sitotoksitas terhadap sel P-388 dan sel HCT 116. Hasil yang sama juga diperoleh Dumontet *et al.* [4] pada pengujian sifat sitotoksik beberapa senyawa calkon terhadap sel KB. Senyawa **1** dan **2** memperlihatkan sifat sitotoksik yang kuat dengan IC_{50} berturut-turut 1.8 dan 1.7 ($\mu\text{g/mL}$),

sedangkan senyawa 3-5 tidak aktif. Berdasarkan hasil penelitian dan penelusuran literatur maka senyawa **1** dan **2** dapat dipertimbangkan sebagai *leadcompound* antitumor khususnya terhadap sel murine leukemia P388 dan Sel HCT 116.

4. Conclusion/Kesimpulan

Lima senyawa calkon telah berhasil diisolasi dari ekstrak metanol kulit batang *C. phoebeopsis*, yaitu infektokaryon (**1**), kriptokaryon (**2**), kurzicalkolakton A (**3**), kurzicalkolakton B (**4**), dan kalkokaryanon C (**5**). Uji sitotoksik kelima senyawa tersebut terhadap sel murine leukemia P-388, sel HCT 116 dan Sel A549 memperlihatkan bahwa senyawa **1** dan **2** bersifat sangat sitotoksik terhadap sel murine leukemia P388 dan sel HCT 116.

Acknowledgement/Penghargaan

Kami ucapkan terima kasih kepada bapak Ismail Rahman atas bantuannya dalam menyediakan dan mengidentifikasi sampel tumbuhan dan Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Kiyotaka Koyama dan Dr. Kaoru Kinoshita dari Meiji Pharmaceutical University Jepang atas bantuannya dalam mengukur spektrum MS.

Daftar Pustaka

- [1] Cronquist, A., 1981, "An Integrated System of Classification of Flowering Plants", Columbia University Press, New York. 200-203
- [2] Juliawaty, L.D., Aimi, N., Ghisalberti, E.L., Kitajima, M., Makmur, L., Syah, Y.M., Siallagan, J., Tahayaka, H., Achmad, S.A., Hakim, E.H. 2006. Chemistry of Natural products: Recent Trends & Developments. 339-423.
- [3] Bick, I. R. C., Sevenet, T., Sinchai, W., Skelton, B. W., and White, A. H., 1981, "Alkaloids of *Cryptocarya longifolia* : X-ray Crystal Structure of Thalifoline and Longifolone", *Aust. J. Chem*, 34, 195-207
- [4] Dumontet, V., Gaspard, C., Hung, N. V., Fahy, J., Tchertanov, L., Sevenet, T., and Gueritte, F., 2001, "New Cytotoxic Flavonoids from *Cryptocarya infectoria*", *Tetrahedron*, 57, 6189-96
- [5] Dumontet, V., Hung, N. V., Adeline, M. T., Riche, C., Chiaroni, A., Sevenet, T., and Gueritte, F., 2004, "Cytotoxic Flavonoids and α -Pyrone from *Cryptocarya obovata*", *J. Nat. Prod*, 67, 858-862