

## Senyawa Santon Terisoprenilasi dari Kulit Batang *Cratoxylum arborescens* dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel HeLa

Jemima Syahrotul Iffah, Mulyadi Tanjung\*, Tjitjik Srie Tjahtjandarie, Ratih Dewi Saputri, Muhammad Fajar Aldin

Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

\*Penulis korespondensi: mulyadi-t@fst.unair.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v8.n2.28439>

**Abstrak:** *Cratoxylum arborescens* merupakan salah satu tumbuhan endemik Indonesia dari kelompok famili Hypericaceae. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan struktur senyawa santon terisoprenilasi yang terdapat pada kulit batang *C. arborescens*, serta menentukan aktivitas antikanker senyawa santon terisoprenilasi terhadap sel kanker rahim (HeLa). Ekstraksi dan isolasi senyawa santon terisoprenilasi dari kulit batang *C. arborescens* menggunakan metanol dengan metode maserasi pada suhu kamar. Pemisahan dan pemurnian dilakukan menggunakan kromatografi kolom gravitasi dan kromatografi radial menghasilkan senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton (1) dan fuskasanton C (2). Struktur senyawa santon terisoprenilasi ditetapkan berdasarkan analisis spektroskopi, meliputi UV, IR, 1D dan 2D NMR. Uji aktivitas sitotoksik senyawa 1-2 terhadap sel HeLa memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 116 dan 12 µg/mL.

**Kata kunci:** *Cratoxylum arborescens*, santon terisoprenilasi, sitotoksik, HeLa

**Abstract:** *Cratoxylum arborescens* is one of species from Hypericaceae family. This study aims to isolate, determine the structure of isoprenylated xanthone from the stem bark of *Cratoxylum arborescens*, and determine the anticancer activity of isoprenylated xanthone against HeLa cells. The extraction and isolation of isoprenylated xanthone compound from the stem bark *C. arborescens* was carried out using maseration method with methanol solvent at room temperature. The process of separation and purification was carried out using gravity column chromatography and radial chromatography which resulted 2,8-diisoprenyl-1,3-dihydroxy-6,7-dimethoxyxanthone (1) and fuscasanton C (2). The structure of the isolated compounds were determined by spectroscopic analyses, including UV, IR, 1D and 2D NMR. The cytotoxic activity of compounds 1-2 towards HeLa cells showed IC<sub>50</sub> values 116 and 12 µg/mL, respectively.

**Keywords:** *Cratoxylum arborescens*, isoprenylated xanthone, cytotoxic, HeLa

### PENDAHULUAN

*Cratoxylum arborescens* merupakan salah satu spesies tumbuhan dari famili Hypericaceae yang hanya tumbuh di Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia, dan Thailand. Di Indonesia, *C. arborescens* hanya tumbuh di Kepulauan Sumatera dan Kalimantan dan merupakan tumbuhan penghasil kayu pulp (Ibrahim *et al.* 2015). *Cratoxylum* menghasilkan senyawa fenolik seperti antrakuionon, benzenon, flavonoid, santon dan senyawa non fenolik seperti senyawa golongan terpenoid (Boonnak *et al.* 2010; Tantapakul *et al.* 2016). Santon merupakan senyawa fenolik yang umum ditemukan pada *Cratoxylum*. Biosintesis senyawa santon berasal dari gabungan dua jalur yakni jalur shkimat dan asetat malonat. Biosintesis jalur shkimat membentuk kerangka dasar cincin A dan gugus keton, sedangkan jalur asetat malonat membentuk kerangka dasar

cincin B pada struktur senyawa santon (El-Seedi *et al.* 2010). *Cratoxylum* memperlihatkan aktivitas biogis seperti antiprotein tirosin kinase, dan antikanker (Li *et al.* 2018; Ibrahim *et al.* 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan struktur senyawa santon terisoprenilasi yang terdapat pada kulit batang *C. arborescens* yang berasal dari Kalimantan Barat serta menentukan uji aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa.. Dua senyawa santon terisoprenilasi yakni 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton (1) dan fuskasanton C (2) telah berhasil dipisahkan dari kulit batang *C. arborescens*. Sitotoksik kedua senyawa hasil isolasi terhadap sel HeLa juga akan dibahas.

## BAHAN DAN METODE

### Prosedur Umum

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan pelat KLT silika gel 60 GF254 0,25 mm(Merck). Kromatografi kolom gravitasi menggunakan silika gel 60 sebagai fasa diam. Kromatografi radial menggunakan silika gel 60 PF254 sebagai fasa diam. Spektrum UV senyawa santon dalam MeOH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800. Spektrum IR senyawa santon dalam KBr diukur dengan spektrofotometer IR Shimadzu. Spektrum NMR ditentukan dengan NMR JEOL yang bekerja pada 400 MHz. Uji sitotoksik senyawa santon terisoprenilasi hasil isolasi terhadap sel kanker rahim (HeLa).

### Material Tumbuhan

Bahan tumbuhan berupa kulit batang *C. arborescens* berasal dari Desa Anjungan, Kecamatan Landak, Kalimantan Barat. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriensis, Cibinong, Jawa Barat dengan nomor spesimen CA-07022018.

### Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kering kulit batang *Cratoxylum arborescens* (2,0 kg) diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut metanol pada suhu kamar. Pelarut diuapkan dengan rotary vacuum evaporator menghasilkan ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol dipartisi dengan n-heksana dengan tujuan menghilangkan lemak dan senyawa nonpolar. Ekstrak metanol selanjutnya dilakukan penambahan air 10% untuk meningkatkan kepolaran kemudian dipartisi kembali dengan etilasetat dan dihasilkan ekstrak etilasetat (9,5 g). Pemisahan ekstrak etil asetat dengan KKG dengan campuran n-heksana:etil asetat (9:1 sampai 1:1) menghasilkan empat fraksi utama (A-D). Pemisahan fraksi A (4,0 g) dengan KKG menggunakan poliamida sebagai fasa diam menghasilkan dua subfraksi yakni subfraksi A1 dan A2. Pemurnian subfraksi A1 dengan kromatografi radial menggunakan fasa gerak n-heksana:aseton (19:1; dan 9:1) menghasilkan senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton (1) sebanyak 45 mg.. Pemurnian subfraksi A2 dengan kromatografi radial menggunakan fasa gerak n-heksana:etil asetat (19:1 dan 9:1) menghasilkan senyawa fuskasanton C (2) sebanyak 5 mg.

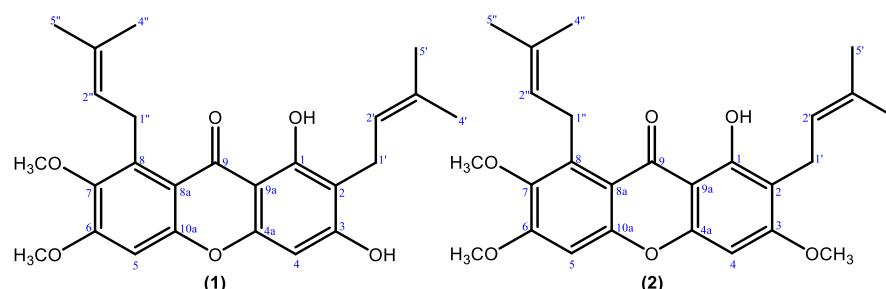
Senyawa santon hasil isolasi disajikan pada Gambar 1.

### Uji Aktivitas Antikanker

Uji aktivitas antikanker senyawa santon terisoprenilasi hasil isolasi terhadap sel Hela menggunakan metode MTT secara *in vitro* (Saputri *et al.* 2018; Tjahjandarie *et al.* 2019). Senyawa santon hasil isolasi masing-masingnya sebanyak 1 mg dilarutkan dengan 1 ml DMSO menghasilkan larutan induk 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Larutan induk diencerkan menghasilkan variasi konsentrasi uji (200, 100, 50, 25; 10 dan 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Larutan uji dimasukkan ke dalam kultur sel HeLa, diinkubasi dalam  $\text{CO}_2$  5% selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas pertumbuhan sel setelah penambahan garam MTT dan dinkubasi dengan kondisi yang sama selama 4 jam. Penambahan larutan sodium dodesil sulfat (SDS) sebagai larutan penghenti setelah 4 jam perlakuan, jumlah sel HeLa yang hidup ditentukan berdasarkan nilai absorbansi yang diukur pada panjang gelombang  $\lambda$  550 nm dengan menggunakan alat *microplate reader*. Nilai  $\text{IC}_{50}$  senyawa ditetapkan berdasarkan persentase jumlah sel yang hidup terhadap konsentrasi senyawa menggunakan program SPSS (Aldin dkk. 2019).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton (1) berwujud minyak berwarna kuning. Spektrum UV senyawa 1 dalam metanol memperlihatkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang  $\lambda_{\text{maks}} (\log \varepsilon)$ : 244 (4,27); 261 (4,25); 314 (4,09) dan 353 (3,61) nm yang merupakan kromor senyawa golongan santon (Tanjung, 2018). Spektrum IR senyawa 1 dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang  $\tilde{\nu} (\text{cm}^{-1})$ : 3424 (vibrasi ulur OH), 1643 (vibrasi ulur C=O terkonyugasi), 1600-1429 (vibrasi ulur C=C aromatik), dan 1211 (vibrasi ulur C-O-C eter). Analisis spektrum  $^1\text{H}$  NMR senyawa 1 dalam  $\text{CDCl}_3$  terdiri dari dua unit sinyal proton aromatik, dua sinyal proton rantai samping isoprenil, dua sinyal proton hidroksi dan dua sinyal proton metoksi. Dua sinyal proton cincin aromatik pada  $\delta_{\text{H}}$  6,26 (1H, s, H-4) dan  $\delta_{\text{H}}$  6,69 (1H, s, H-5) memberi informasi bahwa senyawa 1 merupakan santon heksasubstitusi.



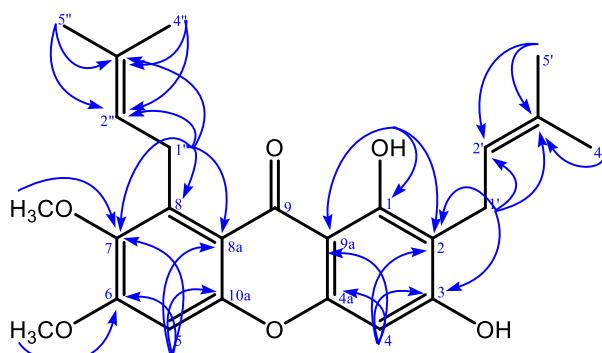
Gambar 1. Senyawa santon terisoprenilasi hasil isolasi

**Tabel 1.** Data spektrum NMR 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton.

No. C	$\delta_H$ (mult, J Hz)	$\delta_C$	HMBC
1	-	160,6	-
2	-	108,7	-
3	-	161,5	-
4	6,26 (s)	93,2	C-2; C-3; C-4a; C-9; C-9a
4a	-	155,0	-
5	6,69 (s)	98,3	C-6; C-7; C-8a; C-9; C-10a
6	-	158,1	-
7	-	143,9	-
8	-	137,3	-
8a	-	111,9	-
9	-	182,1	-
9a	-	103,7	-
10a	-	155,5	-
1'	3,43 (d; 7,2)	21,5	C-2; C-3; C-2'; C-3'
2'	5,28 (t; 7,2)	121,6	C-4', C-5'
3'	-	135,4	-
4'	1,83 (s)	18,2	C-2'; C-3'; C-5'
5'	1,76 (s)	25,9	C-2'; C-3'; C-4'
1''	4,11 (d; 6,5)	26,2	C-7; C-8; C-8a; C-2''; C-3''
2''	5,24 (t; 6,8)	123,3	C-4'', C-5''
3''	-	131,9	-
4''	1,84 (s)	18,0	C-2''; C-3''; C-5''
5''	1,67 (s)	26,0	C-2''; C-3''; C-4''
1-OH	13,81 (s)	-	C-1; C-2; C-9a
3-OH	6,47 (br; s)	-	-
6-OCH <sub>3</sub>	3,94 (s)	56,1	C-6
7-OCH <sub>3</sub>	3,79 (s)	61,0	C-7

Spektrum <sup>1</sup>H NMR juga menginformasikan dua sinyal proton rantai samping isoprenil yang terdiri dari dua proton vinilik [ $\delta_H$  5,28 (1H, *tm*, *J* = 7,2 Hz, H-2'),  $\delta_H$  5,24 (1H, *tm*, *J* = 6,8 Hz, H-2')], dua sinyal proton metilen [ $\delta_H$  3,43 (2H, *d*, *J* = 7,2 Hz, H-1'),  $\delta_H$  4,11 (2H, *d*, *J* = 6,5 Hz, H-1'')] dan empat sinyal proton metil [ $\delta_H$  1,83 (3H, *s*, H-4'),  $\delta_H$  1,76 (3H, *s*, H-5'),  $\delta_H$  1,84 (3H, *s*, H-4'),  $\delta_H$  1,67 (3H, *s*, H-5'')] (Tanjung, 2019). Sinyal proton dari gugus fungsi yang terikat pada kedua inti aromatik terdiri dari dua sinyal proton hidroksi [ $\delta_H$  13,81 (1H, *s*, 1-OH),  $\delta_H$  6,47 (1H, *s*, 3-OH)] dan dua sinyal proton metoksi [ $\delta_H$  3,94 (3H, *s*, 6-OCH<sub>3</sub>),  $\delta_H$  3,79 (3H, *s*, 7-OCH<sub>3</sub>)]. Analisis spektrum <sup>13</sup>C NMR (Tabel 1) senyawa 1 memperlihatkan 25 sinyal karbon yang terpisah sempurna. Penempatan dua rantai samping isoprenil, dua gugus hidroksi dan dua gugus metoksi pada inti aromatik senyawa 1 ditetapkan berdasarkan analisis spektrum HMQC dan HMBC. Analisis spektrum HMBC, sinyal proton 1-OH ( $\delta_H$  13,81)

memperlihatkan korelasi dengan C-1 ( $\delta_C$  160,6), C-2 ( $\delta_C$  108,7) dan C-9a ( $\delta_C$  103,7) yang menunjukkan adanya gugus hidroksi di C-1 (Tanjung, 2019). Korelasi antara sinyal proton metilen dari rantai samping isoprenil di H-1' ( $\delta_H$  3,43) dengan C-2, C-3 ( $\delta_C$  161,5), C-2' ( $\delta_C$  121,6) dan C-3' ( $\delta_C$  131,9) mempertegas salah satu rantai samping isoprenil terikat di C-2. Penempatan isoprenil di C-2 didukung oleh korelasi sinyal proton aromatik di H-4 ( $\delta_H$  6,26) berkorelasi dengan C-2; C-3; C-4a ( $\delta_C$  155,0), C-9 ( $\delta_C$  182,1) dan C-9a. Sinyal proton aromatik lainnya di H-5 ( $\delta_H$  6,69) memperlihatkan korelasi dengan C-6 ( $\delta_C$  158,1), C-7 ( $\delta_C$  143,9), C-8a ( $\delta_C$  111,9), C-9 dan C-10a ( $\delta_C$  155,5). Sinyal proton metoksi di 6-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3,94) berkorelasi dengan C-6 dan sinyal proton metoksi lainnya di 7-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3,79) berkorelasi dengan C-7. Hasil korelasi sinyal proton aromatik di H-5, sinyal metoksi di 6-OCH<sub>3</sub> dan di 7-OCH<sub>3</sub> menunjukkan rantai samping isoprenil lainnya terikat di C-8. Berdasarkan analisis spektrum 1D dan 2D NMR disimpulkan struktur kimia senyawa 1 adalah



**Gambar 2.** Spektrum HMBC yang penting pada senyawa 1

senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton (Pattanaprateeb *et al.* 2005). Analisis spektrum HMBC yang mendukung senyawa 1 dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2.

Fuskasanton C (**2**) berwujud minyak berwarna kuning. Spektrum UV [ $\lambda_{\text{maks}}$  (log  $\varepsilon$ ): 244 (4,50); 261 (4,51); 312 (4,33); 352 (3,80) nm] dan spektrum IR [ $\tilde{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3393, 1642, 1597-1425, 1115] senyawa **2** memperlihatkan kemiripan dengan senyawa **1**. Analisis spektrum <sup>1</sup>H NMR (Tabel-2) senyawa **2** dalam aseton-*d*6 terdiri dari dua unit sinyal proton aromatik, dua sinyal proton rantai samping isoprenil, dua sinyal proton hidroksi dan tiga sinyal proton metoksi. Perbedaan utama spektrum <sup>1</sup>H NMR senyawa **2** dengan senyawa **1** adalah adanya tambahan satu sinyal metoksi pada  $\delta_{\text{H}}$  3,90 (3H, *s*, 3-OCH<sub>3</sub>) mengantikan sinyal proton hidroksi  $\delta_{\text{H}}$  6,47 (H, *s*, 3-OH). Analisis spektrum <sup>13</sup>C-NMR senyawa **2** memperlihatkan total 26 sinyal karbon. Spektrum karbon senyawa **2** juga memperlihatkan adanya tambahan gugus metoksi dibanding senyawa **1**. Berdasarkan analisis spektrum <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C NMR maka struktur senyawa **2** adalah 2,8-diisoprenil-1-hidroksi-3,6,7-trimetoksisanton atau dikenal dengan nama fuskasanton C. Data spektrum NMR senyawa fuskasanton C memperlihatkan kesesuaian yang tinggi dengan senyawa yang sama (Yahayu *et al.* 2013). Data spektrum <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C-NMR senyawa fuskasanton C dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji aktivitas antikanker senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksi-santon dan fuskasanton C terhadap sel HeLa memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 116,0 dan 3,2 µg/mL. Aktivitas senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton dikategorikan tidak aktif sedangkan senyawa fuskasanton C mempunyai aktivitas moderat (Tanjung *et al.* 2019). Adanya gugus metoksi di C-3 pada senyawa fuskasanton meningkatkan aktivitas antikanker dibanding gugus hidroksi di C-3 senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton.

**Tabel 2.** Data spektrum NMR fuskasanton C hasil isolasi

No. C	$\delta_{\text{H}}$ (mult, J Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	-	160,4
2	-	107,2
3	-	164,5
4	6,46 ( <i>s</i> )	89,7
4a	-	156,1
5	6,92 ( <i>s</i> )	99,5
6	-	159,5
7	-	145,1
8	-	137,2
8a	-	111,8
9	-	182,8
9a	-	104,2
10a		156,2
1'	3,30 ( <i>d</i> ; 7,3)	21,9
2'	5,24 ( <i>t</i> ; 6,7)	123,2
3'	-	131,5
4'	1,76 ( <i>s</i> )	18,2
5'	1,63 ( <i>s</i> )	25,8
1''	4,10 ( <i>d</i> ; 6,7)	26,6
2''	5,20 ( <i>t</i> ; 8,7)	124,6
3''	-	131,3
4''	1,82 ( <i>s</i> )	17,8
5''	1,62 ( <i>s</i> )	25,9
1-OH	13,57 ( <i>s</i> )	-
3-OCH <sub>3</sub>	3,90 ( <i>s</i> )	56,5
6-OCH <sub>3</sub>	4,01 ( <i>s</i> )	56,6
7-OCH <sub>3</sub>	3,77 ( <i>s</i> )	60,9

## KESIMPULAN

Dua senyawa santon terisoprenilasi yaitu 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton (**1**) dan fuskasanton C (**2**) telah berhasil diisolasi dari kulit batang *C. arborescens*. Uji aktivitas antikanker senyawa 2,8-diisoprenil-1,3-dihidroksi-6,7-dimetoksisanton terhadap sel HeLa memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 116,0 µg/mL dikategorikan tidak aktif sedangkan fuskasanton C memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 3,2 µg/mL dikategorikan moderat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Mr. Ismail Rachman dari Herbarium Bogoriensis, Cibinong atas suplai tumbuhan *C. arborescens*

## DAFTAR PUSTAKA

- Aldin, M.F., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S. & Tanjung, M. (2019). Aktivitas antikanker senyawa stilbenoid dari daun *Macaranga aleuritoides*. *Jurnal Farmasi Medica*. **2(1)**: 1-7.

- Boonnak, N., Karalai, C., Chantrapromma, S., Ponglimanont, C., Fun, H.K., Opas, A.K. & Laphookieo, S. (2006). Bioactive prenylated xanthones and anthraquinones from *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum*. *Tetrahedron*. **62**(37): 8850-8859.
- El-Seedi, H.R., El-Barbary, M.A., El-Ghorab, D.M., Bohlin, L., Karlson, A., Goransson, U. & Verpoorte, R. (2010). Recent insight into the biosynthesis and biological activities of natural xanthones. *Current Medicinal Chemistry*. **17**(9): 854-901.
- Ibrahim, M.Y., Hashim, N.M., Mohan, S., Abdulla, M.A., Abdelwahab, S.I., Arbab, I.A., Yahayu, M., Ali, L.Z. & Ishag, O.E. (2015).  $\alpha$ -Mangostin from *Cratoxylum arborescens*: an *in vitro* and *in vivo* toxicological evaluation. *Arabian Journal of Chemistry*. **8**(1): 129-137.
- Li, Z.P., Lee, H-H., Uddin, Z., Song, Y.H. & Park, K.H. (2018). Caged xanthones displaying protein tyrosine phosphatase 1 B (PTP1B) inhibition from *Cratoxylum cochinchinense*. *Bioorganic Chemistry*. **78**: 39-45.
- Pattanaprateeb, P., Ruangrungsi, N. & Cordell, G.A. (2005). Cytotoxic constituents from *Cratoxylum arborescens*. *Planta Medica*. **71**(2): 181-183.
- Saputri R.D., Tjahjandarie T.S. & Tanjung M. (2018). Meliglabrin, a new flavonol derivative from the leaves of *Melicope glabra* (Blume) T.G. Hartley. *Natural Product Sciences*. **24**(3): 155-158.
- Tanjung, M., Tjahjandarie, T.S., Saputri, R.D., Kurnia, B.D., Rachman, M.F. & Syah Y.M. (2019). Calotetrapterins A-C, three new pyranoxanthones and their cytotoxicity from the stem bark of *Calophyllum tetrapterum* Miq. *Natural Product Research*. 1-6. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1634714>
- Tanjung, M., Rachmadiarti, F., Prameswari, A., Ultha Wustha Agyani, V., Dewi Saputri, R., Srie Tjahjandarie, T. & Syah, Y.M. (2018). Airlanggins AB, two new isoprenylated benzofuran-3-ones from the stem bark of *Calophyllum soulattri*. *Natural Product Research*. **32**(13): 1493-1498..
- Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., Saputri, R.D., Nadar, P.B., Aldin, M.F., Marliana, E. & Permadi, A. (2019). Flavestin K, An isoprenylated stilbene from the leaves of *Macaranga recurvata* Gage. *Natural Product Sciences*. **25**(3): 244-247.
- Tantapakul, C., Maneerat, W., Sripisut, T., Ritthiwigrom, T., Andersen, R.J., Cheng, P., Cheenpracha, S., Raksat, A. & Laphookhieo, S. (2016). New benzophenones and xanthones from *Cratoxylum sumatranum* ssp. *neriifolium* and their antibacterial and antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **64**(46): 8755-8762.
- Yahayu, M.A., Rahmani, M., Hashim, N.M., Ee, G.C.L., Sukari, M.A. & Akim, A.M. (2013). Cytotoxic and antimicrobial xanthones from *Cratoxylum arborescens* (Guttiferae). *Malaysian Journal of Science*. **32**(1): 53-60.