

## LUNULARIN AND OXYRESVERATROL : TWO STILBENE DERIVATIVES FROM *Morus macroura*

Nunuk H. Soekamto<sup>a,\*</sup>, Sjamsul A. Achmad<sup>b</sup>, Emilio L. Ghisalberti<sup>c</sup>, Euis H. Hakim<sup>b</sup>, and Yana M. Syah<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Hasanuddin University, Jl Perintis Kemerdekaan km 10 Makasar Indonesia 90245

<sup>b</sup> Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Bandung Institute Technology, Jl Ganeca 10 Bandung Indonesia 40132

<sup>c</sup> Department of Chemistry, University of Western Australia Nedlands, Western Australia 6907

Received 30 June 2005; Accepted 8 July 2005

### ABSTRACT

Two stilbene derivatives namely lunularin and oxyresveratrol were isolated from *Morus macroura* Miq. (Moraceae), a rare species found in West Sumatera and endemic to Indonesia. The structure of all these compounds were elucidated based on physical and spectroscopic data.

**Keywords:** Lunularin, *Morus macroura* Miq, oxyresveratrol.

### PENDAHULUAN

Salah satu genus yang termasuk dalam famili Moraceae adalah *Morus*. Tumbuhan *Morus* telah lama digunakan sebagai obat tradisional Cina, misalnya untuk pengobatan batuk, asma, hipertensi, influenza, rematik dsb. Beberapa spesies tumbuhan yang digunakan sebagai obat tersebut, seperti *M. alba*, *M. bombycis*, *M. lhou*, dan *M. multicaulis*. Di samping itu, beberapa spesies *Morus* atau murbei mempunyai nilai ekonomi yang tinggi, karena daunnya adalah makanan ulat sutera, buahnya dapat dimakan, dan kayunya digunakan sebagai bahan bangunan [1].

Di Indonesia, hanya terdapat dua spesies *Morus*, yaitu *M. alba* dan *M. macroura*, yang terakhir merupakan spesies yang langka dan endemik untuk Indonesia, dan terutama terdapat di daerah Sumatera Barat dan dikenal dengan nama daerah "Andalas" atau Kertey [2]. Beberapa jenis senyawa fenol telah ditemukan pada tumbuhan *M. macroura*, seperti morasin B, morasin P, mulberosida C, dan mulberofuran K [3-4]. Pada kesempatan ini akan diuraikan hasil penelitian terhadap spesies yang berhubungan dengan penemuan senyawa-senyawa turunan stilben, yakni lunularin (1) dan oksiresveratrol (2). Struktur senyawa-senyawa tersebut telah ditetapkan berdasarkan data spektroskopi UV, IR, MS, dan NMR, termasuk 1D dan 2D NMR seperti, *spin decoupling*, DEPT, HMQC, dan HMBC. Penemuan

kedua senyawa tersebut khususnya senyawa (1) akan dilaporkan dalam artikel ini.

### METODE PENELITIAN

#### Umum

Penentuan titik leleh senyawa-senyawa hasil penelitian ini dilakukan menggunakan alat penetapan titik leleh mikro. Spektrum UV dan IR diukur masing-masing dengan spektrofotometer Varian Cary 100 conc dan ONE Perkin Elmer. Spektrum <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR diukur menggunakan Bruker AM 500, yang bekerja pada 500 MHz (<sup>1</sup>H NMR) dan 125 MHz (<sup>13</sup>C NMR) menggunakan puncak pelarut terdeuterasi sebagai standar. Spektrum massa FABMS diperoleh menggunakan spektrometer massa JEOL JMS-AM20. Kromatografi cair vakum (KCV) dilakukan dengan menggunakan Si gel Merck 60 GF<sub>254</sub>, kromatografi radial dengan menggunakan Si gel Merck 60 GF<sub>254</sub> dan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada pelat berlapis Si gel Merck Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 0,25 mm.

#### Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan berupa kayu batang dan kayu akar *M. macroura* dikumpulkan pada bulan Mei 1997 dari Tanah Datar, Sumatera Barat. Bahan tumbuhan ini diidentifikasi oleh Herbarium Jurusan Biologi Universitas Andalas, dan dikonfirmasi oleh Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian dan

\* Corresponding author.

Pengembangan Biologi, LIPI, Bogor, dan spesimennya tersimpan di kedua herbarium tersebut.

### Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kayu akar *M. macroura* (7,9 kg) dimaserasi dengan metanol. Hasil maserasi diuapkan pada tekanan rendah, menghasilkan ekstrak metanol berupa residu berwarna coklat sebanyak 462,5 g. Ekstrak metanol ini dipartisi ke dalam pelarut *n*-heksana, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dan EtOAc, sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana 11,4 g, fraksi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 35 g, dan fraksi EtOAc 207,7 g. Fraksi yang terlarut dalam CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (35 g) difraksinasi menggunakan KCV dengan *n*-heksan, *n*-heksan/etil asetat, etil asetat, dan metanol dengan kepolaran yang terus ditingkatkan, menghasilkan delapan fraksi utama setelah dimonitor dengan KLT. Fraksi utama keempat (4 g) difraksinasi lebih lanjut menggunakan KCV dengan eluen CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-aseton yang ditingkatkan kepolarannya, menghasilkan lima fraksi utama. Fraksi utama ketiga (1,6 g) difraksinasi kembali menggunakan KCV dengan eluen *n*-heksana/CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, MeOH/CHCl<sub>3</sub>, menghasilkan delapan fraksi gabungan. Fraksi gabungan ketujuh (1,0 g) difraksinasi menggunakan kromatotron dengan eluen CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*n*-heksana (60-80 %), menghasilkan lima fraksi utama. Selanjutnya fraksi utama keempat, setelah mengalami fraksinasi berulang kali menggunakan kromatotron, menghasilkan endapan putih yang pada kristalisasi dari CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/*n*-heksana menghasilkan lunularin (**1**) (135 mg) berupa kristal putih mengkilap, yang homogen pada KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda, dengan titik leleh 105-106 °C.

Serbuk kayu batang *M. macroura* (8,2 kg) dimaserasi dengan metanol. Setelah pelarut diuapkan dengan pengurangan tekanan, diperoleh ekstrak metanol berupa residu berwarna coklat. Ekstrak metanol ini dilarutkan kembali dalam aseton, dan fraksi yang larut dalam aseton (108,7 g) difraksinasi empat kali berturut-turut menggunakan KCV dengan *n*-heksana, heksana-etil asetat, etil asetat, dan metanol dengan kepolaran yang terus ditingkatkan. Penggabungan fraksi-fraksi yang diperoleh yang dimonitor dengan KLT, menghasilkan empat fraksi utama. Fraksi utama ketiga (29 g), difraksinasi menggunakan KCV dengan eluen aseton-benzena (15-70 %), menghasilkan lima fraksi gabungan. Fraksi gabungan keempat (17,4 g), difraksinasi kembali menggunakan KVC dengan eluen aseton-benzena (5-50 %), menjadi lima fraksi utama. Selanjutnya fraksi utama ketiga (7,11 g), difraksinasi sebanyak 1,0 g menggunakan kromatotron dengan eluen

MeOH/CHCl<sub>3</sub> (10-20 %), menghasilkan sejumlah fraksi yang digabung menjadi lima fraksi gabungan. Dari fraksi gabungan kedua diperoleh endapan berwarna kuning yang setelah dikristalisasi menggunakan pelarut MeOH/CHCl<sub>3</sub>, menghasilkan oksiresveratrol (**2**) yang berupa kristal kuning (388 mg), dengan titik leleh 95-96 °C, yang homogen pada KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Data Hasil Percobaan

#### Lunularin (**1**)

Diperoleh sebagai kristal berwarna putih mengkilap, t.l. 105-106 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ): 276 (2,94), 223 (3,43), nm; (MeOH + NaOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ): 281 (3,15), 205 (4,57), nm; IR (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3307 (OH), 2920, 2847 (C-H alifatik), 1609, 1594, 1513, 1455 (C=C aromatik) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (aseton-*d*<sub>6</sub>, 500,0 MHz)  $\delta$ : 7,08 (1H, t, H-5), 7,06 (2H, d, *J* = 6,4 Hz, H-2', 6'), 6,70 (1H, dd, *J* = 1,7 dan 4,0 Hz, H-6), 6,68 (1H, m, H-2), 6,74 (2H, d, *J* = 8,6 Hz, H-3', 5'), 6,64 (1H, ddd, *J* = 8,1; 2,5; & 1,1 Hz, H-4), 2,78 (4H, s, H-7, 8); <sup>13</sup>C NMR (aseton-*d*<sub>6</sub>, 125,0 MHz)  $\delta$ : 158,2 (C-3), 156,4 (C-4'), 144,5 (C-1); 133,5 (C-1'), 130,2 (C-2', 6'), 130,0 (C-5), 120,5 (C-2), 116,2 (C-6), 115,9 (C-3', 5'), 113,6 (C-4), 38,9 (C-8), 37,7 (C-7).

#### Oksiresveratrol (**2**):

Diperoleh sebagai kristal berwarna kuning, t.l. 95-96 °C; UV(MeOH):  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 327 (3,90), 301 (3,80), 239 (sh), 218 (3,93) nm; (MeOH + NaOH): (log  $\epsilon$ ) 346 (4,02), 301 (3,91), 239 (sh) nm; IR (KBr)  $\nu_{\max}$  3200 (OH), 1613, 1591, 1518, 1480, 1456 (C=C aromatik) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (aseton-*d*<sub>6</sub>, 500,0 MHz)  $\delta$ : 7,40 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-6), 7,33 (1H, d, *J* = 16,5 Hz, H-7), 6,88 (1H, d, *J* = 16,5 Hz, H-8), 6,51 (2H, d, *J* = 2,3 Hz, H-2' & H-6') 6,42 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, H-3), 6,37 (1H, dd, *J* = 2,4 Hz & *J* = 8,5 Hz, H-5), 6,22 (1H, t, *J* = 2,2 Hz, H-4'); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125,76 MHz)  $\delta$ : 159,5 (C-3' & C-5'), 159,1 (C-4), 156,9 (C-2), 141,6 (C-1'), 128,2 (C-8), 126,2 (C-7), 124,3 (C-6), 117,2 (C-1), 108,4 (C-5), 105,4 (C-2' & C-6'), 103,6 (C-4'), 102,2 (C-3).

### Pembahasan

Pada ekstrak aseton kayu batang *M. macroura* telah ditemukan senyawa turunan stilben, oksiresveratrol (**2**), sedangkan dari ekstrak CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kayu akar *M. macroura* telah diisolasi senyawa turunan stilben pula, lunularin (**1**). Kedua senyawa ini diperoleh melalui beberapa tahap fraksinasi, diikuti dengan pemilihan fraksi utama berdasarkan

analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi partisi.

Senyawa (1) (C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>) diperoleh sebagai kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 105–106 °C. Spektrum UV senyawa (1) dalam MeOH memperlihatkan serapan yang kuat pada  $\lambda_{\text{maks}}$  (log  $\epsilon$ ) 276 (2,94) dan 223 (3,43) nm, yang mengalami pergeseran batokromik sebesar 5 nm pada penambahan NaOH. Spektrum IR menunjukkan adanya serapan pada 3307 cm<sup>-1</sup> untuk gugus -OH, selain serapan pada 2920, 2847 cm<sup>-1</sup> untuk -C-H alifatik, dan 1609, 1594, 1513, 1455 cm<sup>-1</sup> untuk cincin aromatik. Pola serapan UV dan IR tersebut menunjukkan bahwa senyawa (1) merupakan suatu turunan fenol sederhana. Spektrum <sup>1</sup>H NMR menunjukkan adanya sinyal untuk empat proton alifatik pada  $\delta$  2,78 ppm, empat proton aromatik dari dua jenis proton yang ekivalen pada  $\delta$  7,06 dan 6,74 ppm, dan empat proton aromatik lainnya pada  $\delta$  7,08, 6,70, 6,68, dan 6,64 ppm. Selain itu, spektrum <sup>13</sup>C NMR senyawa (1) memperlihatkan 14 sinyal karbon yang terpisah, yang terdiri dari 12 C-aromatik ( $\delta$  158,2, 156,4, 144,5, 133,5, 130,2 (2C), 130,0, 120,5, 116,2, 115,9 (2C), 113,6 ppm) dan 2 C-metilen ( $\delta$  38,9 dan 37,7 ppm) yang memberi petunjuk bahwa senyawa (1) adalah turunan dihidrostilben. Di samping itu, spektrum <sup>13</sup>C NMR juga menunjukkan adanya dua sinyal yang karakteristik untuk karbon oksiaril ( $\delta$  158,2, dan 156,4 ppm), sehingga dapat disarankan bahwa senyawa (1) adalah dihidrostilben yang mengandung dua gugus fenol. Adapun posisi kedua gugus fenol tersebut (Gambar 1) dalam kerangka dihidrostilben dapat diketahui dari analisis spektrum <sup>1</sup>H NMR.

Spektrum <sup>1</sup>H NMR (Tabel 1) senyawa (1) memperlihatkan adanya empat sinyal proton pada  $\delta$  6,64 (1H, ddd,  $J = 8,1, 2,5, 1,1$  Hz), 6,70 (1H, dd,  $J = 1,7$  & 4,0 Hz), 6,68 (1H, m), dan  $\delta$  7,08 ppm (1H, t) yang sesuai untuk gugus 3-hidroksifenil, dan dua sinyal proton pada  $\delta$  7,06 (2H, d,  $J = 6,4$  Hz) dan 6,74 ppm (2H, d,  $J = 8,6$  Hz) yang khas untuk gugus 4-hidroksifenil. Selain itu, spektrum <sup>1</sup>H NMR senyawa (1) juga menunjukkan adanya satu sinyal melebar pada  $\delta$  2,78 ppm (4H), yang sesuai untuk gugus 1,2-disubstitusietil dari kerangka dihidrostilben. Berdasarkan analisis spektrum <sup>1</sup>H NMR tersebut, dapat disarankan bahwa senyawa (1) adalah 1-(3-hidroksifenil)-2-(4'-hidroksi-fenil)-etana. Bukti lebih lanjut mengenai senyawa (1) diperoleh dari data korelasi H-C pada spektrum HMQC dan HMBC.

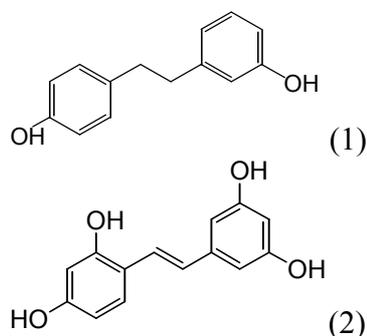
Spektrum HMBC senyawa (1) menunjukkan adanya korelasi jarak jauh antara sinyal proton aromatik pada  $\delta$  6,68 ppm (H-2) dengan sinyal karbon pada  $\delta$  113,7 (C-4) dan  $\delta$  116,2 ppm (C-6), dan sinyal proton aromatik pada  $\delta$  6,64 ppm (H-4) dengan sinyal karbon pada  $\delta$  120,5 ppm (C-2), yang mendukung adanya gugus -OH pada C-3. Selain itu, spektrum HMBC senyawa (1) juga memperlihatkan korelasi antara sinyal proton aromatik pada  $\delta$  7,06 ppm (H-2'/6') dengan sinyal karbon pada  $\delta$  156,4 ppm (C-4'), dan antara sinyal pada  $\delta$  6,74 ppm (H-3'/H-5') dengan sinyal karbon pada  $\delta$  133,5 (C-1') dan 156,4 ppm (C-4'), yang mengidentifikasi adanya gugus -OH pada C-4'. Tambahan pula, kedua sinyal proton metilen pada  $\delta$  2,78 ppm (H-7/8) memperlihatkan korelasi

**Tabel 1** Data <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C NMR lunularin (1)

No. C	$\delta_{\text{H}}$ dalam ppm, (multiplisitas, $J$ dalam Hz)		$\delta_{\text{C}}$ (1*)	HMBC H $\Rightarrow$ C (1*)
	1**	1*		
1	-	-	144,5	-
2	6,6–6,9 (m)	6,68 (m)	120,5	C-4, C-6
3	-	-	158,2	-
4	6,6–6,9 (m)	6,64 (ddd, 8,1; 2,5; 1,1)	113,6	C-2
5	6,6–6,9 (m)	7,08 (t)	130,0	C-1, C-3
6	6,6–6,9 (m)	6,70 (dd, 1,7 dan 4,0)	116,2	C-2
7	2,9 (s)	2,78 (s)	37,7	C-6, C-2, C-1
8	2,9 (s)	2,78 (s)	38,9	C-2', C-6', C-1
1'	-	-	133,5	-
2'	7,05 (d, 8,5)	7,06 (d, 6,4)	130,2	C-2', C-4'
3'	6,74 (d)	6,74 (d, 8,6)	115,9	C-5', C-1', C-4'
4'	-	-	156,4	-
5'	6,74 (d)	6,74 (d, 8,6)	115,9	C-5', C-1', C-4'
6'	7,05 (d, 8,5)	7,06 (d, 6,4)	130,2	C-2', C-4'

\* hasil isolasi, diukur dalam aseton-d<sub>6</sub>

\*\* literatur, diukur dalam aseton-piridin [5]



**Gambar 1** Struktur molekul senyawa lunularin (1) dan oksiresveratrol (2)

dengan sinyal-sinyal karbon pada  $\delta$  116,2 (C-6), 120,5 (C-2), 130,2 (C-2' dan C-6'), 144,5 ppm (C-1), yang mendukung kerangka dihidrostilben pada struktur molekul senyawa (1). Dengan demikian, spektrum HMBC mendukung senyawa (1) sebagai 1-(3-hidroksifenil)-2-(4'-hidroksi-fenil)-etana atau lunularin.

Penelusuran pustaka menunjukkan bahwa lunularin (1) adalah suatu dihidrostilben yang telah dikenal [5]. Namun laporan terdahulu mengenai senyawa 1 hanya didasarkan pada hasil analisis data spektrum  $^1\text{H}$  NMR (Tabel 1). Pada kesempatan ini, struktur molekul senyawa 1 ditetapkan berdasarkan data  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR lengkap, dan juga data NMR 2-D HMQC dan HMBC. Dengan demikian, hasil penelitian ini mengkonfirmasi struktur lunularin (1) dan melengkapi data sebelumnya, dianalisis dengan cara yang sama, dapat disimpulkan bahwa senyawa (2) adalah oksiresveratrol (Gambar 1).

Lunularin (1) dan oksiresveratrol (2) menunjukkan toksisitas yang berbeda terhadap udang *Artemia salina*, dimana lunularin (1) lebih toksik dengan  $\text{LC}_{50}$  58,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dibandingkan oksiresveratrol (2),  $\text{LC}_{50}$  > 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Perbedaan toksisitas ini kemungkinan disebabkan adanya perbedaan ukuran dan polaritas molekul, dimana lunularin (1) mengandung ikatan tunggal pada sistem diariletana.

## KESIMPULAN

Pada penelitian ini terhadap tumbuhan *M. macroura* ini, telah ditemukan dua senyawa turunan stilben, yakni lunularin (1) dan oksiresveratrol (2). Senyawa (1) ditemukan dari kayu akar, sedangkan senyawa (2) ditemukan dari kayu batang *M. macroura*. Senyawa (1) menunjukkan toksisitas yang cukup tinggi terhadap udang *A. salina* dengan  $\text{LC}_{50}$  58,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , sedangkan senyawa (2) tidak toksik dengan  $\text{LC}_{50}$  > 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada UNESCO yang memberikan dana untuk penelitian di University of Western Australia (NHS) dan Herbarium Bogoriense, Balai Penelitian dan Pengembangan Botani, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI, Bogor yang telah membantu mengidentifikasi spesimen tumbuhan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Achmad, S.A., Aimi, N., Ghisalberti, E.L., Hakim, E.H., Jasmansyah, Juliawaty, L.D., Makmur, L., Manjang, Y., Supratman, U., Suyatno, Tamin, R., dan Yelminda, A. 1996, *Some New Compounds from Indonesian Moraceae*, Proceedings, International Seminar on Tropical Rainforest Plants, Padang, p.25-32.
2. Deshpande, V. H., R. Srinivasan, and Rama Rao A.V., 1975, *Ind. J. Chem.*, 13, 453-457.
3. Hakim, E.H., Achmad, S.A., Makmur, L., Manjang, Y., Juliawati, L.D., Kusuma, S., Supratman, U., dan Tamin, R., 1995, *Sejumlah Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Morus Macroura Miq. (Moraceae)*, Prosidings Seminar Kimia Bersama ITB-UKM Kedua, Bandung, Vol. 2, p.21-29.
4. Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia II*, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta, 659.
5. Venkataraman, K., 1972, *Phytochemistry*, 11, 1571-1586.