

# Kowanin, Suatu Santon dari Kulit Batang *Garcinia cowa* Roxb

Darwati<sup>1\*)</sup>, Husen H. Bahti<sup>1)</sup>, Supriyatna<sup>2)</sup>, dan Dachriyanus<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Sumedang.

<sup>2)</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Sumedang.

<sup>3)</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Andalas, Limau Manis, Padang.

Diterima 08-06-2008

Disetujui 09-02-2009

## ABSTRACT

The compound tetraoxygenated xanthone was isolated from the crude extract of the stem bark of *Garcinia cowa* Roxb. The compound tetraoxygenated xanthone was carried out as yellow crystal with melting point 136-137°C. The structure of this compound was determined based on spectroscopic methods, including UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 1D and 2D. The compound was found to exhibit cytotoxicity against T47D cell by SRB method

**Keywords:** kowanin, tetraoxygenated xanthone, *Garcinia cowa* Roxb., T47D, SRB

## PENDAHULUAN

*Garcinia cowa* Roxb (Guttiferae, Clusiaceae), secara umum dikenal dengan nama manggis hutan atau kandis di daerah Sumatera Barat dan cha muang (Thailand). Buahnya dapat dimakan sebagai manisan atau penyedap masakan atau rempah-rempah (Heyne 1987). Daun dan buah telah digunakan untuk memperlancar peredaran darah, pengencer dahak pada batuk filek (Panthong *et al*, 2006) dan tonikum (Poomipamorn *et al*, 1997), kulit batang telah digunakan secara tradisional sebagai antiperitik (Na Pattalung *et al*, 1994). Mahabusarakam *et al*, (2005), telah berhasil mengisolasi senyawa kowa garsinon A-E, mangostin dan fuskasanton A dari getah *G. cowa*. Tumbuhan ini banyak ditemukan di daerah hutan tropis seperti Malaysia, Thailand dan Indonesia (Burkill 1966). Berdasarkan hasil penelitian spesies ini mengandung golongan santon, benzofenon dan flavonoid. Golongan senyawa ini diketahui memiliki berbagai aktivitas seperti antimikroba, antimalaria, antioksidan, antiinflamasi, antitumor, dan antikanker (Komguem *et al*, 2005). Dachriyanus *et al*, (2004), telah berhasil mengisolasi senyawa rubrasanton (aktivitas antioksidan) dan tetrapreniltoluquinon (aktivitas antikanker) dari kulit batang *G. cowa*. Na Pattalung *et al*, (1994), melaporkan senyawa kowanol, kowasanton

dan norkowanin dengan aktivitas antibakteri dan Panthong *et al*, 2006, berhasil mengisolasi 14 senyawa diantaranya  $\alpha$ -mangostin, kowasanton A-E, kowanin dengan aktivitas antibakteri. Dalam makalah ini akan disampaikan penemuan suatu senyawa santon jenis santon tetraoksigenasi yaitu kowanin dari ekstrak *n*-heksan kulit batang *G. cowa*. Struktur molekul senyawa tersebut ditetapkan berdasarkan data spektroskopi UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HMQC dan HMBC serta didukung oleh perbandingan data sejenis yang telah dilaporkan sebelumnya. Aktivitas anti kanker juga telah dilakukan terhadap sel T47D dengan metode SRB.

## BAHAN DAN METODE

**Bahan penelitian.** Serbuk kulit batang tumbuhan *Garcinia cowa* Roxb. diperoleh dari Hutan Sarasahbonta Payakumbuh Sumatera Barat pada bulan April 2006.

**Bahan kimia.** Metanol, *n*-heksan, etilasetat, aseton, kloroform, akuades, pelat silika gel GF<sub>254</sub>, silikagel GF<sub>60</sub>, GF<sub>254</sub>, pereaksi serum sulfat. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk keperluan ekstraksi adalah berkualitas teknis dan sudah didestilasi sedangkan untuk keperluan analisis dan pemurnian digunakan bahan yang berkualitas pro analisis (p.a).

**Alat penelitian.** Seperangkat alat kromatografi kolom cair vakum, destilasi, penguap putar, bejana lapis tipis, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

\*Telp: 085222972529

Email: darwati@yahoo.co.id

Alat-alat yang digunakan untuk identifikasi adalah *Fisher-Johns melting point apparatus*, spektrofotometer UV-VIS Beckman DU-7500, FT-IR 8400 Shimadzu, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-RMI JEOL JNMA-500.

**Cara kerja.** Cuplikan tanaman yang berupa kulit batang *G. cowa* dibersihkan dari pengotornya, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah itu dipotong-potong dan dihaluskan hingga berbentuk serbuk.

**Ekstraksi dan isolasi senyawa santon.** Serbuk kulit batang *G. cowa* sebanyak 2 kg dimaserasi berturut-turut menggunakan pelarut *n*-heksan, diklorometan dan metanol masing-masing selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, sehingga diperoleh masing-masing ekstrak kasar *n*-heksan (30 g), diklorometan (100 g), dan metanol (300 g). Kemudian terhadap ekstrak *n*-heksan dipisahkan antara filtrat dan residunya. Ekstrak *n*-heksan yang diperoleh disaring dan diuapkan dengan penguap putar sehingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya terhadap ekstrak kental (10 g) dilakukan pemisahan dan pemurnian dengan berbagai teknik kromatografi meliputi kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom grafitasi (KKG). Terhadap ekstrak kasar *n*-heksan (2 g) dilakukan pemisahan dengan KCV dengan menggunakan silika gel GF<sub>254</sub> 20 g sebagai adsorben dan eluen campuran *n*-heksan-EtOAc 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, dan EtOAc. Sehingga diperoleh 5 fraksi A1-A5. Selanjutnya terhadap fraksi A2 dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom grafitasi dengan silika gel GF<sub>60</sub> dengan menggunakan eluen yang sama sehingga diperoleh 4 fraksi B1-B4. Terhadap fraksi B2 dilakukan pemurnian sampai diperoleh senyawa 1 yang diidentifikasi sebagai kowanin (8 mg).

**Uji aktivitas antikanker terhadap sel T47D.** Sel yang telah siap uji sebanyak 190 µL ditambah dengan sampel uji sebanyak 10 µL (variasi konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,15; 0,63; 0,31; dan 0,16 µg/mL). Selanjutnya diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu 37°C. Setelah itu sel difiksasi dengan TCA 50%. Pewarnaan dilakukan menggunakan SRB 0,4% dalam asam asetat 1% selama 30 menit. Warna SRB yang tidak terikat dibilas dengan asam asetat 1% sedangkan yang terikat diekstraksi dengan basa tris (pH 10). Intensitas warna yang dihasilkan diukur dengan menggunakan ELISA *plate reader* pada λ<sub>maks</sub> 515 nm. Persen viabilitas dihitung berdasarkan persamaan sebagai berikut.

$$\% \text{ Viability } s = \frac{A1-A0}{A2-A0} \times 100\%$$

A0 = Absorban blanko

A1 = Absorban (sel + sampel)

A2 = Absorban control (sel + 10% DMSO)

% inhibisi = 1 - % viabilita s

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan cara analisis regresi linear antara persen viabilitas dan konsentrasi (Skehan *et al*, 1990).

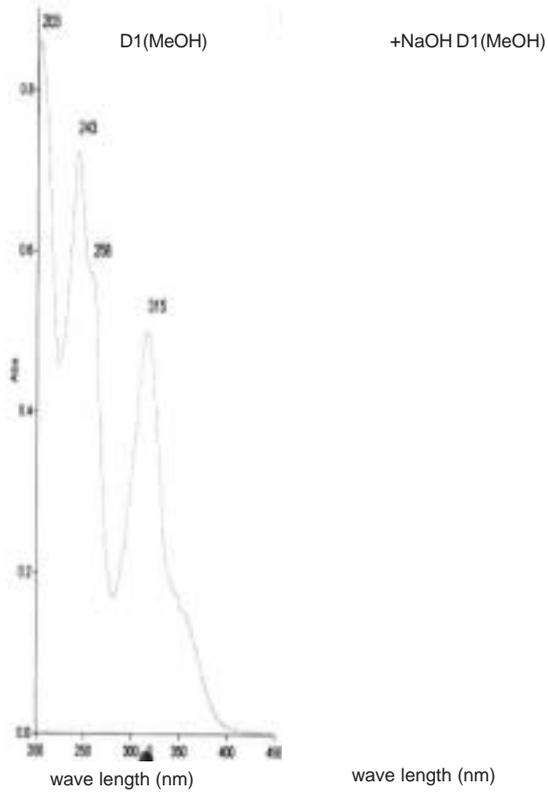
## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Senyawa 1 (kowanin).** Diperoleh berupa kristal amorf kuning sebanyak 8 mg dari ekstrak kasar 2 g dengan titik leleh 136°C-137°C. UV (MeOH)  $\epsilon_{\text{max}}$  (log  $\dot{\text{a}}$ ) nm : 203 (5,62), 243 (5,54), 258 (5,45), dan 315 (5,38) Efek batokromik dengan penambahan NaOH memperlihatkan serapan maksimum pada  $\epsilon_{\text{max}}$  (MeOH) (log  $\dot{\text{a}}$ ) nm: 205 (6,01), 243 (5,50), 267 (5,30), dan 368 (5,54). IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> 3421, 2966, 2920, 2854, 1643, 1608, 1581 dan 1080. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>), dan <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>).

Senyawa 1 berupa kristal berwarna kuning dengan titik leleh 136°C-137°C. Spektrum UV (MeOH) menunjukkan serapan maksimum pada λ<sub>maks</sub> (log  $\dot{\text{a}}$ ) nm: 203 (5,62), 243 (5,54), 258 (5,45), dan 315 (5,38) yang karakteristik untuk tetraoksigenasi santon dan mengalami pergeseran batokromik pada penambahan pereaksi geser NaOH dengan λ<sub>maks</sub> (log  $\dot{\text{a}}$ ) nm: 205 (6,01), 243 (5,50), 267 (5,30), dan 368 (5,54) (Gambar 1).

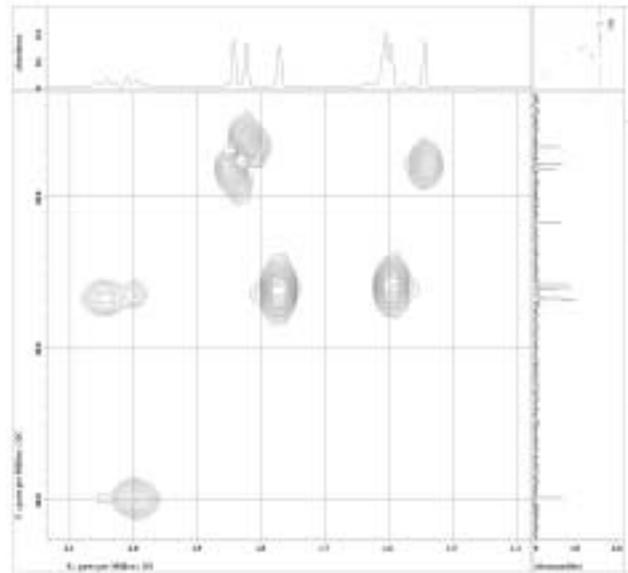
Spektrum IR memperlihatkan adanya pita-pita serapan ( $\nu_{\text{maks}}$  cm<sup>-1</sup>) untuk gugus hidroksil (3421), C-H alifatik (2966, 2920) karbonil terkelasi (1643), konyugasi dari cincin benzena pada (1608, 1581, dan 1461) dan C-O eter (1280) (Gambar 2).

Spektrum <sup>1</sup>H NMR dan <sup>13</sup>C HNMR dari kowanin (1) (Tabel 1) dalam kloroform memperlihatkan sinyal-sinyal yang karakteristik untuk senyawa golongan santon yang terprenilasi. Spektrum <sup>1</sup>H NMR (Gambar 3) menunjukkan adanya sinyal untuk gugus hidroksil yang terkelasi pada δ<sub>H</sub> 13,81 (1H, s) yang ditempatkan pada posisi C-1. Tidak adanya sinyal proton aromatik pada daerah 7,40-7,60 menunjukkan bahwa tidak adanya proton peri terhadap gugus karbonil. Dua sinyal proton aromatik

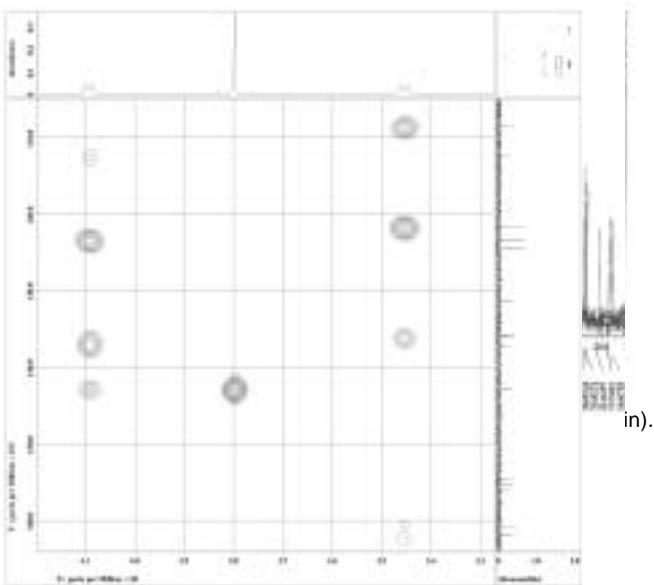


Gambar 1. Spektrum UV senyawa 1 (kowanin).

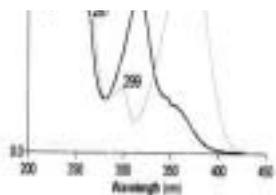
Gambar 4. Spektrum C NMR senyawa 1 (kowanin).



Gambar 5. Spektrum HMQC.



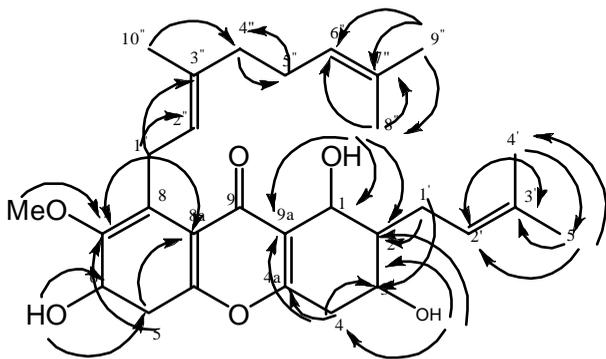
in).



Gambar 3. Penggalan Spektrum H NMR senyawa 1 (kowanin) untuk daerah  $\delta_H$  3,4 – 6,9 ppm.

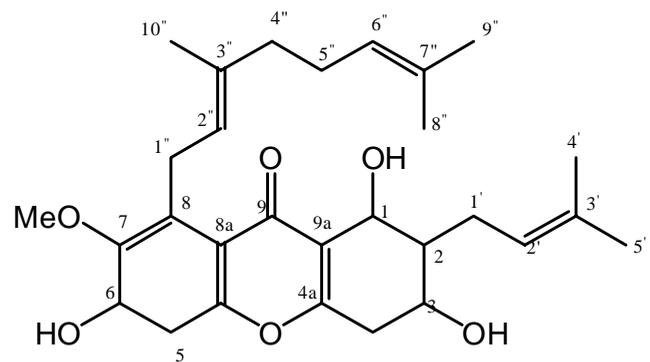
Gambar 6. Spektrum HMBC kowanin.

Tabel 1. Data geseran kimia proton dan karbon dari spektrum  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR dan korelasi NMR 2D dari kowanin (1) 500 MHz untuk  $^1\text{H}$  dan 125 MHz untuk  $^{13}\text{C}$  dalam kloroform- $d$ .



Gambar 7. HMBC senyawa 1.

terlihat pada  $\delta_{\text{H}}$  6,29 (1H, s), dan 6,83 (1H, s). Pada spektrum H NMR juga terlihat sinyal-sinyal karakteristik untuk satu unit prenil pada  $\delta_{\text{H}}$  3,45 (2H, *d*,  $J = 7,3$ ), 5,02 (1H, *d*,  $J = 7,3$ ), 1,59 (3H, s), 1,54 (3H, s) dan satu unit geraniol pada  $\delta_{\text{H}}$  4,09 (2H, *d*,  $J = 6,1$ ), 5,28 (1H, *t*,  $J = 6,1$ ), 1,99 (2H, *t*,  $J = \dots$ ), 2,04 (2H, m), 5,26 (1H, *t*,  $J = 1,77$ ), 1,85 (3H, s), dan 1,82 (3H, s).



Gambar 8. Struktur molekul senyawa 1 (kowanin).

Selain itu juga terlihat sinyal untuk satu proton metoksi pada  $\delta_{\text{H}}$  3,83 (3H, s).

Pada spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR senyawa 1 dalam kloroform terlihat adanya 25 sinyal karbon. Pada spektrum DEPT terlihat adanya enam karbon metil pada  $\delta_{\text{C}}$  62,26 (C-OMe), 16,67, 17,86; 18,11; 25,82; dan 26,07, empat karbon metilen pada  $\delta_{\text{C}}$  21, 17, 21,63, 26,72;

dan 39,88; lima buah karbon metin pada  $\delta_c$  93,46; 101,07; 121,61; 123,38; dan 124,34; dan 14 buah karbon kuartener pada  $\delta_c$  160,79; 108,58; 161,79; 155,25; 154,67; 142,74; 135,80; 112,42; 182,18 (C karbonil dengan posisi para terhadap gugus hidroksi, dimana sinyal ini khas untuk inti santon), 103,80; 155,95; 131,49; 137,29; dan 136,02.

Berdasarkan analisa data NMR 1 dimensi diketahui senyawa hasil isolasi mempunyai rumus molekul  $C_{29}H_{34}O_6$  dengan berat molekul 478, dan nilai DBE = 1. Hal ini sesuai dengan data NMR yaitu 9 ikatan rangkap C=C (enam diantaranya untuk rangka dasar santon, satu untuk unit prenil dan dua untuk unit geranil), satu karbonil (C=O) dan tiga cincin dari rangka dasar santon.

Identifikasi sinyal-sinyal karbon lebih lanjut ditetapkan berdasarkan spektrum NMR 2D, HMQC, HMBC. Pada spektrum HMQC (Gambar 5) terlihat proton aromatik pada  $\delta_H$  6,29 berikatan langsung dengan  $\delta_c$  93,46 dan pada HMBC terlihat bahwa proton ini berkorelasi lewat 3 ikatan dengan karbon pada  $\delta_c$  108,58 (C-2), dan 103,80 (C-9a) dan lewat dua ikatan dengan karbon pada  $\delta_c$  155,25 (C-4a) dan 161,79 (C-3) sehingga proton ini ditempatkan pada posisi C-4. Proton pada  $\delta_H$  6,83 pada spektrum HMQC berikatan langsung dengan karbon pada  $\delta_c$  154,676 dan pada spektrum HMBC terlihat bahwa proton ini berkorelasi dengan karbon pada  $\delta_c$  112,42 (C-8a), dan 142,74 (C-7) dan lewat dua ikatan dengan karbon pada 155,95 (C-10<sup>a</sup>), sehingga proton ini ditempatkan pada posisi C-5.

Pada spektrum HMBC (Gambar 6) terlihat proton pada  $\delta_H$  3,45 (H-11) berkorelasi lewat dua ikatan dengan karbon pada  $\delta_c$  108,58 (C-2) dan lewat tiga ikatan dengan karbon pada 161,79 (C-3), sehingga unit prenil ini ditempatkan pada posisi C-2. Proton benilik pada 4,09 (2H, d, J = 6,10 dari gugus geranil pada spektrum HMBC menunjukkan korelasi dengan karbon pada C-8<sup>a</sup> (112,4), C-17(123,4), C-18 (137,3), C-7 (142,7), sehingga gugus geranil ini ditempatkan pada posisi C-8 pada cincin B. Dari spektrum HMQC juga terlihat bahwa proton metil dari gugus metoksi pada  $\delta_H$  3,82 terikat pada karbon  $\delta_c$  62,26 dan dalam spektrum HMBC terlihat proton ini berkorelasi lewat tiga ikatan dengan karbon pada  $\delta_c$  142,74 (C-7), sehingga proton metoksil ini ditempatkan pada posisi C-7. Pada spektrum HMBC juga terlihat proton hidroksi pada  $\delta_H$  6,34 (2H, d, 7.3) berkorelasi lewat tiga ikatan dengan

karbon pada  $\delta_c$  101,7 (C-5) dan lewat dua ikatan dengan karbon pada  $\delta_c$  154,6 (C-6) sehingga proton ini ditempatkan pada posisi C-6. Selanjutnya OH pada  $\delta_H$  13,81 pada spektrum HMBC menunjukkan korelasi dengan karbon pada  $\delta_c$  103,8 (C-9<sup>a</sup>), 108,6 (C-2) dan 160,8 (C-1). Sinyal untuk proton pada  $\delta_H$  6,19 (1H,s) pada spektrum HMBC berkorelasi lewat dua ikatan dengan karbon pada 161,8 (C-3) dan lewat tiga ikatan dengan karbon pada 108,6 (C-2) dan 93,5 (C-4), sehingga proton ini ditempatkan pada posisi C-3.

Hubungan antara proton dengan karbon tetangganya yang berjarak 2 ikatan dan 3 ikatan dari spektrum HMBC untuk senyawa 1 dapat dilihat pada Gambar 7.

Dari analisa yang telah dilakukan terhadap spektrum <sup>1</sup>H RMI, <sup>13</sup>C RMI, COSY, HMQC, dan HMBC dapat disimpulkan bahwa senyawa 1 adalah jenis santon terprenilasi: 1,3,6-trihidroksi-7-dimetoksi-2-bis-(3-meil-but-2-enil)-8-(3,7-dimetil-2,6-oktadienil)-santon, dengan rumus molekul  $C_{29}H_{34}O_6$ .

## KESIMPULAN

Kulit batang *G. cowa* Roxb. telah berhasil diisolasi senyawa santon tretatoksigenasi yang ditetapkan sebagai kowanin dan mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel T47 D dengan nilai  $IC_{50}$  10,4  $\mu$ g/mL dan struktur senyawa seperti Gambar 8.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada ITB, UPI, Laboratorium Puslit Kimia LIPI PUSPITEK Serpong, Banten dan Bandung yang telah membantu pengukuran spektrum dan uji aktivitas, dan juga Herbarium Bogoriensis Bogor yang telah mengidentifikasi sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Pusat Terpadu Basic Science Unpad atas bantuan dana penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Burkill, I.H.** 1966. *Tree Flora of Malaya, Manual for Foresters, Vol. 1 (A-H)*. Malaysia, Kulalumpur: Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- Heyne, K.** 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Yayasan SaranaWana Jaya.
- Mahabusarakum, W., Chairerk, P. & Taylor, W.C.** 2005. Structure elucidation of xanthenes from *Garcinia cowa* Roxb. Late, *Phytochemistry*: **66**, 1148-1153.
- Na Pattalung, P., Thongtheeraparp, W., Wiriyachitra, P. & Taylor, W.C.** 1994. Xanthenes of *Garcinia cowa*. *Planta Med.* **60**: 365-368.
- Kanda Panthong, Wipapan Pongcharoen, souwalak Phongpaichir & W.C. Taylor.** 2006. Tetra oxygenated

- xanthenes from the fruit of *Garcinia cowa*. *Phytochemistry* **67**: 999-1004.
- Justin Komguem**, **A.L. Meli**, **R.N. Manfouo**, **David Lontsi**, **F.N. Ngounou**, **V. Kuete**, **Hippolyte W. kamdem**, **Pirre Tane**, **Bonaventure T. Ngadjui**, **Beiben L. Sondengam** & **Joseph D. Connolly**. 2005. Xanthenes from *Garcinia smeathmannii* (Oliver) and their antimicrobial activity, *Phytochemistry* **66**: 1717-1773.
- Panthong, K**, **Pongcharoen, W.**, **Phongpaichit, W.** & **Taylor, W.C.** 2006. Tetraoxygenated Xanthenes from The Fruit of *Garcinia cowa*. *Phytochemistry* **67**: 999-1004.
- Poomipamorn, S. & Kumomg, A.** 1997. Edible Multipurpose ree Species Faung Fa. Bangkok: Printing (in Tai).
- Skehan, P.**, **Storeng, R.**, **Scudiero, D.**, **Monks, A.**, **McMahon, J.**, **Vistica, D.**, **Warren, J.T.**, **Bokesch, H.**, **Kenney, S.** & **Boyd, M.R.** 1990. New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening. *Journal of the National Cancer Insitute* **82**: 1107-1112.
- Wahyuni, F.S.**, **Lajis, N.H.**, **Stanslas., J.**, **Ali, D.A.I.**, **Shaari, K.** & **Dachriyanus.** 2004. Isolation of bioactive compounds from *Garcinia cowa* Roxb. *14<sup>th</sup> Indonesian National Symposium on Natural Products Chemistry*. Bandung, 16-17<sup>th</sup> December 2004.