SKRIPSI

SENYAWA SIKLOARTOBILOKSANTON DARI KULIT AKAR *Artocarpus elasticus*

IKA FEBRIANA SYAFITRI
NRP. 1412 100 021

Dosen Pembimbing
Prof. Dr. Taslim Ersam

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016

SCRIPT

CYCLOARTOBILOXANTHONE FROM ROOT BARK *Artocarpus elasticus*

IKA FEBRIANA SYAFITRI
NRP. 1412 100 021

Advisor Lecturer
Prof. Dr. Taslim Ersam

CHEMISTRY DEPARTMENT
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA
2016

SENYAWA SIKLOARTOBILOKSANTON DARI KULIT AKAR *Artocarpus elasticus*

SKRIPSI

Disusun sebagai Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana
pada
Program Studi S-1 Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya

Oleh:

IKA FEBRIANA SYAFITRI
NRP 1412 100 021

Surabaya, 06 Juni 2016

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016

LEMBAR PENGESAHAN

SENYAWA SIKLOARTOBILOKSANTON DARI KULIT AKAR *Artocarpus elasticus*

SKRIPSI

Oleh:

IKA FEBRIANA SYAFITRI
NRP 1412 100 021

Surabaya, 06 Juni 2016
Menyetujui,
Dosen Pembimbing,

Prof. Dr. Taslim Ersam
NIP. 19520816 197903 1 004

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia,

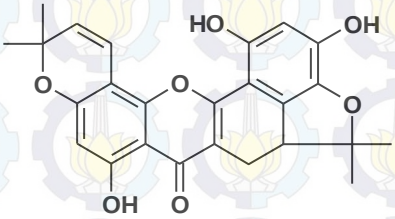
Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc
NIP. 19710616 199703 1 002

SENYAWA SIKLOARTOBILOKSANTON DARI KULIT AKAR *Artocarpus elasticus*

Nama Mahasiswa : Ika Febriana Syafitri
NRP : 1412 100 021
Jurusan : Kimia ITS
Pembimbing : Prof. Dr. Taslim Ersam

Abstrak

Senyawa sikloartobiloksanton **(1)** telah berhasil diisolasi dari kulit akar *Artocarpus elasticus* yang berasal dari Pulau Flores NTT. Senyawa berupa padatan kuning dengan titik leleh 205-207˚C. Penentuan struktur senyawa dilakukan menggunakan analisis UV, IR, ^{1}H dan ^{13}C-NMR, dan perbandingan senyawa. Senyawa tersebut merupakan senyawa santon turunan flavonoid yang pernah dilaporkan sebelumnya.



(1)

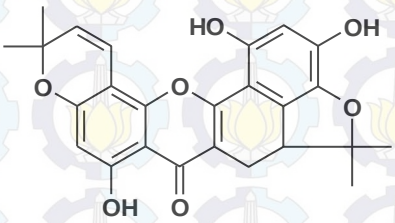
Kata kunci : *Artocarpus elasticus*, sikloartobiloksanton

CYCLOARTOBILOXANTHONE FROM ROOT BARK
Artocarpus elasticus

Name	**: Ika Febriana Syafitri**
NRP	**: 1412 100 021**
Department	**: Chemistry ITS**
Advisor Lecture	**: Prof. Dr. Taslim Ersam**

Abstract

Cycloartobiloxanthone **(1)** have been isolated from root bark *Artocarpus elasticus* which came from the island of Flores in NTT. Compound was obtained as a yellow powder with melting point 205-207˚C. The structure of compound was determinated by spectroscopy analysis with UV, IR, ^{1}H and ^{13}C-NMR, and compound comparison. The compound is xanthones a derived of flavonoids that have been reported previously.



(1)

Keywords : *Artocarpus elasticus*, cycloartobiloxanthone

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah skripsi berjudul **"Senyawa Sikloartobiloksanton dari Kulit Akar *Artocarpus elasticus*"** dapat diselesaikan dengan baik. Tulisan ini tidak akan terwujud dengan baik tanpa bantuan dan dukungan dari semua pihak. Untuk itu penulis sangat berterima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Taslim Ersam, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah skripsi ini.
2. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc, selaku Ketua Jurusan Kimia atas fasilitas yang telah diberikan hingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Drs. Djarot Sugiarso K.S., M.S, selaku dosen wali atas pengarahannya dalam pengambilan mata kuliah.
4. Dosen dan teman-teman Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis yang membantu dan memberikan semangat dalam pengerjaan skripsi ini.
5. Ibu dan Ayah yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa.
6. Teman-teman angkatan 2012 Kimia ITS atas semua perhatian dan dukungannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan naskah skripsi ini tidak lepas dari kekurangan. Oleh karena itu, penulis terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 06 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL IN..... i
HALAMAN JUDUL EN..... ii
LEMBAR PENGESAHAN..... iv
ABSTRAK..... vi
ABSTRACT..... vii
KATA PENGANTAR..... viii
DAFTAR ISI..... ix
DAFTAR GAMBAR..... xi
DAFTAR TABEL..... xiii
BAB I PENDAHULUAN..... 1
1.1 Latar Belakang..... 1
1.2 Permasalahan..... 3
1.3 Hipotesa..... 3
1.4 Tujuan Penelitian..... 3
1.5 Manfaat Penelitian..... 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI..... 5
2.1 Tinjauan Spesies A. elasticus..... 5
2.2 Tinjauan Senyawa Fenolat Spesies A. elasticus..... 6
2.3 Metode Isolasi..... 11
2.3.1 Ekstraksi..... 11
2.3.2 Fraksinasi..... 12
2.3.3 Rekristalisasi..... 15
2.3.4 Uji Titik Leleh..... 16
2.4 Karakterisasi..... 16
2.4.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti..... 16
2.4.2. Spektroskopi Ultra Violet-Visible (UV-Vis)..... 17
2.4.3. Spektroskopi Inframerah..... 18
BAB III METODOLOGI PERCOBAAN..... 19
3.1 Alat..... 19
3.2 Bahan..... 19
3.3 Prosedur penelitian..... 19
3.3.1 Uji Pendahuluan..... 19
3.3.2 Ekstraksi..... 20
3.3.3 Fraksinasi..... 20
3.4 Penentuan Struktur..... 21
3.4.1 Spektrofotometer UV-vis..... 21

3.4.2 Spektrofotometer IR…..21
3.4.3 Spektrometer NMR..... 22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....23
4.1 Uji Pendahuluan..... 23
4.2 Ekstraksi…..23
4.3 Fraksinasi dan Pemurnian senyawa..... 23
4.3 Penentuan Struktur Senyawa.....32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....43
5.1 Kesimpulan…..43
5.2 Saran..... 43
DAFTAR PUSTAKA..... 45
LAMPIRAN..... 49
BIODATA PENULIS..... 51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Biogenesis beberapa senyawa flavonoid hasil isolasi dari A. elasticus.....2
Gambar 2.1 Jalur biosintesis senyawa fenolat..... 7
Gambar 4.1 Kromatogram KLT hasil KCV ekstrak pekat metanol dengan eluen (a) metanol:metilen klorida 10%; (b) metanol:metilen klorida 5%.....24
Gambar 4.2 Kromatogram fraksi gabungan hasil KCV I menggunakan eluen metanol:metilen klorida 5%...25
Gambar 4.3 Kromatogram KLT hasil KCV II dengan eluen metanol:metilen klorida 5%.....26
Gambar 4.4 Kromatogram subfraksi gabungan hasil KCV II menggunakan eluen metanol:metilen klorida 5%...26
Gambar 4.5 Kromatogram hasil KKG subfraksi H-I dengan eluen metanol:metilen klorida 5%.....27
Gambar 4.6 Kromatogram KLT hasil KKG subfraksi H-I dengan eluen metanol:metilen klorida 5%..... 28
Gambar 4.7 Kromatogram KLT subfraksi gabungan K dengan eluen a. metanol:metilen klorida 2%; b. etil asetat: metilen klorida 10%; c. etil asetat:n-heksana 60%..29
Gambar 4.8 Kromatogram KLT subfraksi Y dengan eluen etil asetat:n-heksana 50%..... 29
Gambar 4.9 Kromatogram KLT subfraksi YR dengan eluen metanol:metilen klorida 5%.....30
Gambar 4.10 Kromatogram KLTP subfraksi YR dengan eluen etil asetat:n-heksana 30%.....31
Gambar 4.11 Kromatogram KLT subfraksi Y3 (1) dengan eluen a. metanol:metilen klorida 5%; b. etil asetat: metilen klorida 20%; c. etil asetat:n-heksana 70%..... 31
Gambar 4.12 Spektrum UV senyawa (1) pada MeOH dan MeOH+NaOH..... 32
Gambar 4.13 Kesetimbangan keto-enol dengan NaOH..... 33
Gambar 4.14 Spektrum UV pada MeOH, MeOH+AlCl3, dan MeOH+AlCl3+HCl.....33
Gambar 4.15 Spektrum UV pada MeOH, MeOH+CH3COONa, dan MeOH+CH3COONa+H3BO3..... 34

Gambar 4.16 Spektrum IR senyawa (1)..... 34
Gambar 4.17 Kerangka dasar senyawa (1).....35
Gambar 4.18 Spektrum 1H-NMR (500 MHz) senyawa (1) dalam DMSO.....37
Gambar 4.19 Spektrum 13C-NMR (125 MHz) senyawa (1) dalam DMSO.....39
Gambar 4. 20 Saran jalur biogenesis senyawa flavonoid dan turunannya dari A. elasticus.....42

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Tabel pengelompokkan hasil KCV.....25
Tabel 4. 2 Tabel pengelompokkan hasil KCV II.....26
Tabel 4. 3 Tabel pengelompokkan hasil KKG..... 28
Tabel 4. 4 Data perbandingan pergeseran (δ) 1H-NMR dan 13C-NMR senyawa (1) dan sikloartobiloksanton dalam DMSO.....38

BAB I
PENDAHULUAN

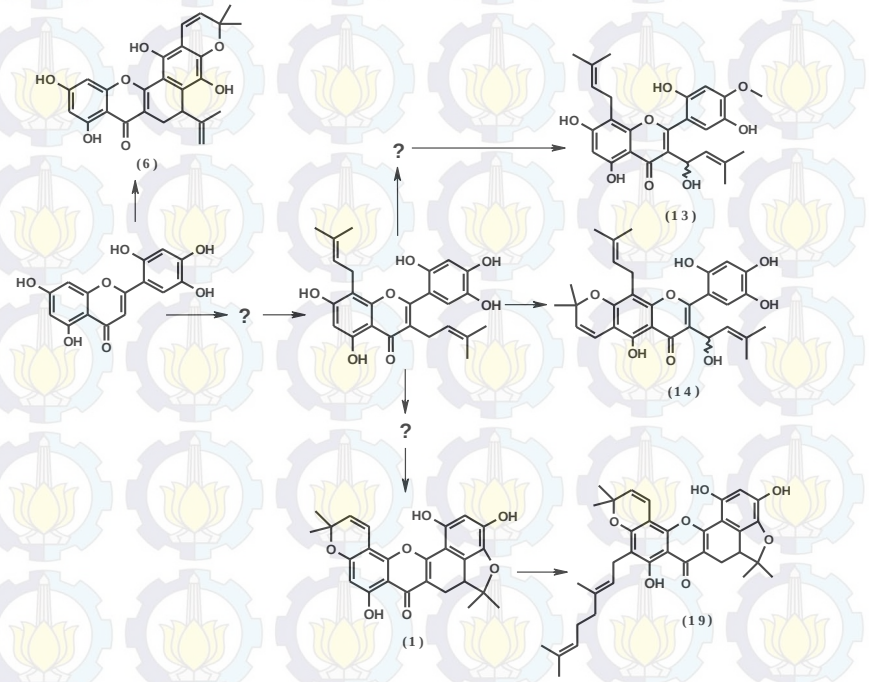
1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki hutan sangat luas dan menjadi salah satu dari tujuh negara *megabiodiversity* kedua setelah Brazilia karena kaya keanekaragaman hayatinya. Ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini telah banyak dikembangkan untuk mendukung sarana kesehatan dengan menggunakan tumbuhan sebagai obat karena kandungan senyawa kimianya yang memiliki berbagai macam khasiat. Tumbuhan hutan tropis digunakan sebagai sumber senyawa kimia hasil metabolit primer dan metabolit sekunder. Salah satu famili tumbuhan tropis yang tersebar luas adalah famili Moraceae. Moraceae terdiri dari 40 genus dan lebih dari 3000 spesies, salah satu genus yang banyak dilaporkan mempunyai manfaat sebagai tumbuhan obat adalah genus *Artocarpus* (Ersam, 2004).

Genus *Artocarpus* dapat digunakan sebagai sumber metabolit sekunder seperti flavonoid, calkon, santon, dan arilbenzofuan. Beberapa penelitian telah melaporkan senyawa tersebut mempunyai sifat sitotoksik, antipoliferatif, antimalaria, antiinflamasi, dan lainnya (Syah *et al*., 2006; Weng *et al*., 2006; Widyawaruyanti *et al*., 2007; Wang *et al.,* 2007; Hashim *et al*., 2012). Buah, akar, batang, dan daunnya dapat digunakan sebagai obat tradisional yaitu malaria, liver, hipertensi, dan diabetes (Jagtap dan Bapat, 2010; Zhao *et al*., 2009).

Spesies-spesies dalam satu genus memiliki afinitas kimia yang sama. Afinitas kimia ini adalah kemampuan untuk membentuk suatu senyawa kimia yang identik atau khas. Pada setiap bagian tumbuhan menghasilkan kandungan senyawa kimia yang berbeda. Kandungan kimia yang berbeda dipengaruhi oleh perbedaan lingkungan hidup dari setiap tumbuhan. Lingkungan akan mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada tiap bagian tumbuhan yang digunakan sebagai usaha pertahanan diri (Ersam, 2001).

Penelitian yang telah ada dari spesies *A. elasticus* melaporkan beberapa senyawa yang dapat disusun menjadi jalur biogenesis senyawa flavonoid (Gambar 1.1). Senyawa-senyawa tersebut yaitu artelastisin **(6)**, artelastoheterol **(13)**, artelasticinol **(14),** sikloartobiloksanton **(19)**, sikloartelastosantendiol **(18)**, dan sikloartelastosanton **(20)** (Kijjoa *et al*.., 1996; Ko, Horng-Huey *et al*., 2005).



Gambar 1.1 Biogenesis beberapa senyawa flavonoid hasil isolasi dari *A. elasticus*

Dari jalur biogenesis tersebut masih terdapat kemungkinan diperoleh senyawa flavonoid baru. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang isolasi senyawa metabolit sekunder khususnya senyawa flavonoid dari tumbuhan *A. elasticus* dari Pulau Flores, Nusa Tenggara Timur (NTT).

1.2 Permasalahan

Permasalahan pada penelitian ini adalah apakah terdapat senyawa flavonoid baru yang ditemukan pada tumbuhan *A. elasticus* dari Pulau Flores NTT.

1.3 Hipotesa

Berdasarkan jalur biogenesis senyawa flavonoid yang telah dilaporkan sebelumnya dari *A. elasticus* (Gambar 1.1), masih terdapat peluang ditemukannya senyawa-senyawa flavonoid baru yang terdapat pada tumbuhan *A. elasticus* dari Pulau Flores NTT.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan memperoleh senyawa flavonoid baru pada tumbuhan *A. elasticus* dari Pulau Flores NTT.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk melengkapi jalur biogenesis pada senyawa flavonoid dan turunannya yang belum ditemukan pada *A. elasticus.*

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI

2.1 Tinjauan Spesies *A. elasticus*

Genus *Artocarpus (*Moraceae) adalah jenis tumbuhan yang tersebar di daerah tropis di dunia sebanyak 50 spesies. Tumbuhan ini mempunyai pohon tinggi dan buahnya memiliki getah putih yang terdapat biji di dalamnya. Buah, akar, dan daunnya telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati gejala malaria, liver, hipertensi, dan diabetes (Ramli *et al*., 2013).

Genus *Artocarpus* merupakan salah satu jenis tanaman tropis yang dapat digunakan sebagai sumber metabolit sekunder. Penelitian yang telah ada melaporkan bahwa jenis tanaman *Artocarpus* mengandung berbagai jenis senyawa flavonoid (Khaerunnisa, 2011). Secara taksonomi, tumbuhan ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Sub kelas : Monochlamydeae
Ordo : Urticales
Famili : Moraceae
Genus : Artocarpus
Spesies : *Artocarpus elasticus*

(C. A. Backer dan R. C. Bakhuizen Van Den Brink Jr, 1968).

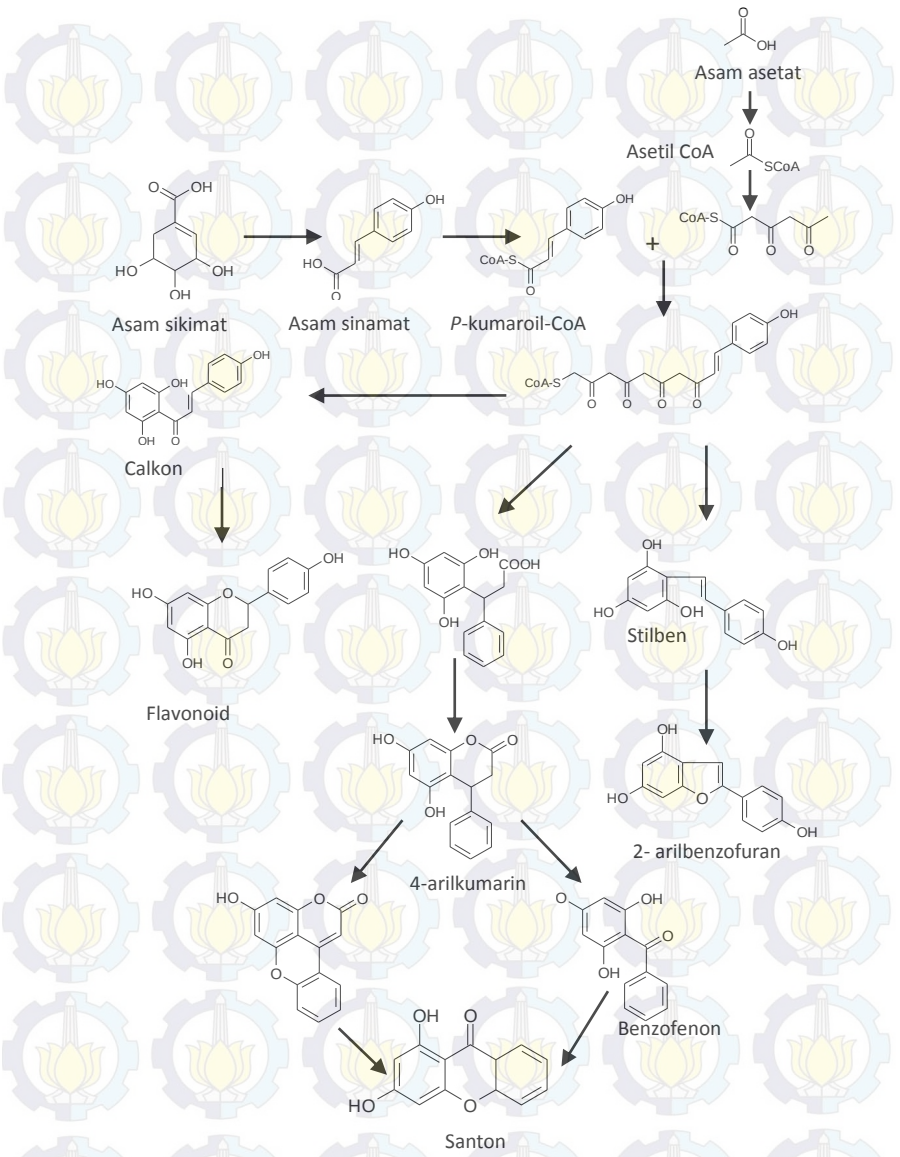
Pada umumnya *Artocarpus* merupakan tumbuhan dengan batang cukup tinggi. Tumbuhan *Artocarpus* terdiri dari beberapa sepesies, diantaranya *A. elasticus* yang terdapat di hutan pegunungan Waworete Sulawesi Tenggara (Sunarti dkk., 2008) dan daerah Gunung Kelud Jawa Timur (Larashati, 2004). Tumbuhan ini juga banyak dijumpai di Birma, Thailand, Nusa Tenggara Timur, Jawa, Filipina. Tumbuhan ini tumbuh subur di daerah yang memiliki curah hujan tinggi (Anggraeni, 1996).

2.2 Tinjauan Senyawa Fenolat Spesies *A. elasticus*

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sebagian besar famili tumbuhan tingkat tinggi diantaranya adalah terpenoid, fenolat, alkaloid, lignin, tanin, saponin, dan lain-lain. Senyawa golongan fenolat merupakan senyawa yang banyak ditemukan di dalam tumbuhan *Artocarpus* diantaranya senyawa flavonoida dan turunannya, calkon, terpenoida, dan santon. Senyawa-senyawa tersebut terbentuk melalui jalur biosintesis (Gambar 2.1) baik jalur asam sikimat maupun asam asetat-malonat (Ersam, 2005 dan Harbone, 1987).

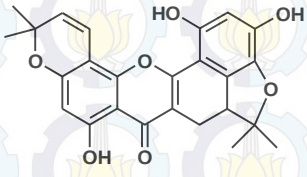
Sejauh ini, sudah banyak ditemukan senyawa fenolat dengan berbagai macam struktur hasil isolasi spesies dari tumbuhan *Artocarpus* dan senyawa yang sering ditemukan adalah flavonoida dan turunannya. Beberapa bagian tumbuhan *A. elasticus* yang telah digunakan dalam penelitian adalah kayu tumbuhan dari Provinsi Trang, Thailand Selatan (Kijjoa *et al*., 1996), kulit akar dari Ping-Tung Hsien, Taiwan (Ko, Horng-Huey *et al*., 2005), dan daun dari Ulu Langat, Malaysia (Ramli *et al*., 2013). Pada penelitian yang telah dilakukan, dilaporkan senyawa hasil isolasi dari *A. elasticus* yaitu sikloartobiloksanton **(1)**, elasticalkon B **(2)**, elasticalkon A **(3)**, artocarpesin **(4)**, sikloartocarpesin **(5)**, artelastisin **(6)**, artelastofuran **(10)**, artelastinin **(11)**, artelastoheterol **(13)**, artelasticinol **(14)**, artelastosanton **(17)**, sikloartelastosantendiol **(18)**, dan sikloartelastosanton **(19)** (Kijjoa *et al*., 1996; Ko, Horng-Huey *et al*., 2005; Ramli *et al*., 2013).

Pada tahun 1989, Sultanbawa dan Surendrakumar telah melakukan penelitian dan menghasilkan dua senyawa piranodihidrobenzosanton dari isolasi kulit *A. nobilis* Sri Lanka dan Jayasinghe (2008) juga melakukan isolasi kulit akar *A. nobilis* dan memperoleh empat senyawa baru. Senyawa-senyawa hasil isolasi tersebut yaitu artonin V 2'-metileter **(7)**, dihidroisoartonin E 2'-metileter **(8)**, artonin E **(9)**, artobiloksanton **(12)**, artonin E 2'-metileter **(15)**, isoartonin E 2'-metileter **(16)**, dan sikloartobiloksanton **(19)**.

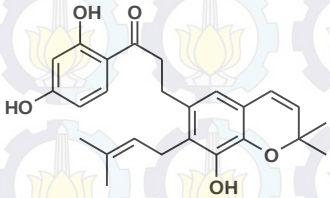


Gambar 2. 1 Jalur biosintesis senyawa fenolat (Ersam, 2005)

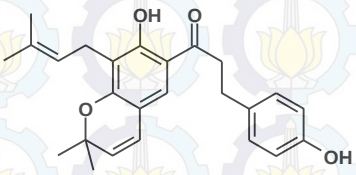
Penelitian yang dilakukan oleh Sultanbawa dan Surendrakumar (1989) dan Jayasinghe (2008) menghasilkan salah satu senyawa yang sama yaitu sikloartobiloksanton **(1)**. Dari penelitian Sultanbawa dan Surendrakumar (1989) tersebut dihasilkan data IR (KBr) cm^{-1}: 3400, 3200 (OH) dan 1650 (C=O). UV (λmaks MeOH) nm: 235, 294, 325, 357, dan 436; UV (λmaks MeOH +$AlCl_3$) nm: 238, 294, 325, 257, dan 436; UV (λmaks MeOH+NaOAc) nm: 237, 282, dan 406. ^{1}H-NMR (200 MHz, aseton): δ13,33 (1H, s, OH khelat), 8,85 (OH), 8,70 (OH), 6,92 (1H, *d*, H-16, *J*=10 Hz), 6,43 (1H, *s*, H-3'), 6,14 (1H, *s*, H-6), 5,64 (1H, *d*, H-17, *J*=10 Hz), 3,43 (1H, *dd*, *J*=7 dan 14 Hz, H-11), 3,21 (1H, *dd*, *J*=7 dan 14,5 Hz, H-12), 2,36 (1H, *t*, *J*=14,5 Hz, H-11), 1,67 (3H, *s*, CH_3), 1,47 (6H, *s*, 2 x CH_3), dan 1,34 (3H, *s*, CH_3). ^{13}C-NMR (125 MHz, aseton): δ162,8 (H-2), 102,1 (H-3), 181,9 (H-4), 152,4 (H-5), 102,2 (H-6), 163,1 (H-7), 105,2 (H-8), 158,6 (H-9), 105,2 (H-10), 20,5 (H-11), 47,7 (H-12), 93,9 (H-13), 22,9 (H-14), 29,1 (H-15), 116,3 (H-16), 128,2 (H-17), 78,9 (H-18), 28,3 (H-18, H-19), 113,0 (H-1'), 151,9 (H-2'), 106,8 (H-3'), 147,8 (H-4'), 138,6 (H-5'), dan 134,0 (H-6'). Dan dari penelitian Jayasinghe (2008) diperoleh data ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): 6,78 (1H, *d*, H-16, *J*=10 Hz), 6,26 (1H, *s*, H-3'), 6,25 (1H, *s*, H-6), 5,58 (1H, *d*, H-17, *J*=10 Hz), 3,40 (1H, *dd*, *J*=7,2 dan 15,2 Hz, H-11), 3,20 (1H, *dd*, *J*=7,2 dan 15,2 Hz, H-12), 2,41 (1H, *t*, *J*=14,5 Hz, H-11), 1,67 (3H, *s*, CH_3), 1,47 (6H, *s*, 2 x CH_3), dan 1,35 (3H, *s*, CH_3). ^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ160,5 (H-2), 104,6 (H-3), 180,6 (H-4), 150,9 (H-5), 99,9 (H-6), 160,9 (H-7), 101,1 (H-8), 158,7 (H-9), 104,0 (H-10), 19,7 (H-11), 46,4 (H-12), 93,7 (H-13), 22,5 (H-14), 28,0 (H-15), 114,8 (H-16), 127,3 (H-17), 77,8 (H-18), 27,9 (H-18, H-19), 111,7 (H-1'), 150,2 (H-2'), 103,6 (H-3'), 145,9 (H-4'), 136,8 (H-5'), dan 127,3 (H-6').



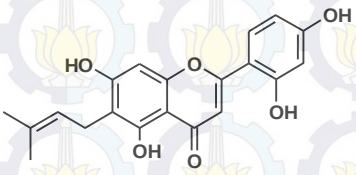
Sikloartobiloksanton **(1)**



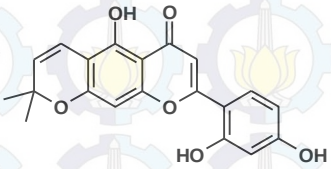
Elasticalkon B **(2)**



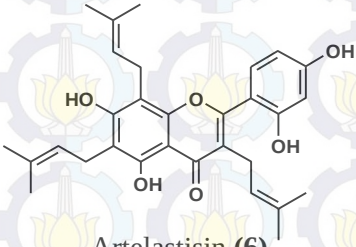
Elasticalkon A **(3)**



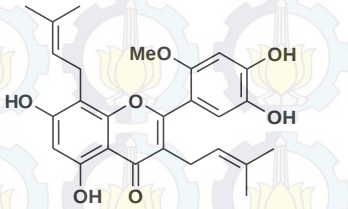
Artocarpesin **(4)**



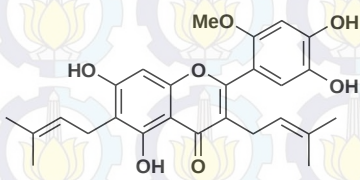
Sikloartocarpesin **(5)**



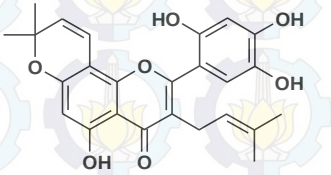
Artelastisin **(6)**



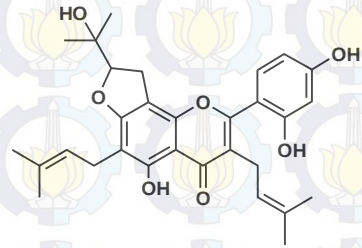
Artonin V 2'-metileter **(7)**



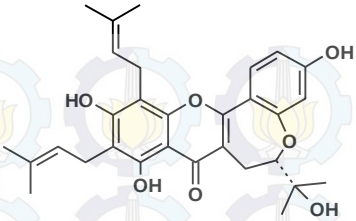
Dihidroisoartonin E 2'-metileter **(8)**



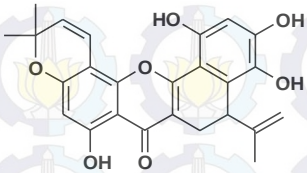
Artonin E **(9)**



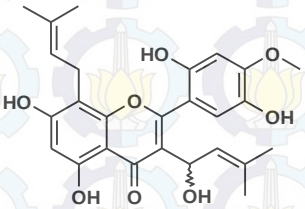
Artelastofuran **(10)**



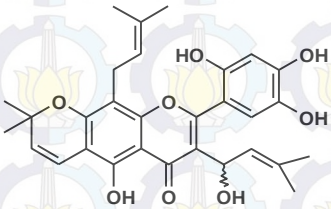
Artelastinin **(11)**



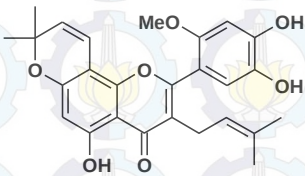
Artobiloksanton **(12)**



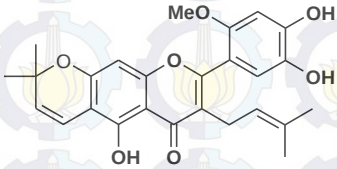
Artelasticinol **(13)**



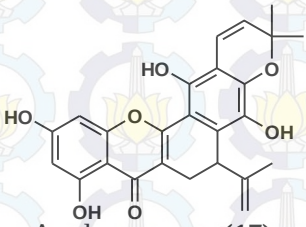
Artelastoheterol **(14)**



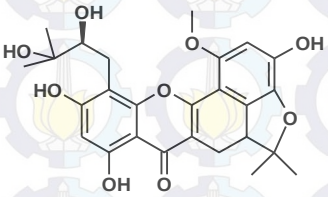
Artonin E 2'-metileter **(15)**



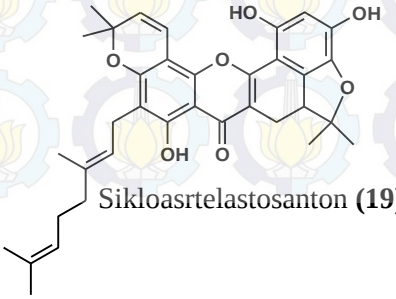
Isoartonin V 2'-metileter **(16)**



Artelastosanton **(17)**



Sikloartelastonsantendiol **(18)**



Sikloasrtelastosanton **(19)**

2.3 Metode Isolasi

2.3.1 Ekstraksi

Metode pemisahan yang sering digunakan adalah ekstraksi. Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu campuran berdasarkan perbedaan kelarutan komponen zat terlarut dalam pelarut. Distribusi pemisahan tersebut mengikuti prinsip *like dissolve like* yang berdasarkan pada perbedaan kepolaran, yaitu senyawa yang polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang non polar akan larut dalam pelarut non polar maka komponen atau senyawa yang diinginkan dapat dipisahkan dari campurannya secara selektif dalam pelarut yang digunakan. Berdasarkan wujud sampelnya ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Secara teknik, ekstraksi dibedakan atas tiga cara, yaitu :

- Metode maserasi, yaitu suatu teknik ekstraksi dengan cara perendaman bahan yang sudah halus pada temperatur kamar dengan pelarut yang sesuai supaya zat-zat dapat larut secara sempurna.
- Metode perkolasi yaitu teknik ekstraksi dengan bahan yang sudah halus diekstraksi dalam pelarut yang sesuai dengan cara pelarut secara perlahan-lahan dialirkan ke dalam suatu kolom yang berisi sampel sehingga diperlukan pelarut yang lebih banyak. Pelarut yang digunakan tidak mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa kimia yang akan diisolasi dengan baik.
- Metode sokletasi, yaitu teknik ekstraksi dengan menggunakan alat soklet. Pelarut pada labu alas bulat diuapkan dan mengalami kondensasi setelah sampai di kondensor, selanjutnya bersama ekstrak turun kembali ke dalam labu bundar (Pavia dkk., 1990).

Alat yang digunakan untuk perkolasi adalah perkolator, yang terdiri dari bejana dilengkapi kran untuk mengeluarkan pelarut pada bagian bawahnya. Proses ekstraksi dilakukan sampai seluruh senyawa metabolit habis terekstrak yaitu dapat dilihat dari warna pelarut, bila pelarut sudah tidak berwarna biasanya metabolit sudah terekstrak. Kemudian dilakukan uji

menggunakan kromatografi lapis tipis atau spektrofotometer UV (Hismiaty dkk., 2011).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi diantaranya harus mampu melarutkan komponen senyawa, mudah dipisahkan atau mudah menguap, dan bersifat inert, tidak beracun, dan tidak mudah terbakar. Sebelum digunakan, pelarut yang memiliki kualitas rendah harus didestilasi terlebih dahulu untuk menghilangkan pengotor. Ekstraksi bahan alam biasanya diawali dengan pelarut organik dengan kepolaran rendah secara bertahap menuju pelarut dengan kepolaran tinggi. Kepolaran pelarut ditentukan dari nilai perbedaan momen dipolnya. Urutan kepolaran beberapa pelarut senyawa organik dapat dinyatakan data dibawah ini:

- Air
- Metanol
- Asetonitril
- Etanol
- n-propanol
- Aseton
- Etil asetat
- Etil eter
- Kloroform
- Metil klorida, tetrahidrofuran
- Toluena
- Benzena
- Karbon tetraklorida (CCl_4)
- Sikloheksana
- Hidrokarbon (petroleum eter, heksana, heptana)

(Houghton dan Rahman, 1998).

2.3.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa melibatkan pembagian campuran menjadi beberapa fraksi. Fraksi ini digolongkan berdasarkan kelarutan senyawa terhadap pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama atau berdekatan menggunakan kromatografi.

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fasa, yaitu fasa diam yang

berfungsi sebagai adsorben dan fasa gerak berupa pelarut yang berfungsi membawa senyawa yang kepolarannya sama. Syarat bahan dapat digunakan untuk adsorben adalah bahan tidak bereaksi dengan sampel atau fasa gerak dan tidak larut dalam fasa gerak contohnya silika, selulosa, stirena, divinilbenzena, alumina, dan karbon (J. P. Cannell, 1998). Pada percobaan ini menggunakan beberapa jenis kromatografi diantaranya kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis dan kromatografi cair vakum.

a. **Kromatografi kolom** adalah metode pemisahan yang dilakukan dengan cara pelarut sebagai fase gerak dialirkan melalui kolom. Aliran disebabkan oleh adanya gaya berat atau didorong dengan tekanan. Silika gel dimasukkan ke dalam kolom, eluen yang akan digunakan kemudian dimasukkan ke dalam kolom secara kontinyu sedikit dengan keadaan kolom yang mampat. Sampel dimasukkan dan dilarutkan dalam eluen sampai diperoleh kelarutan yang spesifik. Eluen yang polar akan lebih melarutkan zat terlarut yang polar. Jika suatu pelarut polar masuk ke dalam kolom kromatografi, maka akan mengisi tempat-tempat pada permukaan adsorben sehingga zat terlarut akan kurang teradsorb pada adsorben sehingga turun ke bagian bawah kolom, diatur pula laju tetesan serta penambahan eluen. Tetesan yang keluar ditampung sebagai fraksi-fraksi (Ibnu dan Abdul, 2008). Fraksi yang diperoleh dievaporasi dan dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis.

b. **Kromatografi lapis tipis (KLT)** merupakan salah satu metode kromatografi yang pemisahannya didasarkan pada adsorpsi senyawa oleh permukaan lempeng tipis untuk analisa kualitatif. Pada kromatografi lapis tipis digunakan adsorben halus yang berada pada papan kaca, alumunium atau plastik. Lapisan tipis adsorben ini pada pemisahan berlaku sebagai fasa diam. Dalam KLT indikasi senyawa selesai terekstrak dan didapatkan senyawa murni ditandai dengan tidak adanya noda/spot atau hanya noda tunggal pada plat (Hostettmann dkk., 1995). Kromaplat adalah plat kaca yang dilapisi dengan padatan sebagai fasa diam yang melekat

pada plat berdasarkan daya ikatnya contohnya kalsium sulfat. Umumnya juga digunakan fasa gerak berupa silika gel, alumina dan bubuk selulosa. Tahapan analisis kromatografi lapis tipis yaitu pertama sampel diteteskan menggunakan pipa kapiler pada plat dengan diameter ± 3mm pada kromatografi lapis tipis digunakan adsorben halus yang berada pada papan kaca, alumunium atau plastik. Lapisan tipis adsorben ini pada pemisahan berlaku sebagai fasa diam. Diletakkan dalam wadah yang telah berisi pelarut kemudian wadah tersebut ditutup agar suasana menjadi jenuh karena uap pelarut. Pelarut akan membawa senyawa ke bagian atas plat yang ditandai munculnya noda-noda. Dari noda yang dihasilkan dapat diidentifikasi senyawa-senyawa yang terpisah maupun dapat digolongan berdasarkan nilai Rf yang hampir sama. Setiap senyawa memiliki nilai Rf yang khas. *Retention factor* (Rf) dinyatakan sebagai :

$$Rf = \frac{\text{Jarak perpindahan senyawa}}{\text{Jarak perpindahan pelarut}}$$

Jika dihasilkan noda tunggal pada plat, hal ini menandakan kemurnian suatu senyawa sedangkan noda yang berekor menandakan kemurnian senyawa belum tercapai.

c. **Kromatografi cair vakum (KCV)** menyerupai kromatografi kolom gravitasi namun ditambahkan pompa vakum untuk menarik eluen dengan tekanan sehingga eluen dapat melalui kolom. Metode ini merupakan salah satu kromatografi kolom khusus yang biasanya juga menggunakan silika gel sebagai adsorben (biasanya silika gel G_{60}, 63-200μm). Alat yang digunakan adalah corong *buchner* berkaca masir atau kolom pendek dengan diameter yang cukup besar. Sebelum dilakukan elusi, sampel diimpregnasi yaitu melarutkan sampel yang berupa padatan dalam sejumlah kecil pelarut yang mudah menguap (eter/ diklorometana), kemudian ditambahkan adsorben sebanyak lima kali jumlah sampel, dicampur dengan baik selanjutnya pelarut diuapkan dengan hati-hati (dapat menggunakan *rotary evaporator* atau dibiarkan di udara terbuka). Serbuk yang berupa campuran adsorben dan sampel, dapat

diletakkan merata di bagian atas kolom. Eluen juga harus diatur selalu berada di atas batas adsorben dan sampel. Sebelum proses elusi dimulai, dapat diletakkan plat kaca masir atau sepotong kertas saring yang diletakkan di ujung atas adsorben untuk mencegah terbentuknya kembali suspensi adsorben-sampel dengan pelarut (Kristanti dkk., 2008).

2.3.3 Rekristalisasi

Senyawa organik berupa padatan hasil dari isolasi bahan alam memiliki kemurnian yang relatif rendah. Umumnya senyawa ini terkontaminasi dengan senyawa lain yang jumlahnya lebih sedikit yang dihasilkan selama proses isolasi. Pemurnian senyawa biasanya melalui proses kristalisasi dari pelarut yang sesuai atau campuran beberapa pelarut. Pemurnian senyawa padatan berdasarkan perbedaan kelarutannya pada pelarut maupun campuran pelarut. Proses kristalisasi terdiri dari beberapa tahap diantaranya melarutkan bahan dalam pelarut yang memiliki titik didih mendekati bahan yang akan dimurnikan, pemisahan larutan panas dari partikel yang tak larut, pemanasan larutan hingga didinginkan agar mendapatkan kristal kembali, memisahkan kristal dari larutan induk. Padatan hasil rekristalisasi kemudian dikeringkan dan dilakukan uji kemurnian menggunakan penentuan titik leleh, metode spektroskopi maupun dianalisa menggunakan kromatografi lapis tipis. Proses ini dilakukan berulang menggunakan pelarut baru hingga didapatkan senyawa dalam keadaan murni (J. P. Cannell, 1998). Jika bahan tidak dapat larut dalam satu pelarut maupun beberapa pelarut. Campuran beberapa pelarut dengan komposisi tertentu dapat digunakan dengan catatan pelarut-pelarut ini harus saling larut. Senyawa dapat dilarutkan pada keadaan pelarut panas ditambahkan dengan hati-hati sampai larutan menjadi keruh. Kekeruhan akan hilang saat ditambahkan pelarut dan campuran mencapai suhu rendah atau suhu kamar hingga Kristal dapat dipisahkan. Beberapa campuran pelarut yang biasa digunakan untuk rekristalisasi antara lain alkohol-air, alkohol-toluena, toluena-petroleum eter, aseton-petroleum eter, asam asetat glacialair. Kristal senyawa isolasi bahan alam selanjutnya

dilakukan uji kemurnian menggunakan uji KLT yang ditandai dengan munculnya noda tunggal pada plat serta dengan uji titik leleh.

2.3.4 Uji Titik Leleh

Titik leleh suatu senyawa murni ditentukan denga mengamati temperatur saat terjadinya perubahan dari padatan menjadi cair. Sejumlah sampel dimasukkan ke tabung kapiler dan diletakkan pada alat penentu titik leleh seperti Fischer john kemudian dipanaskan. Temperatur saat sampel padat mulai tampak meleleh pertama kali hingga meleleh sempurna adalah jarak titik leleh. Senyawa murni dapat diindikasikan dengan range pelelehan dalam jarak tajam yaitu 1°C. Suatu jarak yang lebih besar dari 1°C menunjukkan adanya pengotor (Firdaus, 2011).

2.4 Karakterisasi

2.4.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti

Spektroskopi resonansi magnetik inti (*nuclear magnetic resonance*, NMR) merupakan metode analisis struktur molekul menggunakan perputaran inti muatan yang menghasilkan medan magnetik. Inti suatu unsur tertentu yang mempunyai spin akan menghasilkan medan magnet. Metode ini memberikan gambaran mengenai jenis atom, jumlah, maupun lingkungan atom hidrogen (^{1}H-NMR) maupun karbon (^{13}C-NMR). Spektroskopi NMR proton mengukur momen magnet atom hidrogennya. Dapat diperoleh sinyal spektrum yang menunjukkan banyaknya proton di bagian-bagian molekul. Spektroskopi ^{13}C-NMR menunjukkan sejumlah karbon yang terdapat dalam molekul dengan semua pergeseran kimia (Hart, 1983). Pergeseran kimia adalah perbedaan frekuensi absorpsi yang disebabkan oleh perbedaan letak proton. Pergeseran kimia dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan letak gugus fungsi dalam struktur senyawa organik. Nilai pergeseran kimia dapat dinyatakan dalam besaran medan atau frekuensi dengan simbol δ dalam satuan ppm dan bergantung pada lingkungan kimia suatu proton. Jenis pelarut dan adanya jembatan hidrogen mempengaruhi nilai dari δ.

Spektroskopi yang umum dikenal adalah ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR. Spektroskopi ^{1}H-NMR memberikan informasi berupa

sinyal, pergeseran kimia, jumlah atom hidrogen, dan spin-spin proton tetangga. Nilai pergeseran kimia ^{1}H-NMR adalah 0-10 ppm dan spektrum ^{13}C-NMR mempunyai nilai pergeseran kimia sebesar 0-190 ppm. Spektroskopi ^{13}C-NMR menyajikan data tentang struktur atom karbon dalam sebuah molekul organik, dan posisi dan jumlah atom karbon dalam suatu senyawa organik.

Pengukuran spektroskopi NMR dilakukan menggunakan senyawa standar sebagai pembanding, salah satu senyawa yang digunakan adalah tetrametilsilan (TMS) karena bersifat inert, mudah menguap, larut dalam berbagai pelarut organik, dan karena protonnya dapat beresonansi pada medan magnet yang lebih tinggi dari medan magnet resonansi senyawa organik lainnya (Silverstein, 1998).

2.4.2. Spektroskopi *Ultra Violet-Visible* (UV-Vis)

Spektroskopi Ultra Violet (UV) merupakan metode analisis senyawa dengan menggunakan radiasi sinar UV dan berfungsi sebagai penentuan struktur secara kualitatif dari senyawa-senyawa yang mengandung gugus pengabsorbsi (kromofor). Kromofor digunakan untuk menyatakan gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah–daerah ultra violet dan sinar tampak. Penyerapan radiasi dalam daerah-daerah ultra violet dan sinar tampak dapat terjadi karena adanya eksitasi molekul dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Lazimnya, eksitasi ini terjadi dalam daerah spektrum (sekitar 200 ke 900 nm) yang aman digunakan untuk eksperimen. Identifikasi senyawa organik dalam daerah ini jauh lebih terbatas daripada dalam daerah infra merah (IR). Hal ini disebabkan karena pita serapan terlalu lebar dan kurang terperinci, tetapi gugus fungsional seperti karbonil, nitro, benar-benar menunjukkan puncak yang karakteristik (Underwood, 1998).

Spektroskopi UV-Vis merupakan analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (200-400 nm) dan sinar tampak (400-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer untuk menentukan gugus pengabsorpsi dalam suatu molekul. Pada umumnya, elusidasi struktur organik dengan spektroskopi UV menggunakan daerah serapan antara 200-400 nm. Absorbsi cahaya tampak dan radiasi

ultra violet meningkatkan energi elektronik untuk transisi elektronik sebuah molekul. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk bertransisi, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek selanjutnya saat relaksasi pada tingkat energi semula akan memancarkan foton yang akan teramati oleh detektor (Fessenden, 1986).

2.4.3. Spektroskopi Inframerah

Spektroskopi inframerah atau *infrared* (IR) merupakan metode analisis struktur molekul untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan jenis ikatan suatu molekul. Prinsip kerja dari spektrofotometer IR adalah interaksi antara sinar radiasi elektromagnetik dengan materi mengakibatkan suatu molekul akan bervibrasi apabila sinar pada panjang gelombang IR terserap. Penyerapan energi untuk menaikkan energi vibrasi molekul. Frekuensi inframerah dinyatakan dalam satuan bilangan gelombang pada kisaran 4000 – 650 cm^{-1} (Pavia dkk., 1990). Spektrofotometer IR pun dapat digunakan untuk melihat struktur sampel secara keseluruhan dengan cara membandingkan spektrum sampel dengan spektrum standar IR yang ada. Puncak serapan khas untuk tiap ikatan dalam molekul seperti C-H pada 3300-3500 cm^{-1}, C=C pada 1680-1620 $cm^{-1,}$ C=O pada 1630-1850 cm^{-1}, O-H pada 3650-3200 cm^{-1}, dan N-H pada 3500-3300 cm^{-1} (Murry, 1999).

Metode ini didasarkan pada penyerapan atau absorbsi energi radiasi infra merah yang menyebabkan terjadinya vibrasi atau getaran. Vibrasi molekul yang terjadi tergantung pada kekuatan ikatan atau momen *dipole*. Molekul yang memiliki momen *dipole* yang berbeda akan tervibrasi pada frekuensi yang berbeda. Identifikasi senyawa yang telah diketahui dengan cara menghubungkan puncak yang khas absorbsi vibrasi dari gugus fungsi tertentu dan menghubungkan puncak lain yang ada. Sedangkan identifikasi senyawa yang belum diketahui dilakukan dengan membandingkan puncak-puncak yang terdapat pada spektrum data yang diperoleh dengan standar IR yang ada (Fessenden, 1986).

BAB III
METODOLOGI PERCOBAAN

3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas seperti gelas ukur, labu erlenmeyer, labu ukur, gelas piala, pipet tetes, pipet volume, pengaduk kaca, kaca arloji, pipa kapiler, pinset, bejana pengembang (*chamber*) dan botol vial, neraca analitik, seperangkat alat kromatografi kolom cair vakum (KCV), seperangkat alat kromatografi kolom gravitasi (KKG), *rotary evaporator* vakum *BUCHI*, sinar UV dengan λ 254 nm dan 366 nm, seperangkat alat uji titik leleh *Fisher-John*, spektrofotometer FTIR dalam KBr *Shimadzu*, spektofotometer UV-Vis *GENESYS 10S*, dan spektrometer NMR *AGILENT* (500MHz untuk ^{1}H-NMR dan 125MHz untuk ^{13}C-NMR).

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit akar dari *A. elasticus* yang diperoleh dari Pulau Flores Nusa Tenggara Timur (NTT), pelarut organik teknis dan pro analisis (p.a) seperti *n*-heksana (C_6H_6), metilen klorida (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), Bahan-bahan lain yang digunakan adalah TLC alumunium *sheets* 20x20 cm silika gel *Merck* 60 F_{254} untuk KLT, plat silika gel 60 GF_{254} untuk kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), silika gel 60 (70-230 mesh) untuk impregnasi, silika gel 60 G untuk kromatografi kolom, penampak noda serium sulfat ($Ce(SO_4)_2$) 1,5% dalam H_2SO_4 2N, aluminium *foil*, pastik *wrap*, *whatmann*, reagen geser UV antara lain natrium hidroksida (NaOH), $AlCl_3$, asam klorida (HCl), asam borat (H_3BO_3), dan natrium asetat (CH_3COONa), KBr untuk uji IR, dan pelarut DMSO untuk uji NMR.

3.3 Prosedur penelitian

3.3.1 Uji Pendahuluan

Sampel yang akan digunakan untuk isolasi senyawa adalah kulit tumbuhan *A. elasticus* yang berasal dari Pulau Flores, Nusa

Tenggara Timur (NTT). Sampel dikeringkan beberapa hari kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus yang siap diekstraksi. Uji pendahuan dilakukan dengan dengan cara mengekstraksi serbuk kering kulit akar tumbuhan *A. elasticus* sebanyak 5 g dengan pelarut organik yang berbeda masing-masing 20 mL *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat, dan metanol selama 24 jam. Hasil ekstraksi diamati dengan menggunakan KLT. Berdasarkan penampakan noda KLT dapat disimpulkan bahwa pelarut yang tepat untuk maserasi adalah pelarut metanol.

3.3.2 Ekstraksi

Sampel kering kulit akar *A. elasticus* sebanyak 5 Kg dimaserasi selama 2 x 24 jam menggunakan pelarut metanol sebanyak 20 L. Setiap 24 jam sekali hasil ekstrak diambil dan diganti menggunakan pelarut metanol yang baru serta dimonitoring dengan KLT untuk mengetahui konsentrasi senyawa yang telah terekstrak. Hasil ekstrak metanol berwarna coklat kemudian disaring untuk mendapatkan ekstrak cair yang terpisah dari residu. Selanjutnya esktrak metanol cair hasil maserasi dihilangkan pelarutnya dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapat ekstrak pekat berwarna coklat.

3.3.3 Fraksinasi

Prosedur Penelitian yang digunakan adalah prosedur standar isolasi bahan alam dengan variasi kenaikan kepolaran pelarut. Ekstrak pekat metanol kulit akar *A. elasticus* sebanyak 46,3226 g difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan pelarut metilen klorida 100%, metanol:metilen klorida (5%, 10%, 15%). Proses dimonitoring KLT dengan eluen metanol:metilen klorida 5% dan 10%. Dari KCV, dihasilkan 4 fraksi gabungan yaitu A (2,2349 g), B (0,7867 g), C (1,4037 g), dan D (2,5115 g). Fraksi B dan C digabungkan dan selanjutnya difraksinasi menggunakan metode KCV dengan pelarut etil asetat:*n*-heksana (15%, 25%, 35%) dan metanol:metilen klorida (1%, 2%, dan 5%). Proses dimonitoring KLT dengan eluen metanol:metilen klorida 5% dan dihasilkan lima subfraksi gabungan yaitu F (0,5682 g), G (0,3322 g), H (0,2505 g), I (0,5265 g), dan J (0,4803 g). Subfraksi H dan I digabungkan dan kemudian difraksinasi menggunakan metode

kromatografi kolom gravitasi (KKG) dengan pelarut metanol 1%:metil klorida/*n*-heksana (2:1). Proses dimonitoring KLT dengan eluen metanol:metilen klorida 5% dan diperoleh lima subfraksi yaitu HI_1 (15,2 mg), HI_2 (3,9 mg), HI_3 (61,9 mg), HI_4 (31,8 mg), dan HI_5 (13,6 mg). Subfraksi HI_2-HI_4 digabungkan dan ditambahkan *n*-heksana, sehingga diperoleh endapan subfraksi Y (73,9 mg). Selanjutnya endapan yang diperoleh direkristalisasi dengan metilen klorida dan *n*-heksana dan didapatkan subfraksi Y_R (40,7 mg). Subfraksi Y_R difraksinasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dengan eluen etil asetat:*n*-heksana 30% dan diperoleh subfraksi Y_3 seberat 14,2 mg. Subfraksi Y_3 diuji tiga eluen yaitu metanol:metilen klorida 5%, etil asetat:metilen klorida 20%, etil asetat:*n*-heksana 70%.

3.4 Penentuan Struktur

3.4.1 Spektrofotometer UV-vis

Subfraksi Y_3 yang berhasil diisolasi diambil 1 mg dan dilarutkan pada 10 mL metanol pa. Metanol pa diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam kuvet yang digunakan sebagai larutan blanko, kemudian larutan sampel diperlakukan dengan cara yang sama. Sampel diukur absorbansinya dengan spektofotometer UV-Vis *GENESYS 10S* pada λ 200-600 nm. Kemudian larutan sampel ditambahkan pereaksi geser NaOH 3 tetes diukur absorbansinya. Setelah itu sampel yang baru ditambahkan $AlCl_3$ 6 tetes, diukur absorbansinya dan selanjutnya dikeluarkan ditambahkan HCl 3 tetes dan diukur absorbansinya kembali. Selanjutnya sampel baru ditambahkan CH_3COONa, diukur absorbansi dan kemudian ditambah H_3BO_3 dan diukur absorbansinya kembali.

3.4.2 Spektrofotometer IR

Subfraksi Y_3 yang berhasil diisolasi diambil 1 mg. Ditambahkan KBr dan digerus sampai sampai homogen. Campuran ini dibuat pelet dengan ketebalan ± 1 mm. Pelet berisi sampel ini kemudian diukur serapannya pada bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1}. Spektrum yang terbentuk menunjukkan serapan bilangan gelombang terhadap transmiatan (%T). Spektrofotometer IR yang digunakan adalah spektrofotometer IR Shimadzu.

3.4.3 Spektrometer NMR

Analisis spektrometer NMR dilakukan menggunakan peralatan spektrometer NMR *AGILENT* 500 MHz. Sampel sebanyak 20 mg dilarutkan dalam pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). Larutan sampel kemudian diinjeksikan ke dalam tabung injection dan dianalisis untuk mengetahui spektra ^{1}H-NMR (500 MHz) dan ^{13}C-NMR (125 MHz).

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan bertujuan untuk menentukan pelarut yang tepat dalam proses ekstraksi yaitu mampu mengekstrak dengan sempurna senyawa-senyawa pada sampel. Uji pendahuan dilakukan dengan dengan cara mengekstraksi serbuk kering kulit akar tumbuhan *A. elasticus* sebanyak 5 g dengan pelarut organik yang berbeda masing-masing 20 mL *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat, dan metanol selama 24 jam. Hasil ekstraksi diamati dengan menggunakan KLT, untuk melihat profil noda pada senyawa dilakukan dengan menyemprotkan serium sulfat ke noda lalu dipanaskan dalam oven. Berdasarkan penampakan noda KLT dapat disimpulkan bahwa pelarut yang tepat untuk maserasi adalah pelarut metanol karena senyawa-senyawa target isolasi terekstrak dengan baik dibandingkan dengan metilen klorida, *n*-heksana, dan etil asetat.

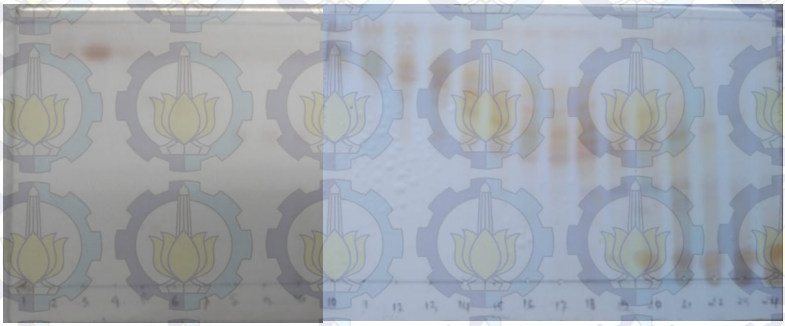
4.2 Ekstraksi

Ektraksi dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi adalah satu metode yang efektif dan efisien dalam proses ekstraksi sampel. Sampel kering kulit akar *A. elasticus* sebanyak 5 kg dimaserasi selama 2 x 24 jam menggunakan pelarut metanol sebanyak 20 L. Setiap 24 jam sekali hasil ekstrak diambil dan diganti menggunakan pelarut metanol yang baru serta dimonitoring dengan KLT untuk mengetahui konsentrasi senyawa yang telah terekstrak. Hasil ekstrak metanol berwarna coklat kemudian disaring untuk mendapatkan ekstrak cair yang terpisah dari residu. Selanjutya esktrak metanol cair hasil maserasi dihilangkan pelarutnya dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapat ekstrak pekat berwarna coklat.

4.3 Fraksinasi dan Pemurnian senyawa

Ekstrak pekat metanol kulit akar *A. elasticus* seberat 46,3226 g difraksinasi menggunakan metode KCV. Pelarut yang digunakan dengan peningkatan kepolaran metilen klorida 100%,

metanol:metilen klorida (5%, 10%, 15%). Peningkatan kepolaran pelarut dilakukan dengan monitoring menggunakan KLT eluen metanol:metilen klorida 10%. Hasil KCV ditampung dalam 25 vial dan dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen metanol:metilen klorida 10% dan 5% (Gambar 4.1). Monitoring ini dilakukan untuk mengetahui distribusi senyawa yang ada pada tiap vial dengan melihat Rf noda hasil KLT.



(a) (b)

Gambar 4.1 Kromatogram KLT hasil KCV ekstrak pekat metanol dengan eluen (a) metanol:metilen klorida 10%; (b) metanol:metilen klorida 5%

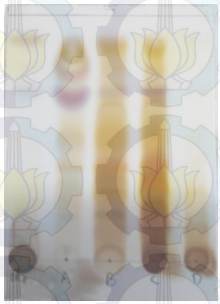
Metode kromatografi cair vakum (KCV) ini dipilih karena dapat digunakan untuk pemisahan sampel dalam jumlah cukup besar dalam waktu singkat. Prinsip dasar dari KCV adalah bedasarkan absorpsi dan partisi. Kolom diisi dengan fase diam dan divakumkan dengan pompa vakum agar eluen sebagai fase gerak dapat turun mengelusi komponen kimia sehingga keluar menjadi fraksi-fraksi yg lebih sederhana. Fase diam yang digunakan dalam metode ini adalah silika gel (Kristanti dkk, 2008). Pemilihan pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dalam fraksinasi ini dilakukan dengan metode. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi ini adalah pelarut yang mampu menunjukkan pemisahan yang terbaik terhadap senyawa-senyawa dalam sampel. Pengelompokan fraksi dilakukan sesuai dengan kesamaan Rf noda di KLT, vial yang mengandung senyawa dengan Rf noda yang sama digabungkan menjadi satu fraksi. Gabungan fraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.

Pengelompokan fraksi ini menghasilkan empat fraksi gabungan (Tabel 4.1) dan kromatogram (Gambar 4.2).

Tabel 4. 1 Tabel pengelompokkan hasil KCV

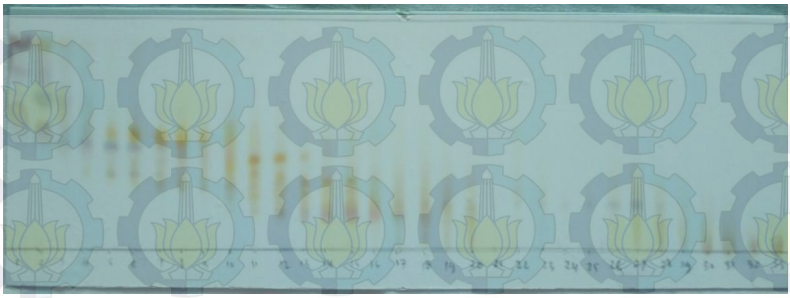
Fraksi gabungan	No. Vial	Massa (g)
A	1-11	2,2349
B	12-14	0,7867
C	15-19	1,4037
D	20-24	2,5115

Fraksi gabungan A-D pasta coklat. Untuk melihat profil noda keseluruhan hasil KLT disemprot menggunakan reagen penampak noda $Ce(SO_4)_2$ 5%.



Gambar 4.2 Kromatogram fraksi gabungan hasil KCV I menggunakan eluen metanol:metilen klorida 5%

Fraksi B-C memiliki penampakan noda yang sama sehingga fraksi ini digabung. Selanjutnya, fraksi ini difraksinasi menggunakan metode KCV. Pelarut yang digunakan meliputi etil asetat:*n*-heksana (15%, 25%, 35%) dan metanol:metilen klorida (1%, 2%, dan 5%). Peningkatan kepolaran pelarut dilakukan dengan monitoring menggunakan KLT eluen metanol:metilen klorida 5%. Hasil KCV II ditampung dalam 33 vial dan dimonitoring menggunakan KLT eluen metanol:metilen klorida 5% (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Kromatogram KLT hasil KCV II dengan eluen metanol:metilen klorida 5%

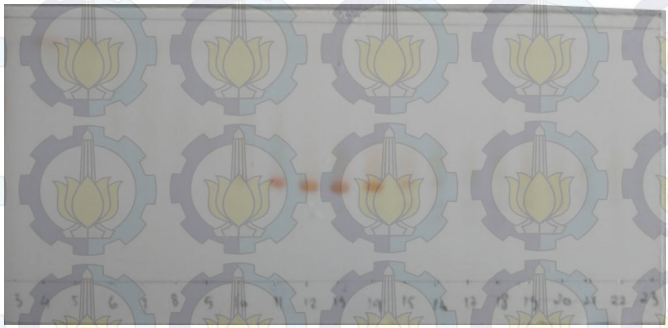
Pengelompokan subfraksi hasil KCV II menghasilkan lima subfraksi gabungan (Tabel 4.2) dan kromatogram (Gambar 4.4). Gabungan fraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.

Tabel 4. 2 Tabel pengelompokkan hasil KCV II

Subfraksi gabungan	No. Vial	Massa (g)
F	1-4	0,5682
G	5-10	0,3322
H	11-13	0,2505
I	14-20	0,5265
J	21-33	0,4803

Gambar 4.4 Kromatogram subfraksi gabungan hasil KCV II menggunakan eluen metanol:metilen klorida 5%

Subfraksi H-I memiliki penampakan noda yang hampir sama sehingga subfraksi ini digabung. Kemudian, subfraksi ini difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG). Pelarut yang digunakan adalah campuran metanol 1%:metil klorida/*n*-heksana (2:1). Penentuan peningkatan kepolaran pelarut dilakukan dengan monitoring menggunakan KLT eluen metanol:metilen klorida 5%. Hasil KKG ditampung dalam 23 vial dan dimonitoring menggunakan KLT eluen metanol:metilen klorida 5% (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Kromatogram hasil KKG subfraksi H-I dengan eluen metanol:metilen klorida 5%

Metode kromatografi kolom gravitasi (KKG) dipilih untuk jumlah sampel yang lebih sedikit dan untuk pemisahan yang lebih baik. Prinsip dari metode ini adalah berdasarkan gaya berat atau gravitasi. Aliran pelarut sebagai fase gerak disebabkan oleh adanya gaya berat atau didorong dengan tekanan. Silika gel dimasukkan ke dalam kolom dan eluen yang akan digunakan dimasukkan secara kontinyu sedikit demi sedikit dengan keadaan kolom yang mampat. Sampel dimasukkan dengan dilarutkan dalam pelarut sampai diperoleh kelarutan yang spesifik. Kecepatan tetesan dan penambahan eluen diatur agar tetesan yang keluar secara kontinyu. Tetesan yang keluar ditampung sebagai fraksi-fraksi (Ibnu dan Abdul, 2008).

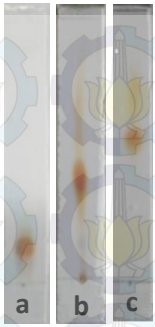
Gabungan subfraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Pengelompokan subfraksi hasil KKG menghasilkan lima subfraksi gabungan (Tabel 4.3) dan kromatogram (Gambar 4.6).

Tabel 4. 3 Tabel pengelompokkan hasil KKG

Subfraksi gabungan	No. Vial	Massa (mg)
HI_1	1-7	15,2
HI_2	8-10	3,9
HI_3	11-14	61,9
HI_4	15-17	31,8
HI_5	18-23	13,6

Gambar 4.6 Kromatogram KLT hasil KKG subfraksi H-I dengan eluen metanol:metilen klorida 5%

Subfraksi HI_2-HI_4 digabung, diuapkan dengan *rotary eveporator* dan dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen metanol:metilen klorida 2%; etil asetat: metilen klorida 10%; etil asetat:*n*-heksana 60% (Gambar 4.7). Gabungan subfraksi ini bermassa 97,6 mg berwarna oranye. Pada kromatogram tersebut masih terlihat bahwa subfraksi gabungan seberat 97,6 mg hasil isolasi masih belum tunggal, hal ini mengindikasikan bahwa serbuk belum murni dan perlu dilakukan rekristalisasi.



Gambar 4.7 Kromatogram KLT subfraksi gabungan K dengan eluen a. metanol:metilen klorida 2%; b. etil asetat: metilen klorida 10%; c. etil asetat:*n*-heksana 60%

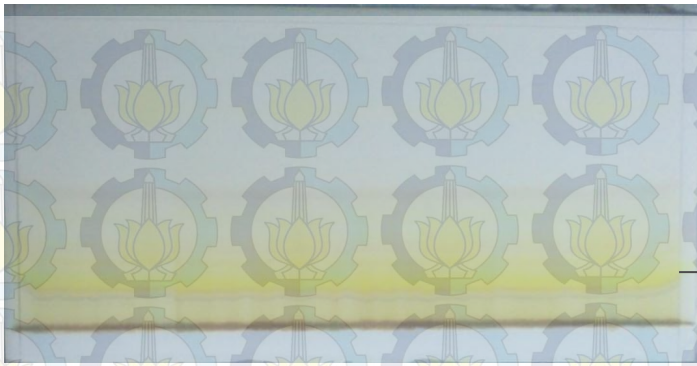
Sebelumnya dilakukan uji kelarutan menggunakan empat macam pelarut hasilnya larut sebagian pada *n*-heksana dan larut sempurna pada metilen klorida, etil asetat dan metanol. Uji kelarutan ini dilakukan sebagai referensi yang digunakan dalam penentuan pelarut untuk rekristalisasi dan analisis penentuan struktur. Selanjutnya direkristalisasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana. Setelah ditambahkan *n*-heksana, sebagian subfraksi larut dan membentuk endapan berwarna kuning gelap. Kemudian endapan (subfraksi Y) disaring dan dimonitoring menggunakan KLT eluen etil asetat:*n*-heksana 50% (Gambar 4.8).

Gambar 4.8 Kromatogram KLT subfraksi Y dengan eluen etil asetat:*n*-heksana 50%

Penampakan noda subfraksi Y masih belum tunggal yang mengindikasikan belum murni. Selanjutnya subfraksi Y seberat 73,9 mg direkristalisasi dengan metilen klorida dan *n*-heksana karena subfraksi Y larut dalam metilen klorida dan tidak larut di *n*-heksana. Setelah dilakukan rekristalisasi, didapatkan endapan dan filtrat. Endapan disaring dan dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen metanol:metilen klorida 5% (Gambar 4.9).

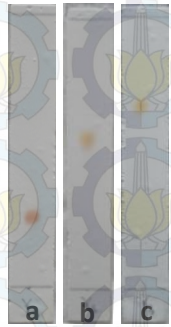
Gambar 4.9 Kromatogram KLT subfraksi Y_R dengan eluen metanol:metilen klorida 5%

Subfraksi Y_R seberat 40,7 mg belum murni setelah dilakukan rekristalisasi, sehingga selanjutnya dilakukan pemisahan secara preparatif menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). KLTP merupakan metode pemisahan dengan jumlah sampel satuan miligr. Kosentrasi sampel 20 mg setiap plat 10 cm x 5 cm. Pelarut yang digunakan pada metode ini adalah etil asetat:*n*-heksana 30% (Gambar 4.10). Senyawa target dikerok, dilarutkan dalam metilen klorida, disaring, dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.



Gambar 4.10 Kromatogram KLTP subfraksi Y_R dengan eluen etil asetat:*n*-heksana 30%

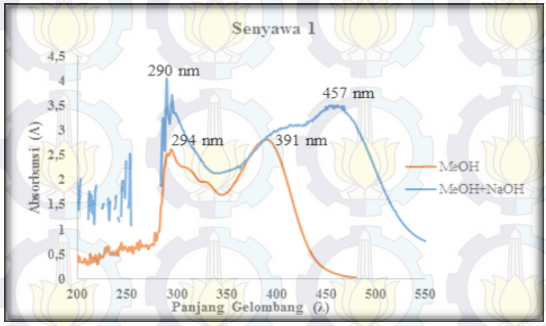
Pemisahan menggunakan metode preparatif KLTP dihasilkan senyawa target seberat 14,2 mg. Untuk mengetahui kemurnian senyawa yang didapat dilakukan monitoring dengan tiga eluen (Gambar 4.11) dan uji titik leleh. Titik leleh Subfraksi Y_3 yaitu 205-207 ˚C. Subfraksi Y_3 diuji tiga eluen yaitu metanol:metilen klorida 5%, etil asetat: metilen klorida 20%, etil asetat:*n*-heksana 70%



Gambar 4.11 Kromatogram KLT subfraksi Y_3 dengan eluen a. metanol:metilen klorida 5%; b. etil asetat: metilen klorida 20%; c. etil asetat:*n*-heksana 70%

4.3 Penentuan Struktur Senyawa

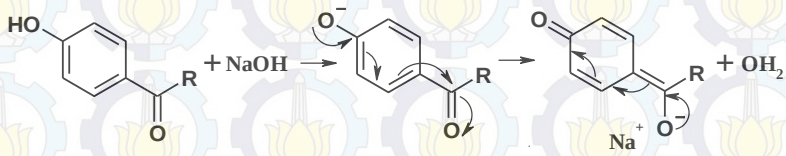
Subfraksi Y_3 berupa padatan berwarna kuning dengan massa 14,2 mg dan titik leleh 205-207˚C. Subfraksi Y_3 selanjutnya disebut senyawa **(1)**. Hasil spektrum UV menggunakan rentang panjang gelombang 200-550 nm memberikan 2 puncak serapan yaitu pada 294 nm dan 391 nm. Panjang gelombang 294 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ yang merupakan kromofor khas untuk suatu sistem ikatan rangkap terkonjugasi (-C=C-C=C-) dari suatu senyawa aromatik. Sedangkan panjang gelombang 391 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari $n \rightarrow \pi^*$ yang memperlihatkan adanya sistem terkonjugasi dari suatu heteroatom dengan ikatan rangkap terkonjugasi (-C=C-C=O). Berdasarkan hat tersebut diatas, dapat disarankan bahwa senyawa **(1)** memiliki sistem aromatik dan karbonil terkonjugasi (Nilar dkk, 2005) yang khas untuk kerangka flavonoid. Untuk mengetahui apakah ada gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi *orto* atau para maka dilakukan pengujian menggunakan pereaksi geser UV yaitu NaOH, $AlCl_3$, dan HCl.



Gambar 4.12 Spektrum UV senyawa **(1)** pada MeOH dan MeOH+NaOH

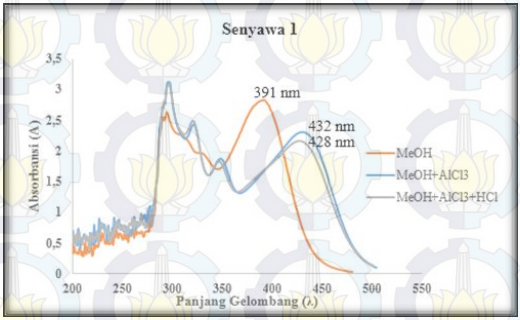
Selanjutnya dengan penambahan basa (NaOH) sebagai pereaksi geser menyebabkan pergeseran batokromik pada pita 1 sebesar 66 nm dari panjang gelombang 391 nm menjadi 457 nm (Gambar 4.12). Hal ini menunjukkan adanya gugus penarik elektron (C=O) yang terletak pada posisi para dengan gugus pendorong elektron (-OH) dan mengalami kesetimbangan keto-

enol (Gambar 4.13). Peristiwa ini menunjukkan adanya suatu senyawa fenolat (Ito dkk, 1997).



Gambar 4.13 Kesetimbangan keto-enol dengan NaOH

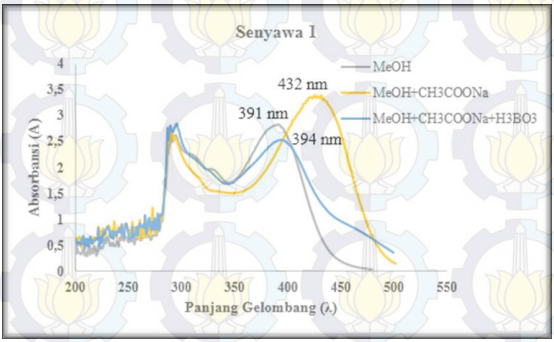
Penambahan $AlCl_3$ pada senyawa **(1)** (Gambar 4.14) menyebabkan pergeseran batokromik pada pita I spektrum UV sebesar 43 nm dari 391 nm menjadi 432 nm. Adanya efek batokromik pada penambahan $AlCl_3$/HCl mengindikasikan adanya *o*-dihidroksi maupun hidroksi keton. Setelah ditambah HCl pergeseran UV masih menunjukkan panjang gelombang yang relatif sama. Kedua hal ini mengindikasikan bahwa senyawa **(1)** memiliki gugus hidroksi yang berada pada posisi C-5.



Gambar 4.14 Spektrum UV pada MeOH, MeOH+$AlCl_3$, dan MeOH+$AlCl_3$+HCl

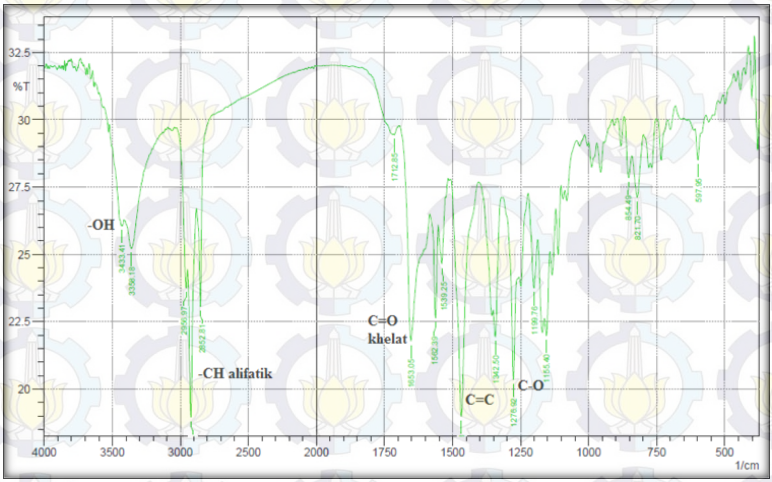
Penambahan natrium asetat dan asam borat pada senyawa **(1)** (Gambar 4.15) dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya efek batokromik. Pada penambahan natrium asetat, terdapat pergeseran spektrum UV sebesar 41 nm, namun pada penambahan CH_3COONa +H_3BO_3 tidak menunjukkan adanya efek batokromik. Hal tersebut dapat mengindikasikan bahwa pada senyawa **(1)** tidak terdapat gugus hidroksi pada posisi *orto* tetapi terdapat

gugus pendorong elektron (-O-) pada posisi *orto* terhadap karbonil.



Gambar 4.15 Spektrum UV pada MeOH, MeOH+CH_3COONa, dan MeOH+CH_3COONa+H_3BO_3

Dari hasil pembahasan analisis spektrum UV dapat disarankan bahwa senyawa tersebut mempunyai kerangka dasar flavonoid dengan substitusi gugus pendorong elektron pada posisi *orto* terhadap gugus karbonil.

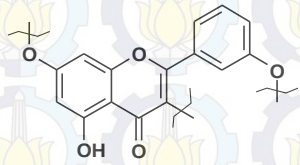


Gambar 4.16 Spektrum IR senyawa **(1)**

Analisis spektra inframerah (IR) (KBr) pada serapan bilangan gelombang 500-4000 cm^{-1} (Gambar 4.16)

memperlihatkan pita-pita serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi. Pita serapan pada bilangan gelombang 1653 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil terkhelat dan didukung dengan adanya bilangan gelombang 3433 cm^{-1} yang mencirikan gugus hidroksi terikat (Murry, 1999). Sedangkan pita serapan pada 2956 cm^{-1} , 2922 cm^{-1} , dan 2852 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus C-H alifatik (sp^3). Selain itu kekhasan (-C=C-) aril sp^2 ditunjukkan pada bilangan gelombang 1467 cm^{-1}, sedangkan C-O eter atau hidroksi pada 1276 cm^{-1}.

Berdasarkan hasil pembahasan analisis UV dan IR dapat diketahui bahwa kerangka dasar senyawa tersebut adalah flavonoid terkhelat dengan substitusi gugus hidroksi, gugus pendorong elektron (-O-) pada posisi *orto* terhadap karbonil (Gambar 4.17) dan gugus alkil (alifatik).



Gambar 4.17 Kerangka dasar senyawa **(1)**

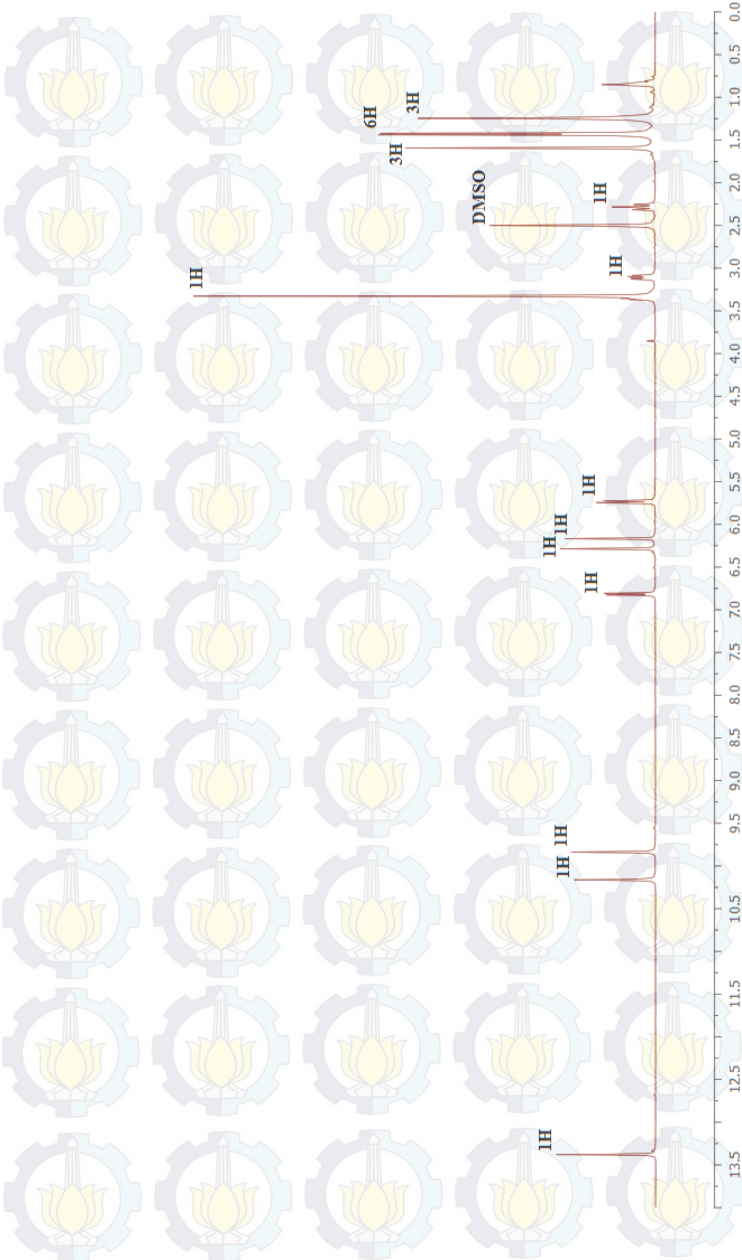
Penentuan struktur selanjutnya menggunakan NMR (*Nuclear Magnetik Resonansi*). Pengukuran NMR menggunakan frekuensi 500 MHz dengan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). Dari NMR dapat diperoleh data pergeseran (δ) ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR yang berupa informasi tentang lingkungan proton maupun karbon, jumlah (integritas), dan jenis proton maupun karbon.

Data pergeseran (δ) ^{1}H-NMR senyawa **(1)** menunjukkan adanya data 22 proton (Gambar 4.18). Pada daerah *downfield* terdapat pergeseran kimia 13,38 ppm (1H, *s*) yang menujukkan ciri khas proton dari gugus hidroksil terkhelat pada C-5. Pergeseran kimia 10,16 dan 9,83 ppm (masing-masing 1H, *s*) menunjukkan adanya gugus hidroksi bebas. Pergeseran kimia 6,28 dan 6,16 ppm (masing-masing 1H, *s*) menunjukkan adanya dua proton aromatik. Adanya gugus prenil tersiklisasi yang ditandai dengan adanya gugus vinil pada 6,81 ppm (1H, *d*, *J*=10 Hz) dan 5,73 ppm (1H, *d*, *J*=10,15 Hz). Selanjutnya pergeseran kimia 3,35

ppm (1H, *t*, *J*=7,1 dan 13,5 Hz) dan 2,28 ppm (1H, *t*, *J*=15,3 dan 15,15 Hz) menunjukkan gugus metilen. Satu gugus metin ditunjukkan dengan pergeseran kimia 3,10 ppm (1H, *dd*, *J*=7 dan 14,85 Hz). Selain itu terdapat empat sinyal pada pergeseran 1,59; 1,43; 1,43; dan 1,24 ppm (masing-masing 3H, *s*) yang mengindikasikan adanya gugus metil.

Adanya dua sinyal pada pergeseran kimia 1,24 ppm dan 1,59 ppm (masing-masing 3H, s) bersama munculnya sinyal pada pergeseran kimia 3,35 ppm (1H, *t*, *J*=7,1 dan 13,5 Hz), 2,28 ppm (1H, *t*, *J*=15,3 dan 15,15 Hz), dan 3,10 ppm (1H, *dd*, *J*=7 dan 14,85 Hz) menunjukkan adanya cincin dihirofuran yang terbentuk akibat siklisasi oksidatif 5'-hidroksi pada cincin B terhadap ikatan rangkap gugus isoprenil. Dari data ^{1}H-NMR juga mengindikasikan adanya kromen 2,2-dimetil yaitu ditandai dengan munculnya sinyal gugus dua metil kromen pada pergeseran kimia 1,43 ppm dan dua sinyal doblet proton olefinik pada pergeseran kimia 5,73 ppm (*J*=10,15 Hz) dan 6,81 ppm (*J*=10 Hz) (Sultanbawa dan Surendrakumar, 1989).

Berdasarkan hasil pembahasan analisis ^{1}H-NMR, senyawa tersebut merupakan senyawa flavonoid yang tersubstitusi tiga gugus hidroksi dan termodifikasi oleh cincin 2,2-dimetil kromen dan cincin dihidrofuran.

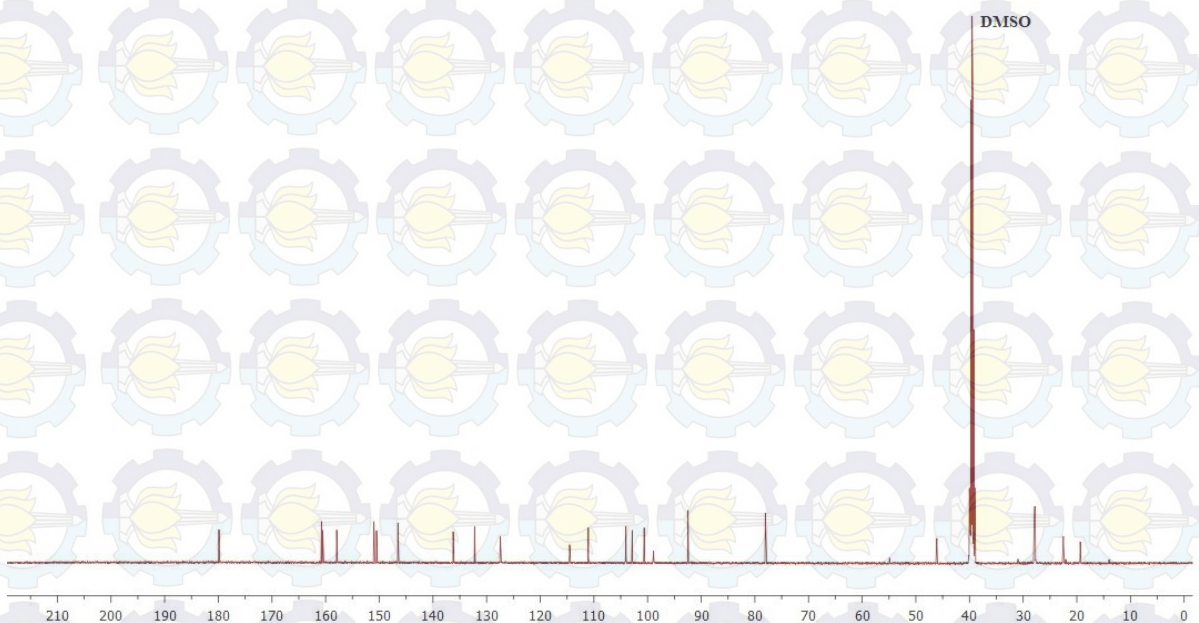


Gambar 4.18 Spektrum ^{1}H-NMR (500 MHz) senyawa **(1)** dalam DMSO

Jumlah karbon dan posisinya terhadap proton maupun substituen dapat diketahui pada data spektrum ^{13}C-NMR (Gambar 4.19). ^{13}C-NMR memberikan informasi tentang jumlah atom karbon yang terdapat dalam molekul dengan semua pergeseran kimia dan dapat mengetahui sifat lingkungannya (Hart, H., 1983).

Data spektrum ^{13}C-NMR menunjukkan senyawa **(1)** sedikitnya memiliki 25 atom karbon dimana menghasilkan sinyal-sinyal pada δ_c (ppm) ; 179,9; 160,8; 160,5; 157,9; 151,0; 150,5; 146,5; 136,2; 132,2; 127,4; 114,5; 111,0; 104,0; 102,8; 100,6; 98,9; 92,4; 78,0; 46,1; 27,9; 27,7; 27,7; 22,5; dan 19,3. Sinyal pada pergeseran kimia 179,9 ppm merupakan data yang khas untuk karbonil terkhelat dari senyawa flavonoid. Selanjutnya sinyal pada pergeseran kimia 146,5; 150,5; dan 151,0 ppm mengindikasikan karbon yang tersubstitusi gugus hidroksi. Dan adanya sinyal pada pergeseran kimia 78,0 ppm mengindikasikan adanya cincin kromen. Untuk mengetahui posisi cincin kromen tersubstitusi secara angular atau linier dapat dilihat dari data pergeseran kimia sekitar 95 dan 98 ppm. Apabila terdapat sinyal >98 ppm maka kromen tersubtitusi secara angular, tetapi apabila sinyal <95 ppm maka kromen tersubstitusi secara linier. Dari data ^{13}C-NMR dapat diketahui bahwa terdapat sinyal pada pergeseran kimia 98,9 ppm dan 100,6 ppm, sehingga cincin kromen tersubstitusi secara angular di C-7 dan C-8 (Jayasinghe dkk, 2008). Pada pergeseran kimia 19,3; 46,1; 92,4; 27,9; dan 22,5 ppm mengindikasikan cincin dihidrofuran terbentuk akibat siklisasi oksidatif 5'-hidroksi pada cincin B terhadap ikatan rangkap C-13 gugus isoprenil yang tersubstitusi di C-3.

Berdasarkan hasil pembahasan analisis tersebut dapat diketahui bahwa struktur senyawa **(1)** memiliki kemiripan dengan struktur sikloartobiloksanton. Hal ini dapat ditunjukkan dengan perbandingan pergeseran (δ) ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR dari senyawa **(1)** dengan sikloartobiloksanton (Tabel 4.4) dan perbandingan struktur (Gambar 4.18).

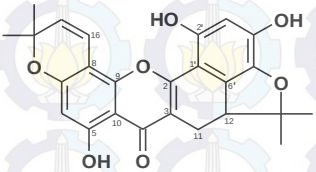


Gambar 4.19 Spektrum ^{13}C-NMR (125 MHz) senyawa **(1)** dalam DMSO

Tabel 4. 4 Data perbandingan pergeseran (δ) ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR senyawa **(1)** dan sikloartobiloksanton dalam DMSO, 500 MHz (Sultanbawa dan Surendrakumar, 1989, Jayasinghe dkk., 2008).

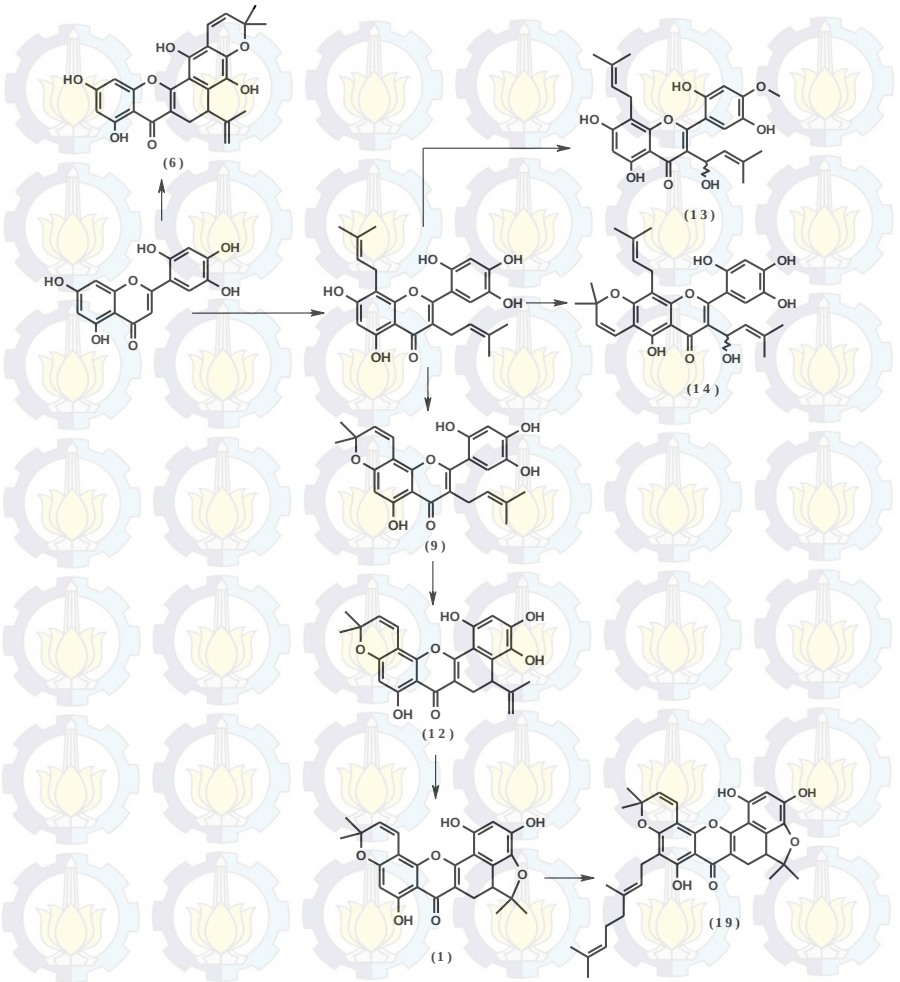
Nomor karbon	Senyawa **(1)**		Sikloartobiloksanton	
	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)
2	-	160,8	-	160,5
3	-	98,9	-	104,6
4	-	179,9	-	180,6
5	-	157,9	-	158,7
6	6,16 (1H, *s*)	98,9	6,25 (1H, *s*)	99,9
7	-	160,5	-	160,9
8	-	100,6	-	101,1
9	-	151,0	-	150,9
10	-	104,0	-	104,0
11	3,35 (1H, *t*, *J*=7,1 & 13,5 Hz) dan 2,28 (1H, *t*, *J*=15,15 & 15,3 Hz)	19,3	3,40 (1H, *dd*, *J*=7,2 & 15,2 Hz) dan 2,41 (1H, *t*, *J*=15,2 Hz))	19,7
12	3,10 (1H, *dd*, *J*=7 & 14,85 Hz)	46,1	3,20 (1H, *dd*, *J*=7,2 & 15,2 Hz)	46,4
13	-	92,4	-	93,7
14	1,24 (3H, *s*)	22,5	1,35 (3H, *s*)	22,5
15	1,59 (3H, *s*)	27,9	1,67 (3H, *s*)	28,0
16	6,81 (1H, *d*, *J*=10 Hz)	114,5	6,78(1H, *d*, *J*=10 Hz)	114,8
17	5,73 (1H, *d*, *J*=10,15 Hz)	127,4	5,58 (1H, *d*, *J*=10 Hz)	127,3
18	-	78,0	-	77,8
19	1,43 (3H, *s*)	27,7	1,47 (3H, *s*)	27,9
20	1,43 (3H, *s*)	27,7	1,47(3H, *s*)	27,9
1'	-	111,0	-	111,7
2'	-	150,5	-	150,2
3'	6,28 (1H, *s*)	102,8	6,426 (1H, *s*)	103,6
4'	-	146,5	-	145,9
5'	-	136,2	-	136,8
6'	-	132,2	-	127,3
5-OH	13,38 (1H, *s*)	-	13,33 (1H, *s*)	-
2'-OH	10,16 (1H, *s*)	-	8,85 (1H, *s*)	-
4'-OH	9,83 (1H, *s*)	-	8,70 (1H, *s*)	-

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa **(1)** merupakan senyawa yang telah dilaporkan sebelumnya yaitu senyawa sikloartobiloksanton dengan rumus molekul $C_{25}H_{22}O_7$ (Ko, Horng-Huey *et al*., 2005).



(1)

Hasil pemetaan senyawa turunan flavonoid yang telah ditemukan pada spesies *A. elasticus* menunjukkan bahwa senyawa **(1)** merupakan santon turunan flanonoid yang termodifikasi. Dari penelitian yang dilakukan bersama satu tim PAKTI 2016, diperoleh senyawa lain yaitu artonin E **(9)** dan artobiloksanton **(12)** dari spesies *A. elasticus* asal Pulau Alor, Nusa Tenggara Timur (NTT). Atas dasar tersebut maka pemetaan senyawa flavonoid dan turunannya pada spesies *A. elasticus* dapat dilakukan kembali (Gambar 4.20).



Gambar 4. 20 Saran jalur biogenesis senyawa flavonoid dan turunannya dari *A. elasticus*

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dari kulit akar tumbuhan *A. elasticus* asal Pulau Flores Nusa Tenggara Timur (NTT) tidak dihasilkan senyawa flavonoid baru tetapi senyawa santon turunan flavonoid yang pernah dilaporkan yaitu sikloartobiloksanton **(1)** berupa padatan kuning dengan titik leleh 205-207˚C.

5.2 Saran

Penelitian ini perlu dilakukan lebih lanjut untuk memperoleh senyawa-senyawa fenolat baru dari spesies *A. elasticus*. Selain itu, perlu dilakukan studi penelitian mengenai bioaktivitas antikanker dari senyawa sikloartobiloksanton.

"Halaman ini sengaja dikosongkan"

DAFTAR PUSTAKA

Anggraeni, Deny. (1996). Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Ranting *Artocarpus Elasticus* (Bendo). Skripsi, Universitas Diponegoro Semarang.

C., A. Backer & R., C. Bakhuizen Van Den Brink Jr. (1968). *Flora of Java.* Vol. VIII. Netherland: Wolter-Noordhoff N. V. Groningen.

Ersam, T. (2001). *Senyawa Kimia Mikromolekul Beberapa Tumbuhan Artocarpus Hutan Tropika Sumatera Barat*. Bandung: Disertasi, PPs. ITB.

Ersam T. (2004). Keunggulan Biodeversitas Hutan Tropika Indonesia dalam Merekayasa Model Molekul Alami. *Seminar Nasional Kimia VI*.

Ersam T. (2005). Pemberdayaan Keanekaragaman Hayati Hutan Tropika: Fenolat Terprenilasi dari Artocarpus dan Garcinia (Nangka dan Manggis). *Posiding Seminar Nasional Kimia, Universitas Negeri Surabaya, 22–23.*

Fessenden R. J., Fessenden J. S. (1986). *Organic chemistry 3rd ed.* USA: Wadsworth Inc.

Firdaus, M.S. (2011). *Teknik Dalam Laboratorium Kimia Organik.* Makasar: Universitas Hasanuddin.

Harbone J.B. (1987). *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, terbitan kedua terjemahan kokasih padmawinata dan iwan soediro.* Bandung: ITB press.

Hart H. (1983). *Organic chemistry a short course. sixth edition.* Boston: Houghton Miffin Company.

Hashim, N.M., Rahmani, M., Ee, G.C.L., Sukari, M.A., Yahayu, M., Oktima, W., Ali, A.M., Go, R. (2012). Antiproliferative activity of xanthones isolated from *Artocarpus obtusus*. *J. Biomed. Biotechnol*.

Hismiaty B., Swasmi P., Endah P. (2011). Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasi, reperkolasi dalam pembuatan ekstrak pegagan. *Simnas Perhipba XV*. Laptiab Gdg. 611 Serpong: Pusat Teknologi Farmasi dan Medika (BPPT).

Hostettmann K., Hostettmann. M., Marston. A. (1995). *Cara kromatografi preparatif.* Bandung: Penerbit ITB.

Houghton, Peter J. dan Rahman. A., (1998). *Laboratory Handbook for the Fractination of Natural Extracts*. Chapman and Hall : London.

Ibnu G. G., Abdul. R. (2008). *Kimia farmasi analisis.* Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Ito, C., Itoigawa, M., Miyamoto, Y., Rao, K.S., Takayasu, J., Okuda, Y., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H., Furukawa, H., (1999). "A New Biflavonoid from *Calophyllum panciflorum* with Antitumor-Promoting Activity", *J. Nat.Prod., Vol. 62, No. 12, Hal. 1668-1671*.

Jagtap, U.B., Bapat, V.A. (2010). *Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Jounal of Ethnopharmacology 129, 142-166*.

Jayasinghe, U. L. B., Samarakoon, T. B., Kumarihamy, B. M. M., Hara, N., Fujimoto, Y. (2008). Four New Prenylated Flavonoids and Xanthones from the Root Bark of *Artocarpus nobilis*. *Fitoterapia 79, 37-41*.

J.P. Cannell Ricard. (1998). *Natural Products Isolation.* New Jersey: Humana Press.

Khaerunnisa. (2011). *Aktivitas Anti Malaria Secara In-Vitro Dari Ekstrak Metanol Daun dan Ekstrak Ekstrak Metanol Kulit Batang Artocarpus camansi (Keluih) Pada Plasmodium falsifarum* [Tesis]. Progr Studi Magister Pendidikan IPA. Universitas Mataram.

Kijjoa, Anake., Cidade, Honorina M., Pinto, Madalena M. M., Gonzalez, M. J. T. G., Anantachoke, C., Gedris, Thomas E., Herz, Weener. (1996). Prenylflavonoids from *Artocarpus elasticus*. *Phytochemistry 43, 691-694*.

Ko, Horng-Huey., Lu, Yi-Huang., Yang, Sheng-Zehn., Won, Shen-Jeu., & Lin, Chun-Nan. (2005). Cytotoxic Prenylflavonoids from *Artocarpus elasticus. Journal natural product 68, 1692-1695*.

Kristanti, Alfinda N., Aminah, Nanik S., Tanjung, Mulyadi., dan Kurniadi, Bambang. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.

Larashati, Inge. (2004). *Keanekaragaman Tumbuhan dan Populasinya di Gunung Kelud, Jawa Timur*. *Biodiversitas 2, 71-76*.

Murry, Mc. J. (1999). *Organic chemistry*. *5th ed.* USA: Brooks / Cole.

Nilar, Nguyen, L.D., Venkataraman, G., Sim K., Harrison L.J. (2005). Xanthones and Benzophenones from *Garcinia grifitthii* and *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*. *66*. *1718-1723*.

Pavia D.L., Lampman. G.M., Knitz. G.S. (1990). *Introduction to organic laboratory techniques a conteporery approach. second edition.* New York: Sainders Colleege Publishing.

Ramli, F. Rahmani, M., Kassim, N. K., Hashim, N. M., Sukari, M. A., Akim, A. M., Go, Rusea. (2013). New diprenylated dihyrochalcones from leaves of *Artocarpus elasticus*. *Phytochemistry Letters* 6, *582–585*.

Silverstein, R. M., Webster, F., and Kiemle, D. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th Edition.* John Wiley and Sons, Inc.

Sudjadi. (1988). *Metode Pemisahan Organik*. Yogyakarta: Kanisius.

Sultanbawa, M. Uvais S. dan Surendrakumar, Sivagnanasundram. (1989). Two Pyranodihydrobenzoxanthones from *Artocarpus nobilis*. *Phytochemistry 28, 599-605*.

Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Achmad, S.A., Hakim, E.H., Ghisalberti, E.L. (2006). Cytotoxic prenylated flavones from *Artocarpus champeden*. *J. Nat. Med. 60, 308–312*.

Sunarti, Siti., Hidayat, Arief., Rugayah. (2008). *Keanekaragaman Tumbuhan di Hutan Pegunungan Waworete, Kecamatan Wawonii Timur, Pulau Wawonii, Sulawesi Tenggara. Biodiversitas 3, 194-198*.

Wang, Y., Xu, K., Lin, L., Pan, Y., Zheng, X. (2007). Geranyl flavonoids from the leaves of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry 68, 1300–1306*.

Weng, J.R., Chan, S.C., Lu, Y.H., Lin, H.C., Ko, H.H., Lin, C.N. (2006). Antiplatelet prenylflavonoids from *Artocarpus communis*. *Phytochemistry 67, 824–829*.

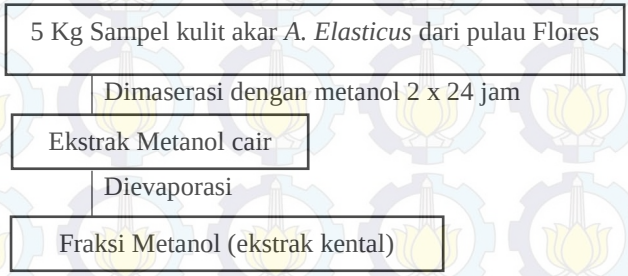
Widyawaruyanti, A., Subehan Kalauni, S.K., Awale, S., Nindatu, M., Zaini, N., Syafruddin, D., Asih, P.B.S., Tezuka, Y., Kadota, S. (2007). New prenylated flavones from *Artocarpus champeden* and their antimalarial activity in vitro. J. *Nat. Med. 61, 410–413*.

Underwood, A. L., Day, R. A. (1998). *Analisis Kimia Kuantitatif*, Edisi keenam, hal 388-390, diterjemahkan oleh Iis Sopyan, Jakarta: Erlangga.

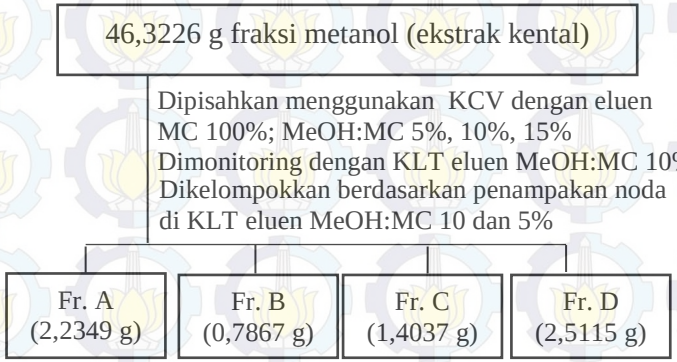
Zhao, T., Yan, G.-R., Pan, S.-L., Wang, H.-Y., Hou, A.-J. (2009). New isoprenylated 2-arylbenzofurans and pancreatic lipase inhibitory constituents from *Artocarpus nitidus*. *Chem. Biodivers. 6, 2209–2216*.

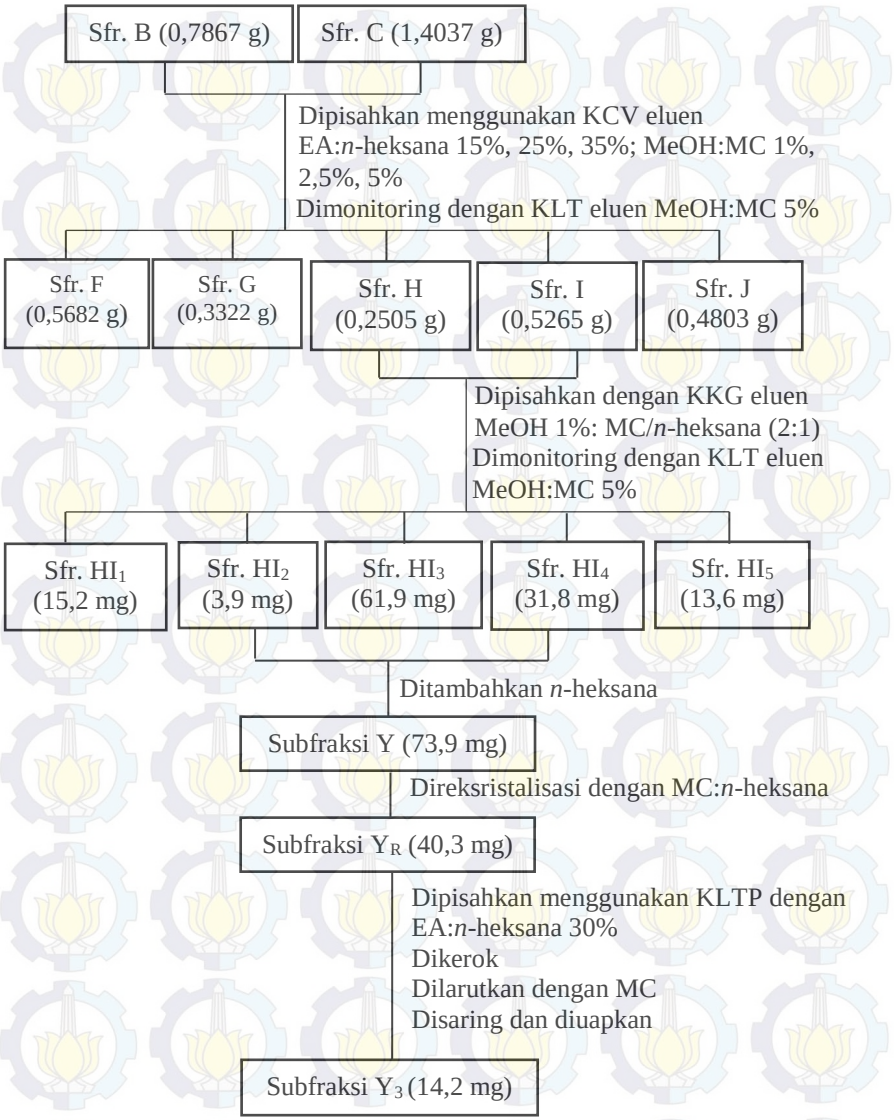
LAMPIRAN

1. Ekstraksi



2. Fraksinasi




Sfr. B (0,7867 g)
Sfr. C (1,4037 g)
Dipisahkan menggunakan KCV eluen EA:*n*-heksana 15%, 25%, 35%; MeOH:MC 1%, 2,5%, 5%
Dimonitoring dengan KLT eluen MeOH:MC 5%
Sfr. F (0,5682 g)
Sfr. G (0,3322 g)
Sfr. H (0,2505 g)
Sfr. I (0,5265 g)
Sfr. J (0,4803 g)
Dipisahkan dengan KKG eluen MeOH 1%: MC/*n*-heksana (2:1)
Dimonitoring dengan KLT eluen MeOH:MC 5%
Sfr. HI_1 (15,2 mg)
Sfr. HI_2 (3,9 mg)
Sfr. HI_3 (61,9 mg)
Sfr. HI_4 (31,8 mg)
Sfr. HI_5 (13,6 mg)
Ditambahkan *n*-heksana
Subfraksi Y (73,9 mg)
Direksristalisasi dengan MC:*n*-heksana
Subfraksi Y_R (40,3 mg)
Dipisahkan menggunakan KLTP dengan EA:*n*-heksana 30%
Dikerok
Dilarutkan dengan MC
Disaring dan diuapkan
Subfraksi Y_3 (14,2 mg)

BIODATA PENULIS

Penulis dilahirkan di Lamongan, 24 Februari 1995 dengan nama lengkap Ika Febriana Syafitri sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Sumaji dan Ibu Hanik Khusnul Hidayah dengan dua orang adik yaitu Oktova Bara Adji Putra dan Moch. Syeikhul Barri. Pendidikan formal yang telah ditempuh oleh penulis, yaitu di TK PKK Kepoh, SD Negeri Kepoh-Bulumargi, SMP Negeri 1 Babat dan SMA Negeri 1 Babat. Setelah lulus dari SMA Negeri 1 Babat, penulis melanjutkan pendidikan di Jurusan Kimia, FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya melalui jalur SNMPTN Undangan pada tahun 2012 dengan NRP 1412100021. Selama menempuh pendidikan di ITS, penulis aktif dalam organisasi dan kegiatan tingkat jurusan, fakultas dan institut. Penulis pernah menjabat sebagai Staff RISTEK Himpunan Mahasiswa Kimia 2013/2014 dan Sekretaris Departemen *Research & Technology* Himpunan Mahasiswa Kimia 2014/2015. Penulis pernah menempuh kerja praktik di IPAL PT. SIER periode Juli-Agustus 2015. Penulis menyelesaikan studi di Jurusan Kimia FMIPA ITS dengan mengambil Tugas Akhir di bidang Kimia Bahan Alam dan Sintesis dengan judul "Senyawa Sikloartobiloksanton dari Kulit Akar *Artocarpus elasticus*" dengan dosen pembimbing Prof. Dr. Taslim Ersam. Penulis dapat dihubungi melalui email: ikafeb12@gmail.com

“Halaman ini sengaja dikosongkan”