



SKRIPSI - SK184807

**ISOLASI SENYAWA ODORATIN DAN SENYAWA
TURUNAN *ABIETANE* DITERPENOID DARI
TANAMAN *Chromolaena odorata* (L.)**

**ANNE DWI TSAMARAH
NRP. 0121154000050**

**Dosen Pembimbing
Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc, Ph.D**

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2019**



FINAL PROJECT - SK184807

**ISOLATION ODORATIN AND ABIETANE-DERIVED
DITERPENE FROM *Chromolaena odorata* (L.)**

ANNE DWI TSAMARAH
NRP. 0121154000050

Supervisor
Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc, Ph.D

DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2019

**ISOLASI SENYAWA ODORATIN DAN SENYAWA TURUNAN
ABIETANE DITERPENOID DARI TANAMAN *Chromolaena
odorata* (L.)**

SKRIPSI

Disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan mata kuliah
Tugas Akhir program S-1
Departemen Kimia
Fakultas Sains
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya

Disusun oleh :

ANNE DWI TSAMARAH
NRP. 0121154000050

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

ISOLASI SENYAWA ODORATIN DAN SENYAWA TURUNAN
ABIETANE DITERPENOID DARI TANAMAN *Chromolaena*
odorata (L.)

SKRIPSI

Oleh :

ANNE DWI TSAMARAH
NRP. 0121154000050

Surabaya, 24 Juni 2019
Menyetujui,

Dosen Pembimbing



Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc., Ph.D..
NIP. 19801103 200212 2 001



*Karya ini kupersembahkan untuk Ayah, Ibu, Kakak, dan Adik,
Dosen pembimbing dan penguji
Goldschmidt 2015
Teman-teman organisasi dan para sahabat*

**ISOLASI SENYAWA ODORATIN DAN SENYAWA
TURUNAN ABIETANE DITERPENOID DARI TANAMAN
Chromolaena odorata (L.)**

Nama : Anne Dwi Tsamarah
NRP : 0121154000050
Departemen : Kimia
Pembimbing : Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc., Ph.D.

ABSTRAK

Chromolaena odorata atau yang biasa disebut sebagai rumput siam merupakan salah satu tanaman obat di daerah Ambon, Maluku, Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari daun tanaman *C. odorata*. Dari fraksi diklorometana, telah berhasil dilakukan isolasi 2 jenis senyawa yang berbeda. Struktur senyawa S₁ dan S₂ dianalisis menggunakan ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC, dan HMQC. Diapatkan hasil bahwa senyawa S₁ merupakan senyawa turunan kalkon-flavonoid yang bernama odoratin atau 2'-hidroksi-4,4',5',6'-tetrametoksikalkon. Senyawa ini berbentuk padat berwarna *orange* dengan titik leleh 136 - 137°C. Untuk senyawa S₂ merupakan senyawa turunan *abietane*-diterpenoid yang belum pernah ditemukan pada tanaman *C. odorata*. Senyawa S₂ ini memiliki nama 7-hidroksi-13-(ters)butil-4,4,10-trimetilabieta-8,11,13-trien, dan merupakan senyawa yang berbentuk seperti minyak tidak berwarna.

Kata Kunci : *Chromolaena odorata*, isolasi, odoratin, *abietane*, diterpenoid

ISOLATION ODORATIN AND ABIETANE-DERIVED DITERPENE FROM *Chromolaena odorata* (L.)

Name : Anne Dwi Tsamarah
Student No. : 01211540000050
Departement : Chemistry
Supervisor : Sri Fatmawati, S.Si., M.Sc., Ph.D.

ABSTRACT

Chromolaena odorata also called as siam-weed is one of the medicinal plants in Ambon, Indonesia. This research aims to isolate secondary metabolites from the leaves of *C. odorata*. The dicloromethane fraction, were succesfully isolated 2 different compounds. The structure of S₁ and S₂ were identified using ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC, and HMQC. The result for S₁ is a chalcone-flavonoid derivative, namely odoratin or 2'-hidroxy-4,4',5',6'-tetramethoxychalcone. Temperature of this compound's melting point is 136 - 137°C. Then, the result for S₂ is a new compound from abietane-diterpene derivative. This compound is colorless oil and namely 7-hydroxy-13-(tert)butyl-4,4,10-trimethylabieta-8,11,13-triene.

Keyword : *Chromolaena odorata*, isolation, odoratin, abietane, diterpene

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala ramat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan judul **“Isolasi Senyawa Odoratin dan Senyawa Turunan Abietane Diterpenoid dari Tanaman *Chromolaena odorata* (L.)”**. Penulisan ini tidak akan terwujud tanpa dukungan, doa, serta semangat dari semua pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Sri Fatmawati, S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing yang memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah skripsi.
2. Bapak Lukman Atmaja, Ph.D., selaku Dosen Wali yang senantiasa mengarahkan selama kuliah.
3. Bapak Prof. Dr. Taslim Ersam, Kepala Laboratorium NPSC yang senantiasa mengarahkan pengerjaan di lab.
4. Bapak Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc., selaku Kepala Departemen Kimia FS ITS atas fasilitas yang telah diberikan hingga naskah skripsi ini terselesaikan.
5. Kedua orangtua, kakak, dan adik yang tiada pernah lelah memberikan dukungan, semangat serta doa.
6. Teman-teman “Goldschmidt”, Lab NPSC, Tim Kawal PKM, dan Ristek Argon yang selalu memberi semangat.
7. Serta semua pihak yang telah membantu yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan naskah skripsi ini belum memenuhi sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik serta saran yang membangun agar naskah ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Muka.....	i
Halaman Judul	iii
Halaman 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. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
Bab II Tinjauan Pustaka.....	5
2.1. Taksonomi <i>C. odorata</i>	5
2.2. Senyawa Flavonoid	6
2.3. Senyawa Terpenoid.....	12
2.4. Metode Pemisahan	15
2.5. Karakterisasi.....	18
Bab III Metodologi Penelitian	23
3.1 Alat dan Bahan.....	23
3.1.1. Alat	23
3.1.2. Bahan	23
3.2 Prosedur Penelitian	24
3.2.1. Fraksinasi	24
3.2.2. Penentuan Struktur Senyawa	27
Bab IV Hasil dan Pembahasan.....	29

4.1. Isolasi dan Pemurnian Senyawa.....	29
4.2. Karakterisasi dan Penentuan Struktur Senyawa.....	40
Bab V Penutup	53
5.1. Kesimpulan	53
5.2. Saran	54
Daftar Pustaka.....	55
Lampiran	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman <i>C. odorata</i>	5
Gambar 2.2 Spektra IR dari Senyawa Hesperidin.....	19
Gambar 2.3 Spektra ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃ , 25°C) dari senyawa <i>Germacrene D</i> pada δH = 0.0-3.5 ppm	21
Gambar 4.1 Hasil pemantauan KLT fraksi A3A, A3B, A3C, A3D dengan eluen EtOAc : <i>n</i> -Heksana (20:80).....	29
Gambar 4.2 Hasil pemantauan KLT gabungan fraksi A3C dan A3D menjadi A3C dengan eluen EtOAc : <i>n</i> -Heksana (20:80) ..	30
Gambar 4.3 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C; (a) subfraksi (1 – 57); (b) subfraksi gabungan (A3C1 – A3C6) dengan eluen <i>n</i> -Heksana:EtOAc (80:20).	31
Gambar 4.4 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C2; (a) subfraksi (1 – 47); (b) subfraksi gabungan (A3C2A – A3C2B) dengan eluen <i>n</i> -Heksana:EtOAc (80:20).....	33
Gambar 4.5 Hasil pemantauan KLT filtrat dan residu (F = Filtrat dan R = Residu)	34
Gambar 4.6 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C2B; (a) subfraksi (1 – 44); (b) subfraksi gabungan (A3C2B1 – A3C2B3) dengan eluen <i>n</i> -Heksana:EtOAc (80:20).....	35
Gambar 4.7 Hasil pemantauan KLT 2D pada fraksi A3C2B3 ..	37
Gambar 4.8 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C2A; (a) subfraksi (1 – 99); (b) subfraksi gabungan (A3C2A1 – A3C2A6) dengan eluen <i>n</i> -Heksana:EtOAc (80:20).....	38
Gambar 4.9. Hasil pemantauan KLT 2D pada fraksi A3C2A1 .	39
Gambar 4.10 Korelasi HMBC pada Senyawa S ₁	43
Gambar 4.11 Korelasi HMQC pada Senyawa S ₁	44

Gambar 4.13 Korelasi HMQC Senyawa S ₂	49
Gambar 4.14 Korelasi HMBC Senyawa S ₂	50
Gambar 4.15 Struktur Dasar <i>Abietane</i>	51
Gambar 4.16 Struktur Senyawa S ₂	52

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Taksonomi <i>C.odorata</i>	6
Tabel 2.2 Klasifikasi Terpenoid	13
Tabel 2.3 Karakteristik Gugus Fungsi pada Bilangan Gelombang Infra Merah	18
Tabel 2.4 Puncak Khas pada NMR	20
Tabel 3.1 Proses Elusi KCV Pertama, Kedua dan Ketiga pada Ekstrak <i>C.odorata</i>	24
Tabel 3.2 Tahap Fraksinasi A3C	26
Tabel 3.3 Tahap Fraksinasi A3C2A	27
Tabel 4.1 Tahap Fraksinasi A3C	32
Tabel 4.2 Pengujian 3 Eluen Fraksi A3C2B3	36
Tabel 4.3. Pengujian 3 Eluen Fraksi A3C2A1	39
Tabel 4.4 Data $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, dan Korelasi HMBC S_1	41
Tabel 4.5 Perbandingan Data $^1\text{H-NMR}$ S_1 dengan $^1\text{H-NMR}$ Odoratin	45
Tabel 4.6 Data $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ S_2	48

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

WHO atau *World Health Organization* merilis bahwa sebanyak 80% populasi dunia memilih etnofarmakognosi atau obat-obatan herbal dalam mengatasi permasalahan kesehatan. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa terdapat ribuan fitokimia dari tanaman yang aman dan efektif dalam aktivitasnya sebagai antikanker, antiinfeksi, dan aktivitas penyembuhan lainnya (Sasidharan *et al.*, 2011). Di Amerika Serikat, sebanyak 49% masyarakatnya menggunakan obat-obatan alami dalam mencegah dan mengatasi berbagai penyakit. Bahan alam telah dipercaya sebagai sumber utama perkembangan obat-obatan baru. Sejak tahun 1940-2014, bahan alam menjadi sumber perkembangan bahan kimia dalam pengobatan penyakit manusia. Bahan alam memiliki kombinasi yang baik mengenai struktur kimia, gugus fungsi, hingga kiralitas senyawa yang dibutuhkan oleh kandidat obat (Zhang *et al.*, 2018).

Indonesia memiliki sekitar 30.000 jenis tanaman, dengan 7.000 diantaranya memiliki potensi sebagai tanaman obat. Penggunaan tanaman obat sebagai obat herbal lebih dipilih karena penggunaannya yang aman dan tidak memiliki efek samping. Terdapat 3 jenis obat herbal di Indonesia, yakni jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka. Nilai ekspor obat herbal Indonesia mengalami peningkatan dari tahun 2013 menuju tahun 2014 yakni sebesar US\$ 23,44 Juta hingga US\$ 29,13 Juta (Kementerian Perdagangan RI, 2014).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat adalah tanaman *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King dan H. Rob. *C. odorata* merupakan salah satu spesies yang berada pada

famili *Asteraceae*. Famili ini merupakan famili tanaman yang banyak digunakan sebagai tanaman obat di salah satu etnis di Sumatera Utara. Banyak dari tanaman famili *Asteraceae* yang dijadikan sebagai bahan medis karena memiliki berbagai komponen senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan (Simanjuntak, 2017). Daun dari *C. odorata* ini sudah digunakan oleh masyarakat seperti di Aceh sebagai obat diabetes dan luka pada kulit. Cairan yang keluar dari daun jenis ini dikeluarkan melalui peremasan, lalu digunakan untuk obat (Marianne *et al.*, 2014). Daun dari tanaman ini selain itu juga dilaporkan dapat berguna menyembuhkan penyakit malaria, perut, dan mata (Abidjan, 1996).

Kandungan dalam tanaman yang digunakan sebagai sumber pengobatan, yakni kandungan metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan hasil metabolisme tanaman yang lebih digunakan sebagai alat pertahanan termasuk antraktan, repelan, serta protektan (Ersam, 2012). Berdasarkan skrining fitokimia yang telah dilakukan dari 2 jenis *C. odorata* yang diujikan, terdapat berbagai jenis metabolit sekunder termasuk flavonoid, fenolat, saponin, tanin dan alkaloid (Omokhua *et al.*, 2016). Adanya berbagai macam metabolit sekunder pada *C. odorata*, menjadikan tanaman ini berpotensi digunakan sebagai antikanker, antidiabetes, anti-hepatotoksik, anti-inflamasi, antimikroba, dan antioksidan (Sirinthipapor dan Jiraungkoorskul, 2017).

Fungsi metabolit sekunder tanaman yang besar dalam bidang kesehatan mengakibatkan kebutuhan akan isolasi senyawa bioaktif dari tanaman tersebut. Beberapa jenis senyawa telah berhasil diisolasi dari daun tanaman *C. odorata*. Termasuk kaempferide dan 4,2'-dihidroksi-4',5',6'-trimetoksikalkon yang didapatkan dari *C. odorata*, dengan menggunakan eluen *n*-

heksana dan etil asetat (Kumkarnjana *et al.*, 2018). Selain itu, telah berhasil diisolasi pula senyawa 3,5,7,3'-tetrahidroksi-4'-metoksiflavan dari *C. odorata* (Ezenyi *et al.*, 2014).

Sebagai upaya pencarian senyawa lainnya dari tanaman *C. odorata*, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian tersebut mengenai senyawa-senyawa metabolit sekunder lainnya yang terdapat pada tanaman *C. odorata*, khususnya pada bagian daun tanaman. Dengan penelitian tersebut, maka senyawa-senyawa metabolit sekunder yang berasal dari *C. odorata* yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif semakin bertambah.

1.2. Rumusan Masalah

Terdapat beberapa penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari tanaman *C. odorata*, namun masih belum diketahuinya peluang didapatkannya senyawa metabolit sekunder lainnya yang berasal dari tanaman *C. odorata*. Sehingga, perlu dilakukan penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder lainnya yang dapat diisolasi dari daun tanaman *C. odorata*.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dan menentukan struktur senyawa metabolit sekunder dari daun tanaman *C. odorata*.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yakni memperoleh senyawa metabolit sekunder dari daun *C. odorata* lokal yang diharapkan dapat berkontribusi dalam perkembangan bahan alam yang dapat dikembangkan menjadi bahan obat.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Taksonomi *C. odorata*

C. odorata atau yang juga disebut *Eupatorium odoratum* merupakan tanaman yang banyak didapatkan di daerah tropis dan sub-tropis. Tanaman ini merupakan tanaman dari genus *Chromolaena* dan famili *Asteraceae* yang memiliki 165 jenis tersebar di berbagai daerah. *C. odorata* seperti pada Gambar 2.1, tumbuh liar di berbagai daerah di Asia Tenggara, salah satunya di Indonesia (*ASEAN Herbal and Medicinal Plants*, 2010). Nama “*odorata*” menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki bau yang kuat ketika daun tanaman ini dihancurkan (Sirinthipaporn dan Jiraungkoorskul, 2017). Taksonomi dari tanaman *C.odorata* yakni pada Tabel 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman *C. odorata*

C. odorata atau biasa disebut pula sebagai rumput siam dapat hidup minimal 10 tahun. Tanaman ini memiliki tinggi 2-3 m dan berbentuk semak yang rapuh. Daun tanaman ini memiliki

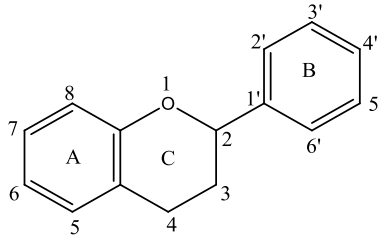
warna hijau dengan panjang 6-12 cm dan lebar 3-7 cm. Daun-daun tersebut tumbuh berhadapan di sepanjang batang tanaman (Sirinthipaporn dan Jiraungkoorskul, 2017).

Tabel 2.1 Taksonomi *C.odorata*

<i>Kingdom</i>	<i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	<i>Viridiplantae</i>
<i>Infrakingdom</i>	<i>Streptophyta</i>
<i>Superdivision</i>	<i>Embryophyta</i>
<i>Division</i>	<i>Tracheophyta</i>
<i>Subdivision</i>	<i>Spermatophytina</i>
<i>Class</i>	<i>Magnoliopsida</i>
<i>Superorder</i>	<i>Asteranae</i>
<i>Order</i>	<i>Asterales</i>
<i>Family</i>	<i>Asteraceae</i>
<i>Genus</i>	<i>Chromolaena</i>
<i>Species</i>	<i>Odorata</i>

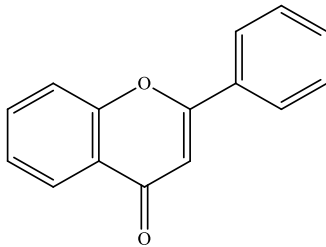
2.2. Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok besar senyawa metabolit sekunder polifenol yang mempunyai struktur benzo- γ -piron dan banyak ditemukan di berbagai jenis tanaman. Pada tanaman, flavonoid mampu menjadi atraktan, pencegah gangguan dari luar seperti mikroba, dan regulator pertumbuhan sel. Sejak tahun 1990, senyawa flavonoid semakin banyak diteliti dalam pemanfaatannya sebagai senyawa obat, termasuk salah satunya sebagai antioksidan. Adanya gugus hidroksil pada senyawa flavonoid, menyebabkan senyawa ini mampu menangkal radikal bebas (Kumar dan Pandey, 2013).

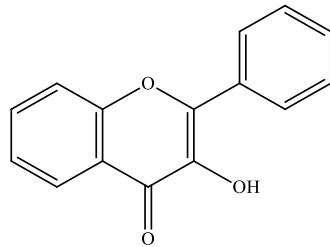


(1)

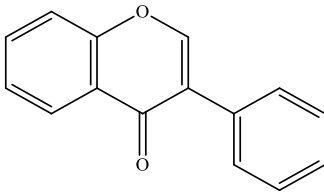
Struktur kimia dari senyawa flavonoid yakni terdiri dari 15 karbon skeleton (1). Senyawa ini terdiri dari 2 cincin benzen (A dan B) yang terhubung cincin piran (C). Terdapat beberapa sub-kelompok senyawa flavonoid berdasarkan pada perbedaan struktur kimia senyawa.



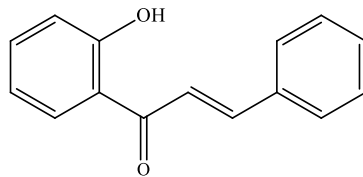
(2)



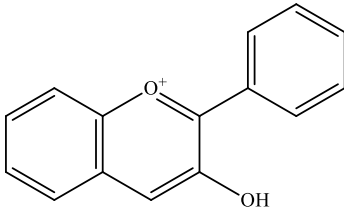
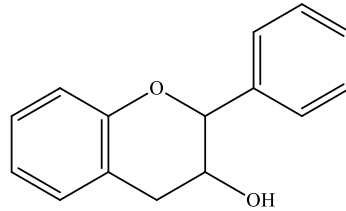
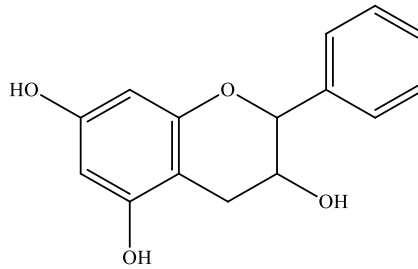
(3)



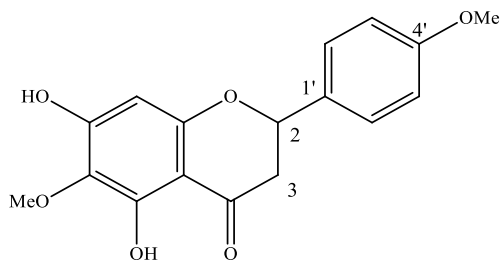
(4)



(5)

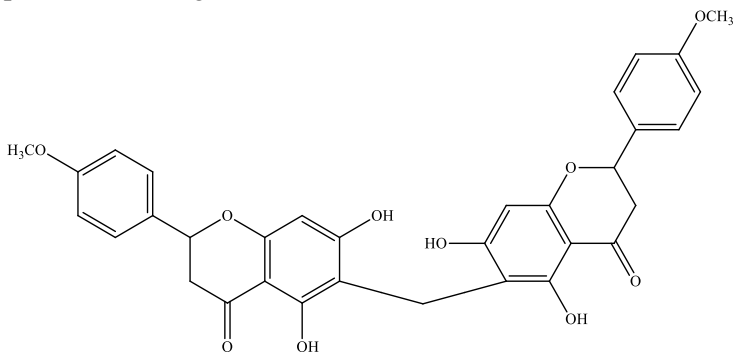
**(6)****(7)****(8)**

Berbagai macam senyawa flavonoid terdapat pada tanaman *C. odorata*. Pada penelitian sebelumnya, didapatkan 7 senyawa flavonoid dengan 1 senyawa baru dan 6 senyawa yang sudah ditemukan. Senyawa baru tersebut yakni 5,7-dihidroksi-6,4'-dimetoksiflavanon (**9**). Senyawa ini berbentuk kristal berwarna kuning yang didapatkan dari ekstrak *n*-Heksana/EtOAc (Pisutthanan *et al.*, 2006).



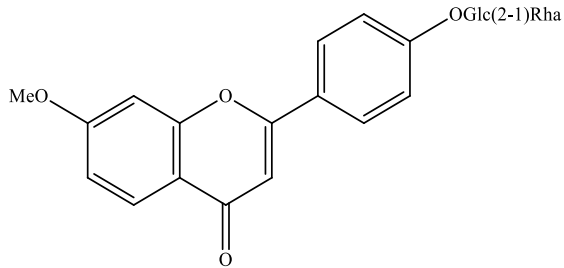
(9)

Senyawa (10) merupakan kelompok bidihidroflavon yang diisolasi dari ekstrak CH_2Cl_2 tanaman *C.odorata*. Wujud dari senyawa 6-metilenbis(5,7-dihidroksi-4'-metoksidihidroflavanon) ini yakni padat dengan struktur seperti pada (10) (Zhang *et al.*, 2015).

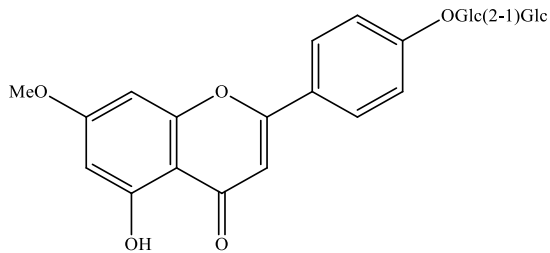


(10)

Dua senyawa flavonoid ditemukan pada penelitian berikutnya. Kedua senyawa tersebut yakni genkwanin (4'-O- $[\alpha\text{-L-Ramnopiranosil}(1\rightarrow 2)\text{-b-D-glukopiranosida}]$) (11) dan sakuranetin (4'-O- $[\beta\text{-D-Glukopiranosil}(1\rightarrow 2)\text{-}\beta\text{-D-glukopiranosida}]$) (12) (Hung *et al.*, 2011).

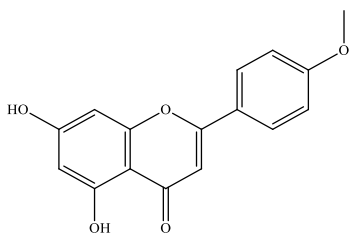
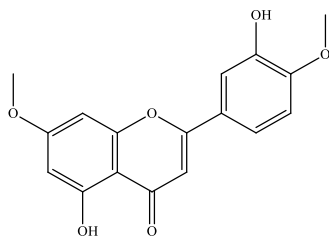
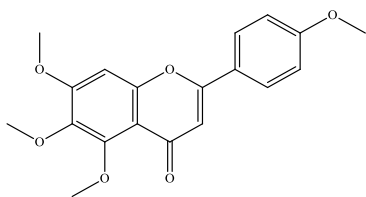
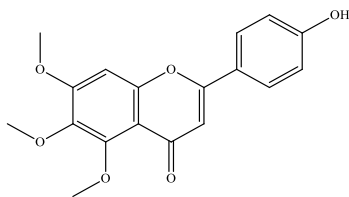
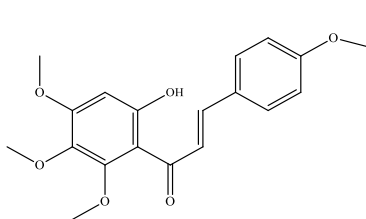
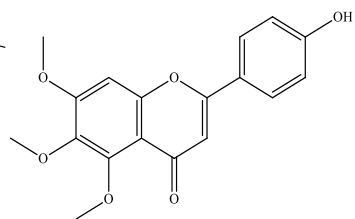
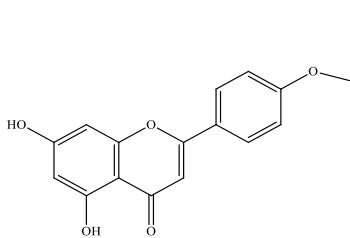
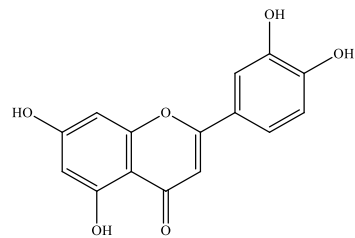


(11)

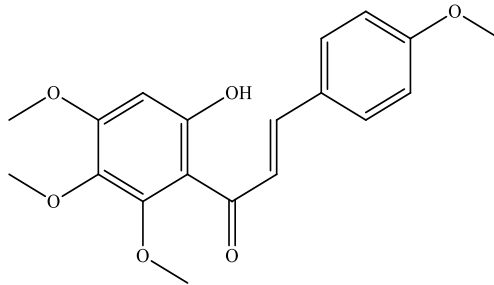


(12)

Didapatkan 4 senyawa flavanon berupa isosakuratenin (5,7-dihidroksi-4'-metoksiflavanon) (4), persikogenin (5,3'-dihidroksi-7,4'-dimetoksiflavanon) (5), 5,6,7,4'-tetrametoksiflavanon (6), dan 4'-hidroksi-5,6,7-trimetoksiflavanon. Telah diisolasi pula 2 senyawa kalkon yakni 2'-hydroxy-4,4',5',6'-tetrametoksikalkon (7) dan 4,2'-dihidroksi-4',5',6'-trimetoksikalkon (8). Selain dua kelompok tersebut, didapatkan 2 senyawa flavon yaitu akasetin (5,7-dihidroksi-4'-metoksiflavanon) (9) serta luteolin (5,7,3',4'-tetrahidroksiflavanon) (10) (Suksamrarn *et.al.*, 2004).

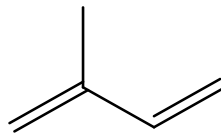
**(13)****(14)****(15)****(16)****(17)****(18)****(19)****(20)**

Ditemukan pula senyawa baru golongan kalkon flavonoid. Senyawa ini bernama odoratin atau 2'-hidroksi-4,4',5',6'-tetrametoksi kalkon (Bose *et al.*, 1973). Struktur dari senyawa ini seperti pada (21).



(21)

2.3. Senyawa Terpenoid



(22)

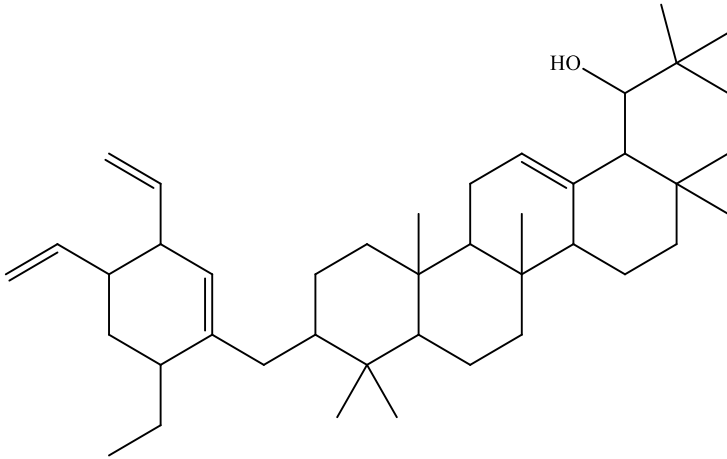
Terpenoid atau yang biasa disebut pula sebagai isoprenoid merupakan kelompok senyawa yang banyak terdapat pada bahan alam. Terpenoid mayoritas menjadi komponen utama dari minyak esensial atau *essential oil*. Struktur dasar dari terpenoid adalah 2-metilbuta-1,3-diena (C_5H_8) atau yang biasa disebut isoprena (Ludwiczuk *et al.*, 2017). Terdapat beberapa sub-kelompok senyawa terpenoid berdasarkan jumlah isoprena pada senyawa tersebut seperti pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Klasifikasi Terpenoid

Nama	Jumlah Isoprena	Jumlah Atom Karbon	Rumus Kimia Umum
Hemiterpenoid	1	5	C_5H_8
Monoterpenoid	2	10	$C_{10}H_{16}$
Sesquiterpenoid	3	15	$C_{15}H_{24}$
Diterpenoid	4	20	$C_{20}H_{32}$
Sesterpenoid	5	25	$C_{25}H_{40}$
Triterpenoid	6	30	$C_{30}H_{48}$
Tetraterpenoid	8	40	$C_{40}H_{64}$
Politerpenoid	>8	>40	$(C_5H_8)_n$

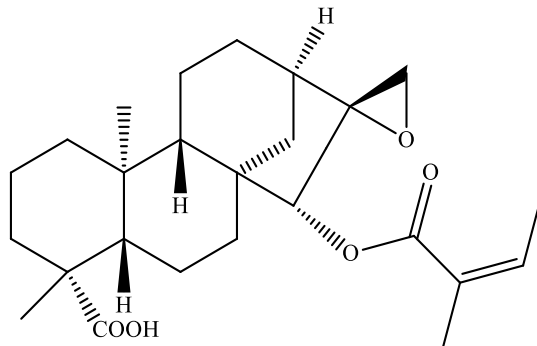
(Ludwiczuk, A., et.al., 2017)

Senyawa terpenoid terdapat pada berbagai jenis tanaman, salah satunya pada tanaman *C. odorata*. Pada penelitian yang selanjutnya, didapatkan senyawa triterpen yang diisolasi dari daun tanaman *C.odorata*. Metode yang digunakan adalah metode destilasi dan kolom kromatografi. Senyawa triterpen tersebut memiliki rumus molekul $C_{43}H_{68}O$ berdasarkan hasil EI-MS. Sedangkan untuk struktur senyawa ini ditentukan melalui karakterisasi 1H -NMR dan ^{13}C -NMR dan didapatkan struktur (**23**) (Prabhu dan Ravi, 2012).

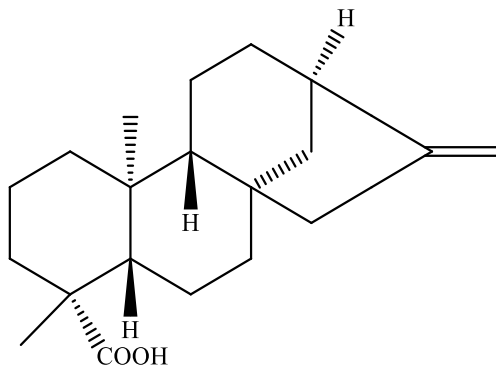


(23)

Senyawa (24) dan (25) didapatkan dari penelitian mengenai isolasi senyawa pada tanaman *C. odorata* (Wafo *et al.*, 2011). Pada penelitian tersebut, didapatkan senyawa diterpenoid *kaurane-type* yang diberi nama 15-angeloyloksi-16,17-epoksi-19-asam kauronik dan 16-kauren-19-asam oik.



(24)



(25)

2.4. Metode Pemisahan

2.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan dari campuran berbagai senyawa menjadi bagian-bagian yang tidak tercampur lagi. Tahap dalam ekstraksi yakni mempersiapkan bahan sebelum diekstraksi, pemilihan kondisi untuk proses ekstraksi, hingga pengerjaan proses ekstraksi, dan penyelesaian. Masing-masing proses tersebut memiliki berbagai hal yang harus diperhatikan. Ada berbagai cara ekstraksi yang dikenal dan digunakan yaitu maserasi dan perkolasi.

Maserasi merupakan cara mengekstrak yang paling sederhana yang biasa dilakukan. Proses yang dilakukan yakni merendam sampel yang telah dipreparasi menggunakan pelarut yang dipilih. Pelarut tersebut akan masuk ke dalam sel-sel pada sampel yang memiliki kandungan zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut bersama dengan pelarut. Sehingga, ketika diuapkan akan didapatkan berbagai zat aktif dari sampel tanaman.

Perkolasi merupakan cara ekstraksi yang dilakukan dengan meneteskan pelarut dalam wadah silinder atau kerucut. Metode ini memberikan keuntungan berupa penarikan senyawa-senyawa aktif tanaman yang lebih sempurna karena aliran pelarut menyebabkan peningkatan derajat perbedaan konsentrasi diantara partikel-partikel sampel (Pratiwi, 2010).

2.4.2 Fraksinasi

Setelah proses ekstraksi, pemisahan senyawa bahan alam dilakukan melalui proses fraksinasi. Teknik pemisahan yang biasa digunakan untuk fraksinasi adalah teknik kromatografi. Kromatografi merupakan sebuah teknik pemisahan dari campuran senyawa yang berdasarkan perbedaan sifat komponen-komponen didalam campuran tersebut. Terdapat berbagai macam jenis kromatografi, dengan kelompok besarnya adalah kromatografi gas dan kromatografi cair, namun jenis kromatografi yang digunakan pada pemisahan senyawa bahan alam yakni kromatografi cair, atau kromatografi yang menggunakan fase gerak berupa cairan. Kromatografi cair yang digunakan diantaranya kolom kromatografi gravitasi, kolom kromatografi vakum, kolom sephadex, dan kromatografi radial.

Kromatografi kolom gravitasi merupakan kromatografi cair yang menggunakan adsorben berupa silika gel atau alumina. Sampel yang akan dipisahkan, dielusi menggunakan pelarut nonpolar dengan gaya gravitasi pada kolom. Gaya gravitasi tersebut yang akan membawa pelarut turun melalui kolom (Ahuja, 2003).

Kromatografi kolom vakum merupakan kromatografi cair yang menggunakan bantuan vakum untuk menggerakkan eluen pada kolom. Diameter kolom yang digunakan pada kromatografi kolom vakum ini memiliki ukuran lebih besar dibandingkan dengan kolom pada kromatografi gravitasi.

Sehingga, jenis kromatografi ini biasa digunakan pada pemisahan senyawa dengan skala besar. Pada kromatografi ini, juga menggunakan silika gel atau alumina sebagai kolom. Selanjutnya, sampel yang akan dielusi diletakkan pada bagian atas. Eluen akan mengelusi kolom dengan dorongan dari vakum (Maurya *et al.*, 2018).

Kromatografi kolom sephadex merupakan pemisahan senyawa yang didasarkan pada berat molekul senyawa. Molekul dengan berat yang lebih besar akan keluar dahulu dikarenakan dengan ukuran tersebut tidak dapat menembus silika gel LH-20 yang digunakan. Sedangkan, molekul yang memiliki berat lebih kecil akan keluar setelahnya (Sumarsih, 2011).

Kromatografi radial atau biasa disebut dengan kromatotron merupakan teknik kromatografi yang menggunakan gerakan sentrifugal untuk memisahkan campuran. Sistem yang digunakan pada kromatotron ini yakni dengan memutar lempengan pendukung yang terdapat silika gel, dan fase gerak atau eluen yang digunakan dialirkan pada kecepatan yang konstan. Sampel yang dielusi oleh eluen, akan terpisah dan terbawa oleh eluen (Agrawal dan Desai, 2015).

Kromatografi Lapis Tipis merupakan jenis kromatografi sederhana yang biasa digunakan untuk uji secara cepat dan sederhana. Kromatografi jenis ini biasa digunakan untuk pedoman dalam berbagai tahap isolasi senyawa pada tanaman karena dapat menunjukkan karakteristik suatu senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Disamping keuntungan waktu yang lebih cepat, kromatografi jenis ini juga lebih peka jika dibandingkan dengan kromatografi lainnya, serta penggunaan pelarut yang bisa bermacam-macam.

2.5. Karakterisasi

2.5.1 Spektroskopi Inframerah

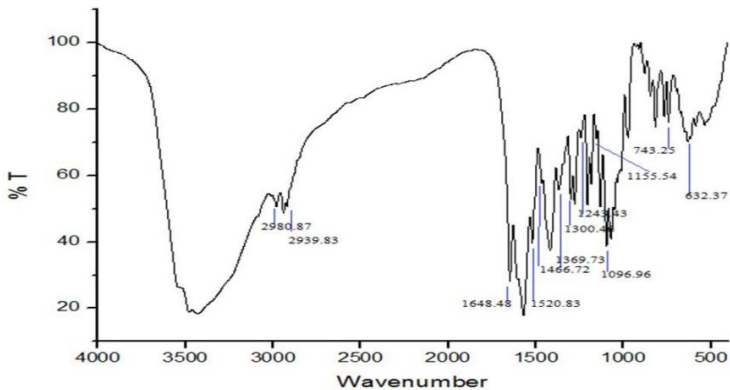
Spektroskopi inframerah atau biasa disebut FTIR merupakan singkatan dari *Fourier Transform Infrared*. Spektroskopi ini digunakan untuk uji kualitatif terhadap ikatan vibrasi antar ikatan. Analisis bergantung pada penyerapan spektra dengan rentang inframerah ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) (Rasyida *et al.*, 2014). Karakteristik dari masing-masing gugus fungsi pada bilangan gelombang infra merah dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Karakteristik Gugus Fungsi pada Bilangan Gelombang Infra Merah

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})
C = C sp^2	1600 – 1700
C – C (aril) sp^2	1450 – 1600
C \equiv C sp	2100 – 2250
C – H sp^3	2800 – 3000
C – H sp^2 (= CH –)	3000 – 3300
C – H sp (\equiv CH)	~3300
O – H atau N – H	3000 – 3700
C – O atau C – N	900 – 1300
Aldehida	1720 – 1740
Keton	1705 – 1750
Asam Karboksilat	1700 – 1725
Ester	1735 – 1750
C = O	1640 – 1820

(*Fessenden dan Fessenden, 1997*)

Pada Gambar 2.2, merupakan contoh spektra dari senyawa turunan flavonoid berupa hesperidin (Bakkialakshmi dan Roy, 2017). Pada spektra tersebut, dapat dilihat bahwa puncak-puncak yang muncul yakni berada pada bilangan gelombang (cm^{-1}) 2980 yang menandakan adanya gugus CH_{sp^3} . Lalu, bilangan gelombang 1648 menunjukkan adanya $\text{C} = \text{C}$ stretching. Dan bilangan gelombang 1520 menunjukkan adanya ikatan gugus $\text{C} = \text{C}$ aromatik.



Gambar 2.2 Spektra IR dari Senyawa Hesperidin

2.5.2 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti

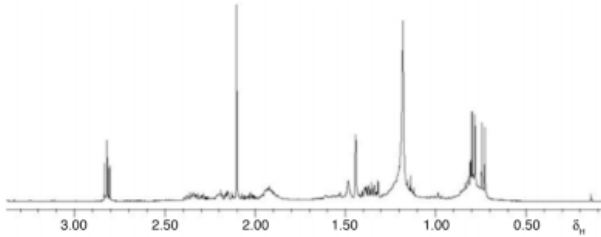
NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) atau resonansi magnetik inti merupakan metode untuk menganalisis struktur dari komponen alam atau sintetik, kemurnian, hingga arah reaksi kimia yang terjadi akibat inti atom bergerak dengan adanya medan magnet yang diberikan. Cara kerjanya yakni sampel yang diujikan, diletakkan dalam tempat bermedan magnet. Ketika inti menyerap energi, maka inti akan

tereksitasi ke tingkat energi yang berbeda. Proses eksitasi inilah yang akan diukur dengan rekaman NMR. Karakteristik berbagai gugus fungsi pada NMR dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Puncak Khas pada NMR

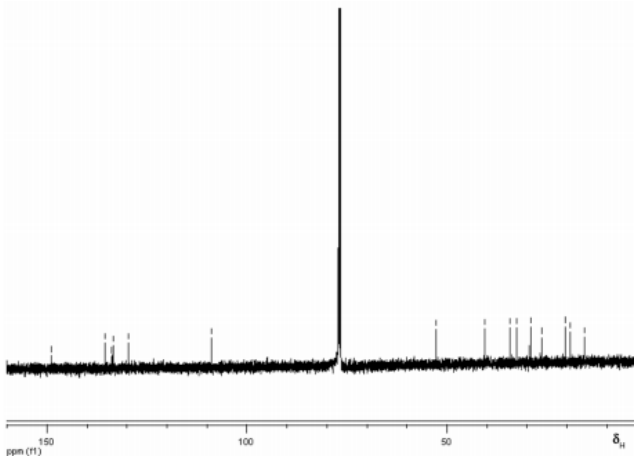
Gugus Fungsi	δ ¹H-NMR (ppm)	δ ¹³C-NMR (ppm)
R – CH ₃	0,9	10 – 20
R ₂ CH ₂	1,3	20 – 30
R ₃ CH	1,5 – 1,6	30 – 50
-C=C-CH ₃	1,7	110 – 140
R – NH ₂	1,0 – 5,0	35 – 45
R – OH	1,0 – 5,5	10 – 50
-CO – CH -	2,0 – 2,7	65 – 85
-CH ₂ – OH	3,4 – 4,0	50 - 65
RCOOCH –	3,7 – 4,1	28 – 32
Olefine (-C=CH-)	4,5 – 6,5	110 – 150
Aromatik	6,0 – 8,5	125 – 170
Aldehid (R-CHO)	9,0 – 10,0	>200
Asam (R – COOH)	10,0 – 14,0	165 - 190

(Balci, 2005)



Gambar 2.3 Spektra $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 25°C) dari senyawa *Germacrene D* pada $\delta\text{H} = 0.0\text{-}3.5$ ppm

Gambar 2.3 menunjukkan δH (500 MHz, CDCl_3) terdapat puncak pada posisi 0,79 dan 0,81 yang merepresentasikan gugus $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ (2 x d, $J=6.5$ Hz), puncak 0,84-0,95 menunjukkan $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ dan $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$ (3H, m). Lalu, puncak pada posisi 1,34 menunjukkan $\text{CH}_3\text{C}=\text{CF}$ (3H, d, $J_{\text{H-F}} = 2,5$). Dan pada puncak 1,76-1,87, 1,97-1,99, 2,05-2,10, 2,18-2,35 dan 2,60-2,74 menunjukkan $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCHCH}_2$ (7H, m) (Cascon *et.al.*, 2012).



Gambar 2.4 Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , 25°C) dari senyawa *Germacrene D*

Selanjutnya, pada Gambar 2.4, terdapat spektra NMR karbon dari senyawa hasil isolasi. Pada gambar tersebut, muncul puncak 15,4 (CH₃) 17,2 (CH₃), 20,4 (CH₃), 27,1 (CH₂), 28,9 (CH₂), 29,4 (CH), 29,5 (CH₂), 30,7 (CH₂), 31 (CH₂) 48,9 (CH), 112,3 (C=CH₂), 115,2 (CH₃C=CF), 128,3 (CH₂=CCH=CH), 138,5 (CH₂=CCH=CH), 148,2 (C=CH₂) (Cascon *et.al.*, 2012).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yakni gelas kimia, gelas ukur, pipet tetes, pipet kapiler, spatula, pinset, *chamber* untuk Kromatografi Lapis Tipis (KLT), *rotary evaporator*, peralatan Kromatografi Cair Vakum (KCV), peralatan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), peralatan kolom sephadex LH-20, neraca analitik dan lampu UV 254 nm dan 366 nm. Alat-alat spektroskopi yang digunakan meliputi spektrofotometer FT-IR 8400S Shimadzu dan spektrofotometer NMR DELTA2 (JEOL, 400 MHz).

3.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yakni daun *Chromolaena odorata* L. (Asteraceae). Daun tanaman tersebut telah diidentifikasi di Laboratorium Biologi Dasar, Universitas Pattimura (Lampiran). Selanjutnya, yakni bahan-bahan berupa pelarut organik termasuk *n*-heksana, diklorometana (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), dan kloroform (CHCl_3). Kemudian, Silika Gel 60 G (Merck-1.07731.1000) untuk kromatografi kolom, silika gel 60 0,063-0,200 mm (Merck-1.07734.1000) untuk kromatografi cair vakum, plat KLT/ silika gel 60F₂₄₅ *aluminium sheets* 20 x 20 cm (Merck-1,05554.0001), kertas saring, plastik *wrap*, aluminium foil, penampak noda pada plat KLT (larutan 1,5% CeSO_4 dalam H_2SO_4).

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1. Fraksinasi

Tabel 3.1 Proses Elusi KCV Pertama, Kedua dan Ketiga pada Ekstrak *C.odorata*

Fraksinasi	Eluen	Perbandingan	Subfraksi Gabungan
1	CH ₂ Cl ₂	100	A (25,6 g)
	EtOAc	100	B (25,5 g)
	MeOH	100	C (11,8 g)
2	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	100:0	A1 (5,5 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	99:1	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	97:3	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	93:7	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	90:10	A2 (5,6 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	75:25	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	50:50	A3 (6,4 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	25:75	A4 (2,0 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	0:100	A5 (2,1 g)
	MeOH	100	
3	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	100:0	A3A (0,3 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	93:7	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	92:8	A3B (0,4 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	91:9	A3C (0,9 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	90:10	A3D (0,9 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	88:12	A3E (1,7 g)
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	86:14	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	84:16	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	82:18	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	80:20	
	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	50:50	A3F

	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	20:80	(3,4 g)
	EtOAc	100	A3G (0,6 g)
	MeOH	100	A3H (1,2 g)

Daun tanaman *C. odorata* diidentifikasi oleh Pamela Papila di Laboratorium Biologi, Universitas Pattimura, Ambon, Indonesia, dengan voucher spesimen nomor 48. Fraksi A3C diperoleh dari fraksi diklorometana sampel daun *C. odorata* penelitian sebelumnya (Putri dan Fatmawati, 2019), yang telah di fraksinasi menggunakan KCV sebanyak 3 kali. Proses elusi KCV menggunakan beberapa jenis eluen, dapat dilihat pada Tabel 3.1 berikut.

Kemudian, fraksi A3C tersebut dilakukan fraksinasi lanjutan menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV), Sephadex LH-20 dan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG). Hasil fraksinasi tersebut ditampung dalam vial serta dimonitoring menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Setelah itu, hasil fraksinasi dikelompokkan berdasarkan profil KLT yang memiliki R_f atau faktor retensi yang sama. Fraksi yang diperoleh selanjutnya di fraksinasi lanjutan hingga terdapat satu noda pada plat KLT. Fraksi tersebut kemudian diuji kemurniannya menggunakan KLT tiga eluen dan 2 dimensi.

Fraksinasi tahap pertama dilakukan pada fraksi A3C. Fraksinasi ini menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) silika gel 60G (60 g). Eluen yang digunakan yakni eluen gradien *n*-Heksana (100%), CH_2Cl_2 (100%), EtOAc (100%) dan MeOH (100%) secara berurutan seperti pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Tahap Fraksinasi A3C

Eluen	Perbandingan	Volume (mL)
<i>n</i> -Heksana	100%	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	95:5	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	90:10	400
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	85:15	400
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	80:20	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	80:20	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	75:25	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	70:30	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	65:35	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	60:40	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	55:45	300
<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	50:50	100
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	80:20	300
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	80:20	100
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	80:20	300
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	75:25	100
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	70:30	300
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	60:40	200
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	50:50	200
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	30:70	200
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	10:90	200
<i>n</i> -Heksana:EtOAc	0:100	200
MeOH	100%	700

Pada tahap fraksinasi kedua, dilakukan menggunakan kolom kromatografi sephadex LH-20 dengan eluen berupa CH₂Cl₂:MeOH (1:1, v/v, 300 mL). Kemudian, tahap fraksinasi

ketiga pada A3C2B dilakukan menggunakan kolom kromatografi sephadex LH-20 dengan eluen berupa $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (1:1, v/v, 250 mL). Laju alir pada sephadex LH-20 yakni 4,3 mL/menit.

Fraaksinasi keempat dilakukan pada fraksi A3C2A. Fraaksinasi ini menggunakan kolom kromatografi gravitasi atau KKG (silika gel 60; 16 g; tinggi 19 cm). Eluen yang digunakan yakni gradien campuran dari *n*-Heksana, EtOAc dan MeOH. Penggunaan eluen pada fraaksinasi keempat ini seperti pada Tabel 3.3. Dan lajur alir yang digunakan pada fraaksinasi ini yakni 6,05 mL/menit.

Tabel 3.3 Tahap Fraaksinasi A3C2A

Eluen	Perbandingan
<i>n</i> -Heksana	100%
<i>n</i> -Heksana: EtOAc	80:20
<i>n</i> -Heksana: EtOAc	60:40
<i>n</i> -Heksana: EtOAc	40:60
<i>n</i> -Heksana: EtOAc	20:80
EtOAc	100%
MeOH	100%

3.2.2. Penentuan Struktur Senyawa

Penentuan struktur senyawa dilakukan melalui karakterisasi fisik dan karakterisasi kimia. Karakterisasi fisik yang dilakukan yakni berupa uji titik leleh menggunakan alat uji titik leleh *Fisher John*. Setelah itu, analisis secara kimia dilakukan menggunakan spektroskopi inframerah dan NMR.

3.2.3.1 Analisis Spektroskopi Inframerah

Analisis spektroskopi menggunakan inframerah atau biasa disebut dengan FTIR dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui gugus fungsi-gugus fungsi yang terdapat pada senyawa yang diuji. Tahap yang dilakukan, yakni mencampurkan sampel dengan padatan KBr hingga terbentuk pellet. Pellet yang telah terbentuk, selanjutnya diletakkan pada *holder*, lalu dimasukkan pada instrumen FTIR. Didapatkan spektra dengan peak-peak yang muncul pada posisi spesifik yang menandakan gugus fungsi tertentu.

3.2.3.2 Analisis Spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*)

Analisis spektroskopi NMR dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jumlah proton ($^1\text{H-NMR}$) dan jumlah karbon ($^{13}\text{C-NMR}$) yang terdapat dalam sampel. Untuk tahapnya yakni sampel dilarutkan dalam CDCl_3 . Larutan sampel selanjutnya dimasukkan kedalam wadah khusus pengujian NMR, lalu di analisis menggunakan instrumen NMR. Puncak-puncak akan didapatkan pada posisi spesifik yang menunjukkan jumlah dan jenis proton ataupun karbon. Korelasi antara karbon dan proton pada senyawa, dapat diketahui melalui analisis HMBC dan HMQC.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi dan Pemurnian Senyawa

Terdapat 4 fraksi (A3A, A3B, A3C, A3D) yang didapatkan dari ekstrak CH_2Cl_2 sampel daun *C. odorata* penelitian sebelumnya (Putri dan Fatmawati, 2019). Dilakukan monitoring menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui distribusi senyawa yang terdapat pada masing-masing fraksi. Hasil KLT pada keempat fraksi tersebut seperti pada Gambar 4.1.



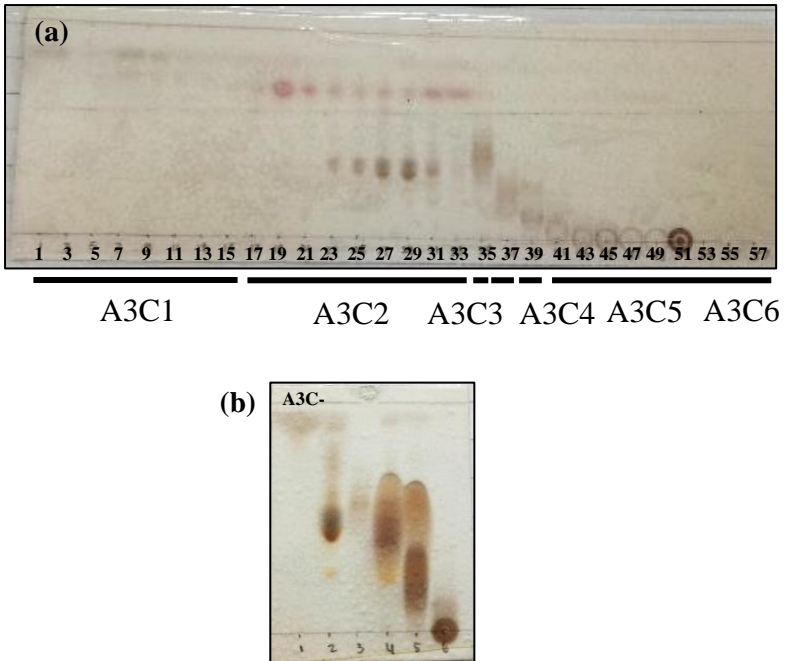
Gambar 4.1 Hasil pemantauan KLT fraksi A3A, A3B, A3C, A3D dengan eluen EtOAc : *n*-Heksana (20:80)

Seperti pada Gambar 4.1, fraksi A3C dan A3D memiliki distribusi senyawa yang hampir sama. Kedua fraksi ini digabungkan menjadi fraksi A3C (1,98 g). Dilakukan pemantauan KLT kembali pada fraksi A3C yang baru seperti pada Gambar 4.2. Fraksi A3C tersebut memiliki noda R_f yang lebih kompleks dibandingkan dengan fraksi A3A ataupun A3B, sehingga dipilih fraksi A3C untuk diuji lebih lanjut.



Gambar 4.2 Hasil pemantauan KLT gabungan fraksi A3C dan A3D menjadi A3C dengan eluen EtOAc : *n*-Heksana (20:80).

Tahap pertama yang dilakukan pada fraksi A3C tersebut yakni fraksinasi lanjutan. Fraksinasi lanjutan ini menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) karena pada tahap pertama dalam pemisahan masih terdapat banyak senyawa didalamnya atau biasa disebut sebagai *crude separation*. Pada tahap ini, sampel yang digunakan dalam jumlah yang besar. Berdasarkan penelitian sebelumnya, KCV baik digunakan saat pemisahan senyawa yang masih tercampur dalam jumlah besar (Maurya *et.al.*, 2018). Hasil dari fraksinasi pertama ini adalah 6 fraksi baru (1 – 6) seperti pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.3.



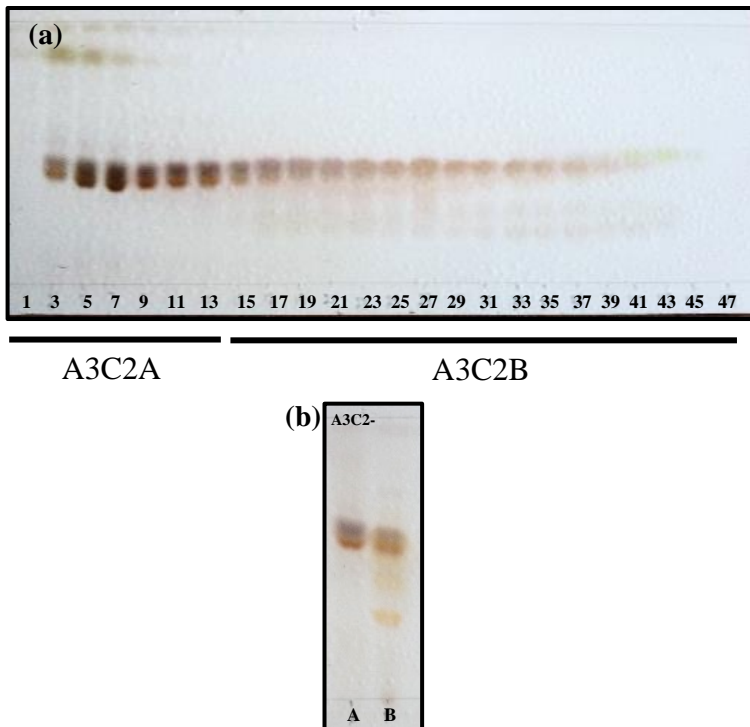
Gambar 4.3 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C; (a) subfraksi (1 – 57); (b) subfraksi gabungan (A3C1 – A3C6) dengan eluen *n*-Heksana:EtOAc (80:20).

Pada tahap fraksinasi kedua, subfraksi hasil fraksinasi pertama yang digunakan adalah A3C2 (0,52 g). Pemilihan fraksi ini dikarenakan memiliki noda yang tersisa dibagian atas dan dibagian bawah sudah cukup bersih. Massa sampel yang cukup besar dibandingkan dengan fraksi lainnya menjadi potensi dilakukan fraksinasi lanjutan. Fraksinasi lanjutan dilakukan menggunakan kolom kromatografi *lipophilic sephadex* atau biasa disebut sebagai Sephadex LH-20.

Tabel 4.1 Tahap Fraksinasi A3C

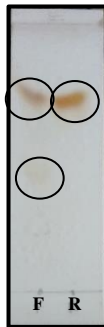
Subfraksi ke-	Eluen	Perbandingan	Subfraksi Gabungan
1 – 3	<i>n</i> -Heksana	100%	
4 – 6	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	95:5	A3C1 (0,24 g)
7 – 10	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	90:10	
11 – 14	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	85:15	
15 – 16	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	80:20	
17	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	80:20	
18 – 20	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	75:25	
21 – 23	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	70:30	
24 – 26	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	65:35	A3C2 (0,52 g)
27 – 29	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	60:40	
30 – 32	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	55:45	
33	<i>n</i> -Heksana: CH ₂ Cl ₂	50:50	
34	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	80:20	
35	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	80:20	A3C3 (0,12 g)
36	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	80:20	A3C4
37	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	75:25	(0,06 g)
38 – 40	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	70:30	A3C5 (0,09 g)
41 – 42	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	60:40	
43 – 44	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	50:50	
45 – 46	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	30:70	A3C6 (0,82 g)
47 – 48	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	10:90	
49 – 50	<i>n</i> -Heksana:EtOAc	0:100	
51 – 57	MeOH	100%	

Kolom kromatografi jenis Sephadex LH-20, merupakan kolom kromatografi yang melakukan pemisahan berdasarkan ukuran molekul (Murphy, 1975). Kromatografi ini baik digunakan untuk pemisahan senyawa yang berukuran besar dari senyawa yang berukuran lebih kecil. Berdasarkan fungsi tersebut, pada tahap fraksinasi kedua ini digunakan kromatografi Sephadex LH-20.



Gambar 4.4 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C2; (a) subfraksi (1 – 47); (b) subfraksi gabungan (A3C2A – A3C2B) dengan eluen *n*-Heksana:EtOAc (80:20).

Pemisahan yang dilakukan sebelumnya berdasarkan polaritas, selanjutnya pemisahan tahap ini dilakukan untuk memisahkan senyawa berukuran besar dari yang lebih kecil. Pada tahap ini, didapatkan 47 subfraksi yang selanjutnya digabungkan berdasarkan pola noda pada KLT. Hasil penggabungan didapatkan 2 fraksi gabungan (A3C2A – A3C2B). Hasil KLT subfraksi dan fraksi gabungan seperti pada Gambar 4.4.

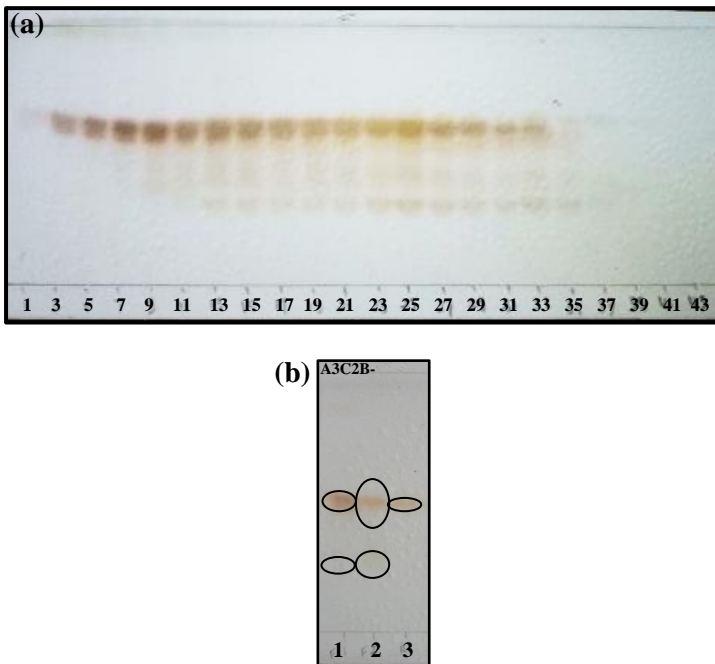


Gambar 4.5 Hasil pemantauan KLT filtrat dan residu (F = Filtrat dan R = Residu)

Fraaksinasi lanjutan dilakukan pada subfraksi yang memiliki potensi pemisahan berdasarkan pemantauan KLT yaitu fraksi A3C2B (0,1989 g). Teknik pemisahan yang dilakukan pada tahap ini menggunakan kolom kromatografi sephadex LH-20 dengan eluen berupa CH_2Cl_2 :MeOH (1:1, v/v, 250 mL). Diperoleh 44 subfraksi, yang kemudian digabungkan berdasarkan noda pemisahan pada KLT yang sama. Pada subfraksi 3 – 33, terbentuk kristal berwarna *orange* yang mengendap setelah 12 jam didiamkan pada suhu ruang. Dilakukan pengujian KLT setelah itu untuk

memastikan perbedaan pola noda pada residu dan filtrat sehingga keduanya dapat dipisahkan (Gambar 4.5).

Dengan memiliki pola noda yang berbeda antara residu dan filtrat, maka dilakukan pemisahan menggunakan cara dekantasi. Fraksi gabungan yang diperoleh berdasarkan persamaan pola noda KLT, berjumlah 3 fraksi (A3C2B1 – A3C2B3). Hasil KLT subfraksi dan fraksi gabungan dapat dilihat pada Gambar 4.6.



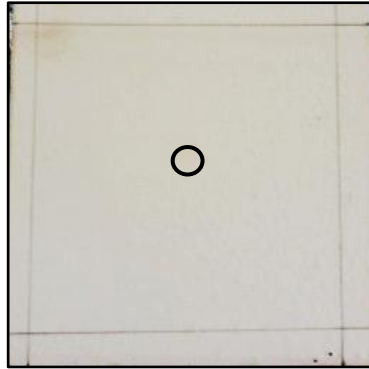
Gambar 4.6 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C2B; (a) subfraksi (1 – 44); (b) subfraksi gabungan (A3C2B1 – A3C2B3) dengan eluen *n*-Heksana:EtOAc (80:20).

Berdasarkan KLT fraksi gabungan, fraksi A3C2B3 memiliki noda tunggal berwarna kuning. Dilakukan beberapa uji kemurnian untuk validasi kemurnian senyawa tersebut. Pengujian kemurnian yang dilakukan adalah pengujian 3 eluen, pengujian KLT 2 dimensi, dan pengujian titik leleh. Pengujian 3 jenis eluen untuk fraksi ini, menggunakan 3 jenis campuran eluen seperti pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Pengujian 3 Eluen Fraksi A3C2B3

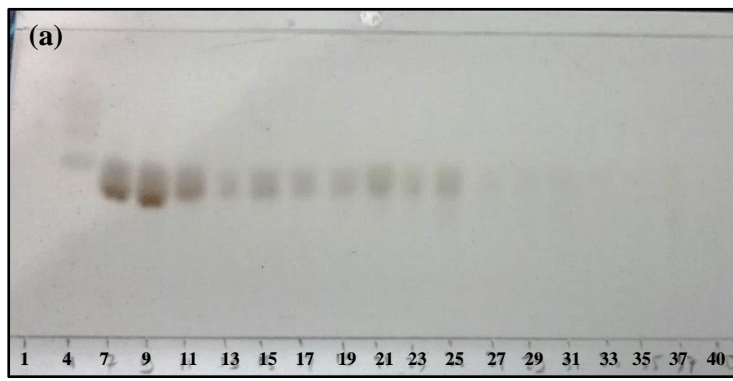
Eluen	R_f
CH ₂ Cl ₂ 100%	0,73
EtOAc : <i>n</i> -Heksana = 2 : 8	0,5
CH ₂ Cl ₂ : <i>n</i> -Heksana = 3 : 7	0,12

Setelah dilakukan pengujian 3 eluen, didapatkan hasil satu noda pada plat KLT dengan posisi jarak yang berbeda. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi ini merupakan senyawa murni. Dilakukan pengujian KLT 2 dimensi menggunakan 2 jenis eluen yang berbeda untuk membuktikan dugaan kemurnian senyawa tersebut. Eluen yang digunakan adalah EtOAc : *n*-Heksana = 2 : 8 dan CH₂Cl₂ : *n*-Heksana = 3 : 7. Seperti yang terlihat pada Gambar 4.7 bahwa hanya terdapat 1 noda, sehingga dari hasil tersebut didapatkan senyawa pertama (S₁) yang selanjutnya dikarakterisasi.



Gambar 4.7 Hasil pemantauan KLT 2D pada fraksi A3C2B3

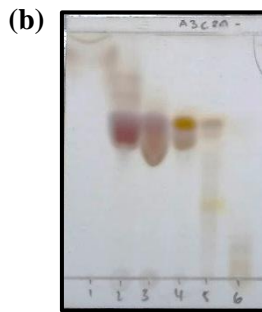
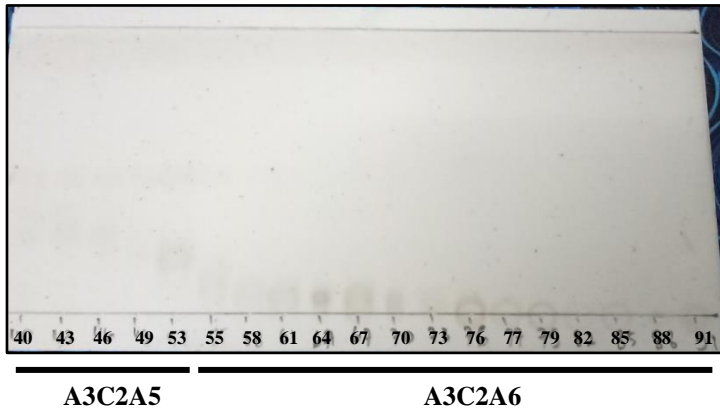
Fraaksinasi dilanjutkan pada fraksi A3C2A (0,31 g). Fraaksinasi menggunakan kolom kromatografi gravitasi atau KKG karena sampel memiliki pola lebih sederhana dibandingkan sampel awal. Eluen yang digunakan yakni gradien campuran dari *n*-Heksana, EtOAc dan MeOH. Pemilihan eluen tersebut yakni didasarkan pada munculnya beberapa noda dengan R_f yang berbeda ketika menggunakan eluen tersebut.



A3C2A1 A3C2A1 A3C2A3

A3C2A4

A3C2A5



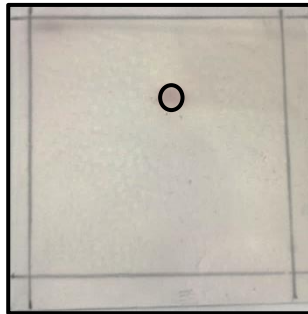
Gambar 4.8 Hasil pemantauan KLT pada fraksinasi lanjutan A3C2A; (a) subfraksi (1 – 99); (b) subfraksi gabungan (A3C2A1 – A3C2A6) dengan eluen *n*-Heksana:EtOAc (80:20).

Fraksinasi ini menghasilkan 99 subfraksi. Kemudian, dilakukan pengujian KLT untuk mengetahui pola noda yang sama pada subfraksi-subfraksi tersebut. Dari fraksinasi ini, didapatkan 6 fraksi gabungan (1 – 6) seperti pada Gambar 4.8. Hasil fraksi gabungan pada Gambar 4.8, didapatkan satu noda pada fraksi A3C2A1 (0,14 g) yang berwujud minyak atau

oily. Fraksi ini selanjutnya diuji menggunakan pengujian 3 eluen dan pengujian KLT 2 dimensi. Pengujian 3 jenis eluen untuk fraksi ini, menggunakan 3 jenis campuran eluen seperti pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Pengujian 3 Eluen Fraksi A3C2A1

Eluen	R _f
EtOAc : <i>n</i> -Heksana = 1 : 9	0,71
CH ₂ Cl ₂ : <i>n</i> -Heksana = 1 : 1	0,48
CDCl ₃ : <i>n</i> -Heksana = 3 : 7	0,23



Gambar 4.9. Hasil pemantauan KLT 2D pada fraksi A3C2A1

Noda tunggal berhasil didapatkan pada 3 jenis eluen yang digunakan. Hasil tersebut membuktikan bahwa fraksi tersebut merupakan senyawa murni. Pengujian KLT 2 dimensi dilakukan menggunakan 2 jenis eluen yang berbeda. Eluen yang digunakan adalah CH₂Cl₂ : *n*-Heksana = 1 : 1 dan EtOAc : *n*-Heksana = 1 : 9. Hasil yang didapatkan dari pengujian 2 dimensi tersebut yakni terdapat 1 noda tunggal di area tengah KLT. Dari hasil tersebut didapatkan senyawa kedua (S₂) yang selanjutnya dikarakterisasi.

4.2. Karakterisasi dan Penentuan Struktur Senyawa

Struktur molekul dari senyawa yang telah didapatkan (S_1 , S_2 , dan S_3) dianalisis lebih lanjut. Karakterisasi dilakukan menggunakan spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared Resonance*), NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR, lalu HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) dan HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*).

4.2.1 Senyawa S_1

Senyawa pertama yang didapatkan yakni S_1 yang memiliki massa 6,1 mg dengan bentuk jarum padat berwarna *orange*. Titik leleh senyawa ini yakni berada pada temperatur 136 - 137°C. Karakterisasi pertama dilakukan menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa. Bilangan gelombang maksimum yang muncul pada spektra yang dihasilkan yakni berada pada bilangan gelombang (cm^{-1}) : 3446, 2929, 1626, 1510. Bilangan gelombang 3446 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus hidroksil dan 2929 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C – H sp^3 . Data gugus fungsi tersebut selanjutnya disinkronkan dengan data ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR yang ada pada data Tabel 4.4.

Pada Tabel 4.5 tersebut, terdapat puncak-puncak yang muncul pada pergeseran kimia tertentu yang berjumlah 20 proton dan 19 karbon. Pada ^1H -NMR, terdapat satu puncak *singlet* yang muncul pada posisi 13,77 ppm menunjukkan adanya gugus hidroksil pada senyawa tersebut. Pada pergeseran kimia 3,83 ppm, 3,85 ppm, 3,89 ppm, dan 3,92 ppm yang masing-masing terdapat puncak *singlet*. Keempat puncak tersebut menunjukkan adanya 12 proton yang ada pada 4 gugus metoksi. Terdapat puncak *doublet* pada

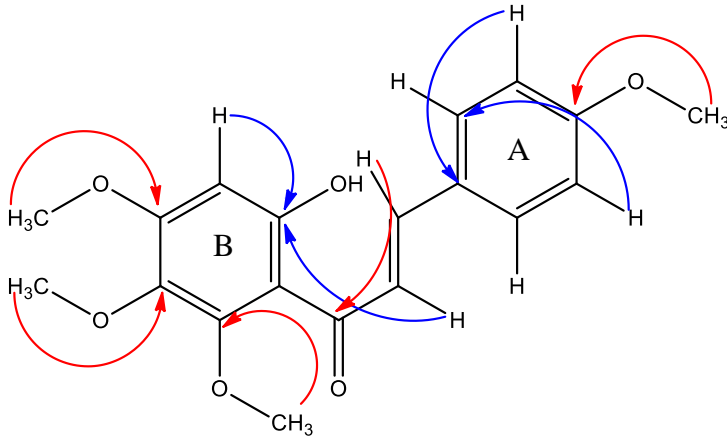
pergeseran kimia 7,6 ppm ($J = 6$ Hz) dan 6,29 ppm ($J = 6$ Hz). Puncak tersebut menunjukkan adanya proton saling mengkopling yang menjadi ciri proton aromatik pada cincin pertama. Terdapat pula puncak *singlet* yang muncul pada posisi pergeseran kimia 6,93 ppm yang menunjukkan proton aromatik pada cincin kedua.

Tabel 4.4 Data $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, dan Korelasi HMBC S_1

Posisi	δ $^{13}\text{C-NMR}$ (ppm)	δ $^1\text{H-NMR}$ (ppm)	HMBC
1	162,718	-	-
2	108,858	7,6 (d, $J=6$ Hz, 2H)	-
3	96,672	6,29 (d, $J=6$ Hz, 2H)	C-1
4	161,641	-	-
4-OMe	55,521	3,85 (s, 3H)	C-4
5	135,374	6,29 (d, $J=6$ Hz, 2H)	C-2
6	162,710	7,6 (d, $J=6$ Hz, 2H)	-
1'	114,51	-	-
2'	128,175	-	-
2'-OH	-	13,77 (s, 1H)	-
3'	106,443	6,93 (s, 1H)	C-2'
4'	130,399	-	-
4'-OMe	62,033	3,83 (s, 3H)	C-4'
5'	160,030	-	-
5'-OMe	56,198	3,89 (s, 3H)	C-5'
6'	155,08	-	-
6'-OMe	61,414	3,92 (s, 3H)	C-6'
α	124,094	7,84 (s, $J=4$ Hz, 2H)	C-2'
β	143,516	7,84 (s, $J=4$ Hz, 2H)	C=O
C=O	192,943	-	-

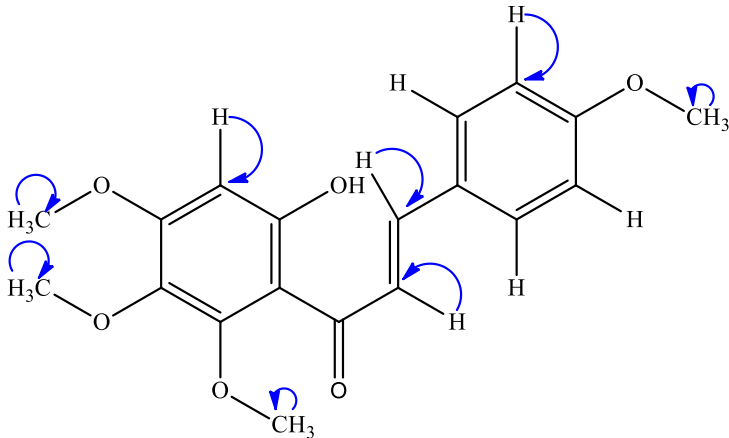
Penentuan struktur kimia dari senyawa ini diperkuat dengan data ^{13}C -NMR. Berdasarkan data tersebut, terdapat 19 karbon pada senyawa yang diujikan. Pada pergeseran kimia 192,94 ppm menunjukkan adanya gugus karbonil. Terdapat puncak-puncak lain yang menunjukkan adanya karbon aromatik pada pergeseran kimia 96,672 ppm, 108,858 ppm, 114,51 ppm, 124,094 ppm, 128,175 ppm, 130,399 ppm, dan 143,516 ppm. Pada pergeseran kimia 160,030 ppm dan 162,710 ppm menunjukkan adanya gugus alkena yang terkonjugasi. Puncak-puncak yang muncul pada pergeseran kimia 55,521 ppm, 56,198 ppm, 61,414 ppm, dan 62,033 ppm menunjukkan karbon pada gugus metoksi.

Dilakukan analisis selanjutnya mengenai struktur menggunakan HMBC dan HMQC. Dapat diketahui bahwa terdapat 9 korelasi antara proton dan karbon jarak terdekat berdasarkan data HMBC yang didapatkan. Pada korelasi HMBC yang didapatkan, diketahui bahwa proton pada metoksi dengan δ 3,83 ppm memiliki korelasi dengan karbon pada δ 135,374 ppm. Begitu pula, proton δ 3,85 ppm berkorelasi dengan karbon δ 161,641 ppm, lalu proton δ 3,89 ppm berkorelasi dengan karbon δ 160,030 ppm, dan proton δ 3,92 ppm berkorelasi dengan karbon δ 155,08 ppm. Korelasi tersebut menunjukkan adanya 3 gugus metoksi yang terletak pada cincin B (δ 3,83/135,374 ppm; 3,89/160,030 ppm; 3,92/155,08 ppm). Dan satu gugus metoksi yang terletak pada cincin A (δ 3,85/161,641 ppm). Interpretasi dari korelasi HMBC dapat dilihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Korelasi HMBC pada Senyawa S₁

Analisis HMQC dilakukan sebagai penentuan struktur molekul yang lebih lanjut terhadap karbon dan proton yang berikatan. Hasil dari korelasi HMQC, menunjukkan adanya 8 korelasi antara proton dan karbon yang berikatan secara langsung. Berdasarkan data korelasi HMQC tersebut, proton metoksi 3,83; 3,85; 3,89; ataupun 3,92 ppm tidak berikatan langsung pada karbon posisi 135,374 ppm; 161,641 ppm; 160,030 ppm; ataupun 155,08 ppm, namun proton metoksi tersebut secara berurutan berikatan langsung dengan karbon pada pergeseran kimia 61,414 ppm, 55,521 ppm, 56,198 ppm, dan 61,414 ppm. Interpretasi dari korelasi HMQC dapat dilihat pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Korelasi HMQC pada Senyawa S_1

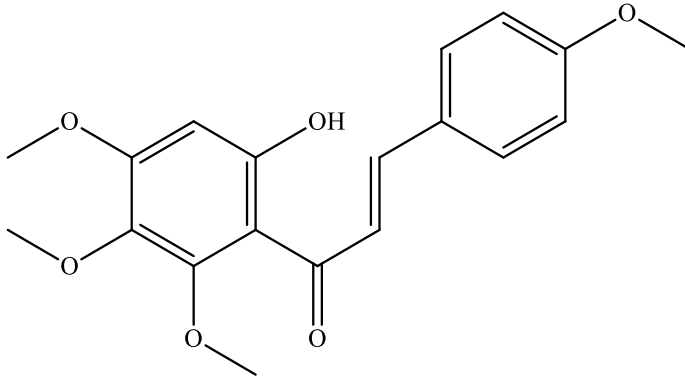
Berdasarkan interpretasi tersebut, senyawa S_2 merupakan senyawa odoratin atau 2'-hidroksi-4,4',5',6'-tetrametoksikalkon. Senyawa tersebut telah pernah diisolasi oleh Bose *et al.* (1973). Perbandingan data $^1\text{H-NMR}$ antara senyawa S_1 dengan senyawa odoratin dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Data spektra NMR keduanya memiliki kesamaan dalam pergeseran kimia dan multiplisitasnya seperti pada Tabel 4.5. Pergeseran kimia yang muncul pada posisi metoksi senyawa S_1 (3,83 ppm, 3,85 ppm, 3,89 ppm, dan 3,92 ppm) sama dengan pergeseran kimia metoksi pada odoratin (3,82 ppm, 3,85 ppm, 3,9 ppm, dan 3,93 ppm). Selain itu, puncak yang menunjukkan proton *trans-olefinic* menunjukkan posisi dan multiplisitas yang sama yaitu 2,848 ppm (s, 2H). dari perbandingan tersebut, dipastikan bahwa senyawa S_1 merupakan senyawa odoratin yang sudah pernah diisolasi oleh

Bose *et al.* (1973). Struktur kimia senyawa S₁ ini yakni seperti pada Gambar 4.12.

Tabel 4.5 Perbandingan Data ¹H-NMR S₁ dengan ¹H-NMR Odoratin

Posisi	δ ¹ H-NMR (ppm)	
	S ₁	Odoratin
1	-	-
2	7,6 (d, <i>J</i> =6 Hz, 2H)	7,59 (d, <i>J</i> =9 Hz, 2H)
3	6,29 (d, <i>J</i> =6 Hz, 2H)	6,86 (d, <i>J</i> =9 Hz, 2H)
4	-	-
4-OMe	3,85 (s, 3H)	3,82 (s, 3H)
5	6,29 (d, <i>J</i> =6 Hz, 2H)	6,86 (d, <i>J</i> =9 Hz, 2H)
6	7,6 (d, <i>J</i> =6 Hz, 2H)	7,59 (d, <i>J</i> =9 Hz, 2H)
1'	-	-
2'	-	-
2'-OH	13,77 (s, 1H)	13,5 (s, 1H)
3'	6,93 (s, 1H)	6,27 (s, 1H)
4'	-	-
4'-OMe	3,83 (s, 3H)	3,85 (s, 3H)
5'	-	-
5'-OMe	3,89 (s, 3H)	3,9 (s, 3H)
6'	-	-
6'-OMe	3,92 (s, 3H)	3,93 (s, 3H)
α	7,848 (s, <i>J</i> =4 Hz, 2H)	7,848 (s, <i>J</i> =4 Hz, 2H)
β	7,84 (s, <i>J</i> =4 Hz, 2H)	7,848 (s, <i>J</i> =4 Hz, 2H)
C=O	-	-



Gambar 4.12 Struktur Kimia Senyawa S₁ (Odoratin)

Senyawa odoratin telah diteliti berkaitan dengan beberapa biaktivitasnya. Berdasarkan penelitian sebelumnya, odoratin memiliki potensi sebagai antibakteri *S. aureus* dan *B. subtilis* (Costa *et al.*, 2016). Selain itu, odoratin memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi yang diujikan menggunakan metode inhibisi lipopolisakarida (LPS) dan interferon (IFN)- γ (Rao *et.al.*, 2005).

4.2.2 Senyawa S₂

Setelah didapatkan senyawa S₁, selanjutnya didapatkan senyawa S₂. Senyawa kedua ini memiliki massa 140,7 mg dengan minyak atau *oily*. Dilakukan beberapa karakterisasi untuk mengetahui struktur dari senyawa S₂ ini. Karakterisasi pertama yakni untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa menggunakan spektrofotometer FTIR. Bilangan gelombang maksimum yang muncul pada spektra yang dihasilkan yakni berada pada bilangan gelombang (cm⁻¹) : 3443, 2958, 2856, 1629. Bilangan

gelombang 3443 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus hidroksil. Bilangan gelombang 2929 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C – H sp^3 . Pada panjang gelombang 1629 cm^{-1} menunjukkan adanya C=C sp^2 . Pengujian menggunakan $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ seperti pada Tabel 4.6 dilakukan untuk menganalisis lebih dalam terkait struktur senyawa ini.

Hasil karakterisasi NMR tersebut menunjukkan bahwa terdapat 21 karbon dan 32 proton. Pada $^1\text{H-NMR}$, terdapat puncak *doublet of doublet* yang muncul pada posisi 7,6 ppm ($J=3,2\text{ Hz}$). Puncak tersebut menunjukkan adanya proton yang saling mengopling yang menjadi khas dari proton aromatik. Terdapat pula puncak *singlet* yang muncul pada posisi 1,57 ppm dengan tanpa berikatan dengan C. Puncak tersebut menunjukkan adanya gugus hidroksil pada senyawa, dan diperkuat dengan adanya karakterisasi FTIR yang terdapat gugus hidroksil. Spektra hasil $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$, memiliki pola spektra yang berbeda dengan senyawa S_1 . Dari spektra $^1\text{H-NMR}$, dapat diketahui bahwa terdapat banyak gugus metil yang ditandai dengan adanya puncak yang muncul pada posisi 0,82 – 1,24 ppm.

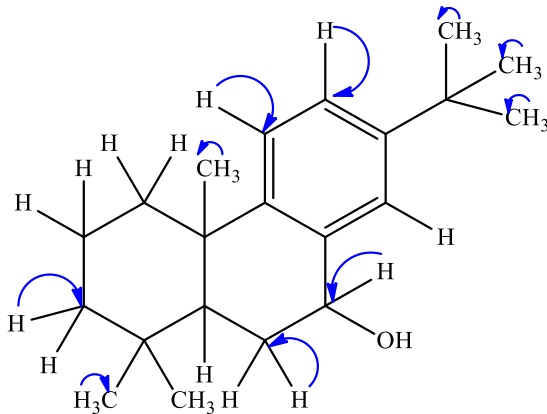
Sejumlah 21 puncak terdapat pada spektra $^{13}\text{C-NMR}$, yang menunjukkan adanya 21 karbon terdapat pada senyawa S_2 . Pada pergeseran kimia 128,88 ppm, 130,968 ppm, 132,532 ppm, dan 167,848 ppm menunjukkan karbon tipe aromatik yang mendukung hasil $^1\text{H-NMR}$ bahwa pada senyawa ini terdapat gugus aromatik. Selain itu, terdapat pula beberapa karbon metil yang terdeteksi, termasuk diantaranya pada pergeseran kimia 11,04 ppm dan 14,141 ppm.

Tabel 4.6 Data $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ Senyawa S_2

Posisi	δ $^{13}\text{C-NMR}$ (ppm)	δ $^1\text{H-NMR}$ (ppm)	HMBC
1	30,274	1,31 (m, 2H)	C-7
2	22,779	1,31 (m, 2H)	C-10
3	30,131	1,31 (m, 2H)	C-20
4	32,018	-	-
5	14,208	1,383 (s, br, 1H)	C-1, C-20, C-7
6	27,175	1,31 (m, 2H)	-
7	68,24	4,208 (m, 1H)	C-10, C-1, C-21, C-9
7-OH	-	1,57 (s, br, 1H)	-
8	132,532	-	-
9	167,848	-	-
10	23,075	-	-
11	130,968	7,6 (dd, J=3,2 Hz, 1H)	C-9, C-12
12	128,88	7,6 (dd, J=3,2 Hz, 1H)	C-11
13	37,186	-	-
14	128,79	7,6 (dd, J=3,2 Hz, 1H)	C-8
15	23,828	-	-
16	29,787	1,24 (s, 3H)	-
17	11,04	0,9 (s, 3H)	C-15
18	14,141	0,82 (d, J=2,4 Hz, 3H)	C-13
19	29,026	1,24 (s, 3H)	-
20	30,445	1,24 (s, 3H)	C-2
21	38,807	1,674 (m)	C-7

Analisis selanjutnya dilakukan terhadap ikatan antara karbon dan proton menggunakan HMBC dan HMQC.

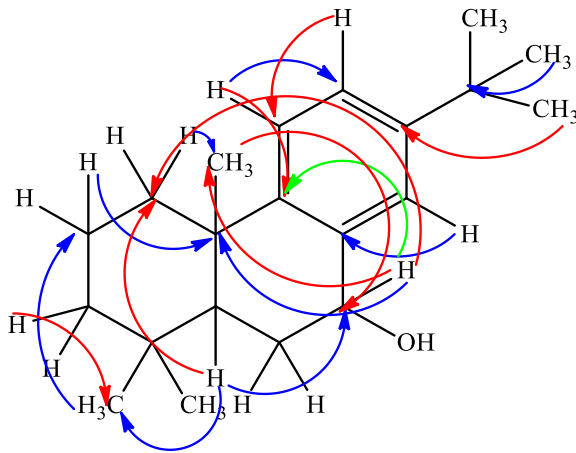
Terdapat 10 korelasi antara proton dan karbon yang langsung berikatan satu sama lain. Berdasarkan spektra HMQC tersebut, didapatkan adanya korelasi antara proton *double bond* 7,6 ppm dengan beberapa atom karbon yang berada di posisi 128,88 ppm dan 130,968 ppm. Ini menunjukkan bahwa C dan H pada posisi pergeseran kimia tersebut berikatan secara langsung. Terdapat korelasi antara C dan H secara langsung pada posisi karbon 11,042 ppm, 14,141 ppm, 22,779 ppm, 29,787 ppm, dan 30,131 ppm. Posisi karbon tersebut berikatan langsung dengan proton yang berada pada posisi 0,9 ppm, 0,82 ppm, 1,24 ppm, dan 1,31 ppm



Gambar 4.13 Korelasi HMQC Senyawa S₂

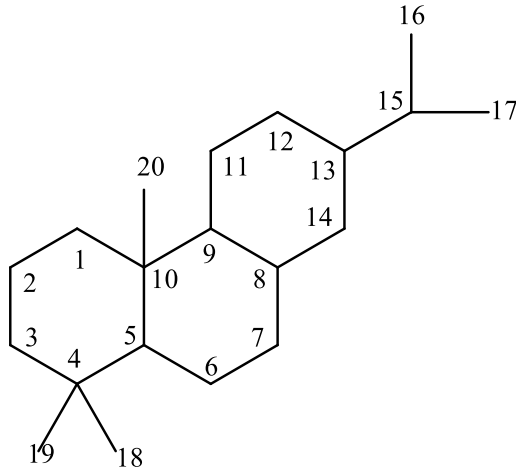
Analisis dilakukan terhadap ikatan antara karbon dan proton yang berada pada jarak terdekat (2-4 ikatan). Terdapat 18 korelasi antara proton dan karbon yang berada pada jarak terdekat. Proton *double bond* (7,71 ppm) memiliki korelasi dengan beberapa atom karbonnya. Karbon yang berkorelasi yakni karbon pada pergeseran kimia 132,532 ppm, 128,88

ppm, 167,848 ppm. Didekat aromatik, terdapat korelasi dengan metil (δ 0,9/23,828 ppm) dan (δ 0,82/37,186 ppm). Sehingga, meyakinkan bahwa gugus-gugus metil tersebut berada di dekat gugus aromatik. Interpretasi dari korelasi HMBC dan HMQC dapat dilihat pada 4.13 dan Gambar 4.14. Spektrum dari HMBC dan HMQC dapat dilihat pada Lampiran.



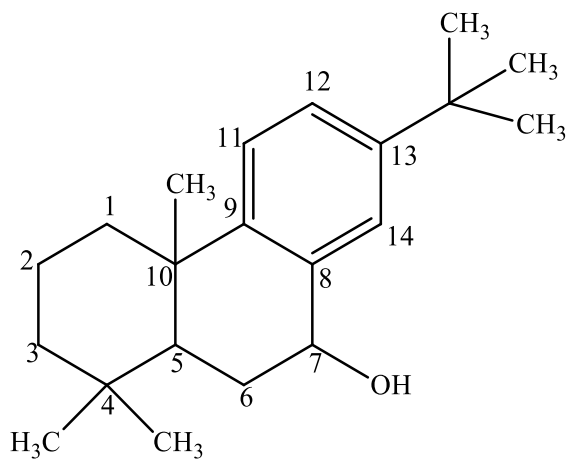
Gambar 4.14 Korelasi HMBC Senyawa S₂

Berdasarkan hasil interpretasi tersebut, senyawa S₂ memiliki struktur turunan *abietane*-diterpenoid. *Abietane* merupakan salah satu kelas senyawa terpenoid dengan struktur dasar seperti pada Gambar 4.15. Senyawa jenis *abietane*-diterpenoid ini umumnya menjadi penyusun pada asam resin dan banyak terdapat pada tanaman jenis kayu. Senyawa jenis ini memiliki potensi sebagai antioksidan, antitoksik, antitumor, antijamur, antiinflamasi, dan beberapa aktivitas lainnya (Koutsaviti *et al.*, 2017).



Gambar 4.15 Struktur Dasar *Abietane*

Struktur senyawa S_2 seperti pada Gambar 4.16 berhasil didapatkan setelah disesuaikan antara spektra NMR senyawa S_2 dengan NMR dari senyawa turunan *abietane*-diterpenoid yang mendekati. Terdapat 1 cincin aromatik dan 1 gugus hidroksil pada senyawa tersebut. Selain itu, terdapat 3 gugus metil dan 1 tersier-butil yang berikatan dengan cincin aromatik. Sehingga, nama yang diberikan pada senyawa ini adalah 7-hidroksi-13-(ters)butil-4,4,10-trimetilabieta-8,11,13-trien.

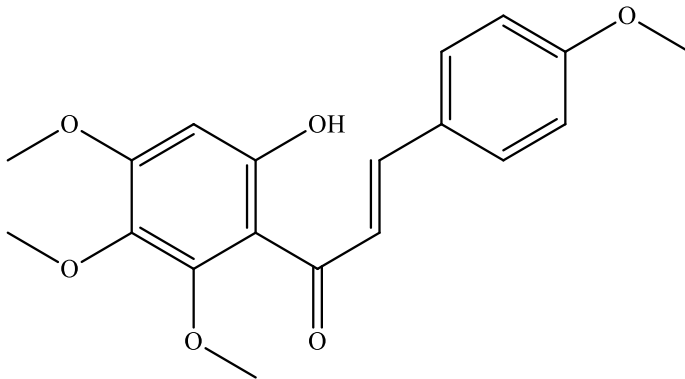


Gambar 4.16 Struktur Senyawa S₂

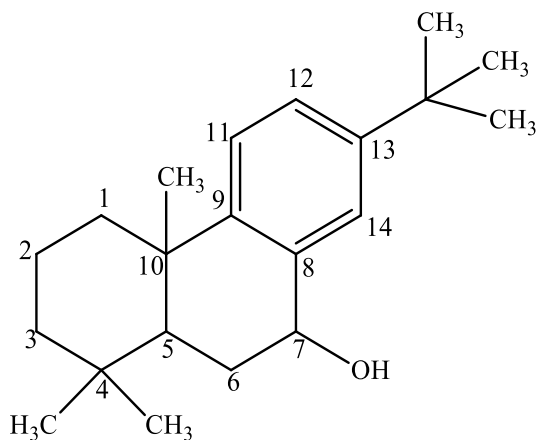
BAB V PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Pada penelitian ini telah berhasil didapatkan dan dilakukan penentuan struktur dua senyawa metabolit sekunder dari daun tanaman *C. odorata*. Senyawa pertama merupakan senyawa kelompok kalkon-flavonoid yang telah ditemukan sebelumnya, bernama odoratin atau 2'-hidroksi-4,4',5',6'-tetrametoksi kalkon (**21**) (6,1 mg). Senyawa kedua merupakan senyawa kelompok *abietane*-diterpenoid yang belum pernah ditemukan. Nama dari senyawa ini yaitu 7-hidroksi-13-(ters)butil-4,4,10-trimetilabieta-8,11,13-trien (**26**) (140,1 mg).



(21)



(26)

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai bioaktivitas dari senyawa (21) dan senyawa baru (26) tersebut. Serta, masih terdapat potensi peluang senyawa-senyawa yang mampu diisolasi dari daun tanaman *C. odorata*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidjan. 1996. *Proceedings Of The Tinrd International Workshop On Biological Control And Management Of Chromolaena Odorata*. USA : Agricultural Experiment Station.
- Agrawal, V. dan Desai, S. 2015. Centrifugally accelerated thin layer chromatography for isolation of marker compounds and bioactives. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(6): 145-149.
- Ahuja, S. 2003. *Chromatography and Separation Science : Volume 4 Separation Science and Technology*. USA : Academic Press.
- ASEAN Herbal and Medicinal Plants. 2010. *ASEAN Herbal and Medicinal Plants*. Jakarta : The ASEAN Secretariat.
- Bakkialakshmi, S. dan Roy, J. 2017. Infrared Spectrum Analysis Of Some Flavonoids With Hemoglobin. *International Journal of Applied and Advanced Scientific Research*. 2(2) : 107-110.
- Balci, M. 2005. *Basic 1H- and 13C-NMR Spectroscopy*. Netherland : Elsevier.
- Bose, P.K., Chakrabarti, P., Chakravarti, S., Duttta, S.P., Barua, A.K. 1973. Flavonoid Constituents Of Eupatorium Odoratum. *Phytochemistry*. 12 : 667-668.
- Cascon, O., Touchet, S., Miller, D.J., Gonzalez, V., Faraldos, J.A., Allemann, R.K. 2012. Chemoenzymatic preparation of germacrene analogues. *Royal Society of Chemistry*. 1-51.
- Costa, G.M., Endo, E.H., Cortez, D.A.G., Nakamura, T.U., Nakamura, C.V., Dias Filho, B.P. 2016.

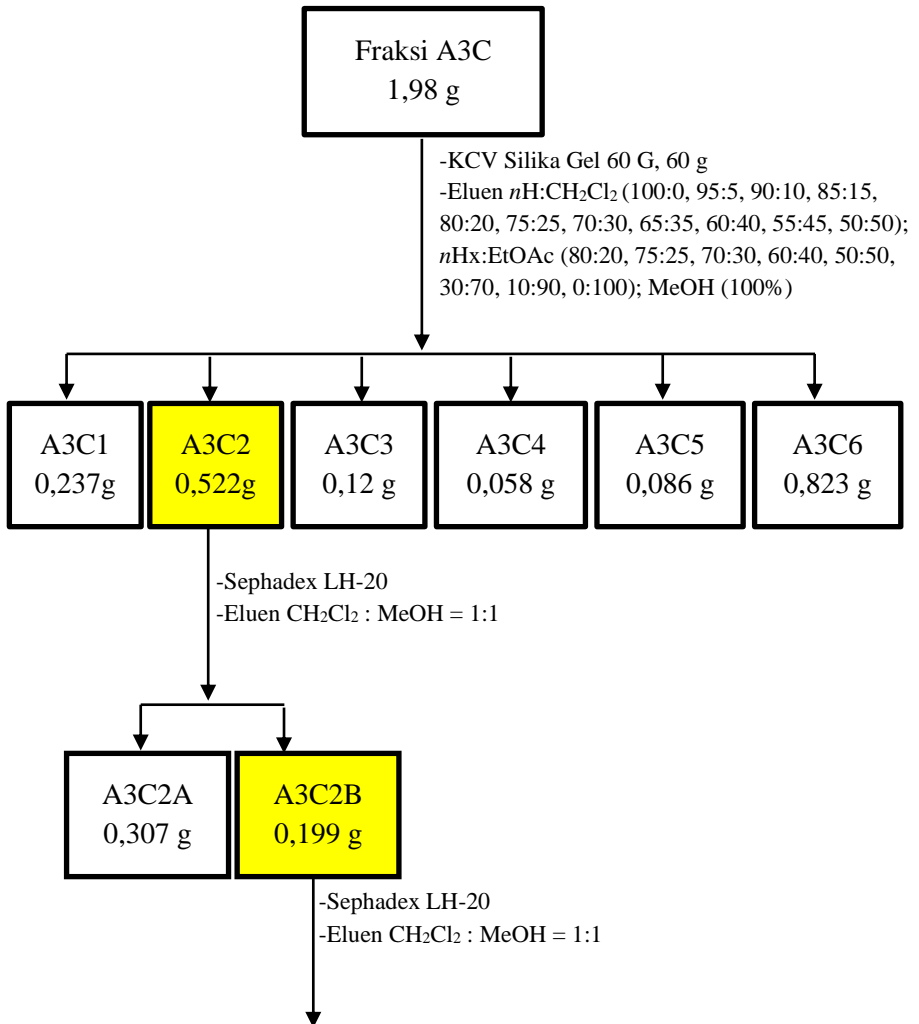
- Antimicrobial effects of *Piper hispidum* extract, fractions and chalcones against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. *Journal de Mycologie Médicale*. 26 : 217—226.
- Ersam, T. 2012. *Kimia Mikromolekul Tumbuhan Artocarpus*. Surabaya : ITS Press.
- Ezenyi, I.C., Salawu, O.A., Kulkarni, R., Emeje, M. 2014. Antiplasmodial activity-aided isolation and identification of quercetin-4'-methyl ether in *Chromolaena odorata* leaf fraction with high activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Res*. 113(12):4415-22.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Ghosh, A., Bandyopadhyay, A., Ghosh, P., Chatterjee, P. 2013. Isolation of a novel terpenoid from the rhizome of *Curcuma caesia* Roxb. 2(4) : 777-784.
- Hung, T.M., Cuong, T.D., Dang, N.H., Zhu, S., Long, P.Q., Komatsu, K., Min, B.S. 2011. Flavonoid Glycosides from *Chromolaena odorata* Leaves and Their in Vitro Cytotoxic Activity. *Chem. Pharm. Bull*. 59(1) : 129—131.
- Kementrian Perdagangan RI. 2014. *Warta Ekspor : Obat Herbal Tradisional*. Jakarta Pusat : Direktorat Jenderal pengembangan Ekspor Nasional Kementrian Perdagangan.
- Kumkarnjana, S., Suttisri, R., Nimmannit, U., Koobkokkrud , T., Pattamadilok, C., Vardhanabhuti, N. 2018. Anti-adipogenic effect of flavonoids from *Chromolaena odorata* leaves in 3T3-L1 adipocytes. *J Integr Med*. 16(6):427-434.

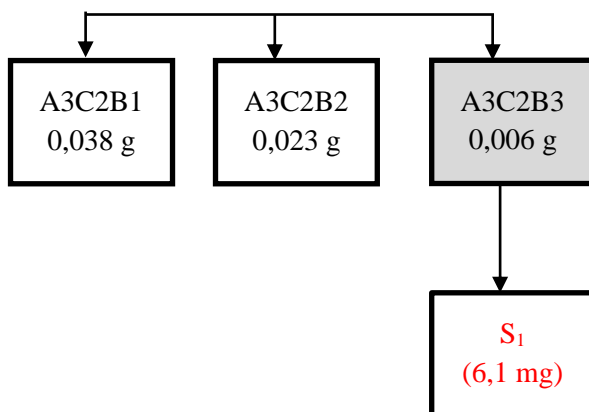
- Koutsaviti, A., Ioannou, E., Couladis, M., Tzakou, O., dan Roussis, V. 2017. ^1H and ^{13}C NMR spectral assignments of abietane diterpenes from *Pinus heldreichii* and *Pinus nigra* subsp. *Nigra*. *Magn. Reson. Chem.* 55 : 772–778.
- Ludwiczuk, A., Skalicka-Wozniak, K., Georgiev, M.I. 2017. Terpenoids. *Pharmacognosy*. 233 – 266.
- Marianne, Lesatri, D., Sukandar, E.Y., Kurniati, N.F., Nasution, R. 2014. Antidiabetic Activity of Leaves Ethanol Extract *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King on Induced Male Mice with Alloxan Monohydrate. *Jurnal Natural*. 14 (1) : 1-4.
- Maurya, A., Kalani, K., Verma, S.C., Singh, R., Srivastava, A. 2018. Vacuum Liquid Chromatography: Simple, Efficient and Versatile Separation Technique for Natural Products. *Organic and Medicinal Chemistry International Journal*. 7 (2) : 1-3.
- Murphy, B.E.P. dan D'Aux, R.C.D. 1975. The Use of Sephadex LH-20 Column Chromatography to Separate Unconjugated Steroids. *Journal of Steroid Biochemistry*. 6 : 233 – 257.
- Omokhua, A.G., McGaw, L.J., Finnie, J.F., Van Staden, J. 2016. *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King dan H. Rob. (Asteraceae) in sub-Saharan Africa: A synthesis and review of its medicinal potential. *J Ethnopharmacol*. 183:112-122.
- Pisutthanan, N., Liawruangrath, B., Liawruangrath, S., Bremner, J.B. 2006. A New Flavonoid from *Chromolaena odorata*. *Natural Product Research*. 20 (13) : 1192–1198.

- Prabhu, V. dan Ravi, S. 2012. Isolation of a novel triterpene from the Essential oil of fresh leaves of *Chromolaena odorata* and its in-vitro cytotoxic activity against HepG2 cancer cell line. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2 (9) : 132-136.
- Putri, D.A. dan Fatmawati, S. 2019. A New Flavanone as a Potent Antioxidant Isolated from *Chromolaena odorata* L. Leaves. *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-12.
- Ramadhani, S.H., Samingan, Iswadi. 2017. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit pada Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*. 2(2) : 77-90.
- Rao, Y.K., Fang, S.H., Tzeng, Y.M. 2005. Anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Caesalpinia pulcherrima*. *Journal of Ethnopharmacology*. 100 : 249–253.
- Rasyida, K., Kuswandi, B., Kristiningrum, N. 2014. Deteksi Kemurnian Air Zamzam Menggunakan Metode Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Kemometrik. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(2) : 320-326.
- Sampaio, B.L., Edrada-Ebel., R., Da-Costa, F.B. 2016. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. *Sci. Rep.* 6(29265) : 1-11.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K.M., Yoga Latha, L. 2011. Extraction, Isolation And Characterization Of Bioactive Compounds From

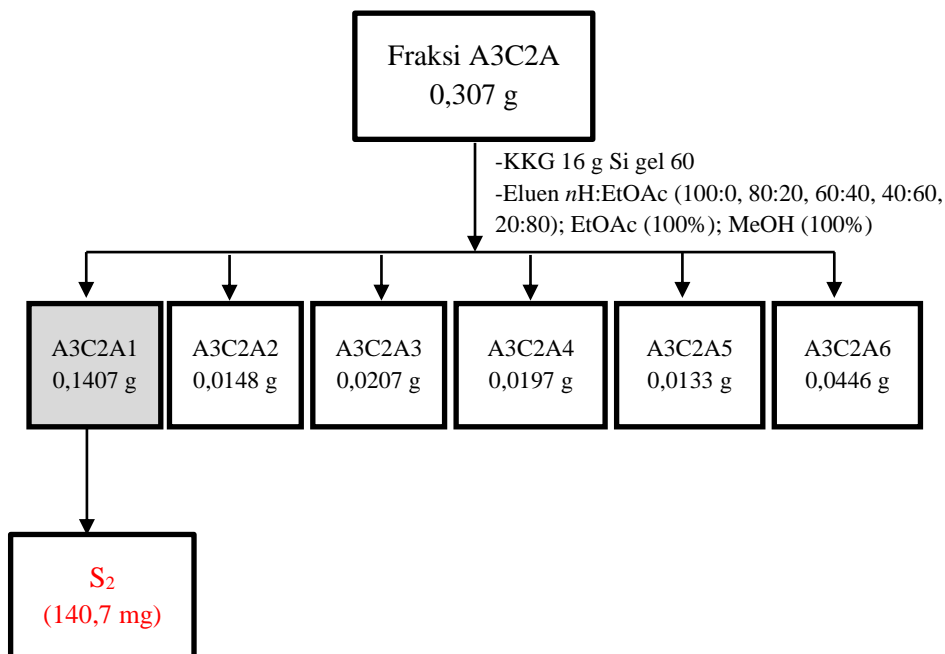
- Plants' Extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 8(1) : 1-10.
- Simanjuntak, H.A. 2017. Potensi Famili Asteraceae Sebagai Obat Tradisional Di Masyarakat Etnis Simalungun Kabupaten Simalungun Provinsi Sumatera Utara. *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, dan Kesehatan.* 4(1).
- Sirinthipaporn, A. dan Jiraungkoorskul, W. 2017. Wound Healing Property Review of Siam Weed, *Chromolaena odorata*. *Pharmacogn Rev.* 11(21): 35–38.
- Suksamram, A., Chotipong, A., Suavanari, T., Boongird, S., Timsuksai, P., Vimuttipong, S., Chuaynugul, A. 2004. Antimycobacterial Activity and Cytotoxicity of Flavonoids from the Flowers of *Chromolaena odorata*. *Arch Pharm Res.* 27 (5) : 507-511.
- Suumarsih. 2011. Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Turunan Kromanon dari Daun Slati. *Skripsi.* Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Zhang, M., Liu, P., Wang, Y., Dun, J., Sauriol, F., Lu, X., Wang, R., Shil, Q. 2015. A New Bidihydroflavone Isolated From *Chromolaena odorata*. *Chemistry of Natural Compounds.* 51 (4) : 637 – 639.
- Zhang, Q.W., Lin, L.G., Ye, W.C. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med.* 13 (20).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN**I. Isolasi Senyawa dari Daun *C.odorata*****1.1 Fraksinasi Senyawa 1**

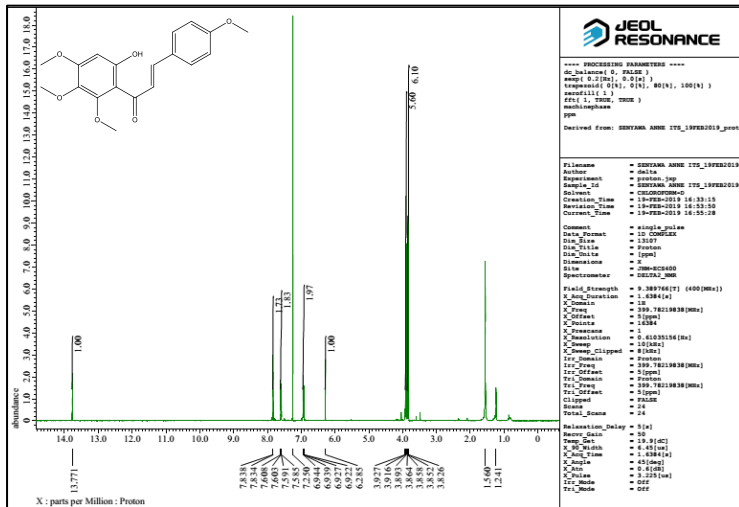


1.2 Fraksinasi Senyawa 2

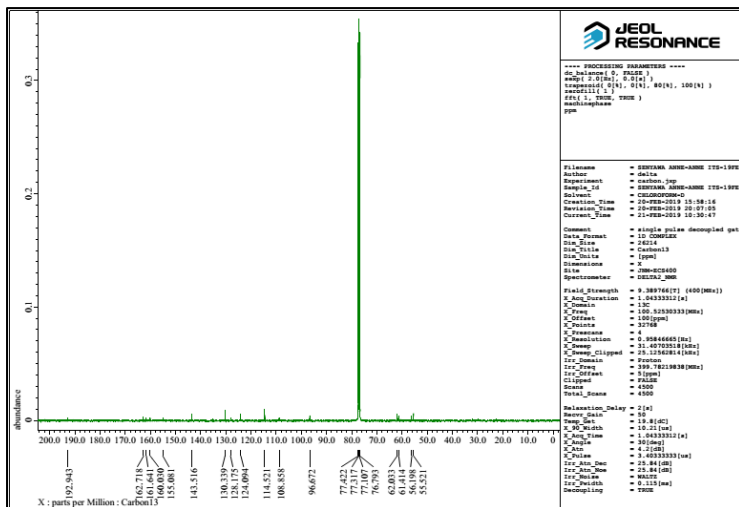


II. Data Pendukung

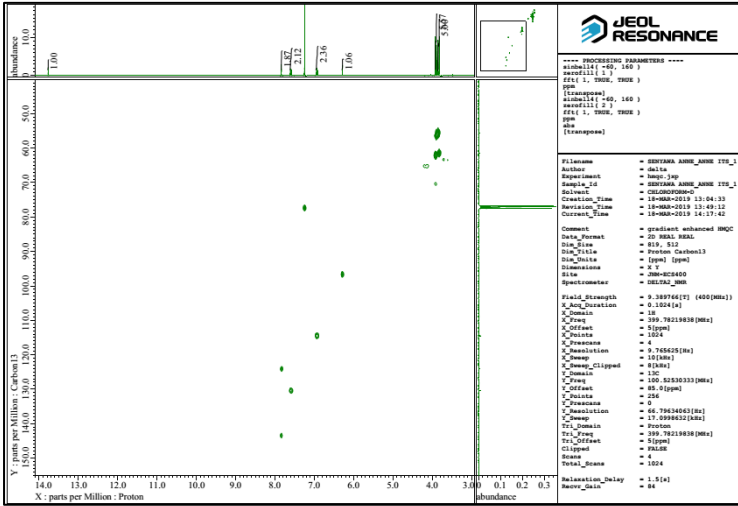
¹H-NMR S₁



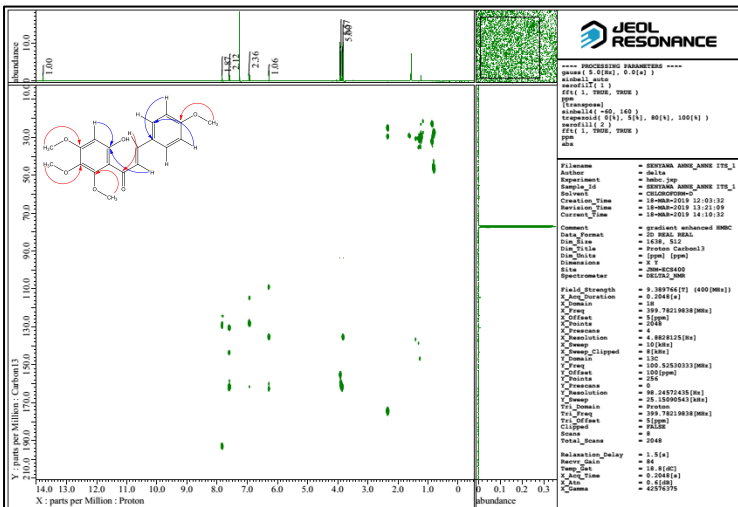
¹³C-NMR S₁

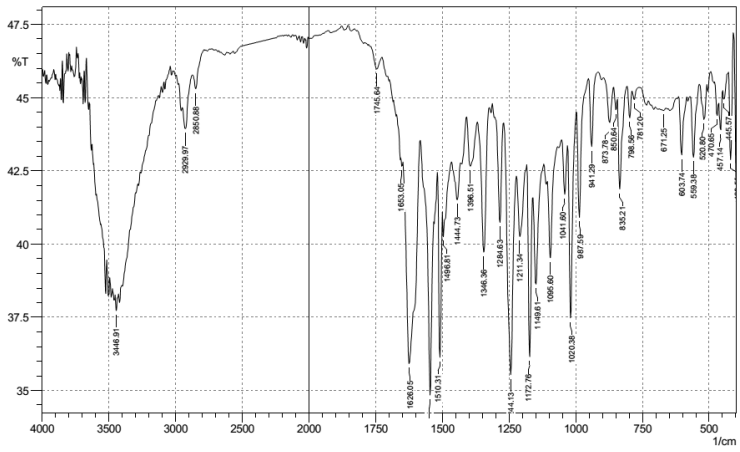


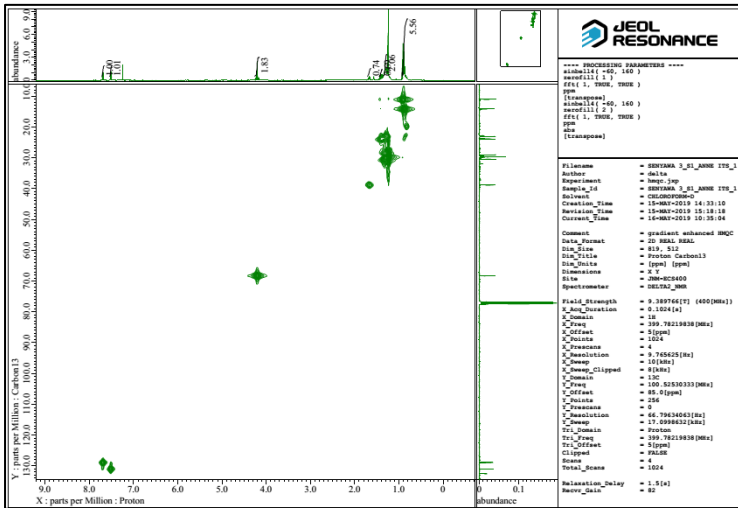
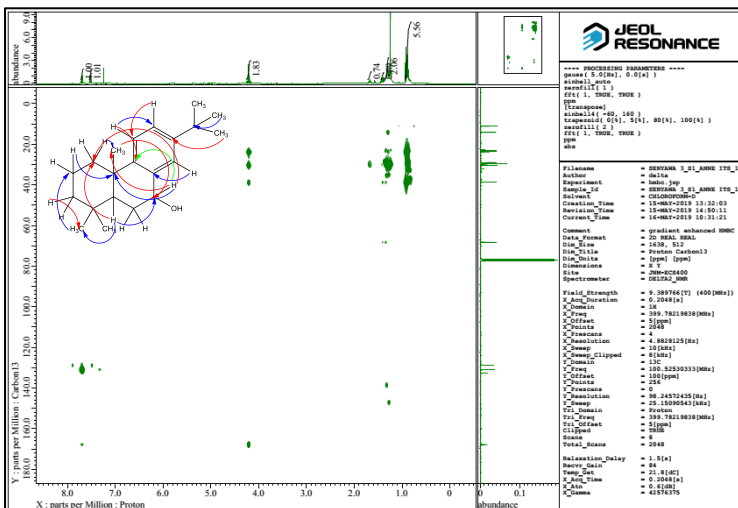
HMOC S₁

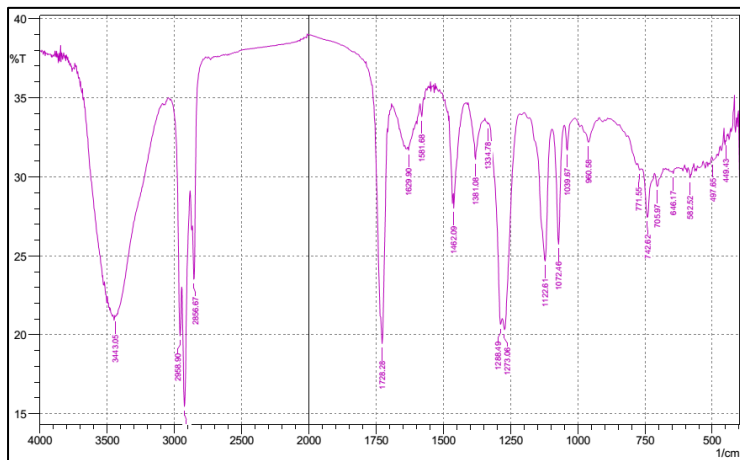


HMBC S₁



FTIR S₁

HMOC S₂HMBC S₂

FTIR S₂

Surat Keterangan Identifikasi Tanaman *C.odorata*



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS PATTIMURA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
LABORATORIUM BIOLOGI DASAR**

Jalan. Ir. M. Putuhena, Gedung Jurusan PMIPA, Kampus Poka Unpatti,
Ambon 97233
Telp. 0911- 312343 Fax. 0911- 312343
Laman: <http://pmipafkip.unpatti.ac.id>; email: pmipa@fkip.unpatti.ac.id

Ambon, 09 Agustus 2017

Nomor : 683/UN13.1.3.7.3./LL/2017
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth,

HEALTHY KAINAMA
NRP : 1414301001
Mahasiswa Institut Teknologi Sepuluh November
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jurusan Kimia
Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60111

Dengan hormat, bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara – saudara kirimkan ke Laboratorium Biologi Dasar Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pattimura Ambon, adalah sebagai berikut :

No	Nama Koleksi	Jenis	Suku	Nomor Voucher Koleksi
1.	Daun Kakurang	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	<i>Verbenaceae</i>	47
2.	Daun Sungga-Sungga	<i>Chromolaena odorata</i> L.	<i>Asteraceae</i>	48

Demikian penyampaian kami, atas perhatian disampaikan terima kasih.

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

Dr. A. L. Palinussa, M.Pd
NIP : 197908112003121002

Ketua Laboratorium Biologi Dasar

S. I. A. Sufmanu, M.Pd
NIP. 197901292005012005

D:\Iden 2017\Healthy Kainama Dokumen\Pamela Papilaya
Nomor:

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BIODATA PENULIS



Penulis memiliki nama lengkap Anne Dwi Tsamarah. Lahir sebagai anak kedua dari tiga bersaudara pada tanggal 28 September 1997 di Sidoarjo. Pendidikan yang telah ditempuh oleh penulis yakni pendidikan di MI Darunnajah, SMPN 1 Taman, dan SMAN 1 Krian. Setelah lulus, penulis melanjutkan pendidikan di Departemen Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember melalui jalur SNMPTN. Semasa kuliah, penulis aktif mengikuti perlombaan dan organisasi. Perlombaan yang diikuti yakni KTI, PKM hingga berhasil menjadi juara di Universitas Brawijaya, salah satunya. Selain itu, penulis aktif di berbagai organisasi mahasiswa. Tahun pertama, penulis aktif sebagai anggota Klub Keilmiahan Ristek BEM ITS (2015-2016). Lalu, pada tahun kedua (2016-2017) aktif sebagai staff di Himpunan Mahasiswa Kimia, Tim Kawal PKM ITS, dan JMMI ITS. Pada tahun ketiga (2017-2018) penulis menjabat sebagai Sekretaris dan Bendahara Tim Kawal PKM ITS, Trainer Keilmiahan ITS, dan *Mid-Leader* Akademik dan Prestasi JMMI ITS. Pada tahun keempat (2019), penulis aktif di Kementerian Riset dan Teknologi BEM ITS sebagai Sekretaris Menteri. Disamping itu, penulis menyelesaikan perkuliahan dengan topik tugas akhir isolasi senyawa dari tanaman lokal Indonesia dibawah bimbingan ibu Sri Fatmawati, Ph.D. Ajakan diskusi amat terbuka bagi penulis, dan dapat dihubungi melalui annedwi0603@gmail.com.