



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ISOLASI, PENENTUAN STRUKTUR SENYAWA SERTA UJI  
AKTIVITAS BIOLOGI DARI EKSTRAK ETANOL TANDAN  
TANAMAN *Musa paradisiaca***

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar magister sains**

**WIDIYATNI**

**0806422006**

**FAKULTAS MIPA  
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA  
KEKHUSUSAN KIMIA HAYATI  
DEPOK  
Juli 2010**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

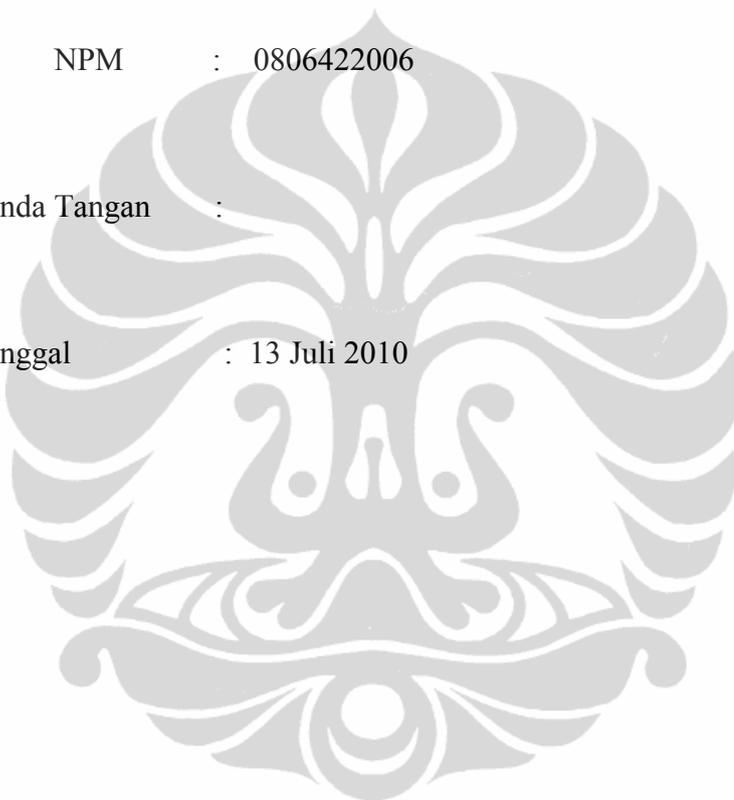
Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : WIDIYATNI

NPM : 0806422006

Tanda Tangan :

Tanggal : 13 Juli 2010



## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Widiyatni

NPM : 0806422006

Program Studi : Ilmu Kimia

Judul Tesis : Isolasi, Penentuan Struktur Senyawa Serta Uji Aktivitas Biologi  
Ekstrak Etanol Tandan Tanaman *Musa paradisiaca*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

## DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc ( )

Pembimbing : Dr. Muhammad Hanafi ( )

Penguji : .Dr. Emil Budianto ( )

Penguji : .Dr. Budiawan ( )

Penguji : .Dr. Endang Saepudin ( )

Penguji : Dr. Agustino Zulys ( )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : .13 Juli 2010

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini, sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Kimia di Program Pasca Sarjana FMIPA Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang tak terhingga kepada orang tua, suami dan anak tercinta atas dorongan semangat serta do'a sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Kimia di Program Pasca Sarjana FMIPA Universitas Indonesia.

Selanjutnya penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Soleh Kosela Msc selaku pembimbing utama dan Dr. Muhammad Hanafi selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing dan memberikan arahan serta saran dalam menyelesaikan penelitian ini.
2. Kepala SMA Negeri 97 Jakarta yang telah memberikan izin dan kesempatan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan S2.
3. Pemerintah Republik Indonesia melalui Dinas Pendidikan DKI Jakarta yang telah memberi izin dan memberikan biaya dalam mengikuti pendidikan Program Pascasarjana di Universitas Indonesia.
4. Dr. Emil Budianto selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran selama mengikuti perkuliahan dan menyelesaikan penelitian ini.
5. Dr. Endang Saefudin dan Dr. Yuni, selaku Ketua dan Sekretaris Program Studi beserta seluruh staf pengajar pascasarjana Ilmu Kimia.
6. Pimpinan Pusat Penelitian Kimia Serpong yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas Penelitian
7. Ibu Megawati, Bapak Ngadiman, Bapak Ahmad Darmawan Msi, Ibu Sofa Fajriah yang telah membantu penulis selama melakukan penelitian di Puslit Kimia LIPI Serpong.
8. Seluruh dosen dan staf karyawan Jurusan Kimia FMIPA UI, serta rekan – rekan mahasiswa yang telah memberi bantuan dan dorongan semangat kepada penulis.
9. Semua pihak yang telah memberikan bantuan selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan tesis ini, sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik untuk perbaikan.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan penulis sangat berharap semoga penelitian ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya khususnya pada ilmu kimia.

Depok, Juli 2010

Penulis



HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Widiyatni  
NPM : 0806422006  
Program Studi : Magister Ilmu Kimia  
Departemen : Kimia  
Fakultas : Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty- Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

“Isolasi, Penentuan Struktur Seyawa Serta Uji Aktivitas Biologi Ekstrak Etanol Tandan Tanaman *Musa paradisiaca*”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 13 Juli 2010

Yang menyatakan

( Widiyatni )

## ABSTRACT

Name : Widiyatni  
Study Program : Magister of Chemistry  
Title : Isolation, Elucidation of Molecular Structure and Biological Activity from The Ethanol Extract of *Musa paradisiaca* Bunches

This research is to determine some chemical compounds from the extract of *Musa paradisiaca* bunches and test of biological activity against *Artemia salina* Leach. and antioxidant activity. This compound was isolated by maceration with 5% acetic acid in ethanol, extract separated by column chromatography with silica gel as stationary phase and the mobile phase is n-hexane, ethyl acetate, methanol in a gradient elution. Pure chemical compound that has determined the molecular structure by UV-Vis spectrophotometry, Infra Red, mass spectrometry,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry. From the results of this research was obtained compounds WPA 2 which has the molecular formula  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_3$ , identified as 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on, WPA 4 which has the molecular formula  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ , identified as stigmaterol. WPA 2 is not active compounds as antioxidants  $\text{IC}_{50} = 952.857$  ppm, WPA 4 is less active as an antioxidant with  $\text{IC}_{50} = 313.877$  ppm. The results of the activity of shrimp larvae, *Artemia salina* Leach., Compounds that have Significant activity is a compound WPA 2 with  $\text{LC}_{50} = 129.72$  g / ml

Keywords: chemical content, *Musa paradisiaca*, *Artemia salina* Leach, Antioxidants

## ABSTRAK

Nama : Widiyatni  
Program Studi : Magister Ilmu Kimia  
Judul : Isolasi, Penentuan Struktur Senyawa Serta Uji Aktivitas Biologi  
Dari Ekstrak Tandan Tanaman *Musa paradisiaca*

Penelitian ini dilakukan untuk mencari beberapa senyawa kimia dari ekstrak tandan pohon *Musa paradisiaca* serta uji aktivitas biologi terhadap *Artemia salina* L. dan aktivitas antioksidan. Senyawa tersebut diisolasi dengan cara maserasi 5 % asam asetat dalam etanol, ekstrak dipisahkan dengan cara kromatografi kolom, dengan menggunakan silika gel sebagai fasa diam dan fasa geraknya adalah campuran n-heksan, etil asetat, metanol secara gradien. Senyawa kimia yang telah murni ditentukan struktur molekulnya dengan cara spektrofotometri UV-Vis, spektrofotometri Infra Merah, Spektrometri Massa, Spektrometri Resonansi Magnet inti  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ . Dari hasil penelitian ini diperoleh senyawa WPA 2 yang mempunyai rumus molekul  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_3$ , dan diidentifikasi sebagai 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on. Senyawa WPA 4 dengan rumus molekul  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$  yang diidentifikasi sebagai stigmasterol. Senyawa WPA 2 tidak menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan karena nilai  $\text{IC}_{50} = 952,857$  ppm, senyawa WPA 4 kurang aktif sebagai antioksidan dengan  $\text{IC}_{50} = 313,877$  ppm., dari hasil uji aktivitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach., senyawa yang memiliki aktivitas yang cukup signifikan adalah senyawa WPA 2 dengan  $\text{LC}_{50} = 129.72$  g/ ml

Kata kunci : Kandungan kimia, *Musa paradisiaca*, *Artemia salina* Leach, Antioksidan

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRACT .....	vii
ABSTRAK .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	1
1.3 Hipotesis .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1 Tanaman pisang .....	3
2.1.1 Klasifikasi tanaman .....	4
2.1.2 Morfologi tanaman .....	6
2.1.3 Khasiat dan kegunaan .....	7
2.1.4 Kandungan kimia tanaman .....	8
2.2 Karakterisasi senyawa .....	22
2.2.1 Maserasi .....	22
2.2.2 KLT .....	23
2.2.3 Kromatografi kolom .....	24
2.2.4 Spektrometer Ultra violet- visible (UV-Vis) .....	27
2.2.5 Spektrofotometer Infra-red (IR) .....	27
2.2.6 Spektrometer resonansi magnetik inti ( <sup>1</sup> HNMR) .....	27
2.2.7 Kromatografi gas .....	31

2.3.	Antioksidan .....	33
2.3.1	Mekanisme Reaksi Antioksidan .....	33
2.3.2	Fungsi Antioksidan .....	35
2.3.3	Klasifikasi Antioksidan .....	35
2.3.3.1	Klasifikasi Antioksidan Berdasar Sumbernya .....	35
2.3.3.2	Berdasarkan Perbedaan gugus yang terikat pada cincin benzene .....	37
2.3.3.3	Berdasarkan Mekanisme Reaksi .....	38
2.4	Uji Toksisitas .....	40
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN .....		41
3.1	Bahan dan Alat .....	41
3.1.1	Tanaman .....	41
3.1.2	Bahan Kimia .....	41
3.1.3	Alat-alat .....	41
3.2	Cara kerja .....	42
3.2.1	Penyiapan sampel .....	42
3.2.2	Maserasi .....	42
3.2.3	Penapisan fitokimia .....	43
3.2.4	Kromatografi kolom .....	43
3.2.5	Instrumentasi .....	43
3.2.6	Uji Aktifitas Antioksidan .....	45
3.2.7	Pengujian aktifitas Biologi .....	46
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....		47
4.1	Penapisan fitokimia .....	47
4.2	Isolasi senyawa .....	47
4.3	Penentuan Struktur Molekul.....	49
4.3.1	Senyawa dari tandan tanaman <i>Musa paradisiaca</i> senyawa WPA 2 .....	50
4.3.2	Senyawa dari tandan tanaman <i>Musa paradisiaca</i> senyawa WPA 4 .....	56
4.4	Biosintesa .....	60
4.4.1	Biosintesa 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on	60
4.4.2	Biosintesa stigmasterol .....	62

4.5	Pengujian aktivitas biologi .....	64
4.6	Pengujian aktifitas antioksidan .....	66
4.6.1	Uji Awal Aktivitas Antioksidan .....	66
4.6.2	Hasil analisis aktivitas antioksidan WPA 2 .....	68
4.6.3	Hasil analisis aktivitas antioksidan WPA 4 .....	69
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....		71
DAFTAR PUSTAKA.....		72
LAMPIRAN .....		75



## DAFTAR TABEL

## Tabel

I.	Hasil penapisan ekstrak etanol tandan pisang .....	47
II.	Hasil Kromatografi Kolom .....	47
III.	Perbandingan data pergeseran kimia $^{13}\text{C}$ -NMR senyawa WPA 2 dan 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on.....	53
IV.	Data $^1\text{H}$ -NMR senyawa WPA 2 dan 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-On.....	54
V.	Korelasi H-NMR, HMQC dan HMBC senyawa WPA 2 .....	55
VI	Perbandingan data pergeseran kimia $^{13}\text{C}$ -NMR senyawa WPA 4 dan stigmasterol.....	58
VII.	Hasil uji toksisitas larva udang <i>Artemia salina</i> Leach. ....	66
VIII.	Uji aktivitas anti oksidan senyawa WPA 2 dan senyawa WPA 4 .....	69

## DAFTAR GAMBAR

## Gambar

1	Tanaman <i>Musa paradisiaca</i> dan tandan nya (tanda panah) .....	3
2.	Skema spektrometer NMR .....	30
3.	Diagram skematik instrumen GC (Christian, 2004).....	32
4.	Mekanisme reaksi antioksidan .....	38
5.	Bagan isolasi tandan tanaman <i>Musa paradisiaca</i> .....	44
6.	Hasil KLT dari fraksi 4 (WPA 4) dan fraksi 13 (WPA 2) dengan pelarut pengembang WPA 4 (n-heksan:etil asetat 96:4), WPA 2 (n-heksan:etil asetat 55:45) .....	48
7.	Struktur 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on .....	54
8.	Stigmasterol.....	60
10.	Biogenesis phenylphenalen dari 2 pasang phenylpropanoat .....	61
11.	Biogenesis phenylphenalenon pada <i>Musa</i> .....	62
12.	Biosintesa phytosterol dari jalur mevalonat .....	62
13.	Biosintesa stigmasterol dari squalene .....	63
14.	Hasil Analisis aktivitas toksik senyawa WPA 2.....	65

15. Hasil Analisis aktivitas toksik senyawa WPA 4 .....	65
16. Hasil Analisis aktivitas Antioksidan senyawa WPA 2 dengan metode <i>Radical Scavenger</i> . .....	68
17. Hasil Analisis aktivitas Antioksidan senyawa WPA 4 dengan metode <i>Radical Scavenger</i> .....	69



**DAFTAR LAMPIRAN**

## Lampiran

1. Spektrum FTIR senyawa WPA 2 .....	75
2. Spektrum FTIR senyawa WPA 4 .....	76
3. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR WPA 2 .....	77
4. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR senyawa WPA 2 .....	78
5. Spektrum DEPT-NMR senyawa WPA 2 .....	79
6. Spektrum HMQC senyawa WPA 2 .....	80
7. Spektrum HMBC senyawa WPA 2 .....	81
8. Kromatogram LCMS senyawa WPA 2 .....	82
9. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR senyawa WPA 4 .....	84
10. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR senyawa WPA 4 .....	85
11. Total Ion Kromatogram dan Spektrum Massa GCMS senyawa WPA 4 .....	86
12. Persamaan data base Willey dengan spectrum GCMS senyawa WPA 4 .....	87
13. Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan .....	88

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Sejak dulu di Indonesia banyak pengobatan yang dilakukan secara tradisional yaitu dengan menggunakan bahan dari alam. Pengobatan tradisional ini juga dilakukan untuk memanfaatkan potensi kekayaan alam di Indonesia yang sangat beragam. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk pengobatan tradisional adalah batang tandan pisang (*Musa paradisiaca*). Pisang merupakan tanaman yang sangat umum di Eropa dan Asia. Tanaman pisang tumbuh di daerah tropic karena menyukai iklim panas dan memerlukan matahari penuh. Tanaman ini dapat tumbuh di tanah yang cukup air pada daerah dengan ketinggian sampai 2.000 m dpl. Umumnya, pisang merupakan tanaman pekarangan, walaupun di beberapa daerah sudah diperkebun untuk diambil buahnya. Dari tanaman ini banyak sekali khasiat dan kegunaannya bagi tubuh, bagian tanaman pisang mengandung zat yang dapat digunakan untuk pengobatan, sehingga dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan kimia batang tandan tanaman pisang yang memiliki aktivitas biologi sebagai bahan obat. Informasi tentang khasiat tandan tanaman pisang belum dikenal luas sehingga dilakukan penelitian untuk menambah informasi tentang kandungan kimia tandan tanaman pisang yang dapat memberikan efek farmakologi .

Pengobatan hipertensi dengan tandan jantung pisang menurut sumber informasi berhasil mengobati hipertensi secara oral. Bahan alam yang merupakan metabolit sekunder lebih aman dimanfaatkan manusia untuk pengobatan dibanding dengan senyawa sintesis..

#### **1.2 Tujuan Penelitian**

Mendapatkan informasi dan mengisolasi kandungan kimia tandan tanaman pisang yang digunakan untuk pengobatan

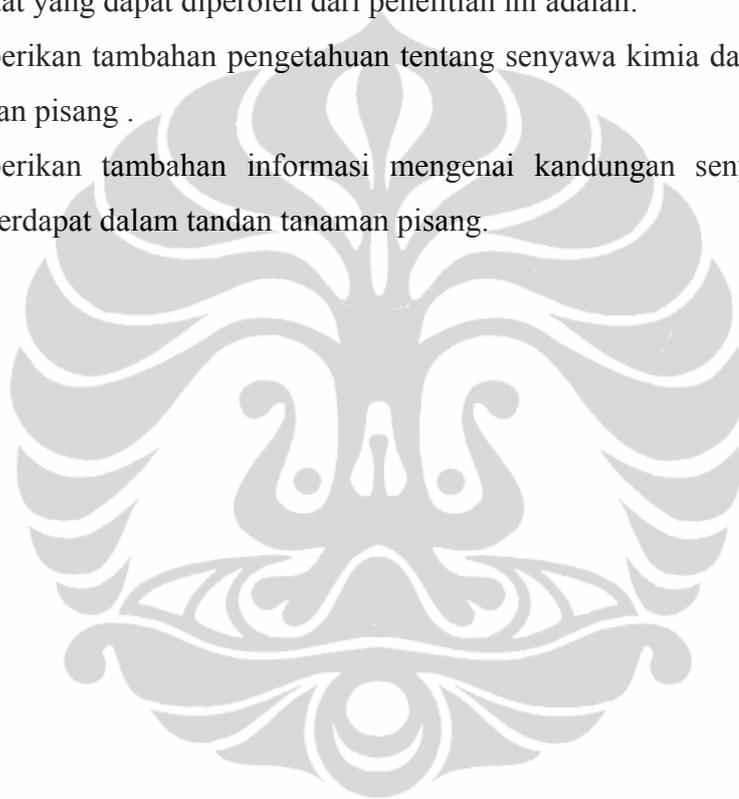
### 1.3 Hipotesis

Tandan jantung pisang (*Musa paradisiaca*) mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas biologi

### 1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan tambahan pengetahuan tentang senyawa kimia dalam tandan tanaman pisang .
2. Memberikan tambahan informasi mengenai kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tandan tanaman pisang.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Pisang

Pisang berasal dari Asia Tenggara yang oleh para penyebar agama Islam disebarkan ke Afrika Barat, Amerika Selatan dan Amerika Tengah. Selanjutnya pisang menyebar ke seluruh dunia, meliputi daerah tropis dan subtropis. Negara-negara penghasil pisang yang terkenal di antaranya adalah: Brasilia, Filipina, Panama, Honduras, India, Equador, Thailand, Karibia, Columbia, Mexico, Venezuela, Australia dan Hawaii. Di Asia, Indonesia termasuk penghasil pisang terbesar karena sekitar 50 persen produksi pisang Asia berasal dari Indonesia. Sentra produksi pisang di Indonesia adalah: Jawa Barat (Sukabumi, Cianjur, Bogor, Purwakarta, Serang), Jawa Tengah (Demak, Pati, Banyumas, Sidorejo, Kesugihan, Kutosari, Pringsurat, Pemalang), Jawa Timur (Banyuwangi, Malang), Sumatera Utara (Padangsidempuan, Natal, Samosir, Tarutung), Sumatera Barat (Sungyang, Baso, Pasaman), Sumatera Selatan (Tebing Tinggi, OKI, OKU, Baturaja), Lampung (Kayu Agung, Metro), Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Bali dan Nusa Tenggara Barat.



Gambar 1. Tanaman *Musa paradisiaca* dan tandan nya (tanda panah)

### 2.1.1 Klasifikasi tanaman

Tanaman pisang secara taxonomi mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
Sub Kelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: <a href="#">Musaceae</a> (suku pisang-pisangan)
Genus	: <a href="#">Musa</a>
Spesies	: <i>Musa paradisiaca</i>
Nama umum	
Indonesia	: Pisang, gedang (Jawa) dan cau (Sunda)
Inggris	: Banana
Jepang	: Banana

Jenis-jenis tanaman pisang di Indonesia jumlahnya mencapai ratusan. Secara garis besar jenis itu dapat dikelompokkan menjadi 4 sebagai berikut:

**a. pisang serat** (noe. *Musa textiles*) pisang serat adalah tanaman pisang yang tidak diambil buahnya tetapi diambil seratnya. Pada awal abad 16, Pigatotta menerangkan bahwa penduduk asli daerah cebu, Filipina., memanfaatkan serat pisang manila ini untuk bahan pakaian. Karenanya pisang ini dinamakan musa tekstilis. Batangnya merupakan batang semu yang terbentuk dari upih-upih daun yang saling menutupi. Tingginya mencapai 7m dengan daun berbentuk lanset warnanya hijau. Bunganya seperti pisang berbentuk buah jorong yang berkulit tebal, tetapi tidak dapat dimakan. Biji buah hitam bulat kecil keras seperti biji randu. Pisang ini disebut juga pisang manila karena diduga berasal dari Manila. Pengembangan juga kerap dilakukan di daerah ini antara lain di India, Guantemala dan Honduras. Di Indonesia juga dikembangkan tetapi kurang

berhasil. Berdasarkan iklimnya, tumbuhan ini adalah tumbuhan tropika yang menghendaki udara yang panas dan agak lembab. Tanaman ini biasanya tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 500 meter dari permukaan air laut. Tanah yang cocok adalah tanah lempung yang akan gembur dan kaya kandungan humus. Pisang ini mudah rebah oleh tiupan angin yang keras dan juga peka terhadap genangan air. Cara memperbanyak tanaman ini bias dilakukan dengan anakan, maupun akar tinggalnya, akan tetapi dalam upaya budidaya jarang digunakan biji untuk memperbanyaknya. Tanaman ini siap dipanen bila kuncup bunga telah keluar. Artinya siap dipotong untuk diambil seratnya. Serat yang diperoleh adalah serat yang kuat, tahan terhadap air (air tawar maupun air laut). Serat ini cocok dipakai sebagai tali dikapal laut, tali tambang, dan tali untuk kail. Juga bias dipintal atau dibuat anyaman untuk ayunan, sandal dan lain-lain.

**b. Pisang hias** (*Heliconia indica* Lamek) Pisang hias juga tidak diambil buahnya. Tumbuhan ini memang bagus sekali ditanam dimuka rumah sebagai hiasan. Pisang ini diperbanyak dengan menggunakan anaknya. Pisang hias dibagi 2 yaitu pisang kipas dan pisang-pisangan. Disebut pisang kipas karena bentuknya seperti kipas. Nama lain pisang kipas adalah pisang madagaskar (diduga berasal dari daerah madagaskar). Sedang pisang-pisangan berbatang semu yang kecil-kecil dan tumbuh berumpun indah ditanam dimuka rumah karena bentuknya kecil.

**c. Pisang buah** (*Musa paradisiacal* L.) Pisang jenis ini sudah tidak asing lagi bagi kita karena banyak ditemui. Pisang buah dapat dibedakan menjadi 4 golongan. Golongan pertama adalah yang dapat dimakan langsung setelah masak, misalnya pisang kepok, pisang jus susu, pisang hijau, pisang emas, pisang raja, dan sebagainya. Golongan kedua dapat dimakan setelah diolah terlebih dahulu, misalnya pisang tanduk, pisang oli, pisang kapas, pisang bangkahulu, dan sebagainya. Golongan ketiga adalah pisang yang dapat dimakan langsung setelah masak maupun diolah dahulu, misalnya pisang kepok dan pisang raja. Sedangkan golongan keempat adalah pisang yang dapat dimakan sewaktu masih mentah.

Pisang ini adalah pisang kelutuk(pisang batu) biasanya pisang ini dibuat rujak sewaktu masih muda dan rasanya sepet.

**d. pisang komersial**, pengertian komersial disini adalah banyak terdapat dipasaran, baik dipasar umum maupun supermarket, jenis-jenis pisang itu banyak digemari oleh masyarakat karena keistimewaaanya. Berikut uraian mengenai jenis-jenis pisang komersial.

### 2.1.2 Morfologi tanaman

Tanaman pisang tumbuh didaerah tropik karena menyukai iklim panas dan memerlukan matahari penuh. Tanaman ini dapat tumbuh di tanah yang cukup air pada daerah dengan ketinggian sampai 2.000 m diatas permukaan laut. Umumnya, pisang merupakan tanaman pekarangan, walaupun dibeberapa daerah sudah diperkebunan untuk diambil buahnya. Pisang merupakan tanaman yang berbuah hanya sekali, kemudian mati. Tingginya antara 2-9 m, berakar serabut dengan batang bawah tanah (bongol) yang pendek. Dari mata tunas yang ada pada bonggol inilah biasa tumbuh tanaman baru. Pisang mempunyai batang semu yang sebenarnya tersusun atas tumpukan pelepah daun yang tumbuh dari batang bawah tanah. Daun yang paling muda terbentuk di bagian tengah tanaman, keluarinya menggulung dan terus tumbuh memanjang, kemudian secara progersif membuka. Helaian daun bentuknya lanset memanjang, mudah koyak, panjang 1,5-3 m, lebar 30-70 cm, permukaan bawah berlilin, tulang tengah penopang jelas disertai tulang daun yang nyata, tersusun sejajar dan menyirip, warnanya hijau. Pisang mempunyai bunga majemuk, yang tiap kuncup bunga dibungkus oleh seludang berwarna merah kecoklatan. Seludang akan lepas dan jatuh ketanah jika bunga telah membuka, bunga betina akan berkembang secara normal, sedang bunga jantan yang berada di ujung tandan tidak berkembang dan tetap tertutup oleh seludang dan disebut sebagai jantung pisang. Jantung pisang ini harus dipangkas setelah selesai berbuah, tiap kelompok bunga disebut sisir, yang tersusun dalam tandan. Jumlah sisir betina antara 5-15 buah. Buahnya buah buni, bulat memanjang, membengkok, tersusun seperti sisir dua baris, dengan kulit berwarna

hijau, kuning, atau coklat. Tiap kelompok buah atau sisir terdiri dari beberapa buah pisang. Berbiji atau tanpa biji. Bijinya kecil, bulat, dan warna hitam. Buahnya dapat dipanen setelah 80-90 hari sejak keluarnya jantung pisang. Karena bukan buah musiman, buah pisang selalu ada setiap saat. Buah pisang kebanyakan dimakan segar, dikolak, dikukus, atau diolah lebih lanjut menjadi pisang selai, keripik, atau tepung pisang. Yang termasuk kelompok pisang buah meja adalah *Musa sapientum* (banana) karena lebih enak dimakan segar, seperti pisang ambon, ambon lumut, raja, raja sereh, mas, susu dan barangan.

Kelompok pisang yang lebih enak dimakan setelah diolah terlebih dahulu adalah *Musa paradisiacal* (plantain). Misalnya, pisang tanduk, oli, nangka, kapas, batu dan kepok. Jantung pisangnya dapat dimakan sebagai sayuran. Daun pisang, terutama daun pisang batu digunakan untuk membungkus kue, pepesan, atau barang jualan lainnya. Batang semunya dan buah pisang kadang dikaitkan dengan upacara tradisional. Ada berbagai pendapat orang-orang tua terdahulu tentang buah pisang. Misalnya, pisang raja kurang cocok untuk lambung lemah dan hatinya sukar dicerna sehingga jarang diberi pada anak-anak. Pisang ambon menyejukkan, membersihkan badan, dan memperlancar buang air besar. Jika dimakan, pisang ini akan mencegah pendarahan setelah melahirkan, namun, perempuan dengan penyakit keputihan harus menghindari makan pisang ambon karena akan memperberat penyakitnya. Pisang susu mudah dicerna sehingga baik diberikan pada anak-anak, tetapi jangan dimakan jika buang air besar mengandung lendir. Pisang mas cocok dimakan oleh penderita sembelit.

### **2.1.3 Khasiat dan kegunaan.**

Buah pisang rasanya manis, sifatnya dingin, astrigen. melumas (*lubricate*) usus, penawar racun, penurun panas (antipiretik), antiradang, peluruh kencing (diuretic), laksatif ringan.

Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah akar, buah, kulit buah, bonggol, hati, batang pisang, bunga, dan daunnya.

Akar pisang digunakan untuk mengatasi :

*Sesak napas (asma), Air kemih (urin) mengandung darah, dan Penyakit kulit.*

Cairan dari bonggol digunakan untuk mengatasi :

*Disentri, diare, Wasir berdarah, Pendarahan setelah melahirkan (pendarahan nifas), Pembersihan sehabis melahirkan, Rambut rontok dan beruban, Radang ginjal, Sifilis, dan digigit ular berbisa.*

Daun yang masih tergulung digunakan untuk mengatasi :

*Tapal dingin pada kulit yang bengkak atau lecet, disentri, haid terlalu banyak, mimisan dan pendarahan lainnya, radang tenggorok, keputihan (leukorea), dan batuk, sakit dada seperti bronchitis, rambut tipis.*

Buah digunakan untuk :

*Batuk darah, diare, disentri, tukak lambung (buah muda), kurang darah (anemia), panas disentri sukar buang air besar, rasa haus, dan lemah, celiac disease, alergi tepung padi-padian, kulit muka kering, sariawan, menghaluskan kulit tangan dan kaki, sembelit (konstipasi), dan keracunan alkohol kronik (alkoholisme).*

Kulit pisang digunakan untuk mengatasi :

*Borok yang menyerupai kanker, kelainan kulit pada herpes, ulkus di tungkai pada penyakit diabetes melitus, kutil (wart), migren, hipertensi sekunder, rambut tipis dan jarang, dan luka bakar, tersiram air panas, kemerahan pada kulit (rash).*

Bunga digunakan untuk mengatasi :

*Mencegah pendarahan otak dan stroke.*

#### **2.1.4 Kandungan kimia tanaman.**

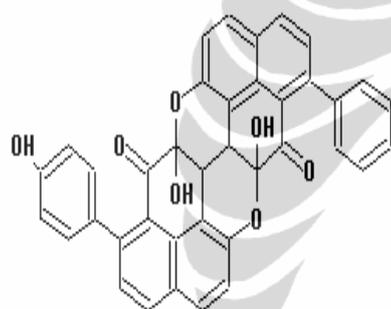
Akar mengandung serotonin, norepinefrin, tanin, hidrokstiptamin, dopamine, vitamin A, B dan C. Buah mengandung flavonoid, glukosa, fruktosa, sukrosa, tepung, protein, lemak, minyak menguap, kaya akan vitamin (A, B, C, dan E), mineral (kalium, kalsium, fosfor, Fe), ectin, serotonin, 5-hidroksi triptamin, dopamine, dan noradrenalin. Kandungan kalium pada buah pisang

cukup tinggi yang kadarnya bervariasi tergantung jenis pisanginya. Buah muda mengandung banyak tanin. Pisang dapat memberikan efek penenang. Di dalamnya terkandung serotonin yang bila kadarnya meningkat di dalam otak akan memberikan efek penenangan tadi. Namun, karena kandungan tiramin (suatu senyawa yang secara farmakologi mirip norepinefrin) yang berefek spasmolitik sehingga melemahkan peristalsis usus, pemberian pisang pada bayi bisa mengakibatkan penyumbatan saluran cerna (ileus).

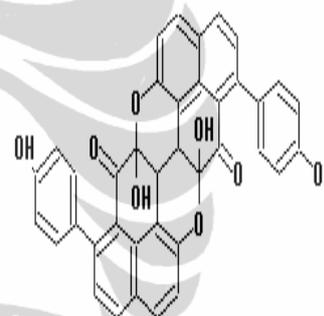
Pisang juga mengandung tiramin dan dopamin yang dapat menaikkan tekanan darah. Dopamin merupakan zat antara dalam sintesis norepinefrin yang dalam kedokteran digunakan antara lain untuk menaikkan tekanan darah melalui peningkatan kerja jantung. Uniknya, pisang juga mengandung kalium yang dapat menurunkan tekanan darah. Barangkali, kandungan senyawa dan zat yang berlawanan fungsi ini menjelaskan mengapa pisang tidak menaikkan tekanan darah secara nyata. Dalam *The Food Pharmacy* oleh Jean Carper, pisang bahkan disebut sebagai makanan mujarab bagi penderita penyakit mag. Barangkali sifat spasmolitik, yang menurunkan kerja lambung dan mengurangi sekresi enzim serta asam lambung, turut berperan dalam menghasilkan khasiat ini. Kandungan pectin yang tinggi dalam pisang juga dapat melindungi selaput lendir lambung terhadap pengaruh asam lambung dan enzim (pepsin).

Kandungan senyawa kimia keluarga *Musa*, Beberapa senyawa yang diisolasi dari tanaman *Musa Acuminata* diantaranya 4<sup>1</sup>-Hydroxyanigorootin **(1)**, 4<sup>1</sup>,4<sup>11</sup>-Dihydroxyanigorootin **(2)**, Anigorootin **(3)**, 3,3<sup>1</sup>-Bis[2-hydroxy-9-Phenyl-1H-Phenalen-1-on] **(4)**, 2,2<sup>1</sup>-Dihydroxy-9,9<sup>1</sup>-diphenyl-[3,3<sup>1</sup>-bi-1H-phenalen]-1,1<sup>1</sup>-dione. **(5)** (Hoelscher D. et al, 1999), 2,3-Dihydro-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalene-1,2,3-triol **(6)**, 2,3-Dihydro-4-(4-hydroxyphenyl)-1H-phenalene-1,2,3-triol **(7)**, 2,3-Dihydro-2,3-dihydroxy-4-(4-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-on **(8)**, 2,3-Dihydro-2,3-dihydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on **(9)**, Musalon C **(10)**, 4-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2,3-dihydro-2,3-dihydroxy-1H-phenalen-1-on **(11)**, 2,3-Dihydro-2,3-dihydroxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-on **(12)**, Musanolon D **(13)**, 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on **(14)**, 4-(3,4-

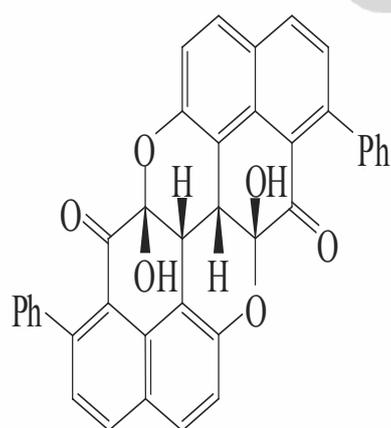
Dihydroxyphenyl)-2-hydroxy-1H-phenalen-1-one (**15**), 9-(4-Hydroxyphenyl)-2-methoxy-1H-phenalen-1-on (**16**), Musanolon E (**17**), Musanolon F (**18**), 9-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-methoxy-1H-phenalen-1-on (**19**), (Luis, J.G. et al., 1996), 2-(4-Hydroxyphenyl)naphthalic anhydride (**20**), 3-Hydroxy-9-(4-hydroxyphenyl)-1H,3H-naphtho[1,8-cd]pyran-1-on (**21**), 3-Hydroxy-4-(4-hydroxyphenyl)-1H,3H-naphtho[1,8-cd]pyran-1-on (**22**), 2-(4-Methoxyphenyl)naphthalic anhydride (**23**), 1,2,3,4-Tetrahydro-1-[1-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenyl]-7-methoxy-2,6-naphthalenediol (**24**), 1,2,3,4-Tetrahydro-1-[1-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenyl]-6,7-dimethoxy-2-naphthalenol (**25**)



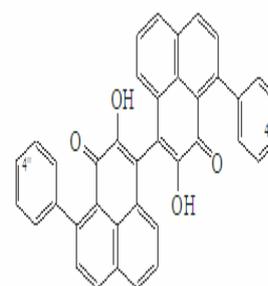
(1)



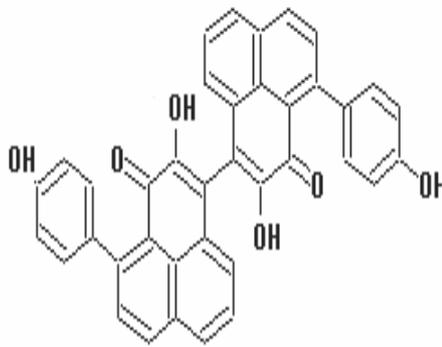
(2)



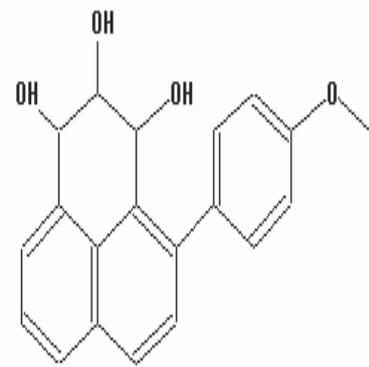
(3)



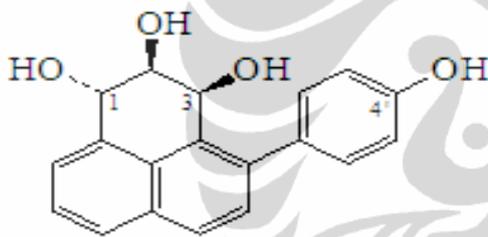
(4)



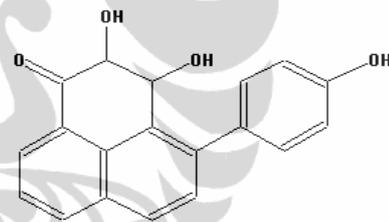
(5)



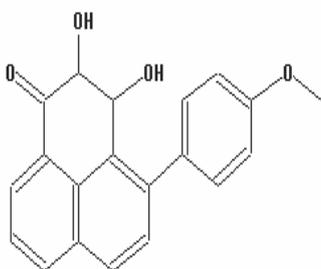
(6)



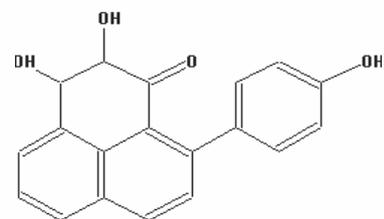
(7)



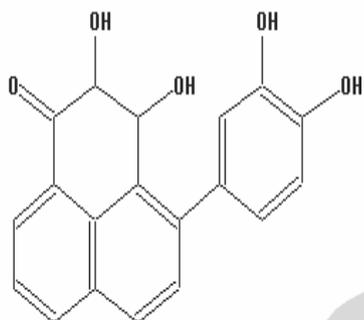
(8)



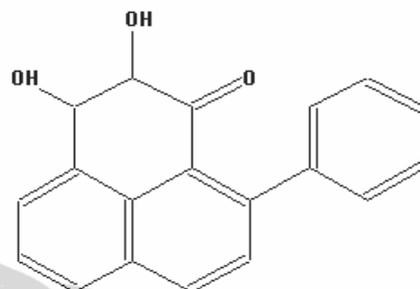
(9)



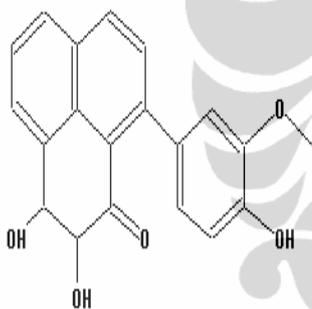
(10)



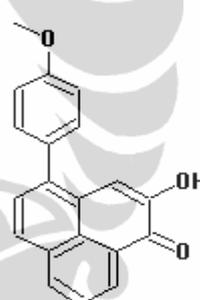
(11)



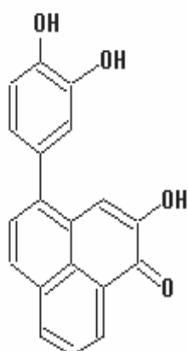
(12)



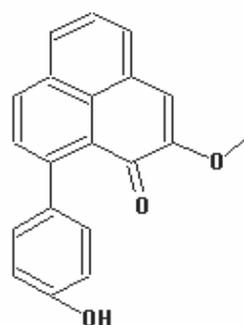
(13)



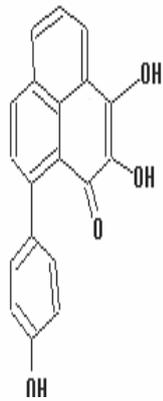
(14)



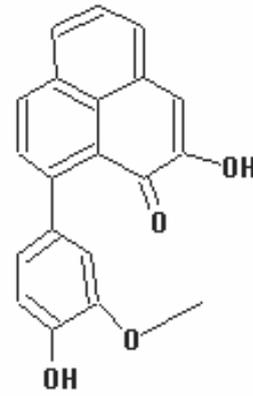
(15)



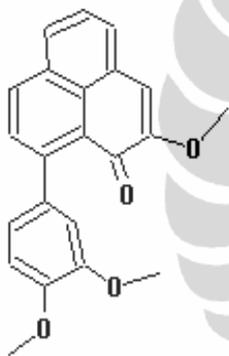
(16)



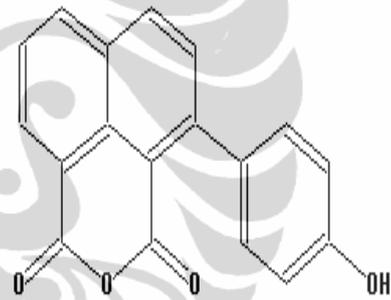
(17)



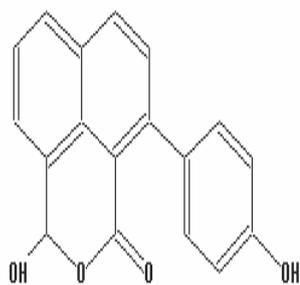
(18)



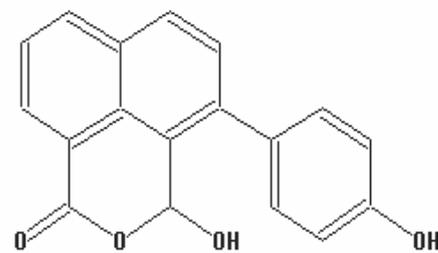
(19)



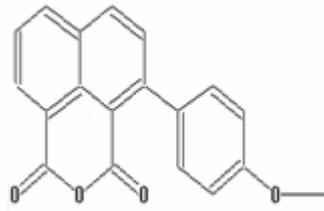
(20)



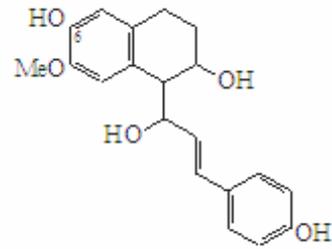
(21)



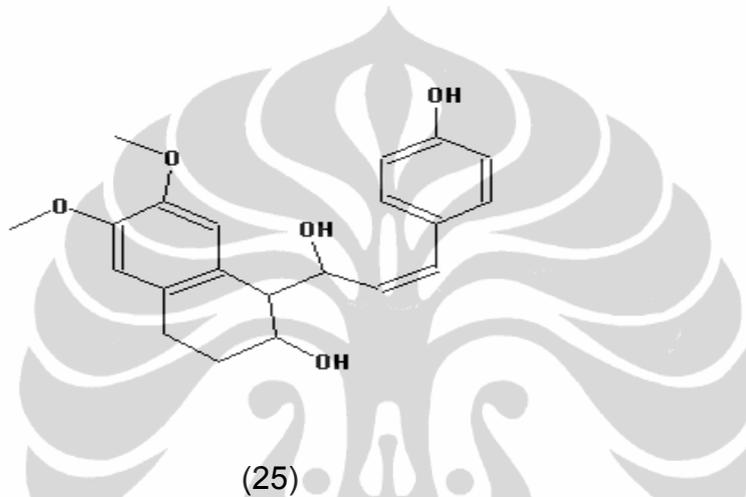
(22)



(23)

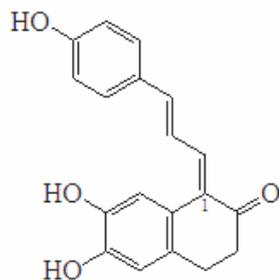


(24)

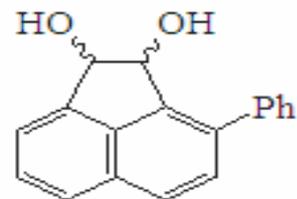


(25)

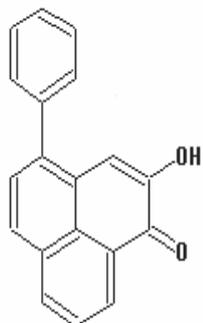
Beberapa senyawa yang diisolasi dari tanaman *Musa Spp* diantaranya 3,4-Dihidro-6,7-dihidroksi-1-[3-(4-hidroksiifenil)-2-propenilidene]-2(1H)-naphthalenon **(26)** ( Kamo, T. et al., 1998), 1,2-Dihidro-3-fenil-1,2-acenaphthylenediol **(27)** ( Luis, J.G. et al., 1997), 2-Hidroksi-4-fenil-1H-fenalen-1-on, 9Cl. 4'-Deoksiirenonon **(28)**, 5-Hidroksitriptamin(Serotonin) **(29)** ( Hamlin, K.E. et al., 1951),



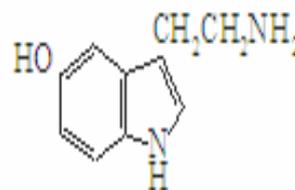
(26)



(27)

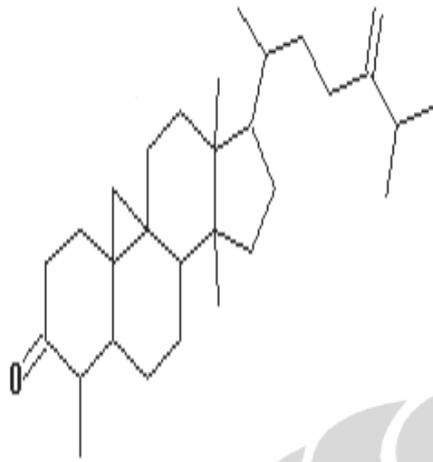


(28)

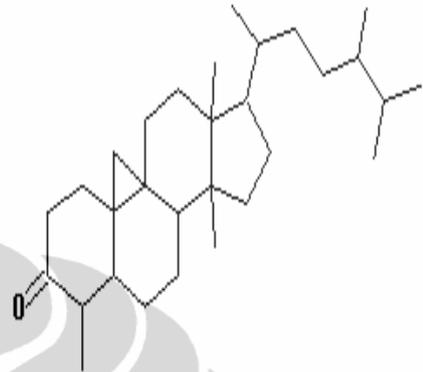


(29)

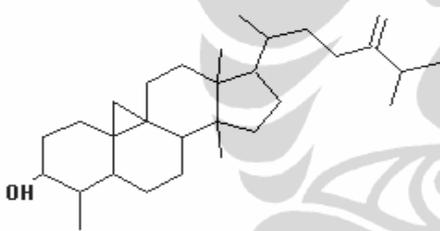
Beberapa senyawa yang diisolasi dari tanaman *Musa Sapientum* diantaranya 24-Methylene-29-norcycloartan-3-on. Cycloeucalenon **(30)**, 24-Methyl-29-norcycloartan-3-on. Cycloeucalanon **(31)**, 3-Epicycloeucalenol **(32)**, 24-Methylene-28-norcycloartan-3-on. 4-Epicycloeucalenon **(33)** (Akihisa, T. et al., 1998), 2,4-Decadien-1-ol **(34)** (Horvat, R.J. et al., 1990), Dopamine **(35)**, 14-Methyl-9,19-cycloergost-24(28)-en-3-ol **(36)**, 24-Methylenepollinasterol **(37)**, (Thompson, M.J. et al., 1978), 14-Methyl-9,19-cycloergost-25-en-3-ol **(38)**, 14-Methyl-9,19-cycloergost-25-en-3-on. 28-Norcyclomusalenon **(39)** (Chiu, P.-L. et al., 1976), 14-Methyl-9,19-cycloergost-24(28)-en-3-on (24-Methylenepollinastanon) **(40)** (Koorbanally, N. et al., 2000), 3-Methylbutyl nonanoate. Isoamyl pelargonate **(41)** (Camiuc, M. et al., 1999), 29-Norcycloartane-3,24-dion **(42)** (Akihisa, T. et al., 1998), 2',3,4'-Trihydroxyflavon **(43)** (Ali, M. et al., 1997), 3,4,4'-Trihydroxyflavan **(44)** (Ali, M. et al., 1993).



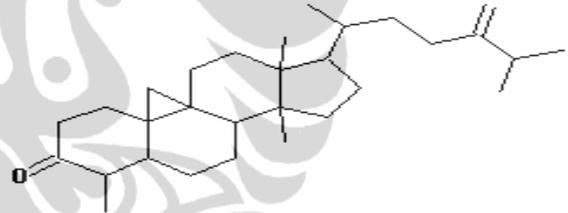
(30)



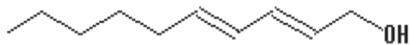
(31)



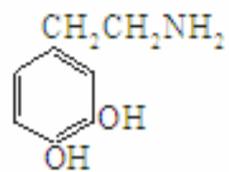
(32)



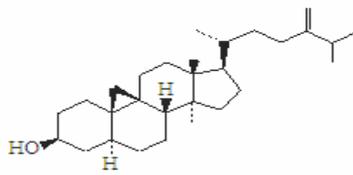
(33)



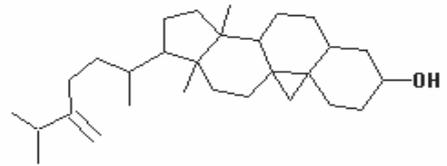
(34)



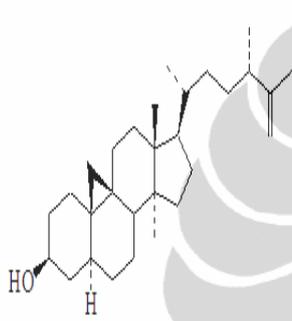
(35)



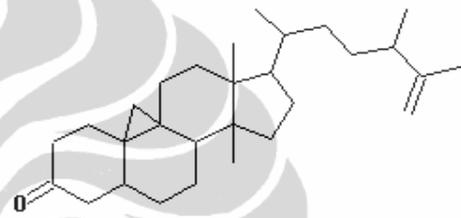
(36)



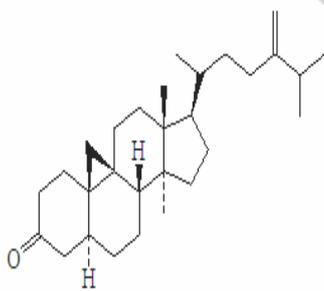
(37)



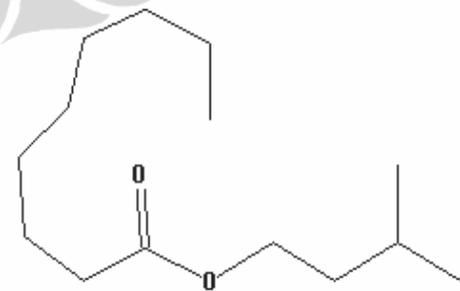
(38)



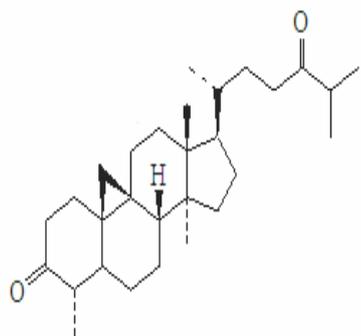
(39)



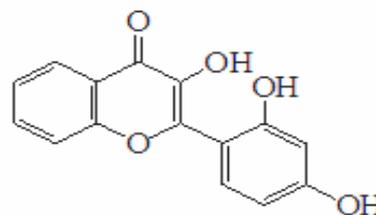
(40)



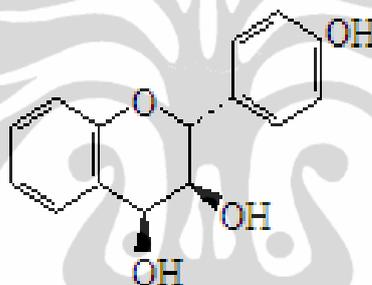
(41)



(42)

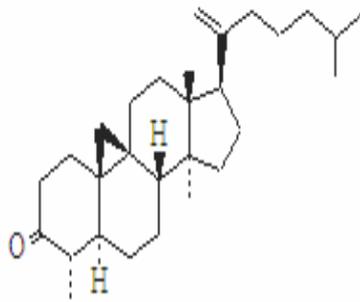


(43)

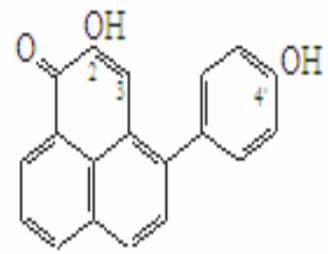


(44)

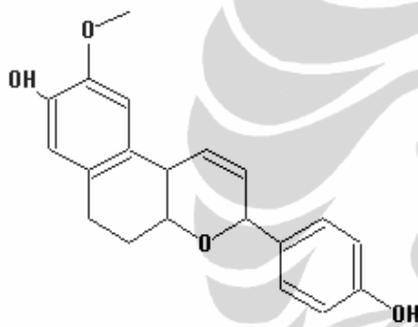
Beberapa senyawa yang diisolasi dari tanaman *Musa Paradisiaca* diantaranya 4,14-Dimethyl-9,19-cyclocholest-20-en-3-on **(45)** (Banerji, N. et al., 1982), 2-Hydroxy-4-(4-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-on (Irenolon) **(46)** (Luis, J.G. et al., 1999), 4a,5,6,10b-Tetrahydro-3-(4-hydroxyphenyl)-9-methoxy-3H-naphtho[2,1-b]pyran-8-ol **(47)** (Jang, D.S. et al., 2002), 4,14,24-Trimethylcholesta-8,25-dien-3-ol **(48)** (Dutta, P.K. et al., 1983), 1,2,3,4-Tetrahydro-6,7-dihydroxy-1-methylisoquinoline (Salsolinol) **(49)** (Francisco, M. et al., 2003), Sitoindoside I **(50)**, Sitoindoside II. -Sitosterol 6-oleoylglucoside **(51)** (Ali Shaiq, M. et al., 2002)



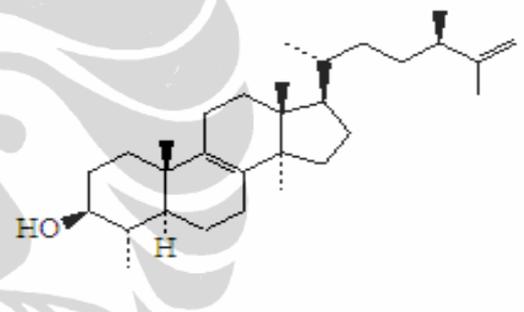
(45)



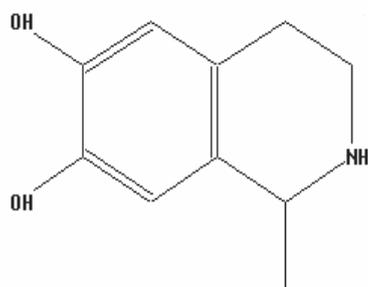
(46)



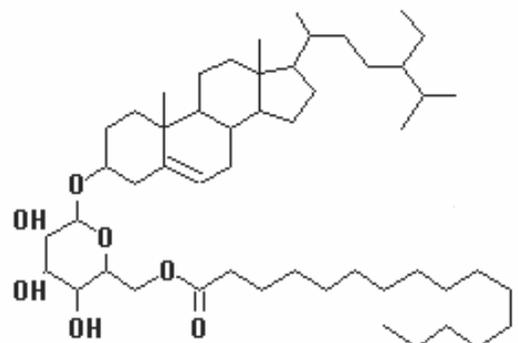
(47)



(48)

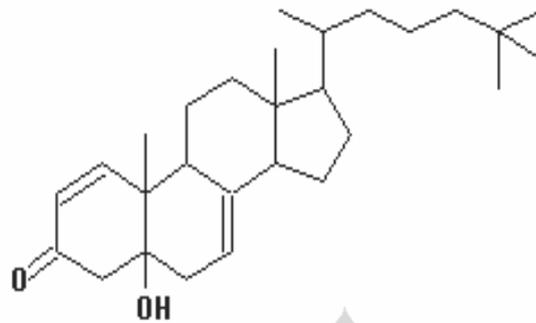


(49)



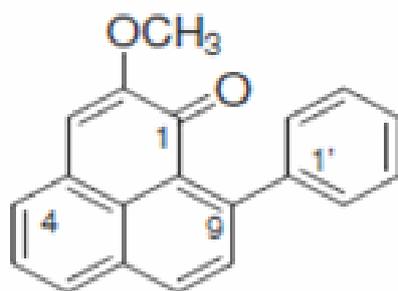
(50)



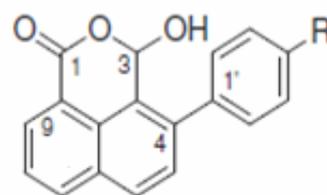


(56)

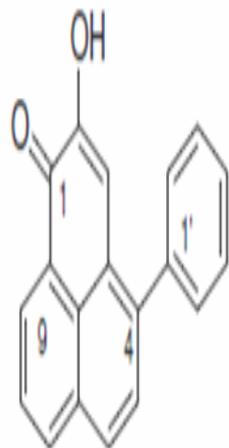
Beberapa senyawa yang diisolasi dari tanaman *Musa* cv. ,“Thepanom”, (BBB) diantaranya 3-Hydroxy-4-phenyl-1*H*,3*H*-benzo[*de*]isochromen-1-on (57), Methoxyanigorufon (58), Isoanigorufon (59), Anigorootin (60), 4-Hydroxyanigorootin (61), 4,4\_-Dihydroxyanigorootin (62), (Kusuma Jitsaeng et al.,2009)



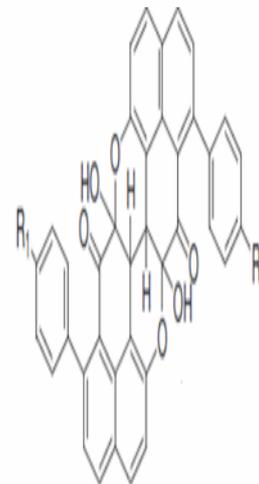
(57) R=H



(58)



(59)

(60)  $R_1, R_2 = H$ (61)  $R_1 = OH, R_2 = H$ (62)  $R_1, R_2 = OH$ 

## 2.2 Karakterisasi Senyawa

### 2.2.1 Maserasi

Analisis suatu senyawa organik dilakukan terhadap senyawa organik yang telah diisolasi dari bahan alam. Bahan alam yang dimaksudkan di sini adalah bagian dari tumbuhan yang telah dipilih untuk dilakukan isolasi.

Ada beberapa teknik isolasi senyawa bahan alam yang umum digunakan seperti maserasi, perkolasi, dan ekstraksi kontinu. Tetapi pada penelitian ini teknik isolasi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan metode perendaman sampel dengan pelarut organik, umumnya digunakan pelarut organik dengan molekul relatif kecil dan perlakuan pada temperatur ruangan, akan mudah pelarut terdistribusi ke dalam sel tumbuhan.

Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik, dan

ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

Metode maserasi ini sangat menguntungkan karena pengaruh suhu dapat dihindari, suhu yang tinggi kemungkinan akan mengakibatkan terdegradasinya senyawa-senyawa metabolit sekunder.

Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel (Djarwis, 2004). Salah satu kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 2004).

### **2.2.2 KLT**

Salah satu metode pemisahan yang sederhana ialah kromatografi lapis tipis (Hortettmann, 1986). Pada dasarnya prinsip pada KLT sama dengan kromatografi kertas hanya KLT mempunyai kelebihan yang khas dibandingkan dengan kromatografi kertas yaitu keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaannya.

KLT dapat dipakai dengan dua tujuan. Pertama, dipakai sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif, ataupun preparatif. Kedua, dipakai untuk menjajaki sistem pelarut dan sistem penyangga yang akan dipakai pada kromatografi kolom atau kromatografi cair kinerja tinggi/KCKT (Gritter, 1991). Analisis dari KLT dapat membantu menentukan pelarut terbaik apa yang akan dipakai dan berapa perbandingan antar pelarut yang akan digunakan sebagai fasa gerak pada kromatografi kolom.

Kromatografi lapis tipis sangat berhubungan dengan kromatografi kolom, hal ini karena fasa-fasa senyawa yang digunakan dalam teknik keduanya sama. Alumina dan silika gel adalah fasa diam yang biasa digunakan, dan fasa geraknya menggunakan eluen yang sama. Walaupun demikian, tetap terdapat perbedaan antara KLT dan kromatografi kolom.

Fasa gerak (cair) di dalam kromatografi kolom bergerak turun, sedangkan dalam KLT bergerak naik. Bahan fasa diam yang digunakan dalam kromatografi kolom yang berupa kolom digantikan dengan suatu lapisan tipis (tebalnya 100  $\mu\text{m}$ ) pada KLT, yang merata pada seluruh bagian permukaannya. Bahan-bahan dari gelas atau lembaran-lembaran plastic dapat digunakan sebagai bahan pendukung fasa diam untuk lapis tipisnya. Sangat dimungkinkan bagi kita untuk menyiapkan lembaran KLT yang dari gelas, tetapi untuk yang bahan pendukungnya plastik hanya tersedia secara komersil. Lembaran yang pendukungnya plastik sangat menarik karena dapat dipotong dengan gunting menjadi lembaran-lembaran yang lebih kecil dengan berbagai ukuran. Biasanya lembaran kecil itu berukuran 1×3 inci tetapi untuk lembaran yang lebih kecil dapat disesuaikan.

KLT mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya: waktu yang dibutuhkan tidak lama (2 – 5 menit) dan sampel yang dipakai hanya sedikit sekali (2 – 20  $\mu\text{g}$ ). Kerugiannya dengan menggunakan KLT adalah tidak efektif untuk skala industri. Walaupun lembaran KLT yang digunakan lebih lebar dan tebal, pemisahannya sering dibatasi hanya sampai beberapa miligram sampel saja (Mayo, 2000).

Larutan cuplikan atau sampel ditotolkan pada plat dengan pipet mikro atau injektor pada jarak 1 – 2 cm dari batas plat. Setelah kering plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak sampai pada batas tertentu. Proses pengembangan dikerjakan dalam wadah tertutup yang diisi eluen dan telah dijenuhi uap eluen agar dihasilkan pemisahan yang baik (Anwar, 1994). Langkah selanjutnya yaitu mengeringkan sisa eluen dalam plat, kemudian melakukan identifikasi yang dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu: pengamatan langsung (untuk noda/bercak yang tampak), dengan lampu ultraviolet, atau dengan pereaksi semprot penimbul warna (Anwar, 1994).

### **2.2.3 Kromatografi kolom**

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk teknik pemisahan tertentu. Cara yang asli telah diketengahkan pada tahun 1903 oleh Tsweet, ia telah menggunakannya untuk pemisahan senyawa-senyawa yang berwarna, dan nama

kromatografi diambilkan dari senyawa yang berwarna. Meskipun demikian pembatasan untuk senyawa-senyawa yang berwarna tak lama dan hampir kebanyakan pemisahan-pemisahan secara kromatografi sekarang diperuntukkan pada senyawa-senyawa yang tak berwarna, termasuk gas.

Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fasa yaitu satu fasa tetap (*stationary*) dan yang lain fasa bergerak (*mobile*), pemisahan-pemisahan tergantung pada gerakan relatif dari dua fasa ini. Cara-cara kromatografi dapat digolongkan dengan sifat-sifat dari fasa tetap, yang dapat berupa zat padat atau zat cair. Jika fasa tetap berupa zat padat maka cara tersebut dikenal kromatografi serapan (*absorption chromatography*); jika fasa tetap berupa zat cair, dikenal sebagai kromatografi partisi (*partition chromatography*). Kromatografi kolom termasuk ke dalam kromatografi serapan (Sastrohamidjojo, 2002).

Untuk kromatografi kolom dari larutan dibutuhkan tabung pemisah tertentu yang diisi dengan bahan sorpsi dan juga pelarut pengembang yang berbeda. Tabung pemisah yang diisi dengan bahan sorpsi disebut kolom pemisah. Tergantung dari masalah pemisahan dapat digunakan tabung filter dengan gelas berpori, yang pada ujung bawah menyempit (tabung Allihn) atau tabung gelas, yang pada ujung bawah menyempit dan dilengkapi dengan keran tetapi untuk tabung bola jarang digunakan.

Perbandingan panjang tabung terhadap diameter pada umumnya adalah 40:1. Pengisian tabung pemisah dengan adsorben, yang juga disebut kemasam kolom, harus dilakukan secara hati-hati harus rata. Aluminium oksida atau silika gel dapat diisikan kering ke dalam tabung pemisah. Agar pengisian rata, tabung setelah diisi divibrasi, diketok-ketok atau dijatuhkan lemah pada pelat kayu. Adsorben lainnya harus diisikan sebagai suspensi, terutama jika zat ini menggelembung dengan pelarut pengembang. Yang umum dilakukan adalah, adsorben dibuat seperti bubur dengan pelarut elusi, kemudian dimasukkan ke dalam tabung pemisah.

Sebagai bahan adsorpsi digunakan bahan yang sama dengan kromatografi lapis tipis yaitu silika gel, aluminium oksida, poliamida, selulosa, selanjutnya juga arang aktif dan gula tepung. Tergantung dari cara pengembangan dapat dibedakan kromatografi elusi, kromatografi garis depan, dan kromatografi pendesakan. Yang

paling sering digunakan adalah kromatografi elusi. Untuk itu larutan pekat senyawa yang diperiksa dimasukkan ke dalam kolom, kemudian pelarut elusi ditambahkan dan sedapat mungkin dibiarkan mengalir pada suhu dan kecepatan aliran yang konstan, sampai tercapai pemisahan. Campuran senyawa akan terpisah menjadi zona-zona. Zona adalah bagian kolom pemisahan yang mengandung senyawa yang ditentukan.

Pada kromatografi garis depan, larutan yang diperiksa ditambahkan pada kolom secara kontinyu. Larutan mengandung zat yang lebih kuat diadsorpsi dibandingkan pelarutnya. Yang akan mengalir keluar adalah pelarut murni, sampai seluruh kolom dilapisi zat yang larut. Karena zat ini saling mendesak, maka masing-masingnya akan tampak sebagai zona yang dibatasi tanpa ruang antara. Untuk pelaksanaan kromatografi pendesak juga mula-mula larutan pekat zat yang diperiksa ditambahkan dalam kolom. Kolom ini tidak dikembangkan dengan pelarut murni atau campuran pelarut elusi, tetapi dengan larutan zat yang lebih kuat diadsorpsi dari semua komponen yang diperiksa. Zat yang dinyatakan sebagai pendesak akan bekerja dengan menggeser semua komponen lain, yaitu zat yang hendak dipisahkan, yang kemudian masing-masingnya akan menjadi pendesak bagi yang berikutnya.

Zat yang bergerak cepat akan segera meninggalkan kolom selama proses kromatografi dan akan muncul di eluat yaitu dalam cairan yang keluar. Eluat ditampung dengan sejumlah tabung reaksi secukupnya, difraksinasi dan fraksi yang mengandung zat yang sama disatukan. Jika hasil yang keluar harus ditampung dalam porsi yang sangat banyak, maka digunakan penampung fraksi. Penampung fraksi adalah suatu peralatan otomatis sebagai pengganti tabung reaksi sebagai wadah penampung yang setelah satuan waktu tertentu yang dapat disetel setelah diperoleh suatu volume penuh tertentu akan berubah secara otomatis.

Zat yang bergerak lambat, selama proses kromatografi tidak terelusi. Zat ini akan tinggal tetap dalam kolom dan setelah berakhirnya pengembangan dan pemisahan mekanik kolom dielusi dan adsorben secara ekstraksi dengan pelarut yang sesuai. Kromatografi kolom pertama-tama digunakan untuk mendapatkan hasil zat murni secara preparatif dari campuran, tetapi kemudian digunakan untuk

pemisahan zat pada penentuan kuantitatif, untuk pemurnian pelarut organik dari senyawa yang mengadsorpsi lemak, bahkan untuk pemisahan diastereomer dan rasemat. Pemisahan rasemat tentu saja dengan menggunakan bahan sorpsi aktif optik (Kisman dan Ibrahim, 1998).

#### **2.2.4 Spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-Vis)**

Spektrofotometer ultraviolet (UV-VIS) dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan analisa kuantitatif, tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas. Senyawa-senyawa yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer UV-VIS adalah senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor. Spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk mengukur transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan elektronik. Transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan (orbital pasangan bebas) dengan orbital non ikatan (orbital anti ikatan). Keuntungan selektif dari spektrofotometer UV-VIS adalah dapat menentukan gugus karakteristik dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Parameter yang diperoleh dari spektrofotometer UV-VIS adalah harga panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{mak}}$ ) dan absorban (A) dari senyawa yang dianalisa.

#### **2.2.5 Spektrofotometer infra red (IR)**

Spektrofotometer inframerah dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik, tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas

Spektrofotometer inframerah berfungsi mengukur perubahan vibrasi ikatan antara atom-atom yang ada dalam senyawa organik. Parameter yang ditentukan adalah bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) dari puncak-puncak yang muncul pada spektrum inframerah.

#### **2.2.6 Spektrometer resonansi magnetik inti $^1\text{H}$ ( $^1\text{H}$ NMR)**

Spektrosfotokopi resonansi magnet inti didasarkan pada pengukuran absorpsi radiasi elektromagnetik pada daerah frekuensi radio 4 – 600 MHz atau panjang gelombang 75 – 0,5 m, oleh partikel (inti atom) yang berputar di dalam medan magnet. NMR bekerja secara spesifik sesuai dengan inti atom yang

dipakai.  $^1\text{H}$  NMR paling banyak dipakai karena inti proton paling peka terhadap medan magnet dan paling melimpah di alam (Hendayana, dkk, 1994). Fenomena resonansi magnet inti terjadi bila inti yang meyearahkan terhadap medan magnet yang digunakan direduksi untuk menyerap tenaga dan orientasi spin mereka berubah. Penyerapan tenaga adalah merupakan proses *quantinized*, dan tenaga yang diserap harus sama dengan perbedaan tenaga antara dua kedudukan yang terlibat.  $E$  yang diserap = (Ekedudukan  $-1/2$  – Ekedudukan  $+1/2$ ) =  $h\nu$  dalam praktek perbedaan tenaga ini adalah merupakan fungsi dari kekuatan medan magnet yang digunakan,  $H_0$ . Makin besar medan magnet yang digunakan, makin besar perbedaan tenaga antara kedudukankedudukan spin yang ada,  $\Delta E = f(H_0)$ . Besarnya pemisahan tingkatan tenaga juga tergantung pada inti yang terlibat.

Tenaga diserap oleh proton karena pada kenyataan bahwa mereka mulai “precess” (berputar miring) dalam medan magnet yang digunakan. Inti yang berputar akan mempunyai kelakuan yang sama oleh pengaruh medan magnet yang digunakan. Bila medan magnet diberikan, inti akan mulai presesi sekitar sumbu putarnya sendiri dengan frekuensi *angular*/sudut,  $\omega$ . Frekuensi saat mana proton akan presesi adalah berbanding langsung dengan kekuatan medan magnet yang digunakan.

Bila medan magnet yang digunakan lebih kuat, maka kecepatan presesi (frekuensi angular) lebih cepat. Untuk proton, jika medan magnet yang digunakan adalah 14.100 Gauss, maka frekuensi presesi akan sekitar 60 Mhz (masuk dalam frekuensi radio).

Karena inti mempunyai muatan, maka maka presesi menghasilkan getaran medan listrik dengan frekuensi yang sama. Jika gelombang frekuensi radio dari frekuensi yang sama ini digunakan terhadap proton yang berputar, maka tenaga dapat diserap. Bila frekuensi dari komponen medan listrik yang bergetar dari radiasi yang datang tepat sama dengan frekuensi dari medan listrik yang dihasilkan oleh inti yang berputar, dua medan magnet dapat bergabung, dan tenaga dapat dipindahkan dari radiasi yang datang ke inti, hingga menyebabkan muatan berputar. Keadaan ini disebut resonansi, dan dikatakan inti beresonansi dengan gelombang elektromagnetik yang datang.

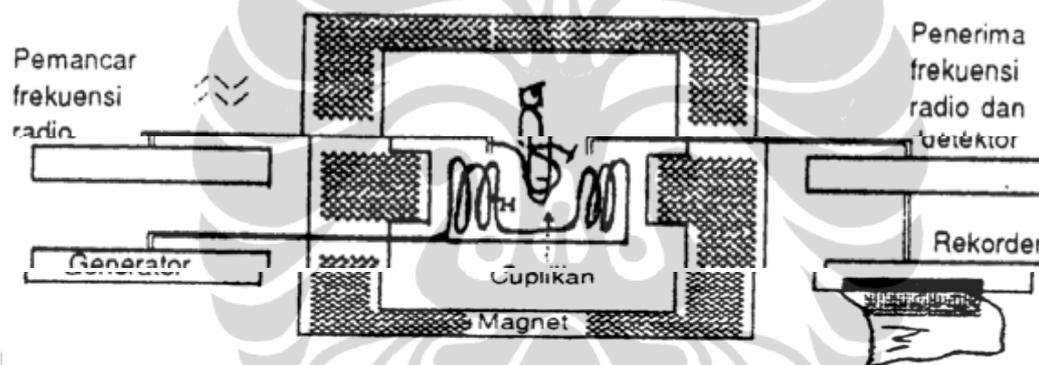
Kegunaan besar dari resonansi magnetik inti adalah karena tidak setiap proton dalam molekul beresonansi pada frekuensi yang identik sama. Ini disebabkan oleh kenyataan bahwa berbagai proton dalam molekul dikelilingi elektron dan menunjukkan sedikit perbedaan lingkungan elektronik dari satu proton dengan proton lainnya. Proton-proton dilindungi oleh elektron-elektron yang mengelilinginya. Di dalam medan magnet, perputaran elektron-elektron valensi dari proton menghasilkan medan magnet yang melawan medan magnet yang digunakan. Hingga setiap proton dalam molekul dilindungi dari medan magnet yang digunakan yang mengenainya dan bahwa besarnya perlindungan ini tergantung pada kerapatan elektron yang mengelilinginya. Makin besar kerapatan elektron yang mengelilingi inti, maka makin besar pula medan yang dihasilkan yang melawan medan yang digunakan. Akibat secara keseluruhan adalah inti/proton merasakan adanya pengurangan medan yang mengenainya. Karena inti merasakan medan magnet yang lebih kecil, maka ia akan mengalami presesi pada frekuensi yang lebih rendah. Setiap proton dalam molekul mempunyai lingkungan kimia yang sedikit berbeda dan mempunyai perlindungan elektron yang sedikit berbeda yang akan mengakibatkan dalam frekuensi resonansi yang sedikit berbeda.

Sehingga sangat sukar untuk mengukur secara tepat frekuensi resonansi untuk setiap proton. Namun demikian ada suatu usaha dengan menggunakan senyawa standar frekuensi yang ditambahkan dalam larutan senyawa yang akan diukur, dan frekuensi resonansi setiap proton dalam cuplikan diukur relatif terhadap frekuensi resonansi dari proton-proton senyawa standar. Dengan kata lain, perbedaan frekuensi diukur secara langsung. Hingga bila senyawa lain diukur, maka resonansi dari protonnya dicatat dalam pengertian berapa jauh (dalam Hz) mereka digeser dari proton-proton senyawa standar. Bilangan pergeseran (Hz) untuk proton akan tergantung pada kekuatan dari medan magnet yang digunakan.

Tetapi hal ini akan membingungkan jika memakai spectrometer yang berbeda dalam kekuatan medan magnet yang digunakan. Oleh sebab itu digunakan parameter baru yang tidak tergantung pada kekuatan medan. Dalam hal ini harga/bilangan pergeseran diperoleh dengan cara membagi pergeseran untuk

suatu proton yang sedang diamati (Hz) dengan frekuensi dari spektrometer (Hz), disebut pergeseran kimia ( $\delta$ ). Harga  $\delta$  untuk semua proton akan selalu sama tak tergantung apakah pengukuran dilakukan pada frekuensi spektrometer yang digunakan. Berdasarkan persetujuan, kebanyakan kimiawan melaporkan pergeseran kimia dalam satuan delta ( $\delta$ ), atau “parts per million” (ppm) terhadap frekuensi spektrometer yang dipakai. Spektrometer  $^1\text{H}$  NMR biasanya mencatat dari harga  $\delta$  yang tinggi ke harga yang rendah (Sastrohamidjojo, 2001).

Peralatan spektrometer NMR terdiri dari beberapa komponen: (1) pemancar frekuensi radio, (2) medan magnet, (3) tabung cuplikan, (4) penerima frekuensi radio dan detektor, dan (5) rekorder. Spektrometer NMR ditunjukkan secara skematik di dalam gambar 7 (Hendayana, dkk, 1994).



Gambar 2. Skema spektrometer NMR

Larutan cuplikan dalam tabung berputar dalam medan magnet yang disinari dengan energi frekuensi radio, energi yang dipancarkan diterima oleh penerima frekuensi radio. Spektrum yang diperoleh dari rekorder berupa puncak-puncak yang menunjukkan letak dan jumlah proton. Untuk menentukan struktur senyawa organik, tentu cuplikan yang diperiksa harus murni. Larutan Tetra Metil Silan (TMS) biasa dipakai sebagai standar pada NMR karena mempunyai kerapatan elektron yang paling tinggi, tapi bila tidak ada juga dapat menggunakan  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CCl}_4$ . Tabung berisi larutan cuplikan diputar di dalam medan magnet selama pengukuran spektrum NMR untuk menghomogenkan larutan (Hendayana, dkk, 1994).

### 2.2.7 Kromatografi gas (GC)

GC termasuk salah satu teknik analitik di laboratorium yang serba guna dan digunakan di mana-mana. Secara luas digunakan dalam penentuan senyawa organik. Ada dua jenis dari GC, yaitu jika fasa diamnya berupa zat padat disebut kromatografi gas-padat (GSC), dan jika berupa zat cair disebut kromatografi gas-cair (GLC). Biasanya yang disebut kromatografi gas yang banyak digunakan sekarang ini adalah yang kromatografi gas-cair (GLC) (Christian, 2004). Mekanisme pemisahan dalam GC mirip dengan proses ekstraksi.

Proses pemisahan dapat dipandang sebagai serangkaian dari partisi di mana cuplikan masuk ke dalam larutan dari fasa dan selang beberapa waktu akan teruapkan lagi. Jadi fasa cair menahan molekul-molekul cuplikan.

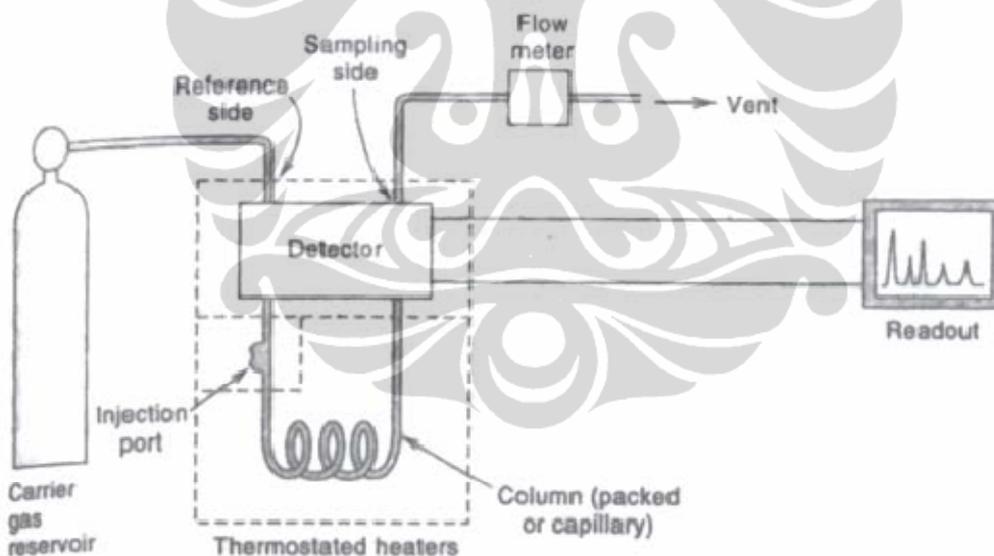
Afinitas cuplikan terhadap fasa cair menentukan beberapa lama cuplikan ditahan. Senyawa-senyawa yang mempunyai afinitas rendah (tidak suka) terhadap fasa diam akan keluar dari kolom pertama. Sedangkan senyawa-senyawa dengan afinitas besar (larut dengan baik) terhadap fasa diam akan keluar dari kolom kemudian. Afinitas ini didasarkan pada kelarutan cuplikan terhadap fasa diam. Jika kita memasukkan senyawa tunggal ke dalam GC, maka senyawa tersebut akan teruapkan dan terlarut dalam gas pengangkut. Jika senyawa ini masuk ke dalam kolom, ia akan ditarik oleh fasa cair (stationer). Kemudian akan dipartisikan sesuai dengan hukum Nernst. Konsentrasi senyawa dalam fasa bergerak  $k =$  konsentrasi senyawa dalam fasa diam  $k$ , merupakan tetapan kesetimbangan, selama suhu dalam kolom tetap.

Dalam hal cuplikan mengandung lebih dari satu senyawa, maka setiap senyawa mempunyai harga  $k$  sendiri-sendiri. Harga  $k$  tergantung pada; (1) Volatilitas kemudahan menguap dari senyawa dan (2) Afinitas dari cuplikan terhadap fasa diam dalam GC akan banyak membicarakan tentang waktu retensi dan pemisahan  $R$  (*rotation*). Waktu retensi ( $t_R$ ) didefinisikan sebagai waktu dimana cuplikan ditahan oleh kolom mulai injeksi sampai terpisah dari fasa diam.  $R$  didefinisikan sebagai pemisahan nyata antara dua puncak yang berdekatan dalam kromatogram. Hal ini terjadi karena dalam prakteknya kita tidak mungkin mendapatkan puncak ideal yang berupa garis lurus dan tipis dalam kromatogram melainkan dalam bentuk kurva-kurva (Kurva Gauss), pelebaran

kurva, atau yang lebih jelek menghasilkan puncak-puncak yang berekor atau pemanjangan di muka. Hal ini disebabkan adanya kenyataan-kenyataan berikut:

1. Difusi Eddy: disebabkan oleh kenyataan bahwa kecepatan gas dalam kolom tidak sama di dalam seluruh kolom karena adanya bagian-bagian dari pori yang dilalui tidak sama panjang (*multipath effect*).
2. Difusi molekular: terutama dalam fasa gas, molekul-molekul cuplikan dapat bergerak dalam arah yang salah yang disebabkan oleh difusi.
3. Kesetimbangan yang lambat: disebabkan ada beberapa molekul tinggal lama dalam fasa diam, lainnya sebentar. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan-perbedaan suhu yang kecil.
4. Harga  $k$  tidak tetap: ini disebabkan perbedaan rasio distribusi dalam kolom (Sastrohamidjojo, 2002).

Diagram skematik dari instrumen GC ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 3. Diagram skematik instrumen GC (Christian, 2004).

Instrumen GC terdiri dari gas pembawa, pengatur kecepatan alir gas, tempat injeksi, kolom, detektor, dan rekorder. Gas pembawa biasanya menggunakan  $N_2$ , He, atau Ar. Kolom terbagi menjadi dua macam, berbentuk kolom rapat (diameter 3 – 6 mm, panjang 1 – 2 m), dimana fasa diamnya dibuat

merapat di seluruh permukaan kolom dan kolom kapiler (diameter 0,05 – 0,53 mm, panjang 10 – 100 m) dimana fasa diamnya dilapiskan pada dinding kolom dengan ketebalan 0,1 – 1  $\mu\text{m}$ , sehingga bagian tengahnya berlubang (Meloan, 1999).

### 2.3 Antioksidan

Anti oksidan adalah senyawa atau zat dalam konsentrasi kecil secara bermakna dapat mencegah atau menunda oksidasi oleh radikal bebas (Wijaya dkk.1997). Oksidasi adalah suatu reaksi kimia yang melibatkan penambahan oksigen atau kehilangan satu atau beberapa elektron dari satu atom. Reaksi oksidasi itu dapat menimbulkan kerugian baik di luar maupun didalam tubuh. Diluar tubuh, oksigen dari udara akan bereaksi langsung dengan senyawa organik pada makanan yang mengandung asam lemak tidak jenuh sehingga menyebabkan tengik dan tumbuhnya mikroba pembusuk. Di dalam tubuh akan terjadi pembakaran dan terbentuk radikal bebas. Bila radikal bebas dalam jumlah banyak akan bersifat racun bagi tubuh (Wijaya dkk. 1997).

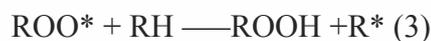
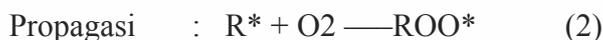
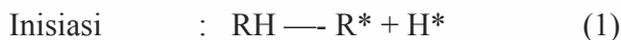
#### 2.3.1 Mekanisme reaksi antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Untuk mempermudah pemahaman tentang mekanisme kerja antioksidan perlu dijelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi.

Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1).

pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2).

Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3).



Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggungjawab atas flavor makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4)



Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Dari berbagai antioksidan yang ada, mekanisme kerja serta kemampuannya sebagai antioksidan sangat bervariasi. Seringkali, kombinasi beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) terhadap oksidasi dibanding dengan satu jenis antioksidan saja. Sebagai contoh asam askorbat seringkali dicampur dengan antioksidan yang merupakan senyawa fenolik untuk mencegah reaksi oksidasi lemak.

Adanya ion logam, terutama besi dan tembaga, dapat mendorong terjadinya oksidasi lemak. Ion-ion logam ini seringkali diinaktivasi dengan penambahan senyawa pengkelat dapat juga disebut bersifat sinergistik dengan antioksidan karena menaikkan efektivitas antioksidan utamanya.

Suatu senyawa untuk dapat digunakan sebagai antioksidan harus mempunyai sifat-sifat : tidak toksik, efektif pada konsentrasi rendah (0,01-0,02%), dapat terkonsentrasi pada permukaan/lapisan lemak (bersifat lipofilik) dan harus dapat tahap pada kondisi pengolahan pangan umumnya.

### 2.3.2 Fungsi antioksidan

Tujuan penambahan antioksidan dalam jumlah tertentu adalah untuk mencegah atau memperlambat terjadinya proses autooksidasi. Antioksidan dapat berperan pada setiap proses autooksidasi. Pada tahapan inisiasi dimana mulai terbentuk radikal bebas, penambahan antioksidan berfungsi sebagai senyawa yang dapat menyerap sinar UV (*UV absorber*), atau senyawa yang dapat meniadakan aktivitas dari ion logam (*metal deactivator*). Pada tahapan berikutnya yaitu propagasi dimana terjadi perubahan radikal bebas menjadi radikal bentuk lain penambahan antioksidan dimaksudkan untuk memutus rantai pembentukan radikal baru tersebut. Senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan antara lain merupakan donor hidrogen atau akseptor electron, yang dapat mengubah radikal aktif menjadi bentuk lain yang lebih stabil. Sedangkan pada tahapan terakhir yang dikenal dengan tahapan terminasi dimaksudkan agar tidak terbentuk produk baru yang lebih stabil dengan sifat berbeda dengan senyawa asalnya. Dengan demikian penambahan antioksidan dapat pada setiap tahap yang meliputi tahapan inisiasi, propagasi dan terminasi.

### 2.3.3 Klasifikasi antioksidan

Terdapat beberapa cara yang dapat digunakan untuk mengklasifikasi antioksidan. Menurut Winarno (1984) mengklasifikasikan antioksidan berdasarkan sumbernya, Ketaren (1986) antioksidan dapat dikelompokkan berdasarkan perbedaan gugus yang terikat pada cincin benzena. Sedangkan Gordon (1990) mengklasifikasikan antioksidan berdasarkan mekanisme reaksi.

#### 2.3.3.1 Klasifikasi antioksidan berdasarkan sumbernya

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik.

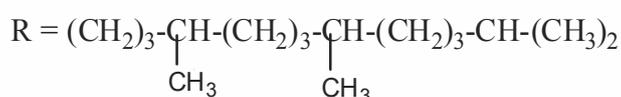
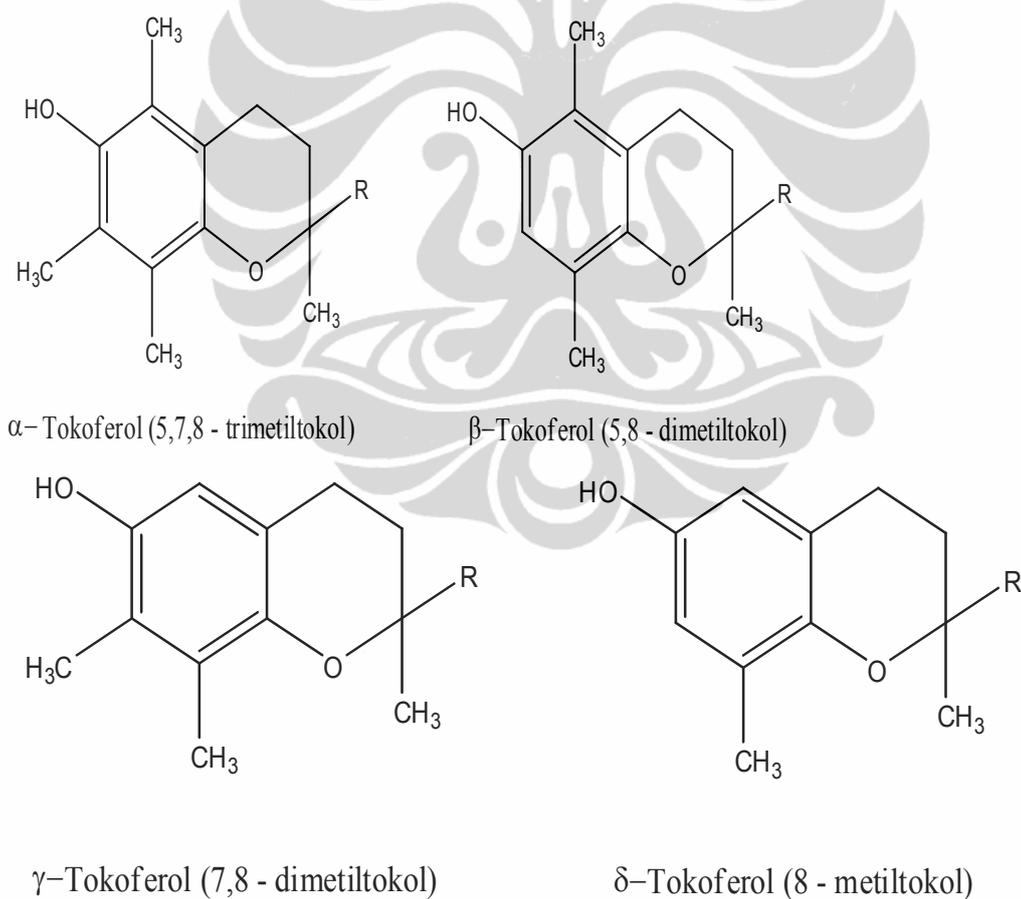
##### a. Antioksidan alami

Antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh dari bahan alam. Senyawa antioksidan yang termasuk ke dalam antioksidan alami antara lain ialah tokoferol. Tokoferol yang disebut juga dengan vitamin E merupakan antioksidan alami yang paling banyak ditemukan dalam minyak nabati dan terdapat dalam

bentuk  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  dan  $\sigma$  tokoferol. Tokoferol mempunyai banyak ikatan rangkap sehingga akan melindungi lemak dari proses oksidasi (Winarno,1984).

Martin et al (1987), mengatakan bahwa vitamin E memiliki paling sedikit dua peranan metabolik yaitu sebagai antioksidan alam yang paling kuat dan larut dalam lemak serta memainkan peran spesifik dalam metabolisme selenium. Tokoferol bekerja sebagai antioksidan pemutus rantai sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolik ke radikal peroksil. Radikal fenoksi yang terbentuk merupakan resonant-stabilized dan relatif tidak bereaksi kecuali dengan radikal peroksil lain.

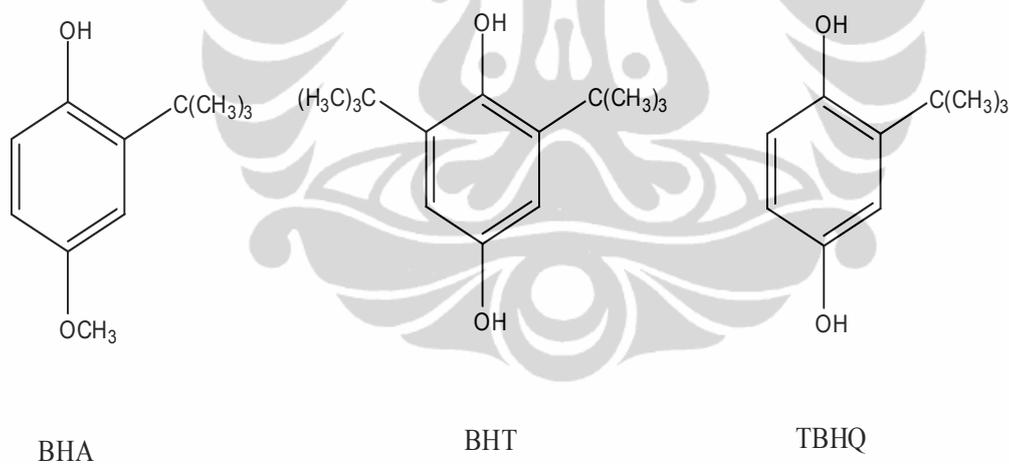
Struktur dari keempat jenis tokoferol tersebut adalah sebagai berikut :



## b. Antioksidan Sintetik

Winarno, (1984) menuliskan bahwa antioksidan sintetik yang sering digunakan adalah *Butylated hydrokxyanisole* (BHA), *Butylated hidroxytoluene* (BHT), *Propylgalate* (PG), *Tert-Butyl Hydroquinone* (TBHQ) dan *Nordihydroquaretic Acid* (NDGA). Antioksidan sintetik tersebut biasa ditambahkan ke dalam lemak atau bahan pangan dengan tujuan untuk mencegah ketengikan. *Butylated hydrokxyanisole* (BHA) biasanya digunakan sebagai antioksidan dalam bahan pangan. BHA ini sangat mudah mengalami degradasi oleh panas, irradiasi oleh sinar UV. *Butylated hidroxytoluene* (BHT) biasanya ditambahkan pada bahan pangan dengan tujuan mencegah terjadinya proses autooksidasi. BHT ini merupakan salah satu antioksidan monofenolik. Sedangkan *Tert-Butyl Hydroquinone* TBHQ merupakan antioksidan difenolik yang biasa ditambahkan pada makanan.

Struktur dari BHA , BHT dan TBHQ sebagai berikut :



BHA

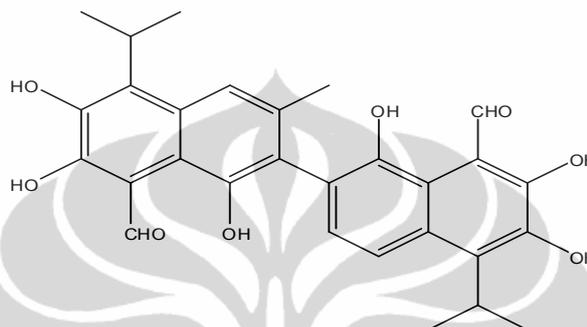
BHT

TBHQ

### 2.3.3.2 Berdasarkan Perbedaan gugus yang terikat pada cincin benzena

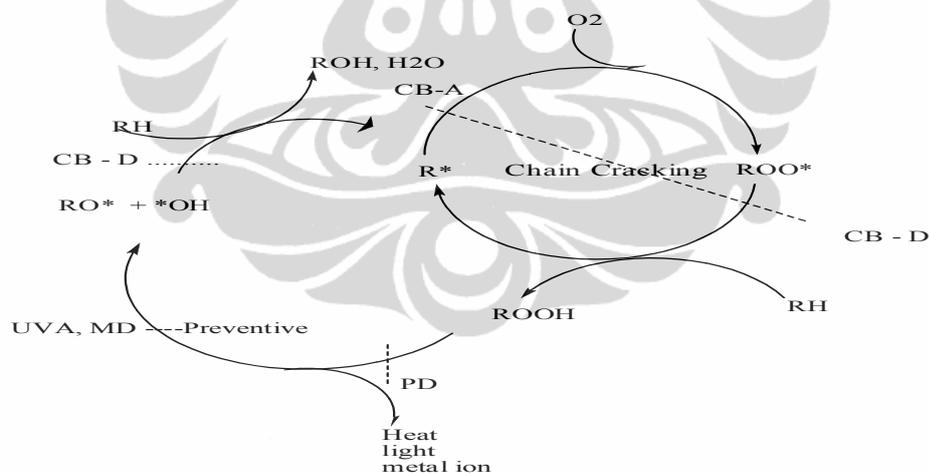
Ketaren (1986) mengatakan bahwa pada umumnya antioksidan mengandung struktur inti yang sama, yaitu mengandung cincin benzena tidak jenuh disertai gugus hidroksi atau amino. Berdasarkan perbedaan gugus fungsi tersebut, antioksidan dapat digolongkan menjadi tiga yaitu golongan fenolik, golongan amina dan golongan amino fenol.

Antioksidan golongan fenol meliputi sebagian besar antioksidan yang dihasilkan alam, mempunyai intensitas rendah dan kadang – kadang tidak berwarna. Antioksidan tersebut banyak digunakan dalam industri pangan, karena sifatnya yang tidak beracun. Struktur senyawa antioksidan golongan fenol yang sering dijumpai antara lain adalah gossipol dengan struktur sebagai berikut :



### 2.3.3.3 Berdasarkan mekanisme reaksi

Secara skematis mekanisme reaksi dari antioksidan dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 4. Mekanisme reaksi antioksidan

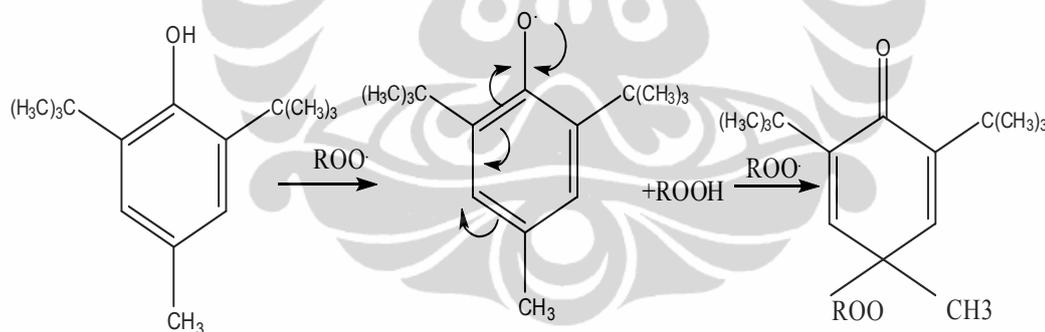
Ket:

CB-A : Chain Breacking Acceptor	CB-D : Chain Breacking Donor
PD : Peroxide Decomposer	UVA : Ultra Violet Absorber
MD : Metal Deactivator	Sumber : Bull. Cem. Soc.Jap. 61: 165-170

Berdasarkan mekanisme reaksi, antioksidan terbagi menjadi dua macam yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder.

#### a. Antioksidan Primer

Menurut Gordon (1990), antioksidan primer adalah antioksidan yang proses reaksinya terjadi pemutusan rantai radikal bebas yang sangat reaktif dan diubah menjadi senyawa yang stabil atau tidak reaktif. Antioksidan ini dapat berperan sebagai donor hidrogen atau CB-D (Chain breaking donor) dan dapat berperan sebagai akseptor elektron atau CB-A (Chain breaking acceptor). Winarno (1984) mengatakan, antioksidan primer adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal bebas yang melepaskan hidrogen. Antioksidan primer ini dapat berasal dari alam atau sintetis. Salah satu contoh antioksidan primer adalah *Butylated hidroxytoluene* (BHT). Adapun mekanisme reaksinya sebagai antioksidan primer dapat dilihat pada skema berikut ini:



Mekanisme reaksi antioksidan dari BHT

#### b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder adalah suatu zat atau senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan. Prooksidan adalah suatu senyawa yang dapat mempercepat terjadinya proses oksidasi. Senyawa yang tergolong antioksidan sekunder ini bersifat sinergis, yaitu interaksi antara dua antioksidan yang dapat meningkatkan efektifitas antioksidan tersebut. Mekanisme reaksi sebagai antioksidan yang terjadi dapat berupa penyerapan terhadap sinar UV (*UV absorber*), sebagai contoh

senyawa flavonoid. Mekanisme lain dapat berupa deaktivator dari ion logam (*metal deactivator*), yaitu melalui pembentukan senyawa kompleks, contoh dalam bidang farmasi yang sering digunakan adalah etilendiamintetraasetat (EDTA), asam sitrat, asam tartrat dan beberapa asam amino. Asam – asam organik tertentu, biasanya dikarboksilat atau trikarboksilat dapat mengikat logam – logam (*sequestran*), sebagai contoh salah satu molekul asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe seperti yang dilakukan pada minyak kedelai. Etilendiamintetraasetat (EDTA) adalah sequestran logam yang sering digunakan dalam minyak salad (Winarno, 1984).

#### 2.4 Uji Toksisitas

Meyer dkk. (1992) menemukan salah satu cara yang cepat dan murah skrining dan fraksinasi fisiologi aktif dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan yang sangat kecil berkulit tebal, yaitu udang laut (brine shrimp) *Artemia salina* Leach. Uji ini mengamati mortalitas larva udang yang disebabkan oleh senyawa uji. Senyawa uji yang aktif akan menghasilkan mortalitas yang tinggi

Uji aktifitas farmakologi dari ekstrak tanaman sangat tepat menggunakan uji ini. Uji toksitas dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach memiliki spektrum aktifitas farmakologis yang luas, prosedurnya sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya. Lebih jauh lagi, metode ini sering dikaitkan dengan metode penapisan senyawa anti kanker. Dengan alasan-alasan tersebut, maka uji ini digunakan secara luas dalam penelitian bahan alam. Data yang diperoleh akan diolah untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$  dengan selang kepercayaan 95% menggunakan Probit Analysis Method. Toksisitas suatu senyawa cukup berarti bila  $LC_{50} \leq 30$  ppm.

## BAB III METODA PENELITIAN

### 3.1 BAHAN DAN ALAT

#### 3.1.1 Tanaman

Bagian tanaman yang diteliti adalah batang tandan tanaman *Musa paradisiaca* yang dikumpulkan dari daerah Sukabumi pada bulan Januari 2010

#### 3.1.2 Bahan kimia:

- a. Ammoniak pekat
- b. Asam cuka pekat
- c. n-heksan
- d. Etil asetat
- e. Metanol
- f. Etanol 96%
- g. Silika gel GF 254 untuk kromatografi kolom
- h. Plat TLC
- i. Reagen dragen dorff

#### 3.1.3 Alat-alat

- a. Peralatan gelas: Erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, corong, pipet tetes dan termometer
- b. Neraca elektrik
- c. Seperangkat alat penghalus tandan pisang (blender)
- d. Seperangkat alat destilasi
- e. Seperangkat almari pengering oven
- f. Seperangkat alat evaporator
- g. Seperangkat alat kromatografi lapisan tipis
- h. Seperangkat alat kromatografi kolom
- i. Lampu uv > 254 nm dan > 366 nm
- j. Seperangkat alat GC – MS
- h. Seperangkat alat spectrometer Resonansi Magnetik Inti

## 3.2 Cara Kerja

### 3.2.1 Penyiapan sampel

Sebanyak 5 kg tandan pisang ambon dibersihkan, dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50<sup>0</sup> C. Setelah itu diblender hingga menjadi serbuk.

### 3.2.2 Maserasi

Rendam 500 gram serbuk tandan pisang ambon dalam etanol dengan asam setat, diaduk biarkan selama 2 hari. Setelah didiamkan kemudian disaring, filtrat dikumpulkan menjadi satu untuk dievaporasi sampai seperempat volume asal. Setelah agak kental, endapkan residu dengan meneteskan NH<sub>4</sub>OH pekat. Saring endapan, cuci endapan dengan NH<sub>4</sub>OH 1%, kemudian endapan dikeringkan dalam almari pengering (oven) pada suhu 45<sup>0</sup> C. Kemudian dilanjutkan dengan melakukan kromatografi kolom.

### 3.2.3 Penapisan Fitokimia

Terhadap ekstrak etanol yang diperoleh, terlebih dahulu dilakukan penapisan fitokimia untuk mendapatkan gambaran kandungan senyawanya. Uji yang dilakukan meliputi uji alkaloid, uji aglikon flavonoid, uji saponin, uji tannin, uji sterol dan terpenoid.

Uji alkaloid : Ekstrak etanol dilarutkan dalam 2 ml HCL 2%, dipanaskan sambil dikocok, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh sebagian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer terjadi endapan putih dan sebagian lagi ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff terjadi endapan jingga. Terjadinya endapan putih dengan pereaksi Mayer dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Uji aglikon flavonoid : Ekstrak etanol dilarutkan dalam 2 ml metanol 50% dengan pemanasan. Kemudian ditambahkan serbuk Mg dan 4-5 tetes HCl pekat, akan

terjadi warna merah atau jingga. Hal ini menunjukkan adanya senyawa aglikon flavonoid.

Uji saponin : Ekstrak etanol dilarutkan dalam air pada tabung reaksi dan dikocok berulang ulang. Terjadi busa setinggi lebih dari 1 cm dan tetap stabil selama lebih dari 15 menit, menunjukkan adanya senyawa saponin.

Uji tannin : Ekstrak etanol dilarutkan dalam air 10 ml, kemudian dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan kedalam tabung reaksi, pada tabung reaksi ditambahkan beberapa tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%, terjadi warna hijau kehitaman, menunjukkan adanya senyawa tannin.

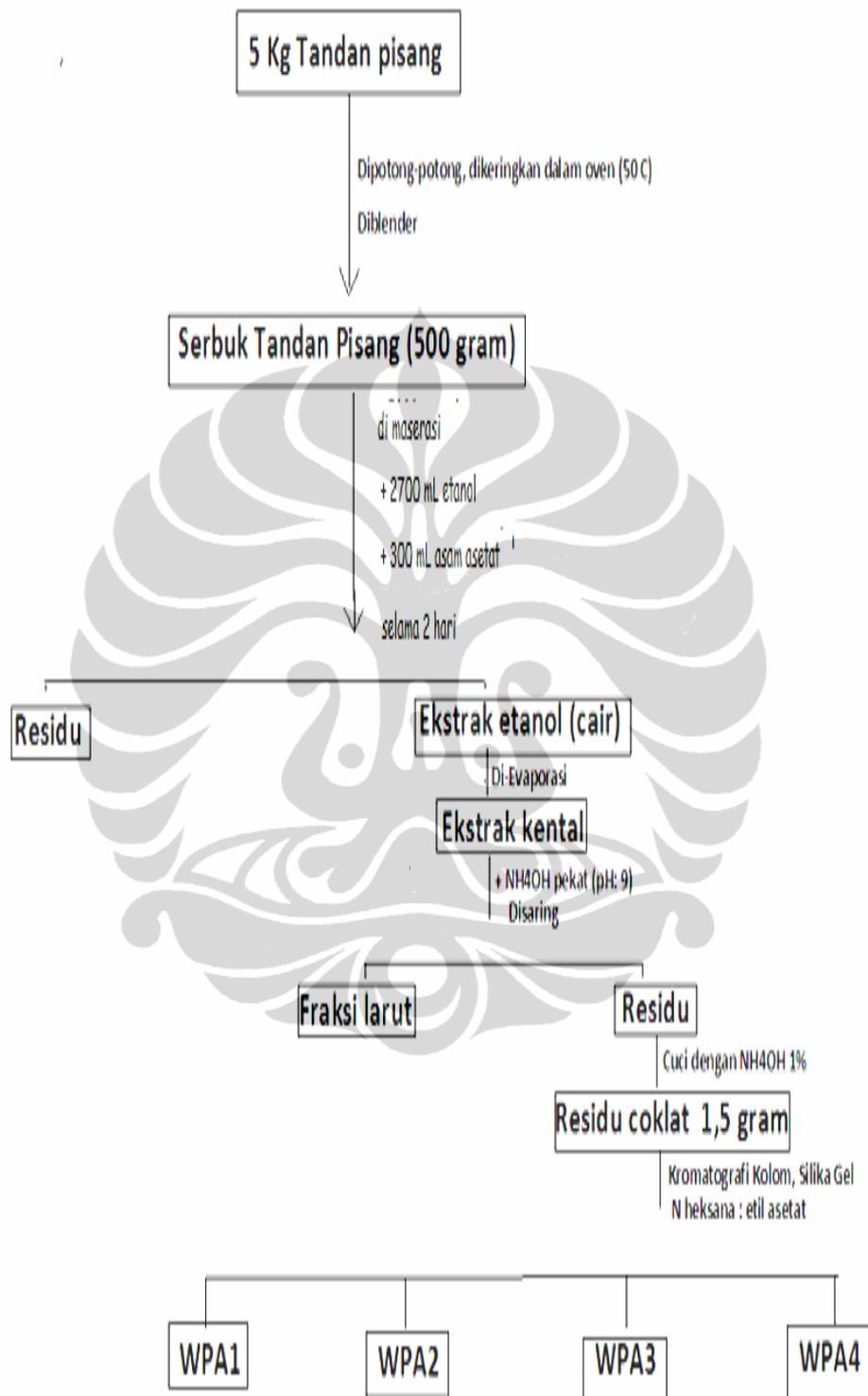
Uji sterol dan terpenoid : Ekstrak etanol ditambahkan larutan eter, diuapkan dalam cawan penguap, kedalam residu ditambahkan 2 tetes anhidrida asetat, lalu ditambahkan perlahan lahan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat (reaksi Liebermann-Burchard). Terjadi warna hijau tua, menandakan adanya senyawa sterol atau terpenoid.

#### **3.2.4 Kromatografi kolom**

Sebelum melakukan kromatografi kolom terlebih dahulu membuat fasa diam, yaitu memasukkan fasa gerak, larutan heksan kedalam kolom hingga  $\frac{3}{4}$  tinggi kolom, memasukkan serbuk silica gel sedikit demi sedikit hingga pada ketinggian fase gerak. Selanjutnya memasukkan ekstrak yang lebih kental dan pekat pada permukaan fasa diam yang sudah rata. Mengalirkan aliran pada kecepatan 50 tetes permenit. Menampung fraksi dalam botol sampai 100 ml, setiap interval 5-10 botol di KLT, pengembang heksan : etil asetat (50:50) untuk botol yang mengandung fraksi akhir dikumpulkan menjadi satu dan kemudian diuapkan hingga terbentuk kristal.

#### **3.2.5 Instrumentasi**

Deteksi dan analisis dengan GC, Spektrofotometer IR, Spektrometer  $^1\text{H}$  NMR dan spektrofotometer UV-Vis.



Gambar 5. Bagan isolasi tandan tanaman *Musa paradisiaca*

### 3.2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji anti oksidan dilakukan terhadap fraksi – fraksi berkali – kali sampai diperoleh isolat dengan aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Selanjutnya zat tersebut baru dikarakterisasi.

Adapun langkah – langkah pengujian aktivitas antioksidan meliputi :

#### 1. Pembuatan larutan DPPH 0,5 M

Menimbang dengan teliti 3,9 mg DPPH ( Mr : 394,32 ), kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL methanol p.a. Larutan disimpan dalam botol gelap, Persiapan Larutan dan Uji Aktivitas Antioksidan

Ditimbang sebanyak 4 mg sampel kemudian dilarutkan dalam 4 mL methanol (1000 ppm). Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, dan 100 dan 200 ppm, dengan cara memipet 25  $\mu$ L, 125  $\mu$ L, 250  $\mu$ L dan 500  $\mu$ L larutan induk ke dalam tabung reaksi, kemudian masing – masing ditambahkan 500  $\mu$ L larutan DPPH 0,5 mM dan diencerkan dengan methanol sampai 2,5 mL. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm, pada waktu 0 menit sampai dengan 30 menit dengan interval pengukuran setiap 5 menit. Aktivitas antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel. Nilai serapan larutan DPPH terhadap sample tersebut dinyatakan dengan persen inhibisi (%inhibisi) dengan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{sampel}})}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan :  $\text{Abs}_{\text{kontrol}}$  = Absorbansi kontrol setelah 30 menit

$\text{Abs}_{\text{sampel}}$  = Absorbansi sampel setelah 30 menit

Selanjutnya nilai hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan linier dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis ( sumbu X ) dan nilai % inhibisi sebagai ordinatnya ( sumbuY ). Nilai IC 50 dari perhitungan artinya pada saat persentase inhibisi sebesar 50 %.

### 3.2.7 Pengujian aktivitas biologi

Pengujian aktivitas biologi dilakukan terhadap semua senyawa yang diperoleh pada penelitian ini. Pengujian aktivitas biologi berupa uji toksisitas terhadap udang *Artemia salina* Leach. Uji toksisitas terhadap udang *Artemia salina* Leach dilakukan sesuai dengan metoda Meyer. Uji toksisitas udang *Artemia salina* Leach (Brine Shrimp Lethality Test).

#### a. Penetasan *Artemia salina* Leach

Telur udang diletakkan di dalam tempat yang telah diisi dengan air berkadar garam 15 permil. Digunakan juga aerator yang berfungsi untuk mensuplai oksigen yang dibutuhkan untuk Penetasan. Larva berumur 48 jam siap digunakan untuk uji toksisitas.

#### b. Penyiapan larutan yang akan diuji

Senyawa murni yang akan diuji disiapkan pada konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ , 500  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ .

#### c. Uji toksisitas metoda Meyer.

Senyawa yang telah diuapkan hingga kering dalam vial, kemudian ditambahkan air berkadar garam 15 permil secukupnya, lalu sepuluh larva udang dipindahkan ke dalam masing-masing vial dan ditambahkan air garam hingga 5 ml. Untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali Pengulangan, sedangkan untuk control dilakukan tanpa penambahan senyawa uji. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Nilai  $LC_{50}$  ditentukan dengan program computer sederhana untuk analisis probit pada taraf kepercayaan 95 %.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Penapisan fitokimia

Tabel I. Hasil penapisan ekstrak etanol tandan pisang

Jenis Senyawa	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	+	Endapan putih Endapan jingga kecoklatan
Saponin	+	Ada busa
Tannin	+	Hijau kehitaman
Aglikon flavonoid	+	Merah atau jingga
Sterol atau Terpenoid	+	Hijau tua

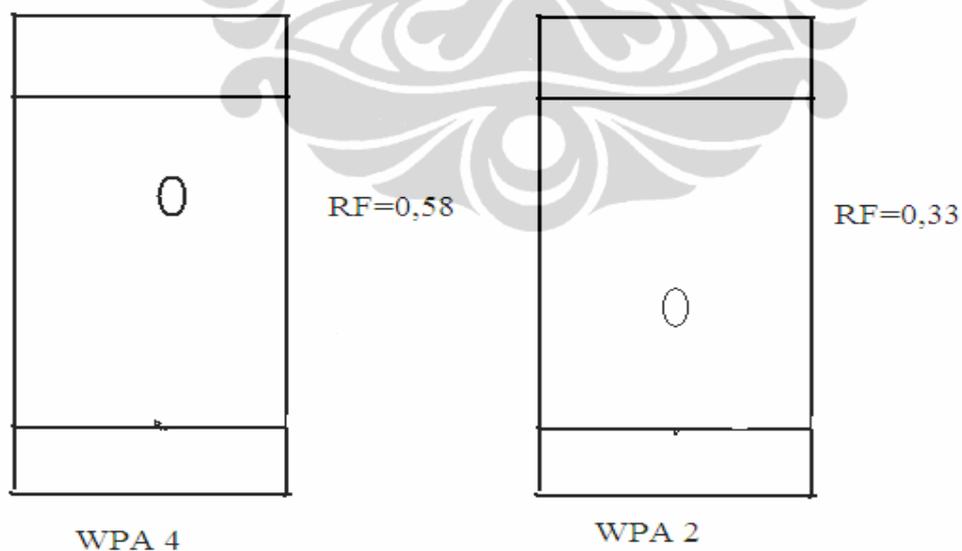
#### 4.2 Isolasi senyawa

Tabel II. Hasil Kromatografi Kolom

Fraksi hasil kolom	Eluen KLT n-heksan : etil asetat	Massa fraksi Hasil kolom (miligram)	Keterangan
1 - 22	99 : 1	17,50	
23 - 36	98 : 2	143,30,	Berbentuk minyak
37 - 40	98 : 2	66,30	Kristal jarum putih
41 - 53	96 : 4	120.30	Kristal jarum putih WPA 4, Rf = 0,58
54 - 57	90 : 10	95,30	Kristal kuning muda
58 - 63	90 :10	51,20	Endapan kuning

Tabel II (lanjutan)

64 - 70	85 : 15	53,80	Endapan coklat
71 - 79	80 : 20	129,20	Endapan kuning
80 - 83	75 : 25	33,90	Endapan coklat
84	70 : 30	5,70	Endapan kuning muda
85 - 89	65 : 35	11,20	Endapan coklat
90 - 92	60 : 40	22,80	Endapan coklat muda
93	55 : 45	51,20	Endapan merah WPA 2, $R_f = 0,33$
94 - 98	30 : 70	26,40	Endapan orange
99 - 114	etil asetat 100%	32,80	Kristal putih
115 - 122	Etil asetat : Metanol 99 : 1	24,10	Endapan coklat tua



Gambar 6 Hasil KLT dari fraksi 4 (WPA 4) dan fraksi 13 (WPA 2) dengan pelarut pengembang WPA 4 (n-heksan:etil asetat 96:4), WPA 2 (n-heksan:etil asetat 55:45)

### 4.3 Penentuan Struktur Molekul

Hasil isolasi senyawa dari ekstrak etanol tandan *Musa paradisiaca* diperoleh 2 senyawa yaitu WPA 2 dan WPA 4. Untuk menentukan struktur senyawa-senyawa tersebut diatas dilakukan dengan menganalisis data spektroskopi : massa (MS), inframerah, UV, resonansi magnetik inti proton ( $^1\text{H-NMR}$ ), resonansi magnetik inti karbon ( $^{13}\text{C-NMR}$ ) dan spektroskopi NMR-2D meliputi COSY, HMQC, ROESY dan HMBC. Adapun data spektroskopi untuk senyawa hasil isolasi adalah:

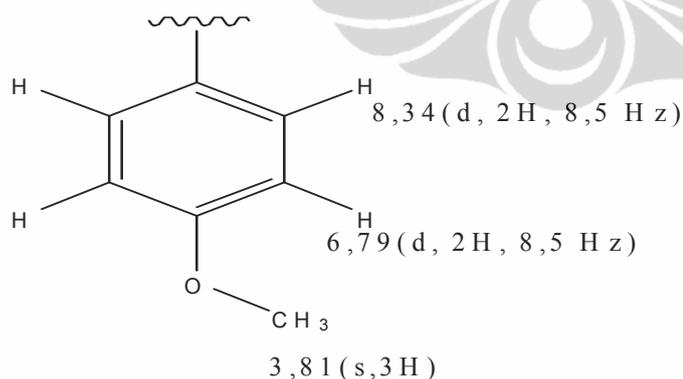
*Senyawa WPA2: diperoleh sebagai kristal berwarna kemerahan, t.l. = 221-222<sup>o</sup> C; IR,  $\nu_{\max}$  = 1626 (C=aromatic), 1271 (C-O-C), 1732  $\text{cm}^{-1}$  (C=O). Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO)  $\delta_{\text{H}}$  = 8,29 (1H, d, J=8,5 Hz), 8,01 (1H, d, J=8,5), 7, 86 (1H, d, J=8,5), 7,65 (1H, t, J=8,5), 7,61 (1H, d, 8,5), 7,21 (1H, s), 6,85 (2H, d, 8,5), 3,90 (3H, s). Spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO)  $\delta_{\text{C}}$  = 55,31; 111,67; 114,99; 124,80; 125,10; 126,82; 128,18; 129,01; 129,71; 129,78; 130,84; 131,75; 132,89; 134,47; 147,33; 153,11; 156,87 dan 178,88 ppm. Spektrum massa EIMS  $m/z$  = 302  $[\text{M}]^+$  (dihitung 302,09429) dengan rumus molekul  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_3$ .*

*Senyawa WPA 4: diperoleh Kristal jarum putih; IR,  $\nu_{\max}$  = 3308 (gugus -OH) dan 2934  $\text{cm}^{-1}$  (C-H alifatik). Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  = 0,68 (3H, s), 0,80 (3H, s), 0,83 (3H, s), 0,84 (3H, s), 0,96 (3H, s), 1,01 (3H, s), 3,50 (1H, m), 5,02 (1H, dd), 5,12 (1H, dd) dan 5,34 ppm (1H, dd). Spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  = 12,0; 12,2; 18,9; 19,4; 21,1; 21,2; 24,4; 25,4; 28,9; 31,7; 31,9; 35,0; 36,5; 37,3; 39,7; 40,4; 42,3; 42,2; 50,2; 51,2; 56,0; 56,9; 71,8; 121,7; 129,3; 138,3 dan 140,8 ppm. Spektrum massa EIMS:  $m/z$  = 412  $[\text{M}]^+$  (dihitung 412,3705) dengan rumus molekul  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ .*

#### 4.3.1 Senyawa dari tandan tanaman *Musa paradisiaca* senyawa WPA 2

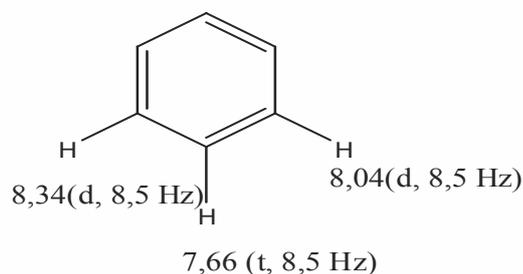
Senyawa WPA 2 diperoleh dalam bentuk Kristal warna kemerahan setelah melalui proses pemurnian melalui kromatografi dan kristalisasi. Pada spektrum FT-IR memperlihatkan adanya gugus aromatik, eter dan karbonil yang masing-masing ditunjukkan pada bilangan gelombang 1560, 1230 dan 1725  $\text{cm}^{-1}$ . Untuk menentukan berat molekul (BM) digunakan LC-MS, dimana pada kromatogram menunjukkan bahwa senyawa ini cukup murni dan mempunyai BM 302 yang ditunjukkan adanya molecular ion pada  $m/e$  303 ( $M^+ + H$ ).

Untuk melengkapi data pengukuran spektroskopi di atas, telah dilakukan pengukuran spectrum  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Pada spectrum tersebut ditunjukkan adanya gugus metoksi ( $-\text{OCH}_3$ ) pada nilai geseran kimia  $\delta$  3,81 (s, 3H). Selain itu spectrum H-NMR tersebut hanya menunjukkan adanya beberapa pasang proton dari suatu cincin aromatik yang muncul pada daerah antara  $\delta$  6,5 – 8,5. Adanya signal pada d 6,79 dan 8,34 yang masing-masing mempunyai bentuk doublet ( $d$ ), dengan nilai  $J$  8,5 Hz dan nilai integrasinya 2H. Hal ini menunjukkan bahwa kedua signal proton aromatik tersebut adalah ekuivalen dan merupakan gugus aromatik yang simetri, yang menunjukkan sistim spin  $\text{AA}'\text{BB}'$ , yang digambarkan seperti molekul bagian di bawah ini. Dan diduga gugus  $-\text{OCH}_3$  dapat ditempatkan pada aromatik tersebut.

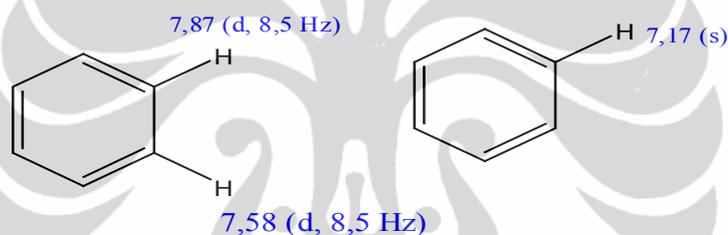


Pasangan signal proton aromatik lainnya mempunyai bentuk atau system spin AMX, yang ditunjukkan pada nilai geseran kimia 7,66 ( $t$ ), 8,34 ( $d$ ) dan 8,04 ( $d$ )

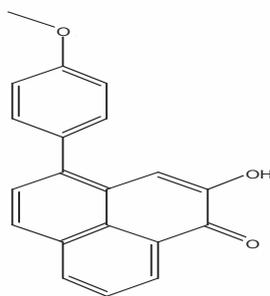
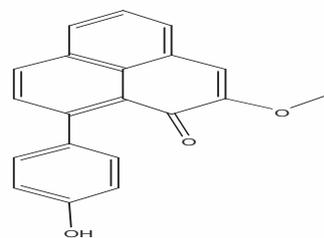
yang masing-masing mempunyai nilai konstanta J kapling 8,5 Hz, yang dilustrasikan pada Gambar struktur pada di bawah ini.



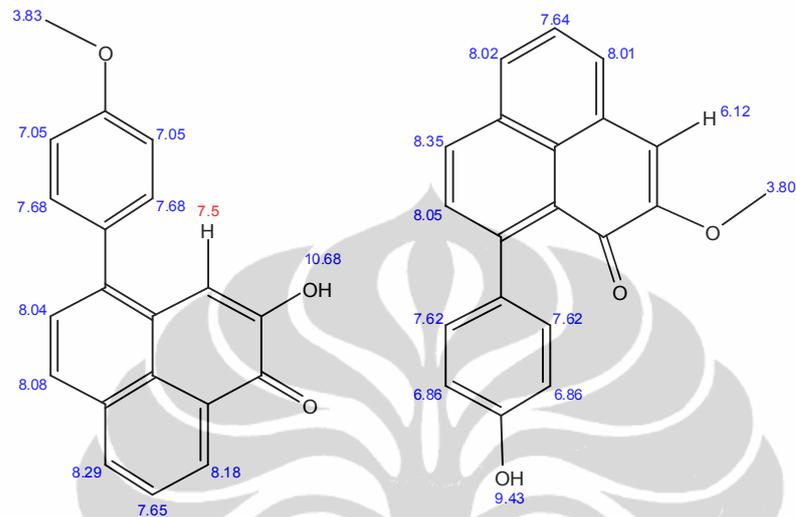
Signal aromatik lainnya menunjukkan adanya signal dalam bentuk doublet (d) dengan nilai J 8,5 Hz pada  $\delta$  7,87 dan 7,58, serta signal yang terakhir dalam bentuk singlet yang muncul pada  $\delta$  7,17 (s), sehingga pada struktur molekul tersebut juga struktur bagian seperti di bawah ini.



Berdasar penelusuran pustaka diketahui bahwa pada pohon pisang diketahui mengandung beberapa senyawa di antaranya yang mempunyai BM 302 adalah 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on (**1**) dari akar (rhizomes) pohon pisang *Musa acuminata* (dwarf banana) dan 9-(4-Hydroxyphenyl)-2-methoxy-1H-phenalen-1-on (**2**) juga dari pohon pisang *Musa acuminata* (dwarf banana).

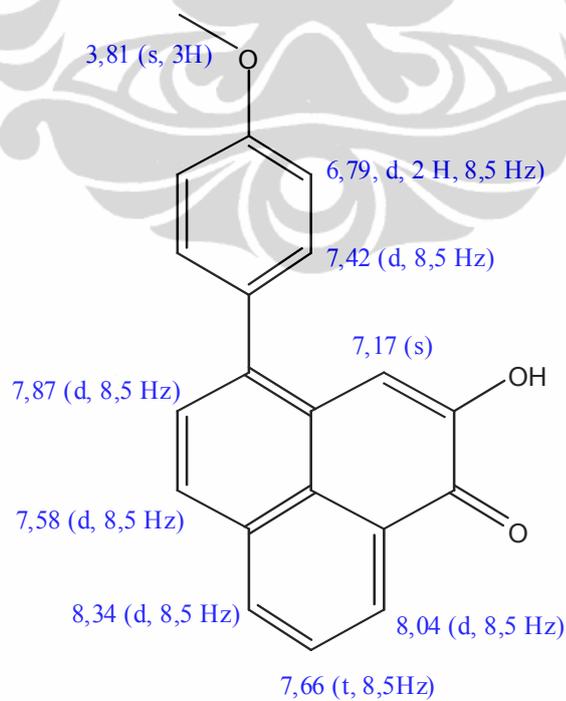
**1****2**

Untuk menentukan struktur molekul senyawa hasil isolasi apakah mempunyai struktur **1** atau **2**, maka dilakukan prediksi nilai geseran kimianya menggunakan ChemDraw Ultra 10, dengan hasil seperti di bawah ini.



Nilai Geseran Kimia Senyawa **1**

Nilai Geseran Kimia Senyawa **2**



Nilai Geseran Kimia Hasil Pengukuran Senyawa **Hasil Isolasi**

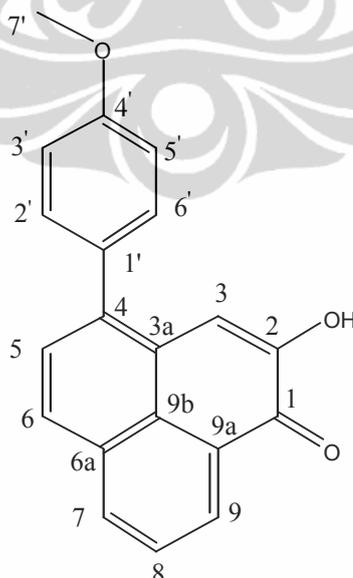
Berdasarkan hasil pengukuran spektrum  $^1\text{H-NMR}$ , dan LC-MS serta informasi pustaka tersebut diketahui bahwa senyawa **1** mempunyai kristal dengan warna kemerahan (Bright red needles) sehingga diduga bahwa senyawa hasil isolasi tersebut mempunyai struktur molekul sama dengan senyawa **1** dengan nama 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on. Hal ini juga didukung pula dengan nilai titik leleh yaitu 221-222 °C (pustaka 222-223 °C).

Tabel III Perbandingan Data Pergeseran kimia  $^{13}\text{C-NMR}$  senyawa WPA 2 dan 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on.

Atom C	2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on. $\delta_{\text{C}}$ (ppm)	Senyawa WPA 2 $\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	180,27	178,88
2	149,79	153,11
3	113,16	111,67
3a	125,33	125,10
4	144,24	147,33
5	130,08	129,01
6	130,36	129,71
6a	130,98	129,78
7	136,89	134,47
8	126,85	126,82
9	131,94	130,84
9a	128,06	128,18
9b	125,32	124,80
1'	132,29	132,89
2'	131,98	131,75
3'	114,43	114,99
4'	160,04	156,87
5'	114,43	114,99
6'	131,98	131,75
7'	55,81	55,31

Tabel IV. Data  $^1\text{H-NMR}$  senyawa WPA 2 dan 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on.

Atom H	2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on. (m,J dalam Hz)	Senyawa WPA 2 (m,J dalam Hz)
H-3	7,34 (s)	7,17 (s)
H-5	7,59 (d, 8,5)	7,87 (d, 8,5)
H-6	7,95 (d, 8,5)	7,58 (d, 8,5)
H-7	8,28 (d, 8,2)	8,29 (d, 8,5)
H-8	7,81 (t, 8,5)	7,66 (t, 8,5)
H-9	8,79 (d, 8,2)	8,04 (d, 8,5)
H-2'	7,42 (d, 8,6)	8,34 (d, 8,5)
H-3'	7,07 (d, 8,6)	6,79 (d, 8,5)
H-5'	7,07 (d, 8,6)	6,79 (d, 8,5)
H-6'	7,42 (d, 8,6)	8,34 (d, 8,5)
H-7'	3,91 (s)	3,81 (s)



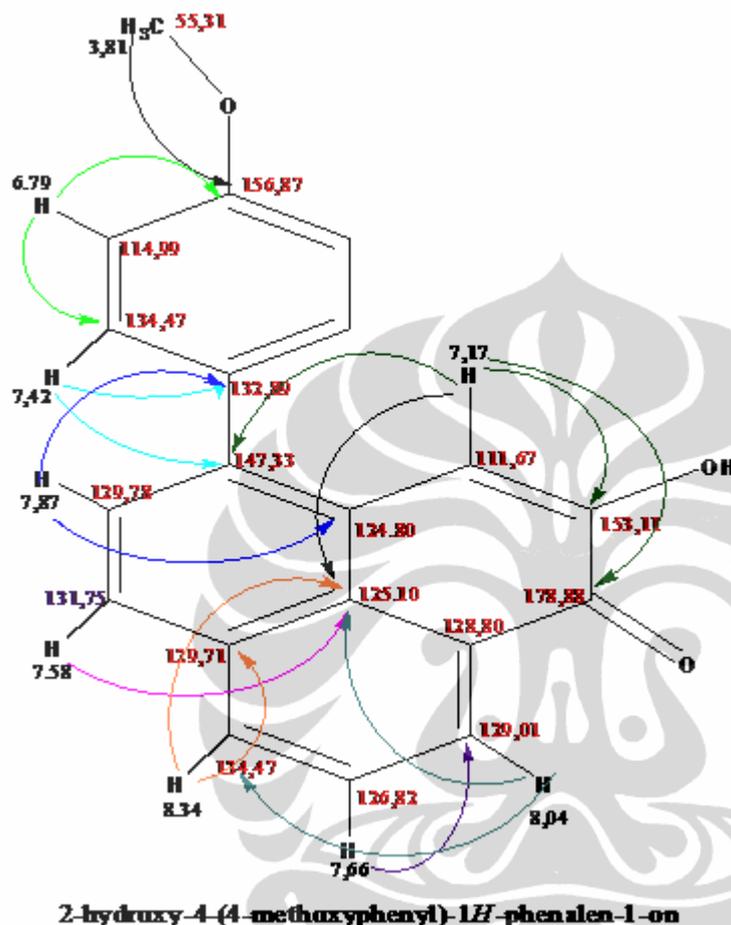
Gambar 7. Struktur 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on.

Tabel V. Korelasi H-NMR, HMQC dan HMBC senyawa WPA 2

No	H-NMR $\delta$ ppm	HMQC $\delta$ ppm	HMBC $\delta$ ppm						DEPT
			1	2	3	4	5	6	
1	3,81 (s)	55,31	156,87						O-CH <sub>3</sub>
2	6,79 (d, 8,5 Hz)	114,99	134,47	156,87					CH
3	7,17 (s)	111,67	124,80	125,10	129,721	147,33	153,11	178,88	CH
4	7,58 (d, 8,5 Hz)	131,75	124,80	125,10					CH
5	7,66 (t, 8,5 Hz)	126,82	129,01	131,75					CH
6	7,87 (d, 8,5 Hz)	129,78	124,80	125,10	129,71				CH
7	8,04 (d, 8,5 Hz)	129,01	124,80	125,10	129,71	134,47			CH
8	8,34 (d, 8,5 Hz)	134,47	124,80	125,10	129,71	147,33			CH
9		124,80							C-quer
10		125,10							C-quer
11		128,80							C-quer
12		129,71							C-quer
13		147,33							C-quer
14		153,11							C-quer
15		156,87							C-quer
16		178,88							C-quer

Berdasarkan hasil pengukuran 2D-NMR yaitu HMQC dan HMBC, yang diuraikan seperti pada Gambar di bawah ini, yang menjelaskan adanya korelasi jarak jauh seperti 3,81 (s) berkorelasi dengan C-4' pada  $\delta$  156,87 (s). Proton H-3 pada  $\delta$  6,17 (s) berkorelasi jarak jauh dengan geseran kimia pada 153,11 (C-2), 178,88 (C-1), 125,10 (C-9b) dan 147,33 (C-4). Berdasarkan hasil tersebut maka senyawa WPA-2 mempunyai struktur molekul sama dengan senyawa -Hydroxy-4-(4-

methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on, yang juga telah ditemukan sebelumnya pada akar pohon pisang *Musa acuminata* (dwarf banana).



#### 4.3.2 Senyawa dari tandan tanaman *Musa paradisiaca* senyawa WPA 4

Senyawa WPA 4 berupa Kristal jarum berwarna putih. Dari data EI MS (Lampiran) Tampak puncak ion molekuler pada  $m/z = 412$ . Dari data ini menunjukkan bahwa senyawa WPA 4 mempunyai berat molekul =412. Spektrum infra merah (Lampiran) memberikan pita serapan pada daerah Bilangan gelombang  $\nu = 3427 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus -OH,  $2933 \text{ cm}^{-1}$  merupakan Vibrasi ulur asimetrik ikatan C-H. Dari spektrum resonansi magnetik inti proton (Lampiran), adanya sinyal pada Pergeseran kimia  $\delta_{\text{H}} = 0,68; 0,80; 0,83; 0,84; 0,93; \text{ dan } 1,01 \text{ ppm}$  menunjukkan adanya 6 gugus metil. Pergeseran kimia  $\delta_{\text{H}} = 3,50 \text{ ppm}$  (1H, m) merupakan proton dari

gugus metin yang mengikat gugus -OH. Pergeseran kimia pada 5,03 (1H, dd, H-22); 5,14 (1H, dd, H-23) dan 5,34 ppm (1H,d, H-6) merupakan proton yang terikat pada ikatan rangkap. Sedangkan pergeseran kimia antara 1,2 – 1,9 ppm menunjukkan adanya ikatan  $sp^3$  yang diperkirakan dari gugus metilen dan gugus metin.

Dari spektrum  $^{13}C$ -NMR dan DEPT (Lampiran ,dan Tabel ), memberikan gambaran senyawa yang diteliti mengandung 29 karbon yang berupa 6 gugus metil, 9 gugus metilen, 11 gugus metin dan 3 atom karbon kuarternier. Enam gugus metil diperlihatkan oleh puncak-puncak karbon pada pergeseran kimia  $\delta_C = 12,2; 12,4; 19,2; 19,6; 21,3; 21,4$  ppm (hal ini sesuai data  $^1H$ -MR). Sembilan gugus metilen ditunjukkan Pada  $\delta_C = 24,6; 25,4; 29,1; 31,9; 32,0; 36,7; 37,4; 39,9$  dan 42,5 ppm. Sebelas gugus Metin ditunjukkan pada  $\delta_C = 31,9; 40,7; 50,3; 51,4; 56,1; 57,1; 72,0; 121,9; 129,5$  dan 138,3 ppm, dimana  $\delta_C = 31,9$  ppm menunjukkan adanya 2 gugus metin yang overlap. Tiga atom karbon kuarternier pada  $\delta_C = 36,7; 42,4$  dan 140,9 ppm. Pada  $\delta_C = 129,4$  dan 138,5 ppm menunjukkan adanya ikatan rangkap yang diperkuat oleh data  $^1H$ -NMR Pada  $\delta_H = 5,02$  dan 5,12 ppm (CH=CH). Ikatan rangkap berikutnya dapat diamati pada  $\delta_C = 121,9$  dan 140,9 ppm yang didukung oleh data  $^1H$ -NMR = 5,34 ppm (CH=C). Adanya satu atom C pada pergeseran kimia  $\delta_C = 72,0$  ppm merupakan atom C Yang mengikat gugus -OH (hal ini didukung oleh data  $^1H$ -NMR, yaitu pada  $\delta_H = 3,51$  ppm yang merupakan proton yang terikat pada atom C dari alkohol sekunder). Dengan asumsi bahwa senyawa WPA 4 hanya mengandung atom C,H Dan O dengan jumlah atom C=29 dan atom O=1 (diperkirakan dari gugus OH Yang tampak pada  $\delta_C = 72,0$  ppm), maka dapat dihitung jumlah atom hydrogen.

$$\text{Jumlah atom hydrogen } \frac{412 - (29 \times 12) - (1 \times 16)}{1} = 48$$

1

Dengan demikian rumus molekul senyawa tersebut adalah  $C_{29}H_{48}O$ . Dari rumus Tersebut senyawa WPA 4 mempunyai

$$F = 29 - (0,5 \times 48) + 1 = 6$$

Dari perhitungan tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa WPA 4 mempunyai Jumlah cincin atau ikatan rangkap 6. Dari data  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  terlihat Jumlah atom karbon, hidrogen dan oksigen serta jumlah cincin mengarah dugaan bahwa Senyawa tersebut merupakan suatu triterpen tetrasiklik dan dua ikatan rangkap( $\text{C}_{29}$ ).

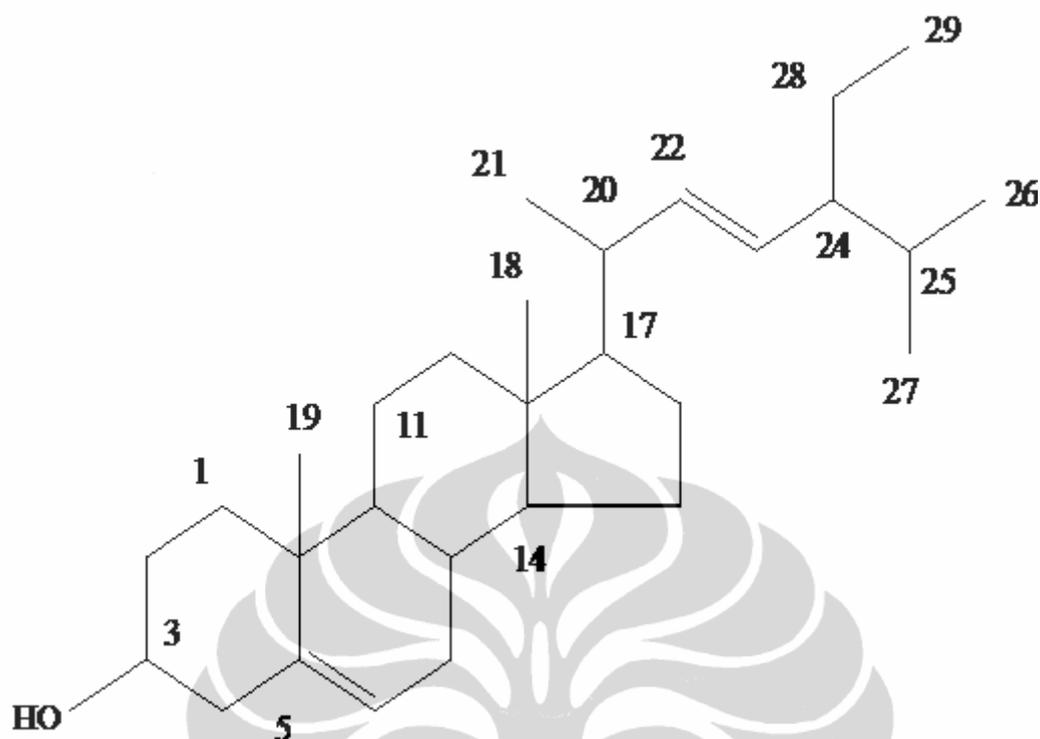
Dari hasil pengukuran secara spektroskopi ( $\text{IR}$ ,  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ ) dan didukung Oleh studi literatur (dengan membandingkan pergeseran kimia stigmasterol) maka dapat disimpulkan bahwa senyawa WPA 4 adalah stigmasterol.

Tabel VI. Perbandingan data pergeseran kimia  $^{13}\text{C-NMR}$  senyawa WPA 4 dan stigmasterol

Atom C	Stigmasterol $\delta_{\text{C}}$ (ppm)	Senyawa WPA 4 $\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	37,2	37,4
2	31,6	31,9
3	71,8	72,0
4	42,5	42,5
5	140,9	140,9
6	121,9	121,9
7	32,8	32,1
8	31,9	31,9
9	50,2	50,3
10	36,6	36,7
11	22,7	21,3
12	39,7	39,9

Tabel VII (lanjutan)

13	42,3	42,5
14	56,9	56,1
15	24,3	24,6
16	28,9	29,1
17	56,0	56,1
18	12,0	12,2
19	19,3	19,1
20	40,5	40,7
21	21,3	21,3
22	138,3	138,5
23	129,3	129,5
24	51,2	51,4
25	31,8	31,9
26	18,9	19,6
27	21,1	21,3
28	25,4	25,6
29	12,2	12,2

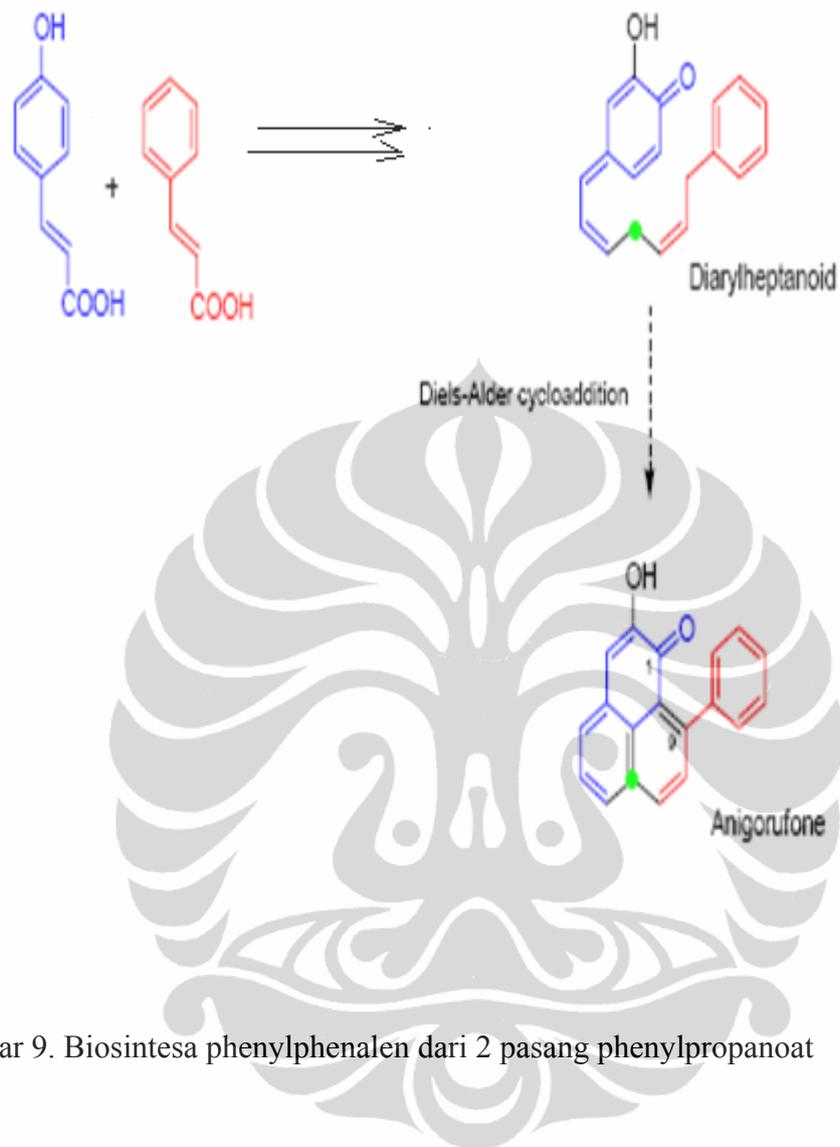


Gambar 8. Stigmasterol

#### 4.4 Biosintesa

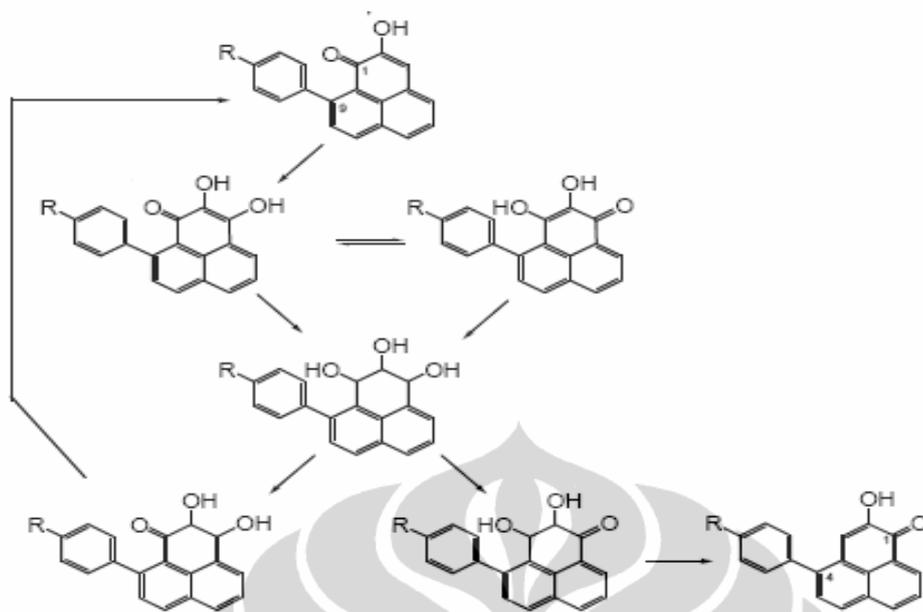
##### 4.4.1 Biosintesa 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on.

Jalur asam shikimic memberikan asam amino aromatik fenilalanin dan tirosin, yang merupakan prekursor untuk biosintesis phenylphenalenones. Asam amino ini diubah menjadi asam sinamat oleh lyase fenilalanin amonia (PAL) dan asam amonia cumarat oleh lyase tirosin. Dua unit asam phenylpropanoic, yaitu asam sinamat dan hidroksisinnamat, membentuk intermediet diarylheptanoid. Akhirnya, sebuah sikloadisi Diels-Alder menutup cincin untuk membentuk C-19 kerangka dari sebuah phenylphenalenone.



Gambar 9. Biosintesa phenylphenalenen dari 2 pasang phenylpropanoat

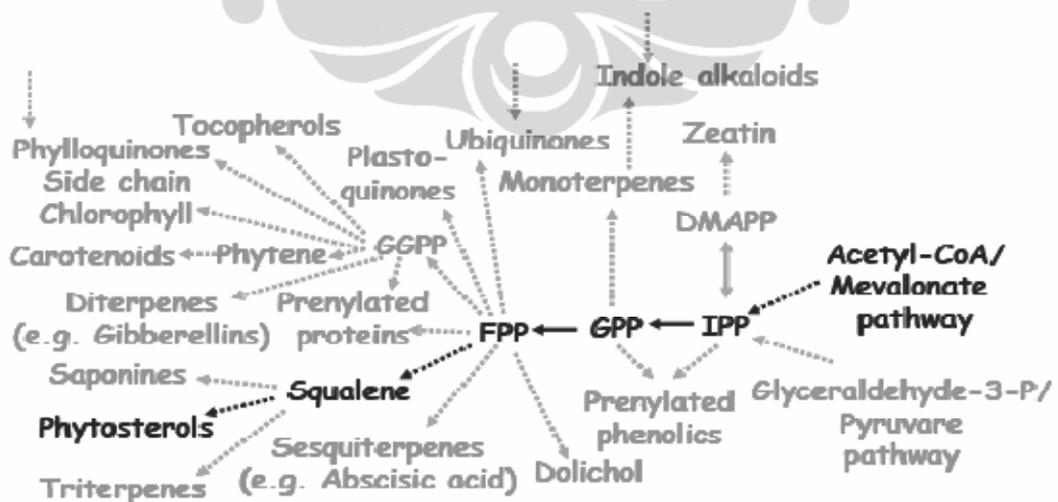
4'-hidroksil atau 4'-methoxyl juga sangat mungkin mewakili produk yang relatif awal dalam biosintesis phenylphenalenone. Langkah berikutnya tampaknya hidroksilasi di C-3 menghasilkan 2,3-dihidroksi-9-phenylphenalenones, yang kemudian dapat mengalami tautomerisme untuk membentuk 2,3-dihidroksi-4-phenylphenalenones. Pada langkah terakhir, dehidrasi, dapat mengakibatkan pembentukan 4-phenylphenalenones. Hipotesa ini adalah oksidasi dan dehidrasi prekursor dalam pembentukan formasi 4-phenylphenalenones.



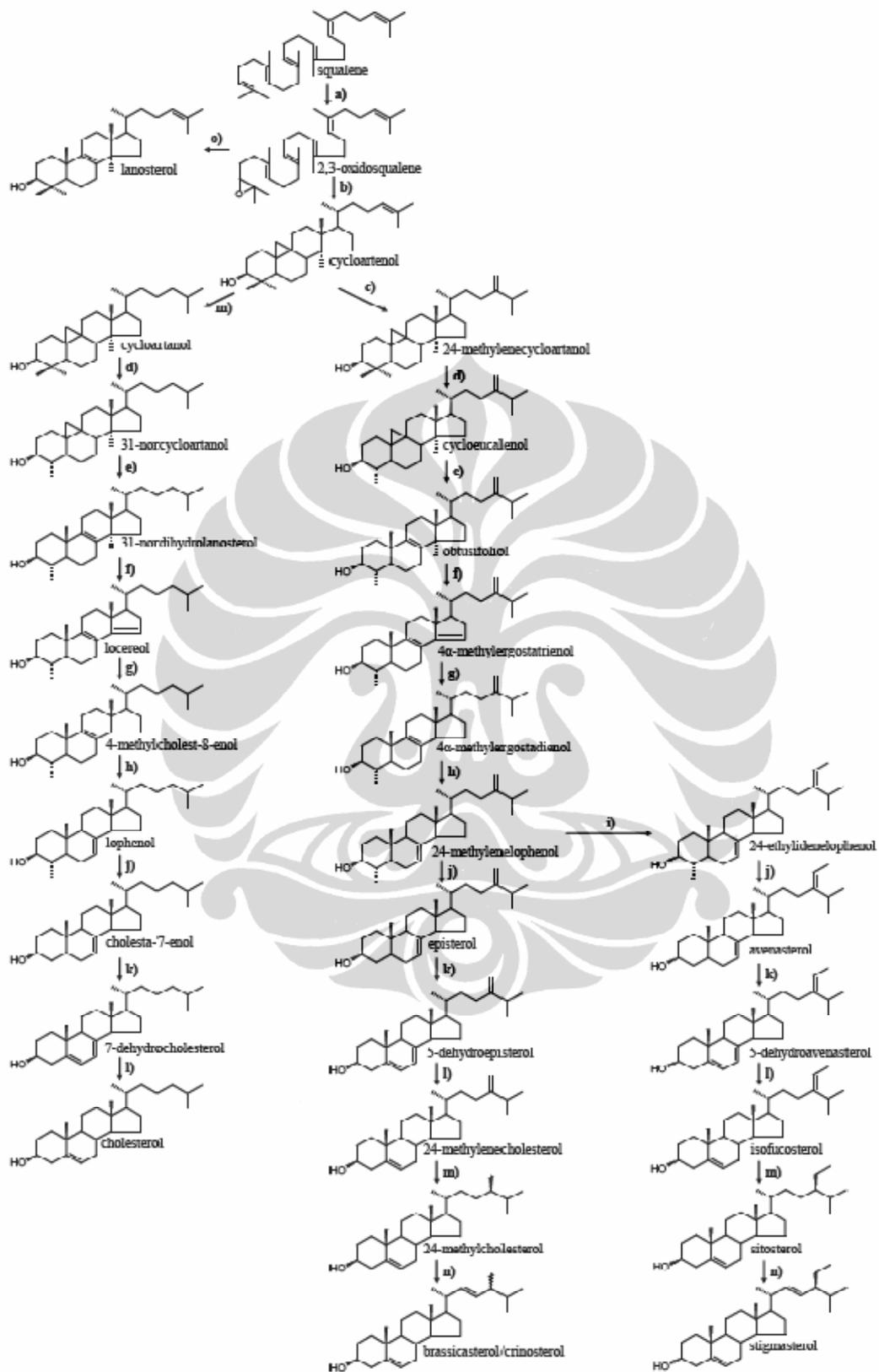
Gambar 10. Biosintesa phenylphenalenon pada *Musa*

#### 4.4.2 Biosintesa stigmasterol

Biosintesa stigma sterol sebagai bagian dari metabolit sekunder berawal dari jalur biosintesa yang sama dalam hal ini dari jalur asam mevalonat



Gambar 11, Biosintesa phytosterol dari jalur mevalonat



Gambar 12. Biosintesa stigmasterol dari squalene

#### 4.5. Pengujian aktivitas biologi

. Uji toksisitas udang *Artemia salina* Leach (*Brine Shrimp Lethality Test*). Uji toksisitas terhadap udang *Artemia salina* Leach dilakukan dengan metoda Meyer. Hasil uji toksisitas terhadap udang *A.salina* Leach disajikan pada Tabel V

Tabel VII . Hasil uji toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach

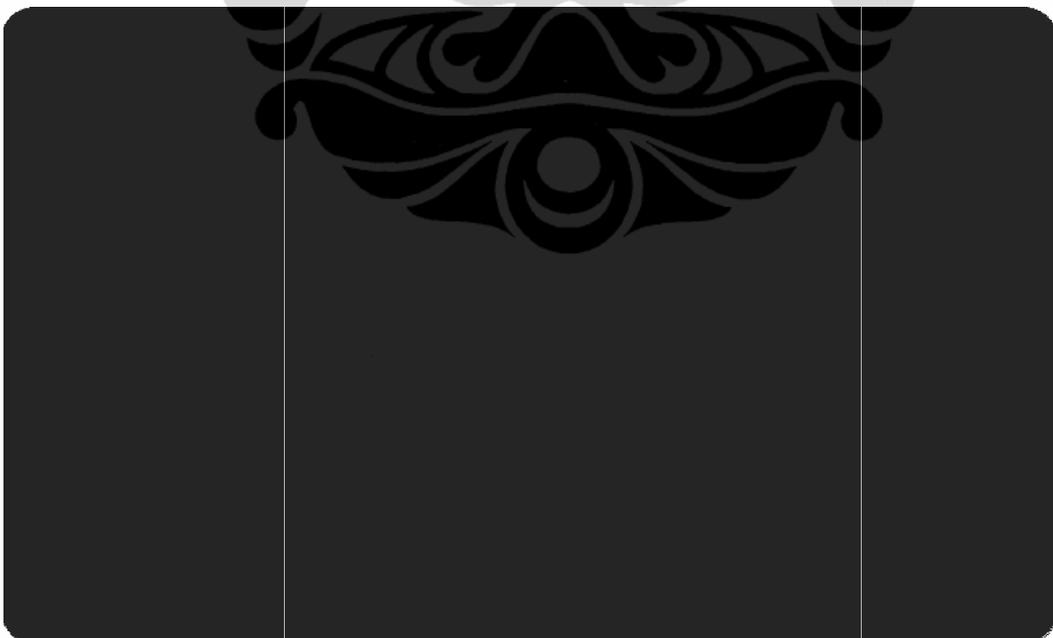
Sampel	Konsentrasi K (ppm)	Log K	Hidup awal			Hidup akhir			Mati	Hidup	Kumulatif hidup	Kumulatif mati	Mortalitas	LC <sub>50</sub>	Ket,
Blanko			10	10	10	10	10	10							
			10	10	10	10	10	10							
			10	10	10	10	10	10							
			10	10	10	10	10	10							
WPA2	10	10	10	10	10	6	6	5	13	17	11	61	15.278	129,72	Aktif
	100	20	10	10	10	6	6	5	13	17	27	44	43.548		
	500	27	10	10	10	5	5	5	15	15	43	27	68.254		
	1000	30	10	10	10	4	3	6	18	12	51	12	80.952		
WPA4	10	10	10	10	10	7	7	8	8	22	8	90	8.163	1361,40	Tidak Aktif
	100	20	10	10	10	7	8	6	9	21	17	68	20.000		
	500	27	10	10	10	7	7	10	6	24	23	47	32.857		
	1000	30	10	10	10	7	7	9	7	23	30	23	56.604		

Keterangan :

1. Biota yang digunakan adalah *Artemia salina* Leach
2. Ekstrak dikatakan aktif bila nilai LC<sub>50</sub> nya < 1000 ppm untuk senyawa murni < 200 ppm



Gambar 13. Hasil Analisis aktivitas toksik senyawa WPA 2



Gambar 14. Hasil Analisis aktivitas toksik senyawa WPA 4

Uji toksisitas dilakukan terhadap *Artemia salina* dengan metoda BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metoda BSLT merupakan uji biologis pendahuluan yang Sangat sederhana, biayanya murah dan hasilnya dapat dipercaya.

Pada uji ini yang diamati adalah tingkat mortalitas yang disebabkan oleh Senyawa uji. Senyawa murni yang aktif akan menghasilkan mortalitas yang tinggi. Suatu senyawa murni dikatakan cukup aktif bila  $LC_{50} < 200$  ppm. Semakin kecil nilai  $LC_{50}$ -nya maka senyawa tersebut semakin aktif. Dari perhitungan nilai  $LC_{50}$  yang ditentukan dengan program komputer sederhana untuk analisis probit pada taraf kepercayaan 95 %,didapat bahwa senyawa WPA 2 mempunyai nilai  $LC_{50} < 200$ ppm senyawa WPA 4 mempunyai nilai  $LC_{50} > 200$  ppm.Dalam hal ini senyawa WPA 2 dan WPA 4 menunjukkan toksisitas yang berbeda dimana WPA 2 lebih toksik dengan  $LC_{50}$  129,72  $\mu$ g/ml dibanding WPA 4 dengan  $LC_{50}$ nya 1361,40  $\mu$ g/ml.Perbedaan toksisitas ini kemungkinan disebabkan senyawa WPA 2 bersifat lebih polar dibanding senyawa WPA 4,dengan demikian senyawa WPA 2 dapat dikatakan cukup aktif.

#### **4.6. Pengujian aktifitas antioksidan**

##### **4.6.1 Uji Awal Aktivitas Antioksidan**

Uji Awal Aktivitas Antioksidan terhadap ekstrak etanol dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *radical scavenger*. Sebagai pembanding digunakan kontrol dari senyawa antioksidan quercetin. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 515 nm setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37,7 °C.

Tabel VII Uji aktivitas anti oksidan senyawa WPA 2 dan senyawa WPA 4

No.	Sampel	Absorban	Konsentrasi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub>
1	blanko	2.618			
2	quarcetin	1.285	20	50.917	AS
		1.366	10	47.823	17.303
		1.856	5	29.106	
		1.925	1	26.471	
3	WPA 2	2.006	200	23.377	TA
		2.054	100	21.543	952,857
		2.179	50	16.769	
		2.142	25	18.182	
4	WPA 4	1.930	200	26.280	KA
		1.992	100	23.911	313.877
		2.158	50	17.571	
		2.212	25	15.508	
Range tingkat keaktifan:					
	< 50	AS (aktif sekali)			
	51-100	A (aktif)			
	101-500	KA (kurang aktif)			
	>500	TA (tidak aktif)			

#### 4.6.2 Hasil analisis aktivitas antioksidan WPA 2

Pengukuran absorbansi senyawa WPA 2 dilakukan pada konsentrasi 25  $\mu\text{g/mL}$ , 50  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$  dan 200  $\mu\text{g/mL}$ . Data hasil pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang, = 515 nm untuk senyawa WPA 2 dapat dilihat pada gambar 11 Aktivitas sebagai *radical scavenger* dapat dilihat pada gambar berikut .



Gambar 15 : Hasil Analisis aktivitas Antioksidan senyawa WPA 2 dengan metode *Radical Scavenger*.

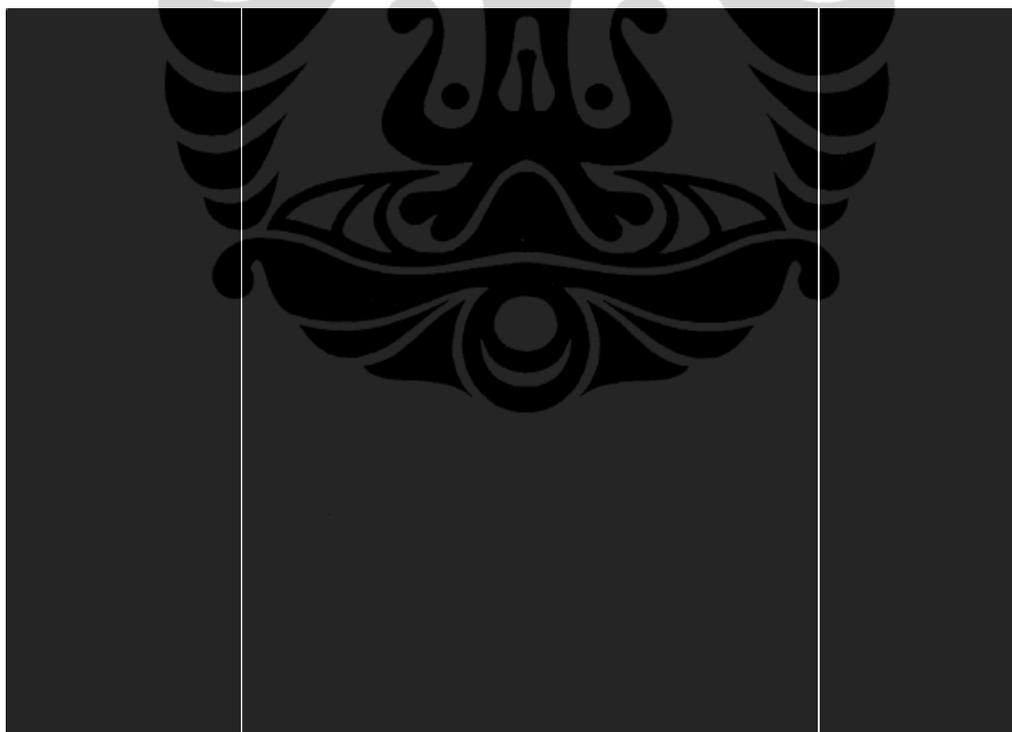
Dari gambar di atas dapat diketahui bahwa meningkatnya penambahan senyawa WPA 2 dapat menaikkan nilai absorbansi DPPH. Kenaikan absorbansi ini mempunyai arti bahwa tidak terjadi penangkapan radikal bebas pada DPPH oleh quercetin. Dengan tidak ditangkapnya radikal bebas tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH tidak berkurang sehingga terjadi kenaikan absorbansi. Dalam waktu pengujian selama 30 menit terjadi kenaikan absorbansi yang signifikan pada penambahan senyawa WPA 2 sebanyak 200  $\mu\text{g/mL}$ . Hal ini terlihat jelas pada gambar yang tidak menunjukkan adanya penurunan absorbansi secara tajam.

Suatu senyawa dikatakan antioksidan jika bertindak sebagai donor hidrogen ataupun akseptor elektron. Pemberian atom hydrogen oleh suatu

antioksidan yang bertindak sebagai donor proton merupakan tahap awal mekanisme antioksidan melalui pemerangkap radikal (radical scavenger). Senyawa WPA 2 tidak dapat bertindak sebagai donor hidrogen, karena tidak dapat mengurangi ikatan rangkap diazo pada DPPH. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa senyawa WPA 2 tidak mempunyai aktivitas antioksidan.

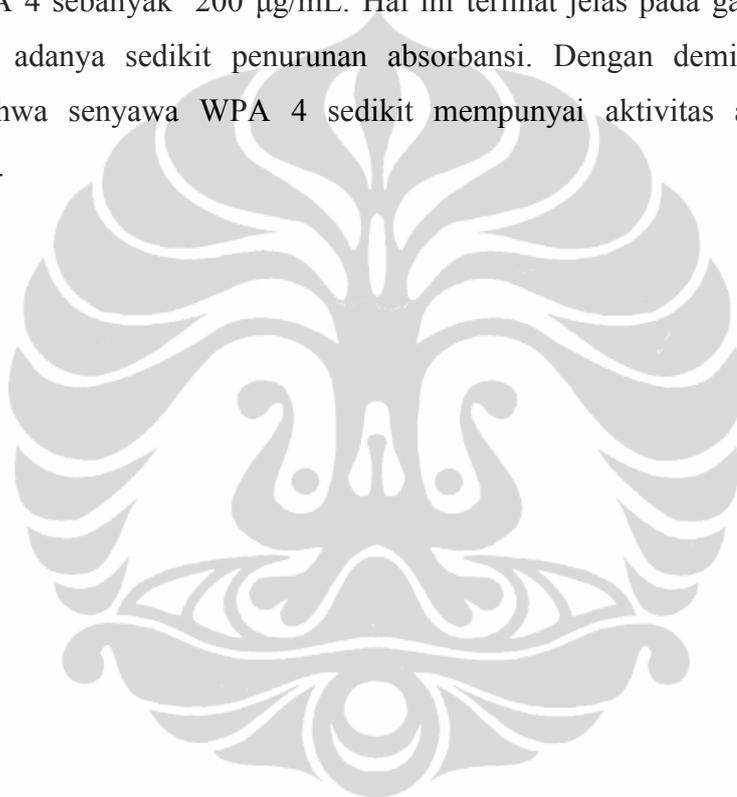
#### 4.6.3 Hasil analisis aktivitas antioksidan senyawa WPA 4

Seperti yang dilakukan pada senyawa WPA 2, pengukuran absorbansi senyawa WPA 4 pada konsentrasi 25  $\mu\text{g/mL}$ , 50  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$  dan 200  $\mu\text{g/mL}$  yang masing – masing ditambahkan ke dalam DPPH sebagai substratnya. Data hasil pengukuran absorbansi senyawa WPA 4 dapat dilihat pada gambar 12 berikut .



Gambar 16 : Hasil Analisis aktivitas Antioksidan senyawa WPA 4 dengan metode *Radical Scavenger*.

Dari gambar di atas dapat diketahui bahwa meningkatnya penambahan senyawa WPA 4 sedikit menurunkan nilai absorbansi DPPH. Sedikit penurunan absorbansi ini mempunyai arti bahwa telah terjadi sedikit penangkapan radikal bebas pada DPPH oleh quercetin. Dengan penangkapan sedikit radikal bebas tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH sedikit berkurang sehingga terjadi sedikit penurunan absorbansi. Dalam waktu pengujian selama 30 menit terjadi sedikit penurunan absorbansi yang signifikan pada penambahan senyawa WPA 4 sebanyak 200  $\mu\text{g/mL}$ . Hal ini terlihat jelas pada gambar yang menunjukkan adanya sedikit penurunan absorbansi. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa senyawa WPA 4 sedikit mempunyai aktivitas antioksidan (kurang aktif).



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diuraikan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- Dalam fraksi etanol tandan *Musa parasidiaca* ditemukan dua senyawa yang diberi Kode WPA 2 dan WPA 4.
- Senyawa WPA 2 berupa Kristal kemerahan, mempunyai rumus molekul  $C_{20}H_{14}O_3$ , dengan rumus kimia 2-Hydroxy-4-(4-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-on. Senyawa WPA 4 berupa Kristal jarum putih mempunyai rumus molekul  $C_{29}H_{48}O$
- Uji pendahuluan terhadap larva udang *Artemia salina* Leach memperlihatkan bahwa senyawa WPA 2 bersifat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  129,72 ppm, senyawa WPA 4 tidak bersifat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  1361,40 ppm.
- Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa senyawa WPA 2 tidak aktif sebagai anti oksidan dengan nilai  $IC_{50}$  952,857 ppm, senyawa WPA 4 kurang aktif sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  313,877 ppm.

#### SARAN

- Agar dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tandan tanaman *Musa parasidiaca* Untuk mendapatkan senyawa lain, khususnya yang mempunyai aktivitas biologi. Baik dari fraksi n heksana maupun fraksi yang lebih polar.
- Perlu dilakukan pengujian lanjutan terhadap kemungkinan aktivitas biologis yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

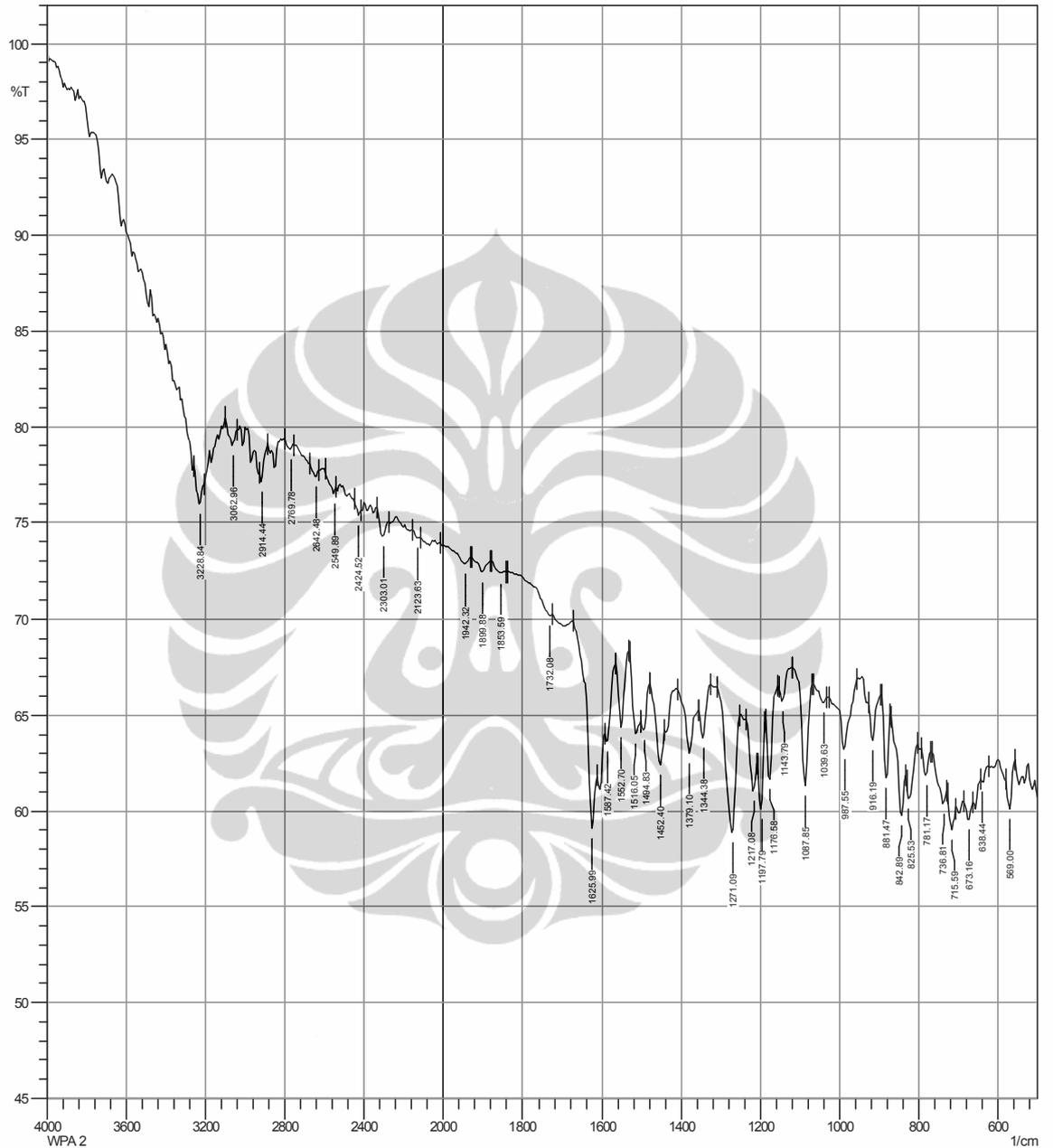
- Tim Penulis: Laboratorium Kimia-Biokimia Pangan jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Jogjakarta, *Istilah Pangan dan Nutrisi*, Agustus 2001, hal. 285
- Departemen, Farmakologi dan terpeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, *Farmakologi dan Terapi*, edisi 5, hal. 310, 2007
- IPTEKnet, BPPT, Jakarta, Tanaman Obat Indonesia, Pisang (*Musa paradisiaaca*, Linn),
- Achmad, S.A. 1986. *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Penerbit Karunika Jakarta Universitas Terbuka.
- Anwar, C.1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Jogjakarta: FMIPA UGM.
- Alam, G., 2002, *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Sebagai Bioassay dalam Isolasi Senyawa bioaktif dari Bahan Alam*, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 6 (2), 432-435.
- Arnqvist, Lisa. 2007. *Plant Sterol Metabolism with Emphasis on Glycoalkaloid Biosynthesis in Potato*, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala
- Christian, G.D. 2004. *Analitical Chemistry*, 6th ed. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Ciulei, I. 1984, *Methodology for Analysis of Vegetable Drugs*, Chemical Industries Branch Division of Industrial Operations UNIDO, Bucharest Romania, p. 11-26
- Day, R.A. and A.L. Underwood. 1989. *Quantitative Analysis*, 4th ed. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.

- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang Kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS JAKARTA.
- Doyle, M.P. and W.S. Mungall. 1986. *Experimental Organic Chemistry*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden. 1986. *Organic Chemistry*, 3rd Ed. California:Wadsworth
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioksidant Action In Vitro In Food Antioksidant*. Elsevier Applied Science, London. 1-18
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Bandung: ITB.
- Harborne, J, B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan* . Bandung: ITB.
- Hendayana, S, Asep Kadarohman, Aa Sumarna, dan Asep Supriatna. 1994 . *Kimia Analitik Instrumen*, edisi kesatu. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Holscher, Dirk and Schneider, Bernd, *The biosynthesis of 8-phenylphenalenones from Eichornia crassipes involves a putative aryl migration step*, journal Phytochemistry 66 (2005) 59-64
- Hortettmann, K. 1986. *Cara Kromatografi Preparatif: Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*. Bandung: ITB.
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Tehnologi Minyak dan Lemak Pangan*. Penerbit Universitas Indonesia. UI Press. Jakarta.
- Kisman, S dan Slamet Ibrahim. 1998. *Analisis Farmasi*. Jogjakarta: Gajah Mada University Press (Terjemahan dari Roth, H.J. and G Blaschke 1981. *Pharmazeutische Analytik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag Herdweg).
- Manjang, Y. 2004. *Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Pelestarian dan Perkembangan Melalui Tanah Agrowisata, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS JAKARTA

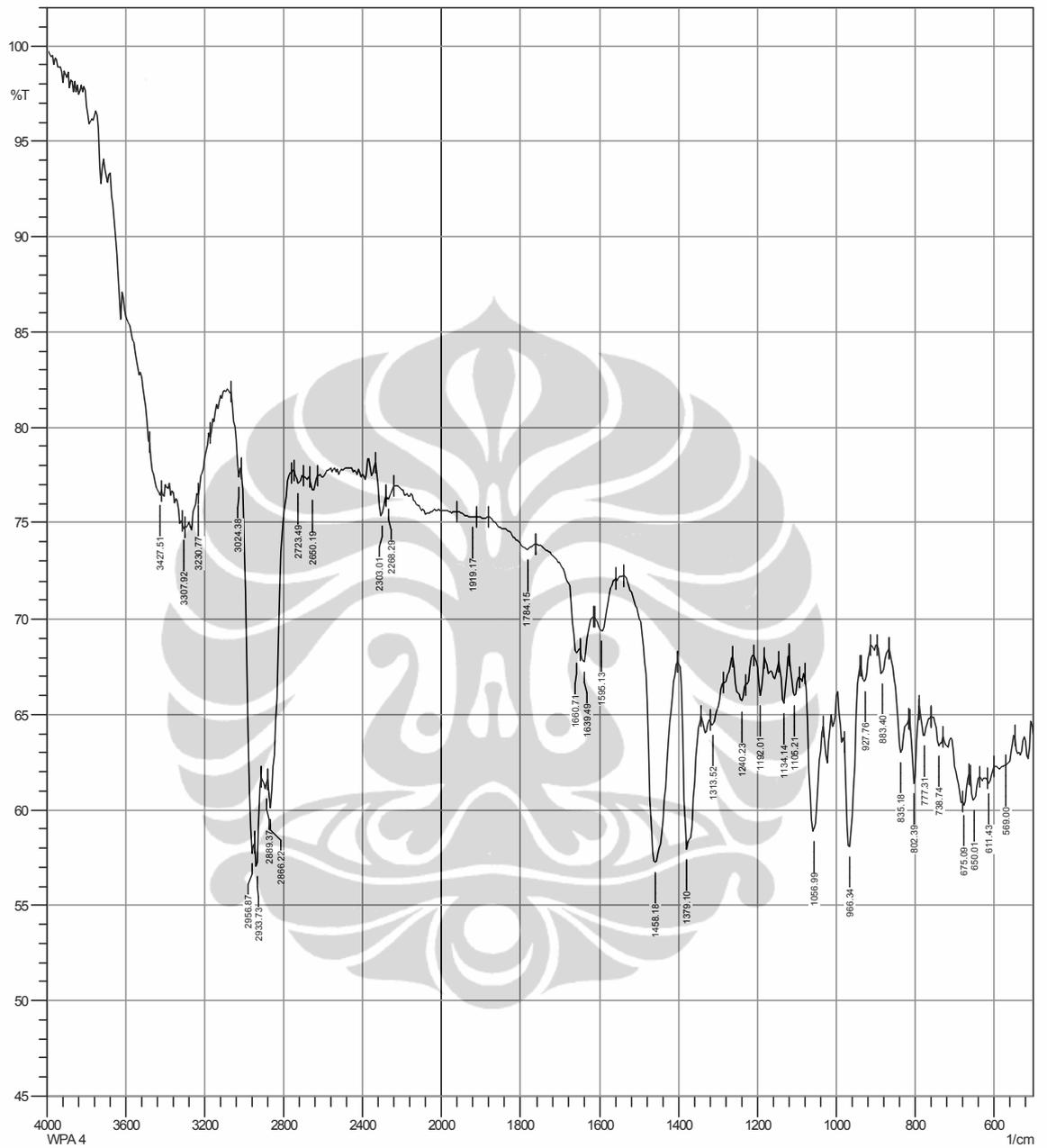
- Matsjeh, S. 2002. *Kimia Hasil Alam Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Falvonoid, Terpenoid dan Alkaloid*. Jogjakarta: Jurusan Kimia FMIPA UGM
- Mayo, D.W., R.M. Pike, P.K. Trumper. 2000. *Microscale Organic Laboratory, with Multi Scale Syntheses*, 4th Ed. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Meloan, C.E. 1999. *Chemical Separations: Principles, Techniques, and Experiments*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Meyer, B.N, Ferigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., 1982, *Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for Active Plant constituents*, *Planta Medica*, 45, 31-3.
- Otálvaro Felipe., Echeverri Fernando., Quiñones, Winston., Torres, Fernando. and Schneider, Bernd. Correlation between Phenylphenalenone Phytoalexins and Phytopathological Properties in *Musa* and the Role of a Dihydrophenylphenalene Triol *Molecules* **2002**, 7, 331-340
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektrosfotokopi*, edisi kedua. Jogjakarta: Penerbit Liberty.
- Scotch, G. 1988. *Antioksidant* . Bull, Chem, SOC. Japan 61:165-170
- Silverstein, R.M., G.C. Bassler, z and T.C. Morrill. z 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5th ed. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Widjaya, S (1997), *Antioksidan: Pertahanan Tubuh Terhadap Ereks Oksidan dan Radikal bebas*. Majalah Ilmiah Fakultas Kedokteran USAKTI, Vol 16 (1):1659-1672.
- Widodo, A.T. dan N. Wijayanti. 2002. *Penentuan Struktur Molekul*. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA UNNES

## LAMPIRAN

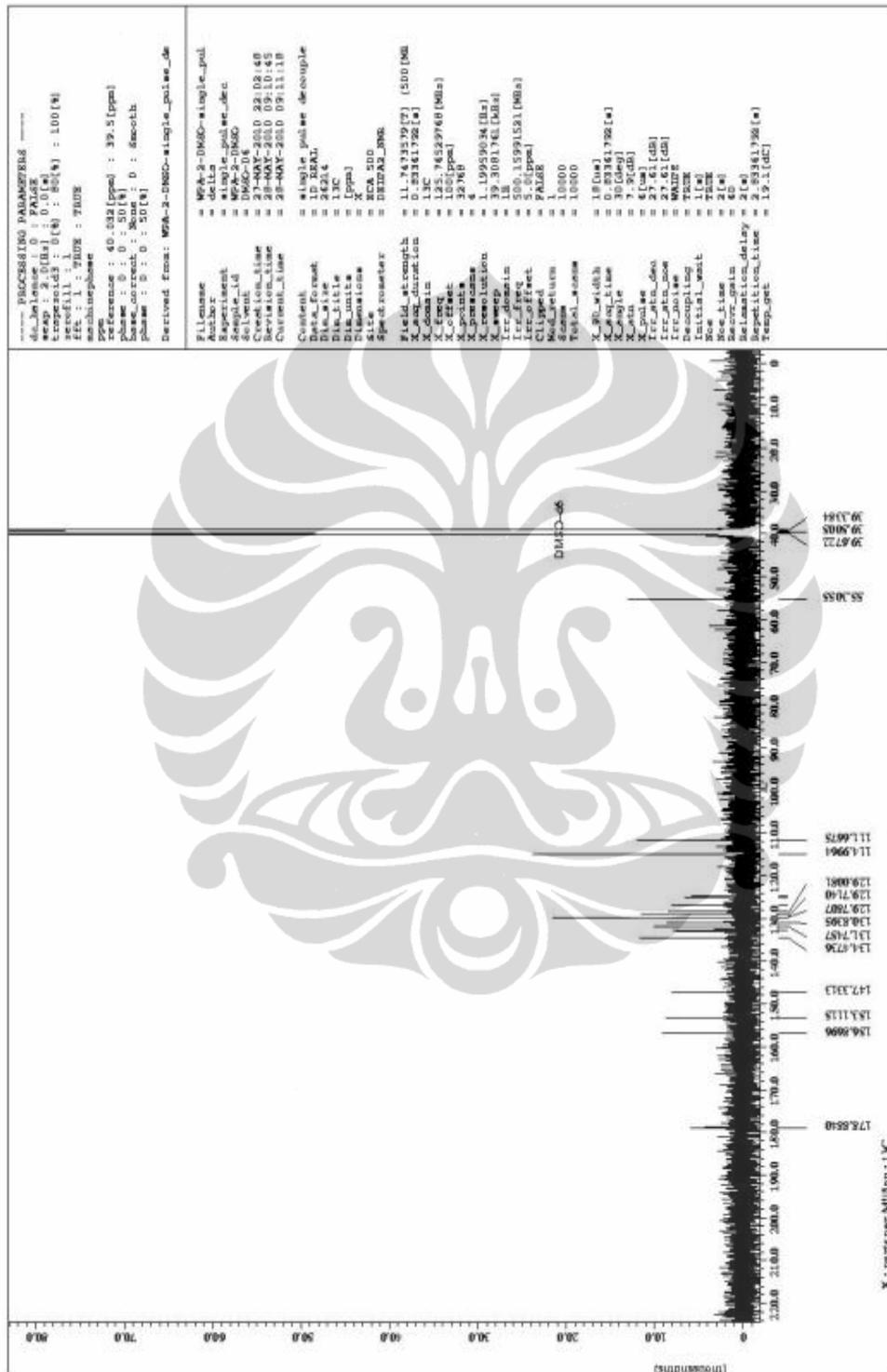
## 1. Spektrum FTIR senyawa WPA 2



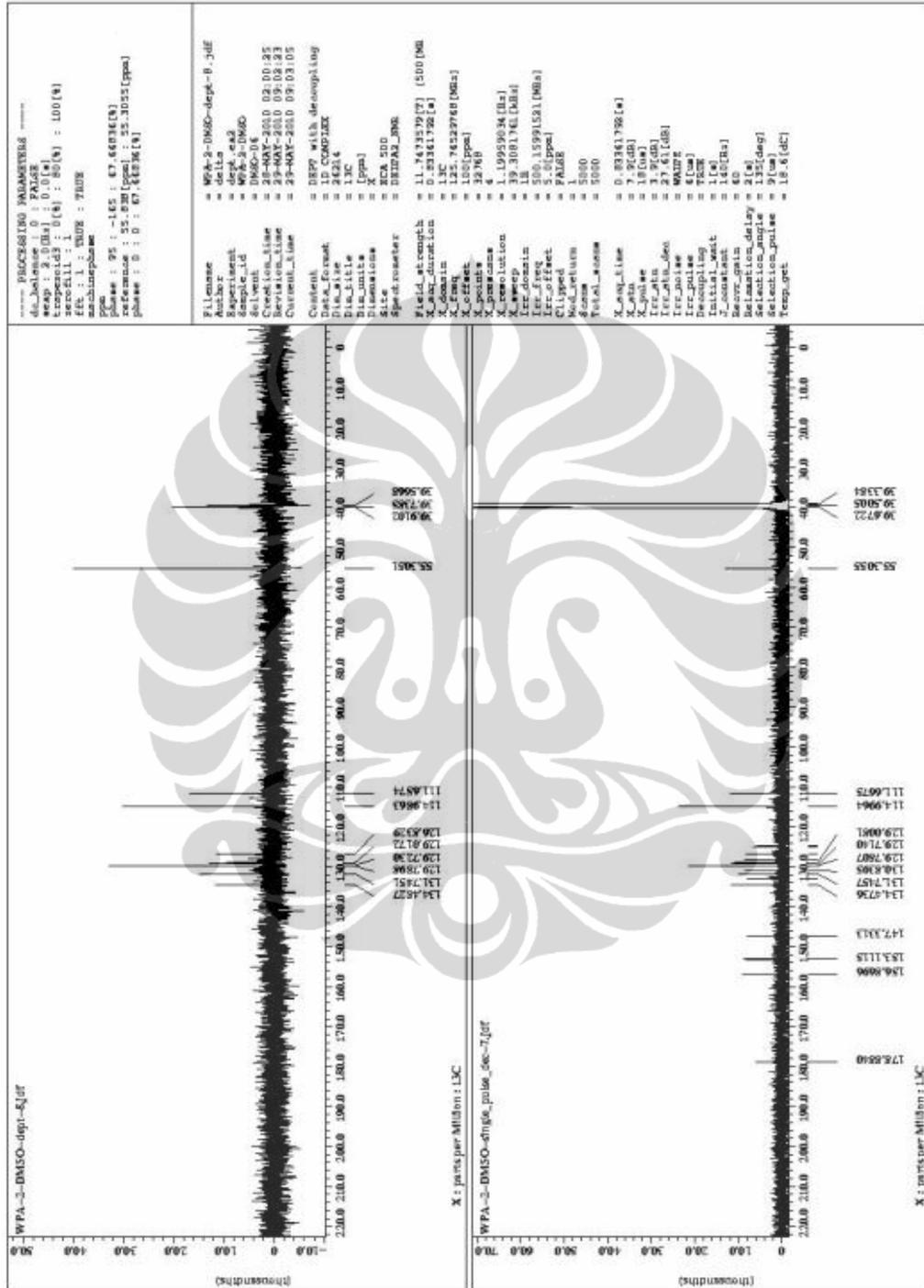
## 2. Spektrum FTIR senyawa WPA 4





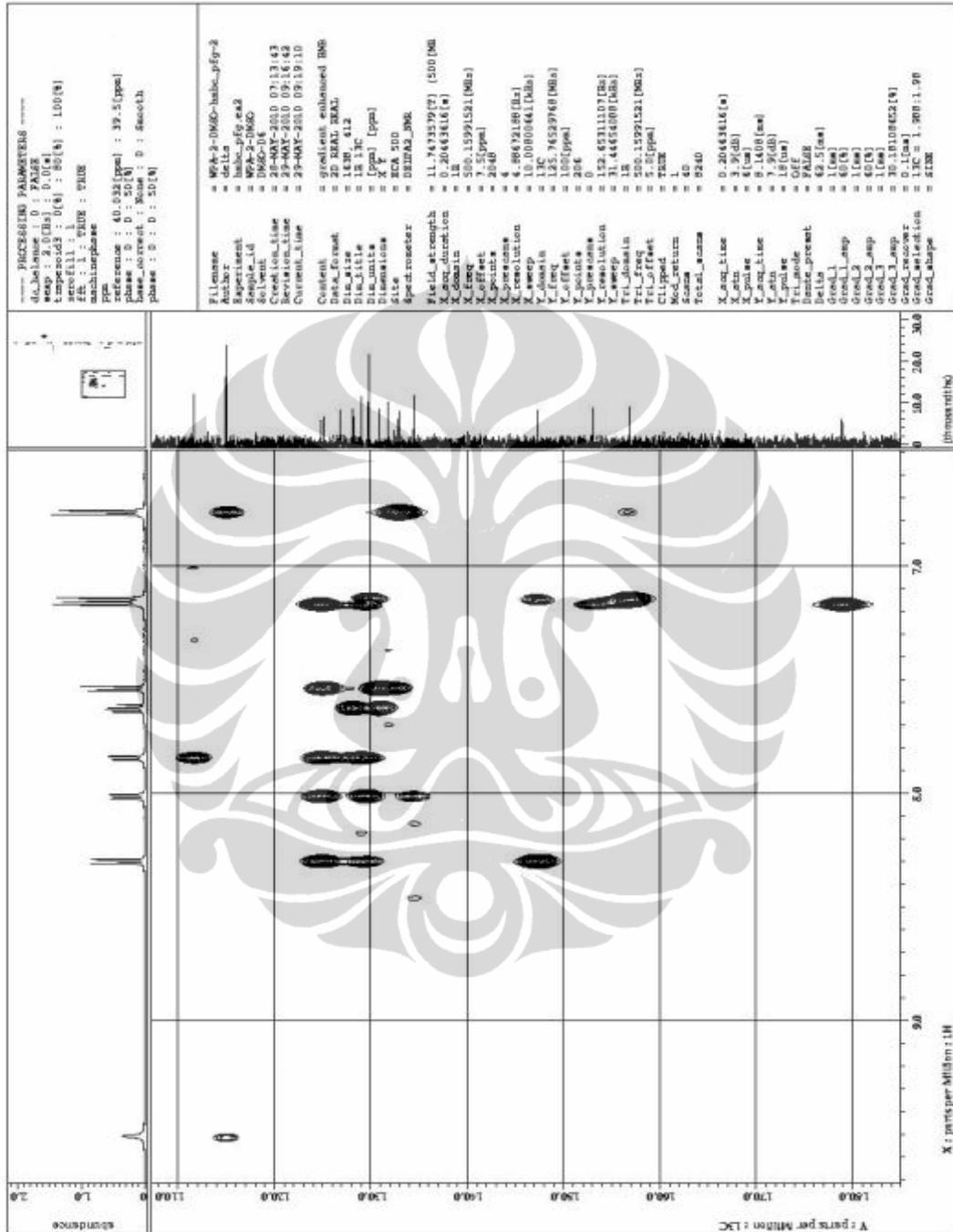
4. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR senyawa WPA 2

5. Spektrum DEPT-NMR senyawa WPA 2





7. Spektrum hmbc senyawa WPA 2



## 8. Kromatogram LCMS senyawa WPA 2

Kondisi:

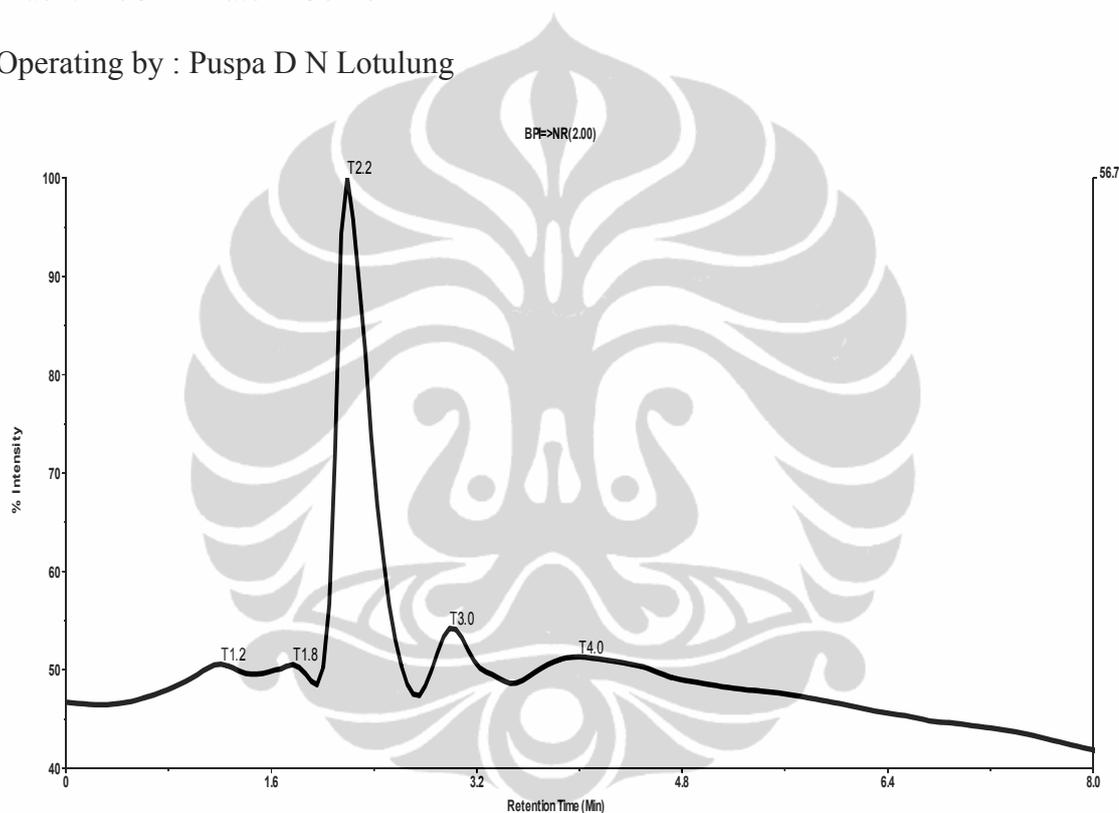
WPA 2                      LC MS –ESI pos ion

Vol injection 20 ul

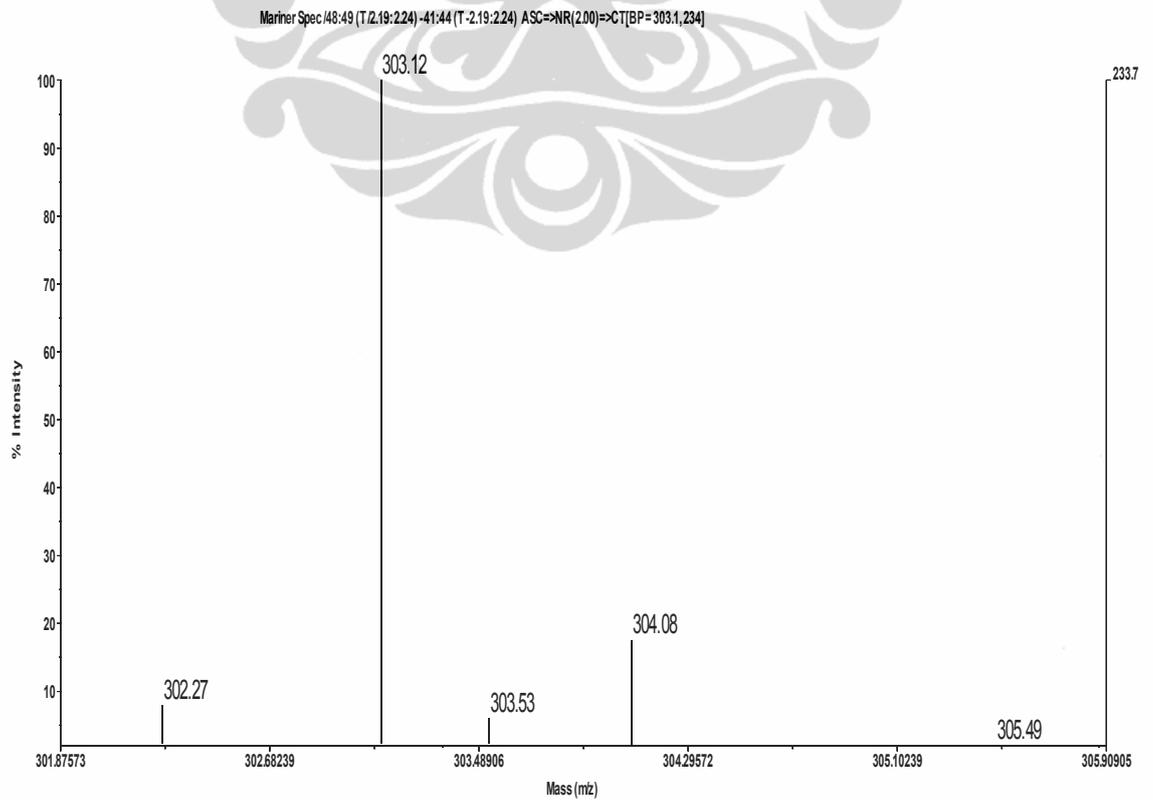
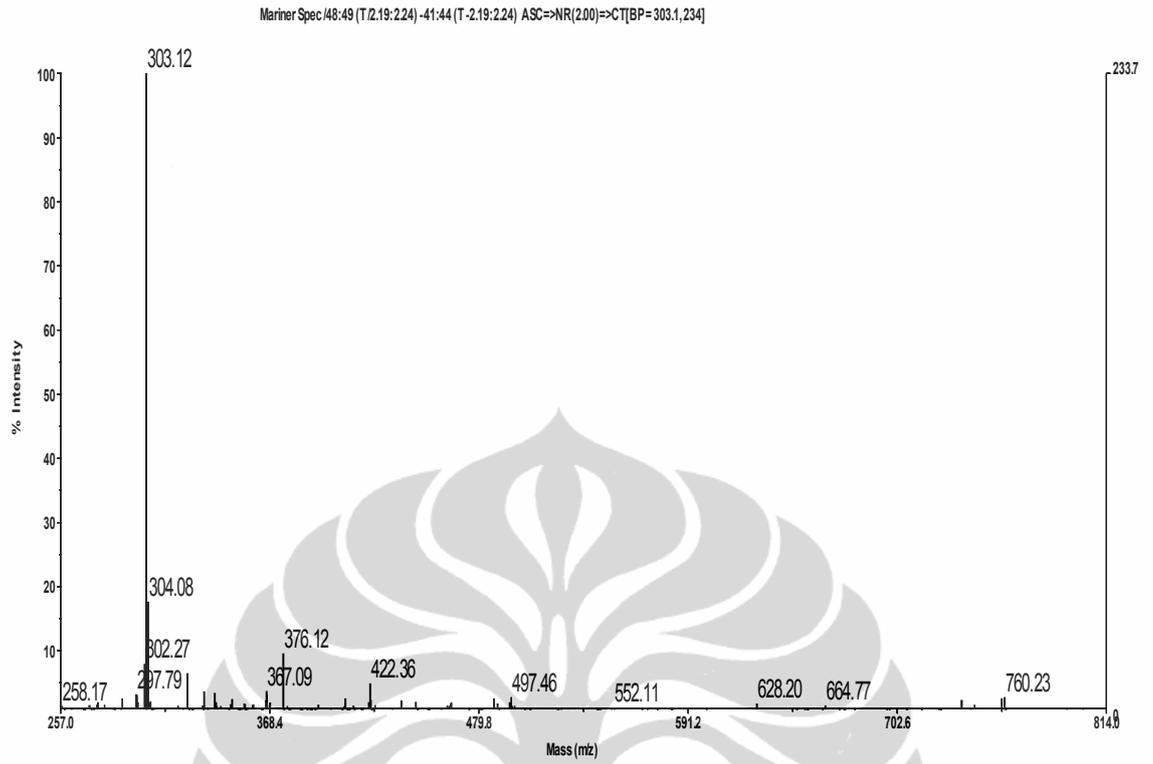
Flow 1 ml/min

Eluent MeOH+Water = 95 +5

Operating by : Puspa D N Lotulung



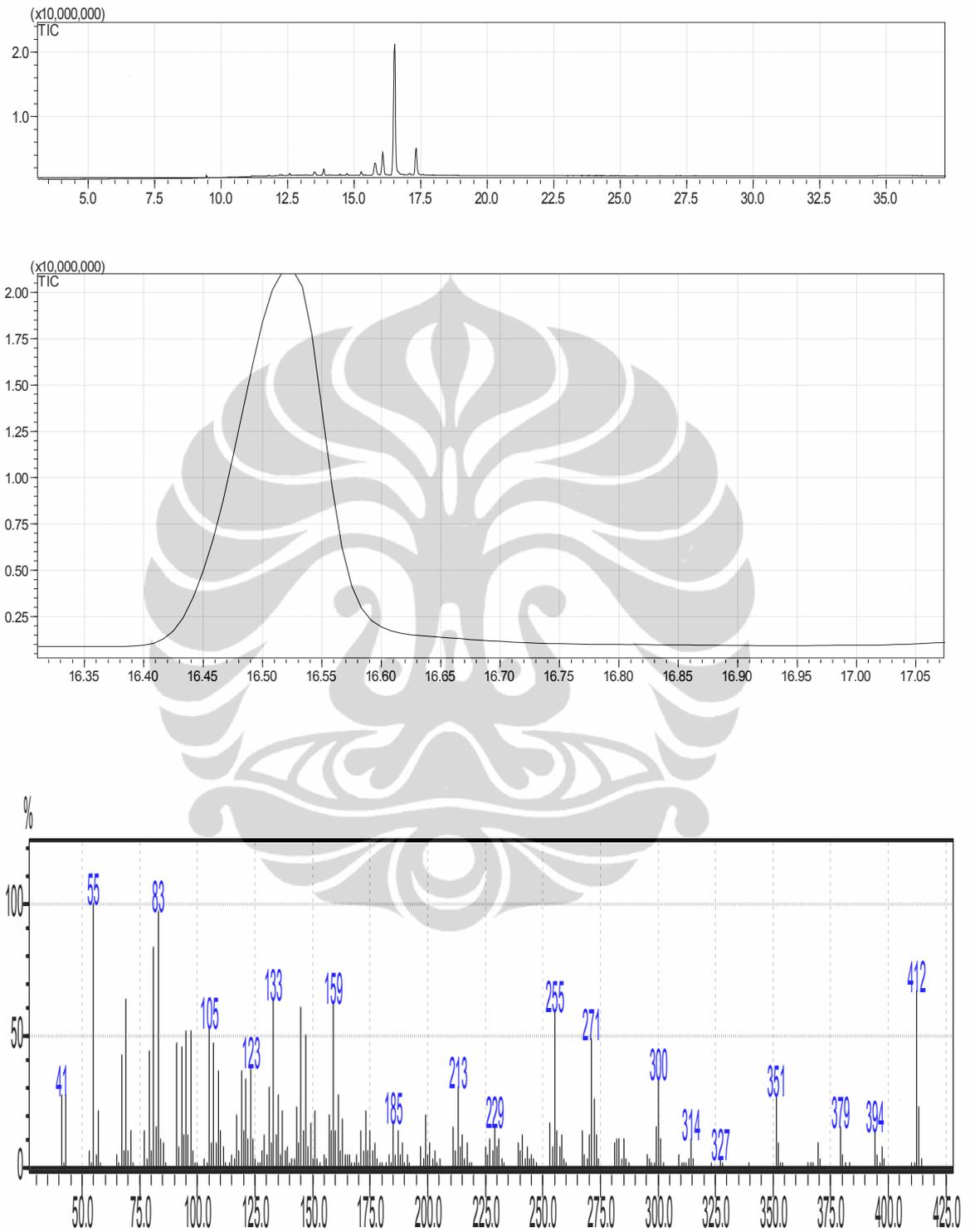
Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	1.209400	0.276233	1.442733	29	29.00
2	1.770533	1.442733	1.957483	29	8.50
3	2.191150	1.957483	2.753117	57	193.58
4	2.989467	2.753117	3.464317	31	30.22
5	3.995900	3.464317	8.957884	29	411.81



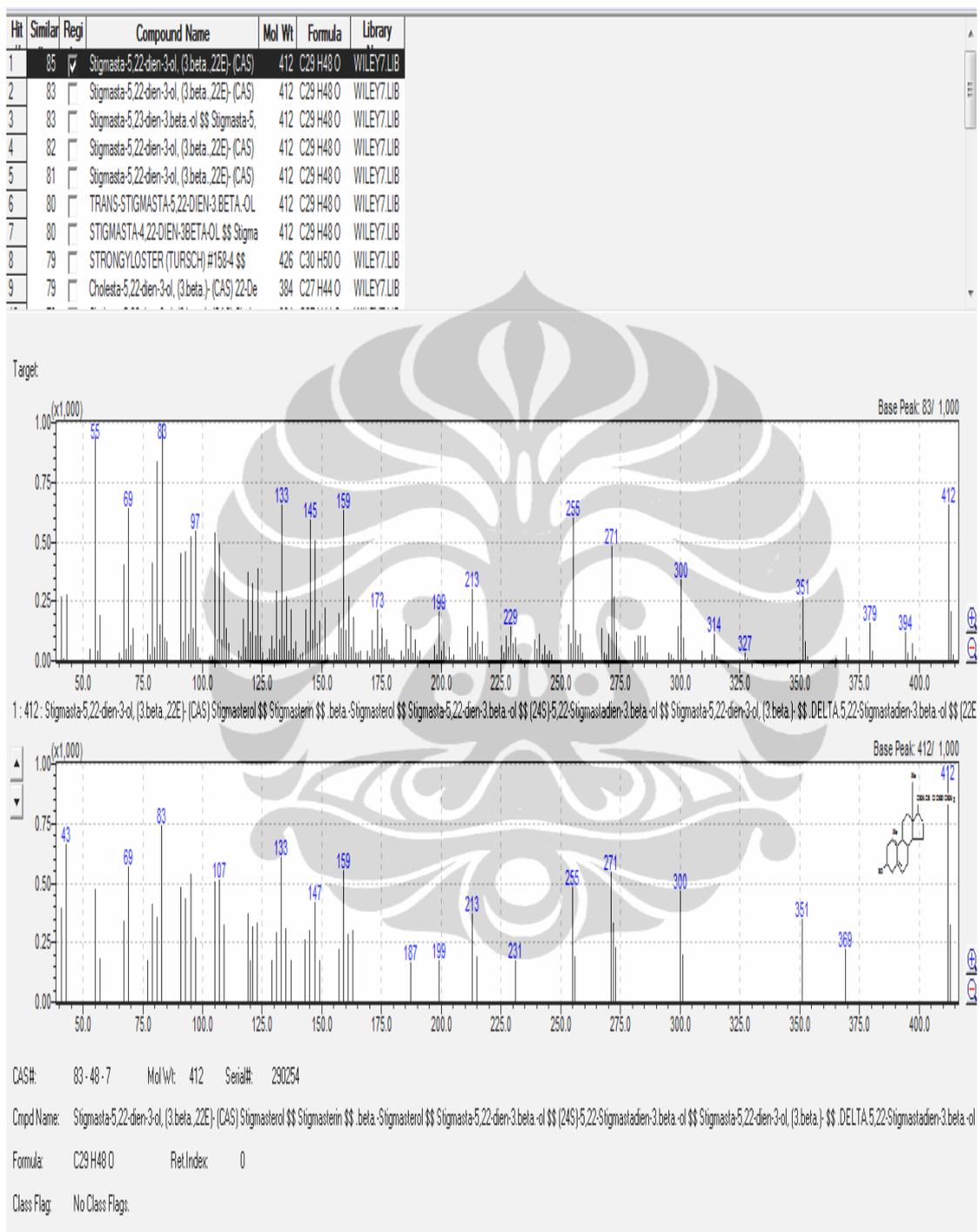




## 11. Total Ion Kromatogram dan Spektrum Massa GCMS senyawa WPA 4



## 12. Persamaan data base Willey dengan spectrum GCMS senyawa WPA 4





**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
**( Indonesian Institute of Sciences )**  
**PUSAT PENELITIAN BIOLOGI**  
**( Research Center for Biology )**

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong  
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 28 Juni 2010

Nomor : 855/IPH.1.02/If.8/VI/2010  
 Lampiran : -  
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Widiyatni  
 NPM : 0806422006  
 Mhs. Univ. Indonesia  
 Fakultas MIPA  
 Kampus UI Depok  
 16424

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Pisang Ambon	<i>Musa</i> AAA "Pisang Ambon"	Musaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

  
Prof. Dr. Eko Baroto Walujo  
 NIP. 195111041975011001

D:\Ident 2010\Widiyatni.doc\JJA-DG