



UNIVERSITAS INDONESIA

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DARI KULIT BATANG MANGGIS HUTAN**

(Garcinia cf. bancana Miq)

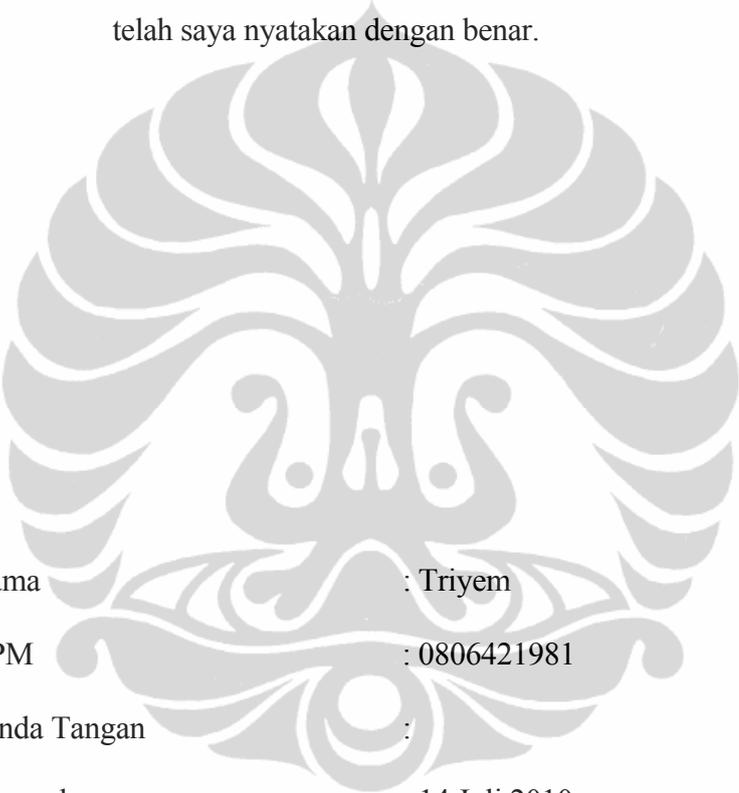
TESIS

**TRİYEM
0806421981**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA
DEPOK
JUNI 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 : Triyem
NPM : 0806421981
Tanda Tangan :
Tanggal : 14 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :
Nama : TRIYEM
NPM : 0806421981
Program Studi : Magister Ilmu Kimia
Judul Tesis : Aktivitas Antioksidan dari Kulit Batang Manggis
Hutan (*Garcinia cf. bancana* Miq)

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 : Dr. Herry Cahyana (.....)
Pembimbing : Dr. Sri Hartati, M.Si (.....)
Penguji : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc (.....)
Penguji : Dr. Endang Saepudin (.....)
Penguji : Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso (.....)
Penguji : Dr. Jarnuzi Gunlazuardi (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 14 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.

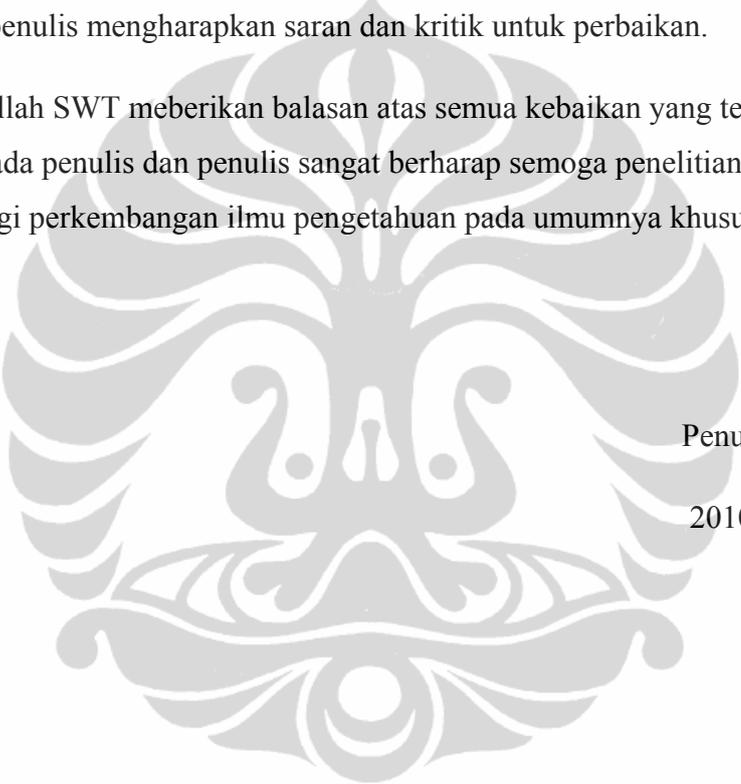
Selanjutnya penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Antonius Herry Cahyana selaku pembimbing utama dan Dr. Sri Hartati, M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing dan memberikan arahan serta saran dalam menyelesaikan penelitian ini.
2. Kepala SMA Negeri 112 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. rer. Nat. Budiawan 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. Prof. Dr. L. Broto S. Kardono sebagai Kepala Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas alat di laboratorium Kimia Bahan Alam Puslit Kimia LIPI Serpong.
7. Dr. M. Hanafi sebagai Ka. Bidang Bahan Alam Pangan dan Farmasi Puslit Kimia LIPI Serpong yang telah memberikan arahan selama penelitian.

8. Sdr. Megawati, Sdr.Lia, Sdr. Ahmad, Sdr. Sofa yang telah membantu penulis selama melakukan penelitian di Puslit LIPI Serpong.
9. Seluruh dosen dan staf karyawan Jurusan Kimia FMIPA UI, serta rekan-rekan mahasiswa yang telah memberi bantuan dan dorongan semangat kepada penulis.
10. 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 meberikan 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.



Penulis

2010

ABSTRAK

Nama : Triyem
Program Studi : Kimia
Judul : Aktivitas Antioksidan dari Kulit Batang Manggis Hutan
(*Garcinia cf. bancana* Miq).

Garcinia cf. bancana Miq termasuk familia Guttiferae yang tumbuh di Indonesia. Beberapa spesies *Garcinia* mengandung senyawa xanton dan isoprenil benzofenon dengan berbagai aktivitas biologi antara lain antioksidan, anti bakteri, anti malaria dan anti kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan struktur senyawa kimia dari kulit batang *G. cf. bancana* Miq serta uji aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian dilakukan melalui tahapan sebagai berikut: perkolasi, partisi, isolasi dengan tehnik kromatografi (kolom vakum, kolom gravitasi, kolom sphadex LH-20) dan preparatif. Struktur molekul ditentukan dengan data spektroskopi: GC-MS, IR, dan NMR. Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak *n*-heksana, etil asetat, metanol, *n*-butanol dan senyawa murni dengan menggunakan metode *radical scavenger*. Dari hasil isolasi ekstrak *n*-heksana diperoleh campuran minyak atsiri dan senyawa GBH D yang identik dengan guttiferon - F. Hasil uji aktivitas antioksidan, bahwa semua ekstrak yang diuji menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ masing-masing adalah: ekstrak *n*-heksana = 24,50 µg/mL, ekstrak metanol = 22,35 µg/mL, ekstrak etil asetat = 29,17 µg/mL, ekstrak butanol = 37,56 µg/mL, sedangkan senyawa GBH D memiliki IC₅₀ sebesar 25,79 µg/mL, dimana antioksidan kuercetin mempunyai IC₅₀ sebesar 10,09 µg/mL.

Kata kunci : *Garcinia cf. bancana* Miq, antioksidan, *radical scavenger*
xi + 78 halaman : 21 gambar; 4 tabel
Daftar Pustaka : 29 (1955-2009)

ABSTRACT

Name : Triyem
Program Study : Chemistry
Title : Antioxidant activity from stem bark of *Garcinia cf. bancana* Miq.

Garcinia cf. bancana Miq belongs to Guttiferae family which grow in Indonesia. Several species from genus of *Garcinia* contain xanton and isoprenilbenzophenone with various biological activities including antioxidant, anti-bacterial, anti-malaria and anti cancer. This research aimed to isolate and determine the structure of chemical compounds from stem bark of *G. cf. bancana* Miq, as well as antioxidant activity test. Research conducted through the following process: percolation, partitions, isolation with chromatography technique (vacuum column, gravitational column, sphadex LH-20 column) and preparative. The structure of isolated compound was established base on spectroscopy data: GC-MS, IR and NMR. Antioxidant activity test carried out on extract *n*-hexane, ethyl acetate, methanol, *n*-butanol and pure compound using radical scavenger method.

From the *n*-hexane extract afforded mixture of essential oils and GBH D compound which identical with guttiferon F. Antioxidant activity test, showed activity with the IC₅₀, respectively, are *n*-hexane extract = 24,50 µg/mL, methanol extract = 22,35 µg/mL, ethyl acetate extract = 29,17 µg/mL, *n*-butanol extract = 37,56 µg/mL and GBH D compound has IC₅₀ = 25,79 µg/mL, whereas antioxidant quercetin with IC₅₀ = 10,09 µg/mL.

Key Words : *Garcinia cf. bancana* Miq, antioxidant, radical scavenger

Xi + 78 pages : 21 pictures; 4 tables

Bibliography : 29 (1955-2009)

DAFTAR ISI

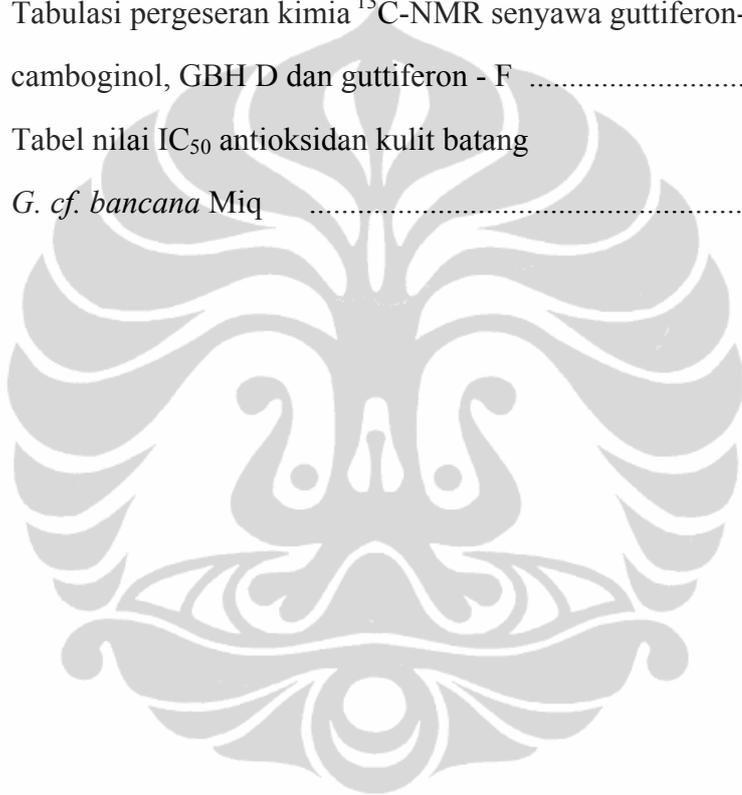
LEMBAR ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Metode Penelitian.....	2
1.3. Rumusan masalah	2
1.4. Tujuan Penelitian	2
1.5. Hipotesis	2
1.6. Manfaat Penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Garcinia	3
2.2. Taksonomi	4
2.3. Kandungan Senyawa pada Garcinia	5
2.4. Aktivitas biologi senyawa pada Garcinia	11
2.5. Antioksidan	14
3. METODE PENELITIAN	23
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
5. KESIMPULAN DAN SARAN	61
DAFTAR REFERENSI	62
DAFTAR LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Herbarium daun dan ranting <i>Garcinia cf. bancana</i> Miq	5
Gambar 2.2 Reaksi <i>Radical Scavenger</i>	16
Gambar 2.3 Mekanisme reaksi antioksidan	20
Gambar 2.4 Mekanisme reaksi antioksidan BHT	21
Gambar 3.1 Bagan Pelaksanaan Penelitian	30
Gambar 4.1 Biosintesis γ – cadinen	37
Gambar 4.2 Biosintesis kariofilen oksida	38
Gambar 4.3 Penggalan $^1\text{H-NMR}$ dari 3 proton triplet serta 2 singlet	40
Gambar 4.4 Penggalan $^1\text{H-NMR}$ gugus aromatik	41
Gambar 4.5 Biosintesis guttiferon - F	51
Gambar 4.6 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>n</i> -heksana dengan Metode <i>Radical Scavenger</i>	52
Gambar 4.7 Grafik % inhibisi Ekstrak <i>n</i> -heksana	53
Gambar 4.8 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dengan Metode <i>Radical Scavenger</i>	54
Gambar 4.9 Grafik % inhibisi Ekstrak metanol	54
Gambar 4.10 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak etil asetat dengan metode <i>Radical Scavenger</i>	55
Gambar 4.11 Grafik % Inhibisi Ekstrak etil asetat	56
Gambar 4.12 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>n</i> -butanol dengan metode <i>Radical Scavenger</i>	56
Gambar 4.13 Grafik % Inhibisi ekstrak <i>n</i> -butanol	57
Gambar 4.14 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan isolat GBH D dengan metode <i>Radical Scavenger</i>	58
Gambar 4.15 Grafik % Inhibisi isolat GBH D	58
Gambar 4.16 Diagram batang IC_{50} hasil uji aktivitas antioksidan	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Tabulasi pergeseran kimia karbon (ppm) hasil pengukuran ¹³ C-NMR dan HMQC serta HMBC dari senyawa GBH D..	46
Tabel 4.2 Tabulasi pergeseran kimia ¹ H-NMR senyawa guttiferon-E, camboginol, GBH D dan guttiferon - F	47
Tabel 4.3 Tabulasi pergeseran kimia ¹³ C-NMR senyawa guttiferon-E, camboginol, GBH D dan guttiferon - F	48
Tabel 4.4 Tabel nilai IC ₅₀ antioksidan kulit batang <i>G. cf. bancana</i> Miq	59



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Identifikasi Sampel <i>Garcinia cf. bancana</i> Miq	65
Lampiran 2 Data Hasil Pengukuran Absorbansi ($\lambda = 517 \text{ nm}$) uji aktivitas antioksidan <i>Radical Scavenger</i>	66
Lampiran 3 Spektrum IR senyawa GBH D	67
Lampiran 4 Data LC MS senyawa GBH D.....	68
Lampiran 5 Data $^1\text{H-NMR}$ Senyawa GBH D	69
Lampiran 6 Data $^{13}\text{C-NMR}$ Senyawa GBH D.....	70
Lampiran 7 Data DEPT Senyawa GBH D.....	71
Lampiran 8 Data HMQC Senyawa GBH D.....	72
Lampiran 9 Data HMBC Senyawa GBHD	73
Lampiran 10 Spektrum GC MS Isolat GBH A	74

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia termasuk negara kepulauan yang terletak di daerah tropis dengan keanekaragaman hayati yang cukup tinggi dan belum seluruhnya dimanfaatkan. Genus *Garcinia* merupakan tumbuhan tropis yang termasuk dalam familia Guttiferae dan terdapat lebih kurang 400 spesies (Lawrence G.H.M.,1955) tumbuh di Mexico, India, Afrika, Filipina dan Malaysia. Tumbuhan ini banyak tersebar di Indonesia, yang umumnya dikenal sebagai tumbuhan manggis – manggisian. Hampir semua bagian dari tumbuhan ini dapat dimanfaatkan. Buah dari spesies tumbuhan ini dapat dimakan seperti buah manggis (*G. mangostana*), mundu (*G. dulcis*), dan asam kandis (*G. parvifolia*). Dari beberapa penelitian yang dilakukan terhadap tanaman *Garcinia* menunjukkan, bahwa secara umum kandungan kimia dari tumbuhan familia *Garcinia* adalah adanya senyawa xanton dan turunannya. Beberapa senyawa xanton dilaporkan memiliki aktivitas biologi antara lain: sitotoksik sebagai contoh adalah xanton terprenilasi dari *G. gaudichaudii* bersifat sitotoksik terhadap beberapa jaringan sel kanker (Cao, 1998) sedangkan mangostin dari *G. mangostana* mempunyai efek antioksidan (Yoshikanwa, 1996).

Kebutuhan masyarakat terhadap antioksidan makin banyak, sementara ini antioksidan yang beredar di masyarakat sebagian besar berupa senyawa sintesis yang segi keamanan bagi konsumen perlu diwaspadai, sehingga diperlukan variasi sumber antioksidan alami. Salah satu upaya tersebut adalah dilakukan penelitian tentang senyawa antioksidan yang terdapat pada manggis hutan yang belum banyak dimanfaatkan.

1.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif dengan menggunakan bahan alam kulit batang manggis hutan (*Garcinia cf. bancana* Miq). Metode penelitian yang digunakan adalah ekstraksi, partisi dan purifikasi dengan metoda kombinasi kromatografi dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode *radical scavenger* terhadap ekstrak dan senyawa murni.

Identifikasi senyawa murni dengan analisis spektroskopi GC-MS, IR dan NMR dilakukan untuk mengetahui stuktur senyawa antioksidan yang terdapat pada kulit batang manggis hutan (*G. cf. bancana* Miq).

1.3 Rumusan Masalah

Penelitian tentang Garcinia telah banyak dilakukan baik dari buah, kulit buah maupun kulit batang yang memiliki bioaktivitas antara lain sebagai antioksidan. Spesies Garcinia yang tersebar di kepulauan Indonesia cukup banyak yang belum diteliti secara keseluruhan. Sekarang masalah yang timbul adalah, apakah senyawa bioaktif dari ekstrak kulit batang manggis hutan yang diisolasi mempunyai aktivitas sebagai antioksidan.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan struktur molekul senyawa kimia dari kulit batang *G. cf. bancana* Miq serta menguji aktivitasnya sebagai antioksidan.

1.5 Hipotesis

Salah satu fraksi dari *G. cf. bancana* Miq mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan yang dapat ditentukan struktur molekulnya.

1.6 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi kandungan dari *G. cf. bancana* Miq serta dapat menambah khasanah Ilmu Pengetahuan khususnya di bidang kimia bahan alam.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Genus *Garcinia*

Garcinia termasuk dalam famili Clusiaceae (Guttiferae) dan memiliki 400 spesies yang sebagian besar ditemukan di daerah tropis. Di Indonesia terdapat sekitar 100 spesies *Garcinia*, yang merupakan bagian penting dari komposisi hutan. Beberapa *Garcinia* juga tumbuh di daerah yang memiliki empat musim seperti di kepulauan Jepang, Korea dan sebagian wilayah dataran Cina (Ilyas Kamil, 1994). *Garcinia* di Indonesia dikenal sebagai manggis – manggisian. Beberapa spesies dari *Garcinia* ini, buahnya dapat dimakan dan telah banyak dibudidayakan, seperti buah manggis (*G. mangostana*), mundu (*G. dulcis*) dan asam kandis (*G. parvifolia*). Kebanyakan rasa buahnya asam, karena mengandung asam sitrat, kadang- kadang dipakai untuk pengganti asam jawa (tamarin) misalnya *G. atrovirdis* dan *G. cambogia*. Daun *G. cowa* Roxb yang masih muda dapat digunakan sebagai makanan tambahan pada makanan Thailand. Batang tanaman *Garcinia* yang keras, biasanya digunakan untuk bahan bangunan, seperti pada *G. mangostana* dan *G. parvifolia*, kulit kayu dari *G. dulcis* dan *G. subelliptica* digunakan sebagai sumber bahan pewarna. Daun *G. cola* dapat digunakan untuk membersihkan gigi (Yapwattanaphun, 2003).

2.2 Taksonomi

Dari hasil klasifikasi menurut (Keng, 1978 dan Whitmore, 1973), *G. cf. bancana* Miq merupakan tumbuhan yang termasuk:

Divisio	: Spermatophyta
Sub. Divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Guttiferales (Clusiaceae)
Famili	: Guttiferae
Sub famili	: Clusiaceae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia cf. bancana</i> Miq

Tanaman *G. cf. bancana* Miq diambil dari desa Kalampanga, Kecamatan Sebangau Palangkaraya Kalimantan Tengah yang dikenal dengan nama manggis hutan. Kondisi tumbuhan ini memiliki tinggi sekitar 10 meter dengan diameter 13 cm, memiliki kulit batang luar halus berwarna coklat dan bagian dalam berwarna kuning, banyak mengandung getah berwarna kuning. Berikut ini gambar herbarium ranting dan daun *G. cf. bancana* Miq.



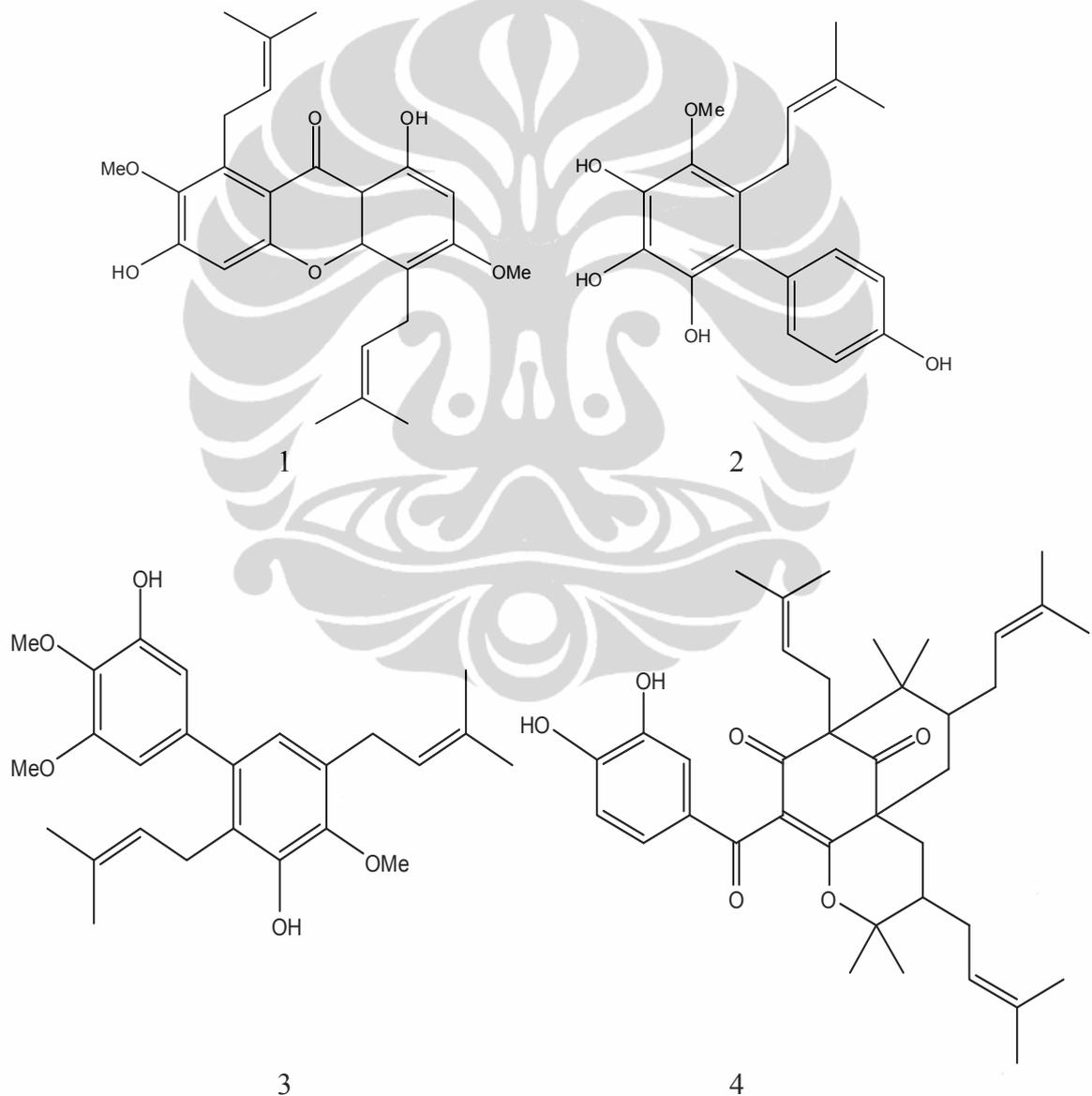
Gambar 2.1 Herbarium daun *Garcinia cf. bancana* Miq
(koleksi Herbarium Bogoriense LIPI Bogor)

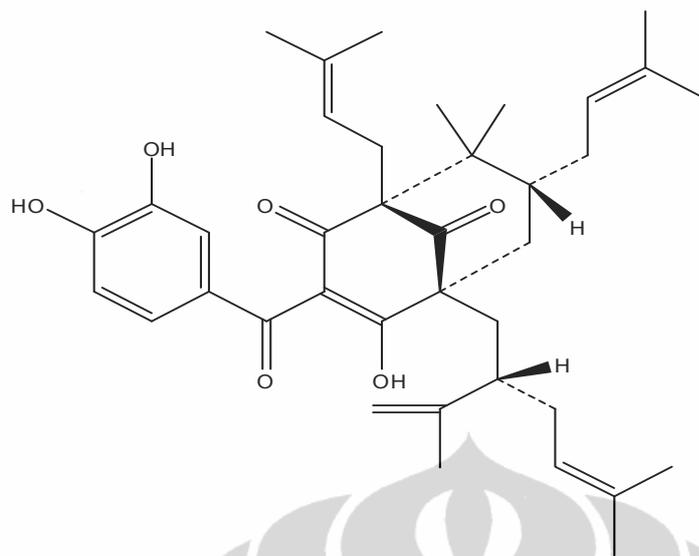
2.3 Kandungan senyawa pada beberapa *Garcinia*

Beberapa spesies *Garcinia* telah diteliti dan terdapat kandungan berbagai jenis senyawa. Senyawa yang spesifik pada spesies ini, antara lain adalah xanton dan turunannya.

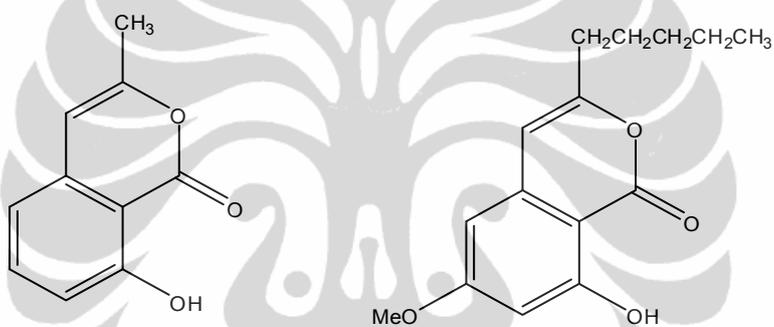
2.3.1 Kandungan senyawa pada *Garcinia bancana* Miq.

Naklue and Rukachaisirikul (2004) dari Department of Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, telah berhasil mengisolasi 3 senyawa baru dari ekstrak metanol ranting *G. bancana* Miq yaitu 1,6-dihidroksi-3,7-dimetoksi-4,8-bis(3-metilbut-2-eyl)xanton (1), 2,3,4,4'-tetrahidroksi-5-metoksi-6-(3-metilbut-2-eyl)bifenil (2) and 3,3'- dihidroksi-4,4',5'-trimetoksi-2,5-bis(3-metilbut-2-eyl)bifenil (3) disamping 6 senyawa yang telah ditemukan sebelumnya yaitu cambogin (4), camboginol (5), mellein (6), 8- hidroksi-6- metoksi-3-pentilisocoumarin (7), stigmasterol (8), dan lupeol (9).



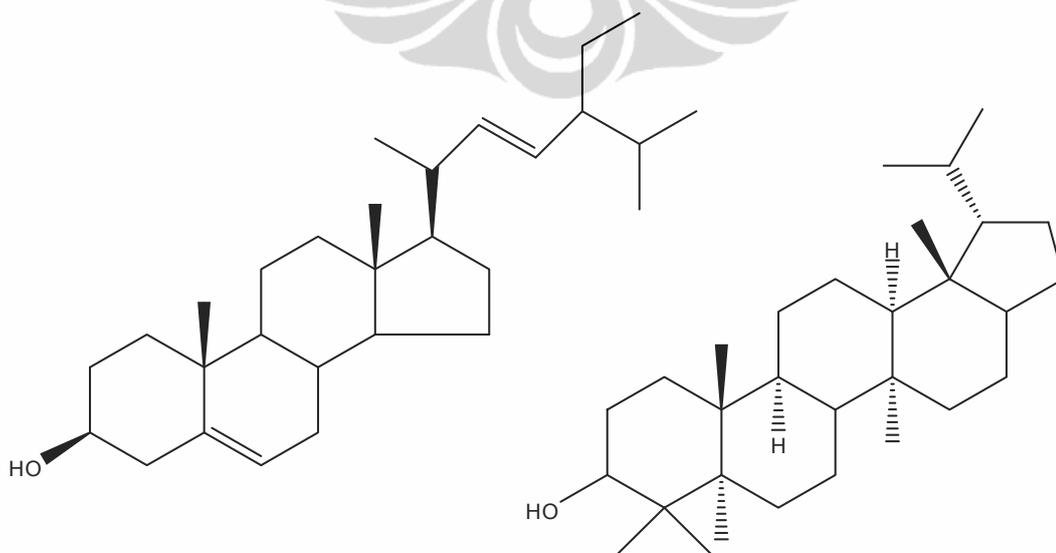


5



6

7

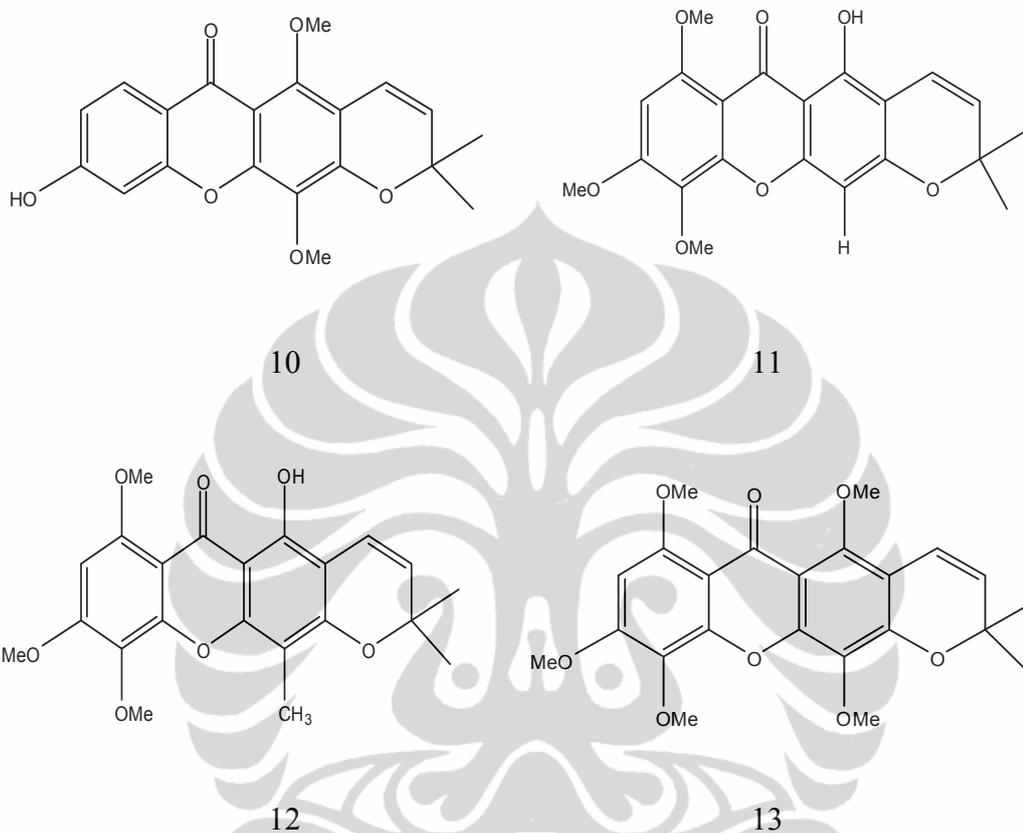


8

9

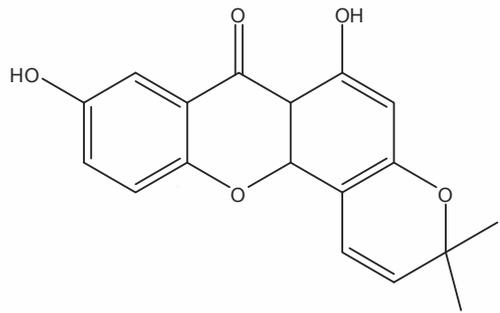
2.3.2 Kandungan Senyawa Pada *Garcinia dulcis*

Dari ekstrak *n*-heksana daun *G. dulcis* ditemukan dulxanton E (10) (Kosela, *et al.*, 1999), sedangkan pada tahun 2000 dari ekstrak daun *G. dulcis* ditemukan dulxanton F – H (11,12,13) (Kosela, *et al.*, 2000).

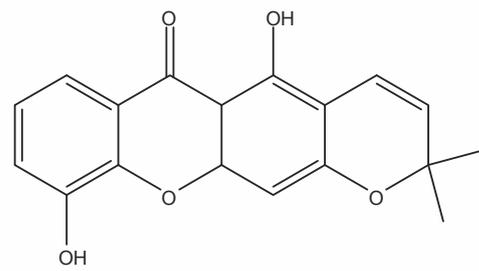


2.3.3 Kandungan senyawa pada *G. nigrolineata*

Pada tahun 2003 Vatcharin *et al.*, melakukan isolasi senyawa dari ekstrak metanol kulit batang *G. nigrolineata*, diperoleh sembilan senyawa xanton baru nigrolineaxanton A - I, yang sebelumnya telah ditemukan 6 senyawa. Rumus struktur senyawa tersebut antara lain: nigrolineaxanton F (14) dan struktur senyawa yang lama adalah 1,5 dihidroksi- 6,6-dimetilpirano[2,3:3,2] xanton (15).



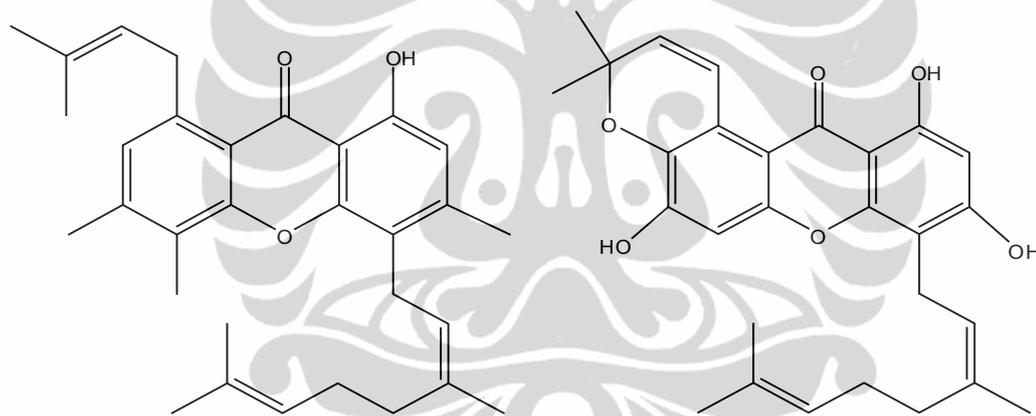
14



15

2.3.4 Kandungan senyawa dalam *G. virgata*

Dari ekstrak kulit batang *G. virgata*, diantaranya ditemukan dua xanton terprenilasi, yaitu virgaxanton A (16) dan B (17) (Joumma *et al.*, 2004).

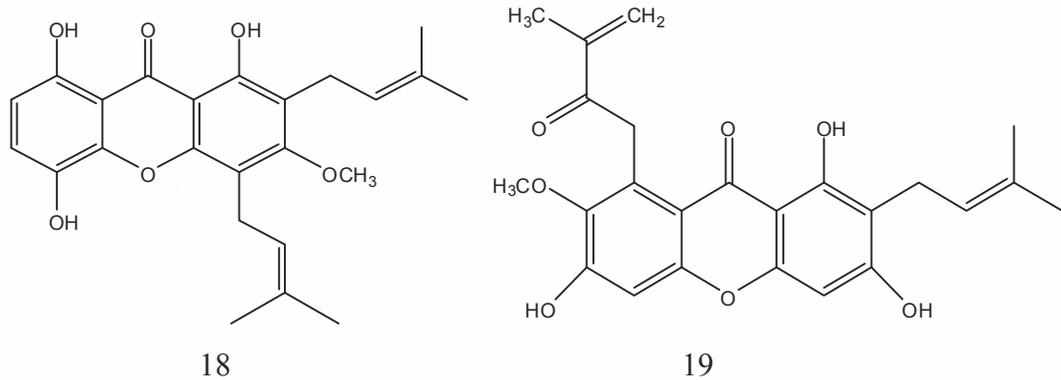


16

17

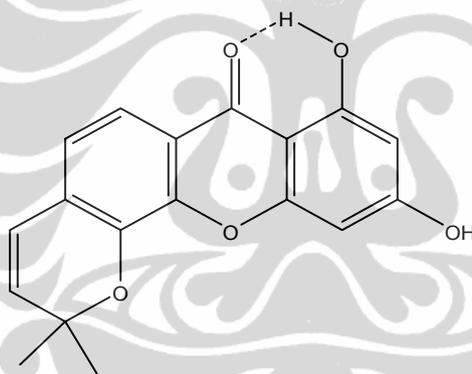
2.3.5 *Garcinia mangostana*

Pada tahun 2006 Hyun-Ah Jung *et al.*, dari Division of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, College of Pharmacy, The Ohio State University, telah berhasil mengisolasi dua senyawa xanton baru, yaitu 8-hidroksicudraxanton G (18) dan mangostinon (19).



2.3.6 Kandungan Senyawa pada *G. tetrandra* Piere

Dari ekstrak aseton *G. tetrandra* Piere, ditemukan senyawa baru dengan nama tetrandraxanton atau 1,3-dihidroksi,2'2'-dimetilpirano (5',6',5,6) xanton (20) (Hartati, 2007).

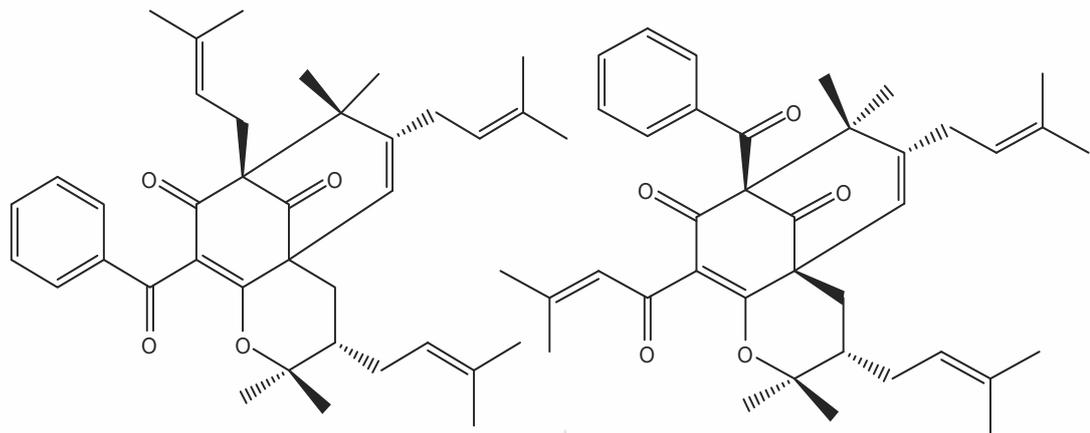


20

2.3.7 Kandungan Senyawa pada *G. multiflora*

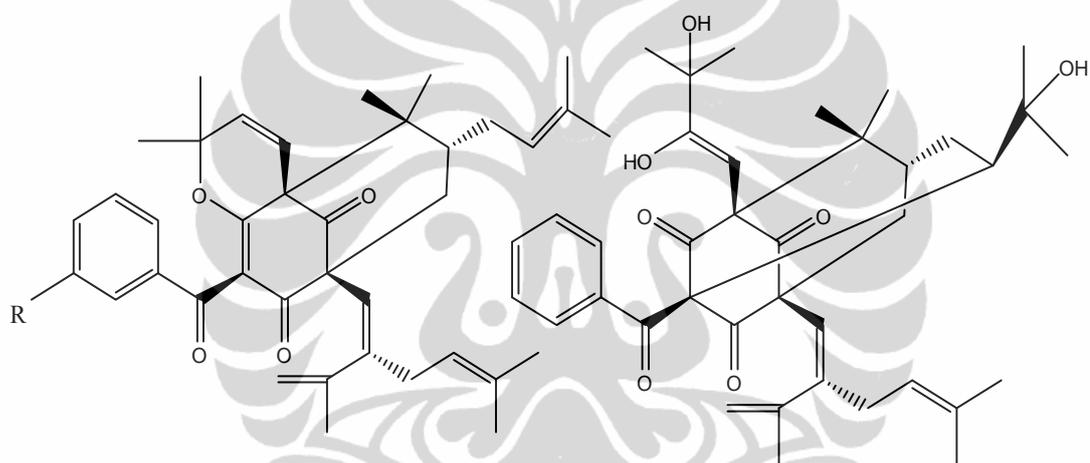
Jih-Jung Chen *et al.*, (2009) telah menemukan lima turunan benzofenon dari ekstrak buah *G. multiflora* antara lain 13,14-didehidroksiisogarcinol (**21**), garcimultiflorone A (**22**), garcimultiflorone B (**23**), 13-hidroksigarcimultiflorone B (**24**), dan garcimultiflorone C (**25**).

Senyawa 21- 23 menunjukkan hambatan dengan kisaran IC_{50} sebesar 0,11 – 5,58 μ M pada anion superoksida .



21

22



23. R = H

24. R = OH

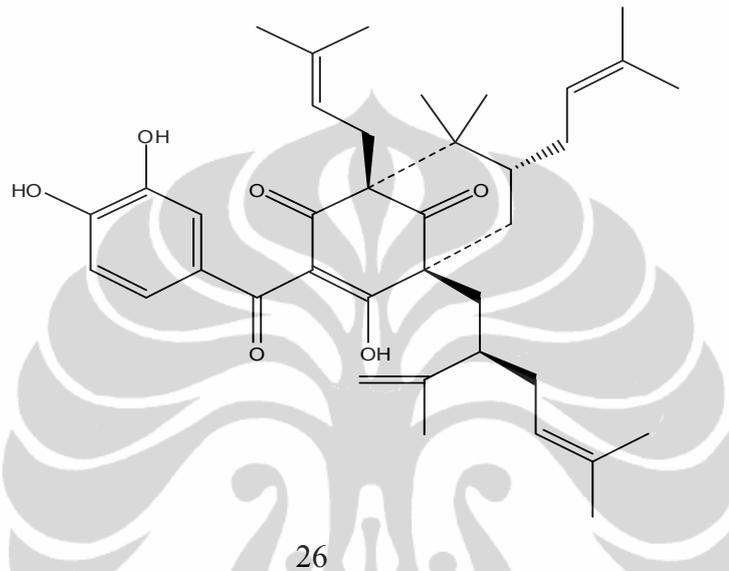
25

2.4 Aktivitas Biologi Senyawa pada Garcinia

Beberapa spesies *Garcinia* yang telah diteliti ternyata memiliki kandungan senyawa kimia dengan berbagai aktivitas biologi antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, sitotoksik, antimalaria dan berbagai aktivitas biologi lainnya. Berikut ini beberapa contoh spesies *Garcinia* yang telah diteliti dan memiliki aktivitas biologi sebagai antioksidan.

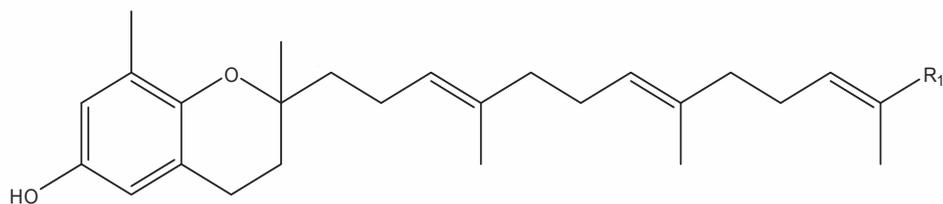
2.4.1 Antioksidan dari *G. indica*

Telah ditemukan garcinol (26) dari ekstrak metanol kulit buah kering yang memiliki aktivitas antioksidan hampir sama dengan aktivitas DL- α -tokoferol, bahkan garcinol mampu menekan hidroksil radikal bebas lebih kuat dari pada DL- α -tokoferol (Yamaguchi, *et al.*, 2000). Garcinol juga mampu menghambat aktivitas xantin oksidase secara kompetitif dengan IC_{50} 52 μ M (Chiung-Ho, *et al.*, 2005)



2.4.2 Antioksidan dari *G. cola*

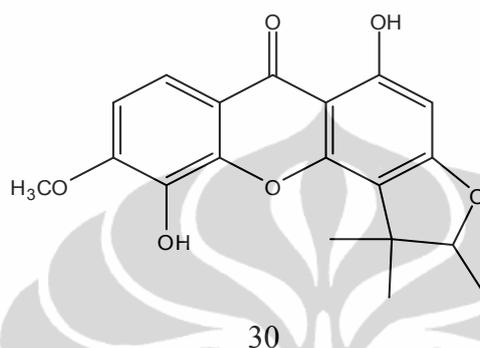
Telah ditemukan asam garcinoat (27) garcinal (28) dan α -tokotrienol (29) dari biji *G. cola*. Ketiga senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan tiga kali lebih kuat dari pada DL- α -tokoferol (Terashima, *et al.*, 2002)



- | | |
|----------------------------|---------------------|
| 27 = Asam garcinoat | $R_1 = \text{COOH}$ |
| 28 = Garcinal | $R_1 = \text{CHO}$ |
| 29 = α -tokotrienol | $R_1 = \text{CH}_3$ |

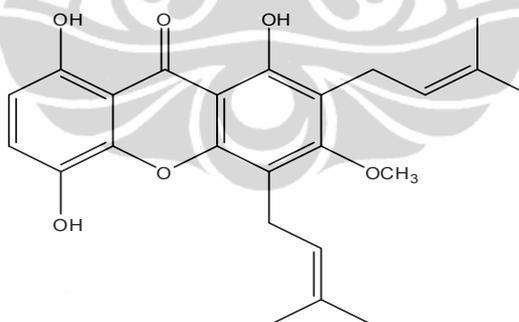
2.4.3 Antioksidan dari *G. vieillardii*

Dari fraksi diklorometana kulit batang, ditemukan dua xanton baru dan empat xanton lama. Salah satu xanton baru yang ditemukan yaitu 6-O-metil-2-deprenilrheediaxanton-B (30) yang memiliki aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH hampir sama dengan BHA (Hay, *at al.*, 2004)



2.4.4 Antioksidan dari *G. mangostana* Hulls

Dari *G. mangostana* Hulls ditemukan 12 senyawa xanton lama dan dua senyawa xanton terpenilasi baru, salah satunya yaitu 8-hidroksicudraxanton G (31) yang dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode *peroxynitrite-scavenging* dengan nilai IC_{50} 4.6 μ M (Hyun, 2006)



Nuttavut, (2007) meneliti aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol *G. mangostana* Hulls dan diperoleh IC_{50} = 20,50 μ g/mL dengan menggunakan metode DPPH *scavenging activity*. Sedangkan senyawa antioksidan perbandingan yang digunakan adalah asam askorbat dengan IC_{50} = 13,57 μ g/mL.

2.5 Antioksidan

Senyawa – senyawa yang memiliki rangka karbon pada umumnya mengalami kerusakan yang disebabkan oleh reaksi dengan oksigen di udara bebas. Kerusakan dapat diamati pada lemak dan minyak yang menghasilkan bau yang tidak enak, terjadi perubahan warna dan rasa yang dapat mengakibatkan penurunan nilai gizi. Para ahli kimia mencoba melakukan penelitian terhadap proses reaksi yang terjadi dan berusaha untuk menghambat berlangsungnya reaksi tersebut.

Penambahan sejumlah bahan kimia tertentu, akhirnya dilaporkan dapat menghambat berlangsungnya proses oksidasi, atau antioksidasi. Bahan kimia yang dimaksud sekarang lebih dikenal sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang secara alami terdapat pada hampir semua bahan pangan. Senyawa tersebut berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan akibat terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang menjadikan bahan pangan tersebut berbau tengik dan rasa tidak enak.

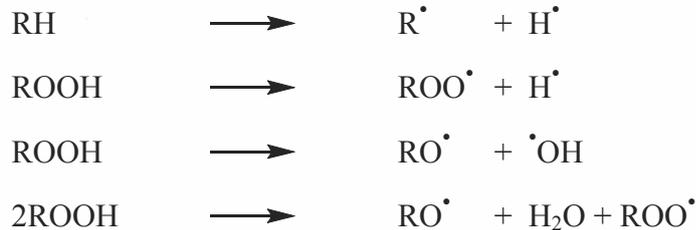
Meskipun antioksidan terdapat secara alami dalam bahan pangan, jika bahan pangan tersebut diolah, maka senyawa tersebut dapat mengalami degradasi secara kimia maupun fisika, sehingga fungsinya menjadi menurun. Dalam bidang industri, terutama industri makanan, peranan antioksidan sangat diperlukan dalam upaya untuk menjaga mutu setiap produk yang dihasilkan. Demikian juga pada industri lainnya yang menggunakan senyawa – senyawa organik sebagai bahan yang mudah mengalami oksidasi, akan memerlukan penggunaan antioksidan.

2.5.1 Mekanisme reaksi outooksidasi

Senyawa-senyawa organik yang memiliki ikatan tidak jenuh sangat rentan terhadap oksigen. Sebagai contoh, lemak dengan kandungan ikatan tidak jenuh mudah sekali mengalami reaksi dengan oksigen di udara yang menghasilkan radikal bebas. Reaksi ini secara garis besar dapat digolongkan menjadi tiga tahapan reaksi (Scott, 1988, Gordon ,1990).

1) Tahap inisiasi

Tahap inisiasi merupakan tahap pembentukan radikal bebas prosesnya dikatalisis oleh adanya panas, cahaya matahari dan terdapatnya ion logam.



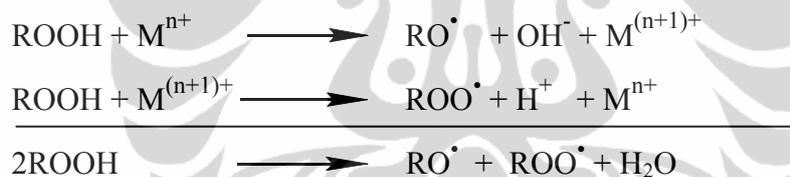
ROOH dapat terbentuk dengan beberapa cara, antara lain reaksi dengan oksigen singlet $^1\text{O}_2$ menurut reaksi :



Berikutnya adalah reaksi asam lemak tidak jenuh dengan adanya enzim lipoksigenase.



Ion logam juga dapat mengkatalisis reaksi penguraian ROOH



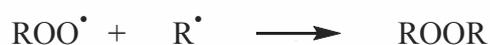
2) Tahap propagasi

Pada tahap ini terjadi perubahan radikal bebas menjadi radikal bentuk lain



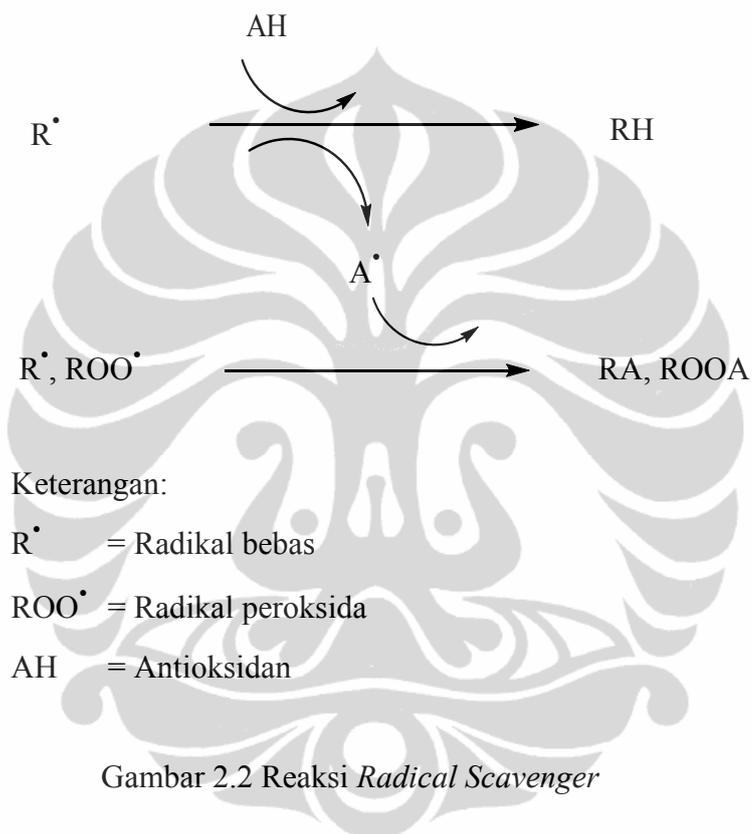
3) Tahap terminasi

Tahap ini merupakan terbentuknya penggabungan dua radikal bebas membentuk produk baru yang stabil.



2.5.2 Mekanisme Reaksi *radical Scavenger*

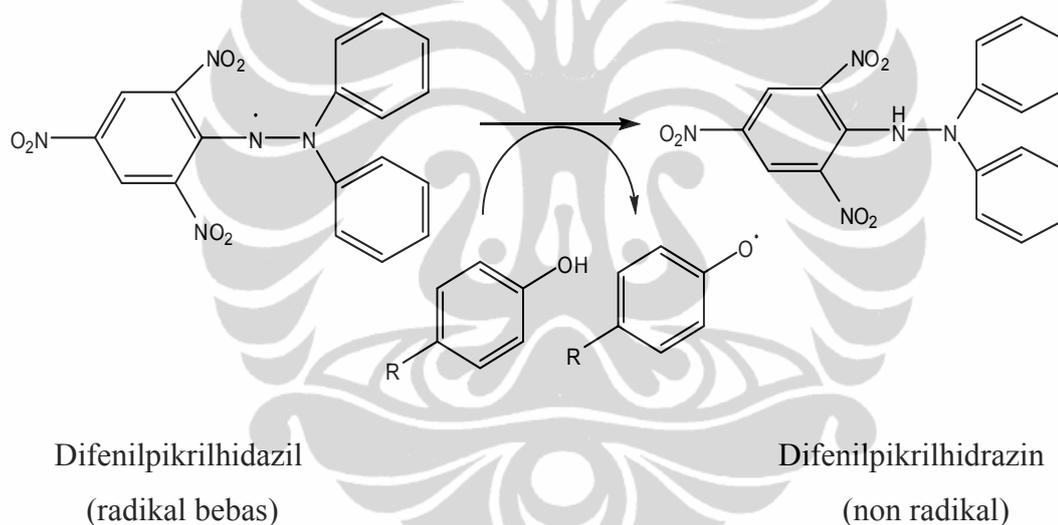
Suatu zat dikatakan sebagai antioksidan jika dapat berperan sebagai donor hidrogen ataupun akseptor elektron. Pemberian atom hidrogen oleh antioksidan yang berperan sebagai donor hidrogen merupakan tahap awal pada mekanisme antioksidan melalui *radical scavenger* (pemerangkap radikal). Adapaun reaksi *radical scavenger* dapat ditunjukkan pada Gambar 2.2 berikut ini:



Pada mekanisme *radical scavenger*, apabila asam lemak diberi inisiator seperti cahaya, panas, enzim atau logam berat, maka akan terjadi tahap reaksi inisiasi, sehingga terbentuk radikal bebas (R^{\bullet}). Selanjutnya radikal bebas ini akan bereaksi dengan oksigen (O_2) membentuk radikal peroksida (ROO^{\bullet}) yang sangat reaktif. Radikal bebas yang terbentuk dapat dideaktivasi dengan senyawa yang dikenal dengan *radical scavenger*. Pada tahap awal mekanisme *radical scavenger* ini, antioksidan akan bertindak sebagai donor hidrogen pada radikal bebas sehingga terjadi penghambatan pada pembentukan radikal peroksida.

2.5.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode *radical scavenger* DPPH

Salah satu metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah metode *radical scavenger* DPPH. Metode ini didasarkan pada kemampuan antioksidan menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen. Metode DPPH menggunakan senyawa radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Senyawa DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Berikut ini adalah reaksi antara radikal bebas DPPH dengan suatu antioksidan fenolik (Molyneux, 2004)



2.5.4 Fungsi antioksidan

Tujuan penambahan antioksidan dalam jumlah tertentu adalah untuk mencegah atau memperlambat terjadinya proses autooksidasi. Antioksidan dapat berperan pada setiap tahap proses autooksidasi. Pada tahap 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 tahap 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 elektron, yang dapat mengubah radikal aktif menjadi bentuk lain yang lebih stabil. Sedangkan pada tahap terakhir yang dikenal dengan tahap terminasi dimaksudkan agar tidak terbentuk produk baru yang lebih stabil dengan sifat berbeda dari senyawa asalnya. Dengan demikian, penambahan antioksidan dapat berperan pada setiap tahap yang meliputi tahap inisiasi, propagasi dan terminasi.

2.5.5 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.

2.5.5.1 Klasifikasi antioksidan berdasarkan sumbernya

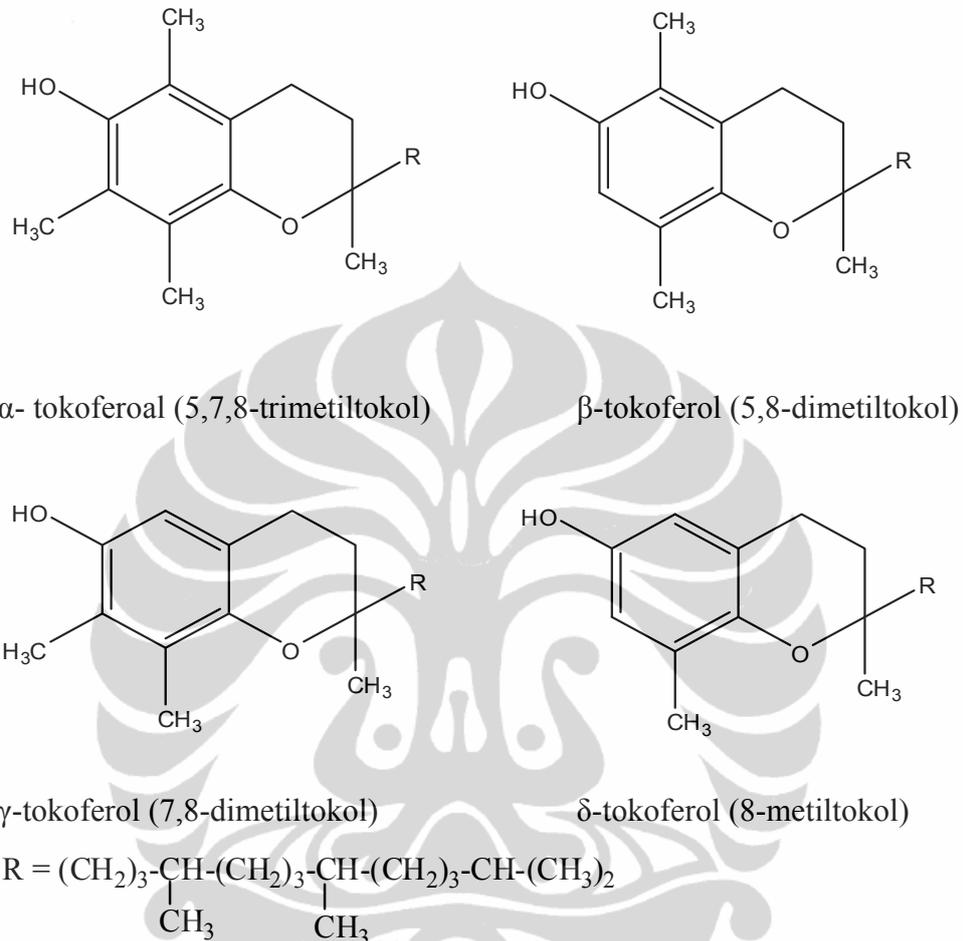
Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik.

2.5.5.1.1 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 α , β , γ dan σ 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 (32) tersebut adalah sebagai berikut:

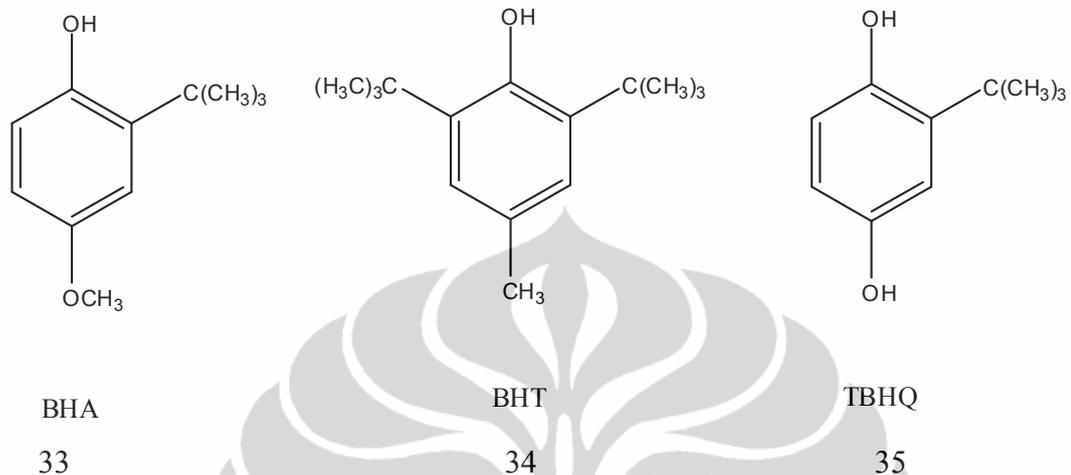


32

2.5.5.1.2 Antioksidan Sintetik

Winarno, (1984) mengatakan bahwa antioksidan sintetik yang sering digunakan adalah *Butylated hydroxyanisole* (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. BHA biasanya digunakan sebagai antioksidan dalam bahan pangan. BHA ini sangat mudah mengalami degradasi oleh panas dan irradiasi oleh sinar UV. BHT biasanya ditambahkan pada bahan pangan dengan tujuan mencegah terjadinya proses autooksidasi. BHT ini merupakan salah satu antioksidan

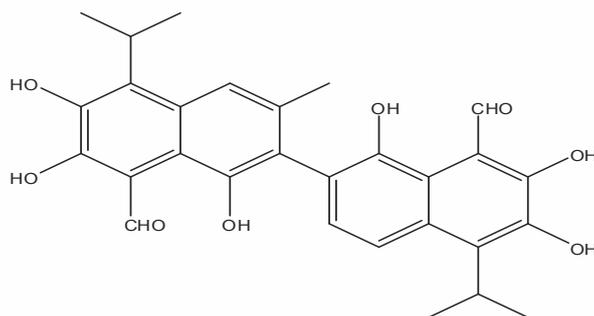
monofenolik. Sedangkan *Tert-Butyl Hydroquinone* (TBHQ) merupakan antioksidan difenolik yang biasa ditambahkan pada makanan. Struktur dari BHA (33), BHT (34), dan TBHQ (35) sebagai berikut :



2.5.5.2 Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan Perbedaan gugus yang terikat pada cincin benzena

Ketaren (1986) mengatakan bahwa pada umumnya antioksidan mengandung struktur inti yang sama, yaitu mengandung cincin aromatis 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 (36) dengan struktur sebagai berikut :

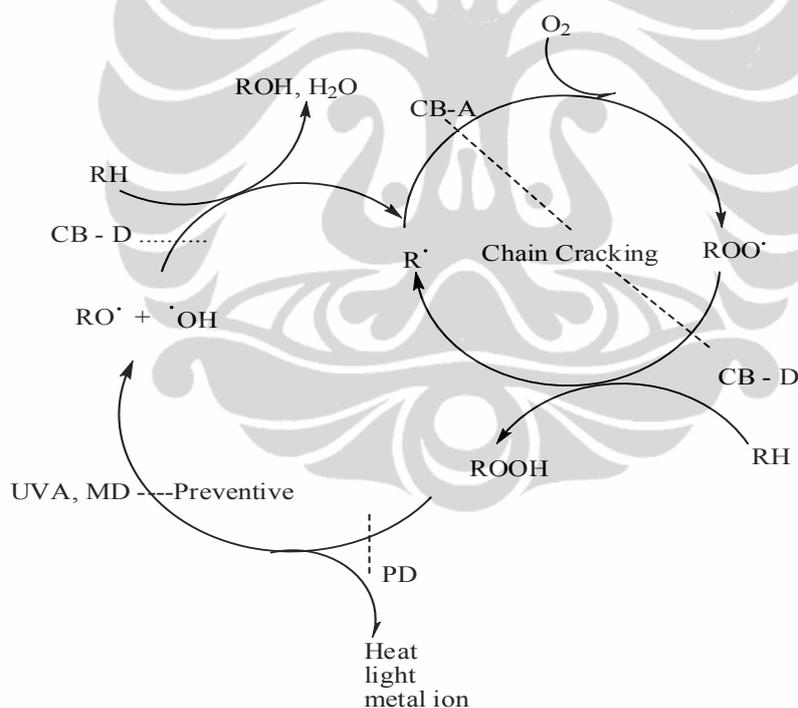


36

2.5.5.3 Klasifikasi antioksidan berdasarkan mekanisme reaksi

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

Secara skematis mekanisme reaksi dari antioksidan dapat digambarkan sebagai berikut :



Ket:

CB-A : *Chain Breacking Acceptor*

CB-D : *Chain Breacking Donor*

PD : *Peroxide Decomposer*

UVA : *Ultra Violet Absorber*

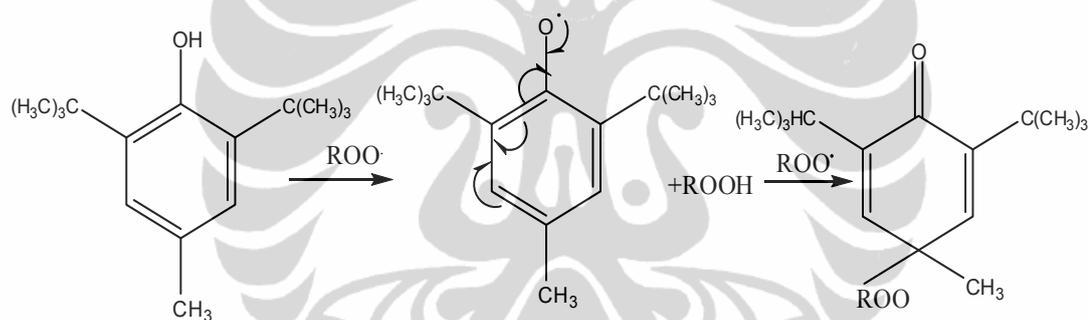
MD : *Metal Deactivator*

Sumber : *Bull. Chem. Soc.Jap.* 61: 165-170

Gambar 2.3 Mekanisme reaksi antioksidan

2.5.5.3.1 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:



Gambar 2.4 Mekanisme reaksi antioksidan dari BHT

2.5.5.3.2 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).



BAB 3

BAHAN DAN METODE

3.1 Lokasi, Bahan dan Peralatan

3.1.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong. Adapun pelaksanaan penelitian dimulai pada kurun waktu bulan Januari 2010 sampai dengan Mei 2010.

3.1.2 Bahan dan Alat

3.1.2.1 Tumbuhan Sampel

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang pohon manggis hutan (*Garcinia cf. bancana* Miq) kering yang diperoleh dari desa Kalampanga, Kecamatan Sebangau Palangkaraya Kalimantan Tengah. Identifikasi/determinasi tumbuhan dilakukan oleh Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi – LIPI Cibinong Bogor. Bahan dikeringkan kemudian digiling.

3.1.2.2 Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah bahan yang dibutuhkan untuk keperluan ekstraksi, pemurnian, analisis dan uji aktivitas. Bahan – bahan kimia tersebut bermutu teknis dan sebelum dipergunakan didestilasi terlebih dahulu agar bersih dari senyawa pengotor. Bahan- bahan tersebut adalah: *n*-heksana, metanol, etil asetat, aseton, diklorometana. Untuk kolom kromatografi digunakan silika gel G60, 70-230 mesh (produk E.Merck 1.07734), sephadex LH-20 dan untuk kromatografi lapis tipis (KLT) dipergunakan lempeng silika gel GF₂₅₄ siap pakai produk E. Merck 05554. Zat penampak bercak KLT digunakan asam sulfat p.a. 10% dalam etanol. Sedangkan untuk pelarut dalam analisa NMR dipergunakan aseton-D₆. Bahan untuk uji aktivitas antioksidan digunakan kuercetin sebagai antioksidan pembanding dan DPPH.

3.1.2.3 Peralatan yang digunakan

Peralatan yang digunakan selama proses perkolasi sampai dengan pemurnian senyawa dan uji aktivitas : 23 dan adalah: oven, alat penggiling miller untuk menghaluskan bahan contoh, bejana gelas berkran teflon (untuk perklasi), timbangan teknis Mettler Pc. 2000, timbangan analitis Mettler Toledo AB204 (e = 1 mg) (d 0,1 mg), evaporator vakum Buchii, kolom kromatografi kaca dengan berbagai ukuran, pemanas listrik, lampu Ultra Violet 254 nm dan 366 nm, alat pengukur titik leleh merk Fisher Scientific, alat – alat gelas (gelas kimia, labu erlenmeyer, pipet tetes, tabung reaksi, botol jam, botol 100 mL, vial 10 mL, vial 5 mL), inkubator 37°C. Sedangkan peralatan spektroskopi yang digunakan adalah: alat spektrofotometer Ultra Violet Merk Hellet Packard (HP) 8453, alat NMR 500 MHz, LC-MS, Asquire 3000 plus-01073, Shimadzu, alat spektrofotometer Infra Merah, Perkin Elmer 16 PC, FTIR Prestige-21, Shimadzu.

3.2 Cara kerja

Secara garis besar penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap. Tahap pertama adalah isolasi sampel dilanjutkan dengan tahap kedua yaitu uji aktivitas antioksidan. Tahap ketiga adalah penentuan struktur molekul. Adapun garis besar pelaksanaan penelitian ini dapat dilihat pada bagan penelitian (Gambar 3.1).

3.2.1 Persiapan sampel

Kulit batang *G. cf. bancana* Miq yang sudah kering diperoleh dari desa Kalampana, Sebangau Palangkaraya Kalimantan Tengah. Kulit batang sebanyak 4810 gram, dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam untuk mengurangi kadar air yang masih terdapat dalam kulit batang. Selanjutnya dihaluskan menggunakan alat penggiling simplisia sampai menjadi serbuk.

3.2.1.1 Tahap ekstraksi

Tahap ekstraksi meliputi perkolasi dengan *n*-heksana, dilanjutkan dengan metanol, partisi ekstrak metanol dengan etil asetat dan *n*-butanol.

3.2.1.1.1 Ekstrak *n*-heksana

Serbuk kering *G. cf. bancana* Miq (4,581 kg) dilakukan perkolasi dengan *n*-heksana dalam perkolator yang ujung bawahnya diberi kapas secukupnya sebagai penyaring, perkolat dialirkan melalui kran perkolator dan ditampung dalam erlenmeyer selanjutnya dikumpulkan. Perkolasi dilakukan sampai perkolat yang diperoleh jernih atau hingga tidak dihasilkan ekstrak pada penguapan perkolat. Kumpulan perkolat diuapkan dengan penguap vakum pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh merupakan ekstrak kasar *n*-heksana (*crude extract n-hexane*).

3.2.1.1.2 Ekstrak metanol

Serbuk kering *G. cf. bancana* Miq (4,581 kg) yang telah dilakukan perkolasi dengan *n*-heksana dilanjutkan perkolasi dengan metanol dalam perkolator yang ujung bawahnya diberi kapas secukupnya sebagai penyaring. Hasil/perkolat dialirkan melalui kran perkolator dan ditampung dalam erlenmeyer selanjutnya dikumpulkan. Perkolasi dilakukan sampai perkolat yang diperoleh jernih atau hingga tidak dihasilkan ekstrak pada penguapan perkolat. Kumpulan perkolat diuapkan dengan penguap vakum pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Selanjutnya ekstrak pekat ditampung dalam botol jam yang telah diketahui bobotnya. Ekstrak yang diperoleh merupakan ekstrak kasar metanol (*crude extract methanol*).

3.2.1.2 Partisi ekstrak metanol

Ekstrak kasar metanol dilarutkan dalam akuades dan dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambah etil asetat (perbandingan volume 1:1) lalu dikocok kemudian didiamkan sampai terpisah menjadi dua fase, dimana fase EA berada di atas dan fase air di bawah. Setelah terpisah fase EA diambil dan fase air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan EA kembali (perbandingan volume 1:1). Pengocokan dilakukan berkali – kali sampai fase etil asetat tidak berwarna lagi. Selanjutnya ekstrak etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu 45°C. Penguapan dilanjutkan

dalam cawan petri yang telah diketahui bobotnya hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh merupakan ekstrak etil asetat.

Partisi dilanjutkan dengan penambahan *n*-butanol pada fasa air (perbandingan volume 1:1) lalu dikocok kemudian didiamkan sampai terpisah menjadi dua fasa, dimana fase air berada di atas dan fase butanol di bawah. Setelah terpisah fase *n*-butanol diambil dan fase air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan *n*-butanol kembali (perbandingan volume 1:1) dan dilakukan pengocokan berkali – kali sampai fase *n*-butanol tidak berwarna lagi. Selanjutnya ekstrak *n*-butanol dikumpulkan dan dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu 45°C. Penguapan dilanjutkan di atas penangas air (dalam cawan petri yang telah diketahui bobotnya) hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh merupakan ekstrak *n*-butanol. Fase air dihilangkan airnya dengan cara dibekukan dan diliofilisasi dengan *freeze drier* hingga kering. Masing- masing ekstrak diuji aktivitas antioksidannya.

3.2.2 Tahap pemisahan atau fraksinasi

3.2.2.1 Fraksinasi ekstrak *n*-heksana dengan Kromatografi Kolom Vakum. Sebelum dilakukan fraksinasi, terlebih dahulu dilakukan orientasi secara kromatografi lapis tipis untuk menentukan komposisi eluen yang tepat untuk memfraksinasi ekstrak *n*-heksana.

Kolom silika dibuat dengan mencampurkan 400 gram silika gel 60 (70-230 mesh ASTM) dengan eluen pertama *n*-heksana hingga menjadi seperti bubur, kemudian dituang ke dalam kolom yang sudah berisi 50 mL eluen pertama tanpa putus sambil diketuk – ketuk agar padat. Selanjutnya eluen dialirkan hingga permukaan eluen sekitar 2 cm di atas permukaan silika. Ekstrak *n*-heksana sebanyak 37 gram dihomogenkan dengan cara menggerus bersamaan dengan silika gel kasar hingga menjadi serbuk halus. Selanjutnya ekstrak *n*-heksana yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam kolom dengan menggunakan corong secara perlahan. Bagian atas diberi kapas secukupnya agar sampel tidak bergeser pada saat ditambahkan eluen.

Fraksinasi dilakukan dengan cara elusi secara gradien menggunakan eluen berturut-turut *n*-heksana 100 % sebanyak 1 liter, *n*-heksana + etil asetat (9:1)

sebanyak 1 liter, *n*-heksana + etil asetat (8:2) sampai (4:6) masing-masing 0,5 liter, etil asetat 1 liter dan metanol 1 liter. Eluat ditampung setiap 100 mL dalam labu erlenmeyer, selanjutnya diuapkan dengan penguap putar vakum dan dikelompokkan berdasarkan pola kromatografi lapis tipisnya. Masing-masing kumpulan eluat yang sudah kering diuji aktivitas antioksidannya.

3.2.2.2 Tahap pemisahan dengan kolom lambat

Kumpulan eluat yang mempunyai aktivitas antioksidan dan memiliki pola kromatografi lapis tipis yang jelas sehingga memungkinkan untuk dipisahkan, selanjutnya dilakukan pemisahan dengan kolom kromatografi lambat. Sampel yang akan dipisahkan dengan kolom lambat dihomogenkan dengan menggerus bersamaan dengan silika gel kasar dengan perbandingan 1:1. Selanjutnya langkah pembuatan kolom lambat disesuaikan dengan sampel yang tersedia yaitu menggunakan perbandingan sampel : silika gel = 1 : 30.

3.2.2.3 Tahap Pemurnian

Pemurnian senyawa dari hasil kolom dilakukan dengan menggunakan kolom sphadex LH-20 dan menggunakan KLT preparatif hingga diperoleh senyawa murni.

3.3.3 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak kasar dan isolat murni yang dihasilkan hingga diperoleh data aktivitas antioksidan masing-masing. Adapun langkah – langkah pengujian aktivitas antioksidan meliputi :

1. Pembuatan larutan DPPH 0,5 M
Menimbang dengan teliti 3,9 mg DPPH ($M_r = 394,32$), kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL metanol p.a. Larutan disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat larutan baru.
2. Persiapan Larutan dan Uji Aktivitas Antioksidan
Ditimbang sebanyak 4 mg sampel kemudian dilarutkan dalam 4 mL metanol (1000 ppm). Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, dan 100 dan 200 ppm, dengan cara memipet 25 μ L, 125 μ L, 250 μ L dan 500 μ L.

larutan induk ke dalam tabung reaksi, kemudian masing – masing ditambahkan 500 μ L larutan DPPH 0,5 mM dan diencerkan dengan metanol sampai 2,5 mL.

3.3.3.1 Uji awal Aktivitas antioksidan

Uji awal aktivitas antioksidan dilakukan terhadap tiap – tiap ekstrak antara lain ekstrak *n*-heksana, ekstrak metanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak *n*-butanol. Hasil uji aktivitas tersebut digunakan sebagai dasar untuk langkah pemurnian senyawa aktif dari masing – masing ekstrak.

Adapun langkah-langkah uji aktivitas antioksidan adalah sebagai berikut: larutan uji dengan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm 100 ppm dan 200 ppm yang telah ditambah larutan DPPH, untuk masing- masing ekstrak diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37,7°C. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm setelah inkubasi selama 30 menit. Aktivitas antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel.

Nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel 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 ($\mu\text{g/mL}$) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi yang diperoleh dari perhitungan pada saat nilai % inhibisi sebesar 50 dari persamaan:

$$Y = aX + b$$

Pada saat % inhibisi = 50 maka persamaan tersebut menjadi:

$$50 = aX + b$$

$$X = \frac{50 - b}{a}$$

Harga X adalah nilai IC_{50} dengan satuan $\mu\text{g/mL}$.

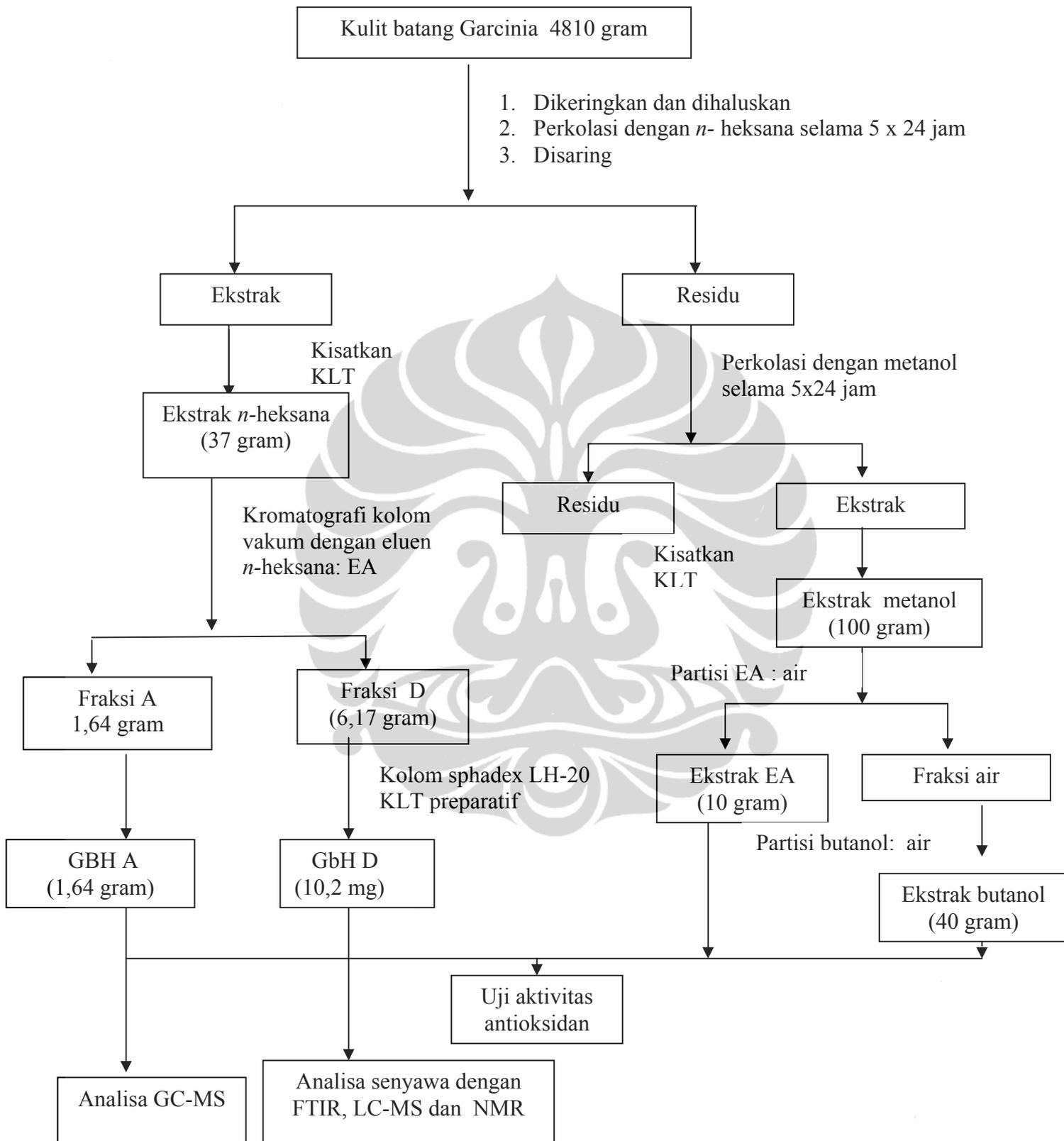
3.3.3.2 Uji aktivitas Senyawa murni

Uji aktivitas antioksidan selanjutnya dilakukan terhadap senyawa murni yang telah dihasilkan dengan langkah seperti pada uji aktivitas antioksidan ekstrak.

3.3.4 Penentuan Struktur Molekul

Karakterisasi senyawa bioaktif ditentukan berdasarkan data spektroskopi meliputi spektrum infra merah, spektrum massa, spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$. Data spektroskopi tersebut saling menunjang antara satu dengan lainnya.





Gambar 3.1 Bagan Pelaksanaan Penelitian

BAB 4

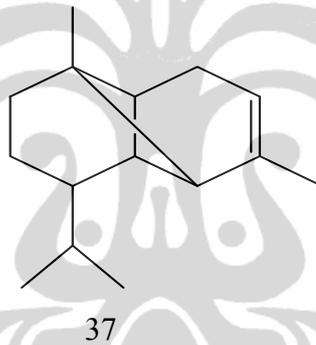
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembahasan Hasil Isolasi dari Ekstrak *n*-heksana Kulit Batang *G. cf. bancana* Miq.

4.1.1 Data isolat GBH A

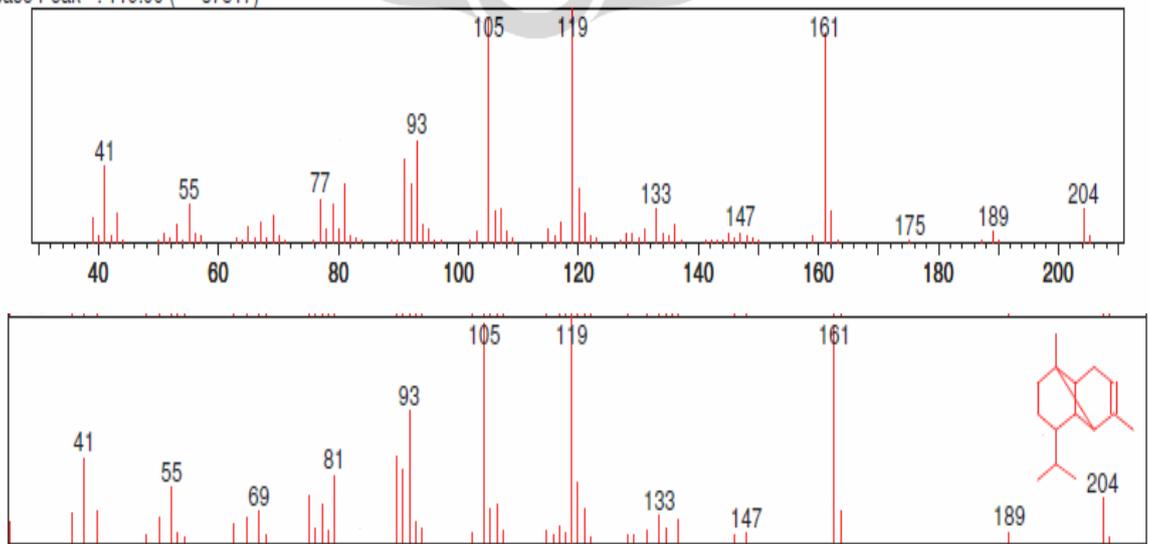
Isolat GBHA yang diperoleh dari ekstrak *n*-heksana *G. cf. bancana* Miq seberat 1,64 gram, adalah hasil kolom vakum dari fraksi ke 1 s/d 4. Dari hasil analisa GC MS diperoleh data bahwa isolat GBHA berupa campuran minyak atsiri, terdiri dari beberapa senyawa berikut:

4.1.1.1 Pada waktu retensi 10,417 terdapat senyawa copaen (37) mempunyai Mr: 204, rumus molekul: C₁₅ H₂₄ dengan SI sebesar 96%.

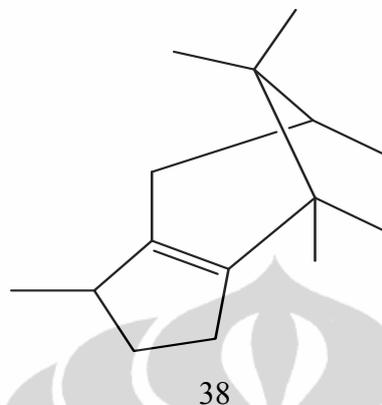


Data spektrum GC MS sebagai berikut:

Mass Peak # : 86 Ret. Time : 10.417
Scan # : 1250
Base Peak : 119.00 (87317)

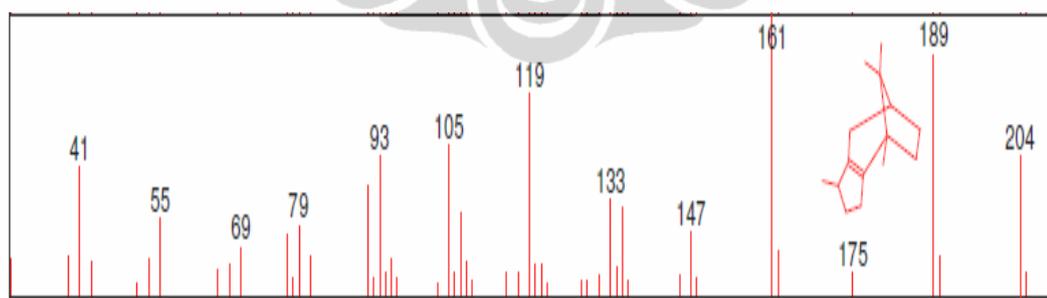
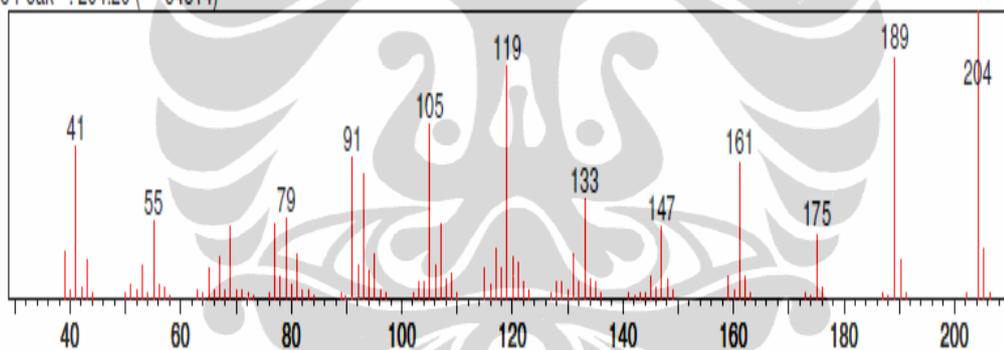


4.1.1.2 Pada waktu retensi 10.875 terdapat 4,7-methanoazulene (38) memiliki Mr: 204, rumus molekul: $C_{15}H_{24}$) dengan SI sebesar 91% mempunyai rumus struktur berikut:

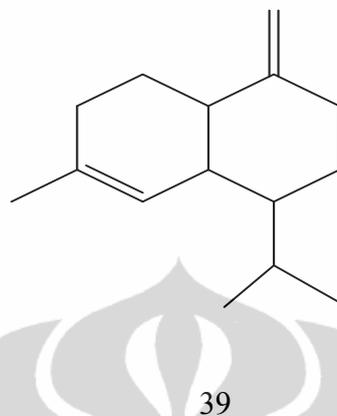


Data spektrum GC sebagai berikut:

Mass Peak #: 99 Ret. Time: 10.875
Scan #: 1305
Base Peak: 204.20 (54514)



4.1.1.3 Pada waktu retensi: 12,583 terdapat γ - cadinen (39) memiliki Mr: 204 dan rumus molekul $C_{15}H_{24}$ dengan SI sebesar 95% mempunyai rumus struktur:

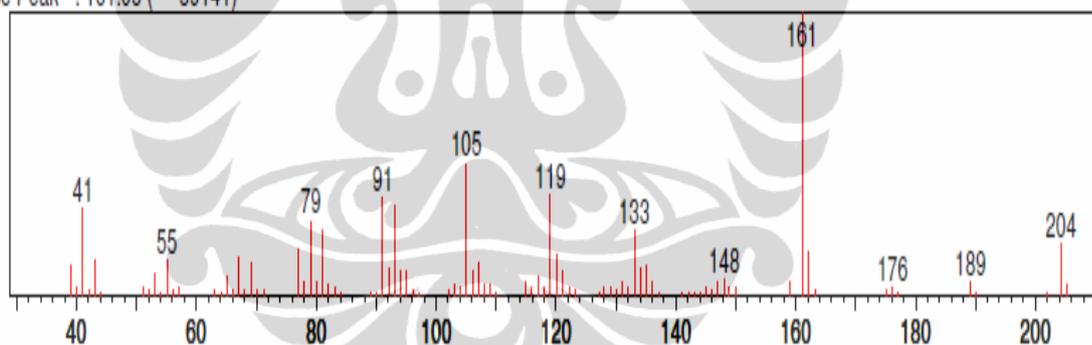


Data spektrum GC sebagai berikut:

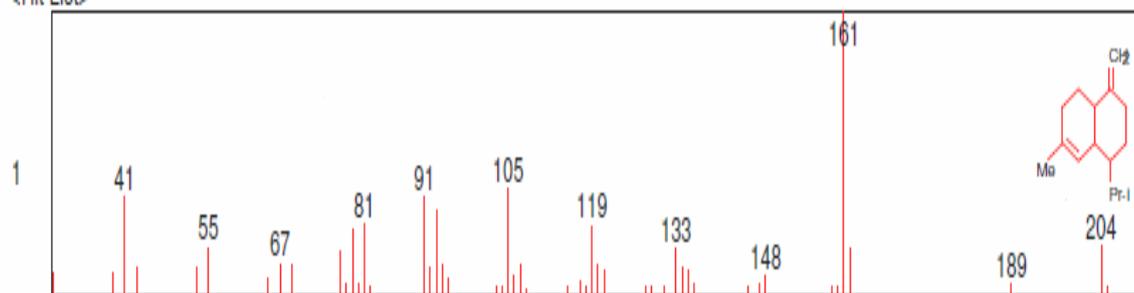
Mass Peak # : 90 Ret. time : 12.583

Scan # : 1510

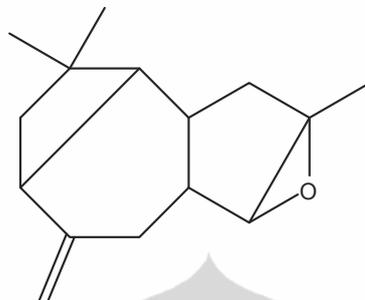
Base Peak : 161.05 (59141)



<Hit List>



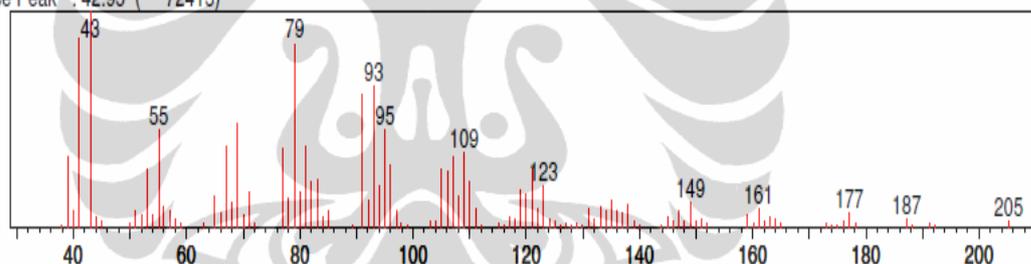
4.1.1.4 Pada waktu retensi 13.992 terdapat caryophyllene oxide (40) memiliki Mr: 220, rumus molekul $C_{15}H_{24}O$ dengan tingkat kemiripan sebesar 97%, dan mempunyai rumus struktur:



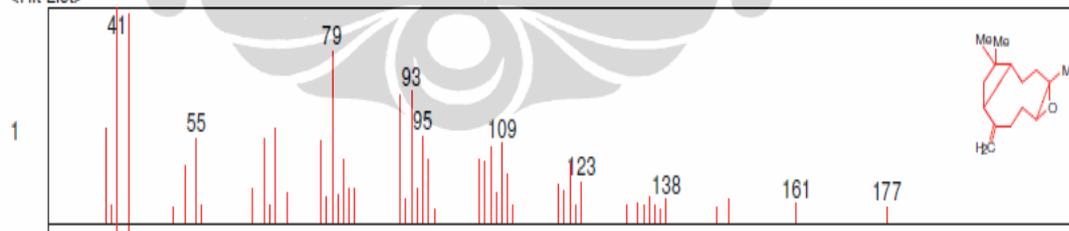
40

Data spektrum GC sebagai berikut:

<Unknown Spectrum>
 Data : 4_10_11.D02
 Mass Peak # : 108 Ret. Time : 13.992
 Scan # : 1679
 Base Peak : 42.95 (72415)



<Hit List>



4.1.2 Data hasil Pengukuran spektroskopi senyawa GBH D

Senyawa GBH D merupakan senyawa yang dominan dari ekstrak *n*-heksana *G. cf. bancana* Miq. Senyawa tersebut berupa padatan kuning kehijauan yang larut dalam pelarut semipolar dan polar. Dari hasil pengukuran spektroskopi IR ν_{max} cm^{-1} (KBr) menunjukkan pita serapan: $3377\ cm^{-1}$ (melebar), $2968\ cm^{-1}$ (tajam), $2920\ cm^{-1}$ (tajam), $1726\ cm^{-1}$ (tajam), $1638\ cm^{-1}$ (tajam), $1519\ cm^{-1}$

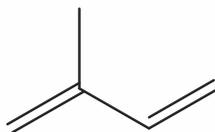
(tajam), 1442 cm^{-1} (tajam), 1377 cm^{-1} (tajam), 1288 cm^{-1} (tajam), 1195 cm^{-1} (tajam), 1117 cm^{-1} (tajam). Dari pengukuran LC-MS diperoleh data massa $[M^+] = 602,9$. Hasil pengukuran spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ diperoleh data pergeseran kimia sebagai berikut: δ_{H} (ppm) = 0,99 (3H, s); 1,17 (3H, s); 1,45 (3H, s); 1,49 (3H, s); 1,59 (3H, s); 1,60 (3H, s); 1,62 (3H, s); 1,63 (3H, s); 1,68 (3H, s); 1,69 (3H, s); 1,93(2H, dd, $J=12,85$; 6,1 Hz); 2,01 (m); 2,02 (m); 2,20 (d, $J = 14,50$); 2,69 (m); 2,70(m); 4,50 (s); 4,51 (s); 4,93 (1H, t); 5,02 (1H, t); 5,09 (1H, b); 6,71 (1H, d, $J=7,30$ Hz); 7,03 (1H, d, $J=7,35$ Hz); 7,20 (s, 1H).

Data hasil pengukuran $^{13}\text{C-NMR DEPT}$ diperoleh data pergeseran kimia sebagai berikut: δ_{C} (ppm) = 17,90 (CH₃); 18,12 (CH₃); 18,18 (CH₃); 18,38 (CH₃); 23,04 (CH₃); 25,74 (CH₃); 25,82 (CH₃); 26,16 (CH₃); 26,59 (CH₂); 27,21 (CH₂); 27,33 (CH₃); 32,75 (CH); 37,13 (CH₂); 42,92 (CH₂); 44,40 (CH); 48,88 (C); 47,60 (C); 49,50 (C); 69,00 (C); 112,05 (CH₂); 114,69 (CH); 116,91(CH); 116,91 (C); 122,07 (CH); 124,03 (CH); 125,09 (CH); 125,89 (CH); 131,38 (C); 131,46(C); 132,29 (C); 132,29 (C); 145,11 (C-OH); 149,40 (C-OH); 150,31 (C); 171,50(C-OH); 196,5 (C=O); 211,00 (C=O); 211,00 (C=O).

4.1.3 Pembahasan campuran minyak atsiri

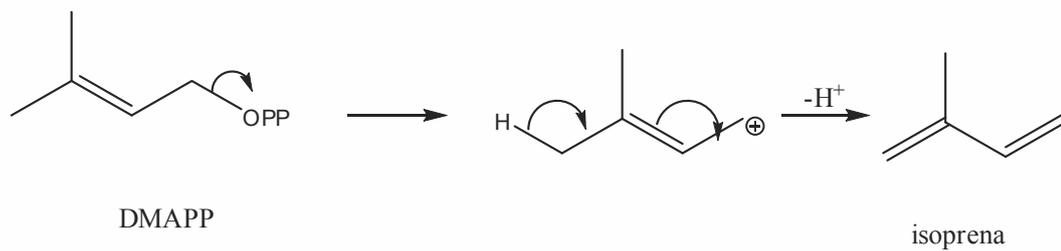
Isolat GBH A seberat 1,64 gram berupa minyak berwarna kuning kecoklatan diperoleh dari ekstrak *n*-heksana melalui kolom vakum. Selanjutnya dari analisa data spektrum GC-MS diperoleh senyawa copaen (C₁₅H₂₄) dengan Mr = 204, 4,7-methanoazulen (C₁₅H₂₄) dengan Mr = 204, γ -cadinen (C₁₅H₂₄) dengan Mr = 204 dan kariofilen oksida (C₁₅H₂₄O) dengan Mr = 220.

Dalam kimia bahan alam terdapat senyawa golongan terpen yang tersusun dari unit isoprena C₅H₈ (2-metil, 1,3-butadiena) dengan rumus struktur sebagai berikut (Robinson, 1995).

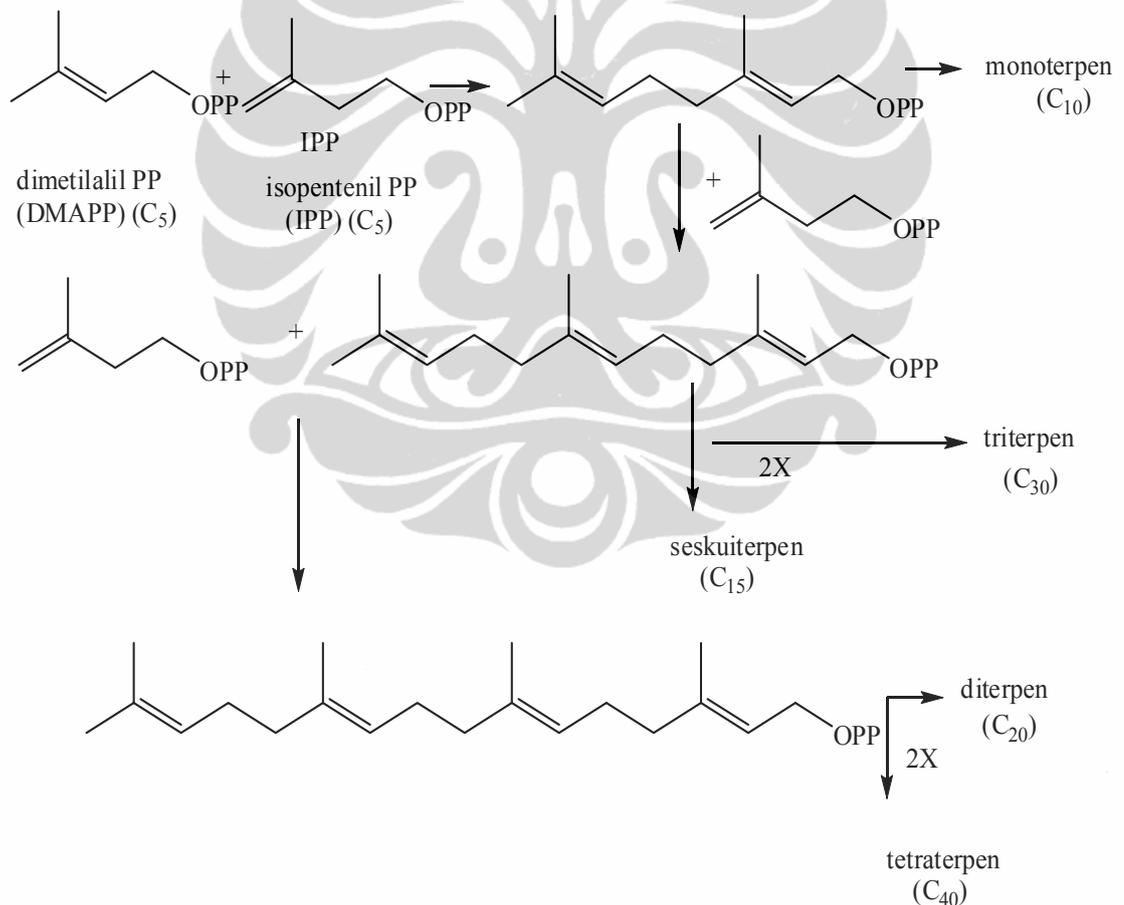


Isoprena

Unit isopren terbentuk dari dimetilalilpirofosfat (DMAPP) menurut reaksi berikut:

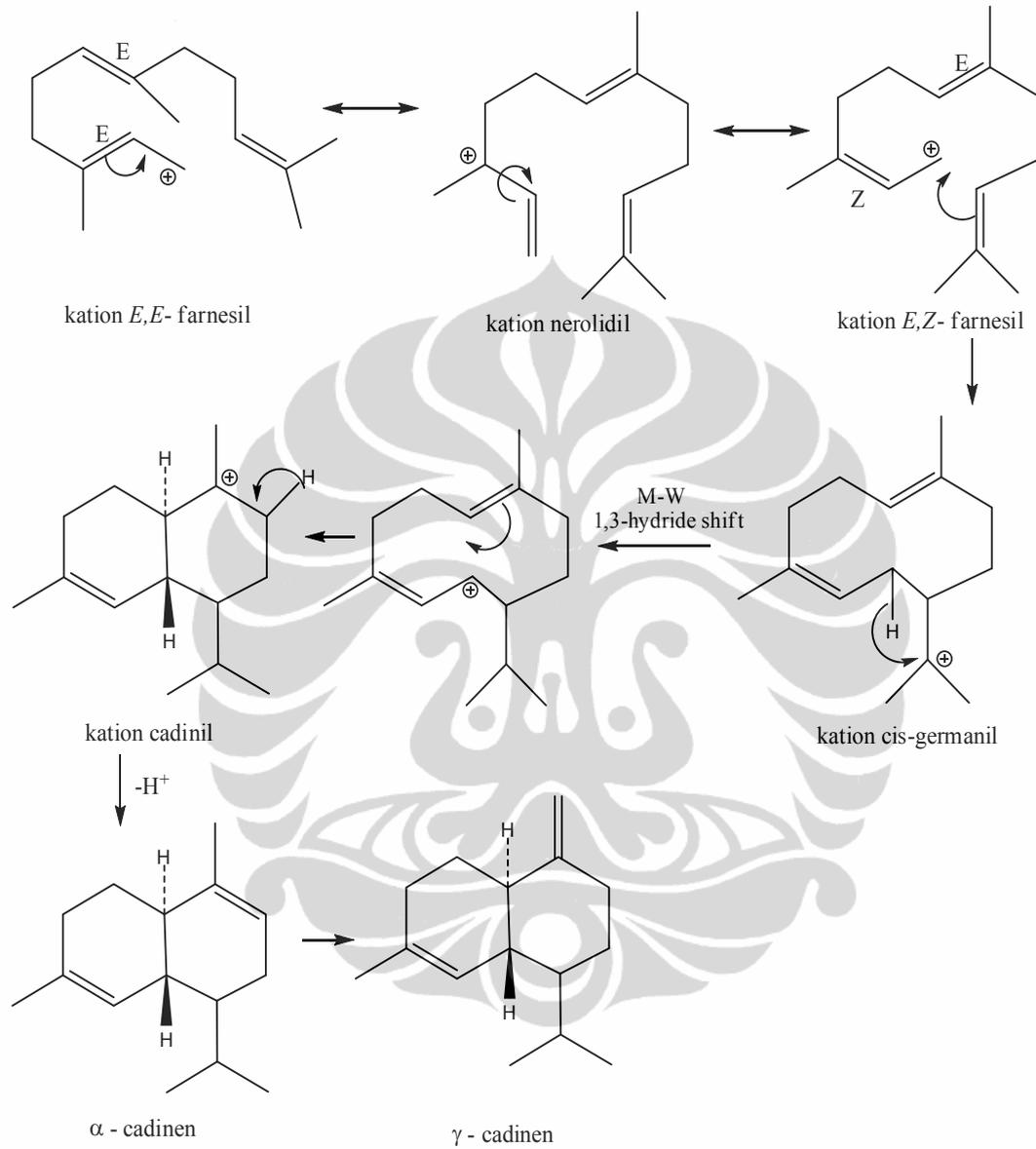


Terpen diklasifikasikan sesuai dengan jumlah satuan isopren, sebagai berikut: C_5 disebut hemiterpen, C_{10} = monoterpen, C_{15} = seskuiterpen, C_{20} = diterpen, C_{25} = sesterterpen, C_{30} = triterpen, C_{40} = tetraterpen (Sastrohamidjojo, 1996). Pembentukan senyawa terpen dapat digambarkan sebagai berikut:



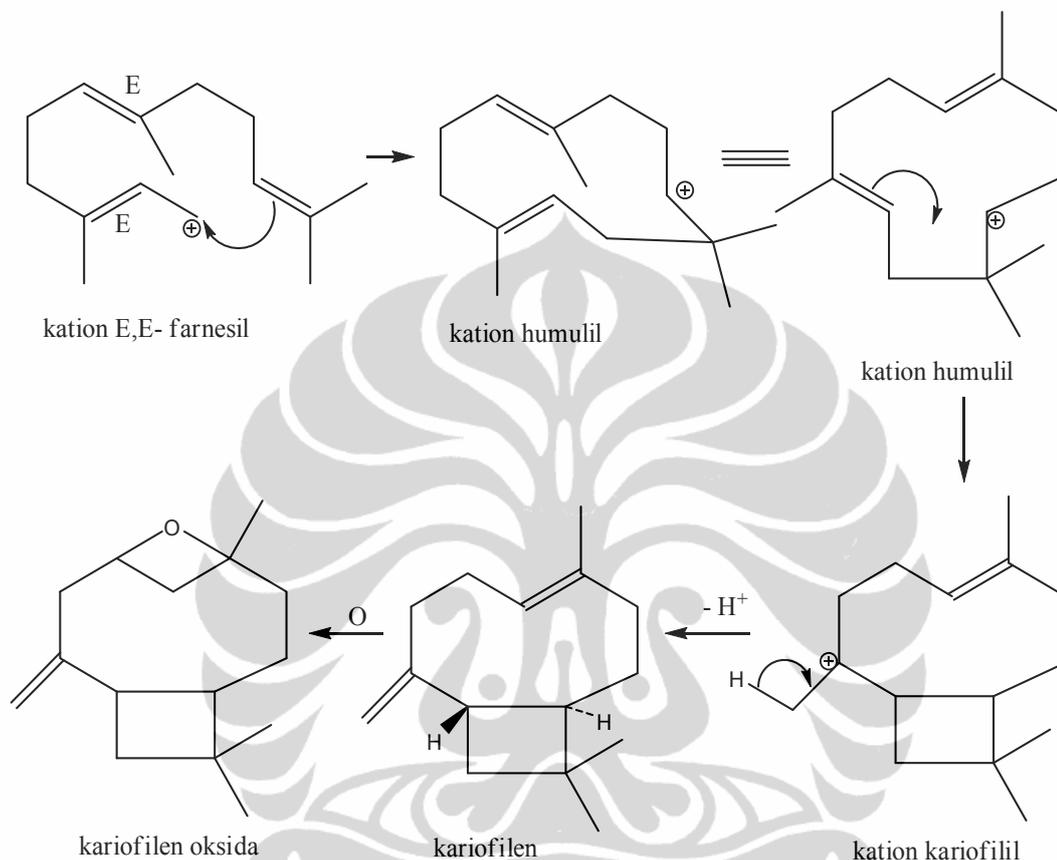
Dari klasifikasi tersebut maka senyawa copaen; 4,7-methanoazulen; γ -cadinen masing –masing dengan $M_r = 204$ berarti tergolong seskuiterpen.

Senyawa γ -cadinen termasuk kelompok seskuiterpen dengan biosintesis sebagai berikut:



Gambar 4.1 Biosintesis γ -cadinen (Dewick, 1997)

Senyawa kariofilen oksida termasuk seskuiterpen dengan tambahan satu atom oksigen, sehingga Mr senyawa tersebut adalah 220. Biosintesis kariofilen oksida dapat dilihat pada gambar 4.2 sebagai berikut:



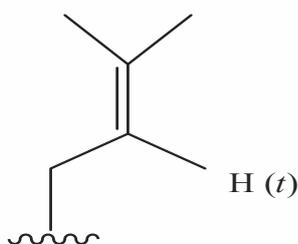
Gambar 4.2 Biosintesis kariofilen oksida (Dewick, 1997)

4.1.4 Pembahasan Senyawa GBH D

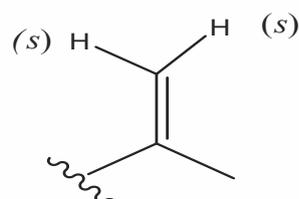
Isolat GBH D seberat 10,2 mg berupa kristal kuning kehijauan diperoleh dari fraksi D ekstrak *n*-heksana melalui kolom vakum yang selanjutnya dimurnikan dengan cara kolom sphadex LH-20 dan KLT preparatif. Data hasil pengukuran spektrofotometri IR spektrum disajikan pada Lampiran 3, penyidikan pita serapan senyawa GBH D menunjukkan adanya pita serapan pada daerah bilangan gelombang, $\nu = 3377 \text{ cm}^{-1}$ agak melebar yang menunjukkan pita serapan dari vibrasi ulur gugus $-OH$ dengan adanya ikatan hidrogen intermolekuler, yang

diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk pada daerah bilangan gelombang, $\nu = 1288 \text{ cm}^{-1}$ dan $\nu = 1377 \text{ cm}^{-1}$, adanya pita serapan pada $\nu = 2968 \text{ cm}^{-1}$ dan $\nu = 2920 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur C–H dari $-\text{CH}_3$ dan $-\text{CH}_2$ yang diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk pada daerah bilangan gelombang, $\nu = 1442 \text{ cm}^{-1}$. Adanya pita-pita serapan pada bilangan gelombang, $\nu = 1726 \text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah vibrasi ulur suatu karbonil (keton) dan daerah pita serapan pada bilangan gelombang, $\nu = 1638 \text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi ulur keton dengan adanya jembatan hidrogen. Dari hasil penyidikan spektrum IR dapat diduga bahwa senyawa GBH D memiliki gugus metil, gugus karbonil dan gugus $-\text{OH}$ yang membentuk jembatan hidrogen.

Dari pengukuran spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ (aseton- D_6 , 500 MHz) senyawa GBH D diperoleh data pergeseran kimia (δ , ppm) menunjukkan adanya puncak – puncak proton yaitu: dua buah gugus metil pada karbon alifatik pada pergeseran kimia $\delta = 0,99 \text{ ppm}$ (3H, *s*) dan $1,77 \text{ ppm}$ (3H, *s*). Adanya 6 gugus metil pada pergeseran $1,19$; $1,49$; $1,60$; $1,62$; $1,63$ dan $1,69 \text{ ppm}$ masing – masing (3H, *s*). Terdapat metil singlet pada $1,59 \text{ ppm}$ sebagai metil dari $-\text{CH}_2=\text{C}(\underline{\text{CH}_3})-$. Keberadaan 9 gugus metil diperlihatkan pada $^{13}\text{C-NMR}$ pada daerah pergeseran kimia ($\delta = \text{ppm}$) $25,74$; $17,9$; $23,04$; $27,33$; $25,82$; $18,18$; $18,38$; $26,16$ dan $18,12$. Adanya 3 buah triplet pada daerah δ_{H} (ppm) = $4,93$ (1H, *t*); $5,02$ (1H, *t*); dan $5,09$ (1H, *b*) menunjukkan 3 proton olefenik bertetangga dengan metilen $>\text{C}=\underline{\text{CH}}-\text{CH}_2-$, hal ini didukung oleh data $^{13}\text{C-NMR}$ pada pergeseran kimia $125,89 \text{ ppm}$; $124,30 \text{ ppm}$ dan $122,07 \text{ ppm}$ yang diperkirakan ada 3 gugus isoprenil. Adanya 2 puncak singlet pada daerah $\delta_{\text{H}} = 4,50$ (1H, *s*) dan $\delta = 4,51$ (1H, *s*) menunjukkan ciri khas gugus exometilen $-\underline{\text{CH}_2}=\text{C}(\text{CH}_3)-$. Gugus isoprenil dan exometilen dapat dilihat pada struktur berikut:

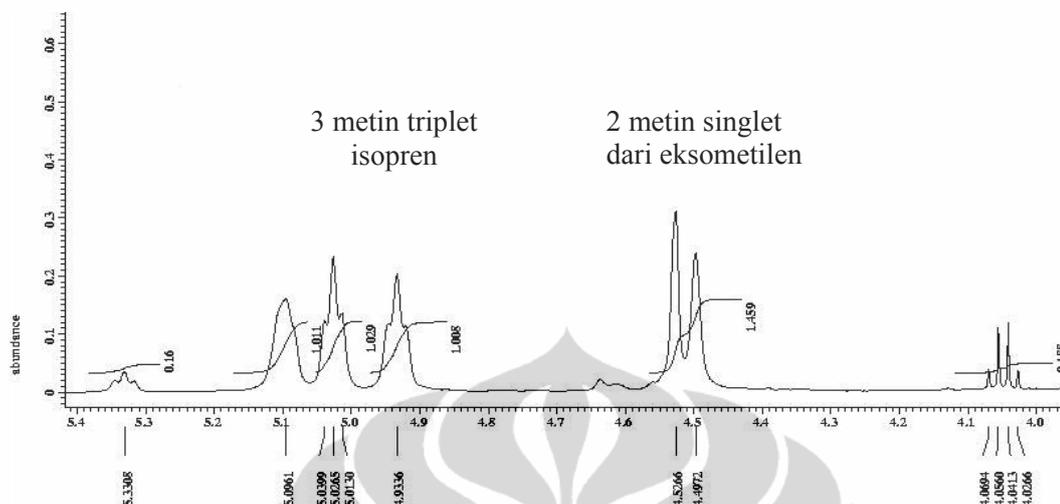


Struktur isoprenil



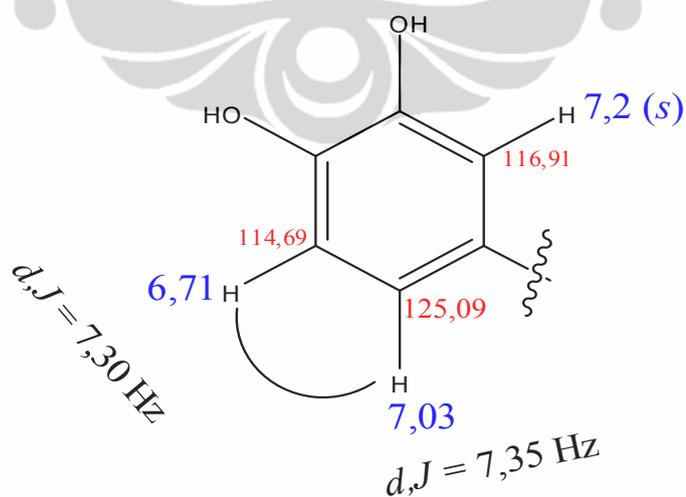
Struktur exometilen

Berikut ini cuplikan $^1\text{H-NMR}$ dari 3 proton triplet serta 2 puncak singlet dari exometilen:

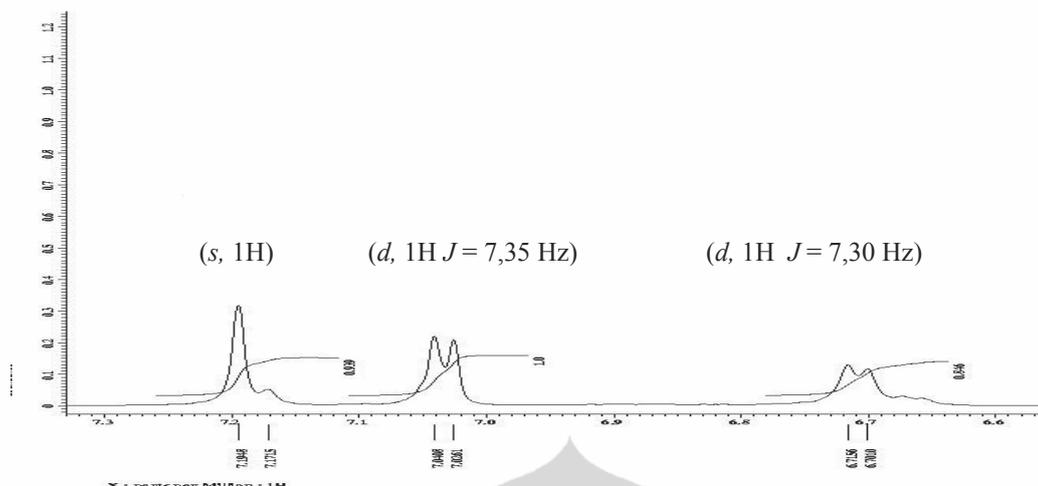


Gambar 4.3 Penggalan $^1\text{H-NMR}$ dari 3 proton triplet serta 2 puncak singlet

Keberadaan gugus aromatis trisubstitusi 1, 2, 4 berpasangan secara orto pada δ 6,71 (1H, $dJ = 7,3$) dan 7,03 (1H, $dJ = 7,35$) dan C-H aromatis 7,2 (1H, s) yang berarti tidak berpasangan. Hal ini didukung oleh data $^{13}\text{C-NMR}$ pada 114,69 ppm; 125,09 ppm dan 116,91 ppm untuk karbon metinnya, seperti digambarkan pada struktur berikut ini:

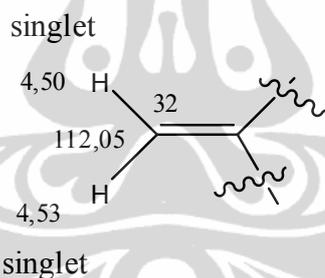


Penggalan spektrum $^1\text{H-NMR}$ yang menunjukkan adanya gugus aromatis berikut ini:



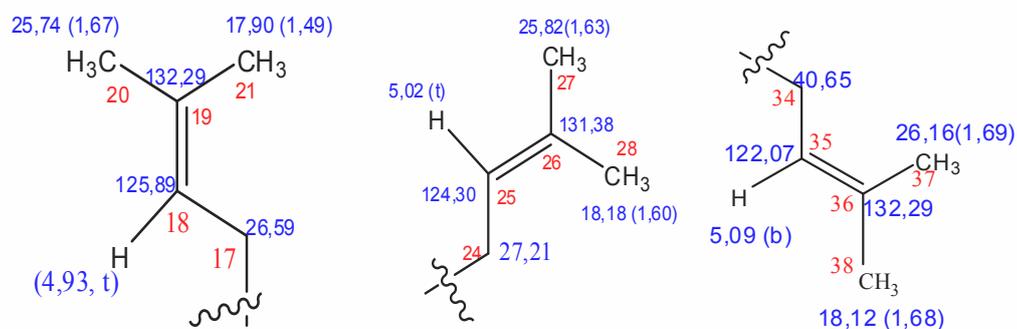
Gambar 4.4 Penggalan $^1\text{H-NMR}$ gugus aromatis

Keberadaan eksometilen dapat dilihat pada pergeseran kimia $\delta_{\text{C}} = 112,05$ ppm, terdapat pergeseran kimia $\delta_{\text{H}} = 4,50$ dan $4,51$ masing – masing berupa puncak singlet, dengan struktur berikut ini:



Struktur exometilen

Keberadaan 3 buah isoprenil pada pergeseran kimia $\delta_{\text{C}} = 125,89$ ppm ; $124,30$ ppm dan $122,07$ masing- masing adalah sebagai berikut:



Dari hasil pengukuran ^{13}C -NMR DEPT (spektrum disajikan pada Lampiran 7) terdapat karbon kuarterner sebanyak 15, metin 8, metilen 6 dan metil 9 buah sehingga jumlah atom karbon keseluruhan adalah 38. Terdapat gugus OH fenolik sebanyak 2 buah dan gugus OH yang terkelasi sebanyak satu buah, dengan demikian diketahui jumlah hidrogen sebanyak 50 buah ($\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{O}\dots$) massa = 506. Dari data ini dapat diketahui bahwa jumlah atom oksigen sebanyak 6 buah, Jadi senyawa GBH D mempunyai rumus molekul $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{O}_6$. Senyawa GBH D diketahui mempunyai satu cincin bensen, serta karbonil sebanyak 3 buah yang diperlihatkan pada 196,50 ppm; 211,00 ppm dan 211,00 ppm. Ikatan rangkap sebanyak 5 buah, yang terdiri dari 3 buah isoprenil, satu eksometilen, dan satu ikatan rangkap lagi terdapat pada C1 dan C2. Dengan demikian kekurangan atom hidrogen senyawa GBH D dapat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$F = X - 0,5 Y + 0,5 Z + 1$$

F = jumlah cincin atau ikatan rangkap

X = jumlah atom tetravalen

Y = jumlah atom monovalen (atom H, F, Cl dan Br)

Z = jumlah atom N, P atau atom trivalen

$$F = 38 - 0,5(50) + 1$$

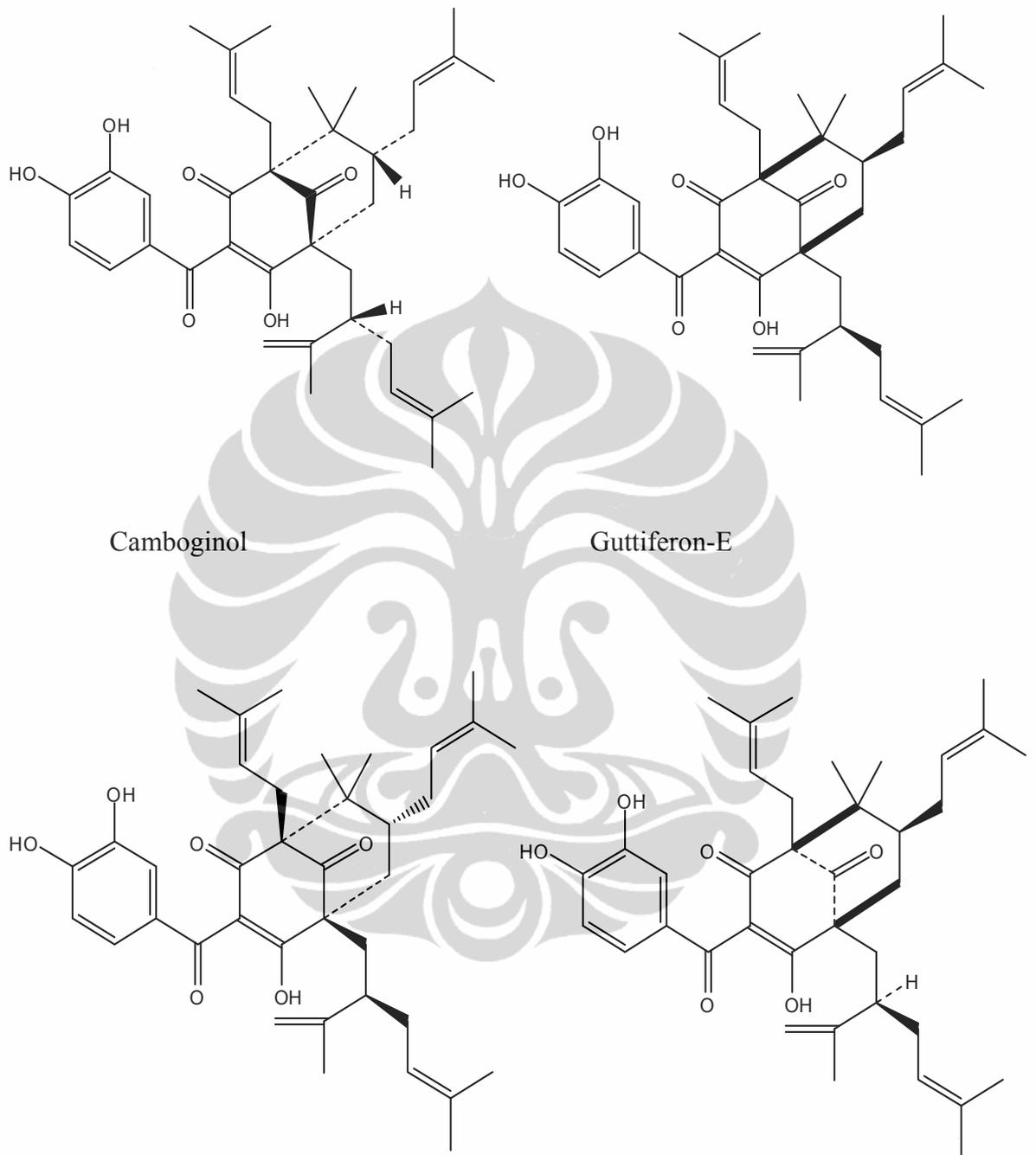
$$= 38 - 0,5(50) + 1$$

$$= 14$$

Dari perhitungan tersebut menunjukkan bahwa terdapat kekurangan hidrogen sebanyak 14 buah. Dengan demikian dapat diketahui bahwa jumlah cincin selain cincin bensen sebanyak dua buah. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa GBH D tersusun dari 14 cincin dan (atau) ikatan rangkap.

Data pengukuran spektrum massa senyawa GBH D menggunakan LC MS dapat dilihat pada Lampiran 4, diketahui bahwa GBH D memiliki berat molekul 602. Dari hasil penelusuran pustaka bahwa senyawa yang memiliki berat molekul 602 dengan rumus molekul $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{O}_6$ adalah garcinol, isogarcinol, cambogin, camboginol, xantochymol, isoxantochymol, guttiferon-A, guttiferon- E, guttiferon-F, guttiferon-I. (Rama Rao, *et al.*, 1978; Roger, *et al.*, 1981; Gustafon, *et al.*, 1992; Richard, *et al.*, 1999; Cihiro Ito, *et al.*, 2003; Nilar, *et al.*, 2005; Hartati, 2007).

Struktur senyawa-senyawa tersebut adalah sebagai berikut:

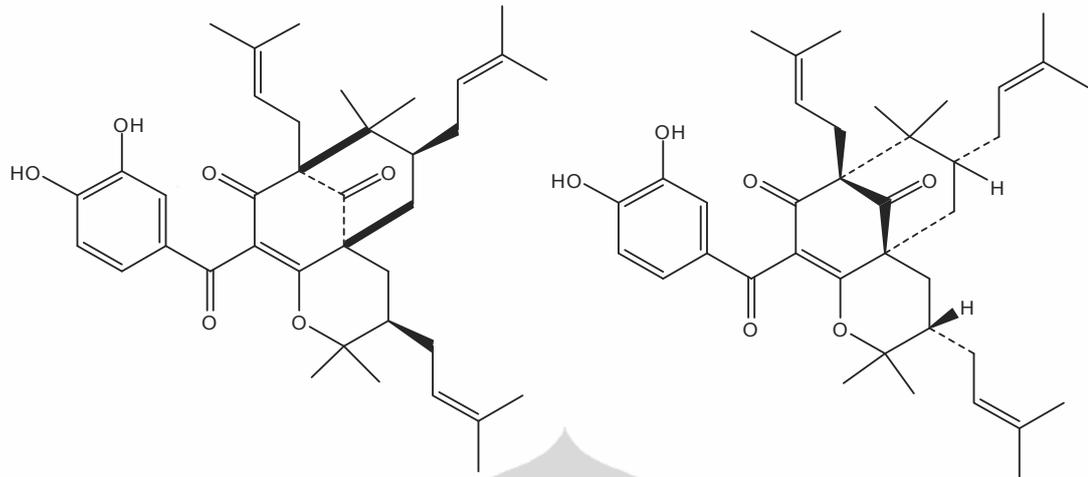


Camboginol

Guttiferon-E

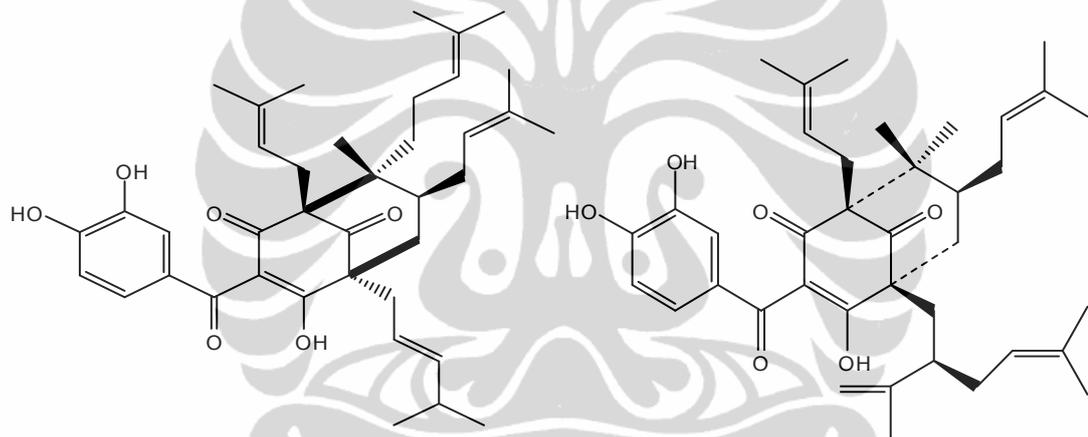
Garcinol

Xantochimol



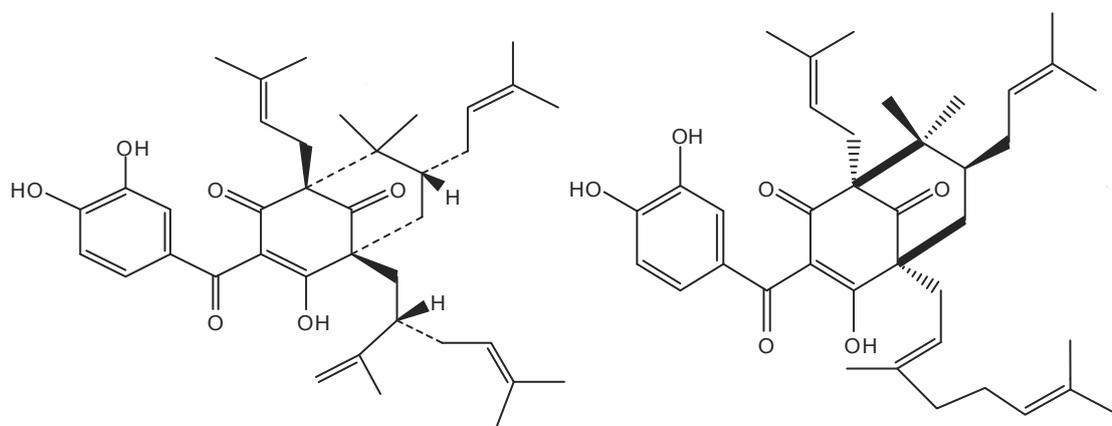
Isoxantochimol

Cambogin



Guttiferon- A

Guttiferon- F



Isogarcinol

Guttiferon- I

Dari senyawa – senyawa tersebut yang memiliki eksometilen antara lain camboginol, guttiferon- E, garcinol, xantochimol, isogarcinol dan guttiferon-F. Untuk menentukan struktur molekul GBH D, dilakukan analisa data pengukuran ^{13}C -NMR dan HMQC serta HMBC.

Pada tabel 4.1 disajikan tabulasi pergeseran pergeseran kimia karbon (ppm) hasil pengukuran ^{13}C -NMR, HMQC dan HMBC dari senyawa GBH D. Sedangkan untuk membandingkan spektrum NMR GBHD dengan spektrum hasil studi pustaka yang disajikan Tabel 4.2 berupa tabulasi pergeseran kimia ^{13}C -NMR senyawa Guttiferon-E, camboginol, GBH D dan guttiferon-F. Sedangkan pada Tabel 4.3 disajikan tabulasi pergeseran kimia ^1H -NMR senyawa guttiferon-E, camboginol, GBH D dan guttiferon-F.

Pada Tabel 4.2 terdapat kemiripan antara spektrum camboginol dan guttiferon F. Senyawa guttiferon F, dengan rumus molekul $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{O}_6$, ($\text{MH}^+ m/z = 603,3696$) mempunyai spektrum ^1H dan ^{13}C yang identik dengan camboginol dan antipoda guttiferon E, kecuali resonansi proton pada atom C29 - C32, hal ini menunjukkan bahwa guttiferon F merupakan epimer dari camboginol atau guttiferon E (Fuller, *et al.*, 1999).

Berdasarkan perbandingan nilai geseran kimia ^{13}C -NMR senyawa hasil isolasi (GBH D) dengan data dari literatur pada Tabel 4.2, maka yang mendekati adanya kemiripan adalah senyawa guttiferon E, camboginol dan guttiferon- F hal ini dapat diperkuat dari data pengukuran titik leleh (tl). Senyawa GBH D menunjukkan titik leleh = $133\text{-}135^\circ\text{C}$, camboginol = 132°C ; $[\alpha]_{\text{D}}^{30} = -132,9$ (1% CHCl_3); guttiferon E = 135°C ; $[\alpha]_{\text{D}}^{30} = +101^\circ$ (1% CHCl_3) dan guttiferon F = $[\alpha]_{\text{D}}^{30} = -293^\circ$ (c 0,37, CHCl_3). Sedangkan dari data pergeseran kimia ^1H -NMR (Tabel 4.3) isolat GBHD lebih mirip dengan guttiferon F, dengan demikian isolat GBH D disimpulkan mirip dengan senyawa guttiferon F. Senyawa guttiferon F merupakan isoprenil benzofenon yang telah ditemukan pada *Allanblackia stuhlmannii* (Fuller, *et al.*, 1999).

Untuk dapat menentukan struktur senyawa GBH D, maka dari data pada Tabel 4.1 dibuat penggalan senyawa GBH D berdasarkan korelasi yang ada menjadi 5 buah penggalan, kemudian lima penggalan tersebut digabung menjadi struktur senyawa GBH D.

Tabel 4.1 Tabulasi pergeseran kimia karbon (ppm) hasil pengukuran ^{13}C -NMR, HMQC dan HMBC dari senyawa GBH D

No. Urut	HMQC		Gugus	HMBC ^{13}C -NMR (δ , ppm)		
	^{13}C -NMR (δ , ppm)	^1H (δ , ppm)				
1	171,50	-	C-OH	-	-	-
2	116,91	-	C	-	-	-
3	211,00	-	C=O	-	-	-
4	69,00	-	C	-	-	-
5	49,50	-	C	-	-	-
6	47,60	1,45	CH	C8 (48,88)	-	-
7	42,92	2,2 (<i>d</i> , $J=14,50$ Hz)	CH ₂	C9 (211,00)	-	-
8	48,88	-	C	-	-	-
9	211,00	-	C=O	-	-	-
10	196,50	-	C=O	-	-	-
11	131,46	-	C	-	-	-
12	116,91	7,2 (<i>s</i> , 1H)	C-H	C13(145,11)	C14(149,50)	C16(125,09)
13	145,11	-	C-OH	-	-	-
14	149,40	-	C-OH	-	-	-
15	114,69	6,71 (<i>d</i> , 1H $J=7,30$ Hz)	CH	C13 (145,11)		
16	125,09	7,03 (<i>d</i> , 1H $J=7,35$ Hz)	CH	C10 (196,5)	C11(116,91)	C13 145,11; C15 (114,69)
17	26,59	2,7 (<i>m</i>)	CH ₂	C3 (211,00)	C9 (211,00)	
18	125,89	4,93 (<i>t</i> , 1H)	CH	C20 (25,74)	C21(17,9)	
19	132,29	-	C	-	-	-
20	25,74	1,62 (<i>s</i> , 3H)	CH ₃	C18 (125,89)	C19 (132,29)	C21 (25,74)
21	17,90	1,49 (<i>s</i> , 3H)	CH ₃	C18 (125,89)	C19 (132,29)	C20 (25,74)
22	23,04	1,17	CH ₃	C5 (49,50)	C6 (47,60)	
23	27,33	0,99 (<i>s</i> , 3H)	CH ₃	C4 (69,00)	C6 (47,60)	
24	27,21	2,01 (<i>m</i>)	CH ₂	C25 (124,03)	C26 (131,38)	-
25	124,03	5,02 (<i>t</i> , 1H)	CH	C26 (131,38)	C27 (25,82)	
26	131,38	-	C	-	-	-
27	25,82	1,63 (<i>s</i> , 3H)	CH ₃	C21 (17,9)	C25 (124,03)	C28 (18,18)
28	18,18	1,60 (<i>s</i> , 3H)	CH ₃	C25 (124,03)	C26 (131,38)	C27 (25,82)
29	37,13	1,93 (<i>dd</i> , $J=12,85; 6,1$)	CH ₂	C1 (171,50)		
30	44,40	2,69 (<i>m</i> , 1,55 H)	CH	C32 (112,05)	C35 (122,07)	C9(211,00)
31	150,31	-	C	-	-	-
32	112,05	4,51 (<i>s</i> , 1H); 4,53(<i>s</i> ,1H)	CH ₂	C30 (44,40)	C33 (18,38)	
33	18,38	1,59 (<i>s</i>)	CH ₃	C32 (112,05)		
34	32,75	2,02 (<i>m</i>)	CH ₂	C35 (122,07)	C36 (132,29)	
35	122,07	5,09 (<i>b</i> , 1H)	CH	C37 (18,12)	C38 (17,9)	
36	132,29	-	C	-	-	-
37	26,16	1,69 (<i>s</i> , 3H)	CH ₃	C35 (122,07)		
38	18,12	1,68 (<i>s</i> , 3H)	CH ₃	C35 (122,07)	-	-

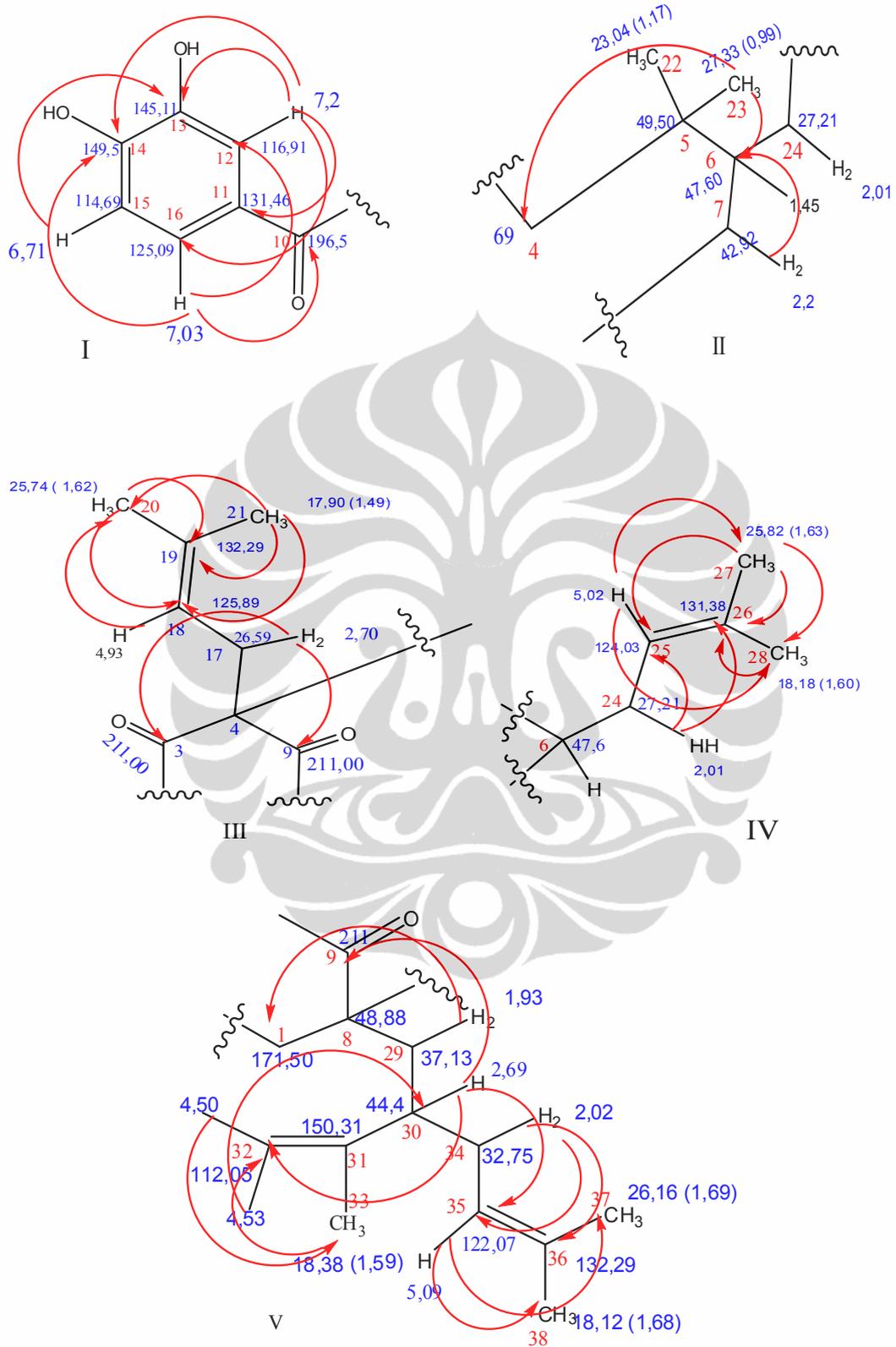
Tabel 4.2 Tabulasi pergeseran kimia ^{13}C -NMR senyawa guttiferon-E, camboginol, GBH D dan guttiferon-F

Posisi Atom C	Guttiferon-E	Camboginol	GBH D $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, (^{13}C) 125 MHz	Guttiferon-F CD_3OD , (^{13}C) 125 MHz
1	194,8	194,1	171,50	196,1
2	118,6	116,0	116,91	117,90
3	194,0	195,1	211,00	193,70
4	69,4	69,8	69,00	69,40
5	49,9	49,6	49,50	43,80
6	48,0	47,0	47,60	47,90
7	43,0	42,8	42,92	43,80
8	59,8	58,0	48,88	59,70
9	208,9	209,1	211,00	210,60
10	<u>195,8</u>	<u>198,9</u>	<u>196,50</u>	<u>195,50</u>
11	129,7	127,8	131,46	129,50
12	117,2	116,6	116,91	117,30
13	146,2	143,8	145,11	146,30
14	152,5	150,0	149,40	152,50
15	115,0	114,4	114,69	115,00
16	125,2	120,2	125,09	125,30
17	27,0	27,0	26,59	27,10
18	121,5	122,7	125,89	121,30
19	135,3	132,0	132,29	135,90
20	26,4	26,0	25,74	26,40
21	<u>18,5</u>	<u>18,2</u>	17,90	18,30
22	23,2	17,3	23,04	23,20
23	27,2	26,5	27,33	27,30
24	30,5	29,0	27,21	30,30
25	125,6	124,2	124,03	125,60
26	133,5	132,6	131,38	133,60
27	25,9	25,8	25,82	25,90
28	18,3	17,9	18,18	18,20
29	36,6	32,7	37,13	37,30
30	45,5	43,3	44,40	45,20
31	150,0	148,1	150,31	149,50
32	112,5	112,7	112,05	113,00
33	18,2	22,7	18,38	18,20
34	33,9	36,3	32,75	33,50
35	123,9	124,0	122,07	124,10
36	132,8	135,3	132,29	132,70
37	26,0	25,8	26,16	26,00
38	18,1	17,9	18,12	18,20

Tabel 4.3 Tabulasi pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ senyawa guttiferon-E, camboginol, GBH D dan guttiferon-F

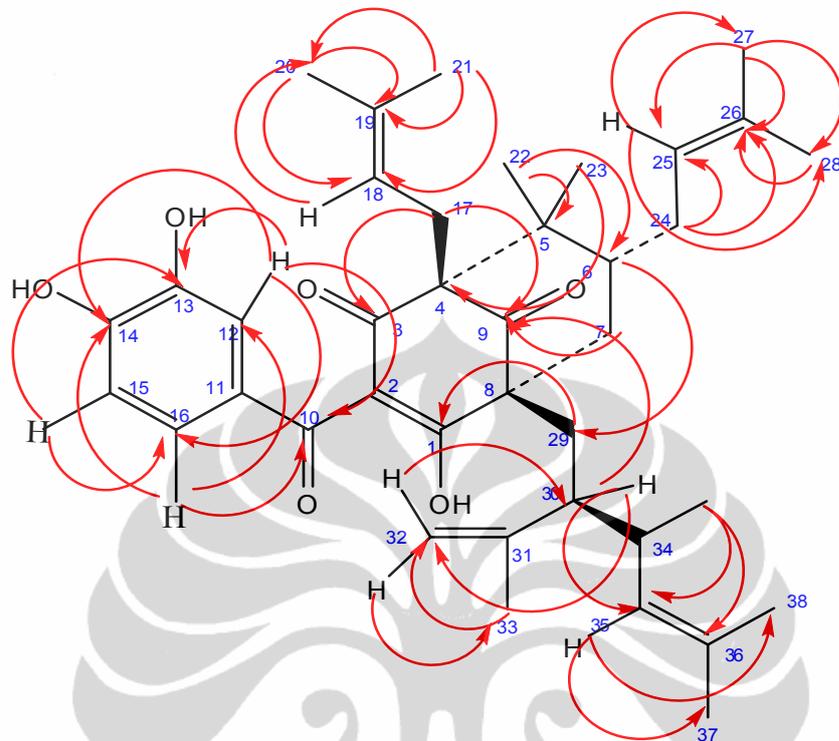
Posisi atom C	Guttiferon-E	Camboginol	GBH D $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, (^1H) 500 MHz	guttiferon-F CD_3OD , (^1H) 500 MHz
6	1,47 m		1,45 (m)	1,49 (m)
7	2,06 (dd, $J = 14,1$; 7,2 Hz)	1,4-2,9 puncak2 sinyal kompleks	2,2 (d, $J = 14,50$)	2,04 (dd, $J = 13,5$; 7,40)
	2,21 (dd, $J = 14,0$; 1,0)	1,4-2,9 puncak2 sinyal kompleks		2,24(d, $J = 13,5$)
12	7,22 (d, $J = 2,2$ Hz)	6,94 (s)	7,20 (s)	7,19 (d, $J = 2$)
15	6,69 (d, $J = 8,3$ Hz)	6,58(d, $J = 9,0$)	6,71 (d, $J = 7,30$ Hz)	6,68 (d, $J = 8$)
16	7,00 (dd, $J = 8,3$; 2,2 Hz)	6,95 (d, $J = 2$ Hz)	7,03(d, $J = 7,35$ Hz)	6,96 (dd, $J = 8,2$)
17	2,48 (dd, $J = 13,3$; 4,6 Hz)	1,4-2,9 puncak2 sinyal kompleks	2,7 (m)	2,56 (d, $J = 13,3$)
	2,67 (dd, $J = 13,3$; 9,4 Hz)			2,71 (dd, $J = 13,90$)
18	4,98 (m)	4,90 (b)	4,93 (t, 1H)	5,03 (m)
20	1,71 (d, $J = 1,00$)	1,56 (s)	1,62 (s, 3H)	1,73 (s)
21	1,65 (s)	1,7 (s)	1,49 (s, 3H)	1,69 (s)
22	1,12 (s)	1,16 (s)	1,17 (s, 3H)	1,15 (s)
23	0,95 (s)	1,00 (s)	0,99 (s, 3H)	0,99 (s)
24	2,06 (m, 2H)		2,01 (m)	2,09 (m); 2,02 (m)
25	4,88 (m)	4,98(t)	5,02(t, 1H)	4,87 (m)
27	1,65 (s)	1,70 (s)	1,63 (s, 3H)	1,65 (s)
28	1,53 (s)	1,56 (s)	1,60 (s, 3H)	1,49 (s)
29	1,71 (dd, $J = 13,8$; 3,7 Hz)	1,4-2,9 puncak2 sinyal kompleks	1,93 (dd, $J = 12,85$; 6,1)	1,92 (dd, $J = 13,5$; 4,5)
	2,23 (dd, $J = 13,8$; 10,6 Hz)			1,98 (m)
30	2,34 (m)		2,69 (m)	2,62 (m)
32	4,35 (d, $J = 2,4$ Hz)	4,36 (s, b)	4,50 (s)	4,45 (s, 2H)
	4,54 (dd, $J = 2,4$; 1,2 Hz)		4,53 (s)	
33	1,73 (s)	1,70 (s)	1,59 (s, 3H)	1,58 (s)
34	2,01 (m, 2H)		2,02 (m, 2H)	2,01 (m, 2H)
35	4,98 (m)		5,09 (b)	5,03 (m)
37	1,63 (d, $J = 1,20$ Hz)	1,70 (s)	1,69 (s, 3H)	1,65 (s)
38	1,57 (d, $J = 1,00$ Hz)	1,56 (s)	1,68 (s, 3H)	1,65 (s)

(Rao, *et al.*, 1980 dan Fuller, *et al.*, 1999)

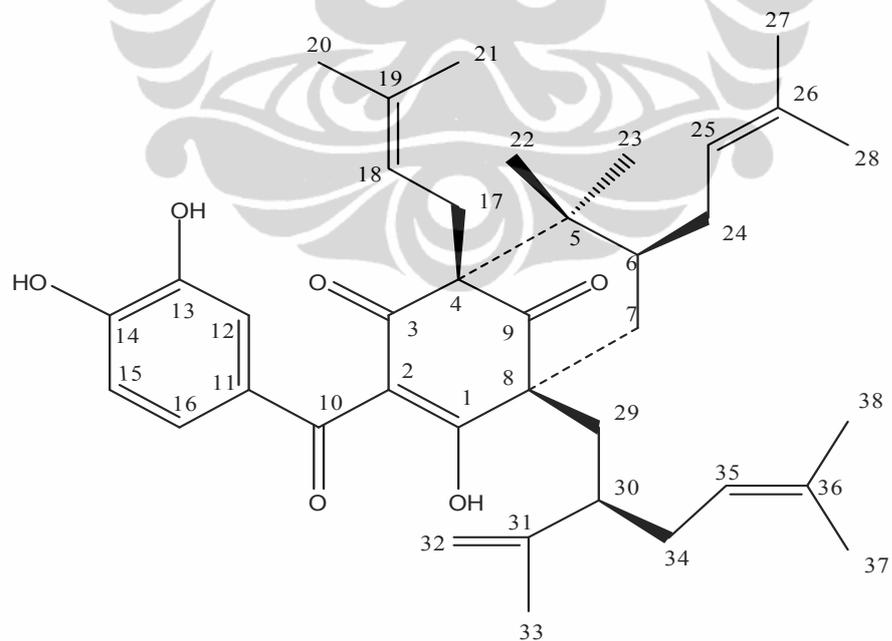


Penggalian senyawa GBH D

Penggabungan dari lima penggalan akan menjadi struktur senyawa GBH D adalah sebagai berikut:

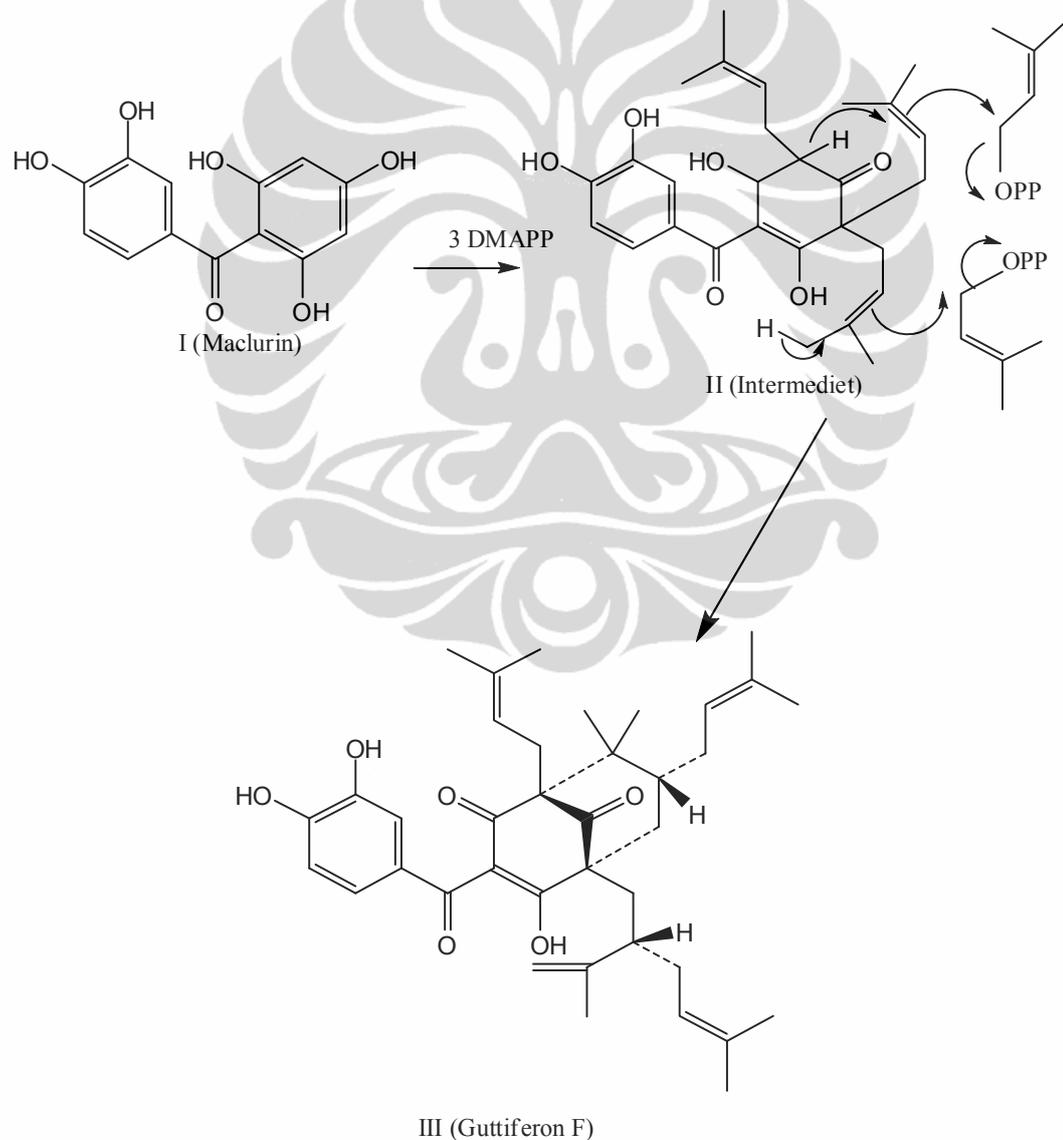


Kerangka Struktur GBH D



Struktur senyawa GBH D (guttiferon F)

Berdasarkan rumus struktur GBH D, maka senyawa tersebut digolongkan ke dalam isoprenil benzofenon. Biogenetik dari isoprenil benzofenon merupakan turunan dari maclurin $C_{13}H_{10}O_6$ (I) yang merupakan prekursor untuk beberapa jenis xanton pada tumbuhan tingkat tinggi (Rao, *et al.*, 1980). Reaksi dari tiga unit DMAPP (dimetilalilpirofosfat) pada cincin floroglucinol maclurin akan menghasilkan senyawa intermediet (II). Selanjutnya reaksi senyawa intermediet dengan dua unit DMAPP akan menghasilkan camboginol (III) (Rao, *et al.*, 1980). Karena rumus stuktur dasar dari camboginol dan guttiferon F mirip, maka biosintesis dari kedua senyawa tersebut mirip. Adapun reaksi biosintesis tersebut adalah sebagai berikut:



Gambar 4.5 Biosintesis Guttiferon F (Rao, *et al.* 1980)

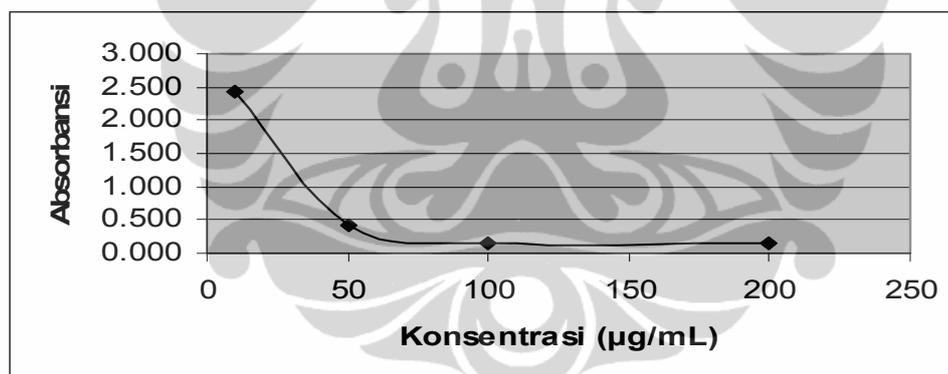
4.2 Uji Aktivitas Antioksidan

4.2.1 Uji Awal Aktivitas Antioksidan

Terhadap hasil ekstraksi awal dengan *n*-heksana, metanol, etil asetat, *n*-butanol dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *radical scavenger*. Hasil Uji aktivitas ini selanjutnya digunakan untuk dasar pemurnian salah satu ekstrak. Sebagai pembanding digunakan kontrol dari senyawa antioksidan kuercetin. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 515 nm setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37,7°C.

4.2.1.1 Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana

Pengukuran absorbansi ekstrak *n*-heksana dilakukan pada konsentrasi 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL dan 200 µg/mL. Data hasil pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang, $\lambda = 515$ nm untuk ekstrak *n*-heksana dapat dilihat pada lampiran 2. Aktivitas sebagai *radical scavenger* dapat dilihat pada Gambar 4.6 berikut ini.

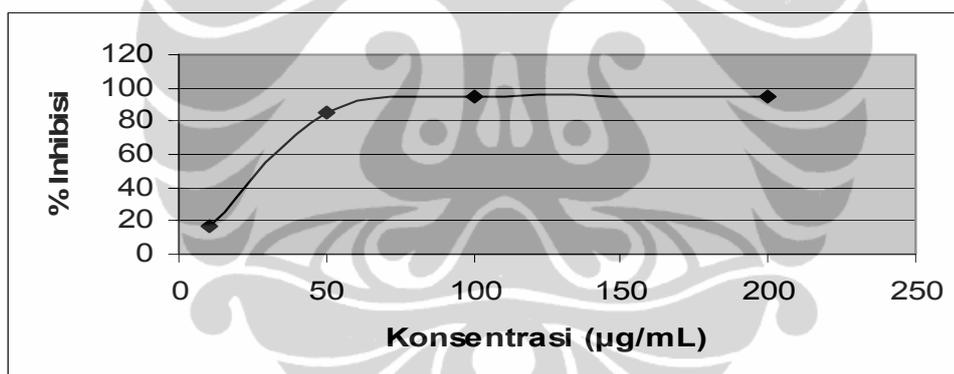


Gambar 4.6 Hasil Analisis aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-heksana dengan metode *Radical Scavenger*.

Dari Gambar 4.6 dapat diketahui bahwa meningkatnya penambahan ekstrak *n*-heksana dapat menurunkan nilai absorbansi DPPH. Penurunan absorbansi ini mempunyai arti bahwa telah terjadi penangkapan radikal bebas pada DPPH oleh ekstrak *n*-heksana. Dengan penangkapan radikal bebas tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan absorbansi. Dalam waktu pengujian selama 30 menit terjadi penurunan absorbansi yang signifikan pada penambahan ekstrak *n*-heksana

sebanyak 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal ini terlihat jelas pada gambar yang menunjukkan adanya penurunan absorbansi secara tajam.

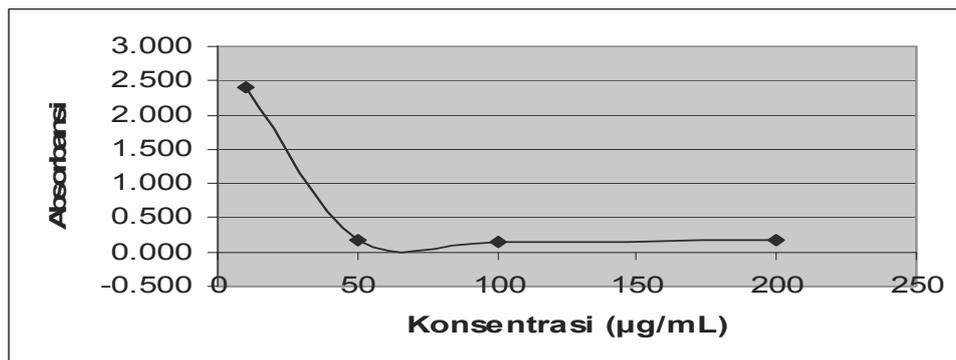
Suatu senyawa dikatakan antioksidan jika bertindak sebagai donor hidrogen ataupun akseptor elektron. Pemberian atom hidrogen oleh suatu antioksidan yang bertindak sebagai donor proton merupakan tahap awal mekanisme antioksidan melalui pemerangkap radikal (*radical scavenger*). Sampel uji Ekstrak *n*-heksana dapat bertindak sebagai donor hidrogen, karena dapat mengurangi ikatan rangkap diazo pada DPPH. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa Ekstrak kasar *G. cf. bancana* Miq (Ekstrak *n*-heksana) mempunyai aktivitas antioksidan dengan $\text{IC}_{50} = 24,50 \mu\text{g}/\text{mL}$, yang dalam hal ini merupakan *radical scavenger* (pemerangkap radikal). Adapun grafik konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak *n*-heksana berdasarkan perhitungan dapat dilihat pada Gambar 4.7 berikut:



Gambar 4.7 Grafik % inhibisi ekstrak *n*-heksana

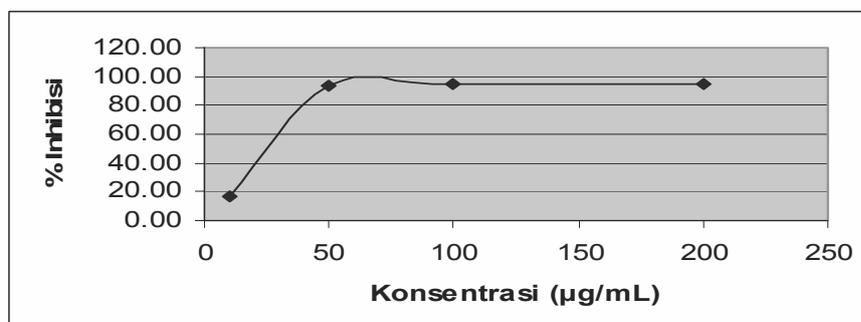
4.2.1.2 Hasil analisis aktivitas antioksidan Ekstrak metanol

Seperti yang dilakukan pada sampel ekstrak *n*-heksana, pengukuran absorbansi sampel ekstrak metanol pada konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang masing – masing ditambahkan ke dalam DPPH sebagai substratnya. Data hasil pengukuran absorbansi sampel ekstrak metanol dapat dilihat pada Gambar 4.8 berikut:



Gambar 4.8 Hasil Analisis aktivitas Antioksidan Ekstrak metanol dengan metode *Radical Scavenger*

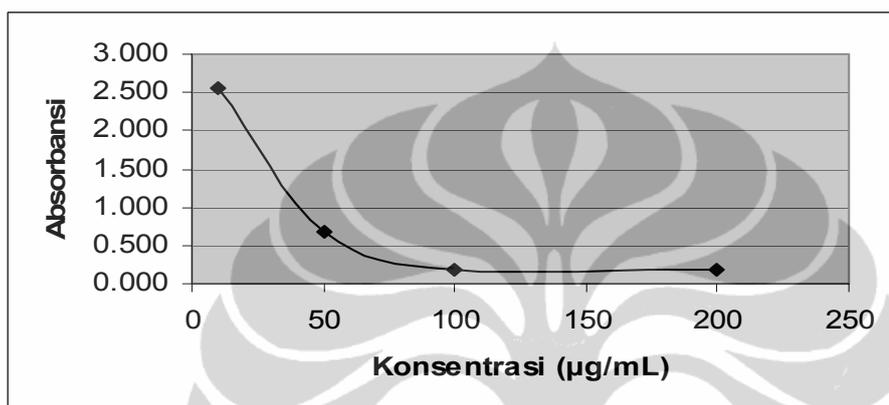
Dari Gambar 4.8 dapat diketahui bahwa meningkatnya penambahan ekstrak metanol dapat menurunkan nilai absorbansi DPPH. Penurunan absorbansi ini mempunyai arti bahwa telah terjadi penangkapan radikal bebas pada DPPH oleh ekstrak metanol. Dengan penangkapan radikal bebas tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan absorbansi. Dalam waktu pengujian selama 30 menit terjadi penurunan absorbansi yang signifikan pada penambahan ekstrak metanol sebanyak 200 µg/mL. Hal ini terlihat jelas pada gambar yang menunjukkan adanya penurunan absorbansi secara tajam. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak metanol *G. cf. bancana* Miq mempunyai aktivitas antioksidan dengan $IC_{50} = 22,35$ µg/mL, yang dalam hal ini merupakan *radical scavenger* (pemerangkap radikal). Hal ini juga didukung dari hasil analisis % inhibisi yang cenderung naik pada penambahan konsentrasi sampel. Adapun grafik konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak metanol berdasarkan perhitungan dapat dilihat pada Gambar 4.9 sebagai berikut:



Gambar 4.9 Grafik % inhibisi ekstrak metanol

4.2.1.3 Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat

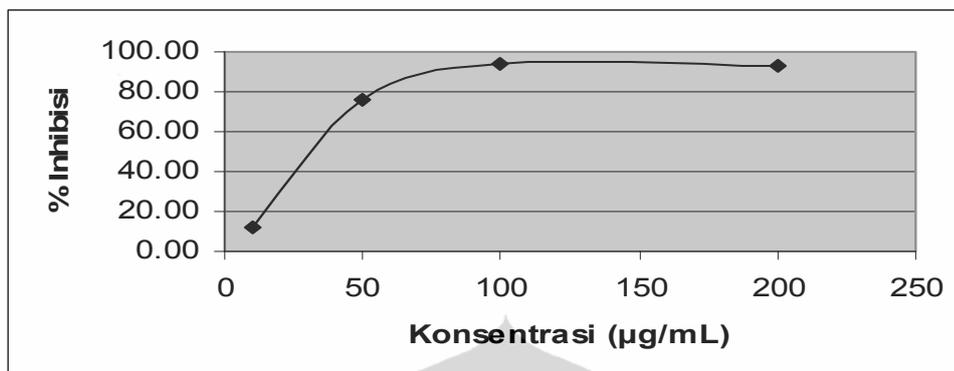
Seperti yang dilakukan pada sampel ekstrak metanol, pengukuran absorbansi sampel ekstrak etil asetat pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 200 $\mu\text{g/mL}$ yang masing – masing ditambahkan ke dalam DPPH sebagai substratnya. Data hasil pengukuran absorbansi sampel ekstrak etil asetat dapat dilihat pada Gambar 4.10 berikut:



Gambar 4.10 Hasil Analisis aktivitas Antioksidan ekstrak etil asetat dengan metode *Radical Scavenger*.

Dari Gambar 4.10 dapat diketahui bahwa meningkatnya penambahan ekstrak etil asetat dapat menurunkan nilai absorbansi DPPH. Penurunan absorbansi ini mempunyai arti bahwa telah terjadi penangkapan radikal bebas pada DPPH oleh ekstrak etil asetat. Dengan penangkapan radikal bebas tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan absorbansi. Dalam waktu pengujian selama 30 menit terjadi penurunan absorbansi yang signifikan pada penambahan ekstrak etil asetat sebanyak 200 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini terlihat jelas pada gambar yang menunjukkan adanya penurunan absorbansi secara tajam. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak etil asetat *G. cf. bancana* Miq mempunyai aktivitas antioksidan dengan $\text{IC}_{50} = 29,17$ $\mu\text{g/mL}$, yang dalam hal ini merupakan *radical scavenger* (pemerangkap radikal). Hal ini juga didukung dari hasil analisis % inhibisi yang cenderung naik pada penambahan konsentrasi sampel.

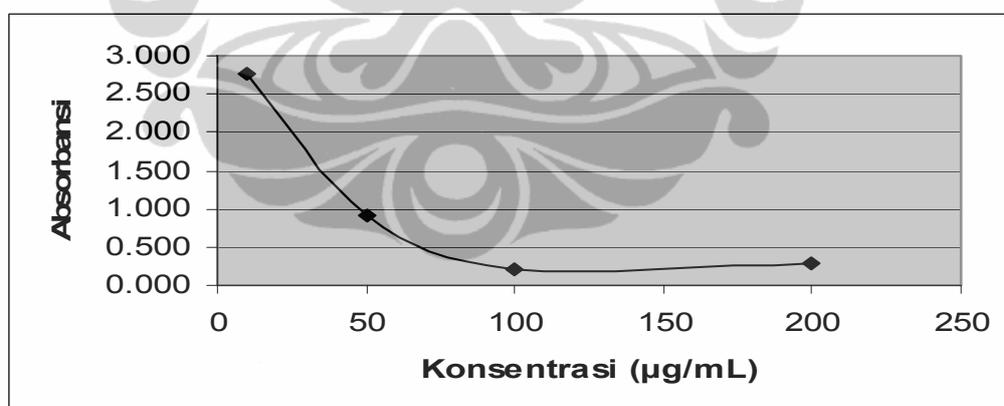
Adapun grafik konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak etil asetat berdasarkan perhitungan dapat dilihat pada Gambar 4.11 berikut:



Gambar 4.11 Grafik % inhibisi ekstrak etil asetat

4.2.1.4 Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak butanol

Seperti yang dilakukan pada sampel ekstrak etil asetat, pengukuran absorbansi sampel ekstrak butanol pada konsentrasi 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL dan 200 µg/mL yang masing – masing ditambahkan ke dalam DPPH sebagai substratnya. Data hasil pengukuran absorbansi sampel ekstrak butanol dapat dilihat pada Gambar 4.12 berikut:

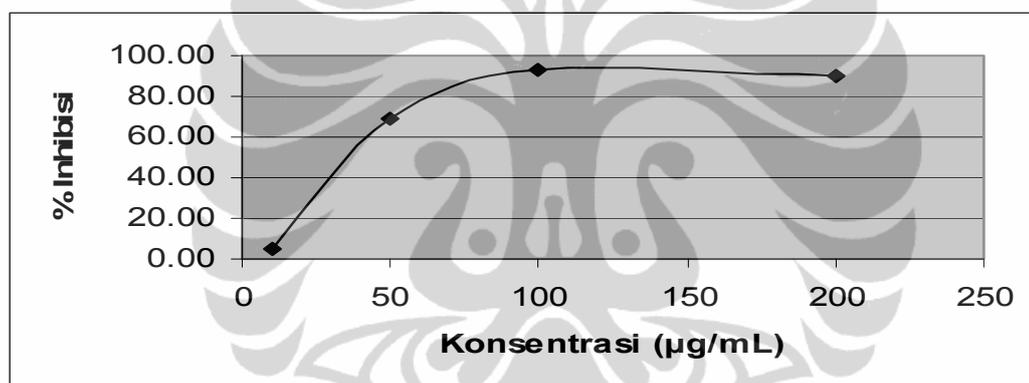


Gambar 4.12 Hasil Analisis aktivitas Antioksidan Ekstrak butanol dengan metode *Radical Scavenger*.

Dari gambar 4.12 dapat diketahui bahwa meningkatnya penambahan ekstrak butanol dapat menurunkan nilai absorbansi DPPH. Penurunan absorbansi ini mempunyai arti bahwa telah terjadi penangkapan radikal bebas pada DPPH oleh ekstrak *n*-butanol. Dengan penangkapan radikal bebas tersebut

mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan absorbansi. Dalam waktu pengujian selama 30 menit terjadi penurunan absorbansi yang signifikan pada penambahan ekstrak *n*-butanol sebanyak 200 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini terlihat jelas pada gambar yang menunjukkan adanya penurunan absorbansi secara tajam. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak *n*-butanol *G. cf. bancana* Miq mempunyai aktivitas antioksidan dengan $\text{IC}_{50} = 37,56 \mu\text{g/mL}$, yang dalam hal ini merupakan *radical scavenger* (pemerangkap radikal). Hal ini juga didukung dari hasil analisis % inhibisi yang cenderung naik pada penambahan konsentrasi sampel.

Adapun grafik konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak *n*-butanol berdasarkan perhitungan dapat dilihat pada gambar 4.13 sebagai berikut:



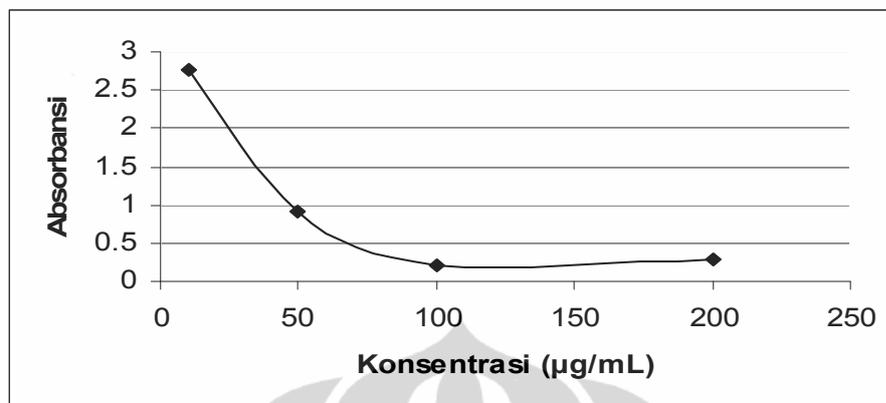
Gambar 4.13 Grafik % inhibisi ekstrak *n*-butanol

Hasil pengolahan dari data yang terdapat pada lampiran 2 digambarkan dalam bentuk grafik yang dapat dilihat pada gambar 4.6 s/d 4.13, dapat diketahui bahwa semua ekstrak pada kulit batang manggis hutan (*G. cf. bancana* Miq) mempunyai aktivitas antioksidan.

4.2.2 Uji Aktivitas antioksidan terhadap isolat murni

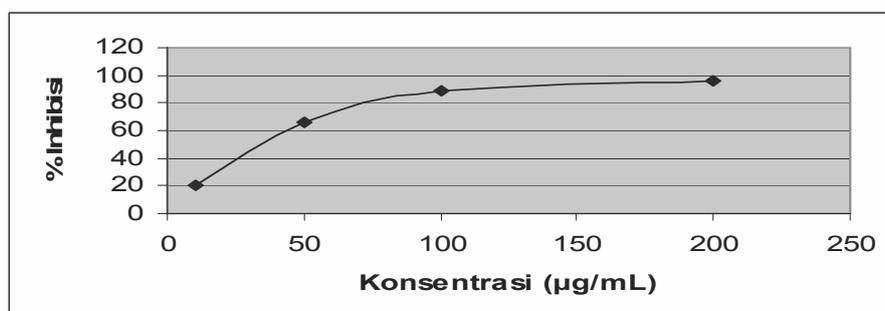
Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada senyawa GBH D dengan metode *radical scavenger* dengan langkah kerja yang sama dengan ekstrak kasar. Seperti yang dilakukan pada ekstrak, pengukuran absorbansi isolat GBH D dilakukan pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 200 $\mu\text{g/mL}$ yang masing – masing ditambahkan ke dalam DPPH sebagai substratnya.

Data hasil pengukuran absorbansi sampel isolat GBH D dapat dilihat pada gambar 4.14 berikut:



Gambar 4.14 Hasil Analisis aktivitas Antioksidan isolat GBH D dengan metode *Radical Scavenger*.

Dari Gambar 4.14 dapat diketahui bahwa meningkatnya penambahan isolat GBH D dapat menurunkan nilai absorbansi DPPH. Penurunan absorbansi ini mempunyai arti bahwa telah terjadi penangkapan radikal bebas pada DPPH oleh isolat GBH D. Dengan penangkapan radikal bebas tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan absorbansi. Dalam waktu pengujian selama 30 menit terjadi penurunan absorbansi yang signifikan pada penambahan isolat GBH D sebanyak 200 µg/mL. Hal ini terlihat jelas pada gambar yang menunjukkan adanya penurunan absorbansi secara tajam. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa isolat GBH D dari *G. cf. bancana* Miq mempunyai aktivitas antioksidan, yang dalam hal ini merupakan *radical scavenger* (pemerangkap radikal). Adapun grafik konsentrasi dengan % inhibisi dapat dilihat pada Gambar 4.15 berikut:



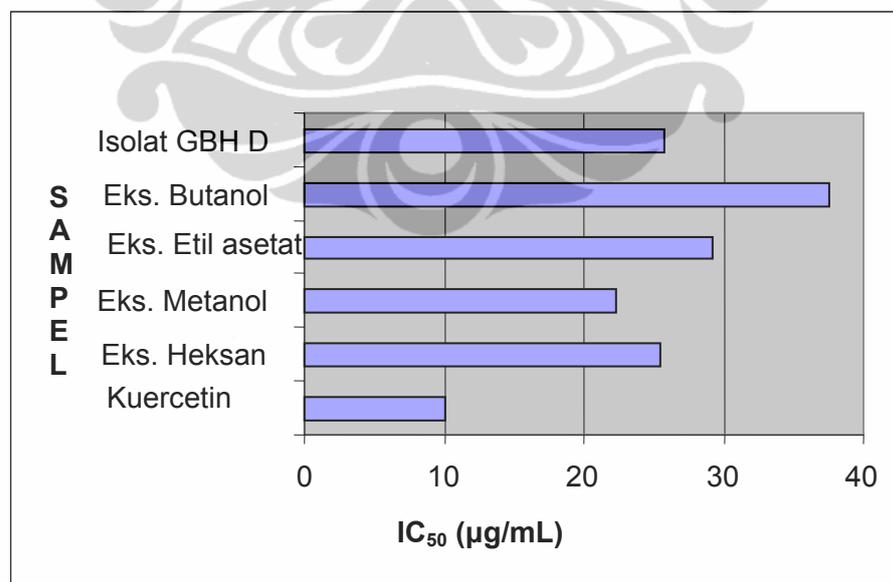
Gambar 4.15 Grafik % Inhibisi Isolat GBH D

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode *radical scavenger* ini ditunjukkan dengan nilai IC_{50} untuk tiap – tiap sampel dan sebagai antioksidan pembanding digunakan senyawa kuercetin. Besarnya IC_{50} ditentukan dengan menggunakan rumus seperti yang tercantum pada BAB 3 halaman 28. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan aktif, jika memiliki $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$. Daftar nilai IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 4.4 berikut:

Tabel 4.4 Nilai IC_{50} antioksidan kulit batang *Garcinia cf. bancana* Miq

Sampel	IC_{50} $\mu\text{g/mL}$
Kuercetin	10,09
Ekstrak <i>n</i> -heksana	24,50
Ekstrak metanol	22,35
Ekstrak etil asetat	29,17
Ekstrak <i>n</i> -butanol	37,56
Senyawa GBH D	25,79

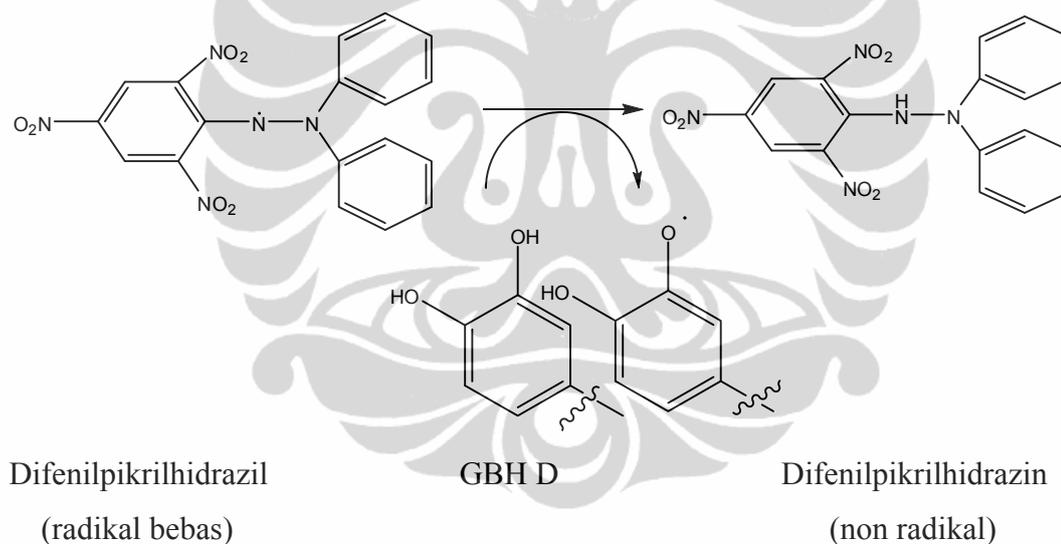
Adapun dalam bentuk diagram batang perbandingan nilai IC_{50} dapat dilihat pada gambar 4.16 berikut:



Gambar 4.16 Diagram batang IC_{50} hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Dari diagram batang tersebut dapat disimpulkan bahwa semua ekstrak menunjukkan aktivitas antioksidan. Sedangkan isolat murni yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa GBH D $IC_{50} = 25,79 \mu\text{g/mL}$, menggunakan senyawa antioksidan pembanding yaitu quercetin dengan $IC_{50} = 10,09 \mu\text{g/mL}$. Dilihat dari struktur molekulnya senyawa GBH D yang identik dengan guttiferon F, memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki cincin aromatik dan gugus fenolik.

Senyawa GBH D mempunyai aktivitas antioksidan dikarenakan memiliki gugus fenolik pada atom C ke 13 dan 14. Gugus tersebut mampu mendonorkan atom hidrogen sehingga dapat menghambat radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Adapun reaksi gugus fenolik senyawa GBH D dengan DPPH dapat digambarkan sebagai berikut:



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Dari hasil isolasi pada fraksi *n*-heksana diperoleh isolat GBH A berupa campuran minyak atsiri antara lain terdiri dari senyawa-senyawa berikut: copaen; 4,7-methanoazulen; γ cadinen dan kariofilen oksida, yang termasuk kelompok senyawa seskuiterpen, sedangkan senyawa murni GBH D berupa kristal kuning kehijauan, dari hasil identifikasi menggunakan LC MS memiliki BM = 602, rumus molekul $C_{38}H_{50}O_6$, sedangkan dari hasil analisis data spektrum IR dan NMR, serta dibandingkan dengan literatur, senyawa GBH D identik dengan guttiferon F.

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode *radical scavenger* menunjukkan bahwa semua ekstrak yang diuji memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} masing-masing adalah ekstrak *n*-heksana = 24,50 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak metanol = 22,35 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etil asetat = 29,17 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak butanol = 37,56 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan senyawa GBH D memiliki IC_{50} sebesar 25,79 $\mu\text{g/mL}$, dimana antioksidan kuercetin memiliki IC_{50} sebesar 10,09 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh senyawa murni lainnya dari ekstrak *n*-heksana dan ekstrak lainnya karena memiliki potensi sebagai sumber antioksidan.

Perlu dilakukan uji bioaktivitas lainnya pada senyawa hasil isolasi untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan khususnya kimia bahan alam.

DAFTAR REFERENSI

- Anne, E.H, Marie C.A.,Sabine M.,Vincent D., Marck L.,David R.,and Pascal R., (2004), Antioxidant from *Garcinia vieillardii*, *J. Nat. Prod.*, 67,707-709.
- Burkill, I.H., (1955), A dictionary of the economic products of the Malay Peninsula.London 2 vols.
- Chiung-Ho L., Chi-Tang H., Jen-Kun L., (2005), “Effect of Garcinol on free radical generation and NO production in Embryonic rat cortical neuron and astrocytes “Bioch. and Biophys. Res. Commun. 329,1306-1314.
- Cao S-G.,H.L Valeri, X-H. Wu, Y.S. Keng, B. H-K. Tan, J. T. Pereira. And J.H. Goh, (1998), ”Novel Cytotoxic Polyprenylated Xantonoids from *Garcinia Gaudichaudii* (*Guttiferae*)”, *Tetrahedron*, 54(36), 10915-10924.
- Dawick, P.M., Medicinal Natural Product, second edition, School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham, UK
- Fuller, R. W.,Blunt, J. W., Boswell, J. L., Cardellina , J.H.,and Boyd, M.R., (1999). Guttiferon- F, the First Prenylated Benzophenone from *Allanblackia stuhlmannii*. *J. Nat. Prod.* 62, 130 - 132
- Gordon, M.H., (1990), The Mechanism of Antioxidant Action in vitro, di dalam Food Antioxidant. Elsevier Applied Science, London. 1-18
- Hartati, S.,(2007) Isolasi dan Penentuan Struktur Kimia Serta Uji Aktivitas Biologi dari Kulit Batang *Garcinia* Spp (*G.tetrandra* Piere, *G. eugeniaefolia* Wall dan *G. maingayi* Hook). Disertasi. Program Pasca Sarjana Bidang Studi Kimia Universitas Indonesia.
- Jih-Jung, C., Chia-Wei, T., Tsong-Long, H., and Ih-Sheng, C., (2009), ” Benzophenone Derivatives from the Fruits of *Garcinia multiflora* and Their Anti-inflammatory Activity”, *J. Nat. Prod.* 2009, 72, 253–258
- Ketaren, S. (1986), Pengantar Tehnologi Minyak dan lemak Pangan. Penerbit Universitas Indonesia, UI Press. Jakarta.
- Kshetrimayum G.,Adhikarimayum H., and Maibam D.,(2007), “Evaluation of antioxidant and antifungal activities of fruit hull of *Garcinia pedunculata* Roxb”. *Journal of Food, Agric. and Envirnm.* 5(1) : 22-25.

- Keng H., (1978), Orders and Families of Malayan Seed Plants, Singapore University Press, 85-89.
- Kosela, S., Lu, L.H., Rahmatia T., Hanafi, M., and Sim, K.Y., 2000, Dulxanthone F-H, Three New Pyranoxanthone from *Garcinia dulcis*, *J. Nat. Prod.*, 63, 606-407.
- Lawrence, G.H.M.,(1955), Taxonomi of Vascular Plants, the Macmillan Company, New York, 603-604.
- Luz Cardona, M., Fernadez, I., Jo and Perdo, R., and Angel S.,(1990), “Xanthone from *Hypericum reflexum*, *Phytochem.*, 29 (29), pp 2003-3006.
- Minami, H., M.Kinoshita, Y. Fukuyama, M. Kodama, T. Yoshikawa, M. Sugiura, K.Nagakawa and H.Togo(1994). Antioxidant Xanthones from *Garcinia subelliptica*. *Phytochemistry* 36:501.
- Molyneux, P., (2004), The Use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2) : 211-219
- Nuttavut K., Youn-Hee, H., and Primchanien M., (2007), “ Antioxidant and Cytoprotective Activities of Methanolic Extract from *Garcinia mangostana* Hulls”, *Scient Asia* 33: 283-292
- Rama Rao A.V., Vetkatswamy G. and Pendse A. D., (1980), Camboginol and Cambogin, *Tetrahedron letters*, 21, pp 1975-1978
- Robinson T.,(1995), Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan K. Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 367 hlm
- Sastroahamidjojo, H., (1996), Sintesis Bahan Alam, cetakan ke-1, Liberty, Yogyakarta
- Scott, G., (1988). Antioxidant. *Bull. Chem. Soc. Japan* 61: 165-170
- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compound. Fifth edition. John Wiley and Sons, Inc. Singapore.
- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compound. Fifth edition. John Wiley and Sons, Inc. Singapore.

- Terashima, K., Takaya, Y., and Niwa, M., (2002), " Powerful antioxidative agent based on garcinoic acid from *Garcinia kola*". *Bioorganic Med. Chem.*, 10: 1619-1625.
- Winarno, F. G. (1984), *Kimia Pangan dan Gizi*. Penerbit PT Gramedia, Jakarta
- Whitmore T.C., (1973), *Tree Flora of Malaya, Amanual for Forester*, vol 2, Printed by Hongkong Wing Tai Cheung, 197-225.
- Yamaguchi F., Makoto S, Yoshihiro T.A., (2000), "Free Radical Scavenging activity and antiulcer activity from *Garcinia indica fruit rind*," *J.Agric. Food Chem.*, 48, 2320-3225.
- Yapwattanaphun, C. S., Subhadrabandhu, A., Sugiura, K., Yonemori, N., Utsunomiya, (2003), *Utilization of some Garcinia species in Thailand*, International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits.
- Yusnetti Boer, (1999), *Antioksidan Kulit Buah Kandis [*Garcinia parvifolia*(Miq) Miq]*. Thesis Program Studi Magister Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.



LAMPIRAN

Lampiran 1: Hasil Identifikasi Sampel Tanaman *Garcinia cf. bancana* Miq

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, 12 Agustus 2009

Nomor : 862/IPH.1.02/If.8/VIII/2009
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Dr. Sri Hartati M. Sc.
 Puspitek Kimia Terapan Serpong

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	-	<i>Garcinia bancana</i> Miq.	Clusiaceae
2	-	<i>Garcinia cf. bancana</i> Miq.	Clusiaceae
3	-	<i>Garcinia</i> sp.	Clusiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


 Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
 NIP. 195111041975011001

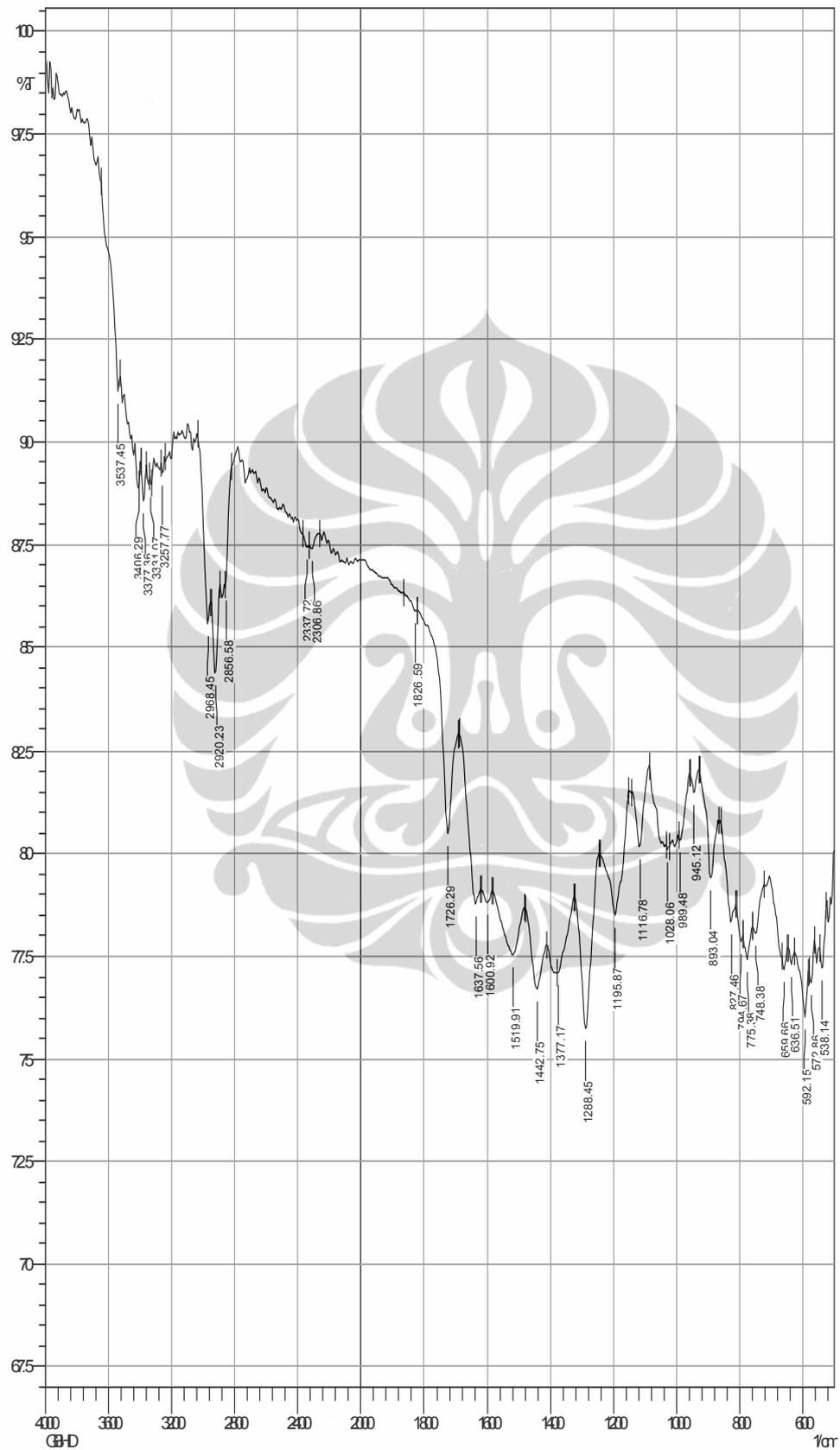
D:\Ident 2009\Dr. Sri Hartati M. Sc..doc\Ismail-Abdul R.

Page 1 of 1

Lampiran 2 : Data Hasil Pengukuran Absorbansi ($\lambda = 515 \text{ nm}$) Sampel Ekstrak *n*-heksan, ekstrak metanol, ekstrak etil asetat, ekstrak *n*-butanol, isolat GBH D dan kontrol pada uji aktivitas antioksidan *Radical Scavenger*

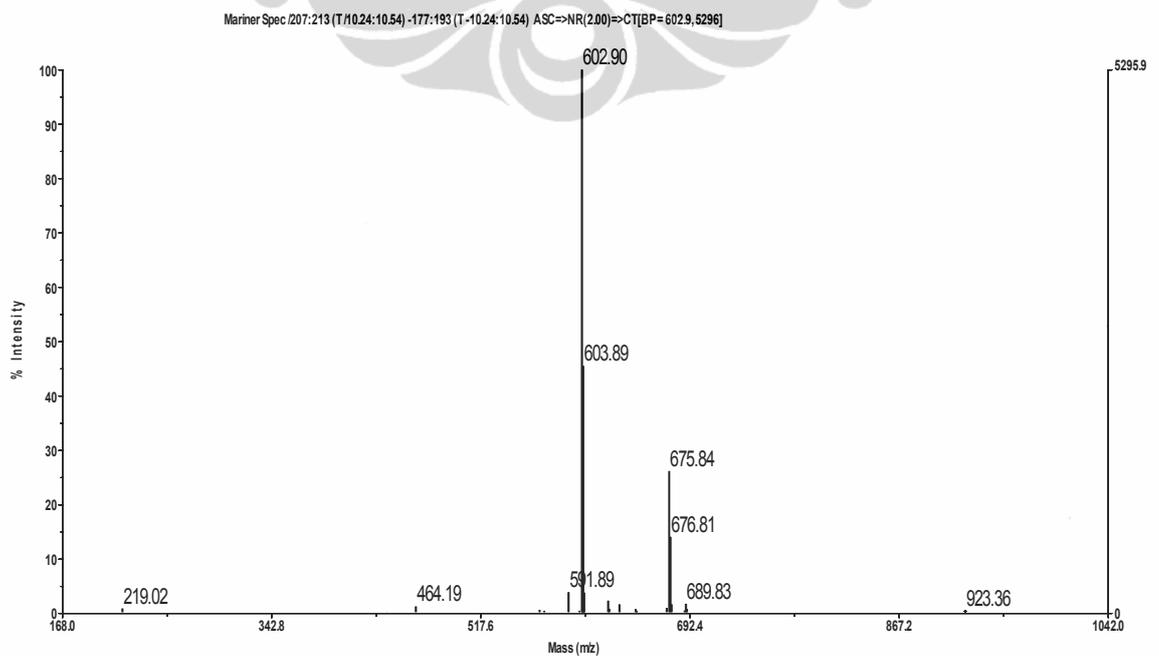
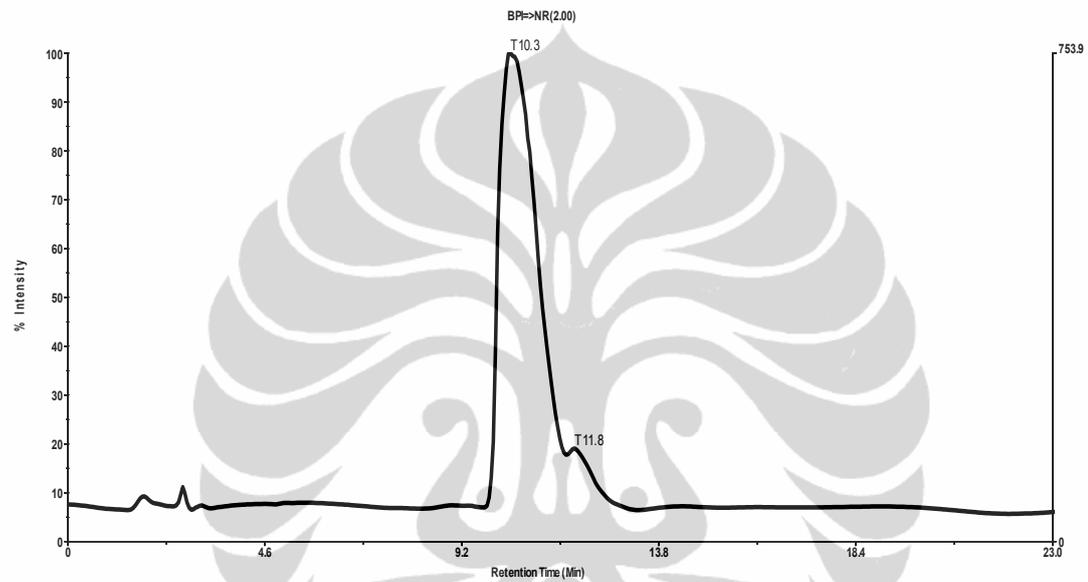
Sampel	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$
Blanko	2.898			
kuersetin	2.604	1	10.14	10,09
	2.193	5	24.33	
	1.404	10	51.55	
	0.164	20	94.34	
Eks Heksan	2.423	10	16.39	24,50
	0.413	50	85.75	
	0.148	100	94.89	
	0.136	200	95.31	
Eks. Metanol	2.405	10	17.01	22,35
	0.173	50	94.03	
	0.156	100	94.62	
	0.167	200	94.24	
Eks. EtOAc	2.548	10	12.08	29,17
	0.683	50	76.43	
	0.173	100	94.03	
	0.191	200	93.41	
Eks. Butanol	2.767	10	4.52	37,56
	0.911	50	68.56	
	0.197	100	93.20	
	0.286	200	90.13	
Senyawa GBH D	2.105	25	27.36	25,79
	1.094	125	62.25	
	0.311	250	89.27	
	0.113	500	96.10	

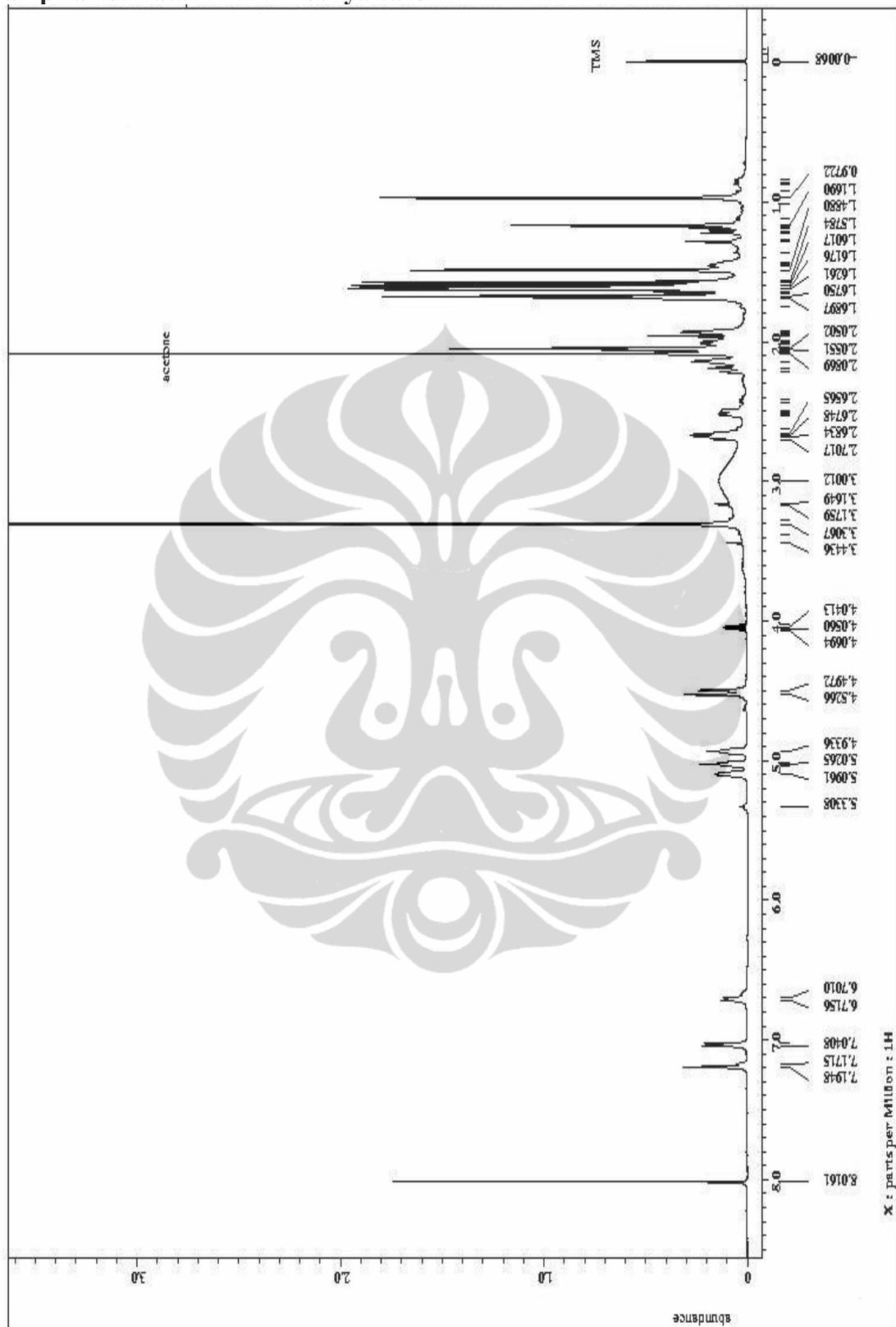
Lampiran 3 : Spektroskopi IR senyawa GBH D

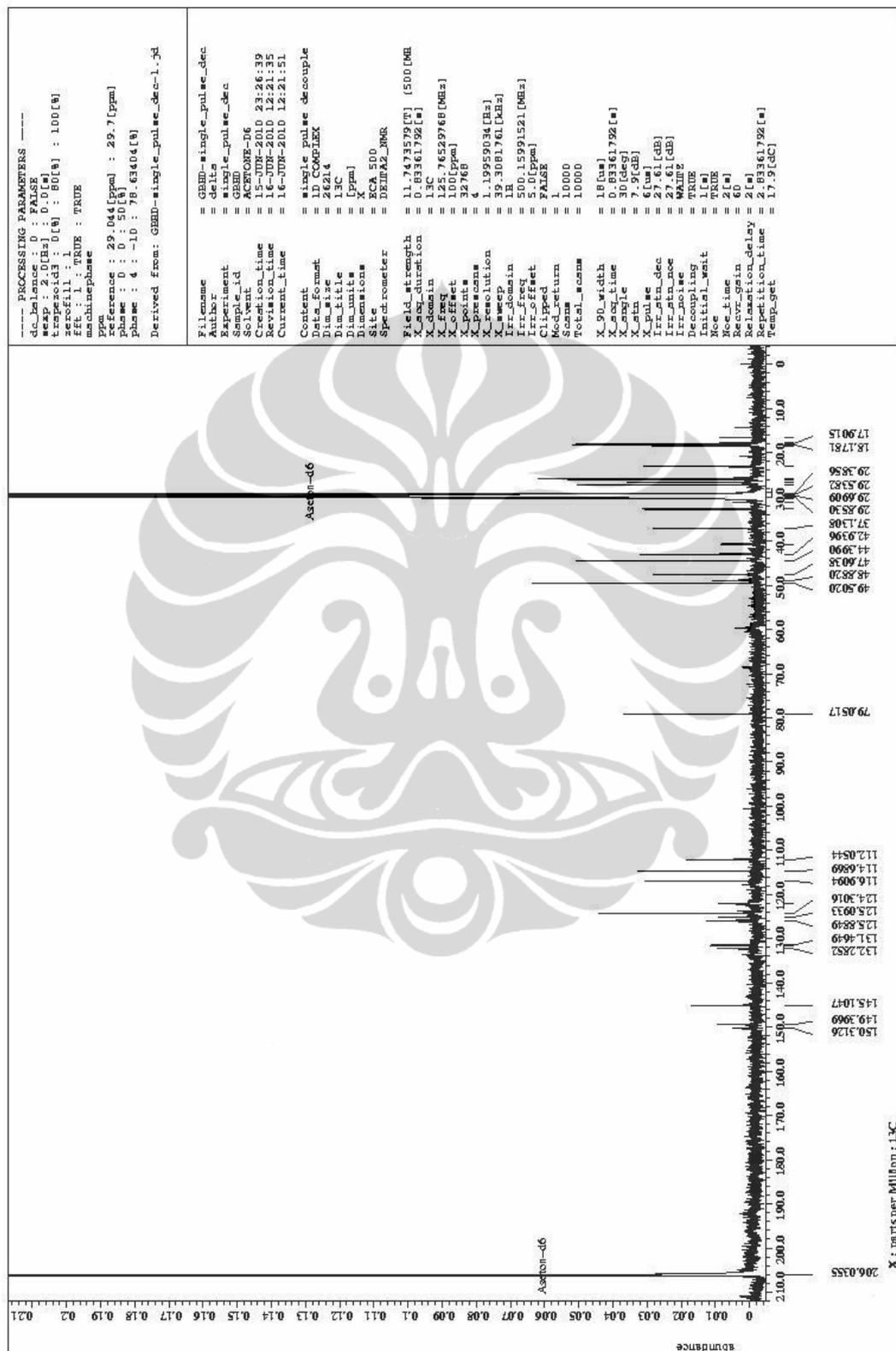


Lampiran 4. Data LC senyawa GBH D

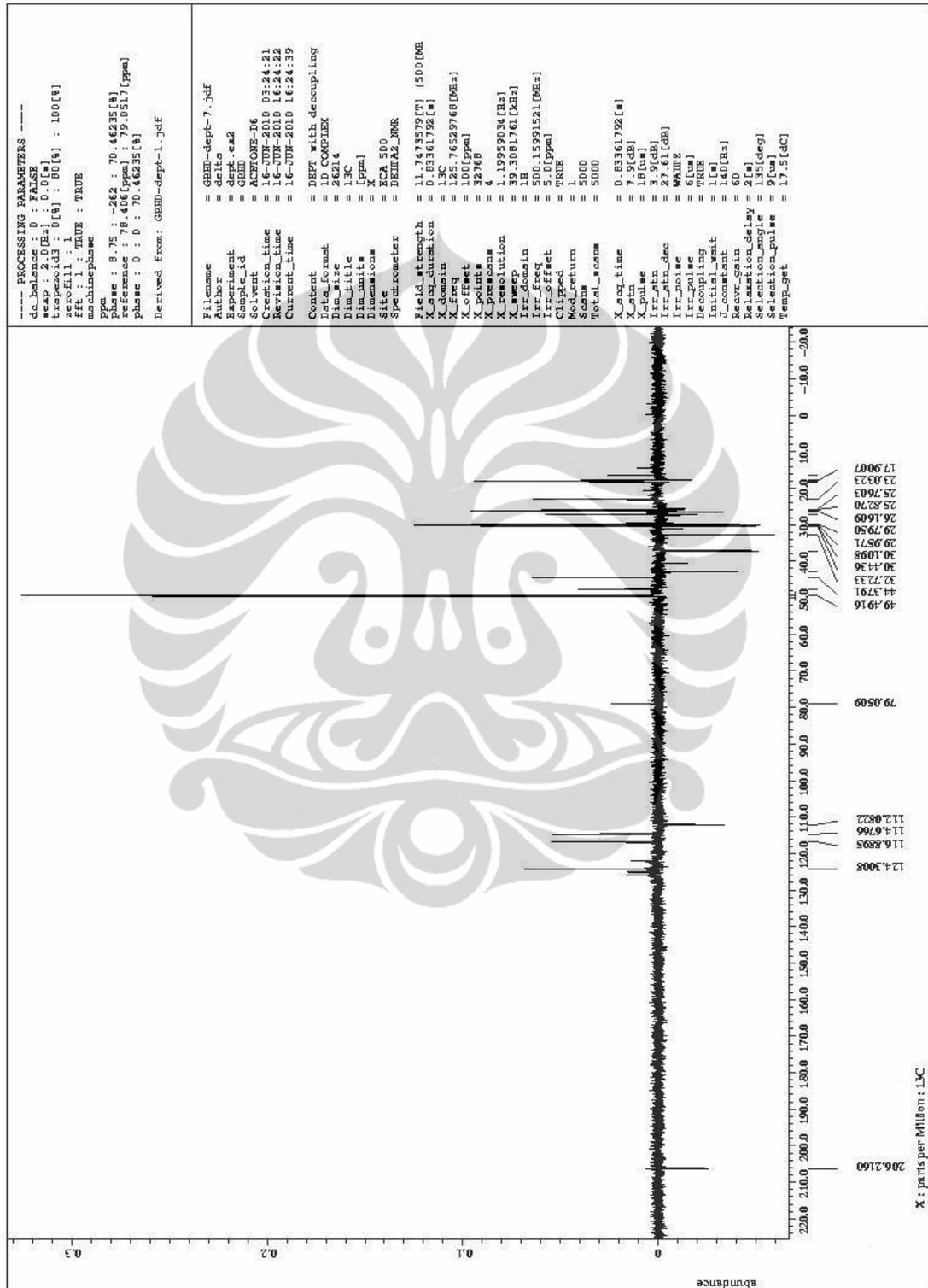
LC MS –ESI pos ion
Vol injection 20 ul
Flow 1 ml/min
Eluent MeOH+Water = 95 +5
Operating by : Puspa D N Lotulung



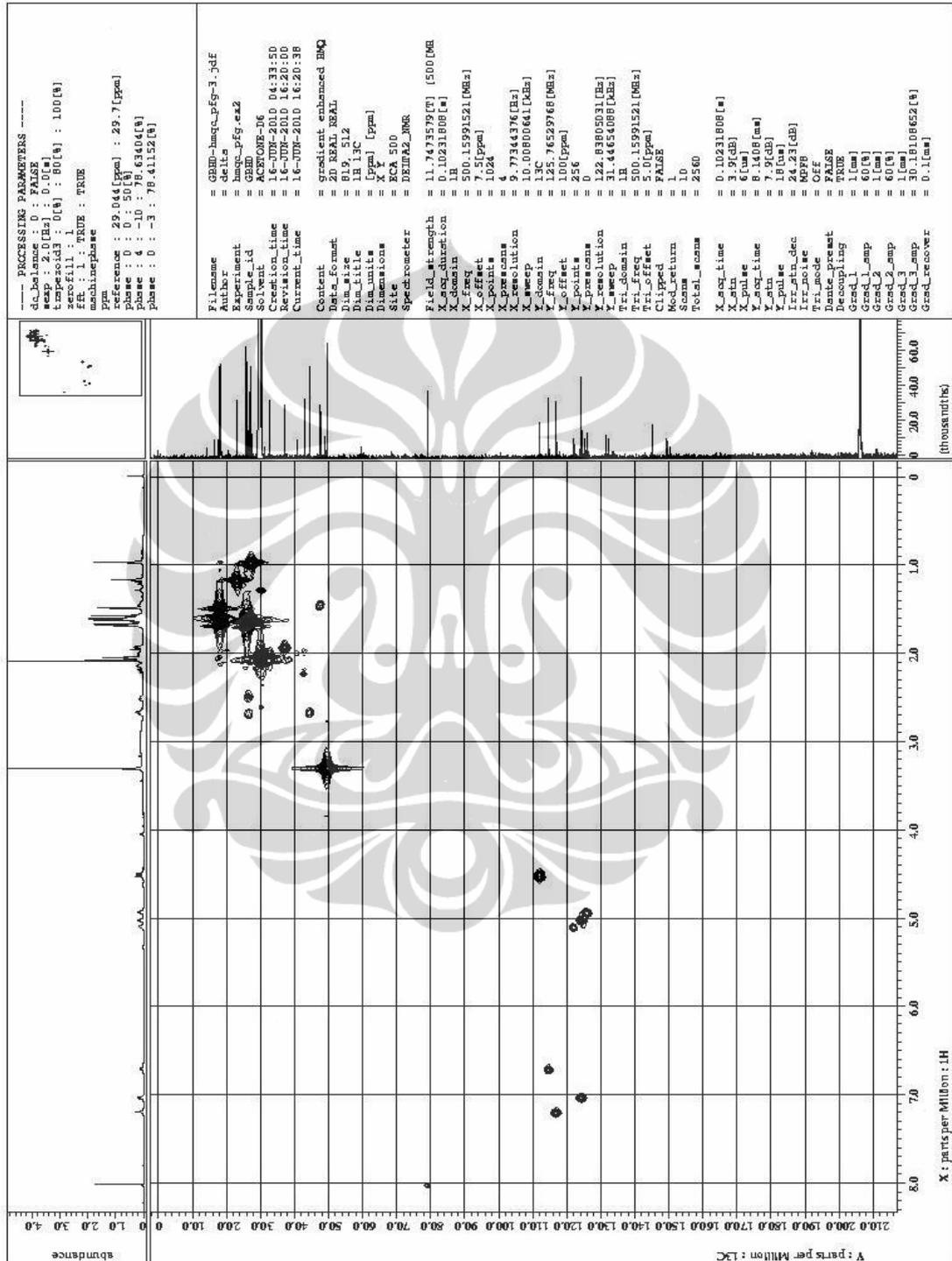
Lampiran 5. Data $^1\text{H-NMR}$ Senyawa GBH D

Lampiran 6 ¹³C-NMR Senyawa GBH D

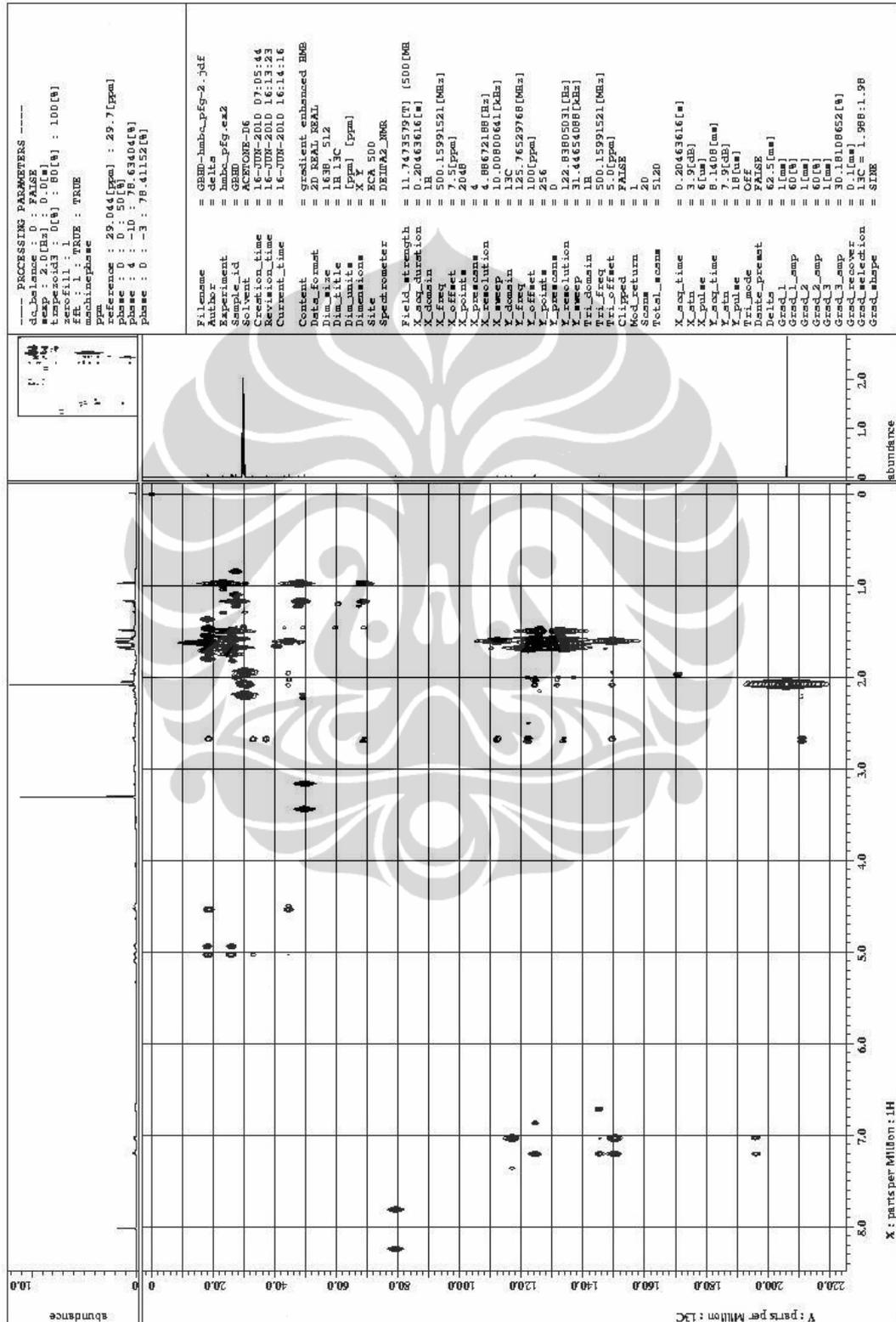
Lampiran 7 Spektrum DEPT Senyawa GBHD



Lampiran 8. Data HMQC Senyawa GBH D

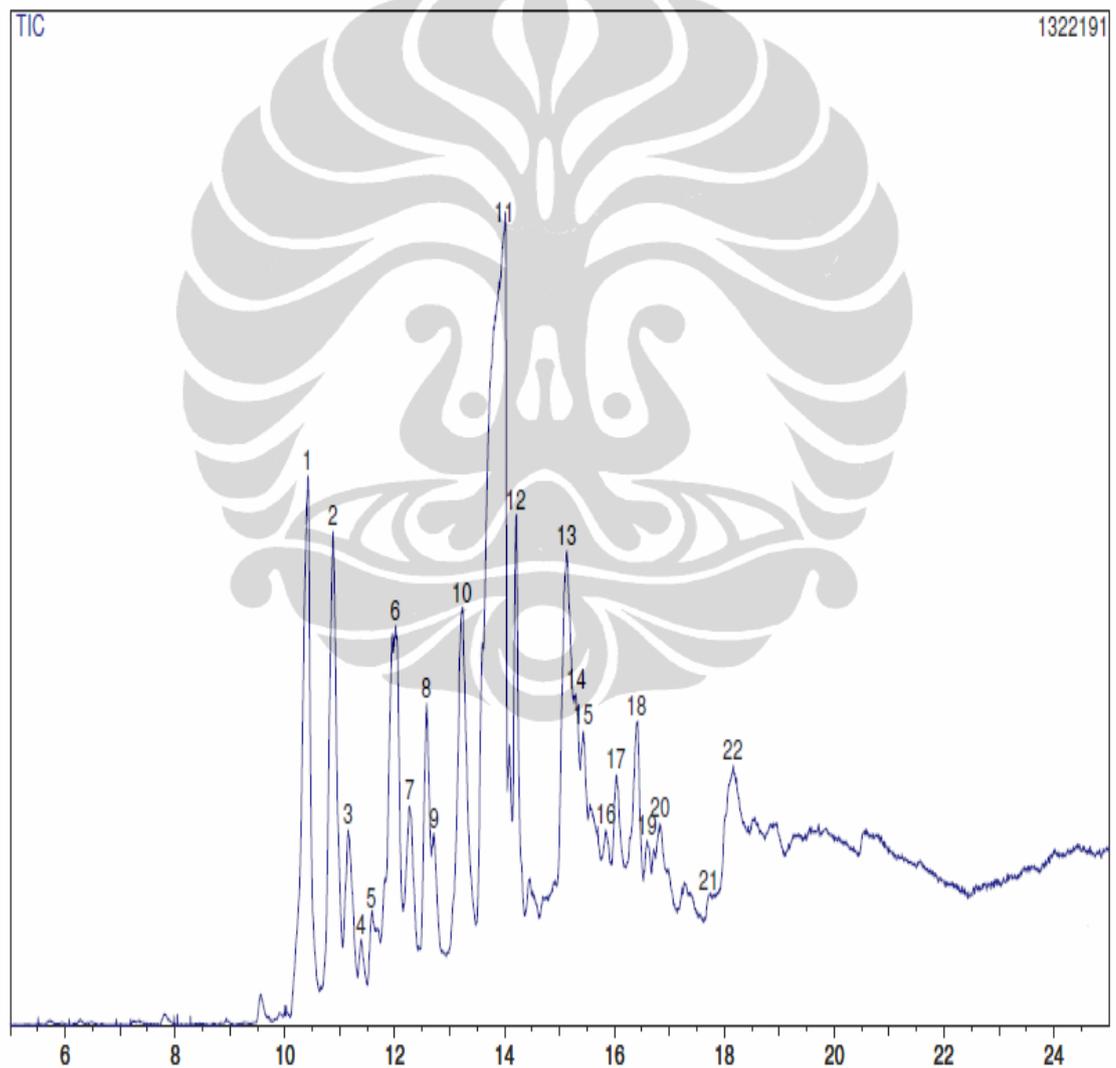


Lampiran 9. Data HMBC Senyawa GBH D

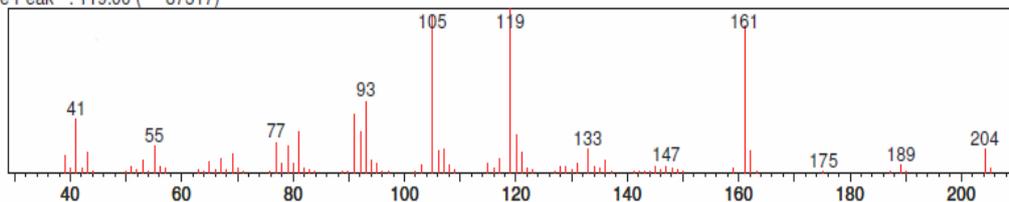


Lampiran 10. Spektrum GC MS Isolat GBH A

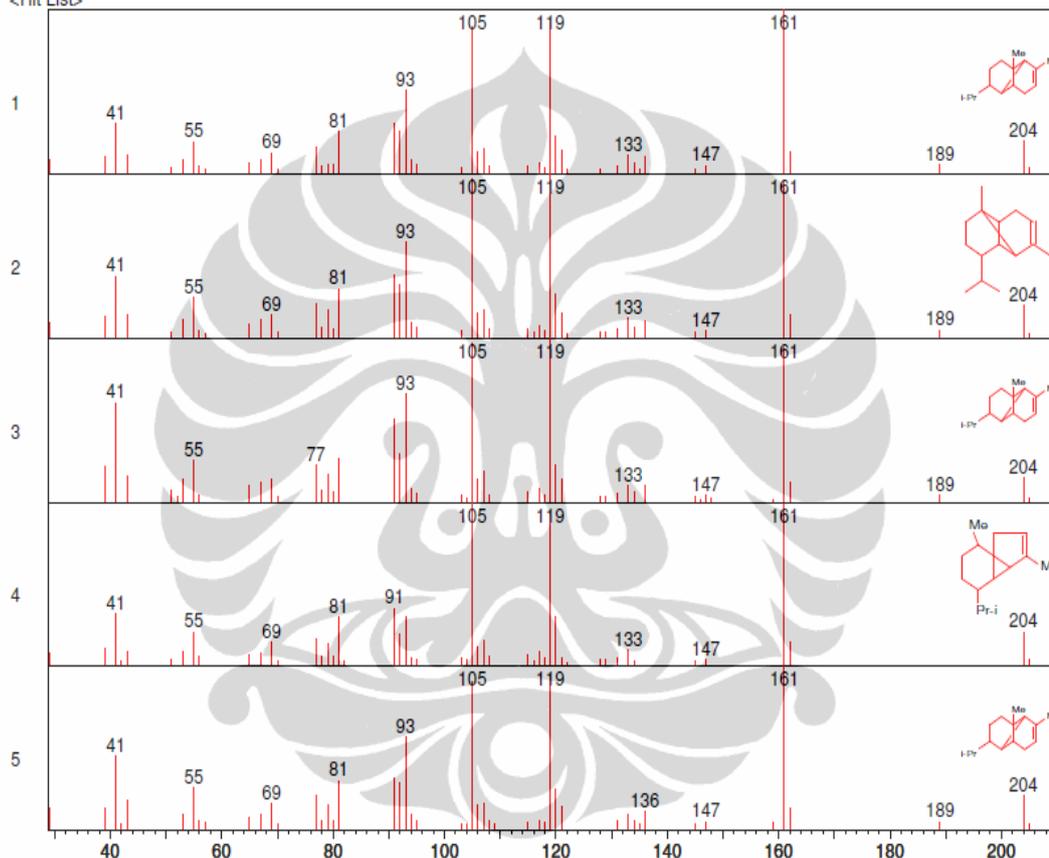
*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : 4_10_11.D02 10/04/15 11:28:32
Sample : MS 4/10/11
ID : 60/300/7
Sample Amount : 0
Dilution Factor : 0
Type : Standard
Operator : SURANI
Method File Name : KDAROL.MET
Vial No. : 0
Barcode :



<Unknown Spectrum>
 Data : 4_10_11.D02
 Mass Peak # : 86 Ret. Time : 10.417
 Scan # : 1250
 Base Peak : 119.00 (87317)



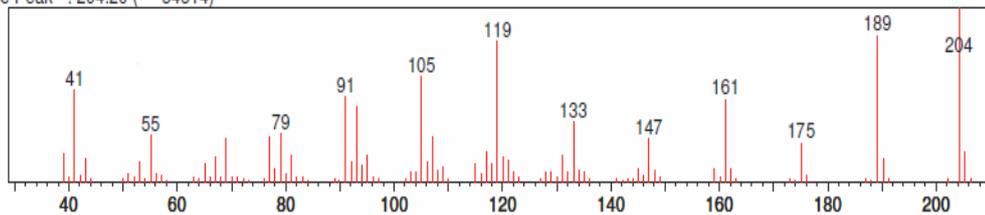
<Hit List>



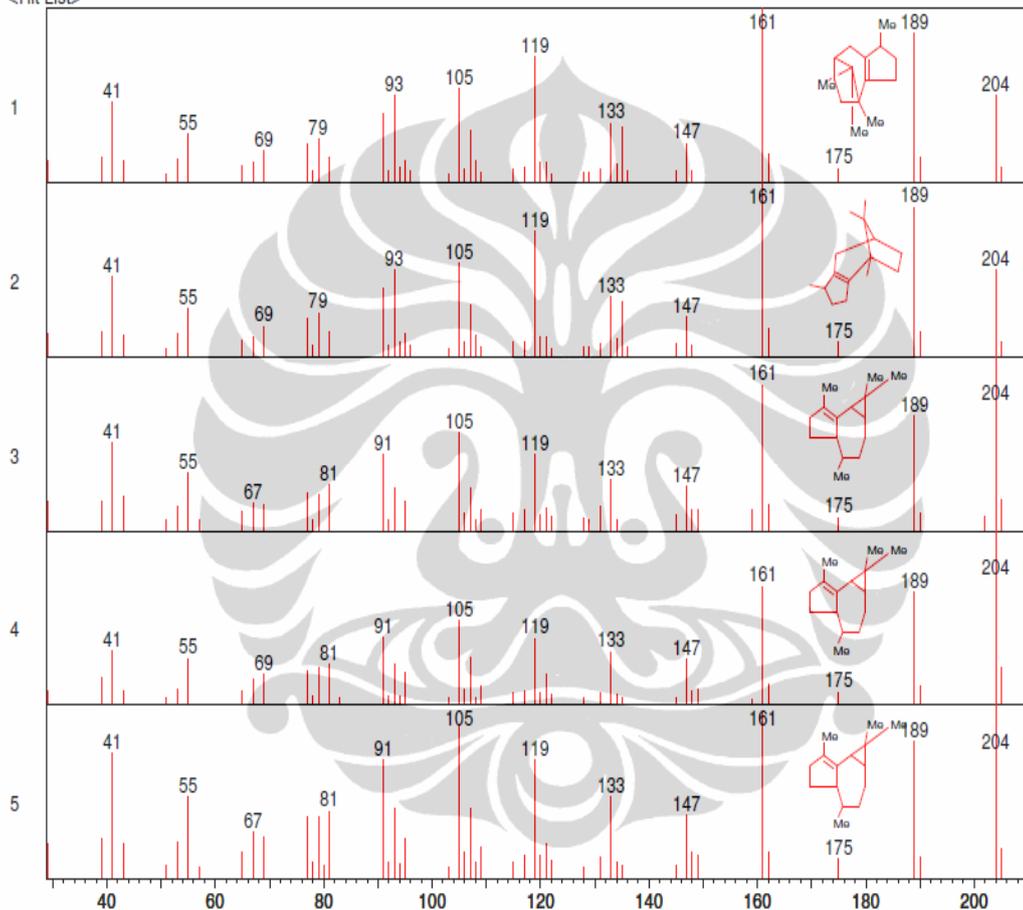
No	SI	Mol.Wgt.	Mol.Form./Compound Name	CAS No.	Entry	LIB#
1	96	204	C ₁₅ H ₂₄ .alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-,	3856-25-5	71080	2
2	96	204	C ₁₅ H ₂₄ Copaene \$\$ Tricyclo 4.4.0.02,7 dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisom	3856-25-5	23943	1
3	94	204	C ₁₅ H ₂₄ .alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-,	3856-25-5	71083	2
4	94	204	C ₁₅ H ₂₄ .alpha.-Cubebene \$\$ 1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, 3a,3b,4,5,6,7-hexahydro	17699-14-8	71086	2
5	94	204	C ₁₅ H ₂₄ .alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-,	3856-25-5	71081	2

Library Name
 (1) NIST62.LIB (2) WILEY229.LIB (3) PESTICD.LIB

<Unknown Spectrum>
 Data : 4_10_11.D02
 Mass Peak # : 99 Ret. Time : 10.875
 Scan # : 1305
 Base Peak : 204.20 (54514)



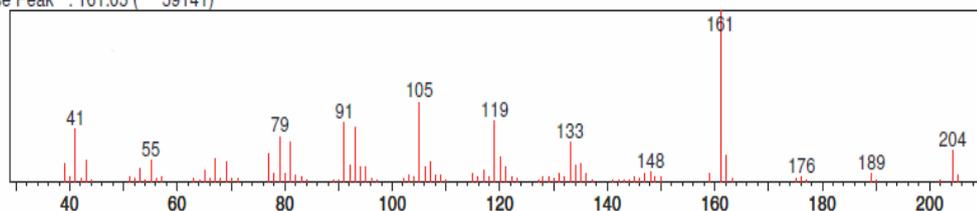
<Hit List>



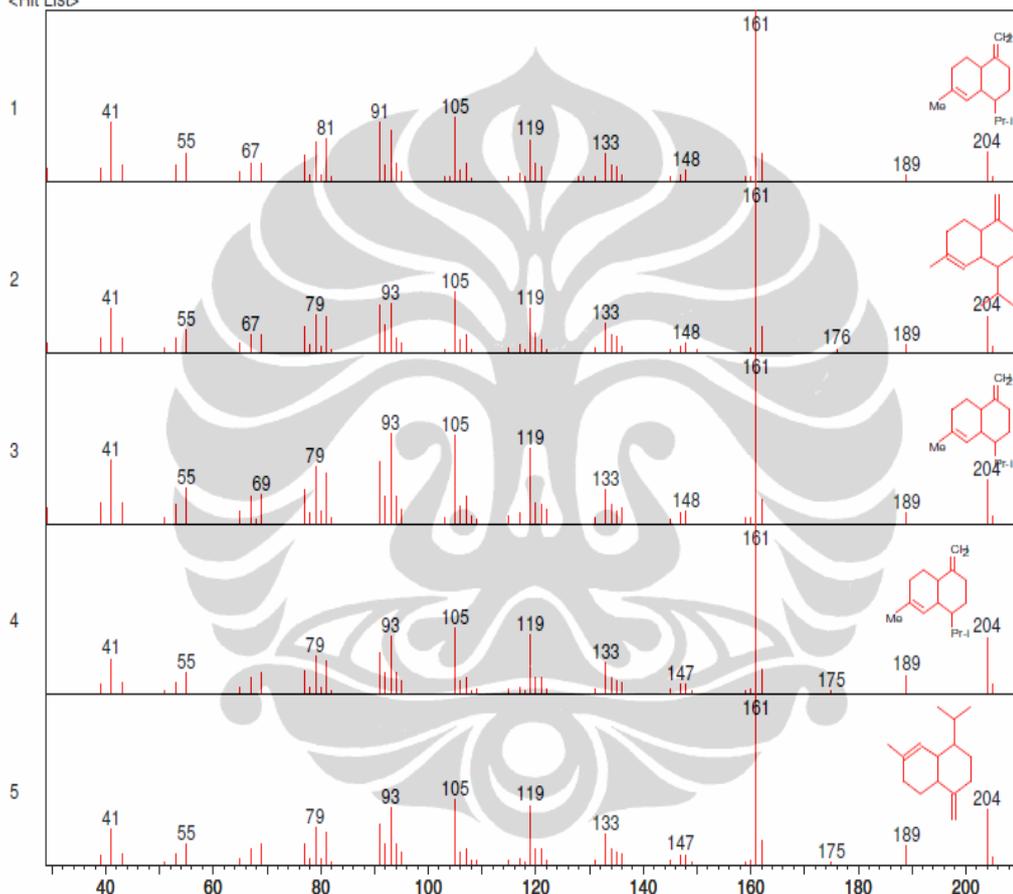
No	SI	Mol.Wgt.	Mol.Form./Compound Name	CAS No.	Entry	LIB#
1	91	204	C ₁₅ H ₂₄ .beta.-Patchoulene	514-51-2	70902	2
2	91	204	C ₁₅ H ₂₄ 4,7-Methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4,9,9-tetrameth	514-51-2	23972	1
3	90	204	C ₁₅ H ₂₄ 1S-(1.alpha.,4.alpha.)-4,7-Methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, 1S-(1.alpha.,4.alpha.)	489-40-7	71029	2
4	90	204	C ₁₅ H ₂₄ .alpha.-Gurjunene	489-40-7	71031	2
5	90	204	C ₁₅ H ₂₄ .alpha.-Gurjunene	489-40-7	71027	2

Library Name
 (1) NIST62.LIB (2) WILEY229.LIB (3) PESTICD.LIB

<Unknown Spectrum>
 Data : 4_10_11.D02
 Mass Peak # : 90 Ret. Time : 12.583
 Scan # : 1510
 Base Peak : 161.05 (59141)



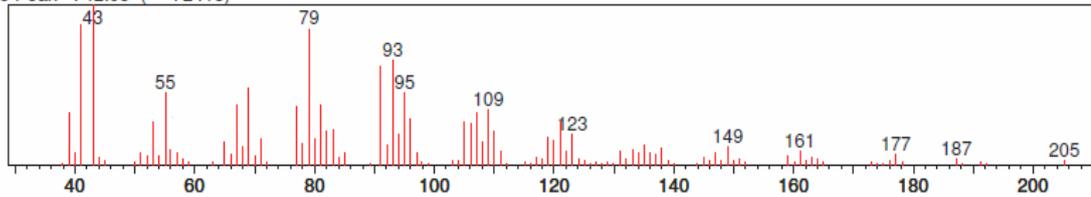
<Hit List>



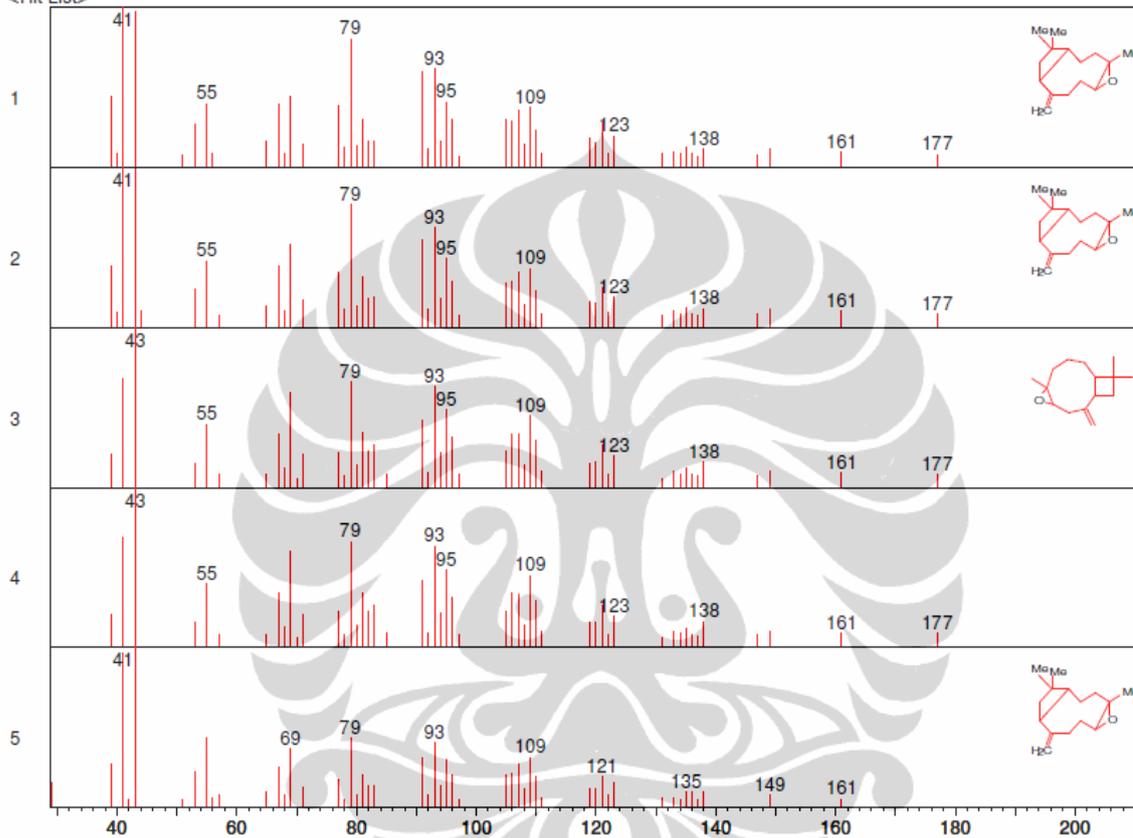
No	SI	Mol.Wgt.	Mol.Form./Compound Name	CAS No.	Entry	LIB#
1	95	204	C ₁₅ H ₂₄ .gamma.-Cadinene	39029-41-9	70920	2
2	94	204	C ₁₅ H ₂₄ Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1S,2S,3S,4S,4aS,5S,6S,8aS)-	39029-41-9	23957	1
3	93	204	C ₁₅ H ₂₄ Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1S,2S,3S,4S,4aS,5S,6S,8aS)-	30021-74-0	70972	2
4	93	204	C ₁₅ H ₂₄ Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1S,2S,3S,4S,4aS,5S,6S,8aS)-	30021-74-0	70973	2
5	93	204	C ₁₅ H ₂₄ Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1S,2S,3S,4S,4aS,5S,6S,8aS)-	30021-74-0	23933	1

Library Name
 (1) NIST62.LIB (2) WILEY229.LIB (3) PESTICID.LIB

<Unknown Spectrum>
 Data : 4_10_11.D02
 Mass Peak # : 108 Ret. Time : 13.992
 Scan # : 1679
 Base Peak : 42.95 (72415)



<Hit List>



No	SI	Mol.Wgt.	Mol.Form./Compound Name	CAS No.	Entry	LIB#
1	97	220	C ₁₅ H ₂₄ O CARYOPHYLLENE OXIDE \$\$	1139-30-6	84666	2
2	96	220	C ₁₅ H ₂₄ O CARYOPHYLLENE OXIDE \$\$	1139-30-6	84663	2
3	94	220	C ₁₅ H ₂₄ O Caryophyllene oxide \$\$ 5-Oxatricyclo 8.2.0.0(4,6)- dodecane, 4,12,12-trimethyl-9-meth	1139-30-6	27701	1
4	94	220	C ₁₅ H ₂₄ O CARYOPHYLLENE OXIDE \$\$	- -0	84764	2
5	91	220	C ₁₅ H ₂₄ O (-)-Caryophyllene oxide \$\$ (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-9-me	1139-30-6	84617	2

Library Name

(1) NIST62.LIB (2) WILEY229.LIB (3) PESTICD.LIB