



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**STUDI KIMIA DAN FARMAKOLOGI: TUMBUHAN OBAT  
INDONESIA, KAYU LAWANG, (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.)**

**TESIS**

**YATRI HAPSARI  
0806422025**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA  
DEPOK  
JUNI 2010**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**STUDI KIMIA DAN FARMAKOLOGI: TUMBUHAN OBAT  
INDONESIA, KAYU LAWANG, (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.)**

**TESIS**

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

**YATRI HAPSARI  
0806422025**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA  
DEPOK  
JULI 2010**

**HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS**

ii

**Universitas Indonesia**

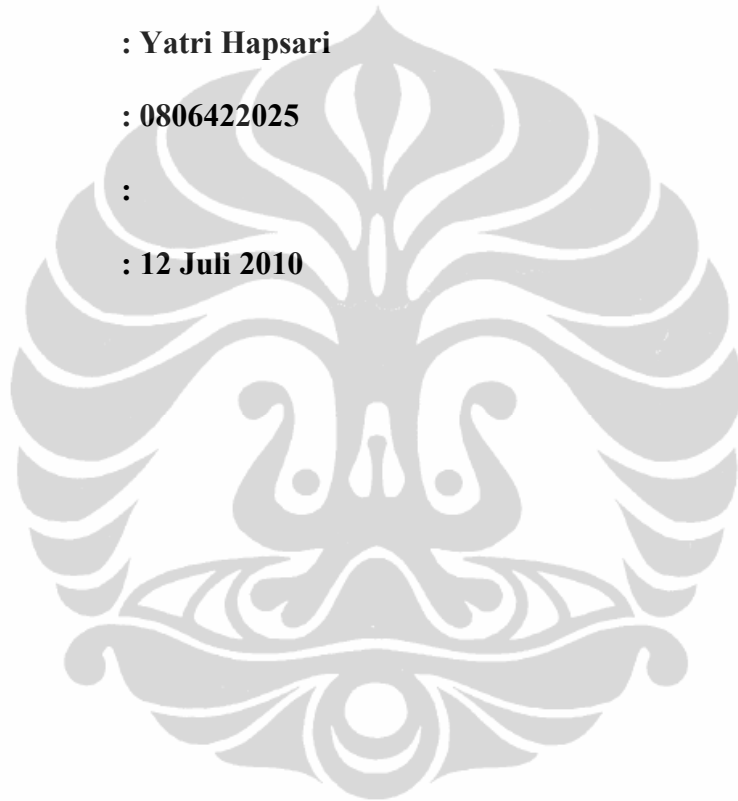
**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar**

**Nama : Yatri Hapsari**

**NPM : 0806422025**

**Tanda tangan :**

**Tanggal : 12 Juli 2010**



## **HALAMAN PENGESAHAN**

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Yatri Hapsari  
NPM : 0806422025  
Program studi : Kimia  
Judul Tesis : Studi Kimia dan Farmakologi: Tumbuhan Obat Indonesia,  
Kayu Lawang, (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.)

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

#### DEWAN PENGUJI

Pembimbing 1 : Dr.Ir. Herry Antonius Cahyana (.....)

Pembimbing 2 : Dr. Partomuan Simanjuntak, M.Sc (.....)

Penguji 1 : Prof.Dr. Sholeh Kosela, M.Sc (.....)

Penguji 2 : Dr. Emil Budianto (.....)

Penguji 3 : Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso (.....)

Penguji 4 : Dr. Endang Saepudin (.....)

Ditetapkan di :  
Tanggal :

#### KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena berkat rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan thesis ini. Penulisan tesis dengan judul “ Studi Kimia dan Farmakologi: Tumbuhan Obat Indonesia, Kayu Lawang (*Cinnamomum culilaban*,(L.) Presl.)” dilakukan sebagai syarat untuk mencapai gelar Magister Sains bidang kekhususan Kimia Hayati pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Dalam penyusunan tesis ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak baik moril maupun materiil. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga pada Dr.Ir.Herry Antonius Cahyana dan Dr. Partomuan Simanjuntak, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya untuk memberikan arahan, bimbingan dan masukan yang berguna selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

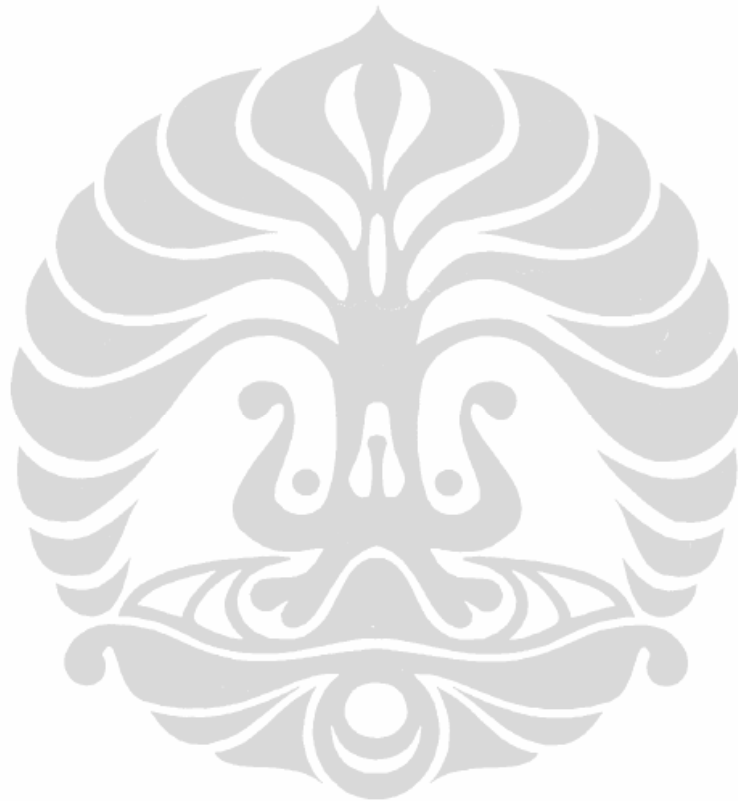
Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan oleh:

1. Dr Endang Saepudin selaku ketua program Pascasarjana Kimia, FMIPA UI
2. Dr.Yuni Krisnandi selaku sekretaris program Pascasarjana Kimia FMIPA UI
3. Keluarga kecilku tercinta, ayah Bima Dharmaputra, abang Kaka dan calon dede, yang menyertai penulis dengan cinta dan kasih. Juga mbak Yuni yang banyak membantu.
4. Keluarga Ciledug, Mama, Papa, Hanif, Tia, JP dan Zidan
5. Keluarga Cimanggis, Mamah, Papah, Ratih, Dino, Aa dan Alif
6. Teman-teman di Lab. Biofarmaka, Mas Bustan, Fauzy, Mas Yadi, Indra dan Eris
7. Sahabat-sahabat perempuan sekaligus teman kerja, Mbak Yoice, Anggia dan Tika.
8. Sahabat kuliah berbagi keluh kesah, Candra ,Mbak Fadilah dan Evi
9. Candy F (Citra, Arika, Novi, Dewi dan Faika), sahabat-sahabat yang selalu di hati.
10. Teman-teman S2 Kimia UI angkatan 2008

Dengan segala kerendahan hati, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan di kemudian hari

Akhir kata, semoga tesis ini bermanfaat bagi penelitian dan ilmu pengetahuan

Penulis, 2010



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

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

Nama : Yatri Hapsari  
NPM : 0806422025  
Program Studi : Magister  
Departemen : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul : Studi Kimia dan Farmakologi: Tumbuhan Obat Indonesia, Kayu Lawang (*Cinnamomum culilaban*,(L.) Presl.)”

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 12 Juli 2010

Yang menyatakan

( Yatri Hapsari )

## ABSTRAK

Nama : Yatri Hapsari  
Program Studi : Magister Ilmu Kimia  
Judul : Studi Kimia dan Farmakologi: Tumbuhan Obat Indonesia, Kayu Lawang  
(*Cinnamomum culilaban*, (L.) Presl.)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas farmakologis dan senyawa kimia yang terkandung pada tanaman obat Indonesia, kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.). Kayu lawang selama ini dimanfaatkan oleh masyarakat setempat sebagai obat tradisional dan masih sedikit penelitian ilmiah yang mempelajari tanaman ini. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan maserasi bertahap dengan *n*-heksan, etil asetat, metanol dan air. Keempat ekstrak dilakukan penapisan fitokimia, uji antimikroba, uji antioksidan dan uji toksisitas. Ekstrak etil asetat yang paling tinggi aktivitas toksisitas dan antioksidannya, difraksinasi dengan kromatografi kolom lalu fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom diuji aktivitas antioksidannya. Didapat dua fraksi yang aktivitas antioksidannya tinggi dan diidentifikasi senyawa kimianya dengan KG-SM dan RMI adalah eugenol dan 4-hidroksi-2-metoksi sinamaldehyd.

Kata kunci : *Cinnamomum culilaban* (L.) Presl., antimikroba, antioksidan, toksisitas,

xii + 66 halaman: 12 gambar; 16 tabel  
Daftar pustaka : 28 (1982-2010)

## ABSTRACT



Name : Yatri Hapsari  
Program study: Master of Science  
Title : Chemical and Pharmacological Studies: Indonesian Medicinal Plants,  
Kayu Lawang (*Cinnamomum culilaban*,(L.) Presl.)

The aim of this study is to study pharmacological activities and chemical compounds of Indonesian medicinal plants, kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.). Kayu lawang has been used by local people as traditional medicine and only a few scientific research studied this plant. In this study kayu lawang was extracted using *n*-hexane, ethyl acetate, methanol and water as solvents. All extracts were subjected to phytochemical screening, antimicrobial, antioxidant and toxicity assays. Ethyl acetate extract that showed the highest activity compared to the other extracts, were then fractionated using column chromatography and antioxidant assay was conducted on fractions of these extracts. Two fractions were found to have high antioxidant activity and were identified as being eugenol and 4-hidroxy-2-methoxy cinnamaldehyde using GC-MS and NMR

Key words : *Cinnamomum culilaban* (L.) Presl., antimicrobe, antioxidant, toxicity

Xiii + 66 pages: 12 pictures; 16 tables  
Bibliography : 19 (1982-2010)

## DAFTAR ISI

|  |          |
|--|----------|
| HALAMAN JUDUL.....   | ii       |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....                       | iii      |
| LEMBAR PENGESAHAN.....                                     | iv       |
| KATA PENGANTAR.....  | v        |
| LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....             | vii      |
| ABSTRAK.....   | viii     |
| DAFTAR ISI.....  | x        |
| DAFTAR GAMBAR.....   | xii      |
| DAFTAR TABEL.....  | xiii     |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                                       | xiv      |
| <br>   |          |
| <b>1. PENDAHULUAN.....</b>                                 | <b>1</b> |
| 1.1 Latar Belakang.....                                    | 1        |
| 1.2 Perumusan Masalah.....                                 | 2        |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....                                 | 2        |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....                                | 2        |
| <br>   |          |
| <b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                            | <b>3</b> |
| 2.1 Tinjauan Botani Kayu Lawang.....                       | 3        |
| 2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....                             | 3        |
| 2.1.2 Penyebaran dan Ekologi.....                          | 3        |
| 2.1.3 Khasiat dan Kegunaan.....                            | 3        |
| 2.2 Ekstraksi.....   | 4        |
| 2.3 Penapisan Fitokimia.....                               | 5        |
| 2.4 Uji Aktivitas Antimikroba.....                         | 6        |
| 2.4.1 Antimikroba.....                                     | 6        |
| 2.4.2 Kloramfenikol.....                                   | 7        |
| 2.4.3 Nistatin.....  | 7        |
| 2.4.4 Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....                | 8        |
| 2.4.5 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....           | 9        |
| 2.4.6 Khamir <i>Candida albicans</i> .....                 | 10       |
| 2.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....                         | 11       |
| 2.5.1 Antioksidan.....                                     | 11       |
| 2.5.2 DPPH ( <i>1,1 - diphenyl-2-picrylhydrazyl</i> )..... | 13       |
| 2.6 Uji Toksisitas.....                                    | 14       |
| 2.7 Kromatografi.....                                      | 15       |
| 2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis.....                        | 16       |
| 2.7.2 Kromatografi Kolom.....                              | 18       |
| 2.7.3 Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM).....     | 18       |
| 2.7.4 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti.....            | 19       |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>  | <b>22</b> |
| 3.1 Bahan.....  | 22        |
| 3.2 Alat.....   | 22        |
| 3.3 Cara Kerja.....   | 22        |
| 3.3.1 Determinasi Tanaman.....  | 22        |
| 3.3.2 Ekstraksi dengan Maserasi Secara Bertahap.....  | 22        |
| 3.3.3 Penapisan fitokimia.....  | 23        |
| 3.3.4 Uji Aktivitas Antimikroba dengan Metode Difusi Cakram.....                              | 24        |
| 3.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....  | 26        |
| 3.3.6 Uji Toksisitas.....   | 26        |
| 3.3.7 Kromatografi Lapis Tipis.....   | 27        |
| 3.3.8 Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom Ekstrak Terpilih.....                              | 28        |
| 3.3.9 Uji Antioksidan dari Kromatografi Kolom.....  | 28        |
| 3.3.10 Identifikasi Senyawa.....  | 28        |
| 3.3.10.1 Fraksi 3 dengan RMI.....   | 28        |
| 3.3.10.2 Fraksi 8 dengan KG-SM.....   | 29        |
| <b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>   | <b>30</b> |
| 4.1 Determinasi Tanaman.....  | 30        |
| 4.2 Ekstraksi dengan Maserasi Secara Bertahap.....  | 30        |
| 4.3 Penapisan Fitokimia.....  | 31        |
| 4.4 Uji Aktivitas Antimikroba dengan Metode Difusi Cakram.....                                | 31        |
| 4.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....  | 33        |
| 4.6 Uji Toksisitas.....   | 33        |
| 4.7 Kromatografi Lapis Tipis.....   | 35        |
| 4.8 Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom Ekstrak Etil Asetat<br>sebagai Ekstrak Terpilih..... | 35        |
| 4.9 Uji Antioksidan Fraksi dari Kromatografi Kolom.....                                       | 37        |
| 4.10 Identifikasi Senyawa Fraksi 3.....   | 37        |
| 4.11 Identifikasi Senyawa Fraksi 8.....   | 40        |
| <b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>   | <b>43</b> |
| <b>DAFTAR REFERENSI.....</b>  | <b>44</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Gambar 2.1 | Kulit kayu lawang.....                  | 3  |
| Gambar 2.2 | Bakteri <i>E.coli</i> .....             | 8  |
| Gambar 2.3 | Bakteri <i>S.aureus</i> .....           | 9  |
| Gambar 2.4 | Khamir <i>C.albicans</i> .....          | 11 |
| Gambar 2.5 | Struktur kimia DPPH.....                | 13 |
| Gambar 2.6 | Kromatografi Lapis Tipis.....           | 17 |
| Gambar 4.1 | Hasil KLT 4 ekstrak.....                | 35 |
| Gambar 4.2 | KLT penggabungan fraksi.....            | 36 |
| Gambar 4.3 | Perkiraan senyawa isolate fraksi 3..... | 40 |
| Gambar 4.4 | Kromatografi hasil KG-MS.....           | 41 |
| Gambar 4.5 | Fragmentasi massa senyawa fraksi 8..... | 41 |
| Gambar 4.6 | Struktur senyawa pada fraksi 8.....     | 41 |



## DAFTAR TABEL

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Tabel 4.1 | Berat dan rendemen hasil maserasi..... | 30 |
|-----------|--|----|

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Tabel 4.2  | Hasil uji penapisan fitokimia.....   | 31 |
| Tabel 4.3  | Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak kulit kayu lawang terhadap bakteri <i>E.coli</i> .....                           | 31 |
| Tabel 4.4  | Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak kulit kayu lawang terhadap bakteri <i>S.aureus</i> .....                         | 32 |
| Tabel 4.5  | Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak kulit kayu lawang terhadap kapang <i>C.albicans</i> .....                        | 32 |
| Tabel 4.6  | Hasil uji aktivitas antioksidan (konsentrasi masing-masing ekstrak (100 ppm).....  | 33 |
| Tabel 4.7  | Hasil uji toksisitas ekstrak n-heksan.....   | 33 |
| Tabel 4.8  | Hasil uji toksisitas ekstrak etil asetat.....  | 34 |
| Tabel 4.9  | Hasil uji toksisitas ekstrak metanol.....  | 34 |
| Tabel 4.10 | Hasil uji toksisitas ekstrak air.....  | 34 |
| Tabel 4.11 | Hasil akhir penggabungan fraksinasi ekstrak etil asetat dengan kromatografi kolom.....                                   | 36 |
| Tabel 4.12 | Aktivitas Antioksidan Fraksi Hasil Kromatografi Kolom dengan Konsentrasi 100 ppm.....                                    | 37 |
| Tabel 4.13 | Korelasi proton dengan karbon HMQC isolat senyawa fraksi 3.....  | 38 |
| Tabel 4.14 | Korelasi proton dengan proton COSY isolat senyawa fraksi 3.....  | 39 |
| Tabel 4.15 | Perbandingan pergeseran kimia proton senyawa isolat fraksi 3 dengan hasil NMR proton Eugenol ( <i>Chem Office</i> )..... | 39 |
| Tabel 4.16 | Perbandingan pergeseran kimia karbon senyawa isolat fraksi 3 dengan NMR karbon Eugenol ( <i>Chem Office</i> ).....       | 40 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| Lampiran 1. | Hasil determinasi tumbuhan kayu lawang..... | 47 |
|-------------|---|----|

|              |  |    |
|--------------|--|----|
| Lampiran 2.  | Uji toksisitas.....  | 48 |
| Lampiran 3.  | Uji aktivitas antioksidan ekstrak <i>n</i> -heksan, etil asetat,<br>metanol dan air (konsentrasi 100 ppm)..... | 53 |
| Lampiran 4.  | Uji aktivitas antioksidan hasil fraksinasi kolom ekstrak etil asetat..   | 54 |
| Lampiran 5.  | Spektrum RMI Proton isolat senyawa fraksi 3.....   | 55 |
| Lampiran 6.  | Spektrum RMI Proton dengan perbesaran 3,3~ 6,9 ppm.....  | 56 |
| Lampiran 7.  | Spektrum RMI Proton dengan perbesaran 3,3~ 3,9 ppm.....  | 57 |
| Lampiran 8.  | Spektrum RMI Proton dengan perbesaran 5,0~ 5,2 ppm.....  | 58 |
| Lampiran 9.  | Spektrum RMI Proton dengan perbesaran 5,5~ 6,0 ppm.....  | 59 |
| Lampiran 10. | Spektrum RMI Proton dengan perbesaran 6,7~ 6,9 ppm.....  | 60 |
| Lampiran 11. | Spektrum RMI Karbon isolat senyawa fraksi 3.....   | 61 |
| Lampiran 12. | Spektrum RMI Karbon DEPT isolat senyawa fraksi 3.....  | 62 |
| Lampiran 13. | Spektrum RMI Karbon DEPT dengan perbesaran 111~147 ppm...  | 63 |
| Lampiran 14. | Spektrum RMI 2 dimensi HMQC isolat senyawa fraksi 3.....   | 64 |
| Lampiran 15. | Spektrum RMI 2 dimensi HMQC dengan perbesaran 3,2~4,1 ppm..  | 65 |
| Lampiran 16. | Spektrum RMI 2 dimensi HMQC dengan perbesaran 4,9~7,0 ppm.   | 66 |
| Lampiran 17. | Spektrum RMI 2 Dimensi <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY isolat senyawa fraksi 3....                         | 67 |
| Lampiran 18. | Spektrum RMI 2 Dimensi <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY dengan<br>perbesaran 3,2~6,0 ppm.....               | 68 |
| Lampiran 19. | Spektrum RMI 2 Dimensi <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY<br>dengan perbesaran 5,0~,6,9 ppm.....              | 69 |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang sangat beraneka ragam, menempati urutan kedua dunia setelah Brazil. Sekitar 30.000 jenis tumbuhan obat dimiliki oleh Indonesia. Dengan biodiversitasnya, Indonesia mempunyai potensi yang besar dalam mengembangkan produk herbal sebagai alternatif pengobatan modern. Namun, sumber daya alam ini belum dimanfaatkan secara optimal bagi kepentingan masyarakat. Baru sekitar 1200 spesies tanaman obat yang dimanfaatkan dan diteliti sebagai obat. Masih banyak tanaman obat yang belum diteliti dan diuji secara ilmiah. (Hembing, 2007)

Dari sekian banyak tanaman obat yang ada, kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* L.(Presl.)) termasuk tanaman yang menarik untuk diteliti lebih lanjut. Kayu lawang merupakan tanaman langka yang harus dilindungi, jenis tumbuhan yang selama ini sudah dimanfaatkan masyarakat lokal Papua sebagai obat tradisional. Bagian yang dimanfaatkan adalah kulit yang diekstraksi untuk menghasilkan minyak. Pada masyarakat lokal Papua minyak kayu lawang biasa digunakan untuk sakit tulang dan obat kuat (mengembalikan stamina), sementara itu pada masyarakat Tandia di Wasiora, kabupaten Wondama dengan cara membakar bagian kulitnya untuk dijadikan sebagai minyak gosok (Worabai, 2001). Namun sejauh ini informasi ilmiah mengenai kandungan aktif yang berpotensi sebagai obat yang terkandung di dalam tanaman kayu lawang masih sangat kurang.

Triantoro & Susanti (2007) melaporkan bahwa ekstrak etanol bagian kayu tanaman kayu lawang mengandung safrol dan eugenol. Sedangkan Chericoni *et al* (2005) melaporkan bahwa eugenol dalam *Cinnamomum zeylanicum* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik. Ali *et al* (2005) juga melaporkan bahwa senyawa eugenol dan sinamaldehyd memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, kayu lawang diharapkan memiliki aktivitas farmakologis yang baik pula.

Universitas Indonesia

Dalam penelitian ini digunakan kulit kayu lawang yang diambil dari Ambon, lalu dilakukan maserasi bertahap dengan 4 jenis pelarut. Dilakukan penapisan fitokimia, uji antioksidan, antimikroba dan toksisitas dari 4 jenis ekstrak. Hasil dari uji farmakologis tersebut, dipilih ekstrak yang paling baik hasilnya, kemudian dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom dan identifikasi senyawa dengan Kromatografi Gas Spektroskopi Massa dan Resonansi Magnetik Inti.

### **1.2 Perumusan Masalah**

Apakah ekstrak kulit kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* L.(Presl.)) memiliki aktivitas farmakologis dan senyawa kimia apa yang terkandung dalam ekstrak dengan aktivitas farmakologis yang paling baik?

### **1.3 Hipotesis**

Ekstrak kulit kayu lawang (*C. culilaban* L. (Presl.)) memiliki aktivitas farmakologis dan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak dengan aktivitas farmakologis yang paling baik.

### **1.4 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui aktivitas farmakologis dari ekstrak kulit kayu lawang (*C. culilaban* L. (Presl.)) dan senyawa kimia dalam ekstrak dengan aktivitas farmakologis paling baik

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas farmakologis dan senyawa kimia dari ekstrak kulit kayu lawang



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan Botani Kayu Lawang



Gambar 2.1 Kulit kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.)

##### 2.1.1. Klasifikasi Tanaman

|            |  |
|------------|--|
| Divisi     | : Spermatophyta  |
| Sub Divisi | : Angiospermae   |
| Kelas      | : Dicotyledonae  |
| Sub kelas  | : Dialypetalae   |
| Bangsa     | : Ranales  |
| Suku       | : Lauraceae  |
| Marga      | : Cinnamomum   |
| Jenis      | : <i>Cinnamomum culilaban</i> (L.) Presl.(Hayne, 1987) |

##### 2.1.2 Penyebaran dan Ekologi

Pohon tumbuh secara liar di hutan dengan batang yang tinggi dan lurus, terdapat di Ambon, Maluku dan Papua. Di Jawa tumbuh sampai 2450 m di atas permukaan laut (tidak banyak) dalam jurang dan hutan.

##### 2.1.3 Khasiat dan Kegunaan

Bagian seluruhnya untuk tonikum pada wanita hamil, seduhan obat dalam pada reumatik. Kulit dan minyaknya untuk obat kolera.

## 2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk memisahkan komponen utama dari zat pengotor sehingga diperoleh larutan yang lebih murni. Dasar terjadinya pemisahan antara suatu zat dengan zat yang lain pada proses ekstraksi, adalah adanya perbedaan kelarutan zat dalam suatu pelarut. Semakin besar perbedaan kelarutan suatu zat, maka kelarutan suatu zat akan semakin sempurna proses pemisahannya.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode dingin dan metode panas (Depkes RI, 2000). Metode dingin dapat dilakukan dengan cara maserasi dan perkolasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang (kamar). Biasanya digunakan untuk mengekstraksi simplisia yang bahan aktifnya mudah larut dalam cairan pelarut, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam pelarut dan tidak tahan panas. Keuntungan cara ini adalah cara pengerjaannya dan peralatan yang digunakan sederhana serta mudah didapat, sedangkan kerugiannya yaitu proses pengerjaannya lama dan proses ekstraksinya kurang sempurna.

Harborne (1987) menyatakan bahwa untuk memperoleh ekstrak yang mengandung senyawa nonpolar, dapat digunakan senyawa yang sifatnya nonpolar seperti n-heksan dan etil asetat. Senyawa yang diperoleh berupa steroid, lemak dan minyak atsiri. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Namun demikian, senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung basa atau asam. Kelebihan dari pelarut ini adalah spesifik untuk senyawa nonpolar. Pada umumnya pelarut nonpolar merupakan pelarut organik yang harganya relatif mahal. Sementara senyawa polar dapat diperoleh dengan menggunakan pelarut air, senyawa yang dapat ditarik berupa glikosida, saponin dan tanin. Senyawa yang diperoleh menjadi lebih spesifik karena dilakukan partisi atau pemisahan dari ekstrak yang lebih kompleks.

Di dalam Farmakope Indonesia Edisi IV tahun 1995 disebutkan, bahwa ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

Proses pembuatan ekstrak menurut Depkes RI tahun 2000, terdiri atas:

1. Pembuatan serbuk simplisia dan klasifikasinya. Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu.
2. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah dipilih pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif dengan demikian senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak yang hanya mengandung sebagian senyawa kandungan yang diinginkan.
3. Separasi dan pemurnian. Tujuan dari tahapan ini adalah menghilangkan (memisahkan) senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni.
4. Pemekatan/penguapan (vaporasi dan evaporasi). Pemekatan berarti peningkatan jumlah partikel solut (senyawa terlarut) melalui penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering, ekstrak hanya menjadi kental/ pekat.
5. Pengeringan ekstrak. Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk. Masa kering-rapuh, tergantung dari proses dan peralatan yang digunakan.
6. Rendemen, adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

### **2.3 Penapisan Fitokimia**

Penapisan fitokimia merupakan uji kimia kualitatif yang dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terdapat pada suatu simplisia atau ekstrak, khususnya senyawa metabolit sekunder dengan

menggunakan pereaksi spesifik untuk setiap golongan senyawa yang diuji. Uji fitokimia didasarkan pada identifikasi warna dan endapan yang terbentuk karena terjadinya reaksi antara senyawa dalam sampel dengan pereaksi spesifiknya

## 2.4 Uji aktivitas antimikroba

### 2.4.1 Antimikroba

Senyawa antimikroba adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan dapat pula digunakan untuk pengobatan infeksi pada manusia, hewan dan tumbuhan. Antimikroba meliputi antibakteri, antiprotozoa, antifungal, dan antivirus. Antibakteri merupakan antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan bahkan membunuh bakteri (Setyaningsih, 2004).

Mekanisme kerja antibakteri bila dilihat dari dasar antibiotik dapat dibagi menjadi dua, yaitu bersifat bakterisidal yakni antibakteri yang mampu membunuh bakteri dan bersifat bakteriostatik yakni antibakteri yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Unandar, 1996). Dalam konsentrasi tinggi bakteriostatik dapat bertindak sebagai bakterisidal. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM).

Metabolit sekunder yang dihasilkan suatu mikroorganisme tertentu yang dalam jumlah yang amat kecil bersifat merusak atau menghambat mikroorganisme lain disebut dengan antibiotik. Dengan kata lain, antibiotik merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang menghambat mikroorganisme lain. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotika dibagi dalam lima kelompok:

1. Kelompok yang mengganggu metabolisme sel mikroba, contoh: Sulfonamida, Rifampisin, Isoniazid, dan lain lain.
2. Kelompok yang menghambat sintesis dinding sel mikroba, contoh: Penisilin, Sefalosporin, Vankomisin, dan lain lain.
3. Kelompok yang mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, contoh: Polimiksin, Nistatin, Amfotesirin, dan lain lain.
4. Kelompok yang menghambat sintesis protein sel mikroba, contoh: Tetrasiklin, Kloramfenikol, Eritromisin, dan lain lain.

5. Kelompok yang menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba, contoh: Rifampisin .

#### 2.4.2 Kloramfenikol

Kloramfenikol semula diperoleh dari jenis *Streptomyces* pada tahun 1947 tetapi kemudian dibuat secara sintesis. Antibiotik *broadpectrum* ini berkhasiat terhadap hampir semua bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif, juga terhadap *spirochaeta*, *Chlamydia trachomatis* dan *Mycoplasma*. Tidak aktif terhadap kebanyakan suku *Pseudomonas*, *Proteus*, dan *Enterobacter*. Khasiatnya bersifat bakterostatik terhadap *Enterobacter* dan *Staphilococcus aureus* berdasarkan penghambatan sintesis polipeptida bakteri. Kloramfenikol bekerja bakterisida terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Neissercheria meningitides*, dan *H. influenzae*.

Mikroorganisme yang resisten terhadap kloramfenikol menghasilkan enzim kloramfenikol asetiltransferase, yang dapat menghancurkan aktivitas obat. Pembentukan enzim ini biasanya dikendalikan oleh plasmid. Kristal kloramfenikol merupakan senyawa stabil yang dengan cepat diserap oleh dinding saluran pencernaan dan disebarkan ke jaringan serta cairan tubuh, termasuk susunan saraf pusat dan cairan serebrospinal, obat ini dapat menembus ke dalam sel dengan baik.

#### 2.4.3 Nistatin

Merupakan golongan obat antijamur jenis poliena untuk mengobati infeksi khamir dan cendawan termasuk penyakit kandidiasis yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Nistatin aman untuk digunakan secara oral dan topikal .Seperti obat antijamur dan antibiotik lainnya, nistatin berasal dari bakteri. Senyawa ini diisolasi dari *Streptomyces noursei*.

Nistatin bekerja dengan mengikat ergosterol, komponen utama membran sel jamur. Dalam jumlah mencukupi, nistatin akan membentuk pori-pori pada membran yang menyebabkan berkurangnya  $K^+$  dan matinya jamur. Ergosterol merupakan senyawa unik yang terdapat pada jamur, jadi tidak ada efek buruk bagi hewan.

#### 2.4.4 Bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah jenis bakteri yang berasal dari famili *Enterobacteriaceae*, pertama kali ditemukan dalam kolon manusia pada tahun 1885 oleh Ahli Ilmu Bakteri berkebangsaan Jerman yaitu Dr. Theodor Escherich (Foodborne Illness, 2003). Merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang lurus kecil, berukuran panjang 1,0 – 6,0 mm dan lebar 1,1 – 1,5 mm, tunggal atau berpasangan. Bakteri ini menjadi patogen apabila mereka mencapai paru-paru, otak, ginjal, dan mengeluarkan endotoksin. *E.coli* menyebabkan infeksi saluran kemih, radang selaput otak (meningitis) dan beberapa strain dari bakteri ini dapat menghasilkan endotoksin yang mengakibatkan diare pada anak-anak.

Nilai pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 7,0 – 7,5, kisaran suhu pertumbuhannya 10 – 40°C dengan suhu optimumnya 37°C. Bakteri ini relatif sangat sensitif terhadap panas dan dapat diinaktifkan pada suhu pasteurasi makanan atau selama pemasakan makanan (Fardiaz, 1983). Pada kondisi yang menguntungkan sel-sel *E.coli* dapat memperbanyak diri dengan waktu penggandaan hanya selama 20 menit (Schlegel, 1994). Bakteri *E.coli* merupakan bakteri yang hidup dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas (Harold, 1978) oleh karena itu *E.coli* hanya dan selalu ada dalam tinja (Imanudin *et al.* 1999).

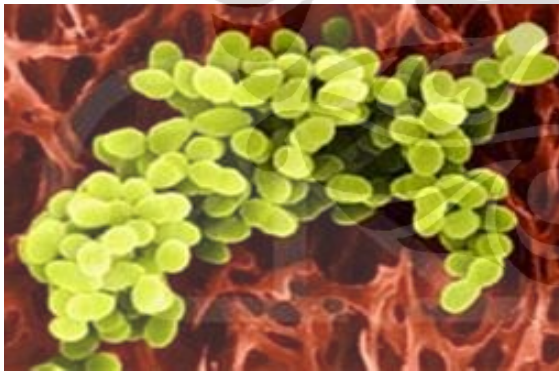


Gambar 2.2 Bakteri *Escherichia coli*  
([www.kimicontrol.com](http://www.kimicontrol.com))

*E. coli* banyak digunakan dalam teknologi rekayasa genetika. Biasa digunakan sebagai vektor untuk menyisipkan gen-gen tertentu yang diinginkan untuk dikembangkan. *E. coli* dipilih karena pertumbuhannya sangat cepat dan mudah dalam penanganannya.

#### 2.4.5 Bakteri *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* menurut Bergey dalam Capuccino (1998), dalam klasifikasinya termasuk ke dalam famili *Staphylococcaceae*, merupakan bakteri Gram-positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul (Boyd, 1980), berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur (Todar, 2002) sebagaimana terlihat pada Gambar 3. Ukuran *S.aureus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *S.aureus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Boyd, 1980).



Gambar 2. 3 Bakteri *S. aureus* dengan *Scan Electron Microscopy* ([www.kimicontrol.com](http://www.kimicontrol.com))

*S.aureus* adalah bakteri aerob dan anaerob, fakultatif yang mampu memfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, hyalurodinase, fosfatase, protease dan lipase. *S. aureus* mengandung lysostaphin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *S.aureus* adalah haemolysin  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , dan  $\epsilon$ . Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. Suhu optimum untuk pertumbuhan *S.aureus* adalah 35° – 37° C

dengan suhu minimum 6,7° C dan suhu maksimum 45,4° C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,8 dengan pH optimum 7,0 – 7,5. Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komposisi yang baik untuk pertumbuhannya. Bakteri ini membutuhkan asam nikotinat untuk tumbuh dan akan distimulir pertumbuhannya dengan adanya tiamin. Pada keadaan anaerob, bakteri ini juga membutuhkan urasil. Untuk pertumbuhan optimum diperlukan sebelas asam amino, yaitu valin, leusin, treonin, fenilalanin, tirosin, sistein, metionin, lisin, prolin, histidin dan arginin. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein. (Supardi & Sukamto, 1999).

Selain memproduksi koagulase, *S.aureus* juga dapat memproduksi berbagai toksin, di antaranya :

1. Eksotoksin-a yang sangat beracun
2. Eksotoksin-b yang terdiri dari hemosilin, yaitu suatu komponen yang dapat menyebabkan lisis pada sel darah merah.
3. Toksin F dan S, yang merupakan protein eksoseluler dan bersifat leukistik.
4. Hialuronidase, yaitu suatu enzim yang dapat memecah asam hyaluronat di dalam tenunan sehingga mempermudah penyebaran bakteri ke seluruh tubuh.
5. Grup enterotoksin yang terdiri dari protein sederhana. (Supardi & Sukamto, 1999).

*S.aureus* hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan-hewan seperti hidung, mulut dan tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *S.aureus* juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan. (Supardi & Sukamto, 1999)

#### **2.4.6 Khamir *Candida albicans***

*C.albicans* termasuk khamir dalam kelas Ascomycetes karena membentuk askospora. *C.albicans* menimbulkan keadaan yang disebut kandidiasis, yaitu penyakit pada selaput lendir mulut, vagina dan saluran pencernaan. Infeksi yang



lebih gawat dapat menyerang jantung (endokarditis), darah (septisemia) dan otak (meningitis). Organisme ini dapat hidup sebagai saprofit pada selaput-selaput lendir tersebut di atas pada kebanyakan orang tanpa menyebabkan penyakit. Namun demikian, apabila inangnya menjadi lemah karena suatu penyakit, seperti misalnya pneumonia atau jika bakteri saingannya tertekan seperti pada pengobatan antibiotik yang berlanjut *C.albicans* dapat menyebabkan infeksi.



Gambar 2.4 *Candida albicans*

<http://www.ourhealth.com.au/2007/07/candida-yeast-infection.html>

## 2.5 Uji aktivitas antioksidan

### 2.5.1 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. (Kumalaningsih, 2006). Menurut Kumulaningsih terdapat tiga macam antioksidan, yaitu:

1. *Antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri berupa enzim*

a. SOD (Superoksida Dismutase)

Antioksidan ini merupakan enzim yang bekerja dalam tubuh menggunakan mineral-mineral, seperti tembaga dan mangan yang bersumber pada kacang-kacangan atau padi-padian. Selain itu, banyak juga tanaman yang dapat menghasilkan SOD antara lain brokoli, bayam, sawi dan juga hasil olahan seperti tempe.

b. Glutathione peroksidase

Adalah enzim yang berperan aktif dalam menghilangkan  $H_2O_2$ , dalam tubuh dan mempergunakannya untuk merubah glutathion (GSH) menjadi glutathion teroksidasi (GSSG). Glutathion sangat penting sekali untuk melindungi selaput-selaput sel. Senyawa ini merupakan triptida yang terdiri dari asam amino glisin, asam glutamat dan sistein.

c. Katalase

Katalase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis dismutasi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan oksigen. Sel-sel yang mengandung katalase dalam jumlah sedikit sangat rentan terhadap serangan peroksidasi, sehingga katalase berperan penting dalam mekanisme pertahanan sel darah merah terhadap oksidator hidrogen peroksida.

2. *Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan*

a. Vitamin E

Vitamin E tidak larut dalam air tetapi larut dalam lemak atau minyak. Fungsi utama vitamin E adalah sebagai antioksidan di dalam tubuh, dimana vitamin E bertindak sebagai *scavenger* radikal-radikal bebas lipidik membran sel membentuk vitamin E radikal (sedikit reaktif) yang memutus propagasi dari reaksi rantai radikal. Sumber vitamin E adalah minyak nabati, sayur-sayuran dan buah-buahan (Muchtadi, 2000).

b. Vitamin C

Vitamin C merupakan antioksidan yang tangguh, dapat membantu menjaga kesehatan sel, meningkatkan penyerapan asupan zat besi, dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh. Di samping berfungsi sebagai antioksidan, vitamin C memiliki fungsi menjaga dan memelihara kesehatan pembuluh-pembuluh kapiler, kesehatan gigi dan gusi. Vitamin C dapat membantu penyerapan zat besi, sehingga produksi nitrosamin sebagai zat pemacu kanker terhambat.

c. Vitamin A

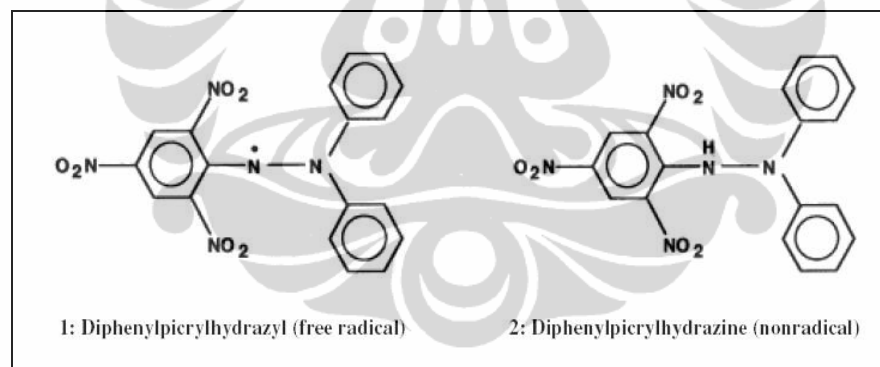
Vitamin A adalah istilah umum untuk suatu kelompok senyawa yang memiliki aktivitas biologi dari retinol dan merupakan zat gizi esensial untuk penglihatan reproduksi, pertumbuhan, diferensiasi epitelium, dan sekresi lendir atau getah. Karoten merupakan suatu zat alamiah sangat penting yang

tidak larut dalam air tetapi larut dalam lemak. Zat ini hanya ditemukan pada tumbuh-tumbuhan, dan tidak diproduksi oleh tubuh manusia. Karoten di dalam tubuh manusia diubah menjadi vitamin A.

3. *Antioksidan sintetik*, yang dibuat dari bahan-bahan kimia yaitu BHA (*buthylated hydroxyanisol*), BHT (*buthylated hydroxytoluene*), dan TBHQ (*tertiary butyl hydroquinone*) yang ditambahkan dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak.

### 2.5.2 DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. DPPH yang menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH.



Gambar 2.5 Struktur kimia DPPH

([www.wikimedia.org](http://www.wikimedia.org))

Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang. Perubahan ini dapat diukur secara stoikiometri sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat antioksidan (Green, 2004; Gurav *et al.*, 2007).

Pada prinsipnya uji aktivitas dengan menggunakan *1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil* (DPPH) adalah mereaksikan antioksidan yang terdapat di dalam sampel tumbuhan sebagai radikal bebas sehingga terjadi perubahan struktur dari *1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil* yang berwarna ungu menjadi *1,1-diphenyl-2-picrilhydrazinyang* berwarna kuning

## 2.6 Uji Toksisitas

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu uji untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa. Uji BSLT merupakan uji pendahuluan dalam pencarian senyawa yang bersifat anti kanker di National Cancer Institute (NCI) Amerika. Hewan uji yang digunakan dalam BSLT adalah benur *Artemia salina* L. Hasil uji BSLT ini selanjutnya dipakai sebagai acuan untuk melakukan uji aktivitas antikanker lebih lanjut (Meyer, 1982).

Prinsip metode BSLT adalah sifat toksik senyawa bioaktif dari tanaman pada dosis tinggi, maka secara sederhana dapat diartikan bahwa efek toksik adalah efek farmakologi pada dosis tinggi, dari pengertian kematian hewan sederhana seperti larva *A.salina* L. secara invitro dapat digunakan sebagai suatu alat monitor yang tepat untuk proses skrining dan fraksinasi pada penelitian bioaktif baru dari sumber alam (Pujiati *et al.* 2002).

Kemampuan bahan aktif untuk membunuh larva udang (*brine shrimp*) *A.salina* L., merupakan salah satu metode yang disarankan oleh Mc Laughin & Ferrigni (1993) dalam studi senyawa antitumor dalam jaringan tanaman, selain pengamatan kemampuan daya inhibisi bahan aktif terhadap pertumbuhan sel tumor pada kentang. Metode ini banyak digunakan untuk uji hayati dalam analisis residu peptisida, anestetika, senyawa turunan morfin, karsinogenitas suatu senyawa, dan polutan pada air laut. Keuntungan metode ini diantaranya adalah cepat, biaya yang digunakan relatif sedikit, sederhana dan tidak memerlukan serum hewan (Meyer, *et al.*1982).

*A.salina* L. adalah sejenis udang kecil yang telurnya banyak tersedia dalam keadaan siap pakai di toko-toko ikan dan memiliki daya tahan hidup selama beberapa tahun dalam keadaan kering, dalam air laut telur tersebut akan menetas dalam waktu 26-48 jam menjadi larva dan disebut naupili yang dapat dipakai

dalam penelitian. Larva udang yang digunakan berumur 48 jam, karena pada umur tersebut larva *A.salina* L. bersifat paling peka sebab dinding sel larva masih lunak, sehingga senyawa asing yang bersifat racun itu akan menyebabkan kematian pada larva udang. Sebagai media penetasan telur *A.salina* L. digunakan air laut dengan bantuan aerator (dengan kekuatan aerator sedang) untuk memenuhi kadar oksigen terlarut. Gelembung udara yang masuk dari aerator juga berfungsi untuk mengaduk telur secara merata sehingga telur tidak mengendap pada dasar wadah, karena jika hal ini terjadi maka telur akan sulit menetas dikarenakan kekurangan oksigen (Purwantini *et al.* 2002).

Toksistasitas senyawa aktif dalam ekstrak tanaman ditentukan berdasarkan nilai *Lethal Concentration* ( $LC_{50}$ ) pada hewan uji *A.salina* L. *Lethal Concentration* atau  $LC_{50}$  merupakan konsentrasi yang mematikan 50% dari populasi hewan uji. Data mortalitas larva *A. salina* terhadap ekstrak selanjutnya diproses melalui program komputer *Probit Analysis Method* untuk memperoleh nilai  $LC_{50}$  dengan selang kepercayaan 95%. Senyawa dengan nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm dikatakan memiliki potensi bioaktivitas. Meyer (1982) menyebutkan tingkat toksistasitas suatu ekstrak mengikuti pedoman sebagai berikut:

|                                       |                 |
|---------------------------------------|-----------------|
| $LC_{50} \leq 30$ ppm                 | = sangat toksik |
| $31 \text{ ppm} < LC_{50} < 1000$ ppm | = toksik        |
| $LC_{50} \geq 1001$ ppm               | = tidak toksik  |

## 2.7 Kromatografi

Metode kromatografi adalah metode pemisahan yang didasarkan atas beda laju migrasi senyawa disebabkan adanya beda afinitas terhadap dua fasa yaitu fasa diam (fasa stasioner) dan fasa gerak (fasa mobil). Dalam pemisahan dengan kromatografi, sampel dibawa dalam fase gerak yang dapat berupa gas, cairan, atau fluida superkritis. Fase gerak ini kemudian dialirkan melalui sebuah fase diam yang tidak saling bercampur yang ditempatkan dalam kolom atau penyangga. Kedua fase dipilih sehingga komponen-komponen sampel terdistribusi diantara fase gerak dan fase diam pada berbagai tingkat. Komponen yang tertahan kuat dalam fase diam mengalir dengan perlahan bersama aliran fase gerak. Sebaliknya,

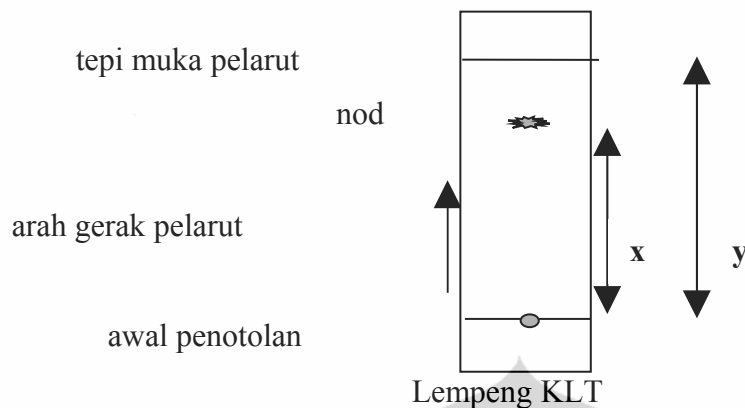
komponen-komponen yang secara lemah ditahan oleh fase diam bergerak dengan cepat. Akibat dari perbedaan mobilitas ini, komponen sampel terpisah menjadi pita-pita yang khas atau daerah, yang dapat dianalisis secara kuantitatif dan atau kualitatif (Skoog et al. 1998). Jadi kromatografi adalah proses pemisahan campuran senyawa melalui distribusi zat terlarut antara dua fase yang berhubungan sesamanya secara arus balik sinambungan

### 2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis dikembangkan oleh Izmailoff dan Schraiber pada tahun 1938. KLT merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan didalamnya, KLT fase diamnya berupa lapisan seragam (uniform) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, lempeng aluminium atau lempeng plastik.

Kromatografi lapis tipis termasuk kromatografi adsorpsi, walaupun sebenarnya mekanisme yang terjadi adalah kombinasi adsorpsi dan partisi. Kromatografis lapis tipis (KLT) adalah suatu metode fisikokimia yang biasa digunakan di laboratorium untuk menetapkan standar mutu ekstrak. Dalam kromatografi adsorpsi, fase diam berupa padatan seperti silika gel atau alumina, sedangkan fase geraknya dapat berupa cairan atau gas. Pemisahan akan terjadi jika salah satu komponen dari campuran diadsorpsi lebih kuat dari komponen yang lainnya. Karena adsorpsi merupakan fenomena permukaan, maka derajat pemisahan dipengaruhi oleh luas permukaan yang ada atau secara tidak langsung dipengaruhi oleh ukuran partikel fase diam (adsorben). Walaupun begitu yang merupakan faktor kunci setiap bentuk kromatografi adalah koefisien distribusi/partisi senyawa antara kedua fase dalam sistem (Sriwoelan, 1991).

Jika pada kromatografi kolom pada umumnya zone dielus sampai keluar dari kolom, maka pada kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis (flat-bed chromatography) zone tidak dielus keluar, pengembangan biasanya dihentikan sebelum tepi muka pelarut menjadi akhir (bed). Dalam hal ini migrasi zone dinyatakan dengan  $R_f$  yang sama dengan  $x/y$  seperti terlihat pada gambar ini.



Gambar 2.6 Kromatografi Lapis Tipis

$$\frac{\text{Jarak dari titik awal ke pusat zone (x)}}{\text{Jarak dari titik awal ke tepi muka pelarut (y)}}$$

Jika harga  $R_f$  adalah 0 untuk senyawa, maka koefisien distribusi/partisinya adalah sangat besar dan senyawa tetap tinggal di fasa diam, tidak bergerak. Jika  $R_f = 1$ , zat terlarut tidak mempunyai afinitas terhadap fasa diam dan akan bergerak dengan tepi muka pelarut. Fasa kromatografi dipilih sedemikian rupa untuk mendapatkan harga antara dari  $R_f$ .

Pemilihan sistem pelarut dan komposisi lapis ditentukan oleh prinsip kromatografi yang akan digunakan. Untuk meneteskan sampel yang akan dipisahkan digunakan suatu micro syringe (penyuntik berukuran mikro). Sampel diteteskan pada salah satu bagian tepi plat kromatografi. Kolom-kolom dalam pelarut dapat diciptakan dengan mengerok lapisan vertikal searah gerakan pelarut. Sifat-sifat umum dari penyerap-penyerap untuk kromatografi lapis tipis adalah mirip dengan sifat-sifat penyerap untuk kromatografi kolom. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada keduanya. Besar partikel yang digunakan adalah 1-25 mikron. Partikel yang butirannya sangat kasar tidak memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu alasan untuk menaikkan hasil pemisahan adalah menggunakan penyerap yang butirannya halus. Sedangkan dalam kolom partikel yang sangat halus akan mengakibatkan aliran pelarut

menjadi lambat, pada lapisan tipis butiran yang halus memberikan aliran pelarut yang lebih cepat.

### 2.7.2 Kromatografi Kolom

Kromatografi cair yang dilakukan di dalam kolom besar merupakan metode kromatografi terbaik untuk pemisahan campuran dalam jumlah besar (lebih dari 1 gram). Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita pada bagian atas kolom penyerap yang berada dalam lubang kaca, tabung logam atau bahkan tabung plastik. Pelarut (fasa gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan oleh gaya berat atau didorong dengan tekanan. Pita senyawa linarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah, dan dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari bawah kolom (Gritter, *et al.* 1991).

Kolom kromatografi biasanya dibuat dengan menuangkan lumpuran atau suspensi fasa diam dalam pelarut yang sesuai ke dalam kolom dan dibiarkan memampat. Selanjutnya permukaan pelarut diturunkan sampai tepat pada bagian atas penyerap, dan cuplikan yang dilarutkan dalam pelarut yang sesuai diletakkan pada bagian atas kolom dan dibiarkan mengalir ke dalam lapisan penyerap atau penyangga. Kemudian fase gerak dimasukkan dan dibiarkan mengalir mengembangkan kromatogram. Pada kondisi yang dipilih dengan baik, linarut yang merupakan komponen campuran, turun berupa pita dengan laju yang berlainan dan dengan demikian dapat dipisahkan.

### 2.7.3 Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa (KG-SM)

Instrumen KG-SM adalah kombinasi antara dua teknik, yaitu kromatografi gas (yang melakukan proses pemisahan senyawa pada suatu sampel) dengan spektrofotometri massa (yang mengidentifikasi berat molekul senyawa yang dikaji). Alat ini dapat digunakan untuk menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif senyawa organik dalam sampel yang dapat menguap. Umumnya digunakan untuk menentukan berat molekul, namun terkadang digunakan juga untuk menentukan senyawa organik yang belum diketahui dalam suatu ekstrak



kasar dengan cara membandingkan spektra senyawa yang belum diketahui dengan spektra referensi yang ada pada library KG-SM

Saat ini KG-SM telah digunakan untuk berbagai analisa seperti kuantitasi polutan dalam air minum atau air limbah serta kuantitasi obat-obatan dan metabolit sekunder lainnya dalam darah dan urin. Instrumen KG-SM dipergunakan juga untuk keperluan farmakologi dan forensik. Prinsip dasar GC adalah kromatografi, yaitu distribusi antara dua fasa dan migrasi diferensial dari komponen-komponen cuplikan dalam kolom kromatografi (Day & Underwood, 1996).

Spektrofotometri massa adalah suatu metode analisis instrumental yang dipakai untuk identifikasi dan penentuan struktur dari komponen sampel dengan cara menunjukkan massa relatif dari molekul komponen dan massa relatif hasil pecahannya.

Penggabungan spektrofotometri dengan kromatografi gas telah memperluas wawasan metode tersebut, sehingga mampu menganalisis matriks sampel yang sulit sekalipun. Tujuan akhir pemakaian metode spektrometri massa dalam analisis instrumental adalah untuk analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap komponen sampel yang diketahui dan tidak diketahui. Asas spektrofotometri massa adalah penembakan molekul dengan elektron yang berkekuatan tertentu dan molekul tersebut akan pecah sesuai dengan aturan dan terjamin keterulangannya serta teramalkan (Beynon, 1960).

#### 2.7.4 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI)

Spektroskopi resonansi magnetik inti (RMI) atau *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) adalah satu cara yang dapat digunakan untuk memperoleh informasi ilmiah dari suatu bahan. RMI digunakan sebagai cara untuk mengetahui struktur senyawa dari suatu bahan alam yang baru diketahui.

Dasar dari spektroskopi RMI adalah absorpsi radiasi elektromagnetik dengan frekuensi radio oleh inti atom. Spektrum dapat diperoleh dari senyawa yang mengandung atom-atom yang intinya mempunyai momen magnet tidak sama dengan nol. Di antara inti-inti atom tersebut adalah proton ( $^1\text{H}$ ), inti fluor ( $^{19}\text{F}$ ), isotop nitrogen, dan banyak yang lain. Inti karbon ( $^{12}\text{C}$ ) yang sangat penting

dalam kimia organik tidak memiliki momen magnet sehingga studi RMI dengan karbon hanya terbatas pada isotop  $^{13}\text{C}$ . Pelarut yang biasa dipakai adalah deuterokloroform ( $\text{CDCl}_3$ ), karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ), dan deuterium oksida ( $\text{D}_2\text{O}$ ).

RMI yang memberikan informasi yang berguna dalam penentuan struktur yaitu RMI 1 dimensi terdiri dari RMI proton ( $^1\text{H}$ ), RMI karbon ( $^{13}\text{C}$ ), DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*). RMI 2 dimensi terdiri dari HMQC (*Hetero Nuclear Multiple Quantum Coherence*),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (*Correlation Spectroscopy*), dan HMBC (*Hetero Multiple Bond Connectivity*)

a. RMI proton

Spektrum RMI proton memberikan informasi tentang keadaan lingkungan kimia proton dalam senyawa (15). Dasar RMI proton adalah inti atom hidrogen mempunyai sifat-sifat magnet, bila suatu senyawa mengandung hidrogen diletakkan dalam bidang magnet yang sangat kuat dan diradiasi menggunakan radiasi elektromagnetik maka inti atom hidrogen dari senyawa tersebut akan menyerap energi melalui suatu proses absorpsi yang dikenal dengan resonansi magnet. Tidak semua proton menyerap energi pada kekuatan medan magnet yang sama, karena proton-proton dilindungi dari medan magnet oleh elektron yang mengelilinginya. Makin besar densitas elektron yang mengelilingi proton maka makin besar medan magnet yang dihasilkan. Densitas elektron dipengaruhi oleh adanya atom yang mempunyai elektronegativitas tinggi (Nur, 1989)

b. RMI Karbon dan DEPT

Spektrum RMI karbon dan DEPT memberikan informasi jenis atom karbon primer ( $-\text{CH}_3$ ), sekunder ( $-\text{CH}_2-$ ), tersier ( $-\text{CH}-$ ), dan kuartener ( $-\text{C}-$ ). DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) merupakan salah satu tipe spektrum RMI karbon yang memberikan informasi jumlah karbon dari  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}$  dan  $\text{C}$  yang diukur berdasarkan sudut pengukuran RMI karbon (Silverstein *et al*, 2005)

c. RMI 2 Dimensi HMQC

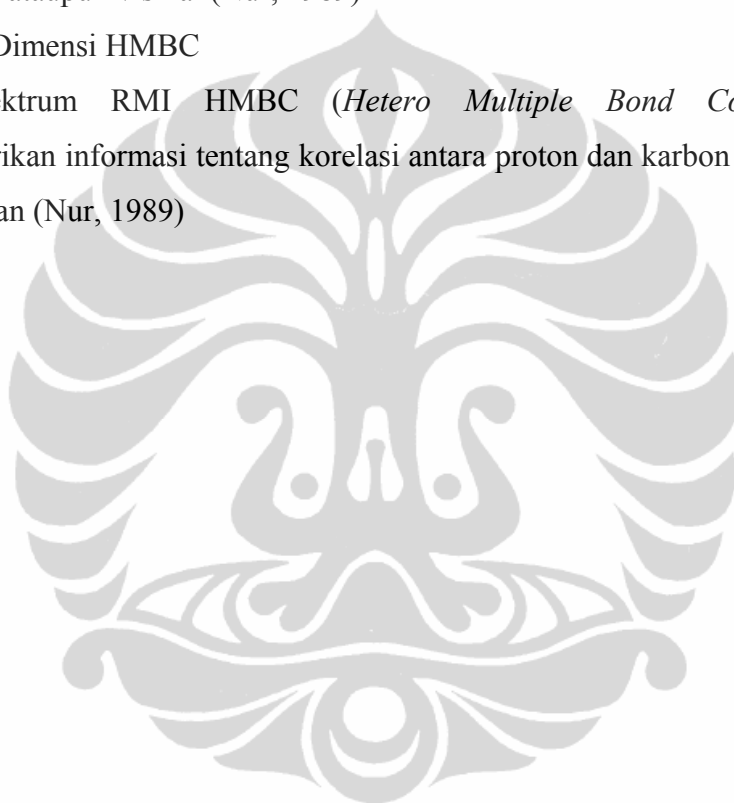
Spektrum RMI HMQC (*Hetero Multiple Quantum Coherence*) memberikan informasi tentang korelasi antara proton dan karbon dalam suatu ikatan (geminal) (Nur, 1989)

d. RMI 2 Dimensi COSY

Spektrum RMI COSY (*Correlation Spectroscopy*) memberikan informasi tentang korelasi antara proton dan proton dapat dalam bentuk geminal ataupun visinal (Nur, 1989)

d. RMI 2 Dimensi HMBC

Spektrum RMI HMBC (*Hetero Multiple Bond Connectivity*) memberikan informasi tentang korelasi antara proton dan karbon dilihat dari 2-3 ikatan (Nur, 1989)



## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Bahan

Kulit kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* L. (Presl.)), metanol, etil asetat, kloroform, *n*-heksan, silika gel 60 (70-230 mesh), *celite* 545, pasir kuarsa, serium sulfat, ammonia 30%, asam klorida 1% & 10%, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, serbuk magnesium, amil alkohol, larutan besi (III) klorida 1%, natrium hidroksida 0,1N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, aquadest.

#### 3.2 Alat

Spektrofotometer UV-VIS, spektrofotometer *Fourier Transform* inframerah, spektrometer NMR, kolom kromatografi, alat refluks, alat rotavapor, lempeng silika gel GF<sub>254</sub>, sonikator, alat inkubasi, alat penyemprot pereaksi, mikrokapiler, bejana kromatografi, kertas saring Whatman, timbangan analitik, vortex mixer, penangas air, alat-alat gelas.

#### 3.3 Cara Kerja

##### 3.3.1 Determinasi tanaman

Tanaman kulit kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.) dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia), Jl. Raya Bogor km.46, Cibinong.

##### 3.3.2 Ekstraksi dengan maserasi secara bertahap

Sebanyak 400 g kulit kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.) yang sudah dikeringkan dipotong kecil-kecil dimaserasi bertahap dengan *n*-heksana, etil asetat, metanol dan air.

### 3.3.3 Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak *n*-heksana,etil asetat, metanol dan air kulit kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.) yaitu meliputi:

#### a. Senyawa golongan alkaloid

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambahkan HCl 10% dan amonia encer hingga pH 8, kemudian disarikan dengan kloroform. Sari kloroform diuapkan sampai kering, sisa dilarutkan dalam HCl dan larutan tersebut dibagi dalam tiga tabung. Tabung pertama digunakan sebagai pembanding, tabung kedua ditambahkan pereaksi Putih dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Orange. Terbentuknya warna orange menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

#### b. Senyawa golongan flavonoid

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambah 100 mL air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring sehingga diperoleh filtrat yang digunakan sebagai larutan percobaan. Ke dalam 5 mL larutan percobaan ditambahkan serbuk magnesium dan 1mL HCl pekat, selanjutnya ditambahkan amil alkohol dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga dalam larutan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.

#### c. Senyawa golongan tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak diencerkan dengan air dan larutan tersebut ditambahkan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya golongan tanin.

#### d. Senyawa golongan polifenol

Sebanyak 100 mg ekstrak diencerkan dalam air atau etanol dan larutan tersebut ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif bila menimbulkan warna hijau, merah tua, ungu, biru, atau hitam kuat. Cara ini dapat dimodifikasi dengan menggunakan campuran  $\text{FeCl}_3$  dengan  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ .

#### e. Senyawa golongan steroid/terpenoid

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung lalu ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard. Terbentuknya warna merah atau cincin hijau menunjukkan adanya senyawa golongan steroid atau terpenoid.

#### **f. Senyawa golongan saponin**

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung lalu diencerkan dengan air, kemudian dikocok kuat selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin, bila ditambahkan 1 tetes HCl 1% (encer) busa tetap stabil.

#### **g. Senyawa golongan kuinon**

Sebanyak 5 mL larutan percobaan yang diperoleh dari percobaan c, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 1N. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa golongan kuinon.

#### **h. Senyawa golongan kumarin**

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung lalu ditambahkan 10 mL kloroform (dipasang corong yang telah diberikan lapisan kapas yang telah dibasahi dengan air) pada mulut tabung. Dipanaskan selama 10 menit pada penangas air dan didinginkan, disaring dengan kertas saring. Filtrat diuapkan dengan cawan penguap sampai kering, sisanya ditambahkan 5 mL air panas dan didinginkan. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 tetes larutan amonia 10%, lalu diamati di bawah sinar lampu UV 365 nm, jika terjadi fluoresensi berwarna hijau atau biru menunjukkan adanya golongan kumarin.

#### **i. Senyawa golongan minyak atsiri**

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung lalu ditambahkan 5 mL kloroform (pasang corong yang telah diberikan lapisan kapas yang telah dibasahi dengan air) pada mulut tabung. Dipanaskan selama 5 menit pada penangas air dan didinginkan, disaring dengan kertas saring. Filtrat diuapkan dengan cawan penguap sampai kering, residu dilarutkan dengan pelarut alkohol 5 mL kemudian disaring dengan kertas saring. Residu yang berbau aromatik menunjukkan adanya senyawa golongan minyak atsiri.

### **3.3.4 Uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi cakram**

Ekstrak etil asetat sebelum difraksinasi dengan kromatografi kolom, dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Mikroba uji yang digunakan adalah *Escherichia coli*, *Staphilococcus aureus* dan *Candida albicans*.

Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol dan nistatin. Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, metanol dan air.

**a. Persiapan bakteri**

*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diremajakan dalam media Nutrient Agar (NA) dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 25°C. Lalu masing-masing diinokulasikan dalam 25 mL media Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi selama 1 hari pada suhu 25°C dengan cara dishaker. Setelah bakteri uji tumbuh di dalam larutan NB, kemudian diambil 1 mL untuk ditanamkan ke dalam 300 ml media NA yang dalam keadaan cair, dikocok homogen, kemudian dipindahkan sebanyak 15-20 mL ke dalam setiap cawan petri dan didiamkan hingga memadat. *Candida albicans* menggunakan prosedur yang sama dengan kedua bakteri, hanya beda media saja, yaitu Potato Dextrose Agar (PDA) dan Potato Dextrose Broth (PDB).

**b. Pembuatan Larutan Uji**

Konsentrasi yang berbeda dibuat tiga yaitu 500, 1000, 1500 ppm. Ditimbang seksama lebih kurang 15 mg ekstrak sampel, lalu dimasukkan ke dalam labu terukur 10 ml, dilarutkan dalam etil asetat p.a hingga tanda tera (larutan induk 1500 ppm). Kemudian dipipet sejumlah 6,67 mL dan 3,33 mL larutan induk dengan menggunakan tips ke dalam masing-masing labu 5 ml dan ditambahkan pelarut p.a sampai tanda tera, untuk mendapatkan konsentrasi larutan 1000 ppm dan 500 ppm.

**c. Pembuatan Kontrol Positif**

Larutan kloramfenikol dan nistatin (sebagai kontrol positif) dibuat dalam konsentrasi 500 ppm. Ditimbang seksama lebih kurang masing-masing 15 mg kloramfenikol dan nistatin, dipipet 3,33 mL kedalam labu ukur 5 mL kemudian diencerkan dengan menggunakan etil asetat p.a sampai tanda tera.

**d. Uji Aktivitas Antimikroba**

Kertas cakram yang telah disterilkan dicelupkan ke dalam larutan kloramfenikol (kontrol positif) dan ke dalam masing-masing larutan uji yang terdiri dari tiga konsentrasi (500, 100, 1500 ppm), diletakkan di atas media inokulum. Dilakukan pengamatan selama tiga hari dengan menghitung luas Diameter Daerah Hambat (mm)

### 3.3.5 Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dengan metode *free radical scavenger* dengan pereaksi DPPH.

#### a. Pembuatan Larutan 1 mMol DPPH

DPPH (BM= 394,320) ditimbang seksama lebih kurang 3,95 mg, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a dan dihomogenkan. Ditempatkan dalam botol gelap.

#### b. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 1 mMol dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi yang telah ditera 5 mL, lalu ditambahkan metanol p.a hingga 5 mL dan dihomogenkan.

#### c. Pembuatan Larutan Uji

Sampel (ekstrak kulit kayu lawang) ditimbang seksama lebih kurang 10 mg menggunakan timbangan analitik, lalu dilarutkan dengan metanol p.a sampai 10 mL, larutan ini merupakan larutan induk (1000 ppm).

#### d. Uji Aktivitas Antioksidan

Setiap tabung larutan uji ditambahkan 1 mL larutan DPPH 1 mMol, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga 5 mL, dan dihomogenkan. Larutan blanko, larutan uji diukur pada 0, 10, 20 dan 30 menit kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang  $\lambda=515$  nm.

#### e. Analisis Data

Persen inhibisi/ hambatan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{serapan blanko} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan blanko}} \times 100 \%$$

### 3.3.6 Uji Toksisitas

Uji toksisitas terhadap ekstrak *n*-heksan, etil asetat, metanol dan air dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu sebagai berikut:

#### a. Penetasan telur udang

Larva udang disiapkan dengan cara menetasakan telur *A.salina* L. dua hari sebelum pengujian. Penetasan dilakukan dengan menggunakan air laut salinitas



12%. Dimasukkan telur *A. salina* L. kurang lebih satu sendok teh dibantu dengan pemberian cahaya lampu, dan dibiarkan selama 48 jam.

#### **b. Persiapan sampel (larutan uji dan blanko)**

Larutan ekstrak ditimbang sebanyak 40 mg (jika diperlukan untuk membantu kelarutannya dapat ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) 0,5% secukupnya), kemudian dilarutkan dengan air salinitas 12% sampai 20 ml (larutan induk 2000ppm). Dipipet 5  $\mu$ L, 0,5  $\mu$ L, dan 0,05  $\mu$ L larutan induk tersebut kedalam masing-masing vial kemudian ditambahkan air salinitas hingga 10 mL untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi masing-masing 1000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm (dibuat triplo). Sebagai pembanding (blanko) disiapkan larutan yang sama namun tidak disertai penambahan ekstrak.

#### **c. Uji Bioassay BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)**

Sepuluh ekor larva udang *Artemia salina* Leach dimasukkan ke dalam vial. Untuk tiap-tiap perlakuan ke dalam botol vial yang telah berisi air laut salinitas 12% dan larutan blanko. Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah larva udang yang mati. Dari data yang diperoleh, dihitung nilai  $LC_{50}$  nya dengan menggunakan analisis probit.

#### **d. Analisis data**

Analisis data yang digunakan untuk mengetahui toksisitas ekstrak etil asetat terhadap larva udang *Artemia salina* L. adalah dengan analisis probit

### **3.3.7 Kromatografi Lapis Tipis**

Ekstrak *n*-heksana, etil asetat, metanol dan air kulit kayu lawang dianalisis dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bertujuan untuk mengetahui pola kromatogram yang dihasilkan dari pemisahan senyawa yang terdapat pada sampel. KLT dilakukan dengan menggunakan fase gerak berupa pelarut yang dicampurkan dengan perbandingan konsentrasi tertentu, dan fase diamnya menggunakan silika gel GF<sub>254</sub>.

Lempeng KLT dipersiapkan, pada bagian bawah dan atasnya diberi garis kurang lebih 1 cm dari ujungnya. Lalu ditotolkan ekstrak kulit kayu lawang pada batas garis bawah lempeng tersebut dengan menggunakan pipa kapiler sebanyak 1-3 kali, dan dikeringkan. Kemudian lempeng tersebut dimasukkan ke dalam

bejana dengan eluen tertentu. Eluen yang digunakan merupakan kombinasi dari beberapa pelarut (*n*-heksana, etil asetat, kloroform, aseton, metanol dan air) dengan perbandingan tertentu, dan telah dijenuhkan terlebih dahulu. Setelah itu lempeng diangkat dan dikeringkan, kemudian diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, di semprot menggunakan penampak bercak serum sulfat, dan dikeringkan diatas pemanas. Hasil yang didapat tersebut diamati dan eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik

### **3.3.8 Fraksinasi dengan kromatografi kolom ekstrak terpilih**

Fraksinasi ekstrak etil asetat kulit kayu lawang (*C. culilaban* (L.) Presl.) dengan kromatografi kolom bertujuan untuk mendapatkan senyawa yang lebih sederhana dari sebelumnya. Pemisahannya dilakukan dengan menggunakan cairan eluasi pada KLT yang sesuai sebagai fasa gerak dan silika gel sebagai fasa diam.

Sebanyak 19 g ekstrak etil asetat kulit kayu lawang dimasukkan ke dalam kolom kaca yang telah berisi silika gel. Ditambahkan cairan eluasi dan dibiarkan mengalir melalui kolom. Fraksi yang keluar ditampung ke dalam vial-vial (volume  $\pm$  14 ml) yang telah diberi nomor secara berurutan, kemudian fraksi yang didapat diangin-anginkan hingga pelarutnya menguap. Adanya senyawa dalam fraksi-fraksi tersebut dideteksi dengan KLT, fraksi yang mempunyai pola yang sama selanjutnya digabungkan menjadi satu sehingga diperoleh fraksi yang mempunyai sifat hampir sama. Setelah itu dilakukan analisis KLT kembali dengan eluen yang sesuai, kemudian noda pada KLT divisualisasi dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm, dan disemprot dengan penampak bercak serum sulfat. Fraksi-fraksi yang dihasilkan ini kemudian akan diuji aktivitas kembali (hasil yang positif).

### **3.3.9 Uji antioksidan fraksi dari kromatografi kolom**

Menggunakan metode yang sama dengan 3.3.5

### **3.3.10 Identifikasi senyawa**

#### **3.3.10.1 Fraksi 3 dengan RMI**

Isolat murni diidentifikasi dengan Spektrometri RMI 1 Dimensi untuk mendapatkan informasi jumlah proton dan karbon sehingga dapat digunakan untuk menentukan struktur senyawa tersebut.

RMI 2 Dimensi HMQC (*Hetero Multiple Quantum Coherence*) bertujuan untuk melihat hubungan antara proton dan karbon di dalam struktur kimianya (bentuk geminal),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (*Correlation Spectroscopy*) bertujuan untuk melihat hubungan antara proton dengan proton di dalam struktur kimianya (bentuk geminal dan visinal) dan HMBC (*Hetero Multiple Bond Connectivity*) bertujuan untuk melihat hubungan antara karbon dan proton dilihat dari 2-3 ikatan.

Sejumlah isolat murni dari fraksi 3 dilarutkan dengan  $\text{CDCl}_3$ , kemudian dimasukkan ke dalam sebuah tabung. Tabung dimasukkan ke dalam alat lalu diukur spektrumnya.

#### **3.3.10.2 Fraksi 8 dengan KG-SM**

Sampel fraksi ekstrak etil asetat kulit kayu lawang di analisa dengan instrumen KG-SM *Agilent 5975* untuk mengetahui senyawa organik yang terdapat di dalamnya.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi oleh Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.). (Lampiran 1)

#### 4.2 Ekstraksi dengan maserasi secara bertahap

Hasil maserasi terhadap 400 g potongan kayu lawang secara bertahap dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, metanol dan air dipekatkan dengan rotaevaporator, sehingga didapatkan rendemen yang ditampilkan pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Berat dan rendemen hasil maserasi

| Ekstrak           | Berat (gram) | Rendemen (%) |
|-------------------|--------------|--------------|
| <i>n</i> -heksana | 3,91         | 0,98         |
| Etil asetat       | 19,67        | 4,92         |
| Methanol          | 136,28       | 34,07        |
| Air               | 11,44        | 2,86         |

Ekstrak yang didapatkan beratnya bervariasi, paling banyak rendemennya berturut-turut adalah : ekstrak metanol, etil asetat, air dan *n*-heksana.

### 4.3 Penapisan fitokimia

Tabel 4.2 Hasil uji penapisan fitokimia terhadap ekstrak *n*-heksana, etil asetat, metanol dan air

| Metabolit sekunder | Ekstrak <i>n</i> -heksana | Ekstrak Etil asetat | Ekstrak metanol | Ekstrak air |
|--------------------|---------------------------|---------------------|-----------------|-------------|
| Alkaloid           | -                         | -                   | -               | -           |
| Flavonoid          | -                         | +                   | +               | -           |
| Saponin            | -                         | +                   | +               | -           |
| Tanin              | -                         | +                   | +               | +           |
| Kuinon             | -                         | +                   | +               | +           |
| Steroid            | +                         | +                   | +               | +           |
| triterpenoid       |                           |                     |                 |             |
| Minyak atsiri      | +                         | +                   | +               | -           |
| kumarin            | -                         | -                   | -               | -           |

Keterangan: (+) memberikan reaksi positif terhadap pereaksi tersebut  
 (-) memberikan reaksi negatif terhadap pereaksi tersebut

### 4.4 Uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi cakram

Tabel. 4.3 Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak kulit kayu lawang terhadap bakteri *E. coli*

|                                 | Kontrol negatif | 500 ppm | 1000 ppm | 1500 ppm |
|---------------------------------|-----------------|---------|----------|----------|
| Kloramfenikol (kontrol positif) |                 | 1,5 cm  | 2 cm     | 2 cm     |
| Ekstrak <i>n</i> -heksan        | -               | -       | -        | -        |
| Ekstrak etil asetat             | -               | -       | -        | -        |
| Ekstrak metanol                 | -               | -       | -        | -        |
| Ekstrak air                     | -               | -       | 0,8      | 0,8      |

Keterangan: kontrol negatif yang digunakan adalah masing-masing pelarut dari ekstrak

Tabel. 4.4 Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak kulit kayu lawang terhadap bakteri *S. aureus*

|                                 | Kontrol negatif | 500 ppm | 1000 ppm | 1500 ppm |
|---------------------------------|-----------------|---------|----------|----------|
| Kloramfenikol (kontrol positif) |                 | 2,2 cm  | 2,2 cm   | 2,5cm    |

|                     |   |   |   |   |
|---------------------|---|---|---|---|
| Ekstrak n-heksan    | - | - | - | - |
| Ekstrak etil asetat | - | - | - | - |
| Ekstrak metanol     | - | - | - | - |
| Ekstrak air         | - | - | - | - |

Keterangan: kontrol negatif yang digunakan adalah masing-masing pelarut dari ekstrak

Tabel. 4.5 Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak kulit kayu lawang terhadap kapang *C. albicans*

|                               | Kontrol negatif | 500 ppm | 1000 ppm | 1500 ppm |
|-------------------------------|-----------------|---------|----------|----------|
| Nystatin<br>(kontrol positif) |                 | 1,2 cm  | 1,5 cm   | 1,5 cm   |
| Ekstrak <i>n</i> -heksana     | -               | -       | -        | -        |
| Ekstrak etil asetat           | -               | -       | -        | -        |
| Ekstrak metanol               | -               | -       | -        | -        |
| Ekstrak air                   | -               | -       | -        | -        |

Keterangan: kontrol negatif yang digunakan adalah masing-masing pelarut dari ekstrak

Hampir keseluruhan ekstrak memberikan hasil yang negatif terhadap mikroba uji, kecuali ekstrak air memberikan hasil positif pada mikroba uji, bakteri *E.coli* dengan diameter zona hambat 0.8 cm, akan tetapi zonanya masih jauh lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol.

Kulit kayu lawang (*C. culilaban* (L.) Presl.) diharapkan dapat memiliki aktivitas antimikroba dikarenakan adanya kandungan senyawa eugenol dan sinamaldehyd. Akan tetapi, dari uji antimikroba memberikan hasil negatif, hal ini dapat disebabkan adanya senyawa lain dalam kulit kayu lawang yang memiliki sifat antisinerjis.

#### 4.5 Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada keempat ekstrak kulit kayu lawang (*C. culilaban* (L.) Presl.) dilakukan untuk pemilihan ekstrak yang akan dilanjutkan untuk kromatografi kolom.

Tabel 4.6 Hasil uji aktivitas antioksidan (konsentrasi masing-masing ekstrak (100 ppm))

| Waktu<br>(menit) | % inhibisi                   |                        |                 |             |
|------------------|------------------------------|------------------------|-----------------|-------------|
|                  | Ekstrak<br><i>n</i> -heksana | Ekstrak<br>etil asetat | Ekstrak metanol | Ekstrak air |
| 0                | 13,06                        | 87,61                  | 95,86           | 7,11        |
| 10               | 37,51                        | 95,79                  | 96,51           | 13,17       |
| 20               | 42,34                        | 96,29                  | 96,83           | 17,37       |
| 30               | 45,05                        | 96,65                  | 97,21           | 21,09       |

Dari hasil uji aktivitas antioksidan, ekstrak etil asetat dan metanol memberikan persentase inhibisi yang besar.

#### 4.6 Uji Toksisitas

Uji toksisitas yang digunakan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Tabel 4.7 Hasil uji toksisitas ekstrak *n*-heksana

| Konsentrasi (ppm) | Larva yang mati | Larva yang mati | Larva yang mati |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                   | (i)             | (ii)            | (iii)           |
| 10                | 0               | 0               | 0               |
| 100               | 6               | 6               | 5               |
| 1000              | 10              | 10              | 10              |

dari data diatas didapat  $LC_{50} = 94.21$  ppm

Tabel 4.8 Hasil uji toksisitas ekstrak etil asetat

| Konsentrasi (ppm) | Larva yang mati | Larva yang mati | Larva yang mati |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                   | (i)             | (ii)            | (iii)           |
| 10                | 3               | 4               | 4               |
| 100               | 10              | 10              | 10              |
| 1000              | 10              | 10              | 10              |

Dari data diatas didapat  $LC_{50} = 11.01$  ppm

Tabel 4.9 Hasil uji toksisitas ekstrak metanol

| Konsentrasi (ppm) | Larva yang mati | Larva yang mati | Larva yang mati |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                   | (i)             | (ii)            | (iii)           |
| 10                | 0               | 0               | 0               |
| 100               | 3               | 1               | 5               |

|      |    |    |    |
|------|----|----|----|
| 1000 | 10 | 10 | 10 |
|------|----|----|----|

Dari data diatas didapat  $LC_{50} = 114.50$  ppm

Tabel 4.10 Hasil uji toksisitas ekstrak air

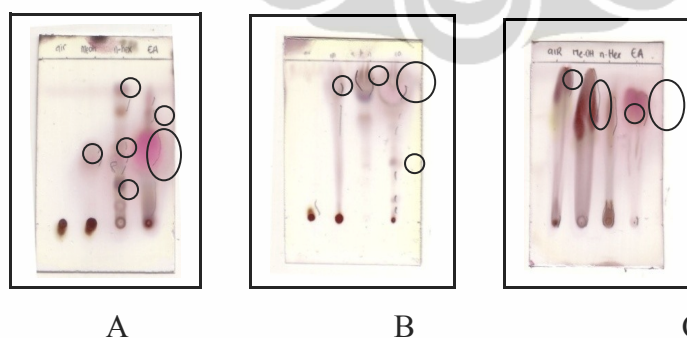
| Konsentrasi (ppm) | Larva yang mati |      |       |
|-------------------|-----------------|------|-------|
|                   | (i)             | (ii) | (iii) |
| 10                | 0               | 0    | 0     |
| 100               | 3               | 3    | 4     |
| 1000              | 4               | 4    | 5     |

Dari data diatas didapat  $LC_{50} = 1087.85$  ppm

Hasil uji toksisitas keempat ekstrak menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki  $LC_{50}$  yang paling kecil dari keempat ekstrak. Dari tiga uji aktivitas farmakologis diatas, ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas yang paling baik. Sehingga ekstrak yang dipilih untuk difraksinasi dengan kromatografi kolom adalah ekstrak etil asetat.

#### 4.7 Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak *n*-heksana, etil asetat, metanol dan air dianalisa dengan kromatografi lapis tipis untuk mengetahui fase gerak yang sesuai untuk kromatografi kolom. Hasil kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 KLT Empat ekstrak dieluasi dengan pelarut berbeda

Keterangan : A : eluen *n*-heksana : etil asetat = 2 : 1  
 B : eluen  $CHCl_3$  :  $CH_3OH$  = 5 : 1  
 C : eluen  $CHCl_3$  :  $CH_3OH$  :  $H_2O$  = 5 : 5 : 1



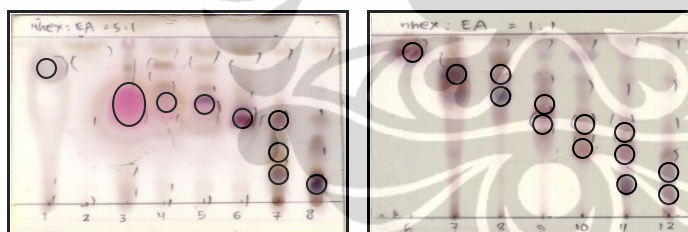
Fase diam : silika gel GF<sub>254</sub>  
 Penyemprot : 1% Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> dalam 10 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
 Jarak rambat : 5 cm

Lempeng KLT disemprot dengan larutan Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> , lalu dipanaskan di atas *hot plate* sampai timbul bercak. Dari hasil KLT, eluen *n*-heksana : etil asetat (2:1) memberikan pemisahan yang paling baik dengan fasa diam silika gel GF<sub>254</sub>, sehingga digunakan untuk analisis kromatografi kolom pada ekstrak etil asetat.

#### 4.8 Fraksinasi dengan kromatografi kolom ekstrak etil asetat sebagai ekstrak terpilih

Hasil fraksinasi kromatografi kolom pertama pada ekstrak etil asetat (SiO<sub>2</sub>, *n*-heksana: etil asetat = 40:1-1:1 diperoleh 77 fraksi.

Dari pola KLT di atas menunjukkan masih ada fraksi-fraksi yang memiliki pola kromatogram yang mirip. Fraksi-fraksi yang memiliki pola kromatogram yang mirip digabung menjadi satu.



Gambar 4.2 Kromatografi lapis tipis hasil penggabungan fraksi

Keterangan

Fase gerak : A. *n*-heksana : etil asetat = 5 : 1

B. *n*-heksana : etil asetat = 1 : 1

Fase diam : silika gel GF<sub>254</sub>

Penyemprot : 1% Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> dalam 10 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Jarak rambat : 5 cm

Setelah disemprot dipanaskan diatas *hot plate* sampai timbul bercak

Tabel 4.11 Hasil penggabungan fraksinasi ekstrak etil asetat dengan kromatografi kolom

| Fraksi | Penggabungan fraksi | Bobot (gram) |
|--------|---------------------|--------------|
| 1      | 1-2                 | 0,28         |
| 2      | 3-6                 | 0,14         |
| 3      | 7-12                | 9,46         |
| 4      | 13-16               | 0,15         |
| 5      | 17-22               | 0,16         |
| 6      | 23-27               | 0,10         |
| 7      | 28-36               | 0,73         |
| 8      | 37-45               | 0,24         |
| 9      | 46-52               | 0,67         |
| 10     | 53-57               | 0,15         |
| 11     | 58-69               | 0,29         |
| 12     | 70-77               | 0,77         |

#### 4.9 Uji antioksidan fraksi dari kromatografi kolom

Hasil fraksinasi kromatografi kolom ekstrak etil asetat kulit kayu lawang dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. Aktivitas antioksidan fraksi-fraksi dapat dilihat pada Tabel 4.12

Tabel 4.12 Aktivitas Antioksidan Fraksi Hasil Kromatografi Kolom dengan Konsentrasi 100 ppm

| No | Fraksi | % inhibisi |
|----|--------|------------|
| 1  | 3      | 96,42      |
| 2  | 6      | 34,00      |
| 3  | 7      | 60,70      |
| 4  | 8      | 66,95      |
| 5  | 10     | 33,86      |
| 6  | 11     | 34,34      |
| 7  | 12     | 32,06      |

Dari hasil uji aktivitas antioksidan fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom, fraksi 3 memiliki persentase inhibisi paling tinggi dibandingkan fraksi lainnya yaitu sebesar 96,42%. Fraksi 3 ini yang nantinya akan diidentifikasi senyawa kimia yang terkandung didalamnya menggunakan RMI. Sementara fraksi 8

menunjukkan persentase inhibisi sebesar 66,95% yang diidentifikasi senyawa kimianya menggunakan KG-SM dikarenakan jumlahnya yang sedikit dan belum murni.

#### 4.10 Identifikasi Senyawa Fraksi 3

Fraksi 3 dipilih untuk diidentifikasi dengan Spektrometer RMI proton, karbon dan DEPT karena mempunyai aktivitas antioksidan yang paling tinggi sebesar 96.42 % . Demikian juga untuk fraksi 8, yang diidentifikasi dengan KG-MS.

##### a. Hasil Interpretasi Spektra Spektrometer Resonansi Magnetik Inti (RMI)

###### 1 Dimensi (RMI proton, karbon dan DEPT)

Spektra RMI proton untuk senyawa isolat 3 menunjukkan adanya pergeseran kimia pada medan magnet tinggi (*high field*) yaitu  $\delta H$  3.33 ppm (-CH<sub>2</sub>-) dan  $\delta H$  3.88 ppm (-OCH<sub>3</sub>). Pada pergeseran medan magnet rendah (*low field*) terdapat pada  $\delta H$  5.07~6.86 ppm (proton dari aromatik)

Hasil ini diperkuat oleh spektra RMI karbon dan DEPT yang memberikan 10 atom karbon yang terdiri dari 40.03 (t); 55.98 (q); 111.23 (d); 114.40 (d); 115.67 (s); 121.30 (d); 132.0 (s); 137.97 (d); 144.01 (s) dan 146.57 (s)

##### b. Hasil Interpretasi Spektra Spektrometer Resonansi Magnetik Inti (RMI)

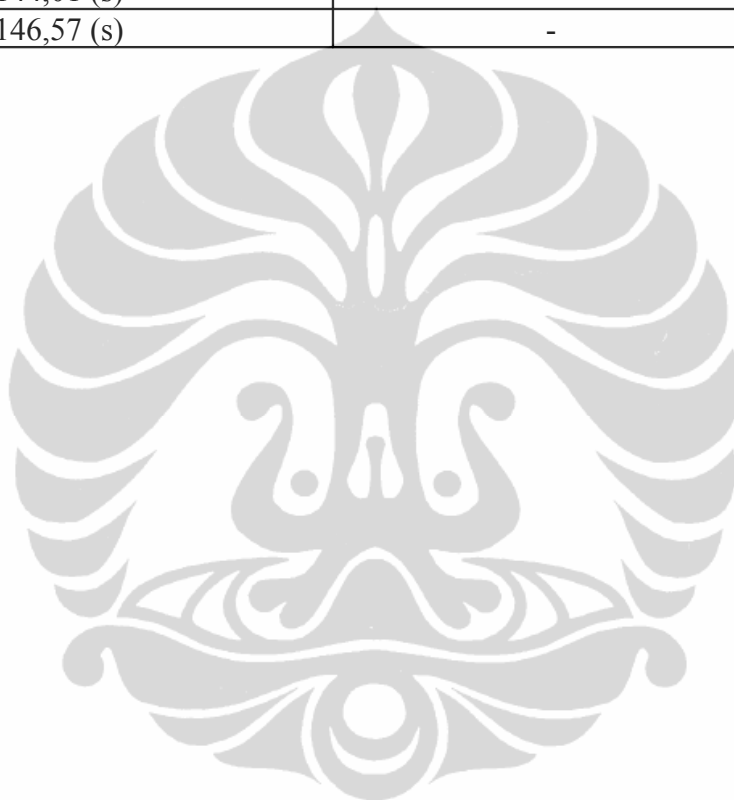
###### 2 Dimensi (HMQC dan COSY)

Pengambilan spektra RMI 2 dimensi ( HMQC dan COSY) untuk senyawa isolat fraksi 3 dimaksudkan untuk melihat hubungan antara proton dan karbon dan proton dengan proton.

Hubungan pergeseran kimia antara proton dan karbon dari HMQC dapat dilihat pada Tabel 4.13

Tabel 4.13. Korelasi proton dengan karbon HMQC isolat senyawa fraksi 3

| No  | $\delta C$ (ppm) | $\delta H$ (ppm)                 |
|-----|------------------|----------------------------------|
| 1   | 40,03 (t)        | 3,33 (d, $J= 6,5$ Hz)            |
| 2.  | 55,98 (q)        | 3,88 (s)                         |
| 3.  | 111,23 (d)       | 6,70 (m)                         |
| 4.  | 114,40 (d)       | 6,86 (d, $J= 2$ Hz)              |
| 5.  | 115,67 (t)       | 5,07 (d, $J= 2$ Hz)              |
| 6.  | 121,30 (d)       | 6,70 (d, $J= 3$ Hz)              |
| 7.  | 132,00 (s)       | -                                |
| 8.  | 137,91 (d)       | 5,97 (d, $J= 6,7;10,4; 17,1$ Hz) |
| 9.  | 144,01 (s)       | -                                |
| 10. | 146,57 (s)       | -                                |



Tabel 4.14. Korelasi proton dengan proton COSY isolat senyawa fraksi 3

| No | $\delta C$ (ppm) | $\delta H$ (HMQC) (ppm) | $\delta H$ (COSY) (ppm) |
|----|------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1. | 40,03            | 3,33                    | 5,97                    |
| 2. | 55,98            | 3,88                    | -                       |
| 3. | 111,23           | 6,70                    | 6,86                    |
| 4. | 114,40           | 6,86                    | 6,70                    |
| 5. | 115,67           | 5,07/5,11               | 3,33                    |
| 6. | 121,30           | 6,70                    | 6,86                    |
| 7. | 132,0            | -                       | -                       |

|     |        |      |                   |
|-----|--------|------|-------------------|
| 8.  | 137,97 | 5,97 | 3,33<br>5,07/5,11 |
| 9.  | 144,01 | -    | -                 |
| 10. | 146,57 | -    | -                 |

Dengan membandingkan data pergeseran kimia senyawa isolat fraksi 3 dengan pergeseran kimia hasil *Chem Office* untuk proton dan karbon, maka senyawa isolat fraksi 3 dapat ditetapkan sebagai eugenol.

Tabel 4.15 Perbandingan pergeseran kimia proton senyawa isolat fraksi 3 dengan hasil RMI proton Eugenol (*Chem Office*) dan literatur

| No | RMI proton eksperimental<br>( $\delta H$ ) | RMI proton <i>Chem Office</i><br>( $\delta H$ ) | RMI proton eugenol<br>literatur |
|----|--|---|---------------------------------|
| 3  | 6,70                                       | 6,72  | 6,67~6,72                       |
| 5  | 6,70                                       | 6,62  | 6,67~6,72                       |
| 6  | 6,86                                       | 6,84  | 6,86                            |
| 1' | 3,33                                       | 3,21  | 3,33                            |
| 2' | 5,97                                       | 5,92  | 5,93                            |
| 3' | 5,07 ; 5,11                                | 4,98 ; 5,00                                     | 5,06 ; 5,07                     |

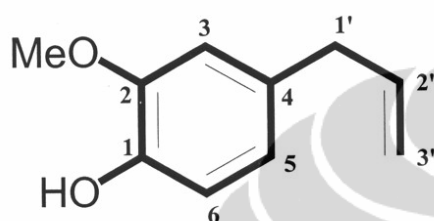
Dari data tersebut, dapat disimpulkan bahwa RMI proton Eugenol (eksperimental) memiliki kedekatan tingkat energi dengan RMI proton Eugenol (*Chem Office*).

Tabel 4.16 Perbandingan pergeseran kimia karbon senyawa isolat fraksi 3 dengan RMI karbon Eugenol (*Chem Office*) dan literatur

| No | RMI karbon eugenol<br>(eksperimental) ( $\delta H$ ) | RMI karbon eugenol<br>( <i>Chem Office</i> ) ( $\delta H$ ) | RMI karbon eugenol<br>literatur ( $\delta H$ ) |
|----|--|---|--|
| 1  | 144,01   | 145,67  | 145,9  |
| 2  | 146,57   | 147,4   | 150,3  |
| 3  | 111,23   | 111,3   | 116,0  |
| 4  | 132,05   | 133,5   | 136,2  |
| 5  | 121,30   | 122,7   | 124,1  |
| 6  | 114,40   | 115,5   | 118,2  |
| 1' | 40,03  | 39,8  | 41,8   |
| 2' | 137,91   | 136,5   | 141,4  |

|    |        |       |       |
|----|--------|-------|-------|
| 3' | 115,67 | 115,9 | 118,5 |
|----|--------|-------|-------|

Dari data tersebut, dapat disimpulkan bahwa hampir semua pergeseran kimia RMI karbon Eugenol (eksperimental) memiliki kedekatan pergeseran kimia dengan NMR karbon (*Chem Office*), kecuali pada atom karbon nomor dua (C<sub>2</sub>) terdapat perbedaan pergeseran kimia, hal ini dipengaruhi oleh posisi gugus OH dan gugus OCH<sub>3</sub> yang berdekatan.



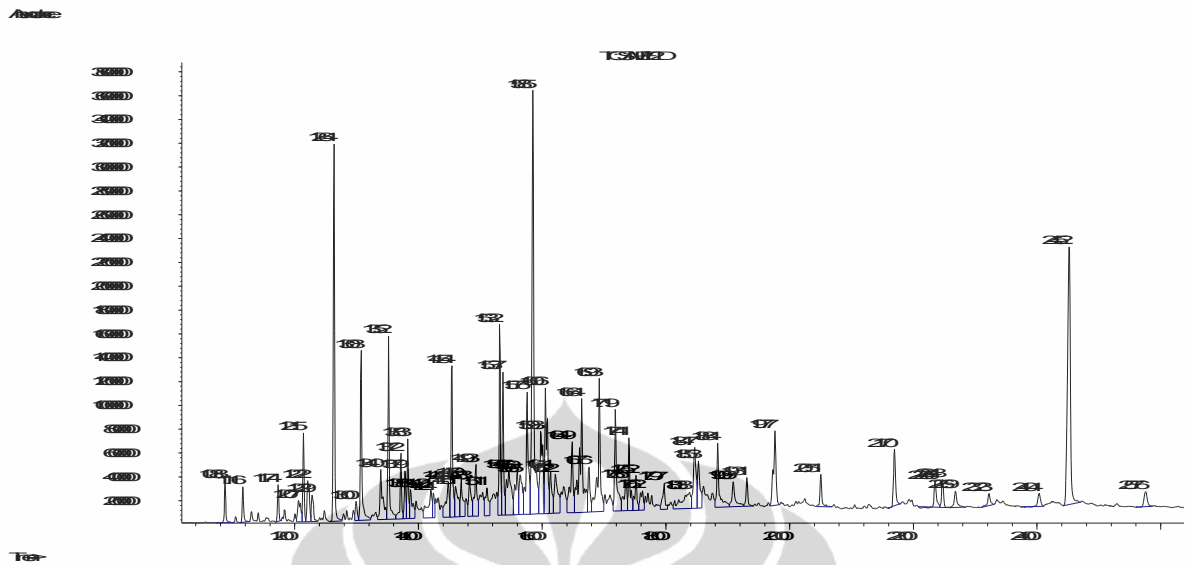
Gambar 4.3 Perkiraan senyawa isolat fraksi 3

#### 4.11 Identifikasi Senyawa Fraksi 8

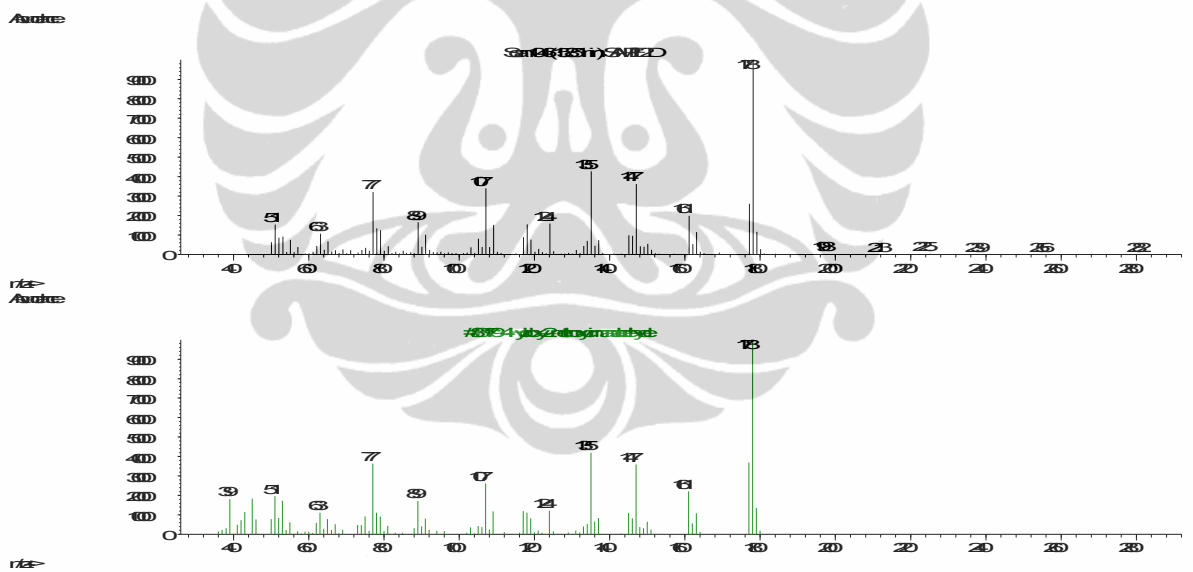
Hasil identifikasi senyawa fraksi 8 menggunakan KG-SM diperoleh bahwa ada senyawa yang teridentifikasi berdasarkan besar peak pada kromatogram KG-SM pada 15.85 menit.

Identifikasi dengan spektrometri massa pada KG-SM diperoleh bahwa senyawa tersebut adalah 4-hidroksi 2-metoksi sinamaldehyd

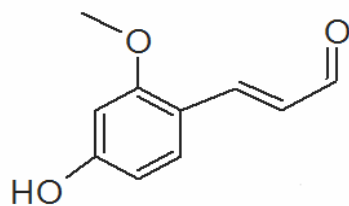
Kromatogram hasil KG-SM dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan 4.5



Gambar 4.4 Kromatogram hasil KG-SM



Gambar 4.5 Fragmentasi massa senyawa fraksi 8 pada menit 15,85



Gambar 4.6 Struktur senyawa pada fraksi 8 berdasarkan analisa KG-MS

Nama : 4-hidroksi 2-metoksi sinamaldehyd  
Rumus molekul :  $C_{10}H_{10}O_3$   
Berat molekul : 178.06





## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Dari hasil uji aktivitas farmakologis yaitu uji antimikroba, antioksidan dan toksisitas, ekstrak etil asetat memiliki hasil yang paling baik dibandingkan ekstrak lainnya.
2. Uji aktivitas antioksidan terhadap hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dengan kromatografi kolom, menunjukkan fraksi 3 dan 8 memiliki aktivitas antioksidan paling besar, yaitu 96.42 dan 66.95 %
3. Fraksi 3 dianalisa dengan menggunakan RMI 1 dimensi (proton, karbon dan DEPT) dan RMI 2 dimensi (COSY dan HMQC).  
Dari spektra RMI 1 dimensi dan 2 dimensi disimpulkan senyawa tersebut adalah eugenol
4. Fraksi 8 dianalisa dengan menggunakan GC-MS dikarenakan jumlahnya yang sedikit, didapatkan senyawa 4-hidroksi 2 metoksi sinamaldehyd

#### **5.2 Saran**

Perlu pemurnian lebih lanjut terhadap fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom untuk mengetahui senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak kayu lawang

## DAFTAR ACUAN

- Beynon, J.H., 1960. *Mass Spectrometry and Its Application to Organic Chemistry*. Amsterdam:Elsevier
- Carrasco H, Espinoza C, Cardile V, et al. 2008. Eugenol and its synthetic analogues inhibit cell growth of human cancer cells [part 1]. *Journal of the Brazillian Chemical Society*. Vol. 19. No. 3. p. 1-11.
- Chericoni, Silvio, et al. 2005. In Vitro Activity of the Essential Oil of *Cinnamomum zeylanicum* and Eugenol in Perovynitrile-Induced Oxidative Processes. *J. Agric. Food Chem*, 53. p.4762-4765
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. h. 7, 1002, 1014-1016
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. h. 10-1.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Padmawinata K, penerjemah). ITB. Bandung. hal.84-94.
- Hembing, S., *Tanaman Obat Asli Milik Masyarakat Bangsa dan Negara RI*. Mambo Open Source. 21 Agustus 2007; hal. 1-2
- Heyne, K., 1987. *Tumbuhan berguna indonesia*. Jilid II. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya. h. 802-804.
- Hostettmann K, Hostettmann M, Marston A. 1992. *Preparative chromatography techniques, aplicatons in natural product isolation*. New York: Springer-Verlag. p. 6-8.
- Jenie UA, Kardono LBS, Hanafi M, Rumampuk RJ, Darmawan A. 2006. *Teknik modern spectroscopy NMR*. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. h. 11-2.
- Khopkar SM., 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Diterjemahkan oleh Saptohardjo, M. Jakarta: Universitas Indonesia. h. 129-397.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami, Penangkap Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan, dan Pengolahan*. Penerbit Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Meyer BN, Ferigni NR, Putnam JE, Jaconsen LB, Nichols DF, Mc laughin JL. 1982. *Brine Shimp A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Planta Medica* 45, 31-34.

Nur MA. 1989. Bahan pengajaran spektroskopi. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. h. 94-105.

Pujianti, S. Ningsih dan Triwidodo. 2002. *Uji Toksisitas terhadap Larva Artemia Salina dari Fraksi n-Heksana, Kloroform, Etil asetat dan Air Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (Curcuma magga Val)*. Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya. hal.109

Purwantini I, Setyowati EP, Hertiani T. 2002. *Uji Toksitas Ekstrak Etanol Buah, Biji, Daun Mahkota Dewa (Phaleria Marcocarpa) terhadap Artemia Salina Leach dan Profil Kromatografi lapis Tipis Ekstrak Aktif*. Majalah Farmasi Indonesia.h101-106.

Sastroamidjojo S. 1995. Obat asli indonesia. Jakarta: Dian Rakyat. h. 156.

Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. 2005. Spectrometric identification of organic compounds. 7<sup>th</sup> edition. New York: John Willey and Sons Inc. p. 78-9, 215-7.

Skoog D, Holler FJ, Crouch S. 2007. Principles of Instrumental Analysis. 6th ed. Canada: Thomson Brooks/Cole.

Triantoro, R. G. N., Susanti, C.M.E., 2007. Kandungan Bahan Aktif Kayu Kulilawang (*Cinnamomum culilawan* BL.) dan Massoi (*Criptocarya massoia*). J. Ilmu & Teknologi Kayu Tropis Vol.5. No.2

Williams DH, Fleming I.1990. Spectroscopic methods in organic chemistry. 5<sup>th</sup> ed. London: Mc Graw-Hill Book Company. p. 28-30.

Worabai, S.,Kesaulija E.M, Maturbongs, R.A.,September 2001. Pemanfaatan Jenis Tumbuhan Pohon oleh Suku Wondama di Desa Tandia, Wasior Kabupaten Manokwari. Buletin Penelitian Botani vol.3 No 2

<http://www.vitaminstuff.com/superoxide-dismutase.html>. 10 Juni 2010. Jam 19.15

<http://www.ourhealth.com.au/2007/07/candida-yeast-infection.html>. 10 juni 2010. Jam 19.25

<http://en.wikipedia.org/wiki/Nystatin>. 10 juni 2010, jam 20.54

<http://www.mayoclinic.com/health/drug-information/dr601025>, 10 juni 2010. Jam 19.30

[www.wikimedia.org](http://www.wikimedia.org). *Gambar DPPH\_mekanisme reaksi DPPH\_files*.18 Maret 2009. Jam 19.33.

Anonymous. Educational: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.  
[www.kimikontrol.com/edu.html](http://www.kimikontrol.com/edu.html). 18 Maret 2009. Jam 20.30



## Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan kayu lawang



**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, 7 Agustus 2009

Nomor : 861/IPH.1.02/If.8/VIII/2009  
 Lampiran : -  
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Drs. Arif Soeksmanto  
 Puslit Bioteknologi - LIPI

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   | Kayu Lawang | <i>Cinnamomum culilaban</i> (L.) Presl. | Lauraceae |

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

  
 Prof. Dr. Eko Baroto Walujo  
 NIP. 195111041975011001

## Lampiran 2. Uji toksisitas

**Ekstrak n-heksan**

\*\*\*\*\* P R O B I T    A N A L Y S I S \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

## Observed and Expected Frequencies

| Prob    | KONS    | Number of<br>Subjects | Observed<br>Responses | Expected<br>Responses | Residual |
|---------|---------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|
| 00033   | .00     | 10.0                  | .0                    | .003                  | -.003    |
| 00118   | 10.00   | 10.0                  | .0                    | .012                  | -.012    |
| 58277   | 100.00  | 10.0                  | 5.7                   | 5.828                 | -.158    |
| 1.00000 | 1000.00 | 10.0                  | 10.0                  | 10.000                | .000     |

—

\*\*\*\*\* P R O B I T    A N A L Y S I S \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

## Confidence Limits for Effective KONS

| Prob | KONS      | 95% Confidence Limits |       |
|------|-----------|-----------------------|-------|
|      |           | Lower                 | Upper |
| .01  | 29.80812  | .                     | .     |
| .02  | 37.35513  | .                     | .     |
| .03  | 42.14346  | .                     | .     |
| .04  | 45.74554  | .                     | .     |
| .05  | 48.67555  | .                     | .     |
| .06  | 51.16945  | .                     | .     |
| .07  | 53.35611  | .                     | .     |
| .08  | 55.31401  | .                     | .     |
| .09  | 57.09463  | .                     | .     |
| .10  | 58.73370  | .                     | .     |
| .15  | 65.51990  | .                     | .     |
| .20  | 70.91334  | .                     | .     |
| .25  | 75.54044  | .                     | .     |
| .30  | 79.69572  | .                     | .     |
| .35  | 83.54621  | .                     | .     |
| .40  | 87.19994  | .                     | .     |
| .45  | 90.73497  | .                     | .     |
| .50  | 94.21395  | .                     | .     |
| .55  | 97.69293  | .                     | .     |
| .60  | 101.22796 | .                     | .     |
| .65  | 104.88169 | .                     | .     |
| .70  | 108.73218 | .                     | .     |
| .75  | 112.88746 | .                     | .     |

(Lanjutan)

|     |           |   |   |
|-----|-----------|---|---|
| .80 | 117.51456 | . | . |
| .85 | 122.90801 | . | . |
| .90 | 129.69420 | . | . |
| .91 | 131.33327 | . | . |
| .92 | 133.11389 | . | . |
| .93 | 135.07179 | . | . |
| .94 | 137.25845 | . | . |
| .95 | 139.75235 | . | . |
| .96 | 142.68236 | . | . |
| .97 | 146.28444 | . | . |
| .98 | 151.07277 | . | . |
| .99 | 158.61978 | . | . |

**Ekstrak etil asetat**

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

| Prob    | KONS    | Number of Subjects | Observed Responses | Expected Responses | Residual |
|---------|---------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|
|         | .00     | 10.0               | .0                 | .002               | -.002    |
| 00017   | 10.00   | 10.0               | 3.7                | 3.714              | -.044    |
| 37138   | 100.00  | 10.0               | 10.0               | 10.000             | .000     |
| 1.00000 | 1000.00 | 10.0               | 10.0               | 10.000             | .000     |

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

Confidence Limits for Effective KONS

| Prob | KONS    | 95% Confidence Limits |       |
|------|---------|-----------------------|-------|
|      |         | Lower                 | Upper |
| .01  | 3.87023 | .                     | .     |
| .02  | 4.70648 | .                     | .     |
| .03  | 5.23706 | .                     | .     |
| .04  | 5.63619 | .                     | .     |
| .05  | 5.96086 | .                     | .     |
| .06  | 6.23720 | .                     | .     |
| .07  | 6.47949 | .                     | .     |
| .08  | 6.69644 | .                     | .     |
| .09  | 6.89374 | .                     | .     |
| .10  | 7.07536 | .                     | .     |

(Lanjutan)

|     |          |   |   |
|-----|----------|---|---|
| .15 | 7.82731  | . | . |
| .20 | 8.42494  | . | . |
| .25 | 8.93765  | . | . |
| .30 | 9.39809  | . | . |
| .35 | 9.82474  | . | . |
| .40 | 10.22960 | . | . |
| .45 | 10.62130 | . | . |
| .50 | 11.00680 | . | . |
| .55 | 11.39229 | . | . |
| .60 | 11.78399 | . | . |
| .65 | 12.18885 | . | . |
| .70 | 12.61551 | . | . |
| .75 | 13.07594 | . | . |
| .80 | 13.58865 | . | . |
| .85 | 14.18628 | . | . |
| .90 | 14.93823 | . | . |
| .91 | 15.11985 | . | . |
| .92 | 15.31715 | . | . |
| .93 | 15.53410 | . | . |
| .94 | 15.77640 | . | . |
| .95 | 16.05274 | . | . |
| .96 | 16.37740 | . | . |
| .97 | 16.77653 | . | . |
| .98 | 17.30711 | . | . |
| .99 | 18.14337 | . | . |

**Ekstrak methanol**

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

| Prob    | KONS    | Number of<br>Subjects | Observed<br>Responses | Expected<br>Responses | Residual |   |
|---------|---------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|---|
|         | .00     | 10.0                  | .0                    | .000                  | .000     | . |
| 00002   | 10.00   | 10.0                  | .0                    | .001                  | -.001    | . |
| 00008   | 100.00  | 10.0                  | 3.0                   | 2.994                 | .006     | . |
| 29942   | 1000.00 | 10.0                  | 10.0                  | 10.000                | .000     | . |
| 1.00000 |         |                       |                       |                       |          |   |

—

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Confidence Limits for Effective KONS

95% Confidence Limits



| Prob | KONS      | Lower | Upper |
|------|-----------|-------|-------|
| .01  | 50.36277  | .     | .     |
| .02  | 57.87887  | .     | .     |
| .03  | 62.64759  | .     | .     |
| .04  | 66.23492  | .     | .     |
| .05  | 69.15293  | .     | .     |
| .06  | 71.63662  | .     | .     |
| .07  | 73.81433  | .     | .     |
| .08  | 75.76421  | .     | .     |
| .09  | 77.53754  | .     | .     |
| .10  | 79.16990  | .     | .     |
| .15  | 85.92830  | .     | .     |
| .20  | 91.29967  | .     | .     |
| .25  | 95.90782  | .     | .     |
| .30  | 100.04608 | .     | .     |
| .35  | 103.88080 | .     | .     |
| .40  | 107.51957 | .     | .     |
| .45  | 111.04012 | .     | .     |
| .50  | 114.50486 | .     | .     |
| .55  | 117.96959 | .     | .     |
| .60  | 121.49015 | .     | .     |
| .65  | 125.12892 | .     | .     |
| .70  | 128.96364 | .     | .     |
| .75  | 133.10190 | .     | .     |
| .80  | 137.71005 | .     | .     |
| .85  | 143.08141 | .     | .     |
| .90  | 149.83981 | .     | .     |
| .91  | 151.47217 | .     | .     |
| .92  | 153.24551 | .     | .     |
| .93  | 155.19539 | .     | .     |
| .94  | 157.37309 | .     | .     |
| .95  | 159.85678 | .     | .     |
| .96  | 162.77480 | .     | .     |
| .97  | 166.36212 | .     | .     |
| .98  | 171.13085 | .     | .     |
| .99  | 178.64695 | .     | .     |

### Ekstrak air

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

Confidence Limits for Effective KONS

| Prob | KONS       | 95% Confidence<br>Lower | Limits<br>Upper |
|------|------------|-------------------------|-----------------|
| .01  | -835.00137 | .                       | .               |
| .02  | -609.68329 | .                       | .               |
| .03  | -466.72619 | .                       | .               |
| .04  | -359.18514 | .                       | .               |
| .05  | -271.70879 | .                       | .               |
| .06  | -197.25267 | .                       | .               |
| .07  | -131.96922 | .                       | .               |
| .08  | -73.51568  | .                       | .               |

|     |            |   |   |
|-----|------------|---|---|
| .09 | -20.35453  | . | . |
| .10 | 28.58041   | . | . |
| .15 | 231.18410  | . | . |
| .20 | 392.20709  | . | . |
| .25 | 530.35048  | . | . |
| .30 | 654.40751  | . | . |
| .35 | 769.36484  | . | . |
| .40 | 878.44810  | . | . |
| .45 | 983.98742  | . | . |
| .50 | 1087.85345 | . | . |
| .55 | 1191.71949 | . | . |
| .60 | 1297.25881 | . | . |
| .65 | 1406.34207 | . | . |
| .70 | 1521.29940 | . | . |
| .75 | 1645.35643 | . | . |
| .80 | 1783.49982 | . | . |
| .85 | 1944.52281 | . | . |
| .90 | 2147.12650 | . | . |
| .91 | 2196.06143 | . | . |
| .92 | 2249.22259 | . | . |
| .93 | 2307.67613 | . | . |
| .94 | 2372.95958 | . | . |
| .95 | 2447.41569 | . | . |
| .96 | 2534.89204 | . | . |
| .97 | 2642.43310 | . | . |
| .98 | 2785.39020 | . | . |
| .99 | 3010.70827 | . | . |



Lampiran 3. Uji aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana, etil asetat, metanol dan air (konsentrasi 100 ppm)

ekstrak *n*-heksana

| Menit ke- | Absorbansi 1 | Absorbansi 2 | Absorbansi 3 | Rata-rata |
|-----------|--------------|--------------|--------------|-----------|
| 0         | 1,7070       | 1,7041       | 1,7055       | 1,7055    |
| 10        | 1,2294       | 1,2318       | 1,2328       | 1,2313    |
| 20        | 1,1369       | 1,1385       | 1,1393       | 1,1382    |
| 30        | 1,0761       | 1,0765       | 1,0758       | 1,076     |

ekstrak etil asetat

| Menit ke- | Absorbansi 1 | Absorbansi 2 | Absorbansi 3 | Rata-rata |
|-----------|--------------|--------------|--------------|-----------|
| 0         | 0,2456       | 0,2428       | 0,2408       | 0,2431    |
| 10        | 0,0827       | 0,0828       | 0,0828       | 0,0828    |
| 20        | 0,0725       | 0,0734       | 0,0736       | 0,0732    |
| 30        | 0,0654       | 0,0655       | 0,0656       | 0,0655    |

ekstrak metanol

| Menit ke- | Absorbansi 1 | Absorbansi 2 | Absorbansi 3 | Rata-rata |
|-----------|--------------|--------------|--------------|-----------|
| 0         | 0,0810       | 0,0816       | 0,0814       | 0,0813    |
| 10        | 0,0689       | 0,0682       | 0,0688       | 0,0686    |
| 20        | 0,0623       | 0,0626       | 0,0626       | 0,0625    |
| 30        | 0,0548       | 0,0546       | 0,0546       | 0,0547    |

ekstrak air

| Menit ke- | Absorbansi 1 | Absorbansi 2 | Absorbansi 3 | Rata-rata |
|-----------|--------------|--------------|--------------|-----------|
| 0         | 1,8116       | 1,8247       | 1,8305       | 1,8222    |
| 10        | 1,7012       | 1,7070       | 1,7114       | 1,7065    |
| 20        | 1,6168       | 1,6251       | 1,6300       | 1,6240    |
| 30        | 1,5412       | 1,5472       | 1,5472       | 1,5252    |

Blanko

| Menit ke- | Absorbansi 1 | Absorbansi 2 | Absorbansi 3 | Rata-rata |
|-----------|--------------|--------------|--------------|-----------|
| 0         | 1,9548       | 1,9625       | 1,9678       | 1,9617    |
| 10        | 1,9471       | 1,9678       | 1,9812       | 1,9654    |
| 20        | 1,9625       | 1,9758       | 1,9840       | 1,9741    |
| 30        | 1,9496       | 1,9599       | 1,9652       | 1,9582    |

Lampiran 4. Uji aktivitas antioksidan hasil fraksinasi kolom ekstrak etil asetat

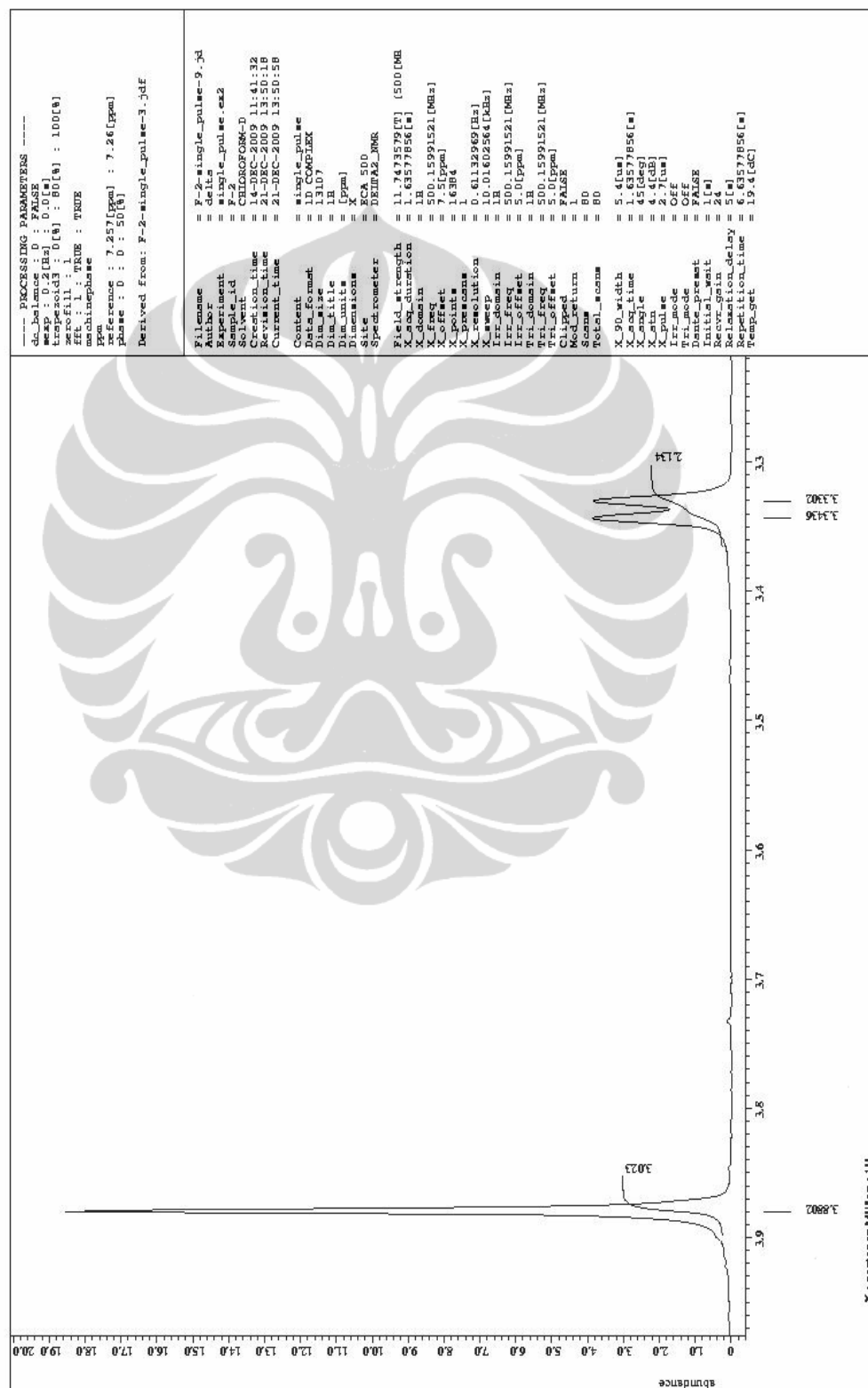
| Fraksi | Abs 1  | Abs2   | Abs 3  | Rata-rata |
|--------|--------|--------|--------|-----------|
| 3      | 0,0680 | 0,0662 | 0,0670 | 0,0671    |
| 6      | 1,2384 | 1,2384 | 1,2379 | 1,2382    |
| 7      | 0,7363 | 0,7374 | 0,7381 | 0,7373    |
| 8      | 0,6194 | 0,6202 | 0,6208 | 0,6201    |
| 10     | 1,2393 | 1,2417 | 1,2417 | 1,2409    |
| 11     | 1,2282 | 1,2323 | 1,2351 | 1,2319    |
| 12     | 1,2710 | 1,2756 | 1,2772 | 1,2746    |
| blanko | 1,8661 | 1,8761 | 1,8865 | 1,8762    |







## Lampiran 7. Spektrum RMI Proton dengan perbesaran 3,3~ 3,9 ppm





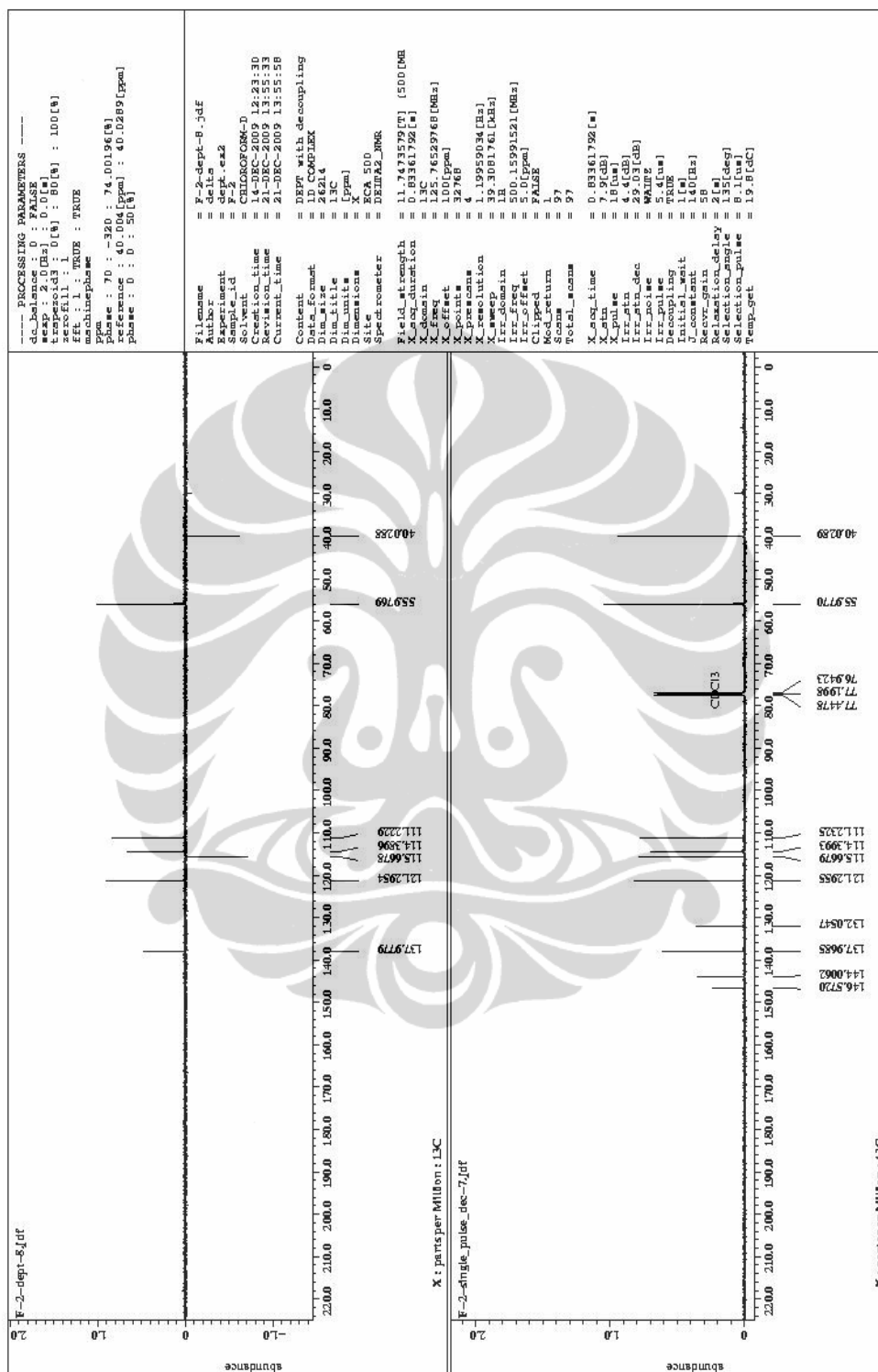




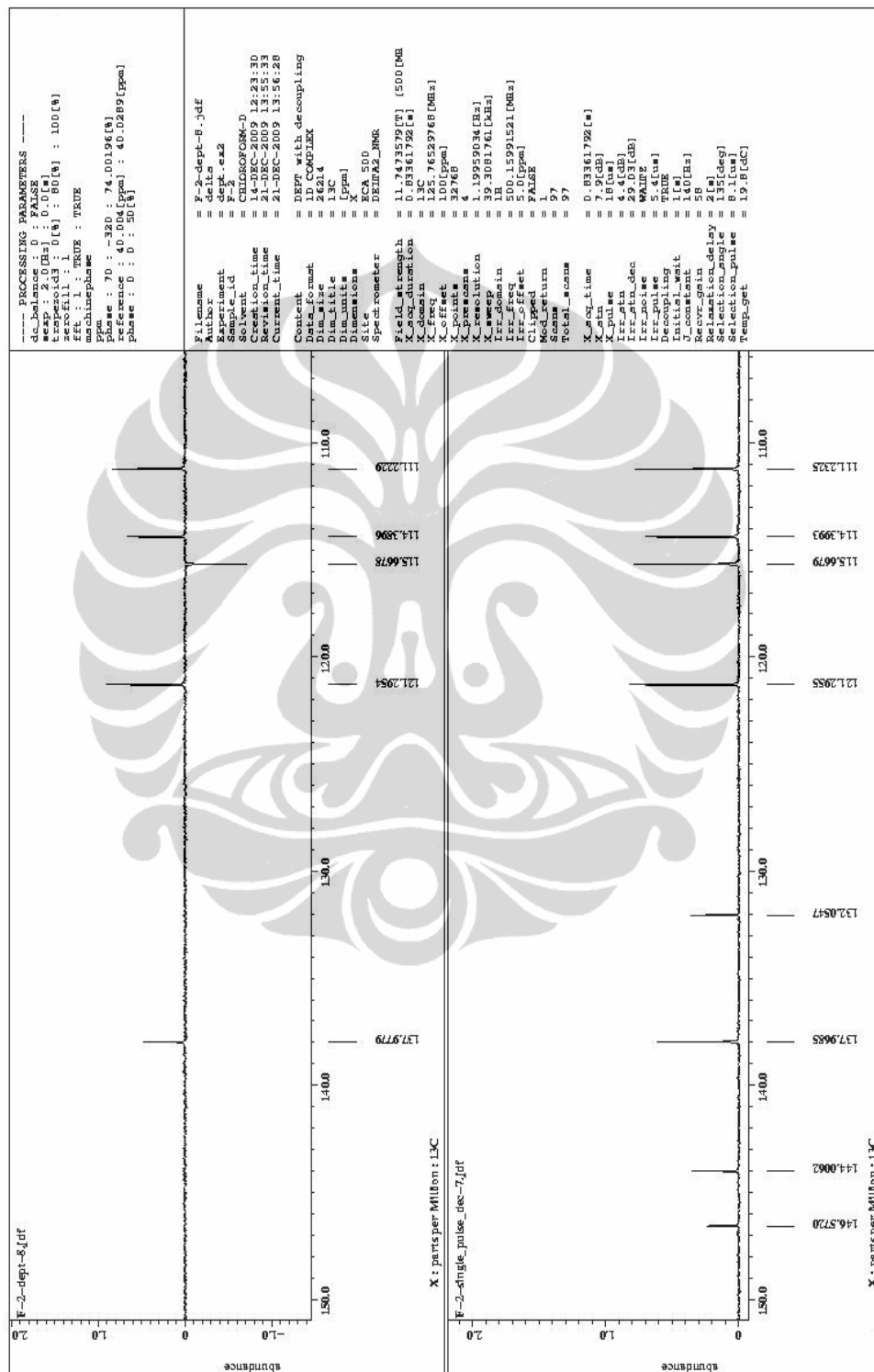




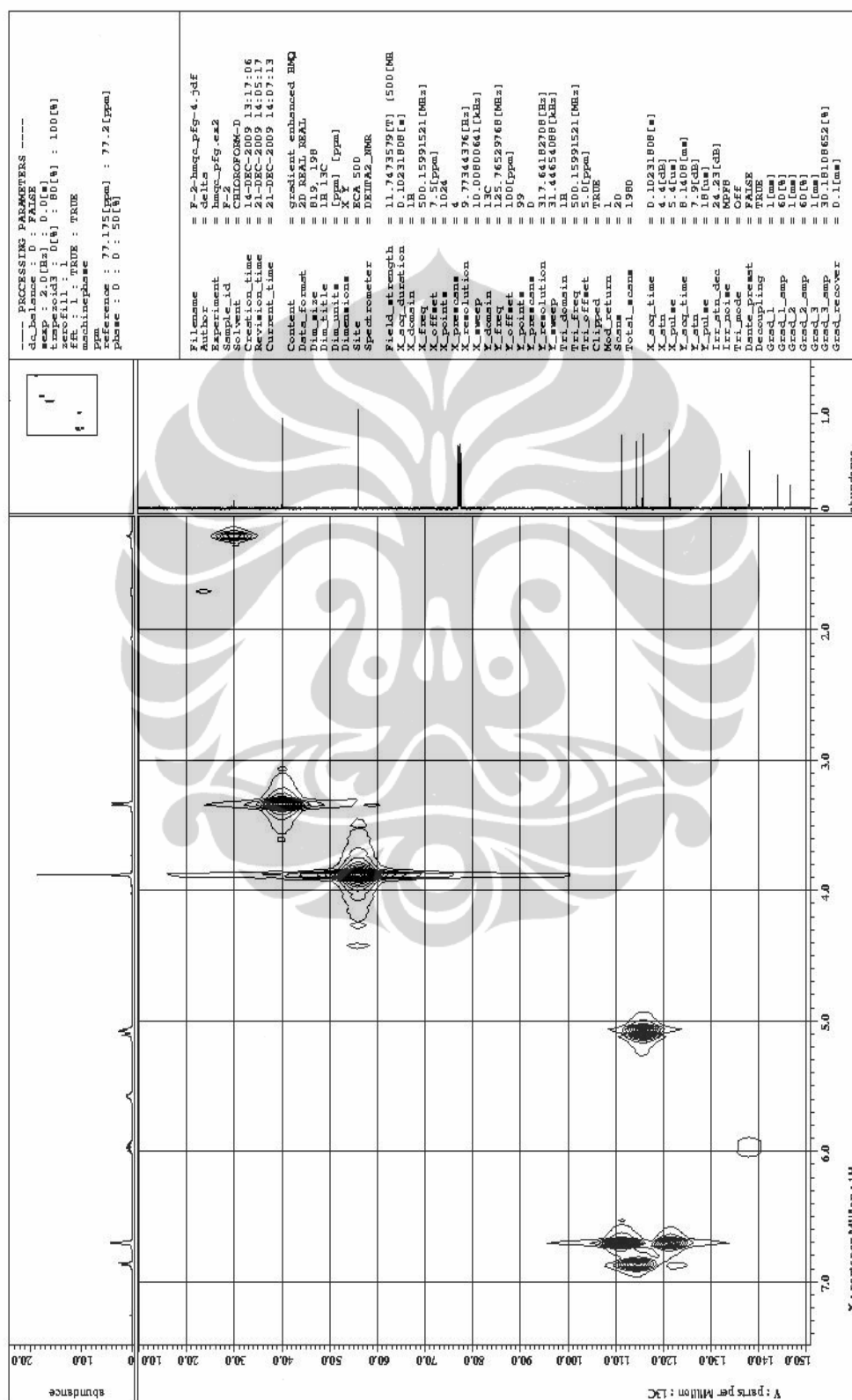
## Lampiran 12. Spektrum RMI Karbon DEPT isolat senyawa fraksi 3



## Lampiran 13. Spektrum RMI Karbon DEPT dengan perbesaran 111~147 ppm

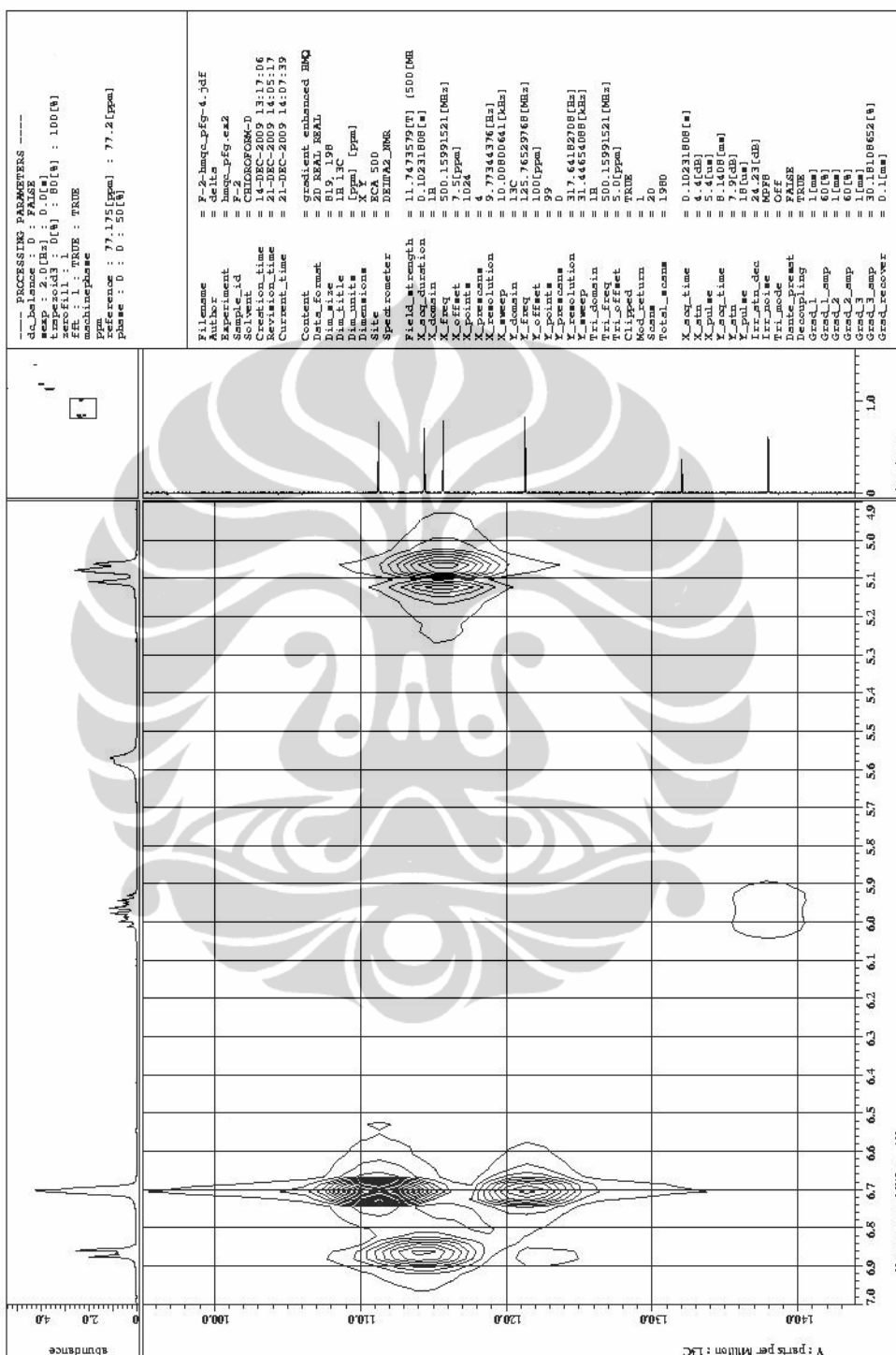


## Lampiran 14. Spektrum RMI 2 dimensi HMQC isolat senyawa fraksi 3

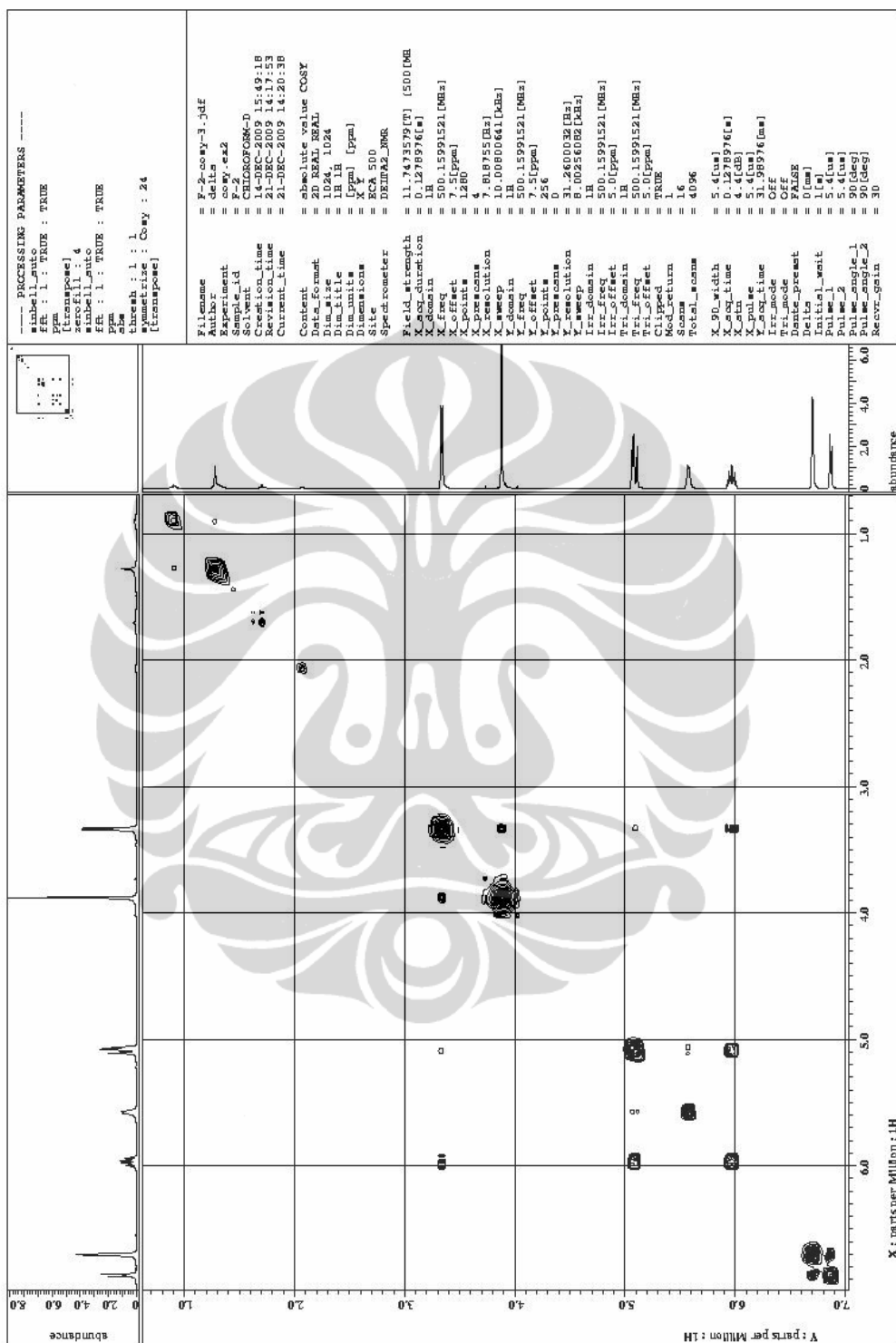




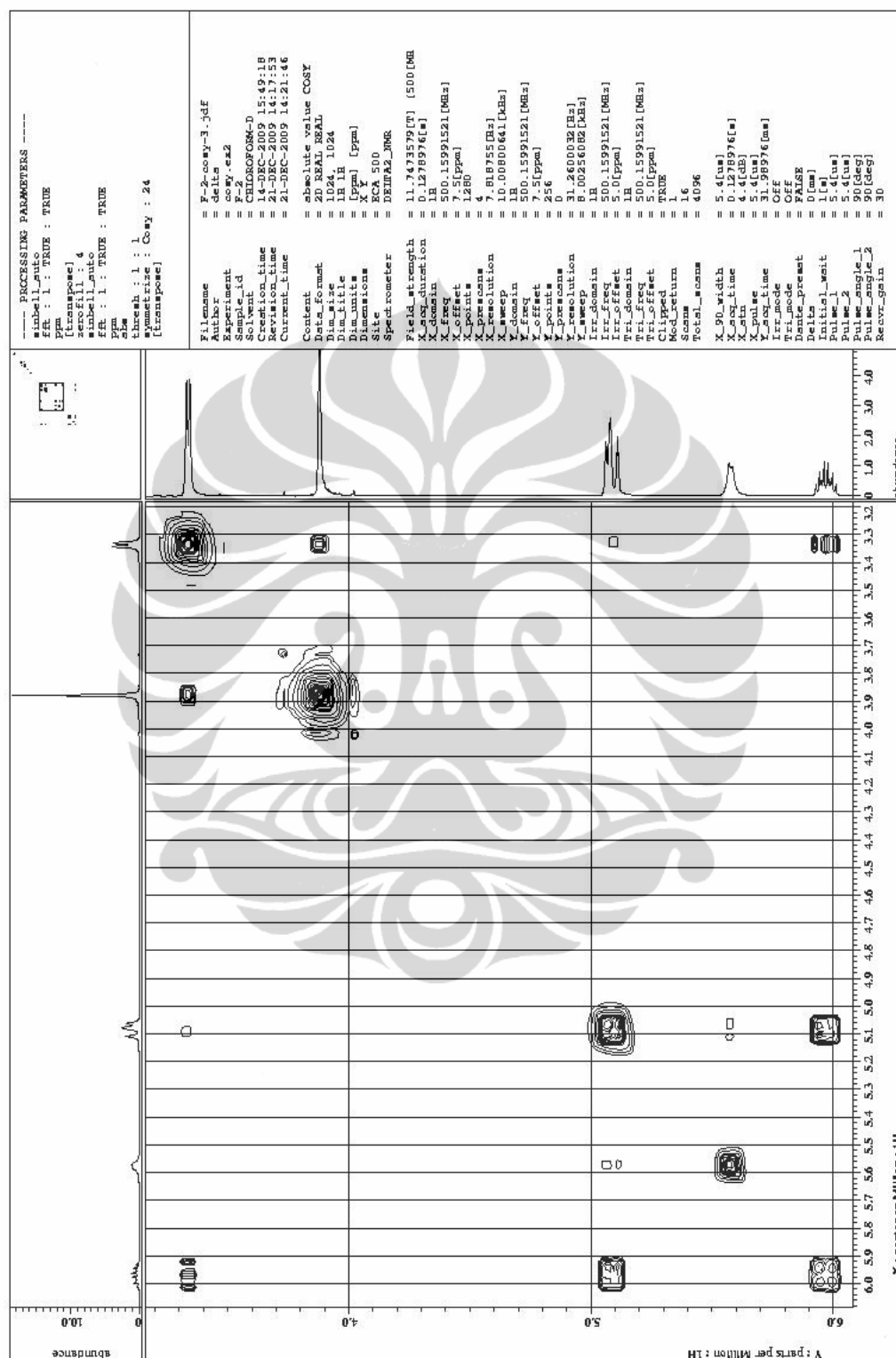
## Lampiran 16. Spektrum RMI 2 dimensi HMQC dengan perbesaran 4,9~7,0 ppm

Lampiran 17. Spektrum RMI 2 Dimensi  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY isolat senyawa fraksi 3





Lampiran 18. Spektrum RMI 2 Dimensi  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY dengan perbesaran 3,2~6,0 ppm



Lampiran 19. Spektrum RMI 2 Dimensi  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY dengan perbesaran  
5,0~6,9 ppm

