

UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL SENYAWA
KIMIA DALAM FRAKSI ASAM DARI DAUN JAMBU BIJI LOKAL
DAGING BUAH MERAH (*Psidium guajava* L.)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

RETNO HAPSARI

0706263366

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI KIMIA

DEPOK

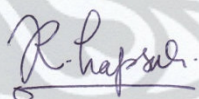
JULI 2011

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Retno Hapsari

NPM : 0706263366

Tanda Tangan : 

Tanggal : 4 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Retno Hapsari
NPM : 0706263366
Program Studi : Kimia
Judul Skripsi : Studi Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia Dalam Fraksi Asam Dari Daun Jambu Biji Lokal Daging Buah Merah (*Psidium guajava* L.)

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc	(.....)
Pembimbing II	: Dr. Ir. Antonius Herry Cahyana	(.....)
Penguji	: Dr. Emil Budianto	(.....)
Penguji	: Drs. Erzi Rizal Azwar	(.....)
Penguji	: Prof. Dr. Sumi Hudyono. PWS	(.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 4 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, atas berkat dan rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia FMIPA Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini telah banyak pihak yang berperan besar, dalam membimbing dan memberi bantuan baik materi maupun moril. Oleh karena itu, saya berterima kasih kepada:

- (1) Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc, dan Dr. Ir. Antonius Herry Cahyana selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini;
- (2) Pihak Departemen Kimia yang telah banyak membantu dalam usaha memperoleh data dan keperluan laboratorium yang saya perlukan.;
- (3) Keluarga saya; ayah, ibu, dan kakak tercinta yang selalu memberikan doa, semangat, nasihat dengan penuh kesabaran, dukungan baik material maupun moril; dan
- (4) Sahabat-sahabat terbaikku: Mega, Yulinar, Masayu, Tyas, Prita, Annisa, serta mahasiswa kimia, khususnya mahasiswa penelitian: Awaliatul, Ika N, Kak Desi, Rifan, Kak Arif, Kak Steffanus, Dante, Bu Muryeti, Masayu, Evi, Sherly, Fitri, Hani, Zetri, Rafi, Kak Destya, Kak Omi, Kak Nani, Kak Novi, Kak Nadia, Kak Nadiroh, Tyas, Iki, Jo, Ari, Gisha, Ika A, dll yang telah menemani dan memberi dukungan, dan yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
- (5) Teman-teman 2007 yang selalu memberi semangat dan bantuan secara tulus;
- (6) Kakak-kakak senior yang selalu memberikan masukan yang bermanfaat: Kak Sopianita, Kak Nining, Kak Vania, Kak Yuda, Kak Puji, dll;

- (7) Edwin Pradana yang telah meluangkan waktunya dan menjadi inspirasi serta semangat dalam mengerjakan skripsi ini;
- (8) Staff afiliasi Departemen Kimia yang telah membantu dalam penggunaan FTIR, Bu Endah, Bu Eva, Puslabfor Mabes Polri yang meluangkan waktunya untuk membantu identifikasi senyawa dalam penelitian saya;
- (9) Bpk Sutrisno, yang telah membantu memberi informasi tentang bahan pustaka yang saya perlukan dalam menyusun skripsi ini;
- (10) Para teman dan sahabat yang selama ini selalu memberikan doa dan semangat dalam hidup saya, Imel, Emil, Miskli, Mayumi, Indah, Mila, Katrin, Citra, Ka Hera, Maya, Uul, Yulia, Dwi, Ka Iwat, Mba Elva, Feby.
- (11) Pihak lain yang telah banyak membantu penulis dari awal penelitian hingga skripsi ini terselesaikan yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, saya berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis
Juli 2011

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

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

Nama : Retno Hapsari
NPM : 0706263366
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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 :

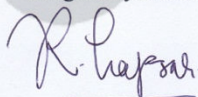
Studi Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia dalam Fraksi Asam dari Daun Jambu Biji Lokal Daging Buah Merah (*Psidium guajava L.*)

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 mempublikasikan 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 : 4 Juli 2011

Yang menyatakan



(Retno Hapsari)

ABSTRAK

Nama : Retno Hapsari
Program Studi : Kimia
Judul : Studi Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia dalam Fraksi Asam dari Daun Jambu Biji Lokal Daging Buah Merah (*Psidium guajava* L.)

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa kimia daun jambu biji lokal daging buah merah dalam fraksi asam. Daun jambu biji kering dimaserasi dengan metanol, ekstrak kasarnya kemudian dilarutkan dalam etil asetat dan diekstraksi dengan NaHCO_3 . Fraksi etil asetat diekstraksi dengan NaOH 5%, terdistribusi menjadi fraksi etil asetat dan fraksi NaOH 5%. Fraksi NaOH serta fraksi NaHCO_3 , yang diperoleh dari ekstraksi awal masing-masing ditambahkan HCl 10 % dan diekstraksi dengan etil asetat sehingga berturut-turut diperoleh fraksi fenolik dan fraksi asam. Fraksi asam yang memiliki spot paling dominan pada uji KLT, dimurnikan dengan kromatografi kolom dengan eluen etil asetat : n-heksan, didapatkan efluen berupa larutan berwarna coklat dan diuapkan pelarutnya. Senyawa hasil isolasi merupakan kristal berbentuk jarum berwarna kuning, selanjutnya dilakukan identifikasi dengan spektrofotometer FTIR, spektrometer $^1\text{H-NMR}$, dan GC-MS. Dari informasi yang ada, senyawa hasil identifikasi merupakan asam heksadekanoat (asam palmitat), dan 1,2-diisooktil benzendikarboksilat.

Kata Kunci : *Psidium guajava* L., asam heksadekanoat, asam palmitat, 1,2-diisooktil benzendikarboksilat
xii +64 halaman : 23 gambar; 5 tabel; 5 lampiran
Daftar Pustaka : 30 (1989-2010)

ABSTRACT

Name : Retno Hapsari
Study Program : Chemistry
Title : Study Isolation and Determination Molecule
Structure of Chemical Compounds from Local Red
Pulp Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) of Acid
Fraction

Guava leaves (*Psidium guajava* L.) are widely used to treat various diseases. This study has been carried out isolation and identification of chemical compounds of guava leaves local red pulp in the acid fraction. Dried guava leaves macerated with methanol, then crude extract was dissolved in ethyl acetate and extracted with NaHCO₃. Ethyl acetate fraction was extracted with NaOH 5%, distributed into fractions of ethyl acetate and 5% NaOH fraction. Fraction of NaOH and NaHCO₃ fractions, obtained from the initial extraction of each added 10% HCl and extracted with ethyl acetate so that the successive fractions obtained phenolic and acid fractions. Acid fraction which has the most dominant spot on the TLC test, purified by column chromatography with eluent ethyl acetate: n-hexane, the effluent obtained and the solvent was evaporated. The isolated compounds form yellow crystals, then performed the identification with FTIR spectrophotometer, H¹-NMR spectrometer, and GC-MS. From the information available, the identification of compounds are hexadecanoic acid (palmitic acid), and 1,2-diisooctyl benzenedicarboxylic.

Keywords : *Psidium guajava* L., hexadecanoic acid., palmitic acid., 1,2-diisooctyl benzenedicarboxylic
xii + 64 pages : 23 figures; 5 tables; 5 appendix
Bibliography : 30 (1989-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Taksonomi.....	4
2.2 Nama-nama Daerah.....	4
2.3 Morfologi Tumbuhan <i>Psidium guajava</i> L.....	5
2.4 Manfaat Tumbuhan <i>Psidium guajava</i> L.....	7
2.5 Kandungan Senyawa Kimia Daun Jambu Biji.....	8
2.6 Isolasi Senyawa.....	11
2.6.1 Maserasi	11
2.6.2 Ekstraksi.....	12
2.6.3 Kromatografi Lapis Tipis.....	13
2.6.4 Kromatografi Kolom.....	15
2.7 Identifikasi Senyawa.....	16
2.7.1 Spektrofotometer FTIR.....	16
2.7.2 Spektrometer GC-MS	17
2.7.3 Spektroskopi NMR	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
3.1 Lokasi dan waktu penelitian.....	21
3.2 Alat dan bahan	21
3.2.1 Sampel.....	21
3.2.2 Alat-alat.....	21
3.2.3 Bahan	22

3.3.1	Bagan isolasi daun jambu biji	23
3.3.2	Ekstraksi sampel dan KLT	24
3.3.3	Pemisahan senyawa kimia daun jambu biji	25
3.3.3.1	Pemisahan ekstrak kasar metanol	25
3.3.3.2	Pemisahan senyawa fraksi etil asetat	26
3.3.4	Analisis spektroskopi	26
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1	Persiapan sampel.....	27
4.2	Ekstraksi sampel	28
4.3	Uji spot dengan KLT.....	30
4.4	Pemisahan dengan kromatografi kolom.....	31
4.5	Identifikasi senyawa.....	34
4.5.1	Spektrofotometer FTIR	34
4.5.2	Spektrometer GC-MS	35
4.5.3	Spektroskopi H ¹ -NMR.....	48
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
	DAFTAR PUSTAKA	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Profil tumbuhan jambu biji.....	7
Gambar 2.2	Struktur beberapa senyawa kimia dalam daun jambu biji hijau...11	
Gambar 3.2	Bagan isolasi daun jambu biji.....	23
Gambar 4.1	Daun jambu biji.....	27
Gambar 4.2	Daun jambu biji kering dan bubuk halus.....	27
Gambar 4.3	Pemekatan hasil maserasi.....	28
Gambar 4.4	Ekstraksi fraksi etil asetat-NaOH 5%.....	29
Gambar 4.5	Ekstraksi fraksi NaHCO ₃ dan fraksi NaOH.....	29
Gambar 4.6	Hasil KLT fraksi hasil fraksinasi dengan larutan pengembang etil asetat : heksan.....	31
Gambar 4.7	Fraksi asam.....	32
Gambar 4.8	Pemisahan dengan kromatografi kolom.....	33
Gambar 4.9	KLT fraksi 24-34.....	33
Gambar 4.10	Spektrum FTIR fraksi asam.....	35
Gambar 4.11	Spektrum GC-MS fraksi asam.....	36
Gambar 4.12	Seny. 1,2-diisooktil benzendikarboksilat.....	37
Gambar 4.13	Spektra fragmetasi senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat..	38
Gambar 4.14	Fragmentasi 1,2-diisooktil benzendikarboksilat.	40
Gambar 4.15	Senyawa asam heksadekanoat.....	41
Gambar 4.16	Spektra fragmetasi senyawa asam heksadekanoat	41
Gambar 4.17	Fragmentasi asam heksadekanoat.....	44
Gambar 4.18	Jalur biosintesis asam heksadekanoat.....	47
Gambar 4.19	Spektrum H ¹ NMR.....	48
Gambar 4.20	Proton dari gugus metil pada isopropil.....	49
Gambar 4.21	Proton pada cincin aromatik.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Perolehan fraksi dari proses fraksinasi.....	30
Tabel 4.2.	Perbandingan fasa gerak.....	32
Tabel 4.3	Perbandingan bilangan gelombang fraksi asam dengan tabel korelasi.....	34
Tabel 4.4	Perbandingan m/z dari fragmentasi fraksi asam dengan 1,2-diisooktil benzendikarboksilat.....	38
Tabel 4.5	Perbandingan m/z dari fragmentasi fraksi asam dengan senyawa asam heksadekanoat	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil identifikasi/ determinasi tumbuhan.....	55
Lampiran 2	Spektrum IR fraksi asam.....	56
Lampiran 3	Spektrum MS fraksi asam.....	57
Lampiran 4	Spektra MS perbandingan fragmentasi fraksi asam dengan senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat.....	62
Lampiran 5	Spektra MS perbandingan fragmentasi fraksi asam dengan senyawa asam heksadekanoat (asam palmitat).....	63
Lampiran 6	Spektrum H ¹ NMR.....	64

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Berbagai macam tumbuhan dapat tumbuh subur di seluruh Nusantara Indonesia, dan banyak manfaat yang dapat diambil dari tumbuhan tersebut mulai dari akar, batang, daun, buah, dan bijinya. Masyarakat Indonesia, secara turun temurun menggunakan tumbuhan sebagai sumber bahan alam untuk keperluan pengobatan tradisional untuk mengatasi masalah kesehatan. Hal ini dikarenakan pengobatan tradisional relatif murah dan tidak banyak efek sampingnya.

Salah satu famili tumbuhan yang hidup di Kepulauan Indonesia adalah famili Myrtaceae. Famili ini memiliki beragam genus, salah satunya adalah genus *Psidium*. Salah satu spesies yang terkenal dari genus ini adalah *Psidium guajava* L. atau di Indonesia dikenal dengan nama tumbuhan jambu biji.

Jambu biji termasuk tanaman perdu dan memiliki banyak cabang dan ranting, batang pohonnya keras. Permukaan kulit luar pohon jambu biji berwarna coklat dan licin. Apabila kulit kayu jambu biji tersebut dikelupas, akan terlihat permukaan batang kayunya basah. Bentuk daunnya umumnya bercorak bulat telur dengan ukuran yang agak besar. Bunganya kecil-kecil berwarna putih dan muncul dari balik ketiak daun. Tanaman ini dapat tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai pada ketinggian 1200 meter di atas permukaan laut. Pada umur 2-3 tahun jambu biji sudah mulai berbuah. Bijinya banyak dan terdapat pada daging buahnya.

Jambu biji adalah salah satu tanaman buah jenis perdu, dalam bahasa Inggris disebut Lambo guava. Tanaman ini berasal dari Brazilia Amerika Tengah, menyebar ke Thailand kemudian ke negara Asia lainnya seperti Indonesia. Hingga saat ini telah dibudidayakan dan menyebar luas di daerah-daerah Jawa. Jambu biji sering disebut juga jambu klutuk, jambu siki, atau jambu batu.

Bagian dari tanaman pohon jambu biji yang sering digunakan untuk berbagai keperluan manusia adalah kulit batang, daun, dan buahnya. Pemanfaatan

kulit batang dan daun dalam bidang kesehatan memiliki sejarah yang cukup panjang dan masih terus berlangsung sampai saat ini. Daun jambu seringkali digunakan untuk pengobatan diare, gastroenteritis, dan keluhan-keluhan lain yang berhubungan dengan pencernaan.

Daun jambu biji mengandung tannin, minyak atsiri, asam psidiolat, asam kartogolat, asam guajavrin, dan vitamin. Penelitian yang dilakukan oleh Tachakittirungroda dkk. (2007), menunjukkan bahwa tiga flavonoid aktif dari ekstrak metanol daun jambu biji yang tumbuh di Thailand yaitu kuersetin, kuersetin-3-O-glukopiranosid dan morin, memiliki aktivitas sebagai agen penangkap radikal bebas (antioksidan).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (POM) bekerja sama dengan Fakultas Kedokteran dan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga (Unair) Surabaya tahun 2003, daun jambu biji tua ternyata mengandung berbagai macam komponen yang berkhasiat untuk mengatasi penyakit demam berdarah dengue (DBD). Kelompok senyawa tannin dan flavonoid yang dinyatakan sebagai quersetin dalam ekstrak daun jambu biji dapat menghambat aktivitas enzim reverse transcriptase yang berarti menghambat pertumbuhan virus berinti RNA.

Dalam penelitian ini, dilakukan isolasi senyawa kimia yang terkandung dalam daun jambu biji lokal daging buah merah. Struktur molekul senyawa kimia hasil isolasi diidentifikasi dengan spektrometer H^1NMR , GCMS, spektrofotometer FTIR.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan menentukan struktur molekul senyawa kimia daun jambu biji lokal daging buah merah (*Psidium guajava* L.) pada fraksi asam.

1.3 Perumusan Masalah

Daun jambu biji mengandung beberapa senyawa yang bersifat asam, maka berdasarkan latar belakang tersebut di atas, dirumuskan permasalahan berikut:

senyawa apa yang dikandung dalam fraksi asam pada ekstrak daun jambu biji lokal daging buah merah.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Taksonomi

Taksonomi tanaman *Psidium guajava* L. adalah sebagai berikut:

Kingdom: Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi: Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)

Sub Kelas: Rosidae

Ordo: Myrtales

Famili: Myrtaceae (suku jambu-jambuan)

Genus: *Psidium*

Spesies: *Psidium guajava* L

2.2 Nama-Nama Daerah

Di beberapa daerah, tanaman jambu biji mempunyai nama yang berbeda-beda di antaranya:

Indonesia: jambu batu

Indonesia, Jawa, Sunda: jambu klutuk

Jawa: jambu krikil, jambu petakol, jambu bayawas

Sunda: jambu siki

Madura: jambu bhendher, jambu bighi

Aceh: glime breueh

Batak karo: galiman

Nias: masiambu

Bali: sotong

Makasar: jambu paratugala

Inggris: guava

Papua: giawas

Vietnam: oi

Thailand: farang

Filipina: bayabas, guayabas, kalimbahin

China: fan shi liu gan

2.3 Morfologi Tanaman Psidium guajava

Tanaman jambu biji merupakan jenis tanaman perdu, tingginya 5-10 meter, batang berkayu, bulat, kulit kayu licin, mengelupas, bercabang, warna coklat kehijauan. Daun tunggal, bulat telur, ujungnya tumpul, pangkal membulat, tepi rata, panjang 6-14 cm, lebar 3-6 cm, pertulangan menyirip, warna hijau kekuningan. Daun muda berbulu abu-abu, daun bertangkai pendek. Bunga tunggal di ketiak daun, mahkota bulat telur, panjang 1,5 cm, warna putih kekuningan. Bakal buah tenggelam, beruang 4-5, buah buni bundar, bentuk buah peer atau buah bulat telur, warna putih kekuningan atau merah muda, panjang 5-8,5 cm.

Daun (folium)

Merupakan suatu bagian yang penting, yang berfungsi sebagai alat pengambilan zat – zat makanan, asimilasi transpirasi dan respirasi. Daun jambu biji tergolong daun tidak lengkap karena hanya terdiri dari tangkai dan helaian saja, disebut daun bertangkai.

Sifat – sifat daun yang dimiliki oleh jambu adalah sebagai berikut :

a. Bangun daun (Circumscription)

Dilihat dari letak bagian terlebarnya jambu biji bagian terlebar daunnya berada ditengah – tengah dan memiliki bangun jorong karena perbandingan panjang : lebarnya adalah $\frac{1}{2} - 2 : 1$

b. Ujung (epex)

Jambu biji memiliki ujung yang tumpul tepi daun yang semula masih agak jauh dari ibu tulang, cepat menuju kesuatu titik pertemuan membentuk sudut 90^0

c. Pangkal (basis folii)

Karena tepi daunnya tidak pernah bertemu, tetapi terpisah oleh pangkal ibu tulang / ujung tangkai daun, maka pangkal dari daun jambu biji ini, adalah tumpul (obtusus)

d. Susunan tulang – tulang daun (nervation atau vanation)

Daun jambu biji memiliki pertumbuhan daun yang menyirip (penninervis) dimana daun ini memiliki satu ibu tulang yang berjalan dari pangkal ke ujung dan merupakan terusan tangkai daun dari ibu tulang kesamping, keluar tulang – tulang cabang, sehingga susunannya mengingatkan kita kepada susunan sirip – sirip pada ikan.

e. Tepi daun (margo)

Jambu biji memiliki tepi daun yang rata (integer)

f. Daging daun (intervinium)

Sifat – sifat lain yang perlu diperhatikan antara lain :

1. Warna: Hijau
2. Permukaan daun: Pada umumnya warna daun pada sisi atas tampak lebih hijau licin dan mengkilat jika di dibandingkan dengan sisi bawah karena lapisan atas lebih banyak terhadap warna

hijaunya, jambu biji memiliki permukaan daun yang berkerut (rogosus).

Profil tumbuhan jambu biji dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Profil tumbuhan jambu biji

(Sumber: <http://www.google.co.id/images> *Psidium guajava* L.)

2.4 Manfaat Tanaman *Psidium guajava*

Daun jambu biji dapat digunakan sebagai bahan untuk pengobatan beberapa penyakit, diantaranya; diabetes mellitus, maag, sakit perut (diare, mencret), masuk angin, beser (sering buang air kecil) berlebihan, prolapsisani,

sariawan, sakit kulit, obat luka baru. Disamping itu, jambu biji mempunyai khasiat sebagai anti inflamasi, anti mutagenik, anti mikroba dan analgesik. Beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam jambu biji antara lain, polifenol, karoten, flavonoid dan tannin. Dengan adanya kandungan senyawa itu diperkirakan daun jambu biji juga mempunyai aktivitas antioksidan yang erat khasiatnya dalam mengobati berbagai penyakit. (Susi Indariani, Peneliti dari Pusat Studi Biofarmaka Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat Institut Pertanian Bogor (IPB)).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (POM) bekerja sama dengan Fakultas Kedokteran dan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga (Unair) Surabaya, yang sejak 2003 meneliti ekstrak daun jambu biji untuk pengobatan DBD, daun jambu biji tua ternyata mengandung berbagai macam komponen yang berkhasiat untuk mengatasi penyakit demam berdarah dengue (DBD). Kelompok senyawa tanin dan flavonoid yang dinyatakan sebagai quersetin dalam ekstrak daun jambu biji dapat menghambat aktivitas enzim reverse transcriptase yang berarti menghambat pertumbuhan virus berinti RNA. Daun jambu biji memang mengandung berbagai macam komponen. Berkaitan dengan itu telah dilakukan uji invitro ekstrak daun jambu biji di mana ekstrak tersebut terbukti dapat menghambat pertumbuhan virus dengue. Kelak setelah dilakukan penelitian lebih lanjut diharapkan ekstrak daun jambu biji dapat digunakan sebagai obat anti virus dengue.

2.5 Kandungan Senyawa Kimia Daun Jambu Biji

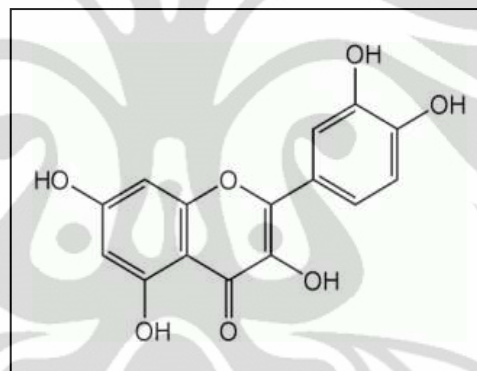
Komponen yang dominan dalam daun jambu biji: β -selinene, β -caryophyllene, caryophyllene oxide, squalene, selin-11-en-4 α -ol (Mackes et al., 1996), guajavarin, isoquercetin, hyperin, quercitrin, quercitrin-3-O-gentobioside (Lozoya et al., 1994), morin-3-O- α -L-lyxopyranoside, morin-3-O- α -L-arabopyranoside (Arima, Danno, 2002), β -sitosterol, uvaol, asam oleanolat, asam ursolat (Begum et al., 2004).

Daun jambu biji mengandung tannin, minyak atsiri, asam psidiolat, asam kartogolat, asam guajavarin, dan vitamin. Penelitian yang dilakukan oleh

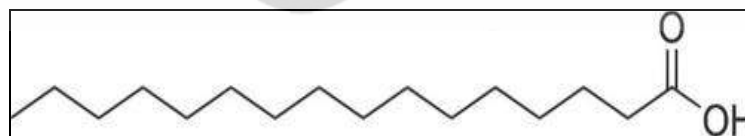
Tachakittirungroda dkk. (2007), menunjukkan bahwa tiga flavonoid aktif dari ekstrak metanol daun jambu biji yang tumbuh di Thailand yaitu kuersetin, kuersetin-3-O-glukopiranosida dan morin, memiliki aktivitas sebagai agen penangkap radikal bebas (antioksidan).

Selain senyawa tersebut, daun jambu biji mengandung senyawa avicularin, limonene, asam linoleat, asam linolenat, myricetin, myristic, asam oleat, asam oksalat, asam palmitat, asam palmitoleat, polyphenols, asam psidiolat, quercetin, quercitrin, tannins, terpenes, and asam ursolat.

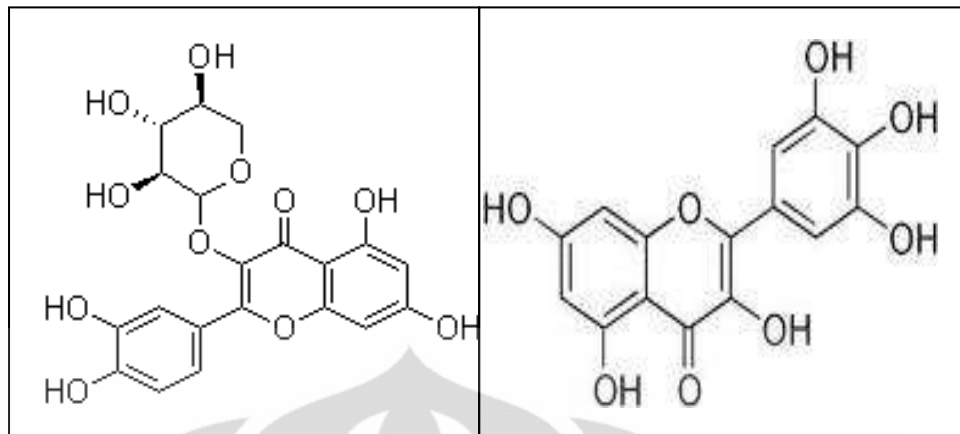
(<http://www.raintree.com/guava.htm>)



Quercetin

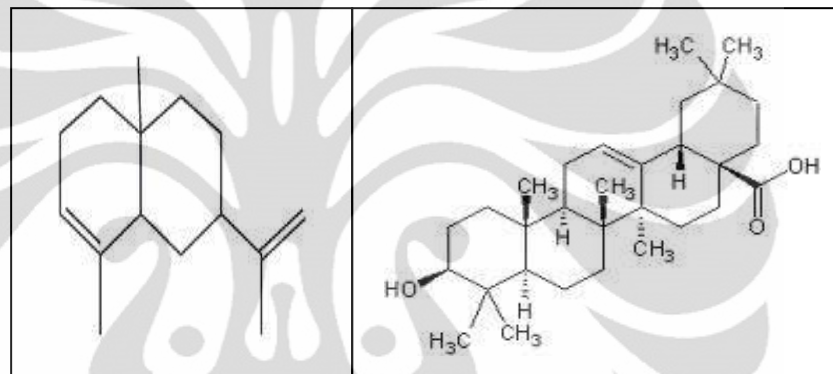


Asam palmitat



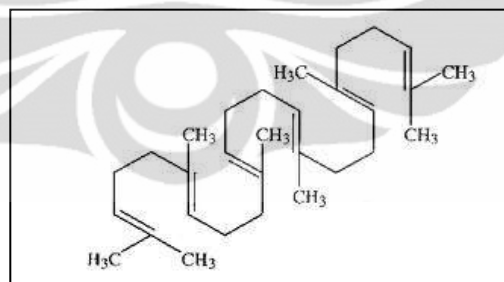
Avicularin

Myricetin

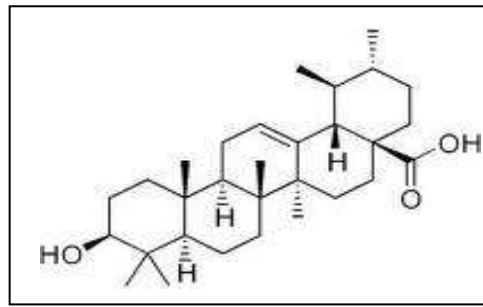


Alpha-selinene

Asam oleanolat



Squalene



Asam ursolat

Gambar 2.2. Struktur beberapa senyawa kimia dalam daun jambu biji hijau

(Sumber: <http://findmeacure.com/2008/08/19>

<http://winecellarva.wordpress.com/page/2/>

<http://www.chemblink.com/products/572-30-5.htm>)

2.6 Isolasi Senyawa Kimia

2.6.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia (pada penelitian ini daun jambu biji kering) dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali perendaman atau pengadukan pada temperatur ruangan. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan.

Maserasi merupakan proses dimana simplisia yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat mudah larut akan melarut (Ansel, 1989).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat organik. Zat organik akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

2.6.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, untuk mengambil zat terlarut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Secara umum, zat terlarut akan didistribusikan, atau dipartisi antara kedua fasa yang tersedia.

Hukum distribusi atau partisi dapat dirumuskan: bila suatu zat terlarut terdistribusi antara dua pelarut yang tidak dapat bercampur, maka pada suatu temperatur yang konstan untuk setiap spesi molekul terdapat angka banding distribusi yang konstan antara kedua pelarut itu, dan angka banding distribusi ini tidak tergantung pada spesi molekul lain apapun yang mungkin ada. Harga angka banding berubah dengan sifat dasar pelarut, sifat dasar zat terlarut, dan temperatur (Svehla, 1990).

Sebuah kesetimbangan distribusi akan tercapai, dan konstanta kesetimbangan untuk proses ini disebut koefisien distribusi, atau koefisien partisi. Jika kita mengasumsikan air yang merupakan salah satu pelarut, dan yang lain pelarut organik, koefisien distribusi dirumuskan:

$$K_{\text{org/air}} = \frac{[A]_{\text{org}}}{[A]_{\text{air}}}$$

Koefisien distribusi adalah ukuran kecenderungan untuk zat terlarut berada dalam satu fasa dibandingkan yang fasa lainnya dan sama dengan rasio kelarutan untuk A dalam pelarut masing-masing.

Nilai K_D tidak bergantung pada konsentrasi total zat terlarut pada kedua fasa tersebut. Bila konsentrasi total zat didalam kedua fasa diperhitungkan, maka digunakan istilah perbandingan distribusi (D) dimana,

$$D = \frac{\text{Konsentrasi total zat pada fasa organik}}{\text{Konsentrasi total zat pada fasa air}}$$

Bila tidak terjadi asosiasi, disosiasi atau polimerisasi pada fasa-fasa tersebut dan keadaannya adalah ideal, maka harga $K_D = D$. Untuk tujuan praktis, sebagai ganti harga K_D atau D sering digunakan istilah E (% ekstraksi).

Hubungan D dan E dinyatakan oleh persamaan berikut ini,

$$D = \frac{\left(\frac{V_{air}}{V_{org}}\right) \cdot E}{(100 - E)}$$

Dimana: V_{air} = volume fasa air

V_{org} = volume fasa organik

Jika $V_{air} = V_{org}$ maka,

$$D = \frac{E}{100 - E}$$

Ekstraksi dianggap kuantitatif, jika harga $E=100$ ini berarti $D=100/(100-100) = \infty$

Kesimpulannya, semakin besar harga D berarti ekstraksi semakin baik.

2.6.3 Kromatografi Lapis tipis

Kromatografi lapis tipis adalah teknik di mana fasa diam kromatografi dibuat dalam bentuk lapisan tipis. Lapisan ini berupa bahan kolom (fasa diam) yang dilapiskan secara tipis dan merata pada permukaan lembaran gelas (kaca), kertas, plastik, atau logam aluminium. Sebagian besar teori dalam kromatografi kolom dapat diterapkan dalam kromatografi lapis tipis, tetapi proses pemisahan pada dasarnya disebabkan oleh adanya keseimbangan yang berurutan dari komponen yang dipisahkan dalam dua fasa diam dan fasa gerak.

Posisi zat-zat terlarut yang telah terpisah dapat dilacak dengan berbagai metode. Zat-zat berwarna dapat dilihat langsung bila dipandang dengan fasa diam sebagai latar belakang. Spesi tak berwarna biasanya dapat dideteksi dengan menyemprot lempeng itu dengan suatu reagensia yang tepat yang menghasilkan bercak berwarna dalam daerah-daerah spesi-spesi itu berada. Beberapa senyawa

akan berpendar dalam cahaya ultraviolet dan dapat ditemukan tempatnya dengan cara demikian.

Teknik pengerjaan KLT dilakukan sebagai berikut, fasa diam (pengadsorp) dilapiskan pada suatu lembaran kaca atau media yang lain sebagai pendukungnya. Zat yang akan dipisahkan ditotolkan pada salah satu ujung lempengan fasa diam tersebut. Lempengan diletakkan tegak di dalam suatu wadah yang diisi dengan sedikit pelarut (fasa gerak), wadah ini harus ditutup rapat agar terbentuk uap yang jenuh dan untuk mengurangnya adanya penguapan pelarut.

Setelah didiamkan beberapa lama, maka campuran zat yang ditotolkan akan terbawa oleh aliran fasa gerak kemudian terpisah sesuai dengan daya adsorbs fasa diam terhadap masing-masing komponen dalam campuran. Komponen yang diserap lebih kuat akan tertinggal di bagian bawah lempeng, sedangkan yang tidak diserap akan terbawa oleh rambatan fasa gerak. Pada lempeng KLT akan terlihat spot (bercak) yang menggambarkan pemisahan komponen pada campuran tersebut.

Jarak yang ditempuh masing-masing komponen dirumuskan dengan:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Jarak yang ditempuh pelarut diukur dari titik dimana campuran ditotolkan sampai ujung pelarut atau bagian yang terlihat basah oleh pelarut pada lempeng KLT. Jarak yang ditempuh komponen, diukur dari titik dimana campuran ditotolkan sampai pada pusat bercak (bagian bercak yang kerapatannya maksimum). Harga R_f dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya ialah: jenis fasa diam, ketebalan lapisan, kadar campuran yang dipisahkan dan jenis pelarut yang digunakan.

2.6.4 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom termasuk kromatografi serapan yang sering disebut kromatografi elusi, karena senyawa yang akan terpisah, akan terelusi dari kolom. Kolom kromatografi dapat berupa pipa gelas yang dilengkapi dengan kran. Ukuran kolom tergantung pada banyaknya zat yang akan dipisahkan. Untuk menahan penyerap yang diletakkan di dalam kolom dapat digunakan glass woll atau kapas.

Biasanya digunakan aplikasi *preparative* dari skala mikrogram hingga kilogram. Kolom kromatografi preparatif klasik, adalah sebuah tabung gelas dengan diameter dari 5 mm sampai 50 mm dan tinggi 50 cm sampai 1 m dengan keran di bagian bawah. Dua metode yang umumnya digunakan untuk menyiapkan kolom; metode kering, dan metode basah.

Metode kering, kolom pertama diisi dengan bubuk kering fasa diam, diikuti dengan penambahan fasa gerak, yang dialirkan melalui kolom sampai benar-benar basah, dan dari titik ini tidak pernah dibiarkan kering.

Metode basah, campuran yang dibuat dari eluen dan fase diam dipersiapkan, kemudian dengan hati-hati dituangkan ke dalam kolom. Harus dilakukan dengan hati-hati untuk menghindari gelembung udara. Suatu larutan organik diteteskan di atas fase diam. Lapisan ini biasanya ditutupi dengan lapisan tipis pasir atau kapas atau *glass wool* untuk melindungi lapisan organik dari kecepatan eluen yang baru ditambahkan. Eluen secara perlahan melewati kolom untuk mendorong bahan organik.

Kromatografi kolom dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada prinsipnya hampir sama. Apabila suatu cuplikan yang merupakan campuran dari beberapa komponen dimasukkan melalui bagian atas kolom, maka komponen yang diserap lemah oleh adsorben akan keluar lebih cepat bersama eluen, sedangkan komponen yang diserap kuat akan keluar lebih lama.

Fasa diam atau adsorben dalam kromatografi kolom berupa padatan. Fase diam yang paling umum untuk kromatografi kolom adalah silika gel, kemudian alumina. Fasa gerak atau eluen adalah salah satu campuran pelarut murni atau pelarut yang berbeda.

2.7 Identifikasi Senyawa

2.7.1 Spektrofotometer FTIR

Pada dasarnya Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) adalah sama dengan Spektrofotometer IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra merah melewati contoh. Dasar pemikiran dari spektrofotometer FTIR adalah dari persamaan gelombang yang dirumuskan oleh Jean Baptiste Joseph Fourier (1768-1830) seorang ahli matematika dari Perancis.

Absorpsi radiasi infra merah sesuai dengan tingkat energi vibrasi dan rotasi pada ikatan kovalen yang mengalami perubahan momen dipol dalam suatu molekul. Hal ini berarti hampir seluruh molekul yang berikatan kovalen dapat mengabsorpsi radiasi infra merah. Penyerapan daerah infra merah (IR) terbatas pada transisi dengan perbedaan energi yang kecil yang terdapat di antara tingkatan vibrasi dan rotasi, yaitu pada daerah dengan bilangan gelombang 13000-33 cm^{-1} , yang biasa digunakan adalah 4000-667 cm^{-1} .

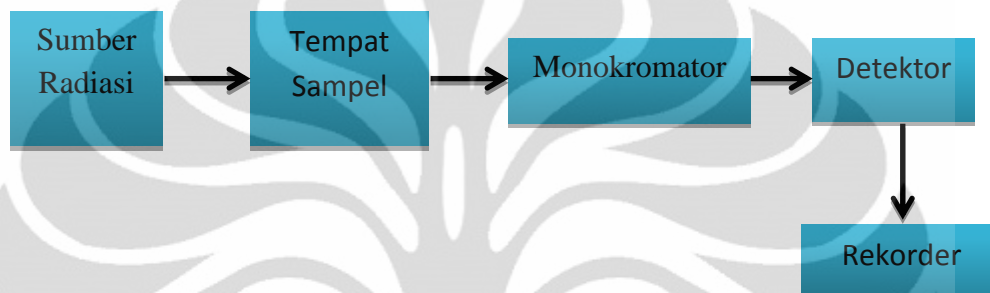
Frekuensi antara 1300-1000 cm^{-1} dikenal sebagai daerah sidik jari (finger print), dan setiap senyawa mempunyai pola spesifik dari sidik jari ini seperti halnya manusia. Absorpsi terjadi hanya bila terjadi perubahan distribusi muatan diantara molekul. Makin besar perubahan, makin kuat adsorpsi. Pita senyawa hidrokarbon disusun hanya antara atom karbon dan hidrogen dihasilkan pita yang lemah. Tetapi bila ikatan yang disusun dari atom-atom elektronegativitas sangat berbeda biasanya memberikan pita yang tinggi (kuat), walaupun frekuensi tekuk dan ulur dari ikatan tunggal timbul pada daerah yang sama, vibrasi ulur C-O dan C-N dapat dideteksi dengan rendah karena lebih tinggi intensitasnya dari pada vibrasi ulur C-C. Absorpsi yang nampak relatif tinggi intensitasnya sangat berguna untuk identifikasi.

Frekuensi dari ikatan dipengaruhi oleh atom-atom atau gugus-gugus sekelilingnya, namun demikian ikatan rangkap dua atau tiga lebih kuat dari ikatan tunggal seperti C-H, N-H, O-H, C-C dan lain-lain yang timbul antara 3600-1500 cm^{-1} , gugus karbonil memberikan vibrasi ukur antara 2000-1500 cm^{-1} , hal ini

tentunya juga bergantung pada sekelilingnya. Daerah dibawah 1600 cm^{-1} adalah pita-pita ikatan tunggal dari C-C, C-N, C-O, C-halogen dan lain-lain.

Spektrum yang dihasilkan umumnya rumit, mempunyai pita-pita serapan yang sempit dan khas untuk tiap senyawa sehingga penggunaannya terutama untuk identifikasi senyawa organik (kualitatif).

Secara prinsip, instrumentasi spektrometer infra merah adalah sebagai berikut:



Spektrum infra merah berhubungan erat dengan ikatan kovalen dalam senyawa organik. Dengan menghitung panjang gelombang atau bilangan gelombang dari masing-masing pita serapan yang terdapat pada spektrum senyawa yang diidentifikasi, kemudian dibandingkan terhadap standard.

2.7.2 Spektrometer GC-MS

Penggunaan spektrum massa dimulai tahun 1960. Alat ini sangat sensitif dan hanya memerlukan sampel dalam ukuran mikrogram. Penggunaan spektrometer massa berkembang dengan pesat karena pertama banyak senyawa organik dapat diionisasi pada keadaan uap dan dicatat berat molekulnya dengan mengukur perbandingan massa terhadap muatan (m/e). kedua ion molekul (m/e) dapat diputus-putus lagi atau difragmentasi dalam fragmetasi lebih kecil yang dapat berguna untuk penentuan struktur molekul.

Pada saat ini banyak alat spektrometer massa digabung dengan alat gas kromatografi (GC-MASS), sehingga setiap peak dari kromatogram dapat diukur berat molekul serta bentuk fragmentasinya. Selain itu ratusan ribu senyawa organik sudah didata dalam computer (“library search”), sehingga hasil pengukuran dapat dibandingkan derajat kemiripannya (“quality”). Bila derajat kemiripan lebih dari 90% maka senyawa tersebut dapat dikatakan sama atau identik.

Alat spektrometer massa secara sederhana terdiri dari alat untuk menguapkan kamar pengionan dan alat pencatatan (“analyser”). Senyawa yang telah diuapkan dengan tekanan sangat rendah (10^{-6} mm Hg) akan masuk dalam kamar ionisasi dan ditembak oleh elektron dengan kekuatan energi 70 eV. Molekul yang ditembak dengan elektron disebut elektron impact (EI) istilah lainnya disebut sebagai elektron ionisasi, akan mengeluarkan satu elektron menghasilkan positif radikal molekul.



Alternatif lain molekul menangkap elektron sehingga dihasilkan negatif radikal molekul.



Namun kejadian ini sangat kecil kira-kira 1/100 dibandingkan dengan $[M]^+$. Dalam pembahasan sering $[M]^+$ ditonjolkan dan pencatatan hanya molekul atau fragmen yang bermuatan positif. Bila digunakan energi 10 eV atau 30 eV didapat M^+ lebih jelas, makin besar energi misal 70eV makin kompleks fragmentasinya, makin informatif dalam menentukan penentuan struktur molekulnya, namun terkadang tidak didapat M^+ , terutama untuk senyawa yang tidak stabil. (Soleh Kosela, 2010)

2.7.3 Spektroskopi NMR

Spektroskopi resonansi magnetik inti (Nuclear Magnetic Resonance) yang disingkat sebagai NMR, merupakan instrumen yang sangat penting untuk memperoleh informasi senyawa kimia. Banyak informasi yang dapat diambil dari hasil pengukuran spektrum NMR khususnya spektrum 1 dimensi ^1H dan ^{13}C , DEPT (Distortionless Enhancement of NMR Signals by Polarization Transfer) atau APT (Attached Proton Test).

Spektrum ^1H -NMR dapat memberikan informasi seperti adanya gugus-gugus fungsi yang dinyatakan dalam bentuk khas seperti jumlah dan posisi gugus fungsi “orto, meta, para” dengan melihat nilai pergeseran kimia (σ) dan konstanta koplingnya (J), jumlah proton dapat dilihat dari hasil integrasinya, dan dapat menentukan bentuk konformasinya seperti cis atau trans, aksial atau ekuatorial.

Pergeseran kimia (σ) suatu inti (berhubungan dengan persamaan Larmor) adalah perbedaan resonansi frekuensi suatu inti dan standar relatif terhadap standar, dengan satuan ppm (Hz/MHz, $1:10^6$). Perbedaan frekuensi (Hz) diukur dari resonansi suatu senyawa standar tetramethylsilane (TMS) dalam ^1H dan ^{13}C . digunakan TMS sebagai standar karena larut dalam semua pelarut organik, bersifat inert, volatile, dan mempunyai 4 metil yang ekuivalen.

$$\sigma = (V - V_{\text{REF}}) \times 10^6 / V_{\text{REF}}$$

Suatu atom yang mempunyai nilai σ daerah rendah (dekat TMS) disebut shielded (*high shielded field*) dan sebaliknya bila nilai σ nya semakin jauh dari TMS disebut deshielded (*low shielded field*) seperti $-\text{CH}_2\text{OH}$ pada etanol karena adanya efek induksi medan magnet dari efek elektronegatif atom oksigen O, atau Nitrogen (N) yang arah sirkulasi awan elektron tersebut searah dengan medan magnet luar sehingga memberikan dampak induksi medan magnet.

Nilai geseran kimia selain adanya efek induksi dari adanya elektronegativitas suatu inti atom seperti N dan O, juga dipengaruhi adanya anisotropi suatu ikatan kimia seperti pada senyawa yang mengandung gugus alkena ($\text{C}=\text{C}$), alkuna, karbonil ($\text{C}=\text{O}$), dan aromatik (Ar).

Di samping itu nilai geseran kimia juga dipengaruhi adanya pembentukan ikatan hidrogen, dari suatu atom H dari gugus hidroksi ($-\text{OH}$) dengan gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$). Bila ikatan hidrogen terjadi maka nilai geseran kimianya akan

muncul ke arah downfield (medan rendah), menjauhi nilai geseran TMS dan akan muncul pada daerah sekitar 13 ppm. Namun demikian suatu gugus hidroksil atau amida (NH) juga dipengaruhi oleh konsentrasi dan suhu pada saat pengukuran sampel tersebut.

“Scalar coupling” suatu spin inti dari suatu ikatan kovalen menyebabkan terjadinya splitting dalam signal NMR dalam bentuk multiplet. Signal yang tidak membentuk splitting dikenal signal singlet (s), karena tidak mempunyai atom tetangga H. Kemudian signal dengan 2, 3, 4, 5, 6, 7 splitting (garis) beturut-turut disebut doublets (d), triplets (t), quartets (q), quintets (qui), sextets (sxt), dan septets (sep), dan masing-masing mempunyai nilai konstanta kopling J sama besar, bila tidak sama maka akan menghasilkan multiplisitas (m) seperti doublet of doublets (dd), bila dd mempunyai nilai J yang hampir sama, maka disebut pseudotriplet. Besarnya J adalah nilai perbedaan J dalam Hz.

Kompleksitas splitting suatu inti ada umumnya adalah $(n+1)$, dimana n jumlah proton tetangga yang mempunyai lingkungan sama maka akan mengikuti system AX, bila nilai J tidak sama akan terjadi kelipatan multilisitas, mengikuti system AB seperti doublet of doublets (dd). Ukuran tinggi signalnya mengikuti ketentuan Pascal's triangle.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian lantai 4 Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia Depok. Penelitian dimulai bulan Februari hingga Mei 2011.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Sampel

Sampel daun jambu biji yang digunakan untuk isolasi ini adalah bagian yang sudah tua yaitu daun-daun yang berada di pangkal tangkai dan berwarna hijau tua. Daun jambu biji ini diambil dari daerah Depok, Jawa Barat mengingat pohon jambu biji mudah ditemukan di beberapa daerah di Indonesia.

3.2.2 Alat-alat

- Alat-alat gelas
- Labu ukur
- Rotatory Evaporator (Rotavapor R-114)
- Peralatan KLT
- Peralatan destilasi
- Timbangan analitis
- Kolom kromatografi
- GC/MS dan spektrometer FT-IR
- Spektroskopi NMR

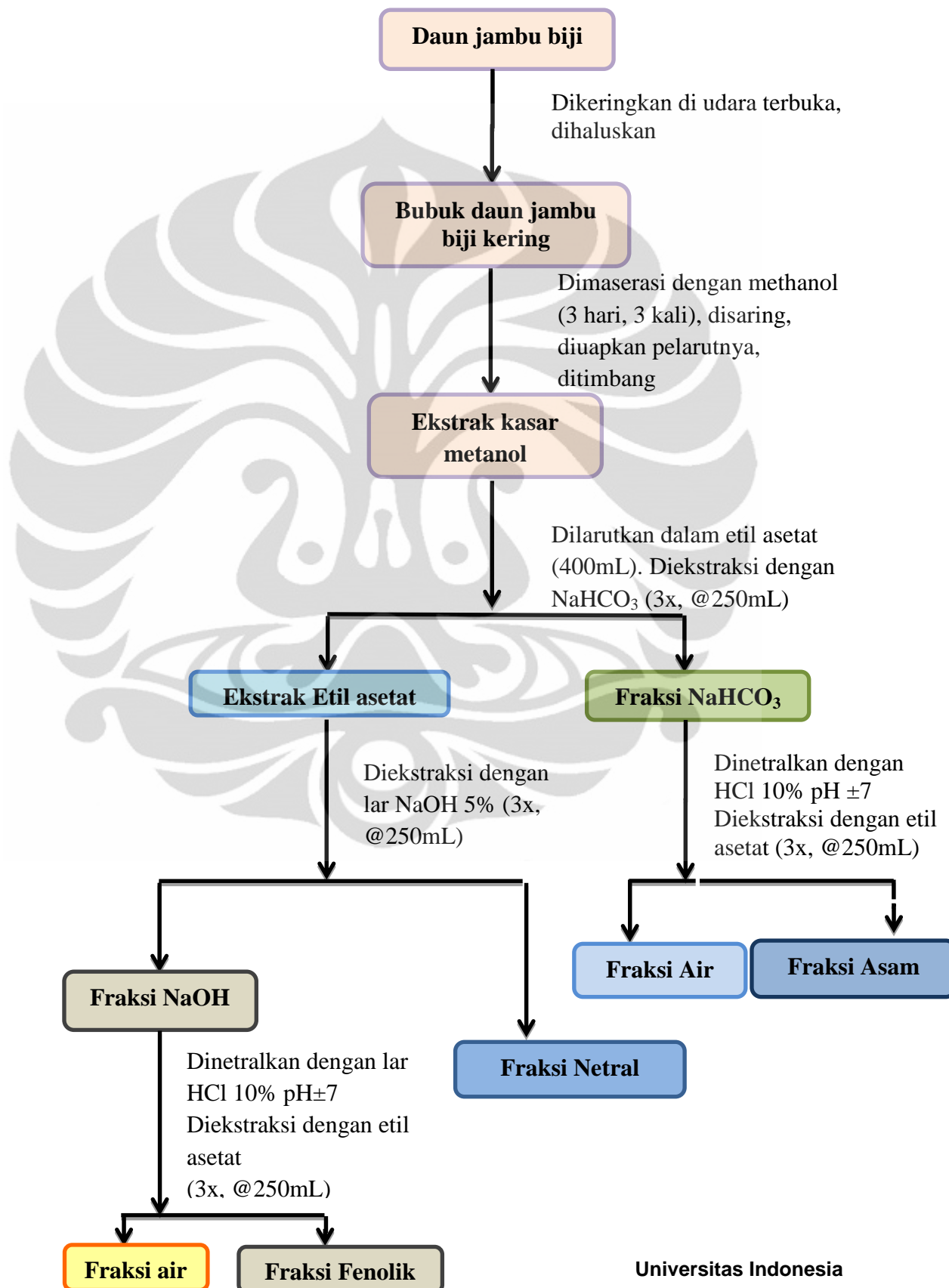
3.2.3 Bahan-bahan

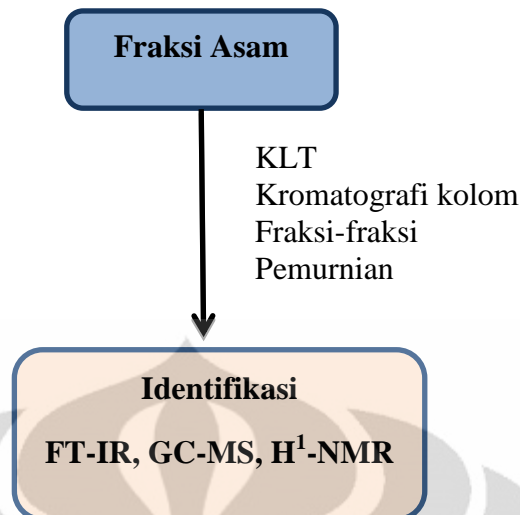
- Metanol
- Etil asetat
- NaHCO_3
- NaOH
- HCl
- Heksan
- Silika gel
- Aquades



3.3 Cara Kerja

3.3.1 Bagan Isolasi Daun Jambu Biji





3.3.2 Ekstraksi Sampel dan kromatografi Lapis Tipis (KLT)

- Sampel daun jambu biji sebanyak 0,7 kg, dihaluskan sampai diperoleh serbuk daun jambu biji
- Serbuk tersebut direndam dengan menggunakan pelarut metanol dalam bejana maserasi selama 4 hari sambil dilakukan pengadukan berulang
- Hasil rendaman yang diperoleh kemudian disaring dan residunya direndam kembali dengan metanol
- Filtrat dipekatkan dengan menggunakan “rotary evaporator”
- Pengerjaan di atas diulang sebanyak 3 kali dengan perlakuan yang sama
- Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan dinamakan ekstrak kasar metanol
- Untuk mengetahui jumlah komponen yang ada dalam ekstrak kasar metanol dilakukan uji bercak menggunakan KLT
- Dalam hal ini dilakukan juga pemilihan perbandingan fasa gerak terbaik
- Sebagai fasa geraknya digunakan campuran heksana dan etil asetat dengan berbagai perbandingan
- Sampel ditotolkan pada plat silika gel sebagai fasa diamnya

- Hasil pemisahannya diidentifikasi dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm

3.3.3 Pemisahan Senyawa Kimia Daun Jambu Biji

3.3.3.1 Pemisahan Ekstrak Kasar Metanol

- Ekstrak kasar metanol yang didapat hasil maserasi dilarutkan dalam 400 mL larutan etil asetat, diekstraksi dengan NaHCO_3 250 mL sebanyak 3x. Tiap kali ekstraksi diperoleh dua fraksi, dinamakan fraksi etil asetat I dan fraksi NaHCO_3 . Fraksi etil asetat I diekstraksi dengan NaOH 5% 3x, setiap ekstraksi digunakan 250 mL larutan NaOH 5% sehingga diperoleh dua fraksi yang dinamakan fraksi etil asetat II dan fraksi NaOH .
- Diperoleh 3 fraksi, yaitu fraksi etil asetat II disebut fraksi netral, fraksi NaOH , dan NaHCO_3 .
- Fraksi NaOH dan fraksi NaHCO_3 selanjutnya dinetralkan dengan menambahkan larutan HCl 10% sampai $\text{pH} \pm 7$, kemudian diekstraksi dengan etil asetat sebanyak 3 kali.
- Masing-masing diperoleh fraksi etil asetat dari NaOH dinamakan fraksi fenolik, fraksi etil asetat dari NaHCO_3 dinamakan fraksi asam.
- Ketiga fraksi etil asetat tersebut diuapkan dan ditimbang.
- Pada ketiga fraksi tersebut dilakukan uji bercak dengan kromatografi KLT.
- Plat silika gel digunakan sebagai fasa diam, sedangkan fasa geraknya menggunakan campuran etil asetat dan heksan perbandingan tertentu.

- Sampel yang telah ditotolkan pada plat silika dilewatkan fasa gerak sehingga menghasilkan noda pemisahan yang diidentifikasi dengan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm.

3.3.3.2.1 Pemisahan Senyawa Kimia Fraksi Etil Asetat

- Salah satu dari ketiga fraksi etil asetat tersebut yang memiliki noda pemisahan yang baik akan dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom cepat
- Fasa diam yang digunakan adalah silika gel, sedangkan fasa geraknya adalah campuran etil asetat dan heksan yang kepolarannya dinaikkan secara bertahap
- Sampel fraksi etil asetat ditambahkan sedikit heksan dan silika gel, diaduk hingga rata dan dibiarkan sampai kering
- Kemudian sampel dimasukkan ke dalam kolom yang telah diisi fasa diam dan heksan secara merata
- Ke dalam kolom kemudian dialirkan fasa gerak dengan kenaikan kepolaran secara bertahap
- Efluen ditampung setiap 25 mL yang kemudian disebut fraksi-fraksi
- Setiap fraksi hasil kromatografi selanjutnya diuji dengan KLT dengan fasa gerak campuran etil asetat dan heksan dengan perbandingan tertentu
- Fraksi yang memiliki noda pemisahan dengan nilai R_f yang sama digabungkan menjadi satu

3.3.4 Analisis Spektroskopi

Senyawa hasil isolasi selanjutnya diidentifikasi struktur molekulnya dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR, spektrometer GC-MS dan resonansi magnetik inti proton (H^1 -NMR).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persiapan Sampel

Daun jambu biji yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari pohon jambu biji daging buah merah di daerah Depok. Daun yang dipilih adalah daun yang sudah tua, berada pada pangkal tangkai dan berwarna hijau tua.



Gambar 4.1. Daun jambu biji

Daun jambu biji yang masih segar diiris kecil-kecil, kemudian dikeringkan di udara terbuka selama 2 minggu. Pengeringan dilakukan tanpa sinar matahari langsung untuk mencegah rusaknya senyawa yang akan diisolasi. Daun jambu kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan menghasilkan 0,7 kg bubuk daun jambu biji.

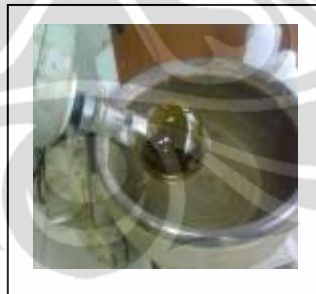


Gambar 4.2. Daun jambu biji kering dan bubuk halus

Bubuk yang diperoleh kemudian dimaserasi disertai pengadukan selama 4 hari dengan pengulangan selama 3 kali. Pengadukan dilakukan dengan tujuan membantu melarutkan isi zat yang terkandung dalam daun jambu biji. Prinsip maserasi yaitu isi sel daun jambu biji larut karena adanya beda konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel yaitu metanol. Larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah, berdifusi sampai terjadi kesimbangan.

Larutan hasil maserasi kemudian disaring, dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator (Rotavapor R-114). Prinsip kerja alat ini hampir sama dengan alat destilasi. Larutan yang akan diuapkan pelarutnya dipanaskan pada waterbath dan terdapat pemutaran agar pemanasan berlangsung secara merata. Pelarut yang telah menguap kemudian melewati selang berisi air yang suhunya lebih rendah agar dapat terkondensasi dan menetes pada tampungan pelarut.

Penguapan dihentikan setelah larutan pekat, tidak mengandung pelarut berwarna hijau tua, dan tidak ada lagi tetesan metanol. Larutan pekat tersebut ditimbang dan dinamakan ekstrak kasar metanol seberat 36,22 gram.

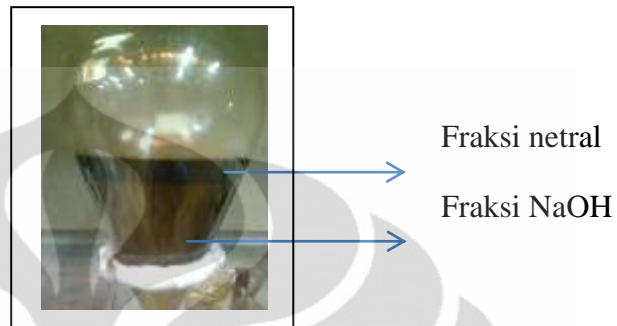


Gambar 4.3. Pemekatan hasil maserasi

4.2 Ekstraksi Sampel

Untuk memisahkan senyawa yang ada di dalam ekstrak kasar metanol, dilakukan fraksinasi. Ekstrak kasar metanol dilarutkan dalam etil asetat 400 mL dan diekstraksi dengan NaHCO_3 5% 250 mL sebanyak 3 kali. Larutan terdistribusi menjadi dua fraksi; fraksi etil asetat dan fraksi NaHCO_3 . Fraksi etil asetat

kemudian diekstraksi dengan NaOH 5% 250 mL sebanyak 3 kali, dan diperoleh fraksi etil asetat (fraksi netral) serta fraksi NaOH. Saat penambahan NaOH, corong pisah terasa hangat yang menandakan reaksi ini bersifat eksoterm.



Fraksi netral

Fraksi NaOH

Gambar 4.4. Ekstraksi fraksi etil asetat-NaOH 5%

Fraksi NaHCO_3 dan fraksi NaOH yang berasal dari fraksi etil asetat masing-masing dinetralkan dengan menambahkan HCl 10% sampai tidak ada lagi gas yang keluar dari corong pisah sampai pH ± 7 . Selanjutnya, diekstraksi dengan etil asetat 250 mL sebanyak 3 kali. Fraksi NaHCO_3 terdistribusi menjadi dua fraksi; fraksi etil asetat (fraksi asam) dan fraksi NaCl. Sedangkan dari fraksi NaOH diperoleh fraksi etil asetat (fraksi fenolik) dan fraksi air.



Fraksi asam

Fraksi NaCl

Fraksi fenolik

Fraksi air

Gambar 4.5. Ekstraksi fraksi NaHCO_3 dan fraksi NaOH

Ketiga fraksi yang diperoleh, yaitu fraksi netral, fraksi asam dan fraksi fenolik, kemudian diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator. Setelah didapatkan larutan yang pekat, fraksi tersebut ditimbang dan dihitung rendemennya.

Ketiga fraksi merupakan larutan pekat yang masing-masing warnanya dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Table 4.1. Perolehan fraksi dari proses fraksinasi

Fraksi	Warna	Berat (gram)	Rendemen (%)
Fraksi Netral	Hijau tua	2,00	0,28
Fraksi Asam	Coklat tua	4,49	0,64
Fraksi Fenolik	Hijau kecoklatan	1,36	0,19

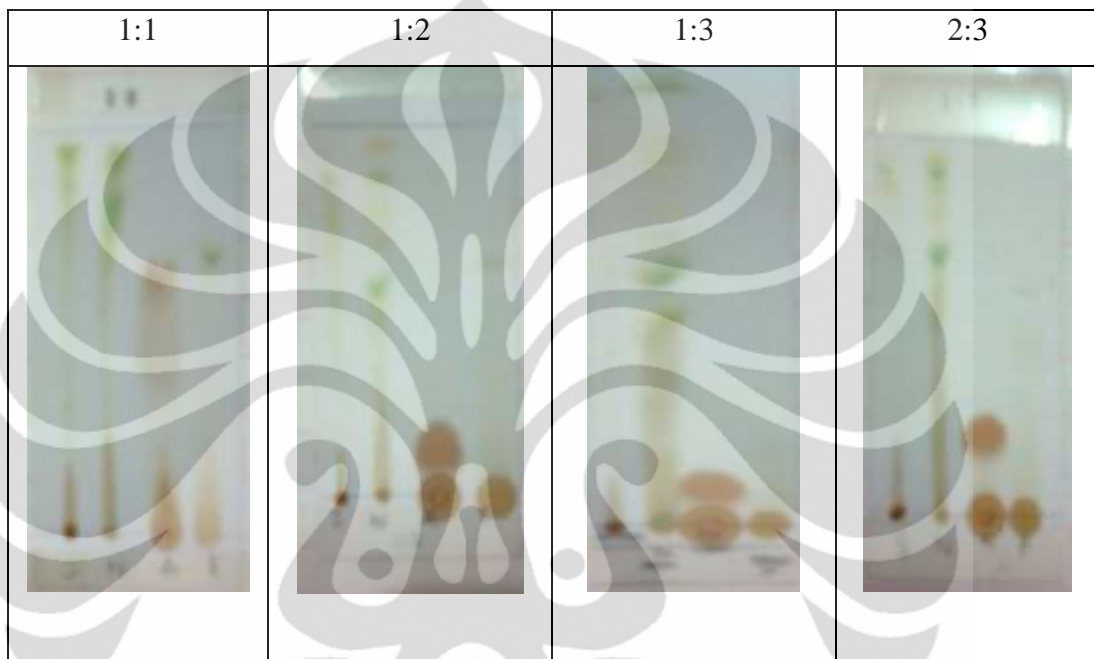
4.3 Uji Spot Dengan Kromatografi Lapis Tipis

Untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung dalam setiap fraksi, dilakukan uji spot dengan kromatografi lapis tipis sebagai fasa diam, dan campuran etil asetat : heksan sebagai fraksi gerak dengan beberapa variasi. Tujuannya adalah untuk mengetahui pada larutan pengembang mana yang paling baik terjadi pemisahan senyawa hasil isolasi.

Plat KLT yang digunakan adalah TLC silica gel 60 F254. Fraksi-fraksi yang akan diuji spotnya, ditotolkan pada plat KLT. Setiap penotolan, diselingi dengan pengeringan dengan “hair dryer” sampai terserap sempurna agar hasil penotolan tidak melebar. Kemudian plat KLT diletakkan tegak ke dalam suatu wadah yang berisi larutan pengembang etil asetat : heksan dengan perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:3 dan ditutup rapat agar terbentuk uap yang jenuh dan untuk mengurangi adanya penguapan pelarut.

Setelah didiamkan beberapa lama, maka campuran zat yang ditotolkan akan terbawa oleh aliran fasa gerak kemudian terpisah sesuai dengan daya adsorbs fasa diam terhadap masing-masing komponen dalam campuran. Komponen yang diserap lebih kuat akan memiliki R_f yang kecil, sedangkan yang tidak diserap akan terbawa oleh rambatan fasa gerak. Silika gel pada plat KLT bersifat agak polar, sehingga senyawa yang bersifat polar terserap pada plat KLT dan ditahan oleh etil asetat yang bersifat lebih polar, sedangkan senyawa yang nonpolar larut dan terbawa oleh heksan sehingga berada di atas.

Pada Gambar 4.4, terlihat spot (bercak) yang menggambarkan pemisahan komponen yang terjadi pada setiap fraksi dalam beberapa larutan pengembang. Dari kiri berturut-turut adalah spot ekstrak kasar metanol sebelum ekstraksi, fraksi netral, fraksi asam, dan fraksi fenolik.



Gambar 4.6. Hasil KLT fraksi hasil fraksinasi dengan larutan pengembang etil asetat : heksan

4.4 Pemisahan Dengan Kromatografi Kolom

Dari spot yang terbentuk, fraksi asam memiliki spot yang dominan dibanding dengan fraksi lain. Rendemen fraksi asam yang didapat dari hasil ekstraksi juga memiliki jumlah terbanyak. Dari penelitian yang telah dilakukan, daun jambu biji mengandung sejumlah senyawa bersifat asam, maka diambil fraksi asam untuk pemisahan selanjutnya.



Gambar 4.7. Fraksi asam

Pemisahan dilakukan dengan fasa diam silika gel (Kieselgel E. Merck Art.7734) dan fasa gerak n-heksan : etil asetat dengan kepolaran meningkat. Berikut adalah perbandingan fasa gerak pada saat kromatografi kolom:

Tabel 4.2. Perbandingan fasa gerak

No.	n-Heksan (mL)	Etil Asetat (mL)	No.	n-Heksan (mL)	Etil Asetat (mL)
1	80	0	13	38	42
2	79	1	14	34	46
3	78	2	15	32	48
4	77	3	16	30	50
5	75	5	17	26	54
6	74	6	18	24	56
7	72	8	19	22	58
8	70	10	20	20	60
9	56	24	21	16	64
10	50	30	22	8	72
11	40	40	23	4	76
12	36	44	24	0	80

Kolom yang digunakan untuk pemisahan pada penelitian ini berdiameter 2,5 cm. Fasa diam (silika gel) diisi dengan n-heksan dimasukkan ke dalam kolom sampai setinggi 30 cm. Selanjutnya, fraksi asam dilarutkan dengan campuran n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 1:1, dan ditambahkan silika gel sehingga sampel fraksi asam tersebut berbentuk campuran berupa bubuk berwarna coklat.

Sampel fraksi asam kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Setelah itu, kolom dielusi dengan n-heksan – etil asetat dengan berbagai perbandingan,

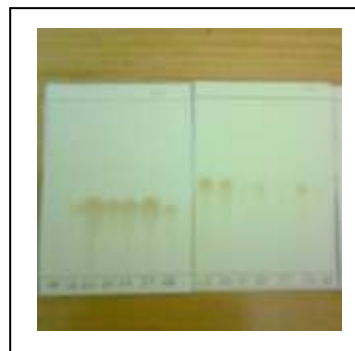
dimana persentase etil asetat semakin meningkat dengan tujuan meningkatkan kepolaran. Fraksi yang terlebih dulu turun bersifat kurang polar, sedangkan fraksi berikutnya bersifat lebih polar karena berikatan lebih kuat dengan silika gel.

Fraksi ditampung setiap ± 25 mL, dan didapatkan 58 fraksi. Pada awal pemisahan, sampel fraksi asam masih tertahan di atas, setelah kenaikan kepolaran fasa gerak, sampel mulai turun.



Gambar 4.8. Pemisahan dengan kromatografi kolom

Untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut, pada setiap fraksi dilakukan uji spot dengan kromatografi lapis tipis. Fraksi 1-23 tidak menunjukkan spot yang jelas, fraksi 24-34 terdapat spot berwarna coklat, sedangkan fraksi 35-58 juga tidak menunjukkan spot yang jelas.



Gambar 4.9. KLT fraksi 24-34

Dari hasil spot ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa pada fraksi 24-34 terkandung senyawa yang selanjutnya akan diidentifikasi dengan spektrofotometer FTIR. Fraksi-fraksi tersebut digabungkan, kemudian diuapkan pelarutnya pada suhu ruang. Setelah beberapa hari, terbentuk kristal berbentuk jarum berwarna kuning. Setelah ditimbang, didapatkan kristal sebesar 29,7 mg. Kristal tersebut kemudian diuji dengan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi senyawanya.

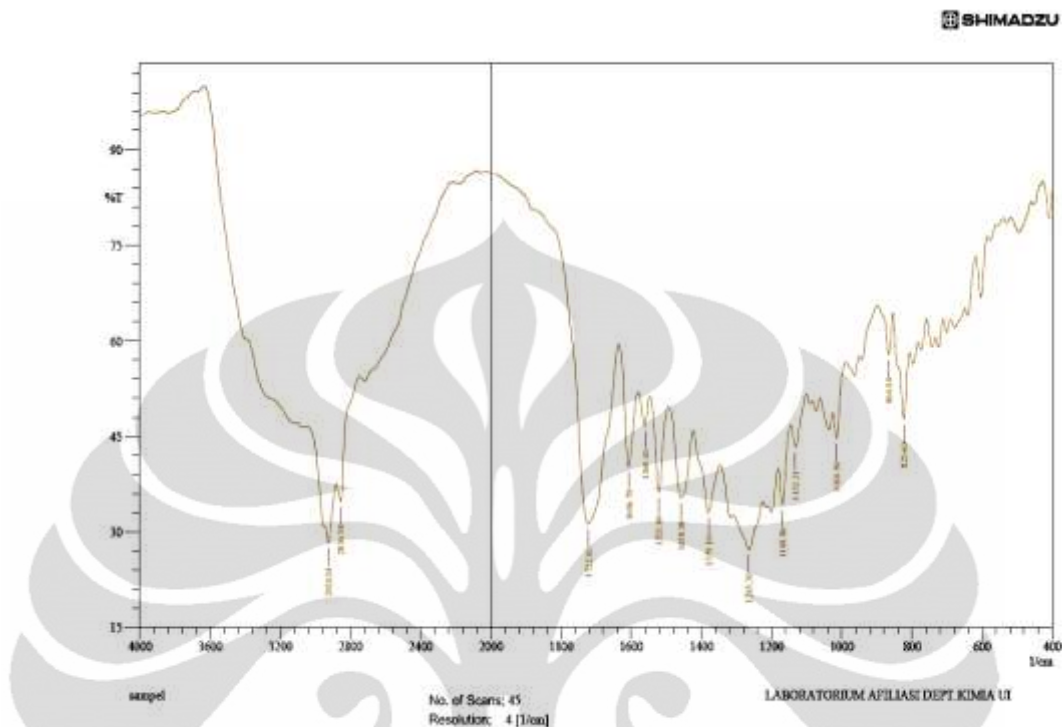
4.5 Identifikasi Senyawa

4.5.1 Spektrofotometer FTIR

Sampel yang berupa kristal berwarna kuning digerus ditambah KBr kemudian penggerusan dilanjutkan hingga tercampur sempurna. Campuran dimasukkan dalam tempat khusus kemudian divakumkan dan dipress sehingga terjadi pellet yang transparan. Berdasarkan hasil analisis spektrofotometer FTIR, fraksi asam memberikan serapan pada bilangan gelombang $3400\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$; 2926 cm^{-1} ; 1722 cm^{-1} ; 1606 cm^{-1} ; 823 cm^{-1} . Hasil spektrum inframerah fraksi asam dapat dilihat pada Gambar 4.10. Spektrum inframerah yang dihasilkan, kemudian dibandingkan dengan tabel korelasi untuk memperoleh informasi struktur gugus sebagai berikut:

Tabel 4.3. Perbandingan bilangan gelombang fraksi asam dengan tabel korelasi

Bilangan Gelombang (cm^{-1})		
Fraksi asam	Tabel Korelasi	Gugus Fungsi
3400-2400	3400-2400	O-H
3000-2500	3000-2500	-COOH (dimer)
2926	3000-2850	C-H alkana
1722	1725-1700	C=O as. karboksilat
1606	1680-1600	-C=C-
1265	1300-1000	C-O
823	1200-800	C-C



Gambar 4.10. Spektrum FTIR fraksi asam

Berdasarkan hasil tersebut di atas, dapat diidentifikasi bahwa fraksi asam memiliki ikatan O-H vibrasi ulur, ikatan C-H alkana vibrasi ulur, gugus karboksilat, ikatan -C=C- vibrasi ulur, ikatan C-C vibrasi ulur.

4.5.2 Spektrometer GC-MS

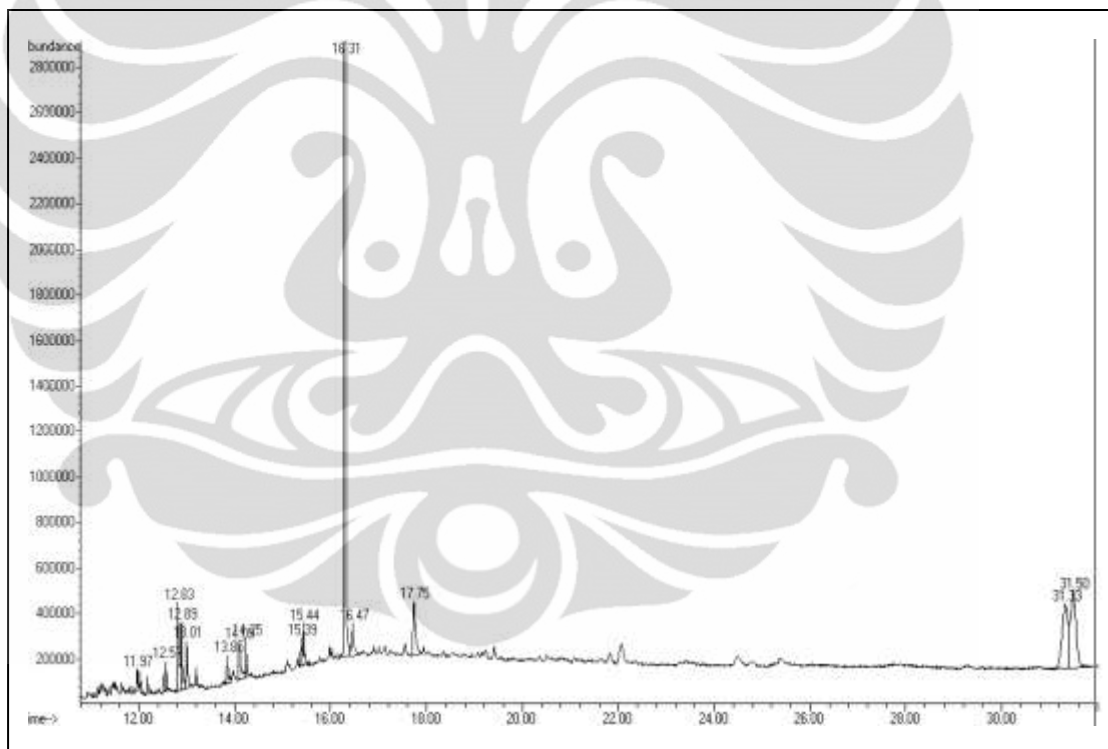
Analisis spektrometer GC-MS menggunakan instrumentasi Agilent Technologies dengan;

- panjang kolom: 30m x 250 μ m x 0,25 μ m
- jenis kolom kapiler HP-5
- temperatur kolom: 325 $^{\circ}$ C
- temperatur injeksi: 290 $^{\circ}$ C
- “carrier gas”: He
- kekuatan energi 70 eV

- detektor GC: FID dan ECD
- detektor GCMS: MS

Sampel dimasukkan, diuapkan, dan diumpankan dalam suatu aliran yang berkesinambungan ke dalam kamar pengionan. Kamar pengionan (serta instrumen keseluruhan) dijaga agar tetap dalam keadaan vakum untuk meminimalkan tabrakan dan reaksi antara radikal, molekul udara, dan lain-lain. Di dalam kamar ini, contoh melewati suatu aliran electron berenergi tinggi, yang menyebabkan ionisasi beberapa molekul-contoh menjadi ion-ion molekul. (Fessenden, 1989)

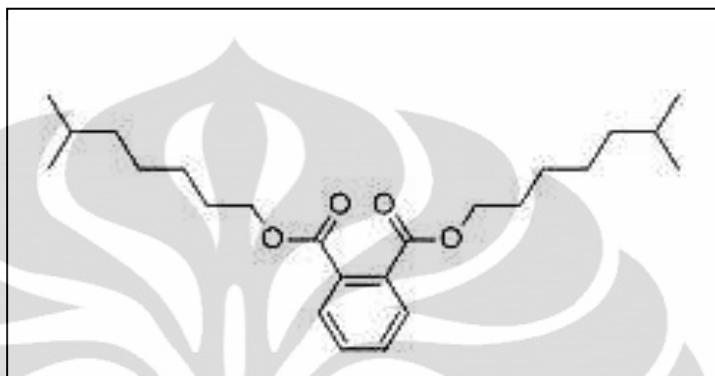
Dari spektrum GC-MS dapat dilihat lebih dari satu puncak. Hal ini berarti bahwa ada lebih dari satu senyawa pada fraksi asam.



Gambar 4.11. Spektrum GC-MS fraksi asam

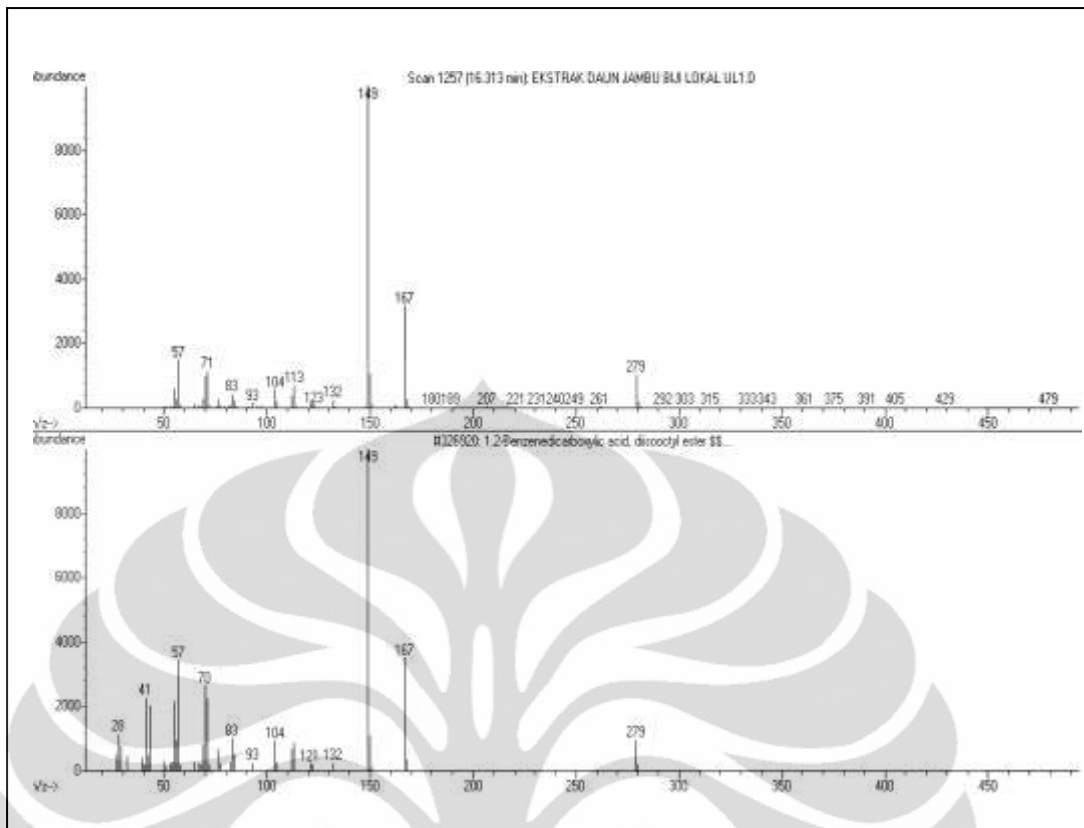
Berdasarkan hasil tersebut di atas, dapat dilihat bahwa fraksi asam memiliki beberapa puncak, namun terdapat 2 puncak yang dominan, dengan waktu retensi 12,872 menit dan 16,313 menit. Adanya 2 puncak tersebut menunjukkan bahwa dalam fraksi asam terdapat dua senyawa yang dominan.

Puncak dengan waktu retensi 16,313 menit, senyawa yang sesuai dengan “library search” dengan “quality” atau kelimpahan sebesar 91% adalah 1,2-diisooktil benzendikarboksilat dengan massa ion molekular 390. Berikut adalah struktur 1,2-diisooktil benzendikarboksilat:



Gambar 4.12. Senyawa 1,2- diisooktil benzendikarboksilat

Perbandingan fragmentasi senyawa pada fraksi asam dengan senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat dapat dilihat pada Gambar 4.13.



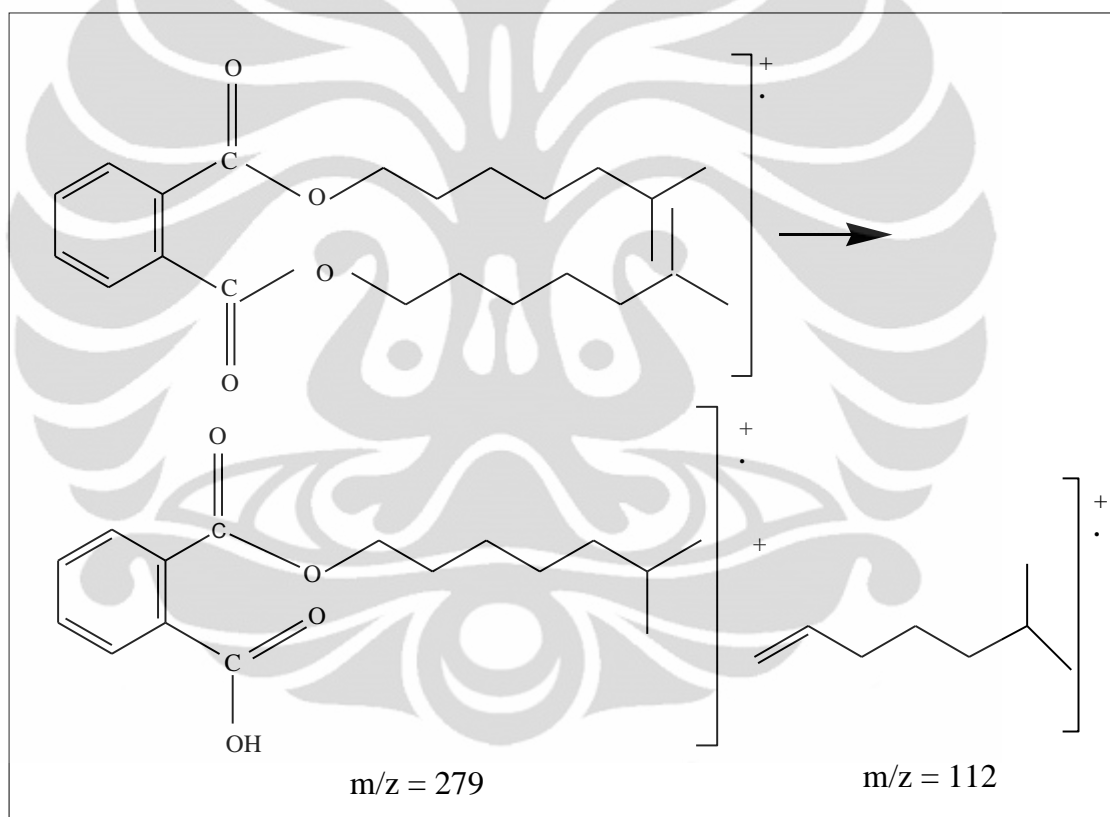
Gambar 4.13. Spektra fragmentasi senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat

Tabel 4.4. Perbandingan m/z dari fragmentasi fraksi dengan 1,2-diisooktil benzendikarboksilat

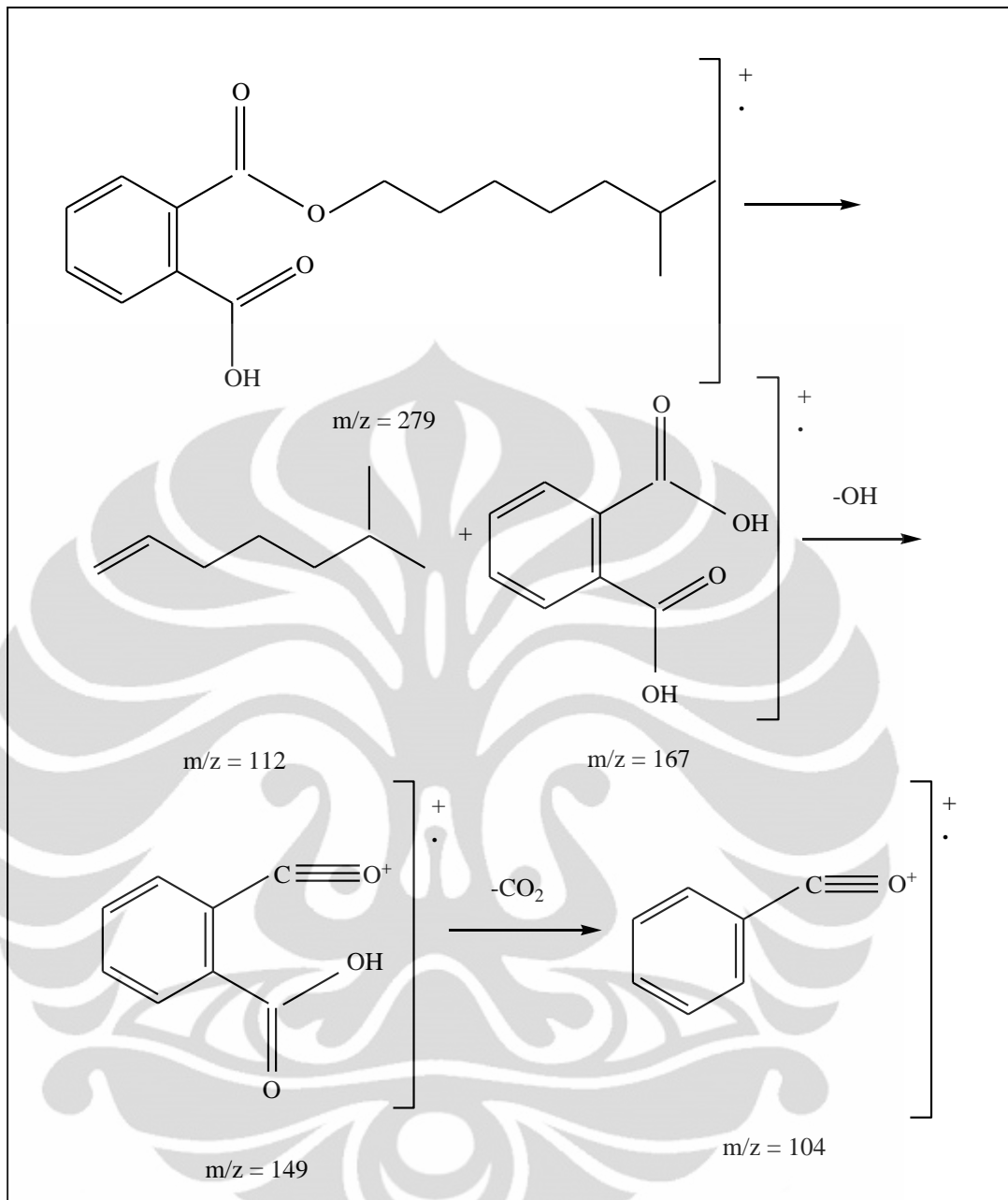
m/z Fraksi asam	m/z 1,2-diisooktil benzenedikarboksilat
279	279
167	167
149	149
132	132
123	121
104	104
93	93
83	83
71	70
57	57

Senyawa tersebut memberikan puncak-puncak dengan m/z sebagai berikut: 167, 149 (100% atau base peak), 132, 121, 104, 83, 70, 57, 41, 28. Pada fragmentasi ini, tidak terdapat puncak M^+ senyawa yaitu sebesar 390. Hal ini disebabkan karena senyawa ini tidak stabil, sehingga puncak yang muncul merupakan fragmen ester yang putus salah satu cabang isooktilnya dengan kelimpahan hanya sebesar 0,5 % sehingga puncak yang dihasilkan tidak begitu dominan.

Berikut adalah gambaran fragmentasi dari senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat:



Kemudian, terjadi pemutusan yang sama pada cabang isooktil lainnya:



Gambar 4.14. Fragmentasi pada senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat

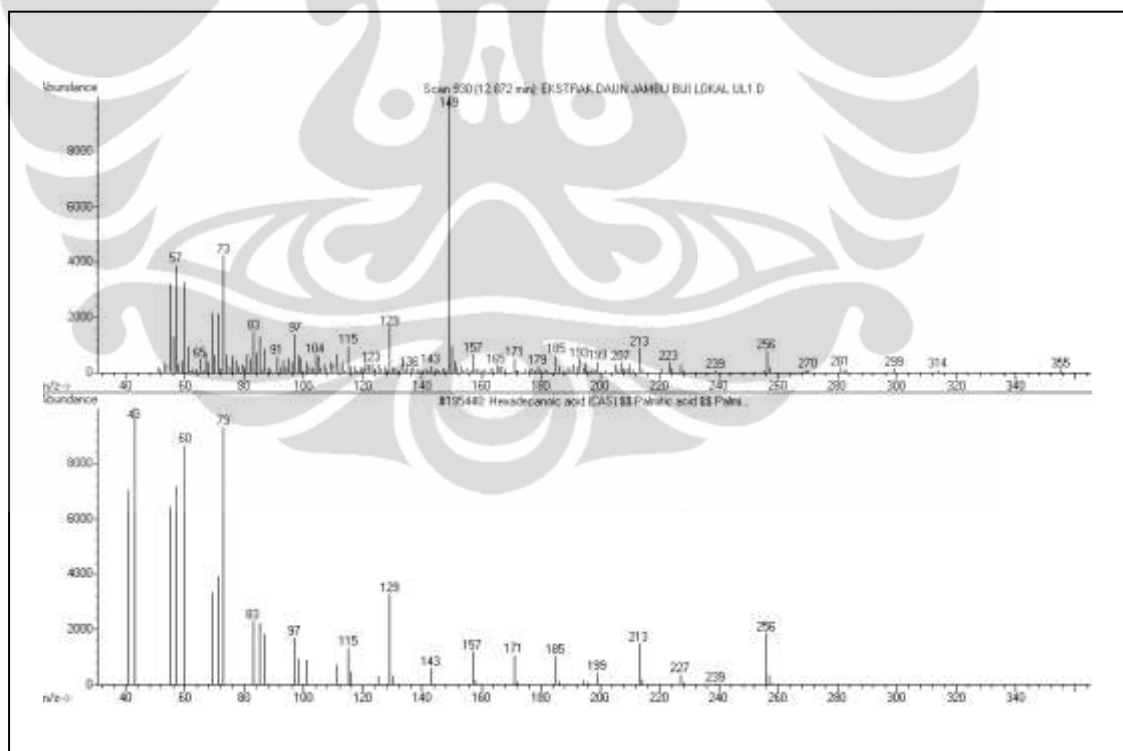
Sebagai tambahan informasi, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh I M. Dira Swantara, I. B. Darmayasa, dan Sri lestari Jurusan Kimia dan Biologi FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran pada Juli 2010, senyawa yang mirip dengan 1,2-diisooktil benzendikarboksilat, yaitu 1,2-dioktil benzendikarboksilat yang diisolasi dari daun pepe ekstrak etil asetat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* (bakteri penyebab diare).

Puncak lain dengan waktu retensi 12,872 menit, senyawa yang sesuai dengan “library search” dengan “quality” atau kemiripan 94% adalah asam heksadekanoat atau asam palmitat dengan massa ion molekular 256. Berikut adalah struktur asam heksadekanoat:



Gambar 4.15. Asam heksadekanoat atau asam palmitat

Perbandingan fragmentasi senyawa pada fraksi asam dengan senyawa yang ada pada “library search” yaitu asam heksadekanoat dapat dilihat pada Gambar 4.15.



Gambar 4.16. Spektra fragmentasi senyawa asam heksadekanoat

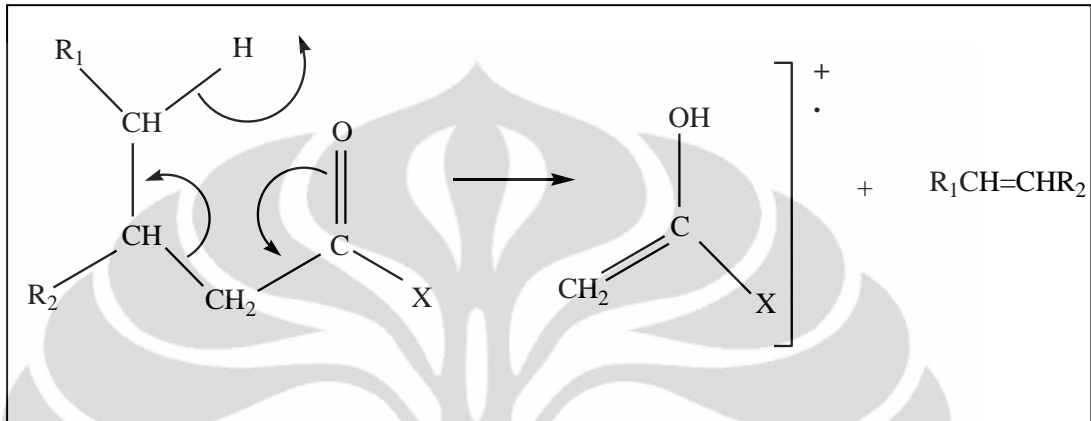
Dengan melihat perbandingan m/z dari fragmentasi dari fraksi asam dengan senyawa heksadekanoat, dapat diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki kemiripan yang cukup besar.

Tabel 4.5. Perbandingan m/z dari fragmentasi fraksi asam dengan senyawa asam heksadekanoat

m/z Fraksi asam	m/z Asam heksadekanoat
256	256
239	239
223	227
213	213
199	199
185	185
171	171
157	157
149	143
129	129
115	115
97	97
83	83
73	73
57	60

Senyawa tersebut memberikan puncak-puncak di antaranya dengan m/z sebagai berikut: 213, 199, 185, 171, 157, 149 (100% atau base peak), 129, 60. Sehingga dapat diperkirakan fragmentasinya adalah pemutusan ikatan $-C_3H_7$ pada ujung rantai dengan ditandai adanya m/z 213, kemudian pemutusan ikatan $-C_6H_{12}$ dengan adanya m/z 129. Kemudian terdapat tata ulang Mc. Lafferty dengan ketentuan sebagai berikut: senyawa yang mempunyai γ -proton karbonil

akan terjadi tata ulang dan menghasilkan fragmentasi m/z $43+X$, m/z besarnya tergantung pada besarnya X . Mekanisme tata ulang Mc Lafferty (“Mc Lafferty rearrangement”) dapat dilihat sebagai berikut:



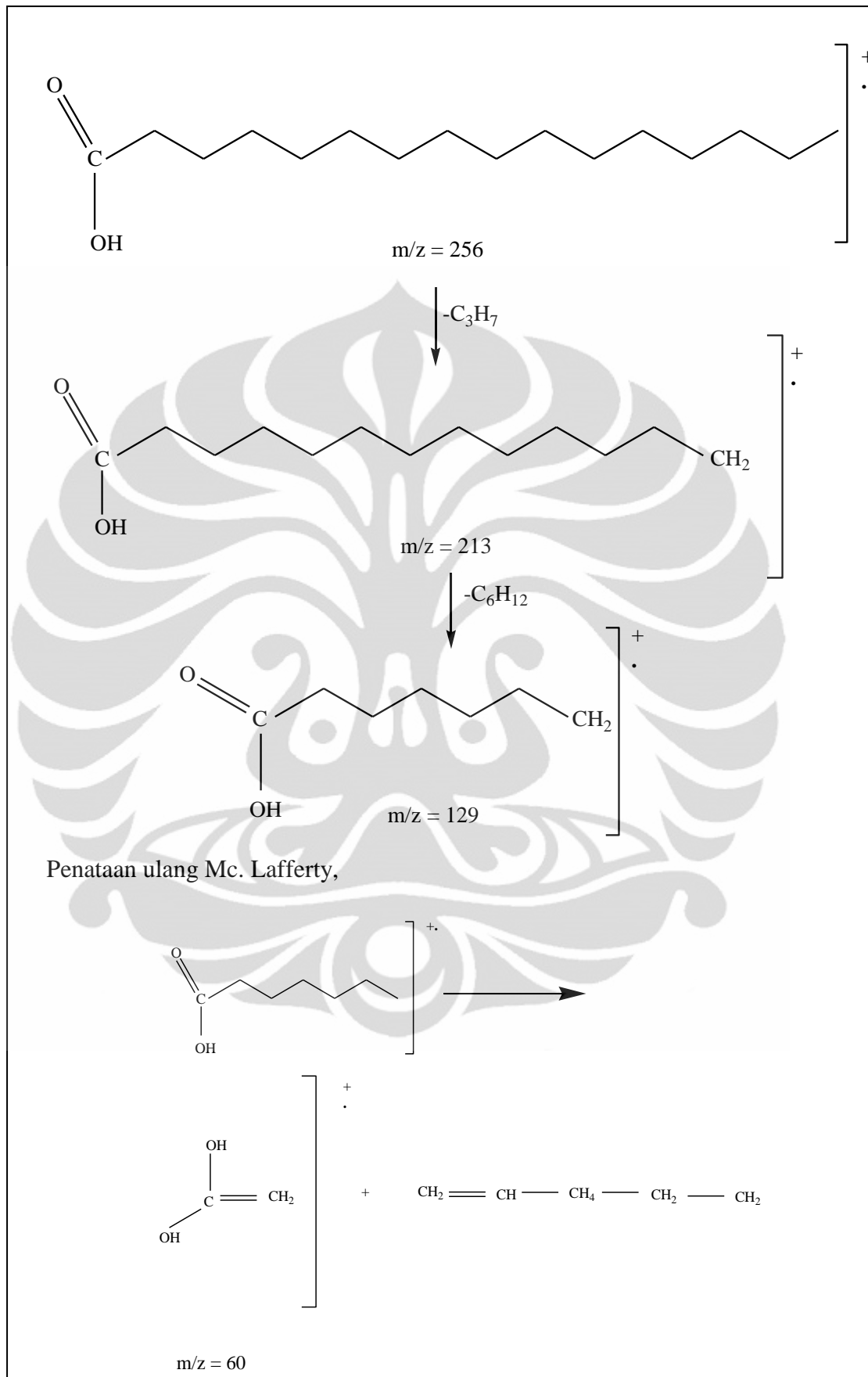
Untuk $X = OH$, fragmennya $m/z = 60$

$X = H$, fragmennya $m/z = 44$

$X = CH_3$, fragmennya $m/z = 58$

$X = NH_2$, fragmennya $m/z = 59$

Berikut merupakan gambaran fragmentasi dari senyawa asam heksadekanoat atau asam palmitat:

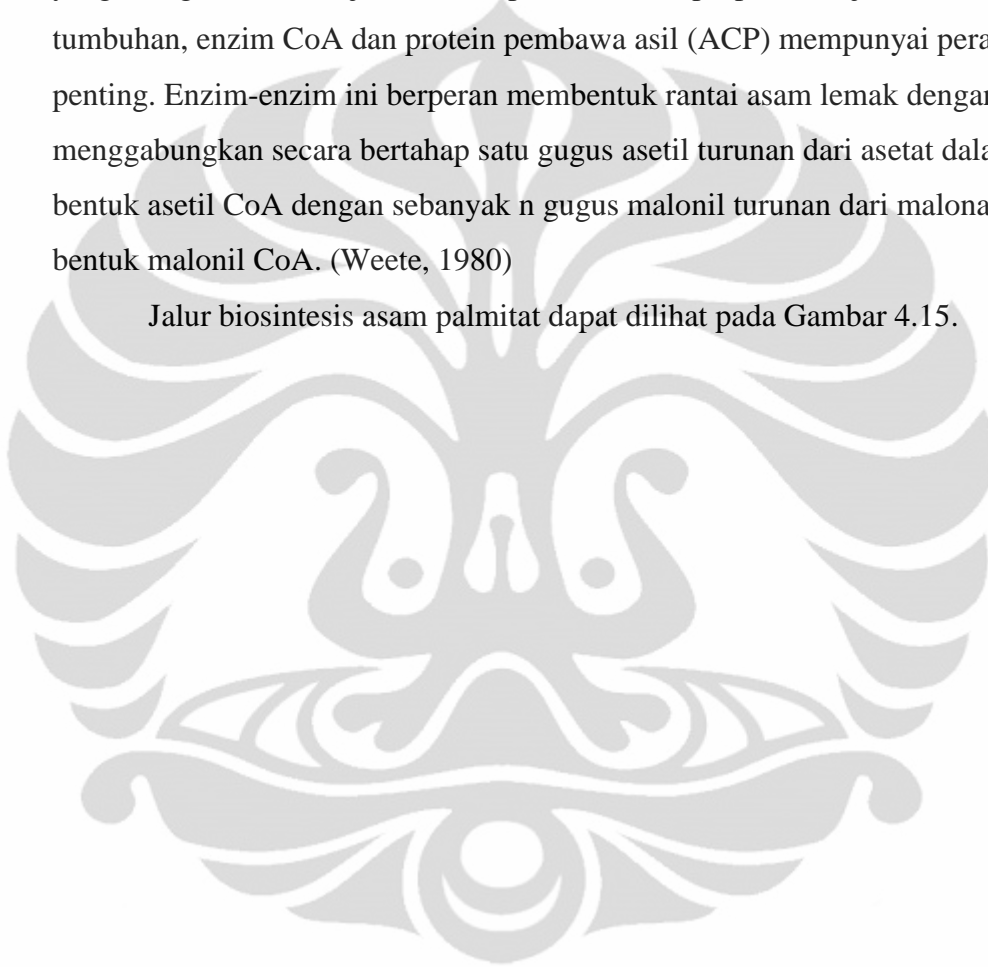


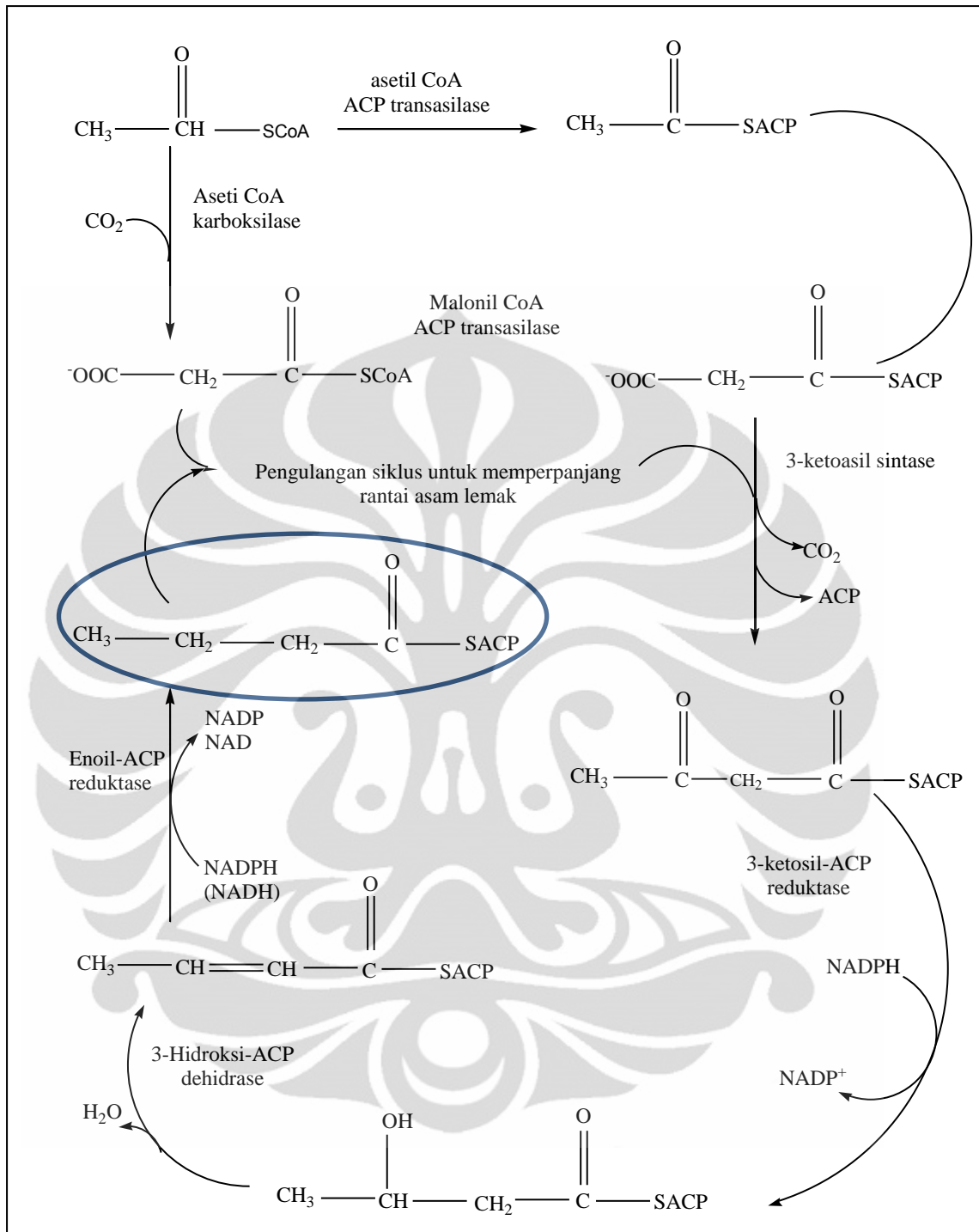
Gambar 4.17. Fragmentasi pada senyawa asam heksadekanoat

Pada senyawa asam heksadekanoat, X merupakan gugus –OH sehingga fragmennya $m/z = 60$, hal ini diperkuat dengan adanya puncak dengan fragmentasi $m/z = 60$ dengan kelimpahannya yang cukup tinggi.

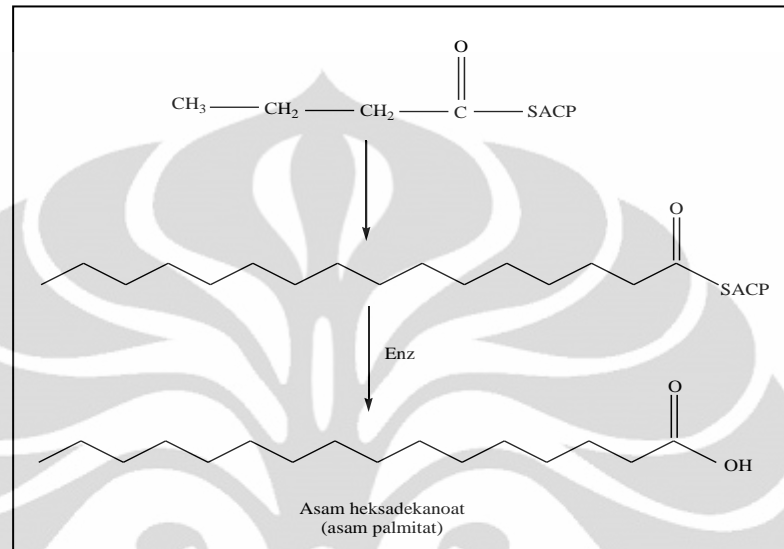
Senyawa asam heksadekanoat atau asam palmitat dibentuk oleh kondensasi berganda unit asetat dari asetil CoA. Pada reaksi sintesis asam lemak, yang sebagian besar terjadi di kloroplas daun dan proplastid biji dan akar tumbuhan, enzim CoA dan protein pembawa asil (ACP) mempunyai peranan yang penting. Enzim-enzim ini berperan membentuk rantai asam lemak dengan menggabungkan secara bertahap satu gugus asetil turunan dari asetat dalam bentuk asetil CoA dengan sebanyak n gugus malonil turunan dari malonat dalam bentuk malonil CoA. (Weete, 1980)

Jalur biosintesis asam palmitat dapat dilihat pada Gambar 4.15.





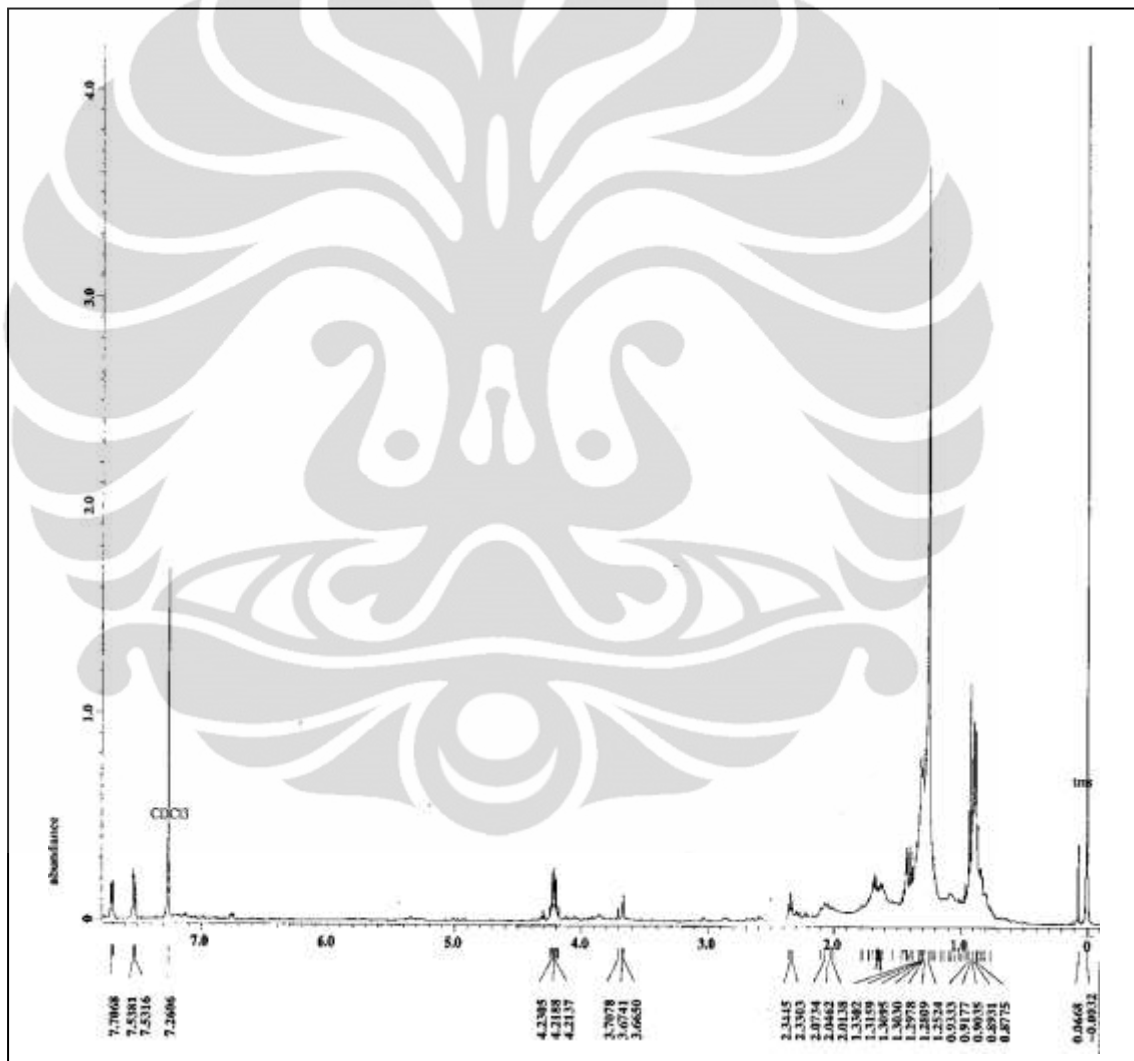
Kemudian mengalami perpanjangan rantai,



Gambar 4.18. Jalur biosintesis senyawa asam palmitat

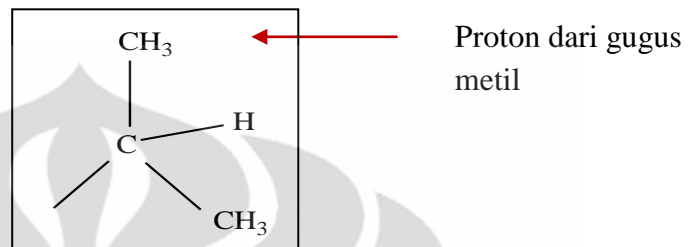
4.5.3 Spektroskopi ^1H -NMR

Untuk menguatkan hasil identifikasi senyawa hasil isolasi, dilakukan identifikasi dengan spektroskopi ^1H -NMR. Spektrum ^1H -NMR dapat memberikan informasi dengan melihat nilai pergeseran kimia (σ) dan jumlah proton dapat dilihat dari hasil integrasinya. Berikut adalah spektrum ^1H -NMR dari fraksi asam:



Gambar 4.19. Spektrum ^1H -NMR

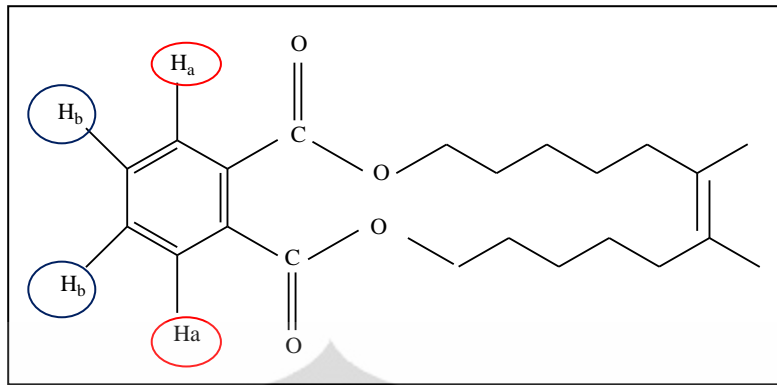
Pada spektrum H^1NMR , terlihat peak yang menunjukkan adanya gugus metil dari isopropil yang letaknya dekat dengan TMS karena pergeseran kimia yang kecil (“up field”).



Gambar 4.20. Proton dari gugus metil pada isopropil

Suatu atom yang mempunyai nilai σ daerah rendah (dekat TMS) disebut shielded (*high shielded field*). Pada daerah pergeseran kimia antara 1,25-1,29 ppm menunjukkan adanya proton yang berikatan dengan (-CH₂-). Sedangkan proton pada gugus asam karboksilat pada daerah pergeseran kimia 11-12 ppm tidak terdeteksi pada spektrum, hal ini disebabkan karena kelimpahan proton yang sedikit.

Pada daerah pergeseran kimia antara 7,53-7,71 ppm menunjukkan proton yang terikat pada cincin aromatik. Seperti yang terlihat pada Gambar 4.21, terdapat proton yang ekuivalen yaitu proton “a” dan proton “b” sehingga peak yang terjadi adalah dalam bentuk doublet-doublet.



Gambar 4.21. Proton pada cincin aromatik



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengolahan data spektroskopi pada penelitian ini, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Senyawa hasil isolasi yang berasal dari fraksi asam berupa kristal berbentuk jarum berwarna kuning sebesar 29,7 mg (0,66%).
2. Menurut hasil analisa spektrum massa dari hasil spektrum IR, GC-MS, dan H^1 NMR, disimpulkan senyawa yang memiliki puncak pada $R_t = 12,287$ menit adalah asam heksadekanoat atau asam palmitat dengan berat molekul 256 g/mol dan pada $R_t = 16,313$ menit merupakan senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat dengan berat molekul 390 g/mol.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil yang dicapai pada penelitian ini, berikut adalah saran yang dapat membantu pengembangan penelitian ini agar lebih baik hasilnya dikemudian hari:

- a. Identifikasi senyawa hasil pemurnian diukur juga dengan C NMR, untuk memperkuat identifikasi.
- b. Fraksi lain yang didapat diidentifikasi lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa dalam daun jambu biji lokal daging buah merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Arima, H., Danno, G. (2002). Isolation of antimicrobial compounds from Guava (*Psidium guajava* L. and their structural elucidation. *Biosci, Biotechnol.*, 66 (8), 1727-1730
- Fathiyawati. (2008). Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus racemosa* L Terhadap *Artemia salina* Leach Dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. Skripsi Sarjana Universitas Muhammadiyah Surakarta.
<http://etd.eprints.ums.ac.id/3484/1/K100040049.pdf>. 14 Januari 2011, 10.08
- Fessenden, Ralph J., Fessenden, Joan S. (1989). *Kimia Organik*, Edisi ketiga Jilid 2. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Goncalves, F., Andrade Neto, M., Bezerra, JNS., Macrae, A., Sousa, OV., Fonteles-Filhos, A.,Vieira, R.H.S.F. (2008). Antibacterial activity of guava, *Psidium guajava* L., Leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 50(1):11-15
- He, Qian., Venant, Nihorimbere. (2004). Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* L. leaf. *Journal of Zheijaiang University Science.* Vol.5 No. 6p.676-683.<http://www.zju.edu.cn/jzus/2004/0406/040608.htm>
- <http://carahidup.um.ac.id/2009/10/ekstrak-daun-jambu-biji-berpotensi-sembuhkan-demam-berdarah/> . Daun Jambu Biji Sebagai Obat DBD. 17 April 2011, 12:17 WIB
- <http://majupendidikanindonesia.blogspot.com/2011/01/morfologi-jambu-biji.html>. Morfologi Tanaman *Psidium guajava*. 16 Januari 2011, 13.49 WIB
- <http://www.ristek.go.id>. Sejarah Singkat Persebaran Tumbuhan Jambu Biji. 21 Pebruari 2011, 22:14 WIB
- <http://haruting.blogspot.com/2009/02/taksonomi-tanaman-buah-indonesia.html>. Taksonomi Tanaman Buah Indonesia 12 Januari 2011, 22.58 WIB
- http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=134. Tumbuhan Jambu Biji. 21 Pebruari 2011, 21:45 WIB
- <http://etd.eprints.ums.ac.id/5893/1/K100050061.pdf>. 13 Januari 2011, 11:48 WIB

- <http://www.scribd.com/doc/20582022/New-Ekstraksi> 22 Mei 2011, 9.55 WIB
- <http://rara87.wordpress.com/2008/12/17/66/FTIR>. 22 Mei 2011, 11.11 WIB
- <http://duniaebook.net/biosintesis-asam-lemak-pada-tanaman-rosita-sipayung>
- J.A, Ojewole. (2006). Anti-inflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) leaf aqueous in rats and mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol. Sep*;28(7):441-6. <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed>
- J.A, Ojewole. (2005). Hypoglycemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) leaf aqueous extract. *Methods Find Exp Clin Pharmacol. Dec*;27(10):689-95. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- Jenie, Umar Anggara., Kardono, Leonardus B.S., Hanafi, Muhammad., Rumampuk, Raymond J., Darmawan, Akhmad. (2006). Teknik Modern Spektroskopi NMR (Nuclear Magnetic Resonance) , Teori dan Aplikasi dalam eludasi struktur molekul organic dan biomolekul
- Kosela, Soleh. (2010). Cara mudah dan sederhana penentuan struktur molekul berdasarkan spektra data (NMR, Mass, IR, UV). Depok: Lembaga penerbit FE UI
- Mercadante, A.Z., Steck, A., Pfander, H. (1999). Carotenoids from Guava (*Psidium guajava* L.): Isolation and Structure Elucidation. *J. Agric. Food Chemistry*. 47, 145-151
- M.S, Sudjadi. (1985). Penentuan Senyawa Organik. Jakarta: Ghalia Indonesia
- Murray, RK., Granner, DK., Mayes, PA., Rodwell, VW. (2003). Harper's illustrated biochemistry 26th ed. <http://www.GetPedia.com>
- Pribadi, Iqbal. (2009). Uji Aktivitas PenangkapRadikal Buah *Psidium guajava* L Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikril Hidrazil) Serta Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonid Totalnya. Skripsi Sarjana Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Putri, Dini Rizqia. (2009). Efek Antioksidan Fraksi Larut Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Pada Kelinci Yang Dibebani Glukosa. Skripsi Sarjana Universitas Muhammadiyah Surakarta. <http://etd.eprints.ums.ac.id/6090/1/K100050059.pdf>. 13 Januari 2011, 15:24 WIB

- Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P. (2010). Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava*. *Journal of Medical Plants Research* Vol.
- R.G, Belemtougri., B, Constantin., C, Cognard., G, Raymond., L. Sawadogo. (2006). Effects of two medicinal plants *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) and *Diospyros mespiliformis* L. (Ebenaceae) leaf extracts on rat skeletal muscle cells in primary culture. *Journal of Zhejiang University Science B*. 7(1):56-63
- Robinson, Trevor. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB
- Swantara, I M. Dira, Darmayasa I. B., Lestari, Sri.(2010). Karakterisasi Fraksi Aktif Antibakteri Ekstrak dari Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br). *Jurnal Kimia* 4 (2), Juli 2010 : 101-112 FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran
- Sastrohamidjojo, Hardjono. (1992). *Spektroskopi Inframerah*, Edisi Pertama. Yogyakarta: Lyberty Yogyakarta.
- W.D, Chiwororo., J.A Ojewole. (2009). Spasmolytic effect of *Psidium guajava* L. (Mirtaceae) leaf aqueous extract on rat isolated uterine horns. PubMed-indexed for Medline.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/PMCArticlePage.PPMCPubMedRA&linkpos=3>
- William, Dudley H., Fleming. *Spectroscopic methods in organic chemistry*, Third edition.

Lampiran 1. Hasil identifikasi/ determinasi tumbuhan



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, 25 Februari 2011

Nomor : 33 /IPH.1.02/If.8/II/2011
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Retno Hapsari
NIM : 0706263366
Mhs. Univ. Indonesia
Fakultas MIPA
Kampus Depok
16424

Dengan hormat,

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

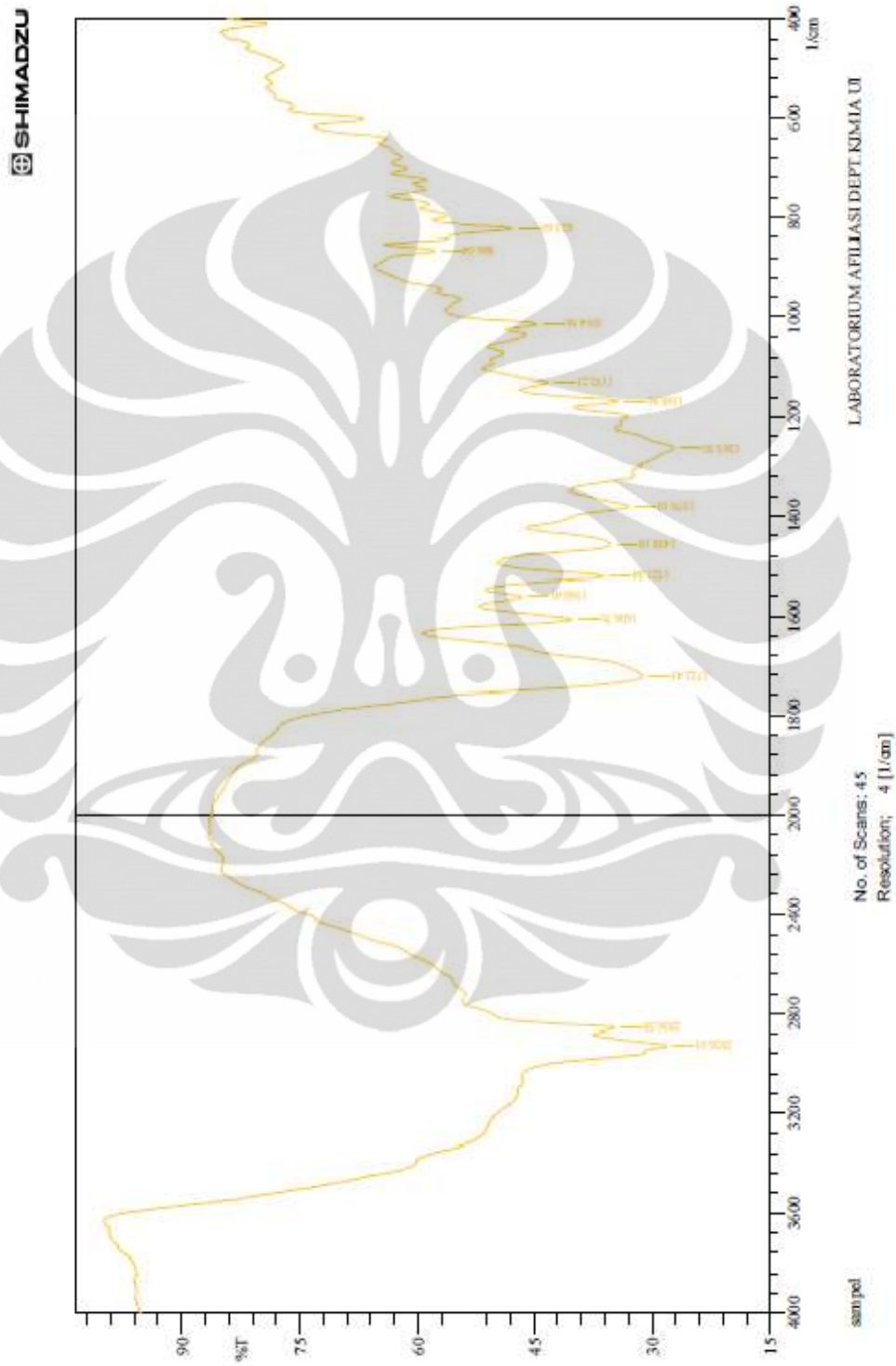
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Jambu Biji (Daun Hijau)	<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae
2	Jambu Biji (Buah Merah)	<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Prof. Dr. Eko Baroto Wahyujo
NIP. 195111041975011001

Lampiran 2. Spektrum IR fraksi asam



Lampiran 3. Spektrum MS fraksi asam

(Lanjutan)

Library Search Report

Data Path : D:\DATA START NOV 2010\MAHASISWA\S1 UI\RETNO H\
 Data File : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL ULI.D
 Acq On : 20 May 2011 11:52
 Operator : RETNO H
 Sample : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0
 Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	12.967	0.54	C:\Database\wiley7n.1 5-Methoxy-3H-benz[e]indole-1-aceto nitrile 10-Ethyl-1,3,6,9,9-pentamethyl-2,1 0-diasabicyclo[4,0]-1-decene \$S 1 -Ethyl-2,2,4a,7,7-pentamethyl-3,2, 3,4,4a,5,6,7-octahydro[1,8]naphth ridine \$S 1-ETHYL-2,2,4A,7,7-PENTA METHYL-1,2,3,4,4A,5,6,7-OCTAHYDRO- [1,8]NAPHTHYRIDINE \$S 5-(1-HYDROXY -ETHYL)-1-ETHYL- 1,3-dihydro-1-methyl-1-styrylisobe nzofuran	167999	000000-00-8	83
2	12.567	0.68	C:\Database\wiley7n.1 Hexadecanoic acid, methyl ester (C AS) \$S Methyl palmitate \$S Methyl hexadecanoate \$S Methyl n-hexadeca noate \$S Uniphat A60 \$S Metholene 2216 \$S Palmitic acid methyl ester \$S Palmitic acid, methyl ester \$S n-Hexadecanoic acid methyl ester \$S PALMITIC ACID- Pentadecanoic acid, 14-methyl-, me thyl ester Hexadecanoic acid, methyl ester	213911	000112-39-0	99
3	12.830	2.64	C:\Database\wiley7n.1 Heptadecanoic acid Hexadecanoic acid (CAS) \$S Palmiti c acid \$S Palmitic acid \$S n-Hex adecic acid \$S n-Hexadecanoic aci d \$S Pentadecanecarboxylic acid \$S 1-Pentadecanecarboxylic acid \$S P almitic acid \$S Coconut oil fatty a cids \$S Cetylric acid \$S Emerald 14 0 \$S Emerald 143 n-Hexadecanoic acid	213888	000506-12-7	99
4	12.693	2.08	C:\Database\wiley7n.1 Dibutyl phthalate Dibutyl phthalate Dibutyl phthalate \$S 1,2-Benzenedi carboxylic acid, dibutyl ester \$S Phthalic acid, dibutyl ester \$S n- Butyl phthalate \$S Butyl phthalate \$S Celluflex DBP \$S Eliaol \$S Geno plast B \$S Hexaplas M/B \$S Palatin ol C \$S Polycizer DBP \$S PX 104 \$S Staflex DBP \$S U	223237	000084-74-2	95
5	13.009	1.22	C:\Database\wiley7n.1 Undecanoic acid, ethyl ester (CAS)	136190	000627-96-7	70

UNHM.M Fri May 20 13:45:49 2011 Page: 1

(Lanjutan)

Library Search Report

Data Path : D:\DATA START NOV 2010\MAHASISWA\SI UI\RETNO H\
 Data File : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL ULI.D
 Acq On : 20 May 2011 11:52
 Operator : RETNO H
 Sample : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL
 Misc : SI UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			\$\$ Ethyl undecylate \$\$ Ethyl undecanoate \$\$ ETHYL UNDODECANOATE \$\$ n-Undecanoic acid ethyl ester			
			2-Tetradecene, (E)-	110370	035953-53-8	64
			Hexadecanoic acid, ethyl ester	231383	000678-97-7	55
			Palmitic acid, ethyl ester			
			1 hexadecanoate \$\$ Ethyl palmitate			
6	13.851	0.72	C:\Database\wiley7n.1			
			Octadecanoic acid, methyl ester (C	247761	000112-61-8	98
			AS) \$\$ Methyl stearate \$\$ Methyl octadecanoate \$\$ Methyl n-octadecanoate \$\$ Stearic acid methyl ester			
			\$\$ Kemester 9718 \$\$ Stearic acid, methyl ester \$\$ n-Octadecanoic acid methyl ester \$\$ Methyl-octadecanoate \$\$ Methyl es			
			Octadecanoic acid, methyl ester (C	247761	000112-61-8	98
			AS) \$\$ Methyl stearate \$\$ Methyl octadecanoate \$\$ Methyl n-octadecanoate \$\$ Stearic acid methyl ester			
			\$\$ Kemester 9718 \$\$ Stearic acid, methyl ester \$\$ n-Octadecanoic acid methyl ester \$\$ Methyl-octadecanoate \$\$ Methyl es			
			Octadecanoic acid, methyl ester	247756	000112-61-8	98
7	14.093	1.72	C:\Database\wiley7n.1			
			Octadecanoic acid (CAS) \$\$ Stearic acid \$\$ n-Octadecanoic acid \$\$ PD	231321	000057-11-4	97
			185 \$\$ NAA 173 \$\$ Vanicol \$\$ Kam 3000 \$\$ Kam 1000 \$\$ Kam 2000 \$\$ Neo-Fat 18 \$\$ Steric acid \$\$ Hystrene 80 \$\$ Industriene R \$\$ Stearex Beads \$\$ Hystrene 8-97 \$\$ Neo-Fat 18-53 \$\$ Neo-Fat 18			
			Octadecanoic acid (CAS) \$\$ Stearic acid \$\$ n-Octadecanoic acid \$\$ PD	231321	000057-11-4	97
			185 \$\$ NAA 173 \$\$ Vanicol \$\$ Kam 3000 \$\$ Kam 1000 \$\$ Kam 2000 \$\$ Neo-Fat 18 \$\$ Steric acid \$\$ Hystrene 80 \$\$ Industriene R \$\$ Stearex Beads \$\$ Hystrene 8-97 \$\$ Neo-Fat 18-53 \$\$ Neo-Fat 18			
			Octadecanoic acid	231321	000057-11-4	93
8	14.251	0.87	C:\Database\wiley7n.1			
			Trifluoroacetic acid, n-octadecyl ester	310699	000000-00-0	68
			(cis)-2-nonadecene	208866	000000-00-0	62
			Cyclopentadecane	131075	000295-48-7	60
9	15.387	0.65	C:\Database\wiley7n.1			

UMUM.M Fri May 20 13:45:49 2011 Page: 2

(Lanjutan)

Library Search Report

Data Path : D:\DATA START NOV 2010\MAHASISWA\S1 UI\RETNO H\
 Data File : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL ULI.D
 Acq On : 20 May 2011 11:52
 Operator : RETNO H
 Sample : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.l Minimum Quality: 0
 Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - eEvents.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			Cyclotetracosane	287054	030297-03-0	99
			1-Nonadecane	208880	018435-45-5	98
			9-Nonadecene	208868	031035-07-1	93
10	15.440	1.01	C:\Database\wiley7n.l Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	313835	000103-23-1	93
			Diisooctyl adipate \$\$ Hexanedioic acid, diisooctyl ester	313855	001330-86-5	74
			Di(2-ethylhexyl)adipate	313848	000103-23-1	62
11	15.363	67.73	C:\Database\wiley7n.l 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diis ooctyl ester \$\$ Diisooctyl phthal ate \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Isooctyl pht halate	326920	027554-26-3	91
			Di-(2-ethylhexyl)phthalate	326940	000117-81-7	90
			Bis(2-ethylhexyl) phthalate	326913	000117-81-7	90
12	16.471	1.65	C:\Database\wiley7n.l 1-Nonadecene	208864	018435-45-5	86
			9-Nonadecene	208868	031035-07-1	84
			10-Heneicosene (C, E)	243342	095008-11-0	83
13	17.744	2.58	C:\Database\wiley7n.l 9-Octadecenamide, (Z)- Erucylamide \$\$ 13-Docosanamide, (Z)- Erucylamide	287142	000301-02-0	81
			Erucylamide	287552	008112-84-5	53
			Erucylamide	287551	000112-64-5	53
14	31.328	3.35	C:\Database\wiley7n.l EInc, bis[[4,5'-methylenebis[3,4-d ihydro-4,4-dimethyl-2H-pyrrol-2-on ato]](1-)-N1,N1'-], (T-4)- Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1 -dimethylethyl)-4-hydroxy-, octade cyl ester \$\$ 2,6-Di-tert-butyl-4- (2-octadecyloxy-carbonyl)ethyl-3-ph enol IRGANOX 1076 \$\$ 2,6-Di-tert-butyl- 4-((2-octadecyloxy-carbonyl)ethyl- -phenol \$\$ OCTADECYL 3-(4'-HYDROXY -3',5'-DITERT.BUTYLPHENYL)PROPANO ATE \$\$ Benzenepropanoic acid, 3,5-b is(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, octadecyl ester	373876	069782-63-4	95
			Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1 -dimethylethyl)-4-hydroxy-, octade cyl ester	374001	002082-79-3	91
			IRGANOX 1076 \$\$ 2,6-Di-tert-butyl- 4-((2-octadecyloxy-carbonyl)ethyl- -phenol	374004	002082-79-3	87
15	31.496	8.56	C:\Database\wiley7n.l 3,8,17,18-Tetrahydro-35-methoxy-1, 3,21,23-tetramethyl-16H,31H-5,9,15 ,19-dimethano-10,14-methano-26,30- nitrilo-6H,25H-dibenzo(b,s)(1,21,4 ,8,14,18)dioxatetraazacyclooctacos	385330	091084-75-2	59

UNUM.M Fri May 20 13:45:49 2011 Page: 3

(Lanjutan)

Library Search Report

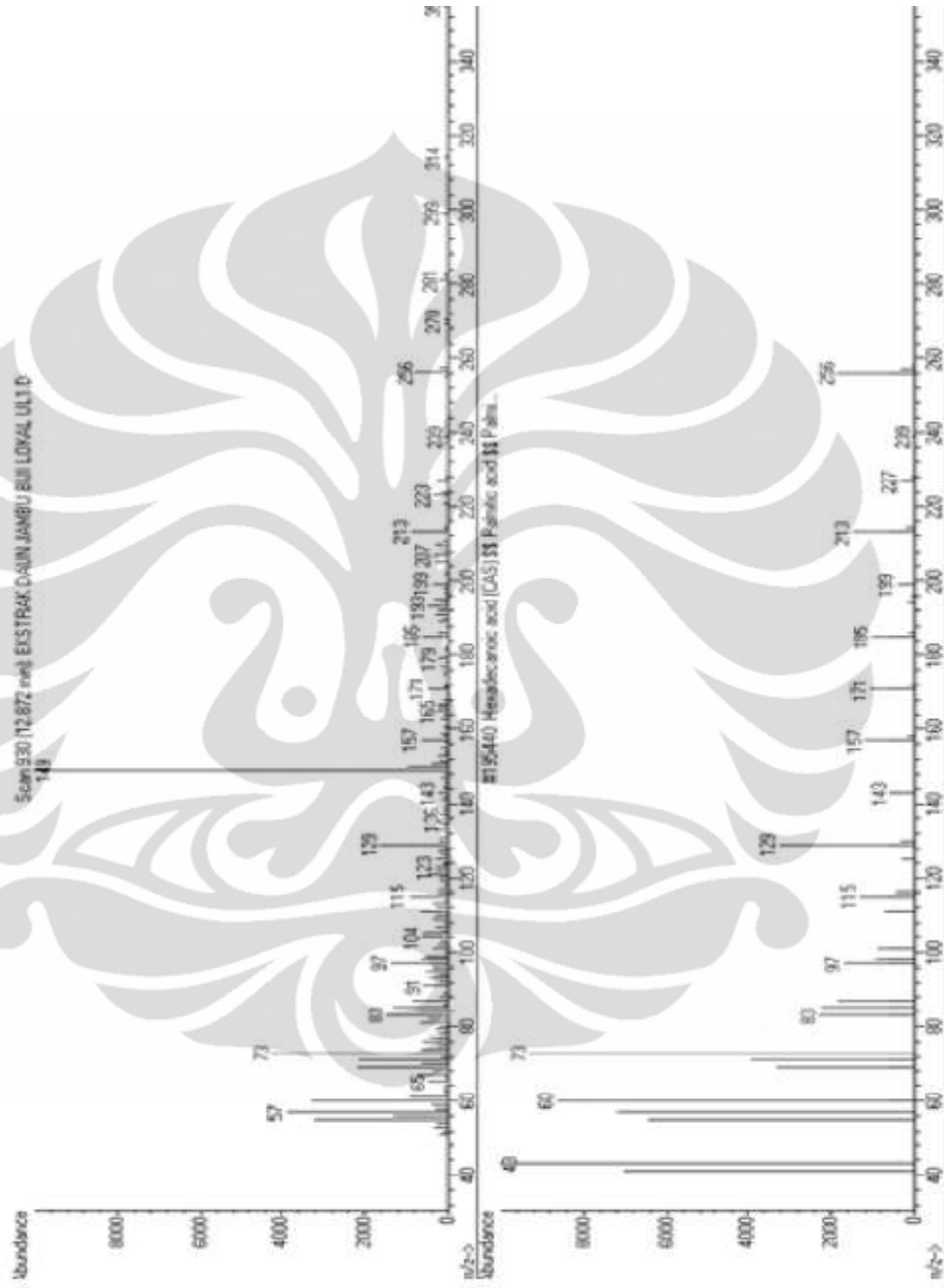
Data Path : D:\DATA START NOV 2010\MAHASISWA\S1 UI\RETNO H\
 Data File : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL U11.D
 Acq On : 20 May 2011 11:52
 Operator : RETNO H
 Sample : EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI LOKAL
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n-1 Minimum Quality: 0
 Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

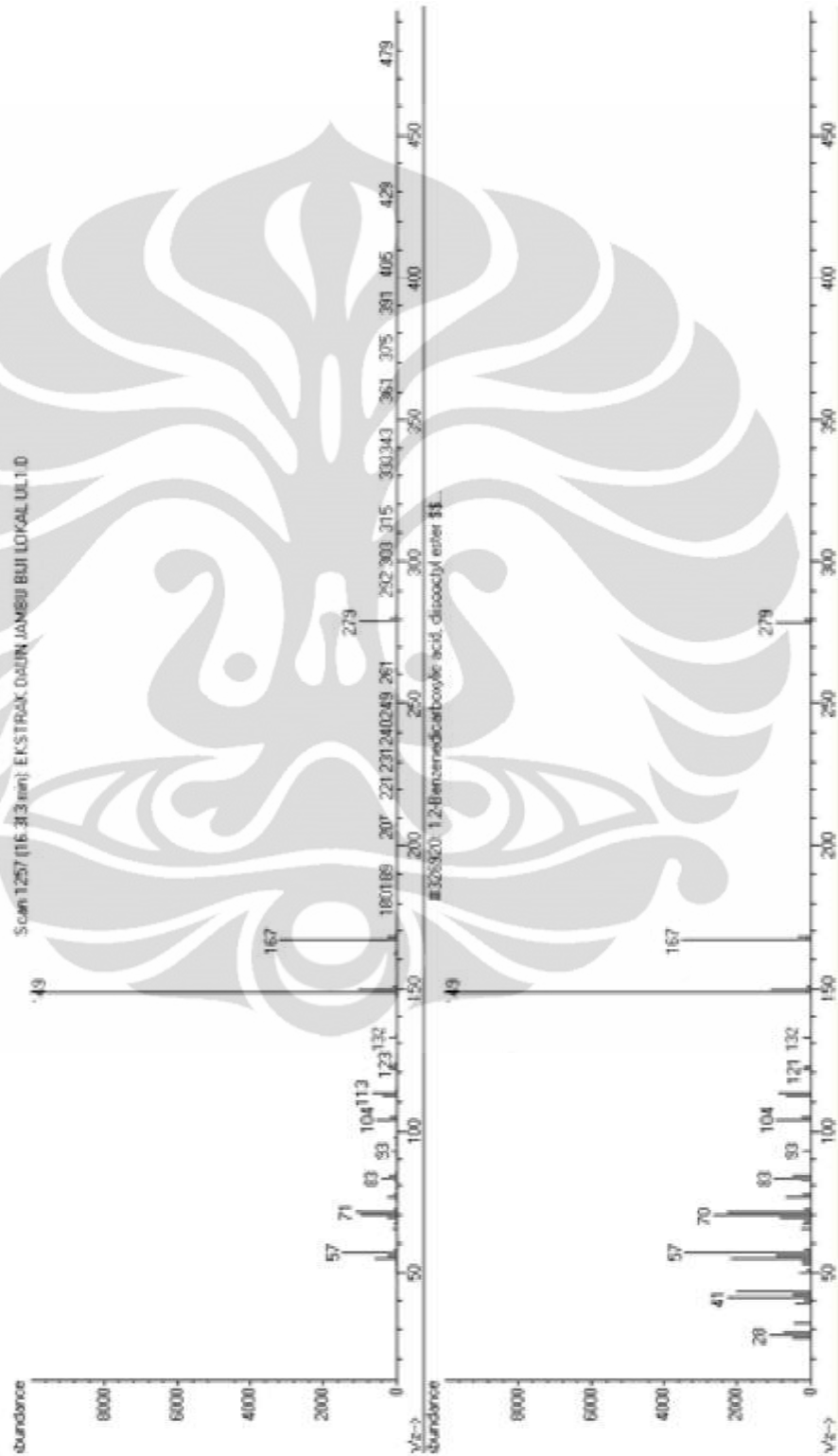
PK#	RT	Area%	Library/ID	Refs	CAS#	Qual
			line S9 6H,16H,31H-5,9-15,19-Dimeth ano-10,14-metheno-26,30-nitrilo-5H ,26H-dibenzo[b,s]			
			3,5,7-Tris(trimethylsiloxy)-2-[3,4 -di(trimethylsiloxy)phenyl]-4H-1-b enzopyran-4-one	386104	000000-00-0	4
			Phenylsulfonato[2,3,7,8,12,13,17,1 8-octaethylporphyrinato]indium 69	389942	070619-65-7	1
			Indium (benzenesulfonato-O)[2,3,7 ,8,12,13,17,18-octaethyl-21H,23H-p orphinato (2-)-N21,N22,N23,N24]-, (SP-5-12)- (CAS) 38 21H,23H-Porphi ne, 2,3,7,8,12,13,17,18-octaethyl- indium complex			

UMKM.M Fri May 20 11:45:45 2011 Page: 4

Lampiran 4. Spektra MS perbandingan fragmentasi fraksi asam dengan senyawa asam heksadekanoat (asam palmitat)



Lampiran 5. Spektra MS perbandingan fragmentasi fraksi asam dengan senyawa 1,2-diisooktil benzendikarboksilat



Lampiran 6. Spektrum H¹NMR

