



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ISOLASI, ELUSIDASI STRUKTUR DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN SENYAWA KIMIA DARI DAUN  
*Garcinia benthami* Pierre**

**TESIS**

**PUTERI AMELIA  
0906576971**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN  
DEPOK  
JULI 2011**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ISOLASI, ELUSIDASI STRUKTUR DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN SENYAWA KIMIA DARI DAUN  
*Garcinia benthami* Pierre**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Farmasi**

**PUTERI AMELIA  
0906576971**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN  
DEPOK  
JULI 2011**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

**Nama : Puteri Amelia**

**NPM : 0906576971**

Tanda Tangan :



Tanggal :

15 JULI 2011

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Puteri Amelia  
NPM : 0906576971  
Program Studi : S2 Ilmu Kefarmasian  
Judul Tesis : Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas  
Antioksidan Senyawa Kimia Dari Daun  
*Garcinia benthami* Pierre

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

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt

(  )

Pembimbing II : Dr. Sci. Muhammad Hanafi

(  )


Penguji : Prof. Atiek Soemiati, M.S., Apt

(  )

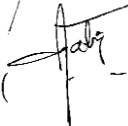
Penguji : Dr. Arry Yanuar, M.Si., Apt

(  )

Penguji : Prof. Dr. Endang Hanani, Apt

(  )

Penguji : Dr. Katrin, M.S., Apt

(  )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 15 Juli 2011



## KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH

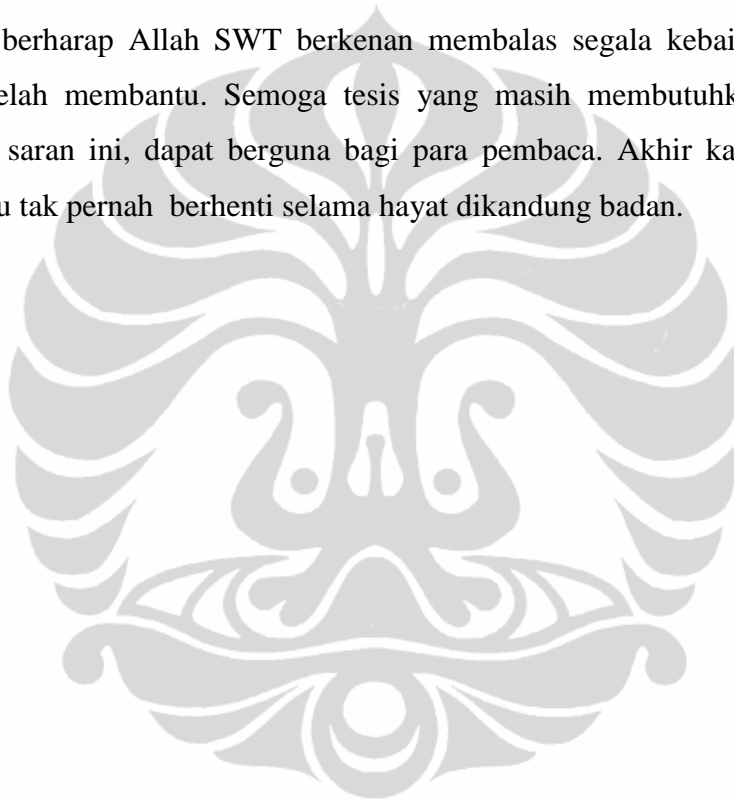
Kami mengucapkan syukur atas segala karunia dan nikmat yang Allah *Subhanahu Wa Ta 'Ala* telah berikan sehingga tugas akhir ini dapat kami selesaikan. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Farmasi pada Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Kami menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sejak masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini sangatlah sulit bagi kami untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, kami mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Ibu Dr. Berna Elya, M.Si., Apt selaku pembimbing pertama dan Bapak Dr. Sci. Muhammad Hanafi selaku pembimbing kedua, yang memiliki andil besar dalam proses penelitian dan penyelesaian tugas akhir kami ini, semoga segala bantuan dan bimbingan ibu dan bapak mendapat imbalan yang lebih baik di sisi-Nya.
- (2) Ibu Dr. Linar Zalarin Udin, selaku Kepala Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia beserta staf atas penggunaan segala fasilitas dan bantuannya selama penelitian.
- (3) Ibu Dr. Yahdiana Harahap, M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- (4) Ibu Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S., Apt selaku ketua Program Magister Ilmu Kefarmasian yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama kami menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
- (5) Bapak dan Ibu staf pengajar dan karyawan serta rekan-rekan mahasiswa Program Magister Ilmu Kefarmasian Departemen Farmasi FMIPA UI.
- (6) Bapak M. Yanis Musdja, M.Si, Apt, selaku ketua Program Studi Farmasi FKIK Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta beserta seluruh staf pengajar yang telah memberikan dukungan dalam menyelesaikan pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.

Tak lupa kepada kedua orang tua kami, ayahanda Moh. Ris Mahyudin dan ibunda Sukaety Jalal, semoga segala amalan dan jerih payah keduanya mendapat balasan yang jauh lebih baik disisi-Nya, juga kepada papa dr. Soeharto AR, MARS dan Ibu Eko Ningtyas, kakak-kakak dan adik-adik yang senantiasa memberikan bantuan, kasih sayang, semangat dan doa, terutama kepada suamiku Awang Ramdhani, ST dan anak-anakku tersayang (Zihni dan Zuhdi) yang selalu menjadi penyemangat dan penghibur dalam proses penelitian dan penyusunan tesis ini.

Kami berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis yang masih membutuhkan banyak masukan dan saran ini, dapat berguna bagi para pembaca. Akhir kata, semoga pencarian ilmu tak pernah berhenti selama hayat dikandung badan.



Penulis  
2011

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

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

Nama : Puteri Amelia  
NPM : 0906576971  
Program Studi : S2 Ilmu kefarmasian  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Tesis

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

“Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia Dari Daun *Garcinia benthami* Pierre”.

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 : 15 Juli 2011

Yang menyatakan



( Puteri Amelia )

## ABSTRAK

Nama : Puteri Amelia  
Program Studi : Magister Farmasi  
Judul : Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan  
Senyawa Kimia Dari Daun *Garcinia benthami* Pierre

Pembimbing Tesis : Dr. Berna Elya, M.Si, Apt dan Dr. Sci. Muhammad Hanafi

---

*Garcinia* termasuk famili Clusiaceae yang mempunyai kontribusi yang besar untuk kesehatan karena mengandung senyawa yang mempunyai bioaktivitas yang potensial diantaranya sebagai antioksidan. Berbagai kandungan kimia dari berbagai spesies *Garcinia* telah dilaporkan, diantaranya senyawa golongan xanton, kumarin, flavonoida dan terpenoid. Salah satu spesies dari genus *Garcinia* yang tumbuh di Indonesia adalah *Garcinia benthami* Pierre. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan struktur senyawa kimia hasil isolasi ekstrak aseton dan metanol dari daun *Garcinia benthami* Pierre, serta melakukan uji antioksidan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Isolasi senyawa dilakukan dengan teknik kromatografi dan penentuan struktur molekul dilakukan dengan metode spektroskopi: massa (LC-MS), inframerah (IR), UV, resonansi magnet inti proton ( $^1\text{H-NMR}$ ) dan resonansi magnet inti karbon ( $^{13}\text{C-NMR}$ ), DEPT serta spektroskopi NMR-2D (HMQC dan HMBC). Dari data spektroskopi diatas, dua senyawa murni berhasil diisolasi yaitu GBP-1 dan GBP-2. Senyawa GBP-1 yang memiliki rumus molekul  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$  diidentifikasi sebagai friedelin dan senyawa GBP-2 yang memiliki rumus molekul  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_6$  diidentifikasi sebagai 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton. Hasil uji antioksidan dengan metode DPPH pada GBP-1 tidak memperlihatkan aktivitas antioksidan dengan  $\text{IC}_{50}$  267,51  $\mu\text{g/mL}$ , sementara senyawa GBP-2 memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan  $\text{IC}_{50}$  8,01  $\mu\text{g/mL}$ .

Kata Kunci : *Garcinia benthami* Pierre, friedelin, 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton, antioksidan, DPPH.  
xiv + 96 halaman : 10 gambar, 8 tabel; 19 lampiran  
Tinjauan Pustaka : 76 (1969-2009)

## ABSTRACT

Name : Puteri Amelia  
Program Study : Magister of Pharmacy  
Title : Isolation, Structure Elucidation, and Antioxidant Activity Test of Chemical Compounds From *Garcinia benthami* Pierre Leaves.

Thesis Supervisors : Dr. Berna Elya, MSi, Apt. and Dr. Sci. Muhammad Hanafi.

---

### SUMMARY

*Garcinia* belong to Clusiaceae family have a large contribution for health, because this family content some potential bioactive compounds among as antioxidants. Chemical contain from some species of *Garcinia* have reported as xanthenes, terpenoids, coumarins and flavonoids. *Garcinia benthami* Pierre is one of *Garcinia* species in Indonesia. This research was intended to isolate, elucidate and measure biological active compounds from acetone and methanol extract of *Garcinia benthami* Pierre leaves. The isolation was conducted through the chromatographic technique and elucidation structures by spectroscopy: mass spectrometry (LC-MS), infra red (IR), UV,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  and NMR-2D (HMBC and HSQC), as well as to conduct antioxidant test by using DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) method from the isolated compounds. Based on spectroscopy data, two compounds have been found: GBP-1 and GBP-2. GBP-1 which has molecular formula  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$  was identified as friedelin and GBP-2 which has molecular formula  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_6$  was predicted as 1,3,6,7-tetrahydroxy-xanthone. The result of antioxidant test to DPPH on the GBP-1 did not show antioxidant activity  $\text{IC}_{50}$  267.51  $\mu\text{g/mL}$  and the GBP-2 showed antioxidant DPPH radical scavenging with  $\text{IC}_{50}$  8.01  $\mu\text{g/mL}$ .

Keywords : *Garcinia benthami* Pierre, friedelin, 1,3,6,7-tetrahydroxy-xanthone, antioxidant, DPPH.  
xiv + 96 pages : 10 figures; 8 tables; 19 appendices  
Bibliography : 76 (1969-2009)

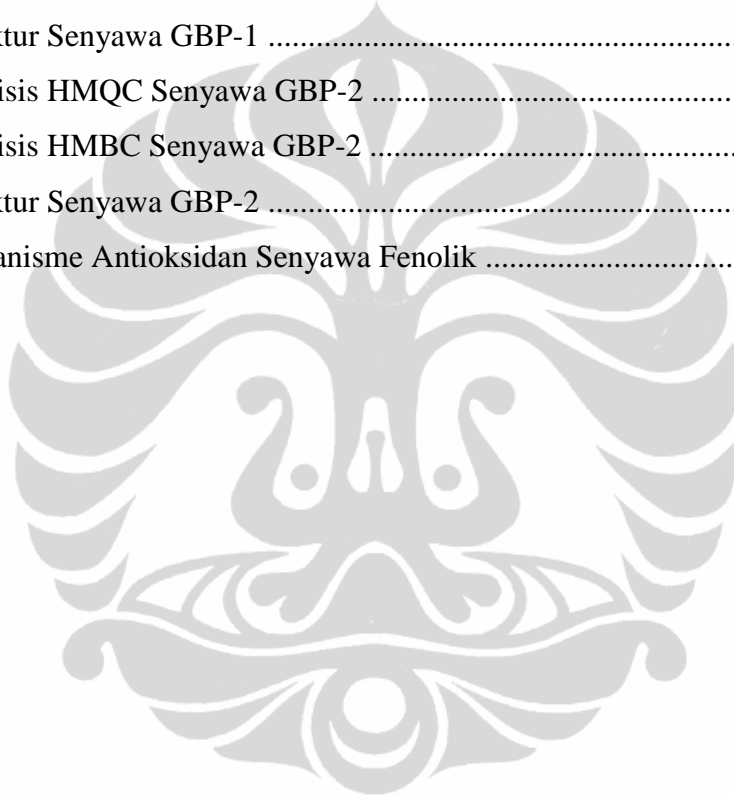
## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	1
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.4. Manfaat hasil Penelitian .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1. Genus <i>Garcinia</i> .....	5
2.2. <i>Garcinia benthami</i> Pierre .....	6
2.3. Kandungan Kimia Genus <i>Garcinia</i> .....	8
2.4. Bioaktivitas Senyawa-Senyawa Dari Genus <i>Garcinia</i> .....	19
2.5. Ekstraksi dan Fraksinasi .....	25
2.6. Metode Pemisahan dan Pemurnian .....	27
2.7. Karakterisasi Senyawa Murni.....	33
2.8. Antioksidan .....	35
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>41</b>
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	41
3.2. Bahan .....	41

3.3. Peralatan .....	42
3.4. Cara Kerja .....	42
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>54</b>
4.1. Penyiapan Bahan .....	54
4.2. Ekstraksi .....	54
4.3. Uji Antioksidan Ekstrak .....	55
4.4. Penapisan Fitokimia .....	58
4.5. Isolasi dan Pemurnian Senyawa .....	58
4.6. Penentuan Stuktur Molekul Senyawa Murni .....	58
4.7. Antioksidan Fraksi dan Senyawa Murni .....	67
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>70</b>
5.1. Kesimpulan .....	70
5.2. Saran .....	70
<b>DAFTAR ACUAN .....</b>	<b>71</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	<i>Garcinia benthami</i> Pierre .....	7
2.2	Struktur Xanton .....	8
3.1	Bagan Alur Ekstraksi Daun <i>Garcinia benthami</i> Pierre .....	50
3.2	Bagan Alur Isolasi dan Pemurnian Ekstrak Aseton dan Metanol .....	51
4.1	Mekanisme Penangkapan Radikal DPPH .....	57
4.2	Struktur Senyawa GBP-1 .....	62
4.3	Analisis HMQC Senyawa GBP-2 .....	64
4.4	Analisis HMBC Senyawa GBP-2 .....	65
4.5	Struktur Senyawa GBP-2 .....	66
4.6	Mekanisme Antioksidan Senyawa Fenolik .....	69





## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Data Rendemen Ekstrak .....	55
4.2 Hasil Uji Antioksidan Ekstrak .....	56
4.3 Hasil Penapisan Fitokimia .....	58
4.4 Nilai Pergeseran $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ Senyawa GBP-1 .....	59
4.5 Perbandingan $^{13}\text{C-NMR}$ Senyawa GBP-1 dengan Friedelin .....	62
4.6 Data Pergeseran Kimia $^{13}\text{C-NMR}$ , $^1\text{H-NMR}$ dan HMBC Senyawa GBP-2.....	65
4.7 Perbandingan Pergeseran Kimia $^1\text{H NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ , Senyawa GBP-2 dengan 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton (Berdasarkan Program Komputer <i>Chem. Office</i> ).....	67
4.8 Data Uji Antioksidan Fraksi dan Senyawa Murni .....	68



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi <i>Garcinia benthami</i> Pierre .....	76
Lampiran 2. Spektrum Serapan DPPH .....	77
Lampiran 3. Profil KLT .....	78
Lampiran 4. Spektrum LC-MS Senyawa GBP-1 .....	79
Lampiran 5. Spektrum IR Senyawa GBP-1 .....	80
Lampiran 6. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa GBP-1 .....	81
Lampiran 7. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa GBP-1 (0,7-1,8 ppm).....	82
Lampiran 8. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa GBP-1 .....	83
Lampiran 9. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa GBP-1 (7-59 ppm) .....	84
Lampiran 10. Spektrum LC-MS Senyawa GBP-2.....	85
Lampiran 11. Spektrum IR Senyawa GBP-2 .....	86
Lampiran 12. Spektrum UV Senyawa GBP-2 .....	87
Lampiran 13. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa GBP-2.....	88
Lampiran 14. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa GBP-2 (6-13 ppm) .....	89
Lampiran 15. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa GBP-2 .....	90
Lampiran 16. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa GBP-2 (94-182 ppm) .....	91
Lampiran 17. Spektrum DEPT Senyawa GBP-2 .....	92
Lampiran 18. Spektrum HMQC Senyawa GBP-2 .....	93
Lampiran 19. Spektrum HMBC Senyawa GBP-2 .....	94

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Obat merupakan salah satu kebutuhan dalam kehidupan manusia. Sejalan dengan laju pertumbuhan penduduk dan munculnya berbagai jenis penyakit yang merebak luas di masyarakat mengakibatkan kebutuhan akan obat menjadi suatu hal yang sangat penting. Sayangnya di Indonesia kondisi tersebut tidak diimbangi dengan ketersediaan bahan baku yang umumnya masih diimpor.

Indonesia dikenal kaya akan berbagai jenis tumbuhan namun baru sebagian yang telah dimanfaatkan sebagai obat. Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang telah dikenal sejak dulu kala. Dalam dasawarsa terakhir ini penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat semakin meningkat (Christine, 1985). Sebagai solusi atas kurangnya bahan baku obat maka diperlukan upaya alternatif seperti mencari bahan baku obat alami yang tersedia di Indonesia.

Pemilihan tumbuhan dalam rangka pencarian senyawa bioaktif baru dari tumbuhan dapat dilakukan melalui pendekatan secara etnobotani dan kemotaksonomi. Pendekatan etnobotani dimaksudkan penelusuran berdasarkan pemakaian bahan alam oleh suatu etnik tertentu untuk berbagai tujuan terutama pengobatan sedangkan pendekatan kemotaksonomi dilakukan melalui penelusuran berdasarkan hubungan kekerabatan antar tumbuhan dengan asumsi tumbuhan yang sekerabat memiliki kandungan kimia yang sama atau paling tidak memiliki rangka atau inti senyawa aktif yang sama (Partomuan, 2003).

Secara alamiah, setiap mahluk hidup atau organisme akan sampai pada proses menjadi tua. Proses tua tersebut memang normal terjadi dan tidak dapat dihindari. Proses tua dianggap sebagai siklus hidup yang normal bila datang sesuai waktunya, namun sayangnya terkadang terjadi proses penuaan dini yang terlalu cepat. Kemajuan ilmu pengetahuan kemudian menemukan bahwa banyak sekali faktor penyebab terjadinya proses tua secara dini, antara lain karena faktor

genetik, gaya hidup, lingkungan, mutasi gen, rusaknya sistem kekebalan dan radikal bebas (Kosasih, dkk., 2006).

Teori radikal bebas merupakan teori yang paling sering diungkapkan diantara semua faktor penyebab tersebut. Radikal bebas dapat berasal dari polusi, debu maupun diproduksi secara kontinyu sebagai konsekuensi dari metabolisme, sebab itu tubuh kita memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini (Kosasih, dkk., 2006).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid walaupun dalam konsentrasi yang sedikit. Antioksidan berfungsi mengatasi atau menetralkan radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemberian antioksidan tersebut proses tua dihambat atau paling tidak “tidak dipercepat” serta dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif (Kosasih, dkk., 2006).

Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun antioksidan alami. Tetapi saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dari hasil penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik. Oleh karena itu industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami baru (Takashi dan Takayuni, 1997).

Salah satu tumbuhan tinggi Indonesia yang mempunyai potensi sebagai sumber senyawa kimia bioaktif adalah genus *Garcinia*. Masyarakat mengenal genus ini sebagai tumbuhan keluarga manggis yang merupakan tanaman pangan dan banyak dimanfaatkan untuk obat tradisional.

Di Indonesia, *Garcinia* tergolong tumbuhan yang banyak tersebar dan merupakan bagian penting dari komposisi hutan. Berdasarkan data yang ada di herbarium Bogoriense, di Indonesia terdapat sekitar 100 jenis *Garcinia*. Di dunia jumlahnya diperkirakan mencapai 400 jenis (Sari, R., 1999). Ini berarti sekitar seperempat jenis *Garcinia* ada di Indonesia. Sayangnya banyak sekali jenis *Garcinia* yang tidak mendapat perhatian secara khusus karena tidak mempunyai

**Universitas Indonesia**

manfaat yang berarti bagi masyarakat. *Garcinia* sering ditebang begitu saja dalam pembukaan lahan karena dianggap tidak penting. Keadaan ini dapat mengancam keberadaan *Garcinia* di masa-masa mendatang karena banyak diantaranya yang sulit beregenerasi dan lambat pertumbuhannya.

*Garcinia benthami* Pierre merupakan salah satu spesies dari genus *Garcinia* yang pemanfaatannya belum banyak dilaporkan. Tumbuhan ini tersebar di Semenanjung Malaysia, Sumatera dan Kalimantan (Heyne, K. 1987). Penelusuran pustaka yang telah dilakukan terhadap tumbuhan ini menunjukkan bahwa telah diisolasi beberapa senyawa kimia seperti triterpen dan benzofenon (Elya, B. *et.al*, 2006) namun belum dijumpai adanya laporan uji aktivitas biologis dari tumbuhan ini.

Pada penelitian ini yang digunakan adalah bagian daun dari *Garcinia benthami* Pierre. Uji pendahuluan yang dilakukan terhadap ekstrak *n*-heksan, etil asetat, aseton dan metanol dari daun *Garcinia benthami* Pierre, menunjukkan ekstrak metanol dan aseton positif terhadap uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode “DPPH”, selanjutnya akan dilakukan isolasi kandungan kimia utamanya.

Pemisahan senyawa dilakukan dengan cara kromatografi kolom yang dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT), dilanjutkan dengan pemurnian senyawa hasil isolasi dengan cara rekristalisasi. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan pemeriksaan fisika, kimia dan fisikokimia menggunakan spektrofotometer inframerah, spektrofotometer UV-Visibel, spektrofotometer resonansi magnetik inti proton dan karbon serta teknik resonansi dua dimensi (Harbone, J.B., 1987; Ghisalberti, E.L., 1993). Senyawa murni yang telah diperoleh dilakukan kembali uji aktivitas antioksidannya.

## 1.2 Perumusan Masalah

Dari hasil penelusuran pustaka diketahui bahwa belum ada penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan terhadap kandungan senyawa kimia dari daun *Garcinia benthami* Pierre. Dengan latar belakang tersebut dicoba untuk meneliti daun tumbuhan ini yang secara taksonomi berpeluang besar mendapatkan

Universitas Indonesia

senyawa kimia yang kemungkinan berbeda dari yang telah didapatkan sebelumnya.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah melakukan isolasi dan menentukan struktur senyawa kimia dari ekstrak aseton dan metanol daun *Garcinia benthami* Pierre serta memperoleh senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan.

### **1.4 Manfaat Hasil Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah didapatkannya senyawa aktif antioksidan dari bahan alam Indonesia selain itu juga dapat melengkapi data penelitian bahan alam, mengingat masih terbatas laporan mengenai *Garcinia benthami* Pierre. Uji aktivitas antioksidan yang dilaksanakan pada penelitian ini diharapkan dapat mendorong pengembangan bahan obat tradisional, dengan harapan dapat mengurangi ketergantungan terhadap obat modern yang umumnya bahan bakunya masih diimpor.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Genus *Garcinia*

Famili Clusiaceae memiliki 40 genus dan lebih dari 1000 spesies yang tersebar di daerah tropika dan sub tropika (Heyne, 1987). Famili Clusiaceae ini terdiri dari dua genus utama yaitu *Garcinia* dan *Calophyllum* serta sub famili *Mesua* dan *Mammea*. Kedua sub familia ini kaya dengan senyawa xanton, kumarin, kalanon, flavonoida, biflavonoida, benzofenon dan poliisoprenilketon (Linuma, 1996).

*Garcinia* mempunyai habitus berupa pohon dengan tinggi mencapai 25-33 m dan jarang yang berupa semak. Batangnya lurus dengan diameter 60-100 cm, mengecil kearah ujung. Bentuk pohon seperti kerucut, memiliki percabangan berselang-seling. Seluruh bagian tanaman mengeluarkan getah putih atau kuning yang kental dan lengket, bila dilukai. Daun selalu berwarna hijau, berhadapan silang. Marga ini ada yang berumah satu (*monoecious*) dan ada yang berumah dua (*dioecious*). Bunga berada di ketiak daun. Daun kelopak dan daun mahkota terdiri dari 4-5 helai; bunga jantan memiliki benang sari yang jumlahnya bervariasi, dengan tangkai sari bersatu menjadi satu tiang tengah atau membentuk 4-5 berkas. Bagian putik mengecil atau tidak sama sekali. Bunga betina biasanya berukuran lebih besar daripada bunga jantan, seringkali menyendiri, benang sari semu dengan tangkai-tangkai sarinya yang bersatu menjadi sebuah cincin di bagian pangkal, atau menjadi 4-5 berkas pendek; bakal buah beruang 2-12, biasanya berbentuk *papilla*. Bijinya besar, biasanya terbungkus oleh *arilus* yang berisi banyak sari buah; embrionya berupa massa yang padat, hanya tersusun atas hipokotil, sedangkan keping bijinya tidak ada. Bagian kayu dari genus ini biasanya keras dengan warna yang beragam mulai kuning sampai coklat kemerahan dan umumnya memiliki tekstur bagus (Sosef, 1998; Veirhejj 1992).

Masyarakat mengenal famili ini sebagai tumbuhan keluarga manggis yang merupakan tanaman pangan dan banyak dimanfaatkan untuk obat tradisional. *Garcinia mangostana* merupakan spesies yang banyak terdapat di Asia Tenggara

yang dikenal dengan *Queen of fruit* yang selain buahnya dapat dimakan, kulit ari biji dari buah ini digunakan sebagai obat luka dan infeksi, penurun panas dan mengurangi rasa sakit. *G. cambogia* sekarang banyak terdapat di pasaran sebagai jamu digunakan sebagai suplemen untuk mengatasi kegemukan. Gom-resin bagian batang *G. hanburyi* Hook sebagai pencahar; *G. merguensis* Wight untuk obat edema, dan biji *G. dulcis* Kurz dikenal sebagai obat gondok (Sosef, 1998). *G. indica* yang berasal dari India secara komersil dikenal dengan “Kokam butter” di dunia perindustrian digunakan sebagai bahan dasar sabun dan lilin, sebagai preparat industri farmasi, minyak dari tanaman ini juga dapat digunakan untuk obat urut dan urtikaria serta buahnya digunakan sebagai obat cacing dan kardiotonik (Fumio, Y., 2000; Sari, R., 1999).

## 2.2 *Garcinia benthami* Pierre

*Garcinia benthami* Pierre termasuk tumbuhan tahunan atau perennial yang masa hidupnya dapat mencapai puluhan tahun. Tumbuhan tersebut hidup di hutan primer dataran rendah sampai ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Tumbuhan ini tersebar di Semenanjung Malaysia, Sumatera dan Kalimantan (Heyne, K.1987). Seleksi tumbuhan dilakukan berdasarkan pengetahuan kemotaksonomi dari suku Clusiaceae yang dilaporkan mengandung senyawa-senyawa yang khas dan bermanfaat.

### 2.2.1 Taksonomi

Tumbuhan *Garcinia benthami* Pierre secara taksonomi mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Heyne, K.1987) :

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Archichlamydeae



Ordo : Guttiferales  
Familia : Clusiaceae  
Genus : *Garcinia*  
Species : *Garcinia benthami* Pierre

### 2.2.2 Deskripsi *Garcinia benthami* Pierre

*Garcinia benthami* Pierre mempunyai habitus berupa pohon dengan tinggi mencapai 30 m. Batangnya lurus, mengecil ke arah ujung. Bentuk pohon berupa kerucut, memiliki percabangan berselang-seling. Seluruh bagian tanaman mengeluarkan getah kuning yang kental dan lengket bila dilukai. Daun selalu berwarna hijau, berhadapan berseling. Bunga berada di ketiak daun. Daun kelopak dan daun mahkota terdiri dari 4-5 helai. Bunga jantan memiliki benang sari yang jumlahnya bervariasi, dengan tangkai sari bersatu menjadi satu tiang tengah atas. Bunga betina biasanya berukuran lebih besar dari bunga jantan, seringkali menyendiri, benang sari semu dengan tangkai-tangkai sarinya yang bersatu menjadi sebuah cincin di bagian pangkal, bakal buah beruang 2-12 dan biasanya berbentuk papila. Bijinya besar, biasanya terbungkus oleh arilus yang berisi banyak sari buah. Embrionya berupa masa padat, hanya tersusun atas hipokotil, sedangkan bijinya tidak ada (Rachman, I. 2003).



Gambar 2.1. *Garcinia benthami* Pierre

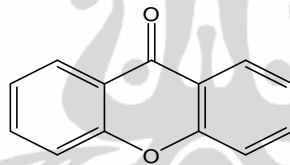
## 2.3 Kandungan Kimia Genus *Garcinia*

Berdasarkan penelusuran literatur, kandungan kimia genus *Garcinia* ini adalah senyawa xanton, benzofenon, golongan flavonoid, triterpen dan asam organik.

### 2.3.1. Senyawa Xanton

Xanton adalah senyawa organik yang mempunyai struktur molekul  $C_{13}H_8O_2$ . Pada tahun 1939 xanton dikenal sebagai insektisida. Dalam tumbuhan, senyawa ini banyak ditemui pada famili Bonnetiaceae dan Clusiaceae.

Xanton mempunyai bioaktifitas sebagai antioksidan, antiproliferatif, antiinflamasi dan antimikroba. Lebih dari 200 senyawa xanton yang sudah di isolasi dari tumbuhan dan sebagian besar terdapat pada genus *Garcinia* (Iswari, K., Sudaryono, T., 2007).



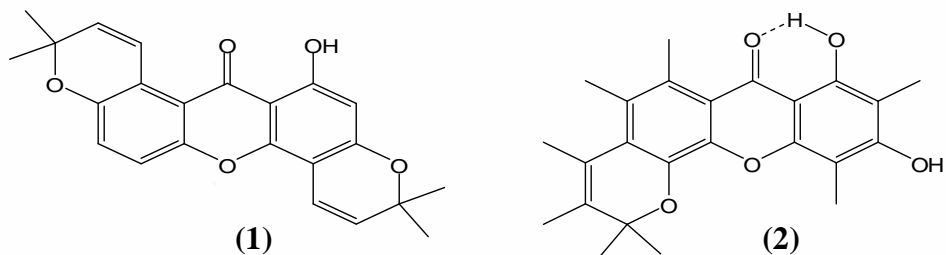
[ Sumber : Harbone, J.B., 1987 ]

Gambar 2.2 Struktur xanton

Beberapa senyawa xanton yang telah berhasil diisolasi dari genus *Garcinia* adalah:

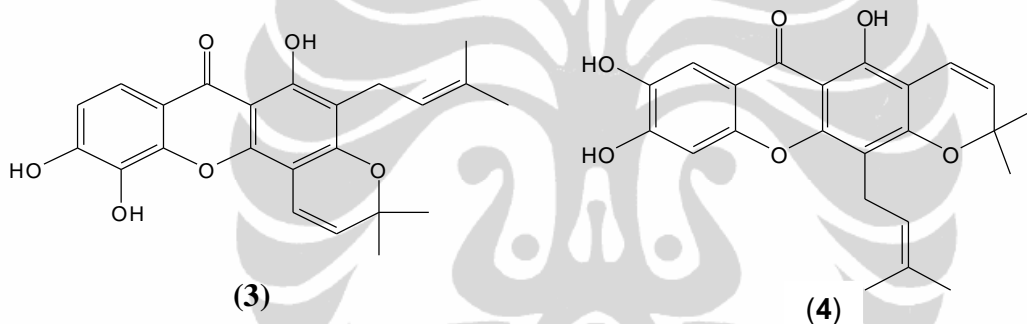
#### 2.3.1.1. *Garcinia tetrandra* Pierre

Hartati, S, 2007 menemukan senyawa xanton dari kulit batang kayu tumbuhan ini yaitu cudraxanton (**1**) dimana sebelumnya senyawa ini ditemukan pada kulit batang dan akar *Cudrania conchinensis* dan *Cudrania tricuspidata*. Dari tumbuhan ini juga berhasil diisolasi senyawa baru xanton yaitu tetrandraxanton (**2**).



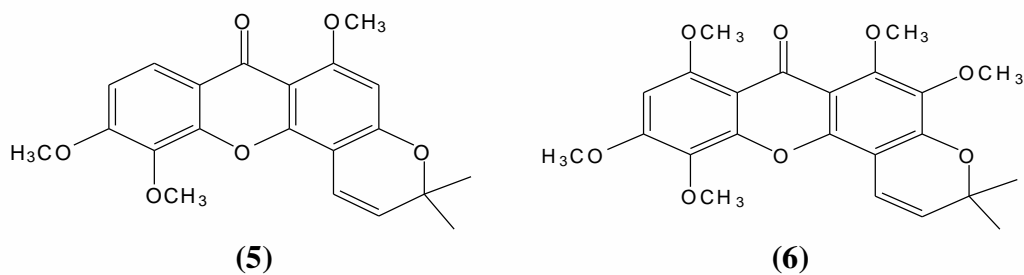
### 2.3.1.2. *Garcinia lancilimba*

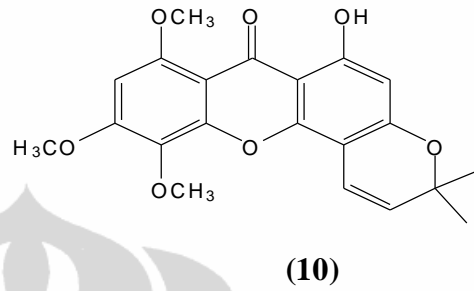
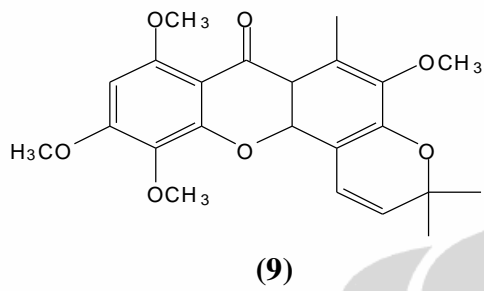
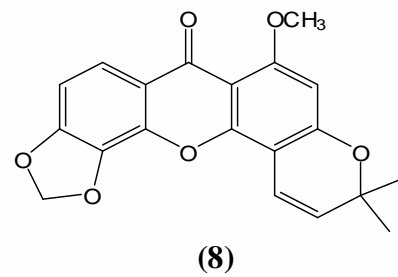
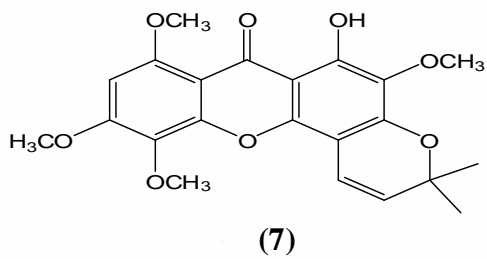
Dua xanton baru yaitu 1,5,6-trihidroksi-6',6'-dimetil-2H-pirano(2',3',3,4)-2-(3-metilbut-2-enil) xanton (**3**) dan 1,6,7-trihidroksi-6',6'-dimetil-2H-pirano(2',3',3,2)-4-(3-metilbut-2-enil)-xanton (**4**) telah berhasil diisolasi dari kulit batang *G. lancilimba* (Nian-Yun .Y *et al.* 2007).



### 2.3.1.3. *Garcinia rigida*

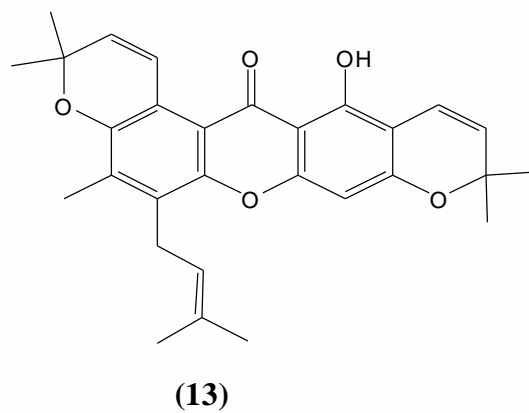
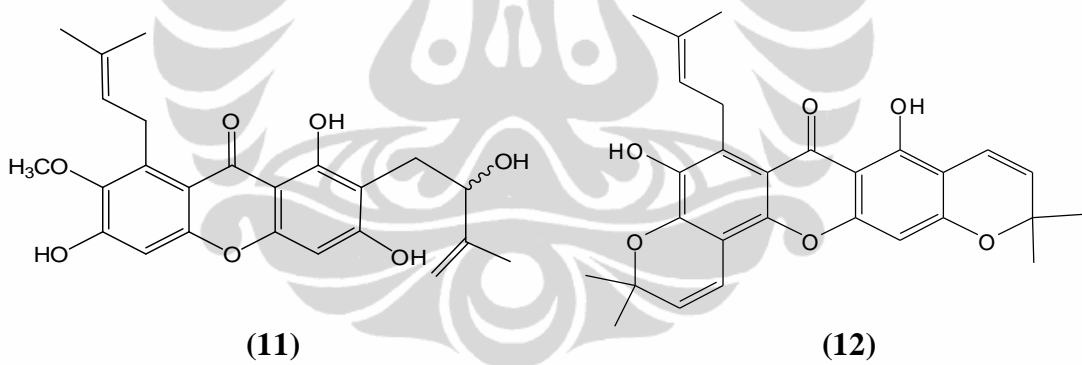
Ditemukan lima senyawa baru turunan xanton yaitu sahlaxanton (**5**), salmaxanton (**6**) (Elya, B. *et al.* 2005) dan isomernya (**7**), musaxanton (**8**), asmaxanton (**9**) (Elya, B. *et al.* 2006) dan yahyaxanton (**10**) yang diisolasi dari *Garcinia rigida* (Elya, B. *et al.* 2008).



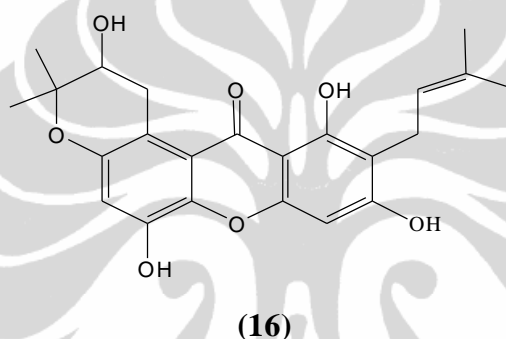
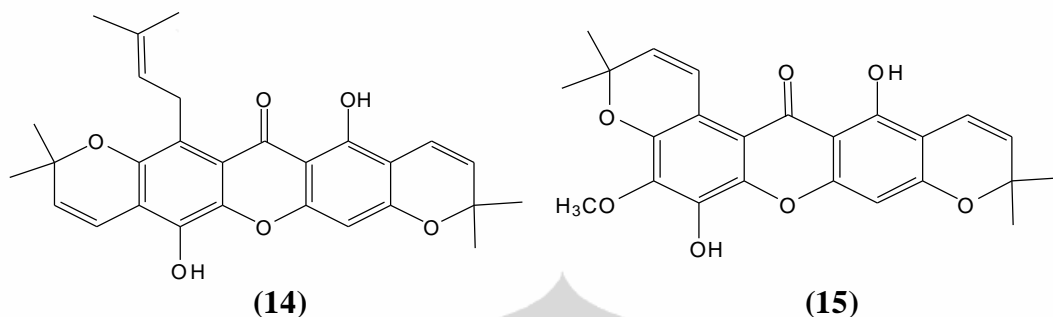


#### 2.3.1.4. *Garcinia mangostana*

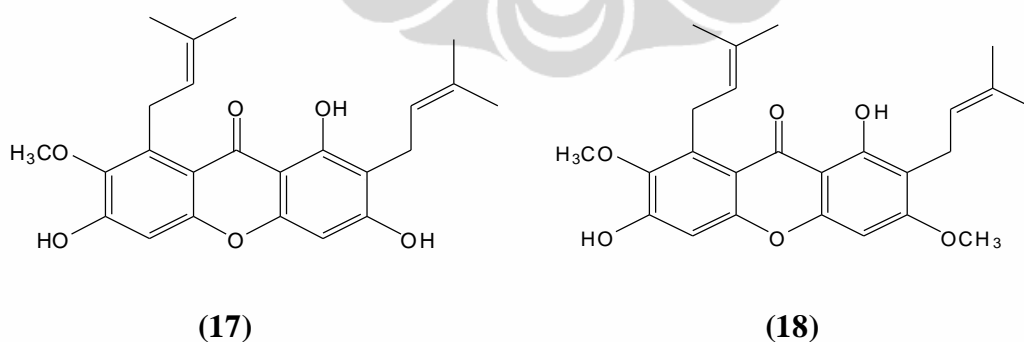
Tiga xanton baru yaitu mangostenol (11), mangostenon A (12) dan mangostenon B (13) diisolasi dari kulit buah *G. mangostana* (Sunit S. *et al.* 2002).



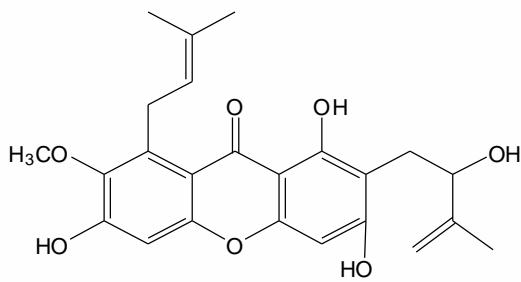
Pada kulit buah tumbuhan ini juga ditemukan tiga senyawa xanton (Huang *et al.* 2001) yaitu garcimangoson A (**14**), garcimangoson B (**15**), dan garcimangoson C (**16**).



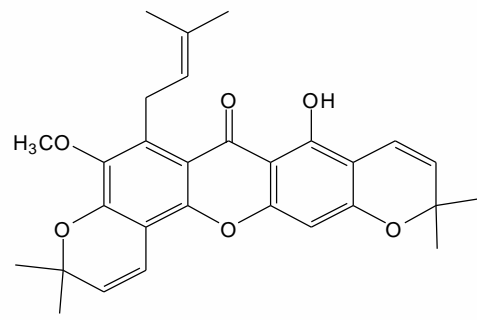
Dua senyawa diprenilxanton, yaitu  $\alpha$ - dan  $\beta$ -mangostin (**17-18**) telah dapat diisolasi dan ditentukan strukturnya dari kulit batang *G. mangostana* (Purwani, 2004).



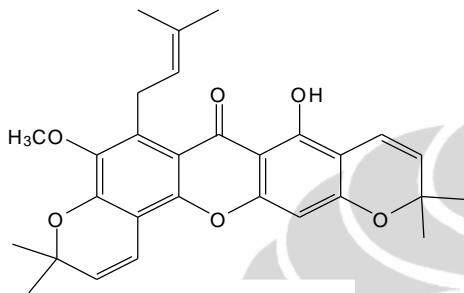
Selanjutnya para peneliti terdahulu melaporkan empat senyawa xanton terprenilasi, yaitu mangostenol (**19**), mangostenon A dan B (**20-21**) dan tovopilin B (**22**) dari buah *G. mangostana* asal Thailand (Ersam, 2005).



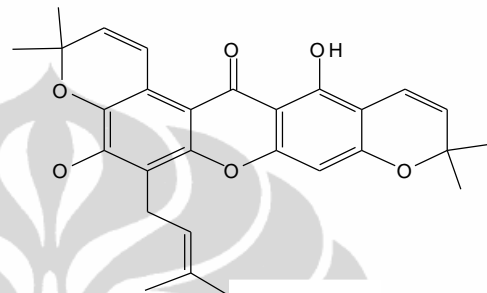
(19)



(20)



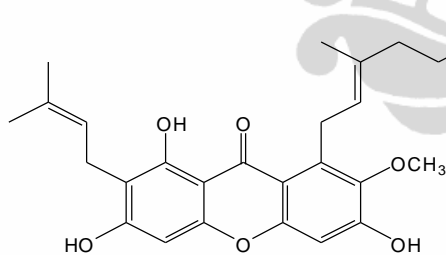
(21)



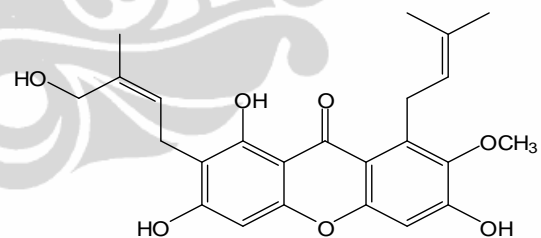
(22)

### 2.3.1.5 *Garcinia parvifolia*

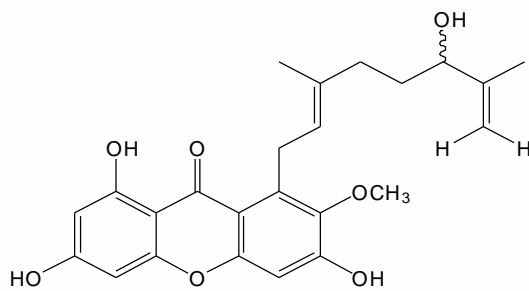
Sembilan senyawa xanton telah diisolasi dari *G. parvifolia* oleh Xu, Y.J. *et al.* 2001, yaitu parvixanthon A - I(23 – 31).



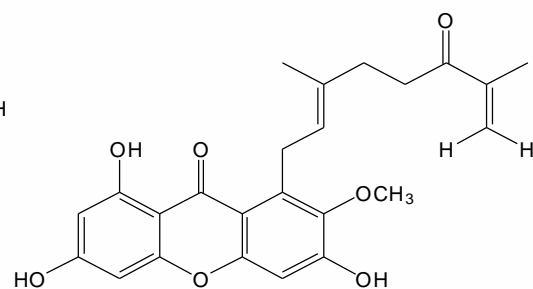
(23)



(24)

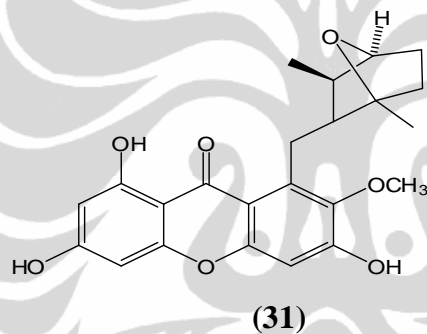
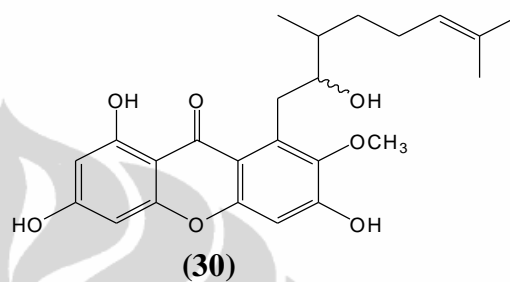
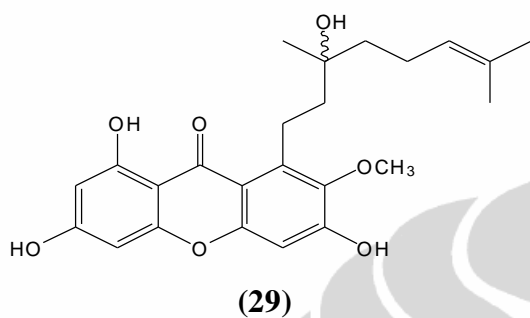
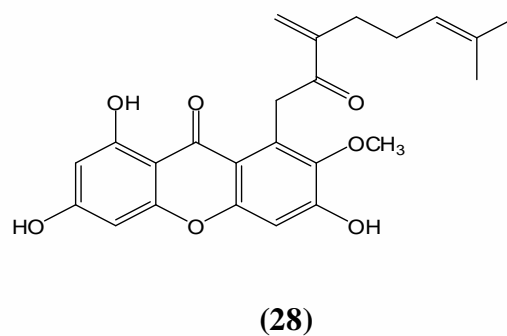
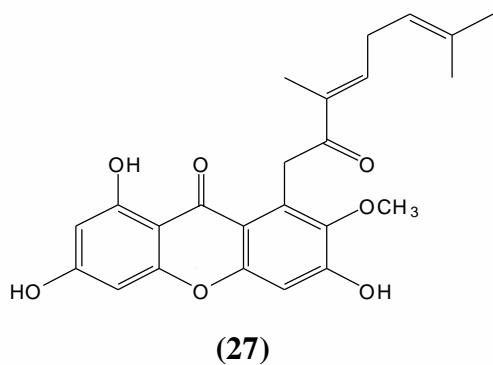


(25)



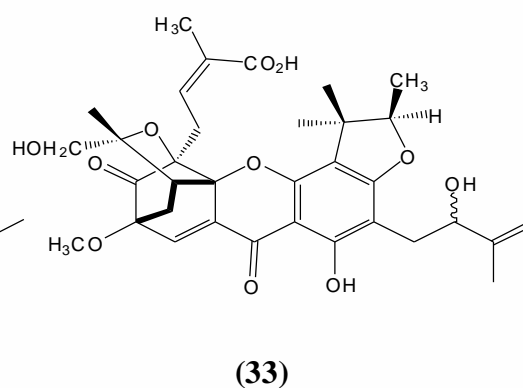
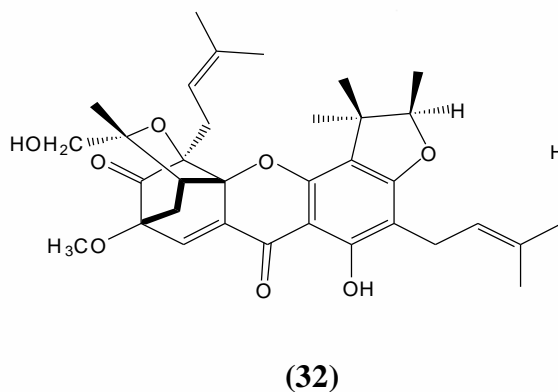
(26)

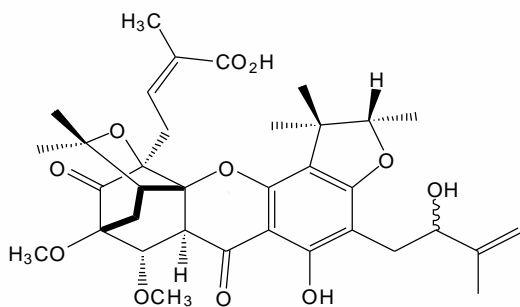
Universitas Indonesia



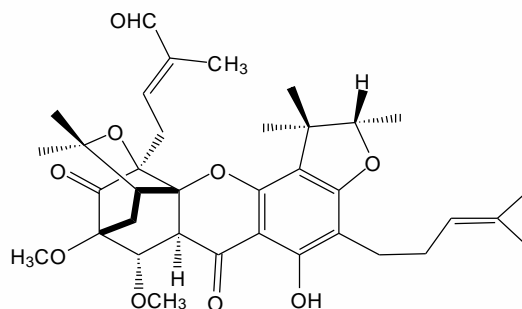
### 2.3.1.6 *Garcinia scortechinii*

Empat senyawa xanton terpenilasi berhasil diisolasi dari buah *G. scortechinii* (Yaowapa Sukpondma *et al.* 2005) yaitu scortechinon Q-T (32–35).





(34)

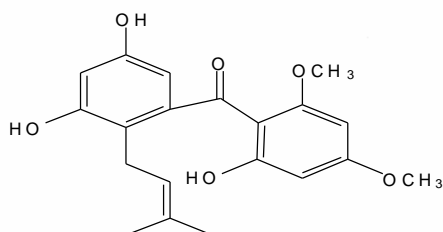


(35)

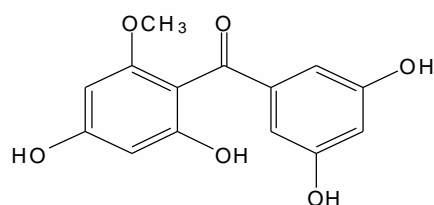
### 2.3.2. Senyawa Benzofenon dan Isoprenil Benzofenon

Benzofenon juga ditemui dalam genus *Garcinia*, seperti polyprenylbenzophenone dari *Garcinia picrorrhiza* Miq (Soemiati, A. *et al.* 2006) dan tiga benzofenon baru yaitu salimbenzofenon (36) (Elya, B. *et al.* 2006), ismailbenzofenon (37) dan hilmibenzofenon (38) dari kulit batang *Garcinia benthami* Pierre (Elya, B. *et al.* 2004).

Empat benzofenon berhasil diisolasi dari *G. pseudoguttifera* yaitu myrtiaphenon-A (39), myrtiaphenon-B (40), vismiaphenon-C (41), pseudoguttiaphenon-A (42) (Sadaquat Ali *et al.* 2000). Suatu benzofenon glukosida, garcimangoson D (43) diisolasi dari kulit buah *G. mangostana* (Huang, Yu-Ling *et al.* 2001). Poliisoprenilbenzofenon lain juga ditemukan pada *G. pyrifera* yaitu xantochymol (44) dan guttiferon E (45) (Delphine Roux *et al.* 2000).

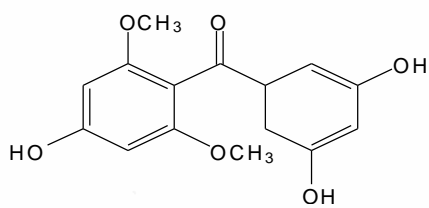


(36)

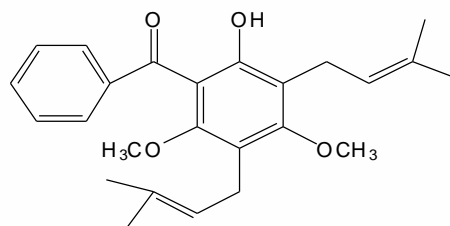


(37)

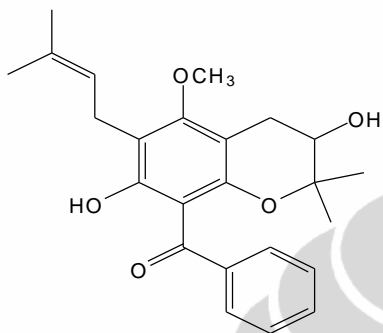




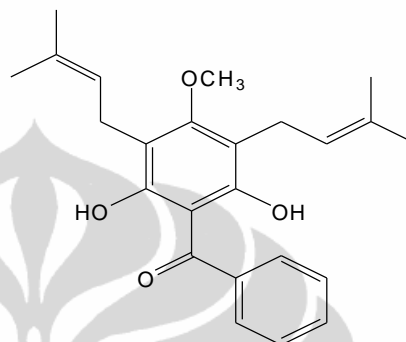
(38)



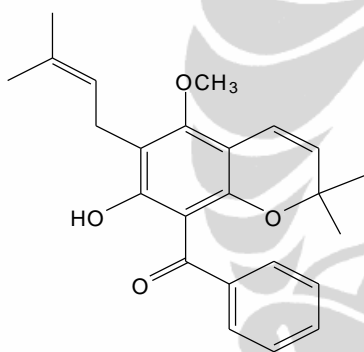
(39)



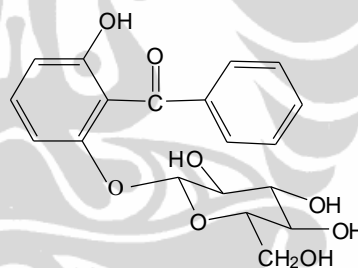
(40)



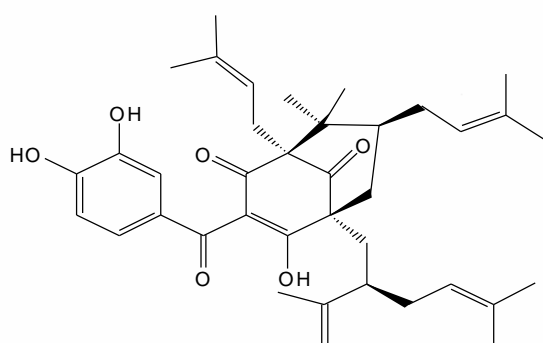
(41)



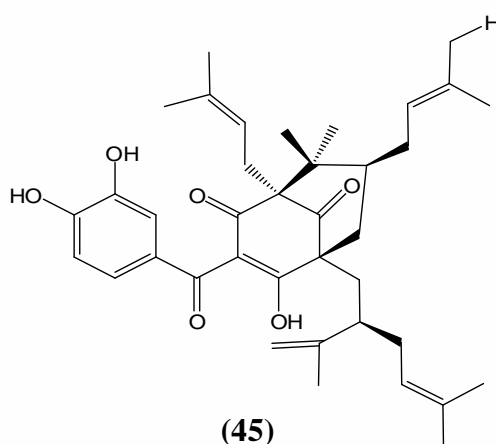
(42)



(43)



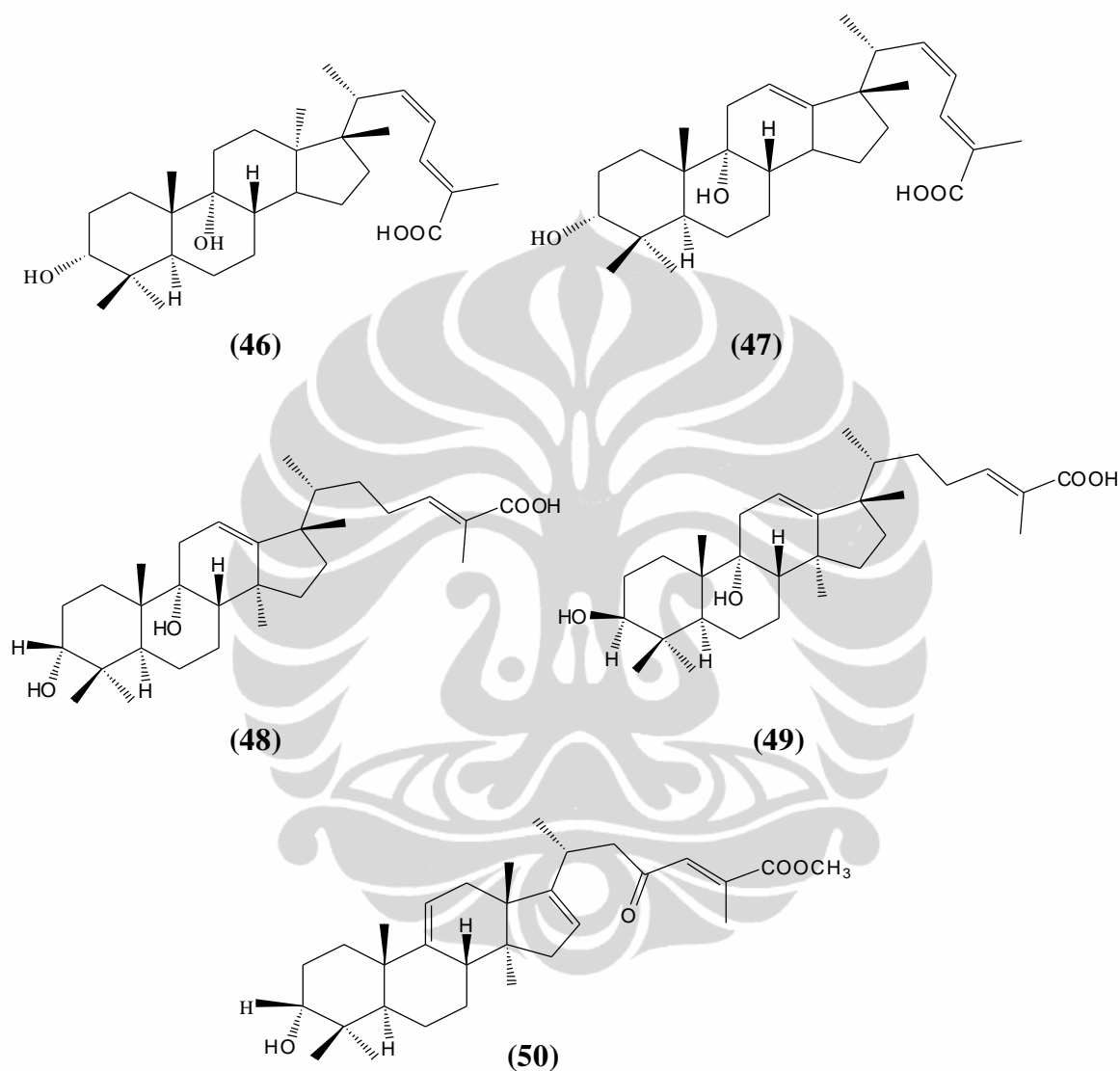
(44)



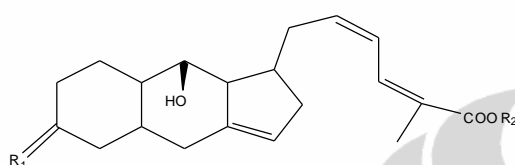
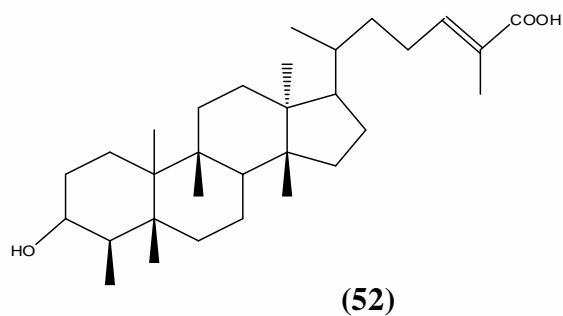
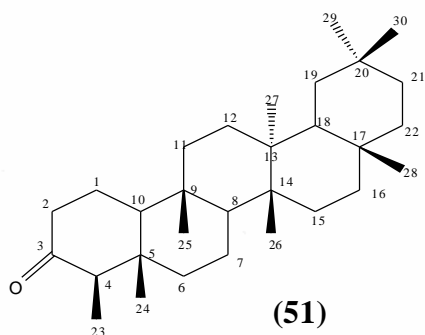
(45)

### 2.3.3 Senyawa Terpenoid

Lima triterpen baru yaitu garchihombronane F-J (**46-50**) telah berhasil diisolasi dari daun *G. hombroniana* (Vatcharin Rukachaisirikul *et al.* 2005).



Dua senyawa triperpenoid, Fridelin (**51**) dan Asam-3  $\beta$ -hidroksi-lanosta-9(11),24-dien-26-oat (**52**) telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksan kulit batang *Garcinia benthami* Pierre (Elya, B. *et al.* 2009).



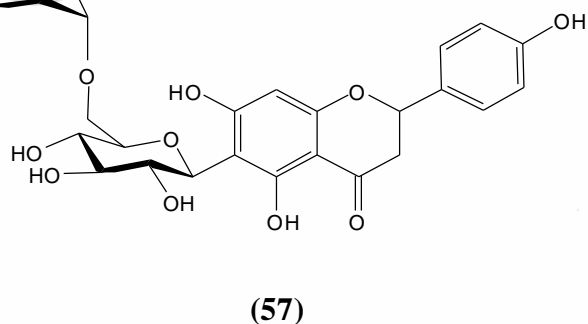
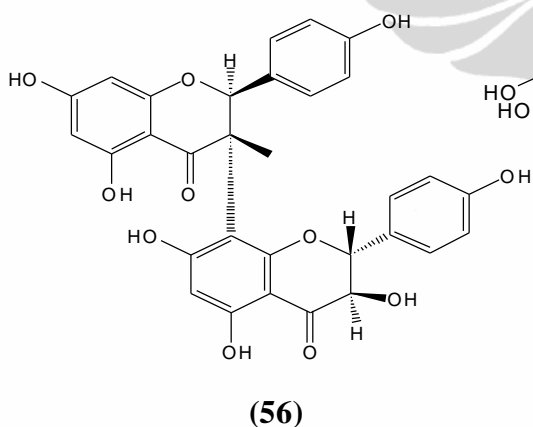
(53) R1 =  $\alpha$ -H,  $\beta$ -OAc; R2 = H

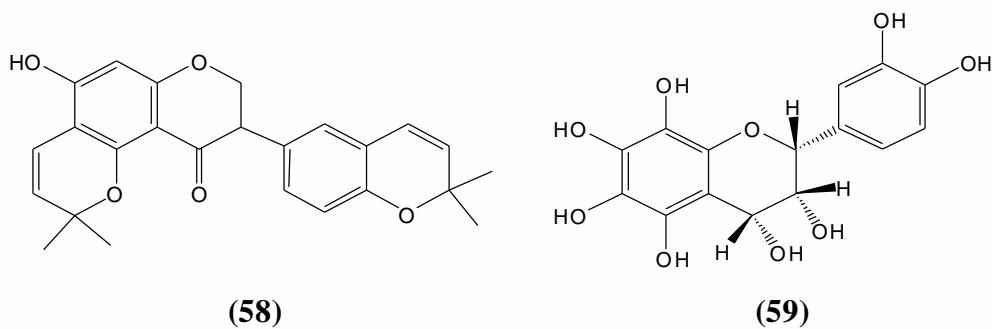
(54) R1 =  $\alpha$ -H,  $\beta$ -OH; R2 = H

(55) R1 = O; R2 = H

### 2.3.4 Senyawa Flavonoid

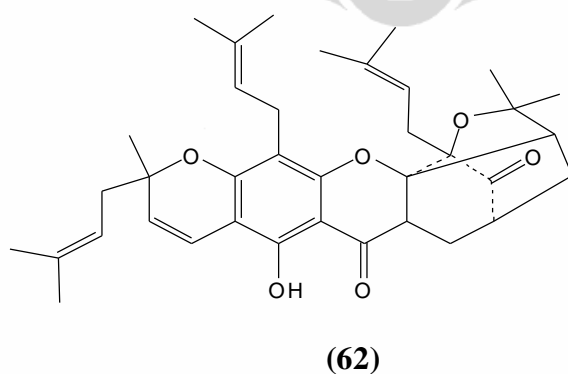
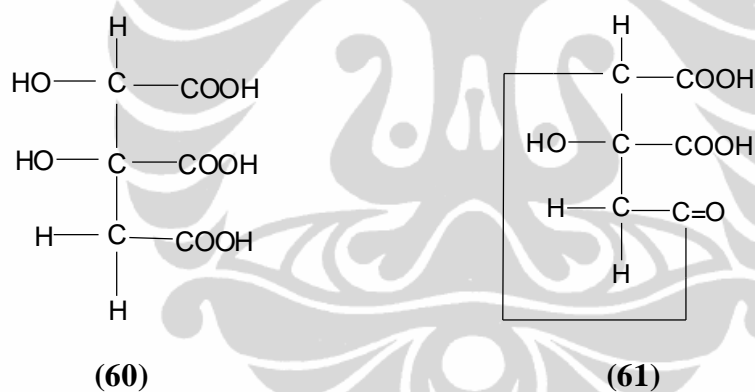
Suatu biflavanon yaitu 3',4',4'',5',7,7'-heptahidroksi-3,8'-biflavanon (**56**) berhasil diisolasi dari akar *G. kola* (Quan-Bin Han *et al.* 2005). Tiga flavonoid baru yaitu Dulcinosid (**57**), Dulcisisoflavan (**58**) dan Dulcisflavan (**59**) ditemukan dari buah *G. dulcis* (Deachathai S. *et al.* 2005).





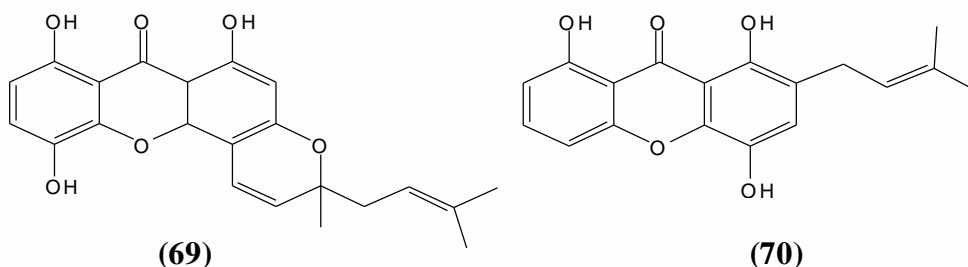
### 2.3.5 Senyawa Asam-asam Organik

Asam hidroksisitat (**60**) dan asam hidroksisitat lakton ditemukan dari *G. cambogia* dan *G. cowa* (**61**) (Jena, B.S. *et al.* 2002). Asam gambogik (**62**) (Qing-Long Guo *et al.* 2005), asam moreollik (**63**) dan asam morellik (**64**) diisolasi dari *G. hanburyi* (Sukpondma, Y. *et al.* 2005), sementara asam gaudichaudii F – I (**65-68**) diisolasi dari batang *G. gaudichaudii* (Xu, Y. J. *et al.* 2000).

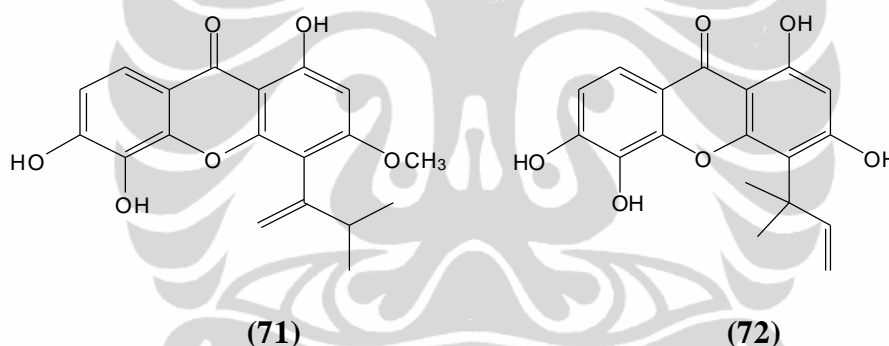




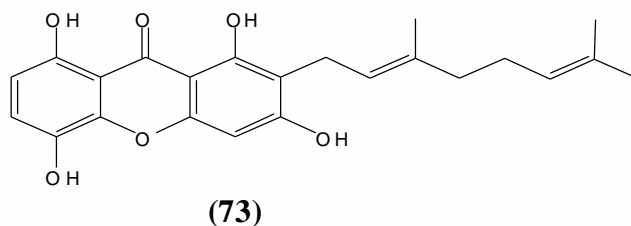
mempunyai aktivitas menghambat radikal bebas dari DPPH ( $IC_{50}=87.0 \mu\text{g/mL}$ ) (Meli Lannang *et al.* 2005).

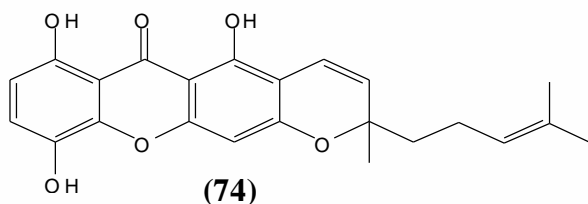


Vieillardixanton (**71**) dan isocudranixanton A (**72**) dari kulit batang *G. vieillardii* juga dapat menghambat radikal bebas DPPH, aktivitas antioksidan dari kedua xanton ini sama dengan BHA yang digunakan sebagai pembanding (Anne-Emmanuelle Hay *et al.* 2003).



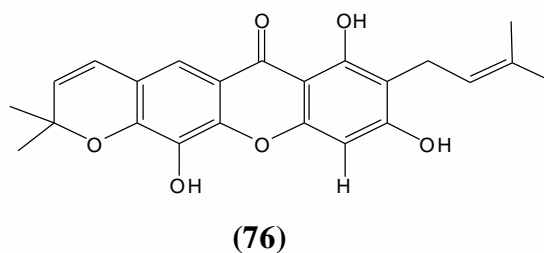
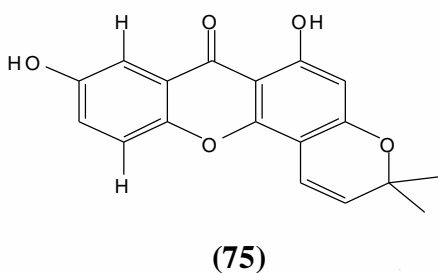
Dua xanton baru dari *G. smeathmannii* yaitu smeathxanton A (**73**) dan smeathxanton B (**74**) menunjukkan aktivitas antibakteri dan antifungal. Kedua xanton ini efektif melawan bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *S.typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus faecalis* serta jamur *Candida albicans* dan *Candida krusei* (Justin Komguem *et al.* 2005).

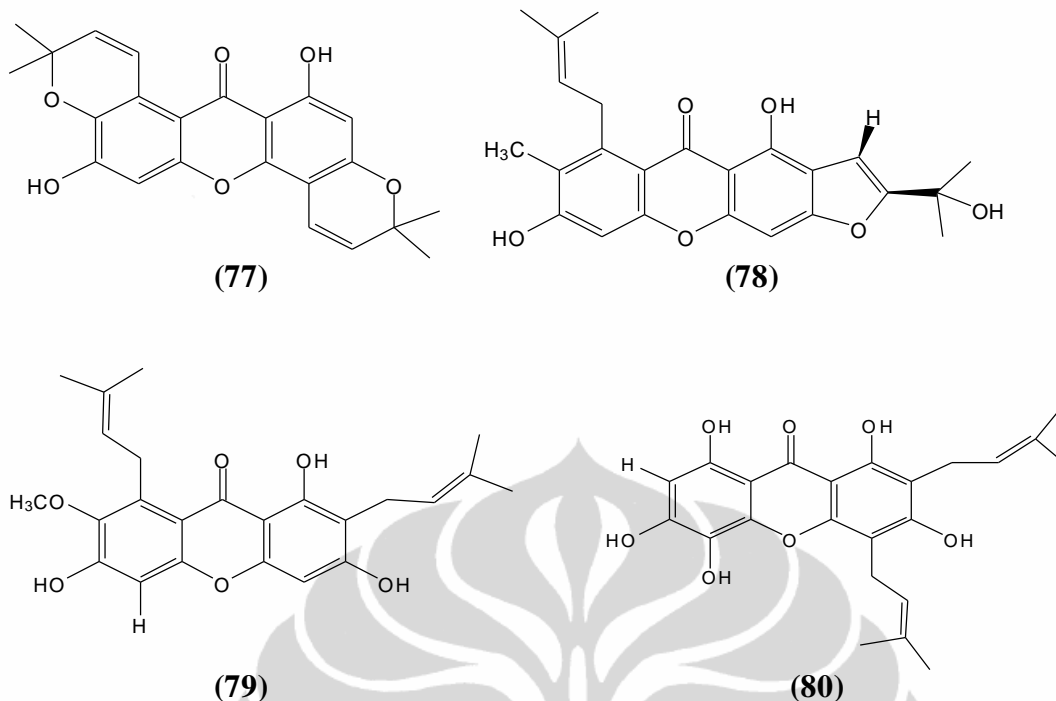




Nigrolineaxanton F (**75**), latisxanton D (**76**) dan brasilixanton (**77**) yang diisolasi dari ekstrak daun *Garcinia nigrolineata* memiliki aktivitas antibakteri cukup signifikan dengan nilai MIC rata-rata 2  $\mu\text{g/mL}$  (Vatcharin *et al.* 2005). Senyawa 1,5,6-trihidroksi-6',6'-dimetil-2H-pirano(2',3':3,4)-2-(3metilbut-2-enil)-xanton (**3**) dan 1,6,7-trihidroksi-6',6'-dimetil-2H-pirano-(2',3':3,2)-4-(3-metilbut-2-enil)-xanton (**4**) merupakan xanton baru yang berhasil diisolasi dari *G. lancilimba* yang mempunyai aktivitas antikanker payudara (sel MDA-MB-435S). Kedua senyawa ini efektif melawan kanker pada  $\text{IC}_{50} = 5,88 \pm 0,49$ , dan  $6,05 \pm 0,21$   $\mu\text{g/mL}$  dan sebagai senyawa pembanding adalah adriamicyn dengan  $\text{IC}_{50} = 0,24 \pm 0,01$   $\mu\text{g/mL}$  (Nian-Yun Yang *et al.* 2007).

Suatu xanton baru yaitu mangostenon C (**78**) dari *G. mangostana* mempunyai aktivitas antikanker. Senyawa ini aktif terhadap tiga *cell line* kanker manusia, *epidermoid carcinoma of the mouth* (KB), *breast cancer* (BC-1) dan *small cell lung cancer* (NCI-H187), dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  berturut-turut 2,8; 3,53 dan 3,72  $\mu\text{g/mL}$ .  $\alpha$ -mangostin (**79**), metabolit dominan dari jenis ini mempunyai aktivitas antikanker yang cukup kuat terhadap *cell line breast cancer* (BC-1) dengan  $\text{IC}_{50}$  0,92  $\mu\text{g/mL}$  dibandingkan senyawa standar ellipticin ( $\text{IC}_{50} = 1,46$   $\mu\text{g/mL}$ ). Senyawa ini juga menunjukkan antikanker yang signifikan terhadap sel line KB ( $\text{IC}_{50} = 2,08$   $\mu\text{g/mL}$ ). Gartanin (**80**) dengan  $\text{IC}_{50} = 1,08$   $\mu\text{g/mL}$  merupakan antikanker kuat terhadap *cell line* NCI-H187 (Sunit Suksamram *et al.* 2006).





#### 2.4.2 Bioaktivitas Benzofenon

Suatu poliisoprenilbenzofenon yaitu garcinol (**81**) ditemukan dari ekstrak metanol kulit buah kering *G. indica* yang mempunyai aktivitas antioksidan dan mampu menekan hidroksil radikal bebas lebih kuat dari pada DL- $\alpha$ -tokoferol (Fumio Yamaguchi *et al.* 2000). Garcinol juga menunjukkan aktivitas antileukemia dengan menginduksi apoptosis dengan cara menghasilkan sitokrom c dan aktivasi *caspase* pada sel leukemia HL-60 manusia (Min-Hsiung Pan *et al.* 2001). Garcinol dari ekstrak metanol ranting dan daun *G. bancana* Miq, mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai MIC 16  $\mu\text{g/mL}$  (Vatcharin *et al.* 2005).

#### 2.4.3 Bioaktivitas Flavonoid

Suatu biflavonoid dari *Garcinia kola*, kolaviron (**82**) dan kolaflavanon (**83**) menunjukkan aktivitas sebagai hepatoprotektif pada tikus dengan efektivitas yang sama dengan BHA (*butylated hydroxyanisole*) (Farombi, E. O. *et al.* 2000). Pada ekstrak akar tumbuhan ini juga ditemukan suatu biflavonoid yaitu

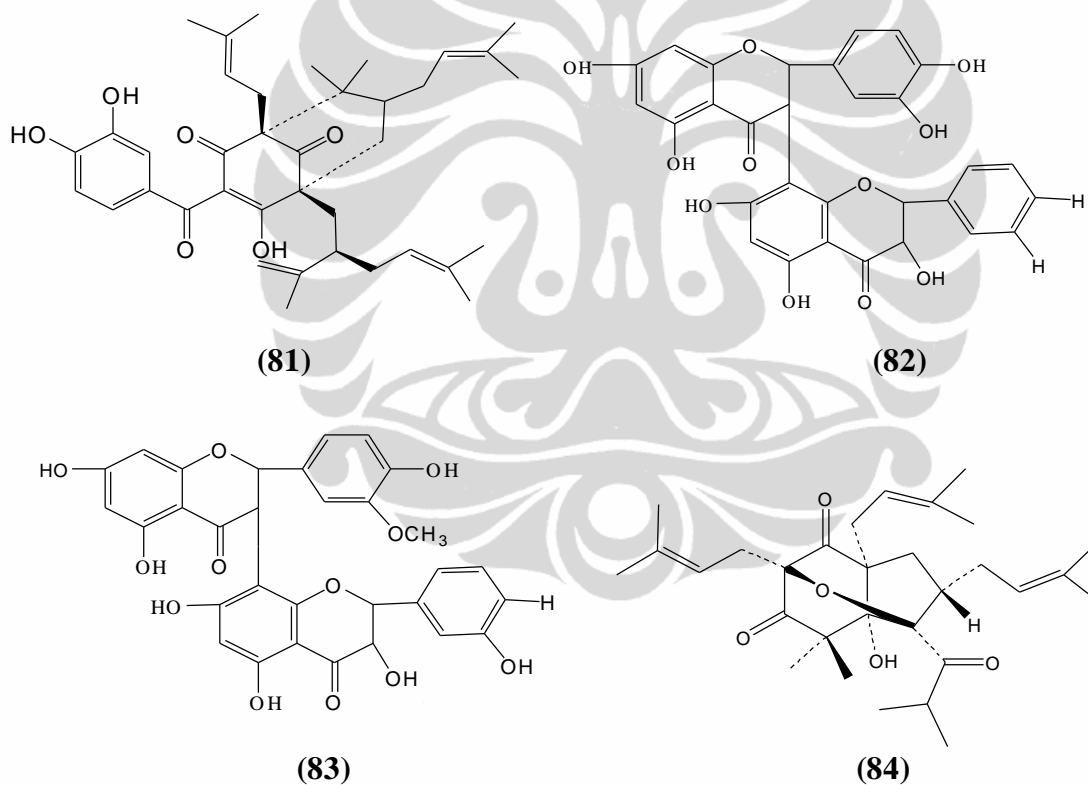
Universitas Indonesia



3',4',4',5,5',7,7'-heptahidroksi-3,8'-biflavanon (**56**) yang memiliki aktivitas antibakteri Meticillin-Resistan *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan Vancomycin-Resistan *enterococci* (VRE) dengan nilai MIC masing-masing 32  $\mu\text{g/mL}$  dan 128  $\mu\text{g/mL}$  (Han, Quan-Bin *et al.* 2005).

#### 2.4.4 Bioaktivitas Terpenoid

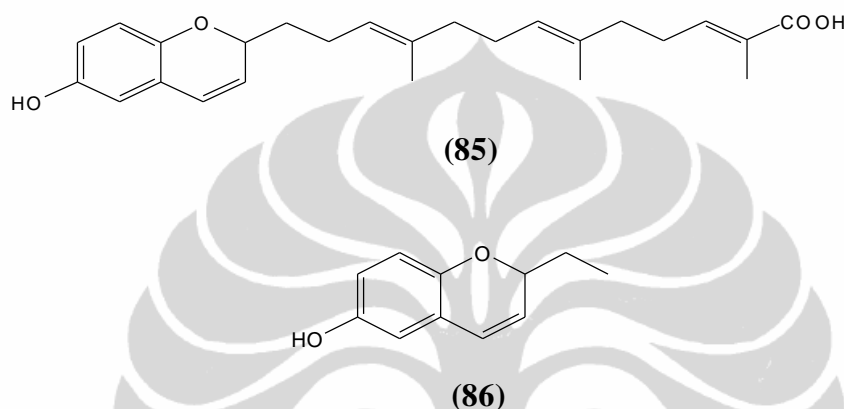
Garcinielliptin oksida (**84**) dari *G. subelliptica* memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat pembentukan  $\beta$ -glukoronidase, histamin dan lisosim dengan  $\text{IC}_{50}$  masing-masing 15,7 $\pm$ 3,0 ; 20,0 $\pm$ 2,7 dan 23,9 $\pm$ 3,2  $\mu\text{g/mL}$  (Weng, Jing-Ru *et al.* 2003).



#### 2.4.5 Bioaktivitas Asam-asam Organik

Asam moreolik (**63**) dan asam moreolik (**64**) dari *G. hanburyi* mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai MIC 25  $\mu\text{g/mL}$  (Yaowapa, S. *et al.* 2005).

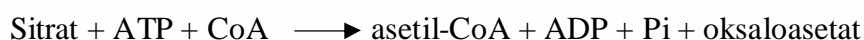
Aktivitas antioksidan yang cukup kuat dibandingkan DL-tokoferol ditunjukkan oleh asam garsinoik (**85**) dari *Garcinia kola*. Senyawa ini memiliki efek antioksidan 1,5 kali lipat dari pada DL- $\alpha$ -tokoferol. Setelah dilakukan sintesa dari senyawa ini, diperoleh suatu senyawa turunan (**86**) yang mempunyai aktivitas antioksidan kuat yaitu 18,7 kali lipat dibanding DL- $\alpha$ -tokoferol dengan Metode Bleomycin-Fe (Kenji, T. *et al.* 2001)



Asam organik dari genus *Garcinia* ini juga mempunyai efek antikanker. Seperti asam gambogik (**62**) dari *G. hanburyi* efektif menghambat *human telomerase reverse transcriptase* (hTERT) pada hepatoma SMMC-7221 *cell line* manusia sehingga berpotensi sebagai antikanker (Guo, Qing-Long *et al.* 2005).

Asam-asam gaudichaudia baru (F-I) (**65-68**) dari ekstrak metanol kulit batang *Garcinia gaudichaudii* aktif terhadap sel P388 dengan IC<sub>50</sub> berturut-turut 4,6; 3,4; 2,0; dan 1,7  $\mu\text{g/mL}$  (Xu, Y. J. *et al.* 2000).

Aktivitas menarik lainnya ditunjukkan oleh (-)-*Hydroxycitric acid* (HCA) (**60**). Asam organik yang dominan terdapat pada *G. cambogia*, *G. indica* dan *G. atroviridis* ini memiliki potensi sebagai inhibitor enzim ATP sitrat liase yang mengkatalis pembentukan asetil-CoA dan oksaloasetat dari sitrat dengan reaksi sebagai berikut:



Penghambatan reaksi ini membatasi unit asetil-CoA untuk mensintesa asam lemak dan lipogenesis selama diet lipogenik (diet karbohidrat tinggi). Studi ekstensif pada hewan percobaan menunjukkan bahwa senyawa ini menekan sintesa asam lemak, lipogenesis, *food intake* dan menurunkan berat badan (Jena, B.S. *et al.* 2002).

## 2.5 Ekstraksi dan Fraksinasi

### 2.5.1 Metode Ekstraksi (*Parameter standar*, 2000)

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair.

Berikut adalah beberapa cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut:

#### 2.5.1.1 Cara Dingin

##### a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

##### b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

### 2.5.1.2 Cara Panas

#### a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

#### b. Soxhlet

*Soxhlet* adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

#### c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40°-50°C.

#### d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96°-98°C)) selama waktu tertentu (15-20 menit).

#### e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air selama 30 menit.

### 2.5.2. Fraksinasi (Gritter et al., 1987)

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Pelarut yang umum dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan *n*-heksan,

etil asetat untuk menarik senyawa semipolar sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses fraksinasi ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga. Tiap-tiap fraksi diuapkan sampai kental dengan penguap putar pada suhu kurang lebih 50°C.

## **2.6 Metoda Pemisahan dan Pemurnian (Silverstein. *et al.*, 1991)**

Metoda yang umum digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa yaitu metoda kromatografi. Kromatografi adalah metode pemisahan campuran menjadi berbagai komponennya berdasarkan kesetimbangan heterogen yang terjadi selama Bergeraknya pelarut yang disebut fase gerak melewati fase diam untuk memisahkan dua atau lebih komponen dari materi yang dibawa oleh pelarut. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan sedangkan fase gerak dapat berupa cairan atau gas (Touchstone, Dobbins, 1983).

### ***Liquid Liquid Chromatography (LLC)***

LLC adalah kromatografi pembagian dimana partisi terjadi antara fase gerak dan fase diam yang kedua-duanya zat cair. Dalam hal ini fase diam tidak boleh larut dalam fase gerak. Umumnya sebagai fase diam digunakan air dan sebagai fase gerak adalah pelarut organik. Misalnya pada kromatografi kertas, sebagai fase diam adalah air yang terserap pada serat selulosa dari kertas.

### ***Liquid Solid Chromatography (LSC)***

LSC adalah kromatografi penjerapan. Sebagai adsorben digunakan silika gel, alumina, penyaring molekul atau gelas berpori dipak dalam sebuah kolom dimana komponen-komponen campuran dipisahkan dengan adanya fase

gerak. Kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis (TLC) merupakan teknik pemisahan yang masuk golongan ini.

### ***Ion-exchange chromatography***

Teknik ini menggunakan zeolitas, resin organik atau anorganik sebagai penukar ion. Senyawaan yang mempunyai ion-ion dengan afinitas yang berbeda terhadap resin yang digunakan dapat dipisahkan. Analisa asam-asam amino adalah yang umum dilakukan dengan cara ini. Contoh lain adalah asam-asam nukleat dan analisis garam-garam anorganik.

### ***Exclusion chromatography***

Dalam teknik ini, gel nonionik berpori banyak dengan ukuran yang sama digunakan untuk memisahkan campuran berdasarkan perbedaan ukuran molekulnya (BM). Molekul-molekul yang kecil akan memasuki pori-pori dari gel sedangkan molekul besar akan melewati sela-sela gel lebih cepat bila dibandingkan dengan molekul yang melewati pori-porinya. Jadi urutan elusi mula-mula adalah molekul yang lebih besar, molekul sedang, dan terakhir molekul yang paling kecil. Bila sebagai penyaring digunakan gel yang hidrofil (Sephadex) maka teknik ini disebut *gel filtration chromatography* dan bila digunakan gel yang hidrofob (polystyrene-divinylbenzene) disebut *gel permeation chromatography*.

Teknik kromatografi yang umum digunakan dibidang farmasi yaitu kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, dan high performance liquid chromatography (kromatografi cair kinerja tinggi / KCKT).

#### 2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penjerapan, partisi, atau gabungannya. KLT merupakan salah satu teknik kromatografi yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif

senyawa organik, isolasi senyawa tunggal dari campuran multikomponen, analisis kuantitatif, dan isolasi skala preparatif (Waksmundzka-Hajnos, Sherma, Kowalska, 2008). Teknik KLT sangat bermanfaat untuk analisis obat dan bahan lain dalam laboratorium karena hanya memerlukan peralatan sederhana, waktu yang cukup singkat, dan jumlah zat yang diperiksa cukup kecil (Stahl, 1969; Harmita, 2006).

a. Fase Diam

Fase diam adalah lapisan tipis penjerap yang seragam atau media terpilih digunakan sebagai media pembawa. Penjerap dilekatkan pada penyangga sebagai pelapis untuk mendapatkan lapisan yang stabil dengan ukuran yang sesuai. Penyangga yang sering digunakan adalah lempeng gelas juga lembaran plastik dan aluminium, sedangkan penjerap yang paling sering digunakan antara lain silika gel, alumina, kieselguhr, dan selulosa (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Ukuran standar untuk lempeng KLT adalah 20 x 20 cm. Ukuran lainnya dari lempeng antara lain 5 x 20 cm, 10 x 20 cm, dan 20 x 40 cm. Lempeng mikro dapat dibuat dari slide mikroskop (Gritter, Bobbit dan Schwarting, 1991).

Lapis tipis dapat mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tak berwarna pada lapisan yang telah dikembangkan. Jadi lapisan yang mengandung indikator fluoresensi akan berpendar jika disinari pada panjang gelombang yang tepat. Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau mengandung cincin aromatik, maka sinar UV yang mengeksitasi tidak akan mencapai indikator fluoresensi dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya berupa bercak gelap dengan latar belakang yang berfluoresensi. Indikator terkandung pada penjerap dengan konsentrasi 1% (Gritter, Bobbit dan Schwarting, 1991).

#### b. Fase Gerak

Sifat dan komposisi kimia fase gerak ditentukan oleh jenis zat yang akan dipisahkan dan jenis penjerap yang digunakan untuk pemisahan. Komposisi fase gerak dapat berupa pelarut murni maupun campuran kompleks dari beberapa pelarut (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Seluruh senyawa organik termasuk pelarut digolongkan menurut kemampuan dasarnya untuk membuat ikatan hidrogen. Ada pelarut yang merupakan donor atau asektor pasangan elektron dan mempunyai kemampuan untuk membentuk jembatan hidrogen intermolekular (hidrofilik atau pelarut polar) ataupun pelarut yang tidak mempunyai kemampuan tersebut (lipofilik, hidrofobik, pelarut non polar). Diantara perbedaan ekstrem tersebut terdapat pelarut dengan polaritas sedang (Gritter, Bobbit dan Schwarting, 1991).

#### c. Penyiapan dan Penotolan Sampel

Beberapa cara penyiapan sampel dilakukan dengan tujuan membuat sampel siap untuk dianalisis secara kromatografi. Cara tersebut dapat berupa pelarutan sampel, ekstraksi, kromatografi kolom, sentrifugasi, dan penguapan. Cara tersebut kadang dilakukan bersamaan untuk mendapatkan sampel yang sesuai untuk kromatografi. Untuk sampel berupa ekstrak, penyiapan dapat dilakukan dengan kromatografi kolom dan partisi pelarut (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Sampel dilarutkan pada pelarut yang sesuai. Larutan sampel yang ditotolkan umumnya antara 0,1 hingga 1% sebanyak 1 hingga 20  $\mu\text{L}$ . Pelarut yang sangat polar atau tidak menguap sebaiknya tidak digunakan pada KLT untuk melarutkan sampel. Hal ini akan menghasilkan titik mulai yang besar dan kromatogram cincin. Jika memang benar-benar diperlukan, gunakan volume yang sangat kecil dan diaplikasikan dengan baik kemudian pelarut dihilangkan dengan bantuan udara hangat. Hal ini harus dilakukan dengan hati-hati untuk memastikan zat tidak mengkristal pada garis mulai. Jika ini terjadi,



akan terjadi kromatogram yang berekor dari garis mulai ke garis depan (Stahl, 1969).

Campuran dilarutkan dan ditotolkan pada garis mulai berupa titik atau pita. Penotolan berupa titik sebaiknya mempunyai diameter antara 2 mm dan paling besar 5 mm (Stahl, 1969).

#### d. Pengembangan

Setelah sampel ditotolkan pada salah satu ujung lempeng, ujung tersebut dibenamkan dalam fase gerak dengan sampel diatas cairan. Gaya kapiler akan menyebabkan fase gerak bergerak melewati media dalam proses yang disebut pengembangan. Setelah fase gerak telah hampir mencapai ujung lainnya dari lempeng, maka lempeng dipindahkan dan dikeringkan sebelum prosedur pendeteksian. Pengembangan lapis tipis biasanya dilakukan dengan membiarkan fase gerak bermigrasi pada lempeng yang mana berada pada bejana dengan ukuran sesuai yang telah dijenhkan (Touchstone dan Dobbins, 1983).

#### e. Metode Deteksi

Bercak yang terpisah dapat diamati dengan beberapa cara setelah lempeng dikeringkan. Cara untuk mendeteksi bercak terdiri dari 2 macam yaitu metode kimia dan metode fisik. Dari kedua jenis tersebut, masing-masing dapat dibedakan lagi menjadi 2 macam yaitu metode destruktif (secara permanen merubah identitas kimia dari zat) dan non-destruktif (tidak memberikan perubahan permanen pada identitas kimia zat). Contoh untuk metode kimia destruktif adalah pengarangan dengan asam sulfat, sedangkan metode non-destruktif adalah dengan uap iodin. Contoh untuk metode fisik adalah pengamatan di bawah sinar UV banyak digunakan dan bersifat non-destruktif terhadap sebagian besar zat, walaupun pada beberapa vitamin dan steroid dapat bersifat destruktif (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Berdasarkan senyawa yang sedang diperiksa, pemisahan pada lempeng selanjutnya dapat diperiksa dengan beberapa teknik. Jika zat berupa radioaktif atau dicurigai demikian maka bercak dapat dideteksi menggunakan *scanner* radioisotop. Dalam kondisi yang memungkinkan, juga dimungkinkan untuk mengukur daerah bercak dan menghitung densitasnya menggunakan fotodensitometer (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Derajat retensi dinyatakan dengan  $R_f$  yang digunakan untuk menyatakan posisi dari zat setelah pengembangan, dapat dihitung dengan (Stahl, 1969; Harmita, 2006) :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh pusat bercak sampel (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

#### 2.6.2 Kromatografi Kolom (Stahl, 1969)

Salah satu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar adalah menggunakan kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel, selulose atau poliamida. Sedangkan fasa geraknya dapat dimulai dari pelarut non polar kemudian ditingkatkan kepolarannya secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal ataupun kombinasi dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai tingkat kepolaran yang dibutuhkan.

Fraksi yang diperoleh dari kolom kromatografi ditampung dan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Fraksi-fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama digabung kemudian pelarutnya diuapkan sehingga akan diperoleh beberapa fraksi. Noda pada plat KLT dideteksi dengan lampu ultraviolet  $\lambda_{254/366}$  untuk senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor, dengan penampak noda seperti larutan Iod,  $\text{FeCl}_3$  dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam metanol 10%.

Senyawa hasil isolasi sulit didapatkan berupa senyawa murni karena terdiri dari banyak senyawa gabungan. Untuk senyawa berbentuk kristal pemurniannya dapat dilakukan dengan rekristalisasi, yaitu berdasarkan perbedaan kelarutan antara zat utama yang dimurnikan dengan senyawa minor dalam suatu pelarut tunggal atau campuran pelarut yang cocok. Pelarut yang digunakan dipilih berdasarkan kemampuan melarutkan zat yang akan dimurnikan. Adanya perbedaan kelarutan akibat pemanasan atau penambahan pelarut lain akan menyebabkan senyawa utama akan mengkristal lebih dahulu. Proses rekristalisasi ini diulang beberapa kali sehingga didapatkan senyawa berbentuk kristal yang lebih murni dan ditandai dengan jarak leleh yang tajam.

## **2.7 Karakterisasi senyawa murni ( Dachriyanus., 2004; Hesse., 1991)**

Karakterisasi yang dilakukan terhadap senyawa murni diantaranya dengan analisis fisika yakni dengan penentuan titik leleh, analisis fisiko kimia dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS, spektrofotometer inframerah, spektrometer resonansi magnet inti proton, spektrometer resonansi magnet inti karbon, spektrometer 2D-NMR dan spektrometer massa.

### **2.7.1 Spektrofotometer UV-VIS**

Spektrofotometer ultraviolet (UV-VIS) dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan analisa kuantitatif tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas. Senyawa-senyawa yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer UV-VIS adalah senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor.

Spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk mengukur transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan elektronik. Transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan (orbital pasangan bebas) dengan orbital non ikatan (orbital anti ikatan). Keuntungan selektif dari spektrofotometer UV-VIS adalah dapat menentukan gugus karakteristik dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Parameter yang

diperoleh dari spektrofotometer UV-VIS adalah harga panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{mak}}$ ) dan absorban (A) dari senyawa yang dianalisa.

### 2.7.2 Spektrofotometer Inframerah

Spektrofotometer inframerah dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas. Spektrofotometer inframerah berfungsi mengukur perubahan vibrasi ikatan antara atom-atom yang ada dalam senyawa organik. Parameter yang ditentukan adalah bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) dari puncak-puncak yang muncul pada spektrum inframerah.

### 2.7.3 Spektrometer Resonansi Magnet Inti

Resonansi Magnet Inti atau NMR adalah sifat suatu magnet inti yang terdapat pada ruang dan pancaran elektromagnetik yang menyebabkan inti menyerap energi dari elektromagnetik dan memancarkan energi tersebut ke luar. Radiasi energi tersebut adalah pada frekwensi resonansi spesifik yang tergantung dengan kekuatan medan magnet dan faktor lainnya. Hal ini menyebabkan observasi spesifik sifat kuantum mekanis magnet dari suatu inti atom.

Spektroskopi resonansi magnet inti merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk mendapatkan informasi fisika, kimia, elektronik dan struktur tentang suatu molekul yang berhubungan dengan pergeseran kimianya pada frekwensi resonansi dari inti pada sampel. Teknik ini dapat memberikan informasi detail mengenai topologi, dinamika dan struktur tiga dimensi molekul dalam larutan ataupun dalam bentuk padat. Teknik NMR-2D seperti HMBC dan HSQC dapat digunakan dalam pendeteksian korelasi proton dengan karbon.

### 2.7.4 Spektrometer Massa

Spektroskopi massa adalah teknik analisis untuk menentukan komposisi dasar dari suatu sampel atau molekul. Spektrometer massa digunakan untuk

**Universitas Indonesia**

penentuan berat molekul suatu senyawa. Prinsipnya adalah ionisasi senyawa kimia untuk menghasilkan muatan atau fragmen molekul dan penentuan massa per muatan.

Alat spektrometer massa terdiri dari tiga bagian, yakni : 1). Sumber ion, yang dapat merubah fase sampel (molekul) menjadi ion. 2). Elektromagnetik, yang memisahkan ion dari massa. 3). Bagian detektor, yang menentukan nilai dari jumlah indikator yang menyediakan data untuk perhitungan keberadaan ion yang ada. Spektrometer massa dapat digunakan untuk keperluan kualitatif dan kuantitatif.

## **2.8 Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda atau menghambat oksidasi lemak atau molekul lainnya dengan menghambat inisiasi atau propagasi reaksi oksidasi (Javanmardi, Stushnoff, Locke dan Vivanco, 2003). Antioksidan memiliki peran penting sebagai suatu substansi yang berkhasiat untuk berbagai penyakit yang berkaitan dengan gaya hidup seperti kanker, diabetes, kardiovaskular dan penyakit degeneratif lainnya. Hal ini berkaitan dengan gaya hidup dan tingkat stres yang terjadi secara terus-menerus juga dikarenakan efek negatif dari polusi dan paparan senyawa kimia berbahaya. Semua hal tersebut dapat menyebabkan akumulasi radikal bebas yang berbahaya.

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas bersifat kronis, yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata. Contoh penyakit yang sering dihubungkan dengan radikal bebas adalah serangan jantung dan kanker. Untuk mencegah atau mengurangi penyakit kronis karena radikal bebas diperlukan antioksidan (Elvina, K., 1997).

Radikal bebas yang mengambil elektron dari sel tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbullah sel-sel mutan. Bila perubahan DNA ini terjadi bertahun-tahun maka dapat menjadi penyakit kanker. Tubuh manusia, sesungguhnya dapat menghasilkan antioksidan tetapi jumlahnya seringkali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh atau zat pemicu yang diperlukan oleh tubuh untuk menghasilkan antioksidan tidak cukup dikonsumsi. Sebagai contoh, tubuh manusia dapat menghasilkan glutathione, salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya saja tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 1.000 mg untuk memicu tubuh menghasilkan glutathione ini. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan stres oksidatif dan penyakit-penyakit kronis yang dihasilkannya (Elvina, K., 1997).

Stres oksidatif adalah keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya. Akibatnya intensitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Literatur medis membuktikan bahwa stres oksidatif adalah penyebab utama penuaan dini dan timbulnya penyakit kronis seperti kanker, penyakit jantung, *alzheimer* dan lain-lain. Stres oksidatif dapat dicegah dan dikurangi dengan asupan antioksidan yang cukup dan optimal ke dalam tubuh (Elvina, K., 1997)

Karakteristik yang diperlukan suatu molekul agar efektif sebagai antioksidan adalah (Packer, 1999) :

- a. Molekul memiliki hidrogen atau substituen pendonor elektron dengan potensial reduksi yang cukup, dibanding dengan radikal yang akan ditangkap.
- b. Molekul memiliki kemampuan mendelokalisasi radikal yang telah dihasilkan, baik radikal fenoksil yang berasal dari  $\alpha$ -tokoferol atau Butil Hidroksi Toluen (BHT) dan Butil Hidroksi Anisol (BHA), radikal ariloksil dan flavonoid, radikal rantai hidrokarbon tidak jenuh seperti  $\beta$ - karoten.

- c. Molekul memiliki potensial kelat-metal transisi yang tergantung pada gugus fungsi dan susunan molekulnya.
- d. Kemampuan menembus sel target yang bergantung pada lipofilisitas atau hidrofilisitas antioksidan atau koefisien partisi.

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu zat, dapat dilakukan beberapa uji baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain:

#### 2.8.1 Metode Peredaman Radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil)

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diukur dari kemampuannya menangkap radikal bebas. Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan. Jika disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik akan stabil selama bertahun-tahun (Packer, 1999).

Metode ini adalah yang metode paling sering dilaporkan digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman obat. Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambat radikal bebas. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya, yang mana sebanding terhadap konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan reagen DPPH. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi efektif (*Effective Concentration*),  $EC_{50}$  atau  $IC_{50}$  (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005).

#### 2.8.2 Metode *Reducing Power*

Metode ini berprinsip pada kenaikan serapan dari campuran reaksi. Peningkatan pada serapan menunjukkan peningkatan pada aktivitas antioksidan. Dalam metode ini antioksidan membentuk kompleks berwarna dengan kalium

**Universitas Indonesia**

ferrisianida, asam trikloroasetat, dan besi (III) klorida yang diukur pada 700 nm. Peningkatan pada serapan campuran reaksi menunjukkan kekuatan mereduksi dari sampel (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005).

### 2.8.3 Metode Uji Kapasitas Serapan Radikal Oksigen atau *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC)

Prosedur analisis ini mengukur kemampuan antioksidan dari makanan, vitamin, suplemen nutrisi atau bahan kimia lainnya terhadap radikal bebas. Uji ini dilakukan dengan menggunakan trolox (analog vitamin E) sebagai standar untuk menentukan trolox ekuivalen (TE). Nilai ORAC kemudian dihitung dari TE dan ditunjukkan sebagai satuan atau nilai ORAC. Semakin tinggi nilai ORAC, semakin besar kekuatan antioksidannya.

Uji dengan metode ini berdasarkan pembentukan radikal bebas menggunakan 2,2-azobis 2-amido propan dihidroklorida (AAPH) dan pengukuran dari penurunan fluoresensi dengan adanya penghambat radikal. Pada uji ini  *$\beta$ -phycoerythrin* ( $\beta$ -PE) digunakan sebagai target kerusakan radikal bebas, AAPH sebagai penghasil radikal peroksi dan trolox sebagai standar. Setelah penambahan AAPH ke larutan uji, fluoresensi direkam dan aktivitas antioksidan ditunjukkan sebagai trolox ekuivalen (TE). Selain  $\beta$ -PE senyawa lain yang dapat dijadikan target perusakan oleh radikal bebas adalah *fluorescein* dan *pyrogallol red* (Lopez-Alarcon dan Lissi, 2006).

### 2.8.4 Metode Tiosianat

Aktivitas antioksidan sampel dengan metode tiosianat ditunjukkan dengan kekuatan sampel dalam menghambat peroksidasi asam linoleat. Jumlah peroksida yang terbentuk diukur secara tidak langsung dengan pembentukan kompleks ferritiosianat yang berwarna merah.

Senyawa AAPH pada pemanasan akan menginduksi pembentukan radikal dan menyebabkan terjadinya peroksidasi asam linoleat. Peroksida yang terbentuk akan mengoksidasi ion ferro menjadi ferri. Antioksidan kuat akan menunjukkan

**Universitas Indonesia**



grafik antara serapan dan waktu inkubasi yang landai (Mun'im, Azizahwati dan Trastiana, 2008).

#### 2.8.5 Uji Dien Terkonjugasi

Metode ini memungkinkan penghitungan yang dinamis terhadap dien terkonjugasi sebagai hasil dari oksidasi awal PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acids*) dengan mengukur serapan UV pada 234 nm. Prinsip dari uji ini adalah bahwa selama oksidasi asam linoleat, ikatan rangkap dirubah menjadi ikatan rangkap terkonjugasi yang mana dikarakterisasi oleh serapan UV kuat pada 234 nm. Aktivitas diekspresikan dengan konsentrasi penghambatan (*Inhibitory concentration*),  $IC_{50}$  (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005).

#### 2.8.6 Aktivitas Penghambatan Radikal Superoksida

Aktivitas penghambatan radikal superoksida secara *in vitro* diukur oleh reduksi riboflavin/cahaya/nitro blue tetrazolium (NBT). Reduksi NBT adalah metode yang paling dikenal. Metode ini didasarkan pada pembangkitan radikal superoksida oleh autooksidasi dari riboflavin dengan adanya cahaya. Radikal superoksida mereduksi NBT menjadi formazon yang berwarna biru yang dapat diukur pada 560 nm. Kapasitas ekstrak untuk menghambat warna hingga 50% diukur dalam  $EC_{50}$ . Radikal superoksida dapat juga dideteksi dengan oksidasi hidroksilamin, menghasilkan nitrit yang kemudian diukur dengan reaksi kolorimetri (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005).

#### 2.8.7 Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil

Kapasitas penghambatan radikal hidroksil dari ekstrak dihubungkan secara langsung terhadap aktivitas antioksidannya. Metode ini melibatkan pembangkitan *in vitro* dari radikal hidroksil menggunakan sistem  $Fe^{3+}$ /askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  berdasarkan reaksi Fenton. Penghambatan dari radikal hidroksil dengan adanya antioksidan diukur.

Dalam metode ini, radikal hidroksil yang terbentuk oleh oksidasi dibuat untuk bereaksi dengan dimetil sulfoksida (DMSO) untuk menghasilkan formaldehid. Formaldehid membentuk warna kuning intensif dengan pereaksi Nash (ammonium asetat 2 M dengan asam asetat 0,05 M dan asetil aseton dalam air terdestilasi 0,02 M). Intensitas dari warna kuning yang terbentuk diukur pada 412 nm dengan spektrofotometer terhadap blanko pereaksi. Aktivitas dinyatakan sebagai % penghambatan radikal hidroksil (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005).

$IC_{50}$  merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm, kuat untuk  $IC_{50}$  bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika nilai  $IC_{50}$  bernilai 151-200 ppm (Blois, 1958).

## **BAB 3 METODE PENELITIAN**

### **3.1 Lokasi Dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Fitokimia Departemen Farmasi UI dan Laboratorium Kimia Bahan Alam PUSLIT Kimia LIPI, Serpong sejak bulan Juni 2010 – Mei 2011.

### **3.2 Bahan**

#### **3.2.1 Tanaman**

Tanaman yang diteliti adalah *Garcinia benthami* Pierre yang diperoleh dari Kebon raya Bogor dan telah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi- LIPI, Cibinong Bogor (Lampiran 1). Adapun bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman tersebut.

#### **3.2.2 Bahan Kimia**

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah *n*- heksan, aseton, etil asetat, metanol teknis yang telah didestilasi; metanol p.a (Merck); kloroform p.a (Merck); DMSO p.a (Merck); silika gel (70-230 mesh, E. Merck 1.07734); sephadex, lempeng KLT (E. Merck 05554); H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% sebagai penampak noda pada KLT; aquades; asam klorida p.a (Merck); asam borat; asam oksalat; asam asetat glasial p.a. (Merck); asam sulfat p.a (Merck); benzen p.a (Merck); besi (III) klorida (Merck); aluminium klorida (Merck); etanol p.a (Merck); aseton p.a (Merck); asetat anhidrida p.a (Mallinckordt); natrium hidroksida (Mallinckordt); kalium dihidrogen fosfat (Merck); kalium ferrisianida (Mallinckordt); asam trikloroasetat (Merck); dietil eter p.a (Merck); serbuk magnesium (Merck); serbuk seng (Merck); anisaldehyd; gelatin; natrium klorida; natrium sulfat anhidrat; Mayer LP; Dragendorff LP; Bouchardat LP; Molisch LP; DPPH (Sigma-Aldrich) dan quersetin (Sigma-Aldrich).

### 3.3 Peralatan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, peralatan maserasi, penguap putar (*rotary evaporator* Buchii), peralatan kromatografi kolom berbagai ukuran (Pyrex), peralatan kolom kromatografi vakum (Buchii), vial dan botol penampung berbagai ukuran, spektrofotometer UV-VIS (Hitaci), spektrofotometer infra merah (FTIR, Prestige-21 Shimadzu), Resonansi Magnet Inti (500 MHz, Jeol) dan kromatografi cair- Spektrometer Massa Mariner Bioered (70 ev), alat penentuan titik leleh *Fisher Scientific* serial 903N 0056, pipet mikro (Eppendorf), LC MS (Shimadzu), lemari pendingin dan alat uji antioksidan.

### 3.4 Cara Kerja

Isolasi dan penentuan struktur serta pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak aseton dan metanol daun *Garcinia benthami* Pierre dilakukan melalui beberapa tahapan penelitian yang meliputi :

- 3.4.1 Penyiapan bahan
- 3.4.2 Pembuatan ekstrak
- 3.4.3 Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak
- 3.4.4 Penapisan fitokimia
- 3.4.5 Isolasi dan pemurnian senyawa
- 3.4.6 Penentuan Struktur Molekul Senyawa Murni
- 3.4.7 Uji aktivitas antioksidan senyawa murni

#### 3.4.1 Penyiapan Bahan

Daun *Garcinia benthami* Pierre yang digunakan pada penelitian ini dikumpulkan pada bulan Juni 2010 dari Kebun Raya Bogor sebanyak 4 kg berupa daun segar. Selanjutnya dilakukan sortasi untuk dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji kemudian diangin-anginkan hingga kering.

Simplisia yang telah kering di sortasi kembali dari kotoran-kotoran yang tertinggal. Simplisia yang telah disortir dihaluskan dengan blender lalu diayak

dengan ayakan B30 hingga didapat 1,5 kg serbuk simplisia kemudian serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

### 3.4.2 Pembuatan Ekstrak

Sejumlah 1,5 kg serbuk kering daun *Garcinia benthami* Pierre dimaserasi dengan 9 L pelarut *n*-heksan teknis yang telah didestilasi, selama 5 hari. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 45°C, sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksan. Terhadap ampas *n*-heksan dilakukan kembali maserasi berturut turut dengan pelarut etil asetat, aseton dan metanol kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, etil asetat, aseton dan metanol yang kemudian masing-masing ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal.

### 3.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Terhadap masing-masing ekstrak dari daun *Garcinia benthami* Pierre (ekstrak *n*-heksan, etil asetat, aseton dan metanol) dilarutkan dalam metanol p.a dan dibuat dalam konsentrasi 1000 µg/mL sebagai larutan induk kemudian dibuat dalam berbagai konsentrasi (25; 50; 100; dan 200 µg/mL) untuk masing-masing ekstrak yang diperoleh dan selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dimana dalam tiap tabung reaksi ditambahkan 500 µL larutan DPPH 1 mM dalam metanol. Volume dicukupkan sampai 2 mL kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai pembanding digunakan quersetin (konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 µg/mL). Nilai IC<sub>50</sub> dihitung masing-masing dengan menggunakan rumus persamaan regresi (Blois, 1958).

#### 3.4.3.1 Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH yang digunakan pada optimasi panjang gelombang dibuat dengan cara menimbang seksama lebih kurang 5 mg serbuk DPPH kemudian

dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 50 mL dan dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas sehingga didapat larutan DPPH 100  $\mu\text{g/mL}$ . Dari larutan tersebut dipipet sebanyak 2 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas dan dihomogenkan sehingga didapat larutan DPPH dengan konsentrasi 20  $\mu\text{g/mL}$ . Larutan ini ditentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 400 nm hingga 800 nm serta ditentukan panjang gelombang optimumnya.

#### 3.4.3.2 Pembuatan Larutan DPPH (BM 394,32)

Sejumlah 3,9 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a, disimpan dalam botol gelap. Untuk setiap pengujian dibuat baru.

#### 3.4.3.3 Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko yang digunakan adalah metanol p.a. Pembuatan larutan blanko dilakukan dengan cara memipet 1500  $\mu\text{L}$  metanol p.a kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan DPPH lalu dikocok sampai homogen, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.

#### 3.4.3.4 Pembuatan Larutan Quersetin Sebagai Pembanding

- a. Pembuatan larutan induk quersetin konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

Sejumlah 1 mg quersetin ditimbang dan dilarutkan dalam 1 mL metanol p.a kemudian dikocok hingga homogen.

- b. Pembuatan larutan seri quersetin 5, 10, 15, 20 dan 25  $\mu\text{g/mL}$ .

Dipipet 10, 20, 30, 40 dan 50  $\mu\text{L}$  larutan induk quersetin kedalam 5 tabung reaksi. Pada masing-masing tabung ditambah dengan metanol p.a sampai volume total 500  $\mu\text{L}$  kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  DPPH dan dikocok hingga homogen setelah itu ditambahkan lagi 1 mL metanol p.a dikocok kembali hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit.

- c. Serapan dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang 515 nm.

### 3.4.3.5 Persiapan Larutan Uji

- a. Pembuatan larutan induk bahan uji konsentrasi 1000 µg/mL.  
Sejumlah 2 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 2 mL metanol p.a kemudian dikocok dan dilarutkan hingga homogen.
- b. Pembuatan larutan seri bahan uji konsentrasi 5, 10, 20, dan 50 µg/mL.  
Dipipet 10, 20, 40 dan 100 µL larutan induk bahan uji kedalam 4 tabung reaksi. Pada masing-masing tabung tersebut ditambahkan metanol p.a sampai volume 500 µL kemudian ditambahkan 500 µL DPPH dikocok hingga homogen, selanjutnya ditambahkan 1 mL metanol p.a sehingga volume total 2 mL dan dikocok hingga homogen lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit.
- c. Serapan dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang 515 nm.

### 3.4.3.6 Penghitungan

Nilai IC<sub>50</sub> ditemukan dengan program komputer sederhana untuk analisis probit pada taraf kepercayaan 95% (Blois, 1958). Presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus:

Dimana :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban Blangko} - \text{Absorban Sampel}}{\text{Absorban Blangko}} \times 100 \%$$

Setelah didapatkan presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persamaan  $y = A + Bx$  ditentukan dengan penghitungan secara regresi linier dimana  $x$  adalah konsentrasi (µg/mL) dan  $y$  adalah presentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration* 50% atau IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari nilai  $x$  setelah mengganti  $y$  dengan 50. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan kuat dilanjutkan pemurniannya.

#### 3.4.4 Penapisan Fitokimia

Pada ekstrak aseton dan metanol dilakukan pemeriksaan kandungan kimia dengan beberapa pereaksi kimia antara lain pereaksi untuk alkaloid, flavonoid, gula, triterpenoid atau steroid, antrakuinon, saponin dan tanin.

##### a. Identifikasi Alkaloid

Untuk mengidentifikasi alkaloid, ekstrak dilarutkan dengan etanol 96% kemudian ditambahkan asam klorida encer 2 N. Filtrat yang diperoleh disaring kemudian diidentifikasi menggunakan pereaksi Mayer LP, Bouchardat LP, Dragendorff LP. Pada penambahan Mayer LP, hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning. Hasil positif Dragendorff LP ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata. Penambahan Bouchardat LP memberikan hasil positif jika terbentuk endapan coklat sampai hitam (*Materia medika*, 1995).

##### b. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dalam 1 mL etanol 96% kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium P dan 5 tetes asam klorida pekat P. Jika terbentuk warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika terbentuk warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, khalkon dan auron.

Ekstrak dilarutkan dalam 1-2 ml etanol 96% kemudian ditambahkan 0,5 gram serbuk seng P dan 1 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit lalu ditambahkan 5 tetes asam klorida pekat P. Jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terbentuk warna merah intensif hal tersebut menunjukkan adanya flavonoid.

Ekstrak yang diuji diuapkan hingga kering, sisanya dibasahkan dengan aseton P kemudian ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan asam oksalat P. Secara hati-hati dipanaskan diatas penangas air dan hindari pemanasan yang berlebihan. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 5 mL eter P. Perubahan warna diamati dengan sinar UV 366 nm. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan fluoresensi kuning (*Materia medika*, 1980).



c. Identifikasi Saponin

Ekstrak ditambahkan 5 ml *aquadest* panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (*Materia medika*, 1980).

d. Identifikasi Tanin

Ekstrak dilarutkan dengan *aquadest* panas lalu dikocok hingga homogen. Larutan kemudian ditambah 5 tetes natrium klorida 10% dan saring. Filtrat yang diperoleh digunakan sebagai larutan percobaan. Larutan percobaan kemudian dibagi menjadi tiga bagian dan berturut-turut ditambahkan pereaksi gelatin 10%, natrium klorida-gelatin, besi (III) klorida 3%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan pada penambahan gelatin 10% dan natrium klorida-gelatin, sedangkan dengan penambahan besi (III) klorida 3% ditunjukkan dengan terbentuknya larutan biru kehitaman atau hijau kehitaman (*Materia medika*, 1980).

e. Identifikasi Kuinon

Sejumlah lebih kurang 5 mL larutan ekstrak ditambah natrium hidroksida 1N, adanya kuinon ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah.

f. Identifikasi Steroid / Terpenoid

Sejumlah  $\pm$  1 mL larutan ekstrak ditambah 0,5 mL anhidrida asetat dan 0,5 mL  $\text{CHCl}_3$  selanjutnya ditambah  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat setetes demi setetes sebanyak 0,2 mL ke dasar tabung dan diamati terjadinya warna ungu.

h. Identifikasi Kumarin

Sejumlah  $\pm$  2 g ekstrak ditambahkan 10 mL kloroform kemudian dipanaskan selama 10 menit selanjutnya didinginkan dan disaring. Filtrat diuapkan kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan. Tambahkan 0,5 mL ammonia 10%. Adanya kumarin ditunjukkan dengan adanya fluoresensi hijau/biru pada sinar UV (366 nm).

### 3.4.5 Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak secara KLT (Sutamihardja, Citroreksoko, Ossia dan Wardoyo, 2006)

Hal yang pertama dilakukan adalah pemeriksaan pendahuluan untuk menentukan pengembang yang paling baik memisahkan komponen fraksi. Fase diam yang digunakan adalah silika gel pada lempeng aluminium. Untuk menentukan pengembang yang optimum, dicoba berbagai komposisi pengembang.

Ekstrak yang akan diuji sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 mL pelarut yang digunakan pada ekstraksi sebelumnya (larutan uji), lalu ditotolkan sebanyak 20  $\mu$ L pada titik awal pergerakan. Setelah totolan kering, dilakukan pengelusian di dalam bejana KLT yang telah dijenuhkan dan ditutup rapat. Setelah eluen mencapai garis depan, lempeng dikeluarkan dan dikeringkan.

Bercak diamati secara visual, dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, dan menggunakan pereaksi semprot universal untuk menampakkan bercak yang tidak berwarna dan tidak berfluorosensi. Pereaksi semprot universal yang digunakan adalah asam sulfat 10% yang dilanjutkan dengan pemanasan.

Untuk menentukan bercak yang mempunyai aktivitas antioksidan, pereaksi semprot yang digunakan adalah larutan DPPH dengan hasil positif berupa zona kuning dengan latar belakang berwarna ungu. Golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan mencocokkan dengan kromatogram referensi.

### 3.4.6 Isolasi dan Pemurnian Senyawa

Isolasi dan pemurnian senyawa dilakukan terhadap ekstrak aseton dan metanol karena memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

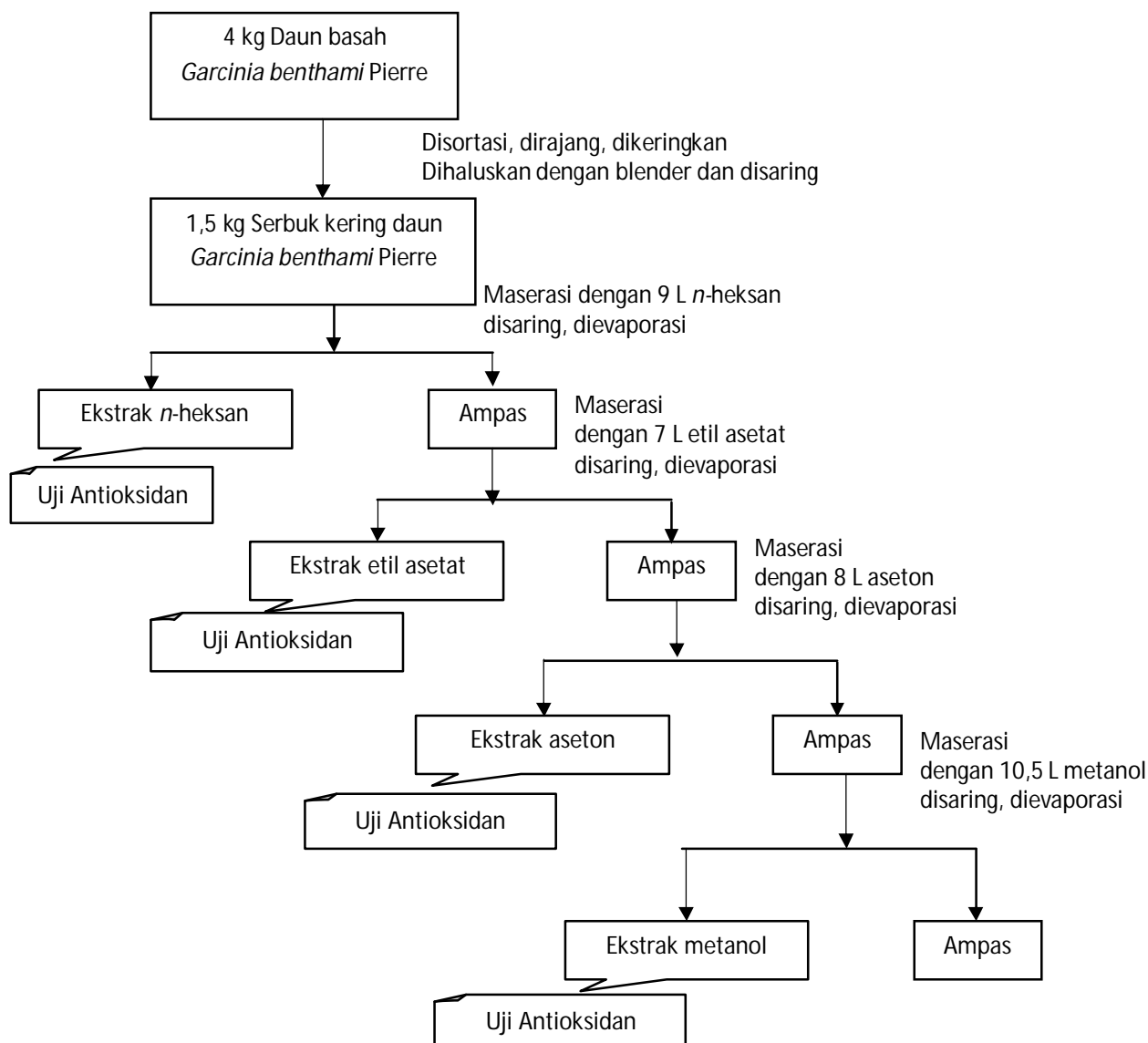
a. Isolasi dan Pemurnian Senyawa dari Ekstrak Aseton

Sebanyak 20 g ekstrak aseton *Garcinia benthami* Pierre difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam 200 g silika gel 60 (230-400 mesh) dan sebagai fase gerak digunakan campuran pelarut mulai dari *n*-heksan dengan etil asetat dan etil asetat dengan metanol. Pelarut *n*-heksan : etil asetat yang digunakan adalah perbandingan; 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 dan etil asetat : metanol dengan perbandingan sama seperti diatas. Setiap eluat ditampung dalam botol 100 mL dan diuapkan dengan penguap putar. Hasil dari kromatografi kolom lambat tersebut diperoleh 91 fraksi, yang selanjutnya digabung berdasarkan kesamaan nilai Rf pada kromatogram KLT sehingga diperoleh 8 fraksi gabungan (FA 1-8). Pada fraksi gabungan 1 (FA-1) terdapat kristal jarum yang masih bercampur dengan minyak kuning selanjutnya kristal tersebut dimurnikan dengan pelarut etil asetat, menghasilkan kristal jarum berwarna putih. Kristal tersebut dimurnikan lebih lanjut dengan cara rekristalisasi berulang menggunakan pelarut metanol hingga diperoleh 18 mg kristal putih (GBP-1).

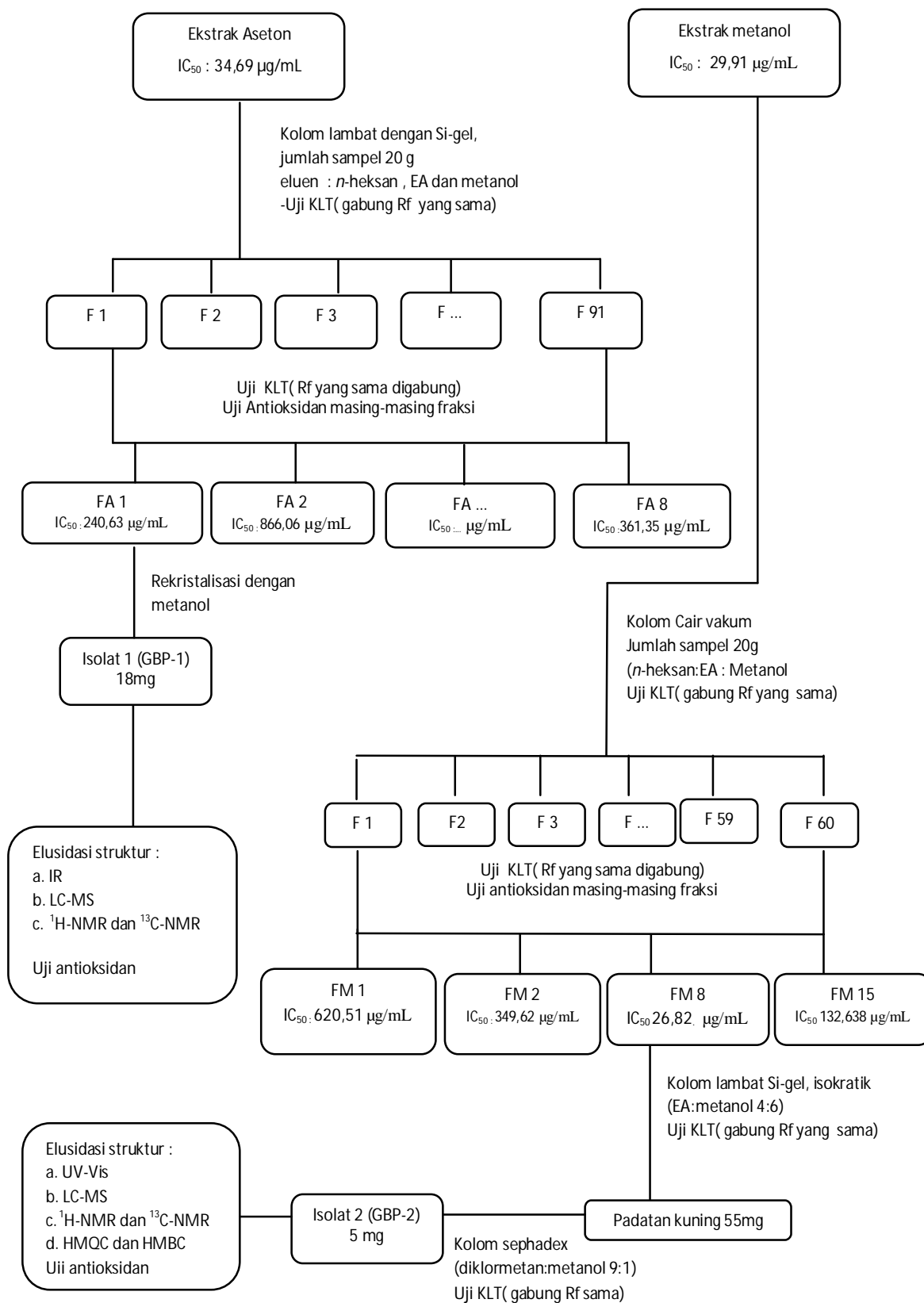
b. Isolasi dan Pemurnian Senyawa dari Ekstrak Metanol

Sebanyak 20 g ekstrak metanol difraksinasi dengan kromatografi kolom cair vakum (KCV) dengan menggunakan fase diam 100 g silika gel 60 (230-400 mesh). Sebagai fase gerak digunakan campuran pelarut mulai dari *n*-heksan dengan etil asetat dan etil asetat dengan metanol dengan perbandingan sebagai berikut; 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 masing masingnya 400 mL dimana setiap perbandingan digunakan 400 mL pelarut. Setiap 100 mL eluat ditampung dan diuapkan dengan penguap putar sehingga diperoleh 60 fraksi lalu dipantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT), fraksi yang sama digabung sehingga diperoleh 15 fraksi gabungan (FM 1-15). Selanjutnya dilakukan uji antioksidan terhadap 15 fraksi (FM 1-15) tersebut dan hasilnya menunjukkan bahwa fraksi 8 (FM-8) memiliki aktivitas antiosidan yang paling tinggi dengan  $IC_{50}$  26,82  $\mu$ g/mL. Terhadap fraksi 8 (FM-8) selanjutnya dilakukan pemurnian lebih lanjut dengan kromatografi kolom kembali menggunakan silika gel 60

dengan pengelusi etil asetat-metanol (4:6) secara isokratik sehingga didapatkan padatan kuning 55 mg yang kemudian dilanjutkan dengan kolom sephadex menggunakan eluen diklormetan-metanol (9:1) sehingga didapat serbuk kuning sebanyak 5 mg (GBP-2).



Gambar 3.1 Bagan Alur Ekstraksi Daun *Garcinia benthami* Pierre



Gambar 3.2. Bagan Alur Isolasi dan Pemurnian Senyawa Kimia Ekstrak Aseton dan Metanol dari Daun *Garcinia benthami* Pierre

### 3.4.6 Penentuan Struktur Molekul Senyawa Murni

Terhadap isolat dilakukan identifikasi dan penentuan struktur molekul dengan cara fisika, KLT, spektrofotometri UV-Visible, IR, LC-MS, spektrometri resonansi magnetik ini proton ( $H^1$ -NMR) dan karbon ( $C^{13}$ -NMR), DEPT serta teknik NMR-2D yang meliputi HMQC dan HMBC.

#### 3.4.6.1 Pemeriksaan fisika

Terhadap isolat selain dikarakterisasi wujud/bentuk, warna dan bau juga ditentukan titik lelehnya menggunakan *Fisher-Jhon Melting Point apparatus* (Shriner et, al., 1980). Caranya yaitu dengan meletakkan sebutir kristal atau serbuk pada wadah yang ada pada alat tersebut kemudian suhu dinaikkan secara perlahan-lahan, lazimnya tiap menit temperatur dinaikkan  $1^\circ C$ . Titik leleh ditandai dengan mulai meleburnya kristal sampai seluruhnya berubah wujud menjadi cair. Senyawa yang dikatakan murni ditandai dengan jarak leleh yang tajam  $\pm 2^\circ$ .

#### 3.4.6.2 Pemeriksaan Secara Kromatografi Lapis Tipis

Cairan pengelusi dijenuhkan dalam bejana  $\pm 10$  menit. Pada plat KLT ditotolkan sampel uji menggunakan pipa kapiler kemudian dimasukkan kedalam bejana dengan posisi cairan pengelusi dibawah bercak penotolan. Untuk senyawa GBP-1, eluen yang digunakan adalah *n*-heksan:etil asetat (9:1) sedangkan untuk senyawa GBP-2, eluen yang digunakan adalah etil asetat:metanol (2:3). Selanjutnya eluen dibiarkan merambat sampai mencapai batas plat yang telah ditandai. Noda diidentifikasi pada sinar UV dengan  $\lambda_{max}$  254 dan 366 dan penyemprotan dengan  $H_2SO_4$  10% dalam metanol atau uap Iodium kemudian ditentukan Rf-nya.

#### 3.4.6.3 Pemeriksaan spektrum ultraviolet

Pemeriksaan dilakukan dengan alat spektrometer UV-Vis 1601 (Shimadzu), yaitu dengan melarutkan 2 mg sampel dalam metanol sampai 2 mL

sehingga konsentrasi sampel menjadi 1000  $\mu\text{g/mL}$ , diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 10, 5, 2, atau 1  $\mu\text{g/mL}$  (dipilih konsentrasi yang memberikan nilai adsorban 200-800 nm) kemudian konsentrasi terpilih dimasukkan kedalam kuvet, pelarut dimasukkan pada kuvet lain dan diukur absorbansinya secara bersamaan.

#### 3.4.6.4 Pemeriksaan spektrum Infra merah (IR)

Menggunakan alat spektrofotometer IR Perkin elmer 735 B yaitu dengan menggerus sejumlah 1 mg sampel dengan 100 mg KBr secara homogen. Campuran dikempa dengan kekuatan 10  $\text{ton/cm}^3$  sehingga terbentuk sebuah pelet yang tipis dan transparan kemudian diukur serapan infra merahnya.

#### 3.4.6.5 Pemeriksaan spektrum massa dengan LC-MS

Sebanyak 1 mg senyawa ditimbang dan dilarutkan dalam eluen metanol yang mengandung 0,3% asam asetat lalu diambil 10  $\mu\text{L}$  sampel dan disuntikkan pada LC-MS melalui kolom C-18 (2 x 150 mm) dengan kecepatan alir 0,5 mL/menit.

#### 3.4.6.6 Pemeriksaan Spektrum resonansi Magnet Inti

Sejumlah 10 mg senyawa murni dilarutkan dengan 1 mL pelarut khusus untuk NMR. Senyawa GBP-1 dilarutkan dalam  $\text{CDCl}_3$ , sedangkan senyawa GBP-2 dilarutkan dalam  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Selanjutnya diukur dengan alat NMR.

#### 3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi dan Isolat

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi dan isolat dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil) sama seperti yang dilakukan terhadap ekstrak.

## **BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **4.1 Penyiapan Bahan**

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun *Garcinia benthami* Pierre sebanyak 4 kg yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor dan dideterminasi oleh LIPI Cibinong (Lampiran 1). Setelah melalui proses sortasi, pengeringan, penghalusan dan penyaringan, diperoleh 1,5 kg serbuk kering daun *Garcinia benthami* Pierre.

Sortasi dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji. Proses pengeringan dilakukan dengan menjemur di udara terbuka dan dengan menggunakan lemari pengering. Dalam proses pengeringan, kadar air dan reaksi-reaksi zat aktif dalam bahan akan berkurang, sehingga suhu dan waktu pengeringan perlu diperhatikan. Suhu pengeringan tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. Pada umumnya suhu pengeringan adalah 40-60°C. Waktu pengeringan juga bervariasi, tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan seperti rimpang, daun, kayu, ataupun bunga.

Simplisia yang telah kering di sortasi kembali dari kotoran-kotoran yang tertinggal. Simplisia yang telah disortir, kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk kemudian diayak dengan ayakan B30 hingga didapat ukuran serbuk yang seragam. Untuk mencegah kerusakan atau mutu simplisia, serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

### **4.2 Ekstraksi**

Sejumlah 1,5 kg serbuk kering daun *Garcinia benthami* Pierre dimaserasi dengan 9 L pelarut *n*-heksan selama 5 hari, maserasi dilakukan 3 kali. Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna.



Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 45°C, sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksan. Terhadap ampas *n*-heksan dilakukan kembali maserasi berturut turut dengan pelarut etil asetat, aseton dan metanol kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etil asetat, aseton dan metanol berturut-turut adalah 47,06 g ekstrak *n*-heksan; 34,01 g ekstrak etil asetat; 33,32 g ekstrak aseton dan 43,71 g ekstrak metanol (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Data rendemen ekstrak daun *Garcinia benthami* Pierre

No.	Nama Simplisia	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
1.	Ekstrak <i>n</i> -heksan	47,06	3,13
2.	Ekstrak etil asetat	34,01	2,23
3	Ekstrak aseton	33,32	2,22
4.	Ekstrak metanol	43,71	2,91

### 4.3 Uji Antioksidan Ekstrak

Dalam pengujian aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak digunakan spektrofotometer UV-Vis. Optimasi panjang gelombang DPPH menunjukkan serapan maksimum larutan DPPH terletak pada panjang gelombang 515 nm (Lampiran 2). Selanjutnya, semua pengukuran dengan metode peredaman radikal DPPH dilakukan pada panjang gelombang tersebut.

Hasil uji aktivitas masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak aseton dan metanol memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan IC<sub>50</sub> masing-masing 34,69 dan 29,92 µg/mL sedangkan fraksi *n*-heksan dan etil asetat tidak aktif dengan IC<sub>50</sub> 82222 dan 235,81 µg/mL sementara quersetin yang digunakan digunakan sebagai pembanding memiliki IC<sub>50</sub> 2,97 µg/mL (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *Garcinia benthami* Pierre

Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbans		% Inhibisi	Persamaan linier	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Blanko	Sampel uji			
Quersetin	20	2,537	0,074	97,083	$y = 26,66\ln(x) + 20,93$ $r = 0,945$	2,97
	10		0,175	93,102		
	5		1,131	55,420		
	1		1,970	22,394		
Ekst. <i>n</i> -Heksan	200	2,537	2,153	15,136	$y = 1,596\ln(x) + 6,211$ $r = 0,950$	82222
	100		2,207	13,007		
	50		2,223	12,377		
	10		2,282	10,051		
Ekst. Etil asetat	200	2,537	1,419	44,068	$y = 0,182x + 6,988$ $r = 0,986$	235,81
	100		1,904	24,951		
	50		2,185	13,875		
	10		2,265	10,721		
Ekst. Aseton	200	2,537	0,108	95,743	$y = 28,23\ln(x) - 50,13$ $r = 0,951$	34,69
	100		0,239	90,579		
	50		1,219	51,951		
	10		2,124	16,279		
Ekst. Metanol	200	2,537	0,105	95,861	$y = 26,96(\ln)x - 41,63$ $r = 0,969$	29,92
	100		0,219	91,368		
	50		0,984	61,214		
	10		2,039	19,629		

Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan yaitu berupa donasi proton kepada radikal. DPPH dalam bentuk non-radikal akan kehilangan warna ungunya yang mana pemudaran warna ini dapat ditunjukkan dengan penurunan serapan dari DPPH pada panjang gelombang optimumnya yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran penurunan serapan DPPH pada larutan uji dihitung terhadap serapan kontrol yakni larutan DPPH dan pelarut tanpa sampel.



#### 4.4 Penapisan Fitokimia

Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak aseton dan metanol dari daun *Garcinia benthami* Pierre dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3. Hasil uji penapisan fitokimia dari ekstrak aseton dan metanol daun *Garcinia benthami* Pierre

No	Golongan Kimia	Pengamatan Sampel	
		Ekstrak Aseton	Ekstrak metanol
1	Alkaloid	+	-
2	Flavonoid	+	+
3	Steroid/Terpenoid	+	+
4	Tanin	+	+
5	Kuinon	+	+
6	Kumarin	+	+
7	Saponin	+	+

#### 4.5 Isolasi dan Pemurnian Senyawa

Isolasi dan pemurnian senyawa dilakukan terhadap ekstrak yang berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH memberi aktivitas yang kuat, yaitu ekstrak aseton dan metanol. Hasil isolasi dan pemurnian terhadap ekstrak aseton dari daun *Garcinia benthami* Pierre diperoleh 18 mg senyawa murni GBP-1 dan dari ekstrak metanol didapat 5 mg senyawa murni GBP-2 dengan Rf masing-masing 0,9 dan 0,7 (Lampiran 3).

#### 4.6 Penentuan Struktur Senyawa Murni

Penentuan struktur senyawa GBP-1 dan GBP-2 dilakukan dengan menganalisis data spektroskopi yang meliputi spektroskopi UV, spektroskopi infra merah (IR), spektroskopi massa (MS), resonansi magnetik inti proton

( $^1\text{H-NMR}$ ), resonansi magnetik inti karbon ( $^{13}\text{C-NMR}$ ), DEPT dan spektroskopi NMR-2D meliputi HMQC dan HMBC.

#### 4.6.1 Senyawa GBP-1

Senyawa GBP-1 berupa kristal jarum berwarna putih, memiliki titik leleh 263-264°C. Hasil Kromatografi Lapis tipis dengan eluen *n*-heksan:etil asetat (9:1) memperlihatkan senyawa ini memiliki Rf 0,9. Data LC-MS memperlihatkan puncak ion molekuler  $[\text{M}+\text{H}]^+$  pada  $m/z$  427,26. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa GBP-1 mempunyai berat molekul 426 (Lampiran 4). Data IR memberikan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 1714  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan vibrasi ulur C=O dan pada bilangan gelombang 2927  $\text{cm}^{-1}$  memperlihatkan adanya vibrasi ulur asimetrik ikatan -C-C- alifatik (Lampiran 5).

Spektrum resonansi magnetik inti proton senyawa GBP-1 memiliki pergeseran kimia pada 0,72; 0,86; 0,88; 0,95; 0,99; 1,0; 1,04; 1,18 ppm. Adanya 8 gugus metil ini merupakan ciri senyawa triterpen pentasiklik. Semua metil pada senyawa ini memiliki puncak dengan multiplisitas *singlet* kecuali pada 0,88 ppm memperlihatkan puncak dengan multiplisitas *doublet* (Lampiran 6). Sinyal *singlet* menjelaskan bahwa disebelah sinyal proton (H) tersebut atom karbonnya tidak memiliki atom proton. Sementara pada pergeseran 0,88 ppm yang memperlihatkan adanya sinyal *doublet* menunjukkan disebelah sinyal proton (H) tersebut atom karbonnya memiliki 1 atom H (Lampiran 7).

Analisis spektrum resonansi magnetik inti karbon  $^{13}\text{C NMR}$  dan  $^1\text{H NMR}$  menunjukkan bahwa senyawa GBP-1 mengandung 30 atom karbon (Lampiran 8) yang terdiri dari 8 gugus metil ( $\text{CH}_3$ ) yakni pada pergeseran kimia 7,0; 14,8; 18,1; 18,9; 20,5; 31,9; 32,6; 35,2 ppm. Terdapat 11 gugus metilen ( $\text{CH}_2$ ) yang dapat dilihat pada pergeseran kimia 18,4; 22,5; 30,7; 32,6; 32,9; 35,5; 35,8; 36,2; 39,4; 41,5; dan 41,7 ppm. 4 gugus metin (CH) ditunjukkan pada pergeseran kimia 42,9; 53,3; 58,4 dan 59,6 ppm dan 7 atom C kuartener ditunjukkan pada pergeseran kimia 28,4; 30,2; 38,5; 38,9; 37,6; 42,3; dan 213,5 ppm (Lampiran 7-9).

Tabel 4.4 Data pergeseran kimia proton dan karbon senyawa GBP-1 (diukur pada 500 mHz dan 125 mHz dengan pelarut  $\text{CDCl}_3$ )

No	$^{13}\text{C}$ NMR GBP-1 (ppm)	$^1\text{H}$ NMR GBP-1 (ppm)
1	22,5 ( $\text{CH}_2$ )	1,95
2	42,3 ( $\text{CH}_2$ )	1,53
3	213,5 ( C )	-
4	58,4 ( CH )	2,25 ( <i>q</i> )
5	41,7 ( C )	-
6	41,4 ( $\text{CH}_2$ )	2,38 & 1,74
7	18,4 ( $\text{CH}_2$ )	1,21
8	53,3 ( CH )	1,38
9	37,6 ( C )	-
10	59,6 ( CH )	1,52
11	35,8 ( $\text{CH}_2$ )	1,57
12	30,7 ( $\text{CH}_2$ )	1,33
13	39,8 ( C )	-
14	38,5 ( C )	-
15	32,6 ( $\text{CH}_2$ )	1,48
16	36,2 ( $\text{CH}_2$ )	1,75
17	30,1 ( C )	-
18	42,9 ( CH )	2,38
19	35,5 ( $\text{CH}_2$ )	1,19
20	28,3 ( C )	-
21	39,4 ( $\text{CH}_2$ )	1,46
22	32,9 ( $\text{CH}_2$ )	1,28
23	7,0 ( $\text{CH}_3$ )	0,88 ( <i>d</i> ,)
24	14,8 ( $\text{CH}_3$ )	0,72 ( <i>s</i> )
25	18,1 ( $\text{CH}_3$ )	0,86 ( <i>s</i> )
26	18,9 ( $\text{CH}_3$ )	1,04 ( <i>s</i> )
27	20,4 ( $\text{CH}_3$ )	0,99 ( <i>s</i> )
28	32,3 ( $\text{CH}_3$ )	1,18 ( <i>s</i> )
29	31,9 ( $\text{CH}_3$ )	1,00 ( <i>s</i> )
30	35,2 ( $\text{CH}_3$ )	0,95 ( <i>s</i> )

Senyawa GBP-1 hanya mengandung atom C, H dan O, dimana jumlah atom C adalah 30 dan jumlah atom O adalah 1 (dari gugus keton pada pergeseran kimia 213, ppm), maka dapat dihitung jumlah atom hidrogen.

$$\text{Jumlah atom hidrogen : } \frac{426-(30 \times 12)-(1 \times 16)}{1} = 50$$

Dengan demikian rumus molekul senyawa tersebut adalah  $C_{30}H_{50}O$ .

Jumlah cincin dan ikatan rangkap dari senyawa dapat dihitung dengan menggunakan rumus indeks kekurangan hidrogen (*double bond equivalen*) sebagai berikut:

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

Dimana :

F = jumlah cincin dan atau ikatan rangkap

X = jumlah atom C atau tetravalent

Y = jumlah atom H, halogen atau atom monovalen

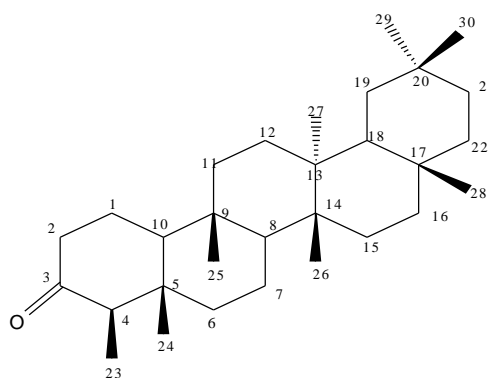
Z = jumlah atom N, P atau atom trivalent

Dari rumus tersebut senyawa GBP-1 mempunyai :

$$F = 30 - (0,5 \times 50) + 1 = 6$$

Dari perhitungan tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa GBP-1 mempunyai 5 cincin siklik dan 1 ikatan rangkap. Analisis data  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  menunjukkan jumlah atom karbon, hidrogen dan oksigen serta jumlah cincin, sehingga diduga senyawa GBP-1 merupakan suatu triterpen pentasiklik dengan satu gugus karbonil.

Berdasarkan data spektroskopi senyawa GBP-1 yang diperoleh lalu dibandingkan dengan data spektroskopi senyawa terpen lain yang BMnya sama (Tabel 4.5), dapat disimpulkan bahwa isolat GBP-1 adalah friedelin (Mahato, 1994).



Gambar 4.2 Struktur senyawa GBP-1

Tabel 4.5 Perbandingan pergeseran kimia  $^{13}\text{C}$ -NMR, senyawa GBP-1 dengan friedelin (diukur pada 125 mHz dengan pelarut  $\text{CDCl}_3$ ) (Mahato, 1994).

Atom C	GBP-1 (sampel) $\delta_c$ (ppm)	Friedelin $\delta_c$ (ppm)
1	22,5	22,3
2	42,3	42,1
3	<u>213,6</u>	213,2
4	58,4	58,2
5	41,7	41,5
6	41,5	41,3
7	18,4	18,2
8	53,3	53,1
9	37,6	37,4
10	59,6	59,4
11	35,8	35,6
12	30,7	30,5
13	39,8	39,7
14	38,5	38,3
15	32,6	32,4
16	36,2	36,6
17	30,1	30,0
18	42,9	42,8
19	35,5	35,3
20	28,3	28,1
21	39,4	39,2
22	32,9	32,7
23	7,0	6,8
24	14,8	14,6
25	18,1	17,9
26	18,9	18,6



27	20,4	20,2
28	32,3	32,1
29	31,9	31,8
30	35,2	35,0

#### 4.6.2 Senyawa GBP-2

Senyawa GBP-2 berupa padatan kuning kecoklatan sebanyak 5 mg; titik leleh 271-273°C dengan Rf 0,7 pada saat KLT dielusi dengan etil asetat:metanol (4:6). Data EIMS LC-MS memperlihatkan puncak ion molekuler  $[M+H]^+$  pada  $m/z$  261,12 yang menunjukkan bahwa senyawa GBP-2 mempunyai berat molekul 260 (Lampiran 10).

Data IR memberikan serapan pada bilangan gelombang 3228  $\text{cm}^{-1}$  (OH), 1687  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1637, dan 1595  $\text{cm}^{-1}$  (C=C aromatik) (Lampiran 11). Analisis Spektrum UV-VIS senyawa GBP-2 memberikan serapan maksimum pada 237,5, 261,0, 312,5 dan 375,0 nm (Lampiran 12). Adanya empat buah serapan maksimum tersebut memperlihatkan bahwa senyawa GBP-2 memiliki gugus kromofor. Gugus kromofor adalah gugus fungsi yang dapat menyerap sinar UV, jika senyawa tersebut tidak berikatan dengan aoksokrom (gugus yang tidak menyerap sinar UV) (Creswell et al., 1982).

Data spektrum  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) dari senyawa GBP-2 menunjukkan adanya beberapa kelompok sinyal yang terdiri atas 5 proton (Lampiran 13). Munculnya sinyal singlet pada 13,85 ppm menunjukkan adanya gugus hidroksil yang membentuk khelat pada posisi C-1. Sinyal singlet menjelaskan bahwa disebelah sinyal proton (H) tersebut atom karbonnya tidak memiliki atom proton.

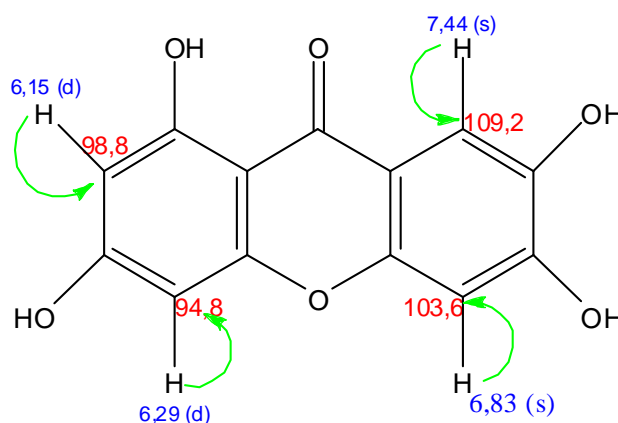
Sementara itu proton aromatis ditunjukkan oleh adanya dua sinyal doublet yang terkopling *meta* pada  $\delta_{\text{H}}= 6,29$  ppm (1H, *d*,  $J= 2$  Hz) dan 6,15 ppm (1H, *d*,  $J= 2$  Hz) pada posisi C-2 dan C-4, selain itu juga adanya sinyal singlet pada 6,83 ppm (1H, *s*) dan 7,44 ppm (1H, *s*) pada posisi C-5 dan C-8. Sinyal doublet

menunjukkan bahwa disebelah sinyal proton (H) tersebut atom karbonnya memiliki 1 atom H. (Lampiran 14).

Data spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz) memperlihatkan GBP-2 mengandung 13 atom karbon (Lampiran 15). Senyawa GBP-2 terdiri dari 9 atom karbon kuarterner yaitu  $\delta_{\text{C}} = 115; 125,1; 145; 153,3; 158; 159,5; 163,2; 163,5; 181,3$  ppm dan empat atom karbon metin ( $\text{CH}_2$ )  $\delta_{\text{C}} = 94,8; 98,8; 103,6; 109,2$  ppm (Lampiran 16). Hal itu diperkuat dengan melihat hasil spektrum DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*).

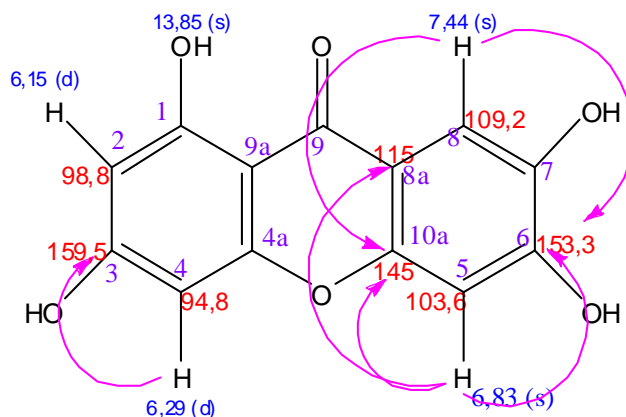
Dengan menggunakan model pengukuran ini, maka sinyal yang muncul pada spektrum merupakan sinyal-sinyal dari  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  dan  $\text{CH}$ , sedangkan puncak atom kuarterner tidak tampak pada spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR. Untuk mengetahui puncak karbon metilen ( $\text{CH}_2$ ) maka digunakan *flip angle*  $135^\circ$ , dimana puncak yang muncul diatas garis menunjukkan puncak  $\text{CH}$  dan  $\text{CH}_3$ , sedangkan puncak  $\text{CH}_2$  timbul dibawah garis (Lampiran 17).

Spektroskopi HMQC senyawa GBP-2 memperlihatkan adanya korelasi langsung karbon dengan hidrogen, diantaranya :  $\delta_{\text{C}} 94,8$  dengan  $\delta_{\text{H}} 6,29$  ppm,  $\delta_{\text{C}} 98,8$  dengan  $\delta_{\text{H}} 6,15$  ppm,  $\delta_{\text{C}} 103,6$  dengan  $\delta_{\text{H}} 6,82$  ppm,  $\delta_{\text{C}} 109,2$  dengan  $\delta_{\text{H}} 7,44$  ppm (Lampiran 18).



Gambar 4 3. Analisis HMQC senyawa GBP-2

Spektroskopi HMBC senyawa GBP-2 memperlihatkan korelasi hidrogen dengan karbon yang ada didekatnya (tidak langsung), yakni;  $\delta_H$  6,83 dengan  $\delta_C$  115 ppm,  $\delta_H$  6,83 dengan  $\delta_C$  145 ppm,  $\delta_H$  6,83 dengan  $\delta_C$  153,3 ppm,  $\delta_H$  7,44 dengan  $\delta_C$  153,3 ppm,  $\delta_H$  6,29 dengan  $\delta_C$  159,5 ppm dan  $\delta_H$  7,44 dengan  $\delta_C$  145 ppm, (Lampiran 19).



Gambar 4.4 Analisis HMBC senyawa GBP-2

Tabel 4.6 Data pergeseran kimia  $^{13}\text{C}$  NMR,  $^1\text{H}$  NMR dan HMBC senyawa GBP-2

No	$^{13}\text{C}$ NMR GBP-2 (ppm)	$^1\text{H}$ NMR GBP-2 (ppm)	HMBC Senyawa GBP-2 (ppm)		
1	163,5 (C)	13 (s)			
2	98,8 (CH)	6,15 (d, $J=2$ Hz)			
3	159,5 (C)	-			
4	94,8 (CH)	6,29 (d, $J=2$ Hz)	159,5		
4a	158 (C)	-			
5	103,6 (CH)	6,83 (s)	145	115	153,3
6	153,3 (C)				
7	163,2 (C)				
8	109,2 (CH)	7,44 (s)	153,3	145	
8a	115 (C)				
9	181,3				
9a	125,1 (C)	-			
10a	145 (C)	-			

Jumlah cincin dan ikatan rangkap dari senyawa dapat dihitung dengan menggunakan rumus indeks kekurangan hidrogen (*double bond equivalen*) sebagai berikut:

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

Dimana :

F = jumlah cincin dan atau ikatan rangkap

X = jumlah atom C atau tetravalent

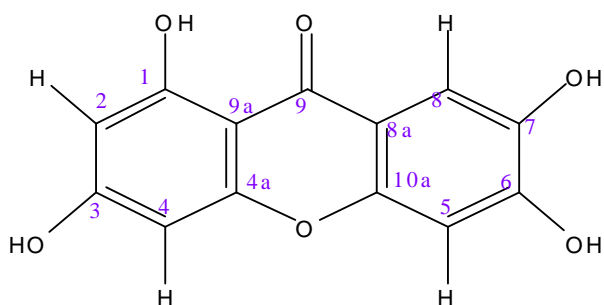
Y = jumlah atom H, halogen atau atom monovalen

Z = jumlah atom N, P atau atom trivalent

Dari rumus tersebut senyawa GBP-2 mempunyai :

$$F = 13 - (0,5 \times 8) + 1 = 10$$

Dari perhitungan tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa GBP-2 mempunyai 3 cincin siklik dan 7 ikatan rangkap. Analisis data  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT serta data NMR-2D terlihat jumlah atom karbon, hidrogen dan oksigen serta jumlah cincin mengarah dugaan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa golongan xanton sederhana, yaitu 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton (Gambar 4.5)



Gambar 4.5 Struktur senyawa GBP-2

Dugaan diatas didukung dengan dengan membandingkan data  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  senyawa GBP-2 dengan data  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  dari senyawa 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton melalui program Komputer *Chem. Office*, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa GBP-2 adalah 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton (Tabel 4.7)

Tabel 4.7 Perbandingan pergeseran kimia  $^1\text{H NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ , senyawa GBP-2 dengan 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton (berdasarkan program komputer *Chem. Office*)

No	Senyawa GBP-2		1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton ( <i>Chem.Office</i> )	
	$^{13}\text{C NMR}$ GBP-2 (ppm)	$^1\text{H NMR}$ GBP-2 (ppm)	$^{13}\text{C NMR}$ 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton (ppm)	$^1\text{H NMR}$ 1,3,6,7-tetrahidroksi-xanton (ppm)
1	163,5 (C)	13 (s)	163,3 (C)	11,85 (s)
2	98,8 (CH)	6,15 (d)	96,4 (CH)	6,01 (d)
3	159,5 (C)	-	163,3 (C)	10,29
4	94,8 (CH)	6,29 (d)	94,2 (CH)	6,35 (d)
4a	158,0 (C)	-	158,4 (C)	-
5	103,6 (CH)	6,83 (s)	103,4 (CH)	6,62 (s)
6	153,3 (C)		152,1 (C)	9,48
7	163,2 (C)		163,2 (C)	9,48
8	109,2 (CH)	7,44 (s)	109,2 (CH)	7,08 (s)
8a	115 (C)	-	113,9 (C)	-
9	181,3 (C)	-	179,9 (C)	-
9a	125,1 (C)	-	102,5 (C)	
10a	145 (C)	-	149,6 (C)	-

#### 4.7 Antioksidan Fraksi dan Senyawa Murni

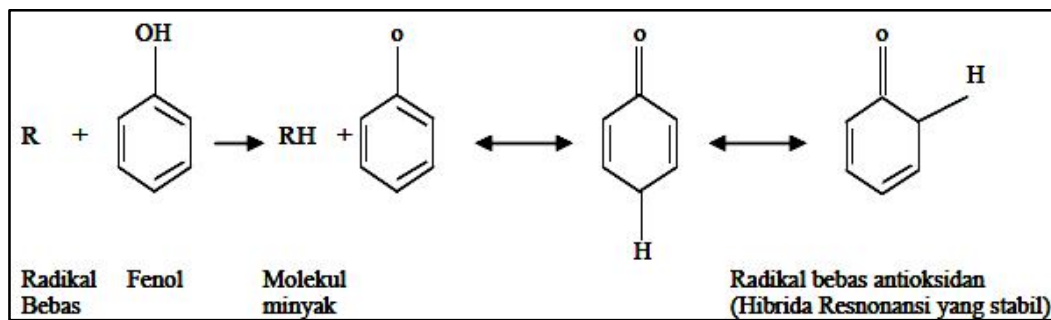
Efek antioksidan dari senyawa murni yang diperoleh dalam penelitian ini kembali diuji dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Senyawa GBP-1 tidak memperlihatkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat, hal ini ditandai dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  senyawa GBP-1 yaitu  $267,51 \mu\text{g/mL}$ , sebaliknya senyawa GBP-2 menunjukkan adanya aktivitas antioksidan kuat dengan  $\text{IC}_{50}$   $8,01 \mu\text{g/mL}$  (Tabel 4.8). Hal ini dimungkinkan oleh adanya gugus-gugus

hidroksil (OH) sebagai donor proton sehingga mampu menangkap radikal DPPH dan menghambat terjadinya reaksi radikal bebas lebih lanjut.

Tabel 4.8. Data uji antioksidan fraksi dan senyawa murni

Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbans		% Inhibisi	Persamaan linier	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Blanko	Sampel uji			
Quersetin	20	1,127	0,074	97,083	y = 26,66ln(x) + 20,93 r = 0,945	2,97
	10		0,175	93,102		
	5		1,131	55,420		
	1		1,970	22,394		
FM-8	200	2,045	0,097	95,257	y = 29,648 ln(x) + -47,513 r = 0,867	26,82
	100		0,102	95,012		
	50		0,275	86,553		
	10		1,820	11,002		
GBP-1	200	1,127	1,359	-20,586	y = 22,56 ln(x) + 27,16 r = 0,80	267, 51
	100		1,844	-63,620		
	50		3,077	-173,026		
	10		3,152	-179,681		
GBP-2	200	2,045	0,097	95,257	y = 15,57 ln(x) + 17,60 r = 0,914	8,01
	100		0,211	89,682		
	50		0,265	87,041		
	10		1,034	49,438		

Nilai IC<sub>50</sub> dari fraksi yang aktif lebih kecil (aktivitas antioksidan yang lebih besar) daripada nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak metanol itu sendiri kemungkinan karena hasil dari fraksinasi sedikit lebih murni. Fraksi tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih besar kemungkinan karena pelarut tersebut mampu menarik senyawa-senyawa yang mampu mendonorkan proton seperti senyawa golongan fenol.



[ Sumber : Jacob, R.A., Burri. 1996 ]

Gambar 4.6 Mekanisme antioksidan senyawa fenolik

Derivat polifenol merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan karena senyawa tersebut mengandung gugus –OH yang terikat pada karbon cincin aromatik, produk radikal bebas senyawa-senyawa ini terstabilkan secara resonansi dan karena itu tak reaktif dibandingkan dengan kebanyakan radikal bebas lain sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan yang efektif. Antioksidan dengan jumlah fenol yang besar biasanya dipergunakan pada minyak dan lemak makanan.

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan data penelitian yang telah diperoleh, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Telah dilakukan isolasi dari daun *Garcinia benthami* Pierre dimana diantara keempat ekstraknya yakni ekstrak *n*-heksan, etil asetat, aseton dan metanol menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang cukup potensial dengan IC<sub>50</sub> berturut turut 34,69 dan 29,91 µg/mL pada ekstrak aseton dan metanol, sedangkan ekstrak *n*-heksan dan etil asetat tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> 82222 dan 235,81 dan µg/mL.
2. Dari 20 g ekstrak aseton diperoleh 18 mg senyawa murni GBP-1 (friedelin) dengan berat molekul 426 (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O) dan dari 20 g ekstrak metanol diperoleh 5 mg senyawa murni GBP-2 (1,3,6,7-tetrahidroksixanton) dengan berat molekul 260 (C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>).
3. Dalam pengujian aktivitas antioksidan, quersetin sebagai pembanding memiliki IC<sub>50</sub> 2,97 µg/mL, senyawa GBP-2 (1,3,6,7-tetrahidroksixanton) mampu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH dengan IC<sub>50</sub> 8,01 µg/mL, sehingga disimpulkan senyawa GBP-2 aktif sebagai antioksidan, sementara senyawa GBP-1 (friedelin) dikatakan tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> 267,51 µg/mL.

#### **5.2 Saran**

1. Penelitian ini masih perlu dilanjutkan karena beberapa fraksi yang potensial masih berpeluang untuk ditemukannya senyawa-senyawa lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai macam uji bioaktivitas terhadap tumbuhan ini.



## DAFTAR ACUAN

- Adnan, M., 1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta: Andi. 27-35
- Anne-Emmanuelle Hay, Marie-Christine Aumond, Sabine, M., Vincent, D., Marc,L., David, R., and Pascal, R. 2003. *Antioxidant Xanthones from Garcinia vieillardii*. Journal of Natural Product. 67: 707-709.
- Atiek Soemiati, Soleh Kosela, Muhammad Hanafi, Leslie J. Harrison., 2006. *Garcinobenzophenone, A novel polyprenylbenzophenone from the bark of Indonesian Garcinia picrorrhiza* Miq. Asian Coordinating Group For Chemistry (ACGC) Chemical Research Communication 20:1-5.
- Blois, MS. 1958. *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical*, Nature 181: 1199-1200.
- Christine, 1985. *Penggunaan tanaman obat*. Jakarta : Buletin Farmakon.
- Ciulei, I. 1984. *Methodology for Analysis of Vegetable Drugs*, Chemical Industries Branch Division-Industrial Operation UNIDO, Bucharest-Rumania:11-23.
- Creswell, C.J., O.A, Runquist., and M.M, Campbell., (1982). *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Edisi ke 3. Diterjemahkan oleh: K. Padmawinata dan I, Soediro. Bandung. Penerbit ITB.
- Dachriyanus., 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Padang: Andalas University Press.
- Deachathai, S. W., Mahabusarakam, S., Phongpaichit, W.C. Taylor. 2005. *Phenolic compounds from the fruit of Garcinia dulcis*. Phytochemistry. 66: 2368-2375.
- Departemen Kesehatan RI., 1995. *Materia medika Indonesia jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 333-334.
- Departemen Kesehatan RI., 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 10-11.
- Delphine R., Hamid A. Hadi, Sylviane Thoret, Daniel Gue´nard, Odile Thoison, Mary Pa´rs, and Thierry Se´venet. 2000. *Structure-Activity Relationship of Polyisoprenyl Benzophenones from Garcinia pyrifera on the Tubulin/Microtubule System*. Journal of Natural Product. 63: 1070-1076.

- Elya, B., Hong Ping He, Kosela, S., Hanafi, M. and Xiao Jiang Hao. 2004. *Two New Benzophenones From Garcinia benthami*. Journal of Tropical Medicinal Plants, Vol. 5(2): 229-231.
- Elya, B., Hong Ping He, Kosela, S., Hanafi, M., Nurwidnyosari, D., Jun Song Wang and Xiao Jiang Hao. 2005. *Two New Xanthonones from Garcinia rigida*. Asian Coordinating Group for Chemistry (ACGC), 18:18-20.
- Elya, B., Hong Ping He, Kosela, S., Hanafi, M., Nurwidyma D., Jun Song Wang and Xiao Jiang Hao. 2006. *Two New Xanthonones from Garcinia rigida leaves*. Natural Product Research, Vol. 20(9): 788-79.
- Elya, B., Hong Ping He, Kosela, S., Hanafi, M. and Xiao Jiang Hao. 2006. *A new Benzophenone from the Stem Bark of Garcinia benthami*. Natural Product Research, Vol. 20 (12): 1059-1062.
- Elya, B., Hong Ping He, Kosela, S., Hanafi, M. and Xiao Jiang Hao. 2008. *A New Cytotoxic Xanthone from Garcinia rigida*. Journal of Fitoterapia, 79; 182-184.
- Elya, B., Hanafi, M., Kosela, S., 2009. *Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak n-Heksana Kulit batang Garcinia benthami Pierre*. Jurnal Makara Sains, Vol. 13, No.1: 9-12.
- Ersam, T. 2005. Pembedayaan Keanekaragaman Hayati Hutan Tropika : *Fenolat Terprenilasi dari Artocarpus dan Garcinia (Nangka dan Manggis)*. Seminar Nasional Kimia – MIPA. UNESA, Surabaya.
- Elvina, K. *Antioksidan, Resep Sehat & Umur Panjang*  
[Http://www.indonesia.com/intisari/1997/juni/antioks.htm](http://www.indonesia.com/intisari/1997/juni/antioks.htm)
- Farombi, E. O., Tahnteng, J. G., Agboola, A. O., Nwankwo, J. O., and Emerole, G.O. 2000. *Chemoprevention of 2-Acetylaminouorene-induced Hepatotoxicity and Lipid Peroxidation in Rats by Kolaviron DA Garcinia cola Seed Extrac*. Food and Chemical Toxicology. 38: 535-541
- Fumio Y., Toshiaki, A., Yoshihiro, Y. and Hiroyuki, N. 2000. *Antioxidative and Anti-Glycation Activity of Garcinol from Garcinia indica Fruit Rind*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48: 180-185.
- Guo., Qing-Long, Sen-Sen Lin, Qi-Dong You, Hong-Yan Gu, Jun Yu, Li Zhao, Qi Qi, Fei Liang, Zi Tan and Xiaotang Wang. 2005. *Inhibition of human telomerase reverse transcriptase gene expression by gambogic acid in human hepatoma SMMC-7721 cells*. Life Sciences. xx. 1-9.
- Ghisalberti, E.L., 1993. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products in Bioactive Natural Products*, CRC Press , Florida

- Gritter, R. J., Bobbits, J. M., and A. E. Schwarting, 1987. *Introduction to Chromatography (Pengantar Kromatografi)*, Edisi ke-2, diterjemahkan oleh K.Padmawinata, Bandung: Penerbit ITB.
- Han, Quan-Bin, Song-Fong LEE, Chun-Feng QIAO, Zhen-Dan HE, Jing-Zheng SONG, Han-Dong SUN and Hong-Xi XU. 2005. *Complete NMR Assignments of the Antibacterial Biflavonoid GB1 from Garcinia cola*. Chem. Pharm. Bull. 53(8): 1034-1036.
- Harbone, J.B., 1987. *Metode Fitokimia*. Ed II., Diterjemahkan Oleh Kosasih Patmawinata dan Iwang Sudiro. Bandung: ITB.
- Harmita., 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 205-211.
- Hesse, M., H. Meier, and B. Zeeh., 1991. *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, 4.ü berarbeitete Auflage, New York: Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- Heyne., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid III. Cetakan ke 1, Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Departemen Kehutanan. Gatot Subroto. Jakarta 1374-1380.
- Huang, Yu-Ling., Chien-Chih Chen, Ying-Jen Chen, Ray-Ling Huang and Bor-Jinn Shieh. 2001. *Three Xanthones and a Benzophenone from Garcinia mangostana*. Journal of Natural Product, 64: 903-906.
- Iswari, K., Sudaryono, T. 2007. BPTP SUMBAR: *4 Jenis Olahan Manggis, Si Ratu Buah Dunia dari Sumbar*. Tabloid Sinar Tani, 22 Agustus 2007.
- Jacob, R.A., Burri. 1996. *Oxidative Damage and Defense*. Food Chem 84: 23-28
- Javanmardi, J., C. Stushnoff, E. Locke., J.M. Vivanco. 2003. *Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions*. Food Chem, 83, 547-550.
- Jena, B. S., Jayaprakasha, G. K., R. P. Singh and Sakariah, K. K., 2002. *Chemistry and Biochemistry of (-)-Hydroxycitric Acid from Garcinia*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50: 10-22.
- Jena, B.S., Jayaprakasha, G.K., and Sakariah, K.K. 2002. *Organic Acids From Leaves, Fruits, and Rinds of Garcinia cowa*. Journal of Agriculture Food Chemistry. 50: 3431-3434.
- Justin K., Melia, A.L., Manfouo, R.N., Lontsi, D., Ngounou, N., Kuete, V., Hippolyte W., Kamdem, Pierre, T., Bonaventure T. Ngadjui, Beiban L. Sondengam and Joseph D. Connolly. 2005. *Xanthones from*

- Garcinia smeathmannii* (Oliver) and their antimicrobial activity. *Phytochemistry*. 66: 1713-1717.
- Kenji T., Yoshiaki T. and Masatake N., 2001. *Powerful Antioxidative Agents Based on Garcinoic Acid from Garcinia kola*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 10: 1619–1625.
- Kosasih, E.N., Tony S dan Hendro H., 2006. *Peran Antioksidan Pada Usia Lanjut*. Jakarta : Pusat Kajian Nasional Masalah lanjut Usia.
- Linuma and Tosa. Tanaka and Yonemori., 1994. *Two Xanthones from Root Bark of Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol 35. No 2. 527-532.
- Lopez-Alarcon, C., Lissi, E. 2006. *A Novel and Simple ORAC Methodology based on The Interaction of Pyrogallol Red with Peroxyl Radicals*. *Free Rad Res*, 40 (9), 979–985.
- Mahato, S.B. and Kundu, A.P., 1994. Review article number 98. *<sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – A Compilation and Some Salient Features*, *Phytochemistry*, 37 (6), 1517-1575.
- Molyneux, P., 2004, *Use of DPPH to Estimate antioxidant Activity*, *J.Sci. Technol*, **26** (2)
- Mun'im, A., Azizahwati, Trastiana., 2008. *Aktivitas Antioksidan Cendawan Suku Pleurotaceae dan Polyporaceae dari Hutan UI*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5 (1), 36-41.
- Meli Lannang, J., Komguem, F., Ngounou, N., Ngninzeko, J. Gustave Tangmouo, D. Lontsi, Asma Ajaz, M. Iqbal Choudhary, Rosa Ranjit, Krishna P. Devkota and B. Luc Sondengam. 2005. *Bangangxanthone A and B, two xanthones from the stem bark of Garcinia polyantha Oliv*. *Phytochemistry*. 66: 2351-2355.
- Min-Hsiung P., Won-Ling C., Shoei-Yn Lin-Shiau, Chi-Tang Ho, and Jen-Kun Lin. 2001. *Induction of Apoptosis by Garcinol and Curcumin through Cytochrome c Release and Activation of Caspases in Human Leukemia HL-60 Cells*. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 49: 1464-1474.
- Nian-Yun, Yang Quan-Bin Han, Xin-Wei Cao, Chun-Feng Qiao, Jing-Zheng Song Shi-Lin Chen, Da-Jian Yang, Hillary Yiu, and Hong-Xi Xi. 2007. *Two New Xanthones Isolated from the Stem Bark of Garcinia lancilimba*. *Chem. Pharm. Bull.* 55(6): 950-952.
- Packer, L.M., Hiramatsu, T. and Yoshikawa. 1999. *Antioxidant Food Supplement in Human Health*, Academic Press.

- Partomuan, S. 2003. *Strategi Pencarian Senyawa Bioaktif Baru dari Sumber Bahan Alami Tumbuhan*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia ISSN 1693-1831, Vol. 1. No. 2, Fak. Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta: 19-23.
- Pine Stanley, H., 1988, *Kimia Organik 2*, diterjemahkan oleh Roehyati Joedodibroto dan Sasanti W. Purbo Hadiwidjoyo, Terbitan ke empat, Penerbit ITB, Bandung, Hal. 957-979
- Pokorni, 2001, *Antioxidant in Food; Practical Applications*, CRC Press, New York
- Purwani, T.A., S. Fatmawati and T. Ersam, 2004,  *$\alpha$ -Mangostin dari Fraksi Polar Ekstrak Diklorometana pada Kulit Akar *Garcinia mangostana* Linn*, Prosiding Senaki IV, Jurusan Kimia ITS, Surabaya, 165-170.
- Qing-Long Guo, Sen-Sen Lin, Qi-Dong You, Hong-Yan Gu, Jun Yu, Li Zhao, Qi Qi, Fei Liang, Zi Tan and Xiaotang Wang. 2005. *Inhibition of human telomerase reverse transcriptase gene expression by gambogic acid in human hepatoma SMMC-7721 cells*. Life Sciences. xx. 1-9.
- Rahman, Atta-ur. and Iqbal, M. 1996. *Solving Problem with NMR Spectroscopy*. Academic Press, Pakistan. 429 pages.
- Rachman, I., 2003. *Sumber Koleksi Herbarium Bogoriense*, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Bogor.
- Rohman, A., Sugeng, R., Dahliyanti, R. and Pratomo, D.B., 2009. *Penangkapan radikal 2,2-difenil-1-fenilhidrazil oleh buah jambu biji (*Psidium guajava* L) dan Belimbing manis (*Averrhoa carambola* L)*. Jurnal Ilmiah Farmasi Indonesia, 7(1), 1-5.
- Sadaquat, A., Renee, G., Subramaniam, S., Christian, B. and Claude, S. 2000. *Benzophenones of *Garcinia pseudoguttifera* (Clusiaceae)*. Phytochemistry. 53: 281-284.
- Sari, R. 1999. *Koleksi *Garcinia* Kebun Raya Bogor : Konservasi dan Potensi*. Prosiding Seminar Nasional Konservasi Flora Nusantara. Balai Pengembangan Kebun Raya, Lembaga Pengetahuan Indonesia Bogor, 217-221.
- Shivaprasad, H. N., S. Mohan, M. D. Kharya, M. R. Shiradkar, & K. Lakshman., 2005. *In-vitro models for antioxidant activity evaluation: A review*. 5 Desember 2009. <http://www.pharmainfo.net/reviews/vitro-models-antioxidant-activity-evaluation-review>.
- Silverstein, Robert M. and Francis X. Webster. 1996. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Sixth Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York. 482 pages.

- Sosef, M. S. M., Hong, L. T. and Prawirohatmodjo, S. 1998. *PROSEA (Plant Resources of South East Asia) Timber Trees: Lesser – Known Timber*. Backhuys Publisher, Leyden. (3) 246-249.
- Stahl, E., 1969. Apparatus and general techniques in TLC. *Dalam* : Stahl, E. (ed). *Thin layer chromatography a laboratory handbook*. Terj. dari *Dunnschicht chromatographie*, oleh Ashworth, M.R.F. Berlin: Springer-Verlag, 61-77.
- Sutamihardja, R.T.M., P.S. Citreksoko, F. Ossia, S.E. Wardoyo., 2006. *Isolasi dan identifikasi senyawa fenol dari daun salam (Syzygium polyanthum, Wight Walpers) sebagai senyawa antibakteri*. *Jurnal Nusa Kimia*, 6 (1), 48-60.
- Sukpondma, Y., Vatcharin R. and Souwalak P. 2005. *Antibacterial Caged-Tetraprenylated Xanthenes from the Fruits of Garcinia hanburyi*. *Chem. Pharm. Bull.* 53(7): 850-852.
- Sunit, S., Narisara, S., Piniti, R., Nantana, A and Apichart, S., 2002. *Xanthenes from the Green Fruit Hulls of Garcinia mangostana*. *Journal of Natural Product*. 65: 761-763.
- Sunit, S., Orapin Komutiban, A., Piniti R., Nitirat C., Nattapat L. and Apichart, S. 2006. *Cytotoxic Prenylated Xanthenes from the Young Fruit of Garcinia mangostana*. *Chem. Pharm. Bull.* 54(3): 301-305.
- Takashi. Miyake and Takayumi Shibamoto., 1997. *Antioxidant activities of natural compound found in plants*. *J. Agric. Food. Chem.* 45.1819-1822.
- Touchstone, J.C. ,Dobbins, M.F. 1983. *Practice of thin layer chromatography*. Canada: John Wiley & Sons, 2-12.
- Vatcharin R., Somsak S., Pueksa K. and Souwalak, P. 2005. *Friedolanostanes and Lanostanes from the Leaves of Garcinia hombroniana*. *Journal of Natural Product*. 68: 1222-1225.
- Veirhejj, E. W. M., Coronel, R. E., 1992. *PROSEA ( Plant Resources Of South East Asia) No. 2: Edible Fruits and Nuts*, Bogor. 175-179.
- Waksmundzka-Hajnos, Sherma, M., J. and Kowalska, T. 2008. Overview of the field of TLC in phytochemistry and the structure of the book. *Dalam*: Waksmundzka-Hajnos, M., J. Sherma & T. Kowalska (eds). (2008). *Thin layer chromatography in phytochemistry*. Boca Raton: CRC, 1-6.
- Weng J., Chun-Nan Lin, Lo-Ti Tsao, and Jih-Pyang Wang. 2003. *Novel and Anti-Inflammatory Constituents of Garcinia subelliptica*. *Chemistry Europe Journal*. 9: 1958-1963.

- Windono, T., 2001, *Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1, 1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (vitis vinifera) Probolinggo biru dan Bali*, Artikel Hasil Penelitian, *Artocarpus*, Vol I no.1: Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya hal 34–43
- Xu, Y. J. 2001. *Xanthones from Garcinia parvifolia*. *Journal of Natural Products*. 64:1191-1195.
- Xu, Y. J., Yip, S. C., Kosela, S., Fitri, E., Hana. M., Goh, S. H and Sim, K. Y. 2000. *Novel Cytotoxic, Polyprenylated Heptacyclic Xanthonoids from Indonesian Garcinia gaudichaudii (Guttiferae)*. *Organic Letters*. Vol. 2. No. 24:3945-3948.

Lampiran 1. Hasil Determinasi *Garcinia benthami* Pierre

**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
( Indonesian Institute of Sciences )  
PUSAT KONSERVASI TUMBUHAN - KEBUN RAYA BOGOR  
( Center for Plant Conservation - Bogor Botanical Gardens )**

Jalan Ir. H. Juanda No. 13, P.O. Box 309 Bogor 16003, Indonesia  
Telepon (0251) 322187, 321657, 322220, 311362, 352519, Fax. 62 (251) 322187, 313985  
e-mail : kriblipi@bogor.wasantara.net.id ; inetpc@indo.net.id

Nomor : 1325/PH.3.02/KSNVI/2010

Bogor, 9 Juni 2010

Lamp. : -

Perihal : Identifikasi tanaman

Kepada Yth.  
Sdri. Puteri Amelia  
NPM. 0906576971  
Departemen Farmasi  
FMIPA-UI  
Jakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan bahwa material tumbuhan berupa daun segar yang Saudari pesan dari Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor adalah dari jenis *Garcinia benthami* Pierre suku Clusiaceae.

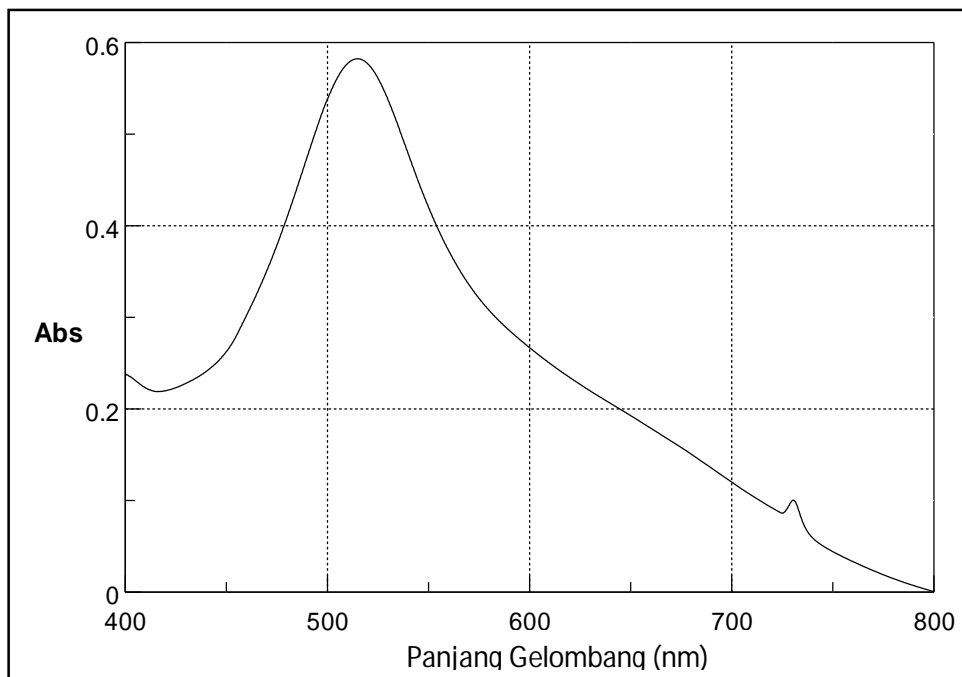
Demikian keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



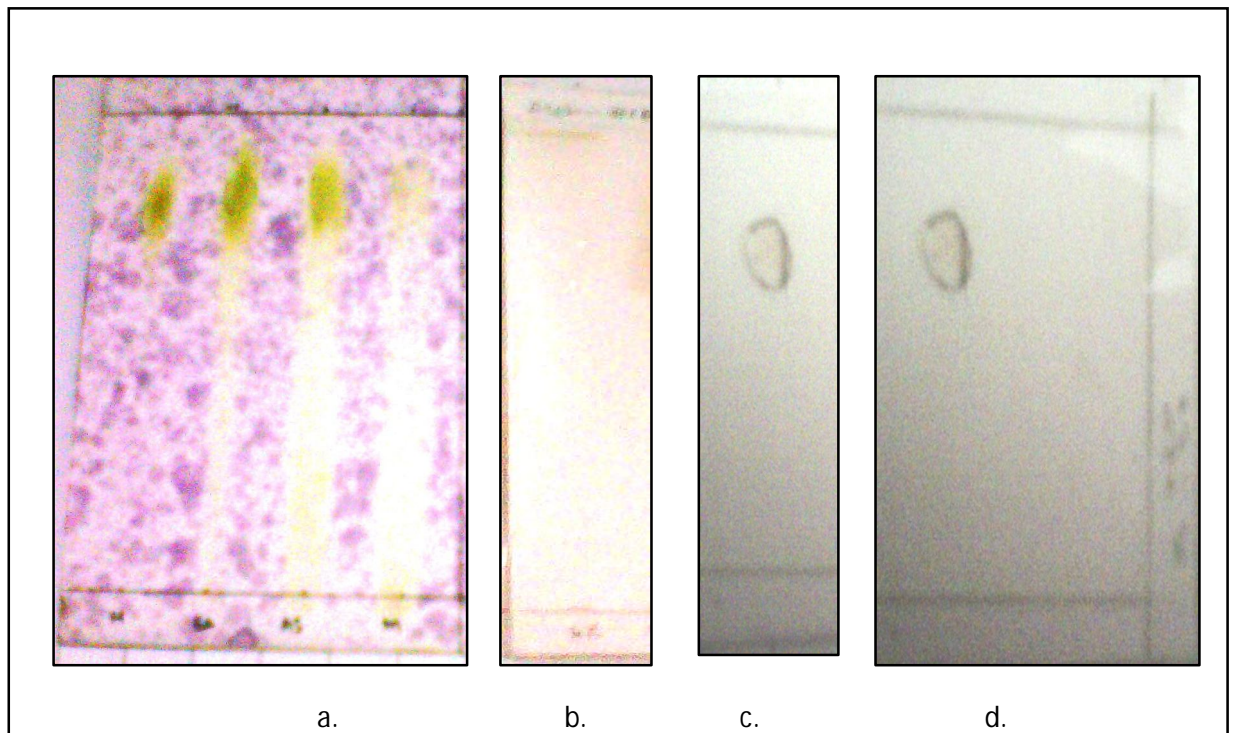
PH. KEPALA BIDANG KONSERVASI EX SITU  
PKT KEBUN RAYA BOGOR LIPI

*Dr. Siti Rosita Ariati*  
Dr. Siti Rosita Ariati  
NIP. 1967111219993032002



Lampiran 2. Spektrum Serapan Larutan DPPH 20  $\mu\text{g/mL}$  Dalam Metanol

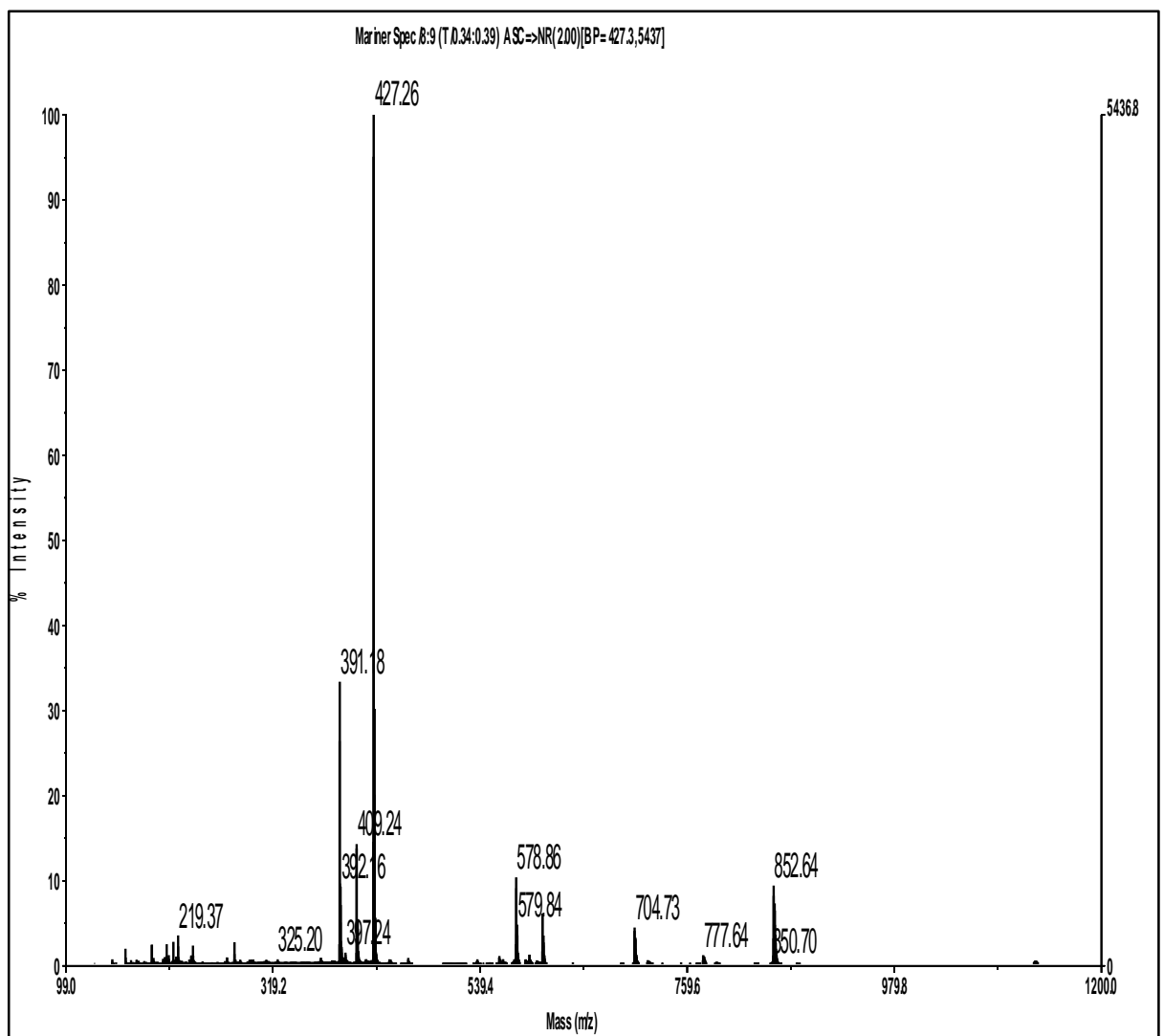
## Lampiran 3. Profil KLT



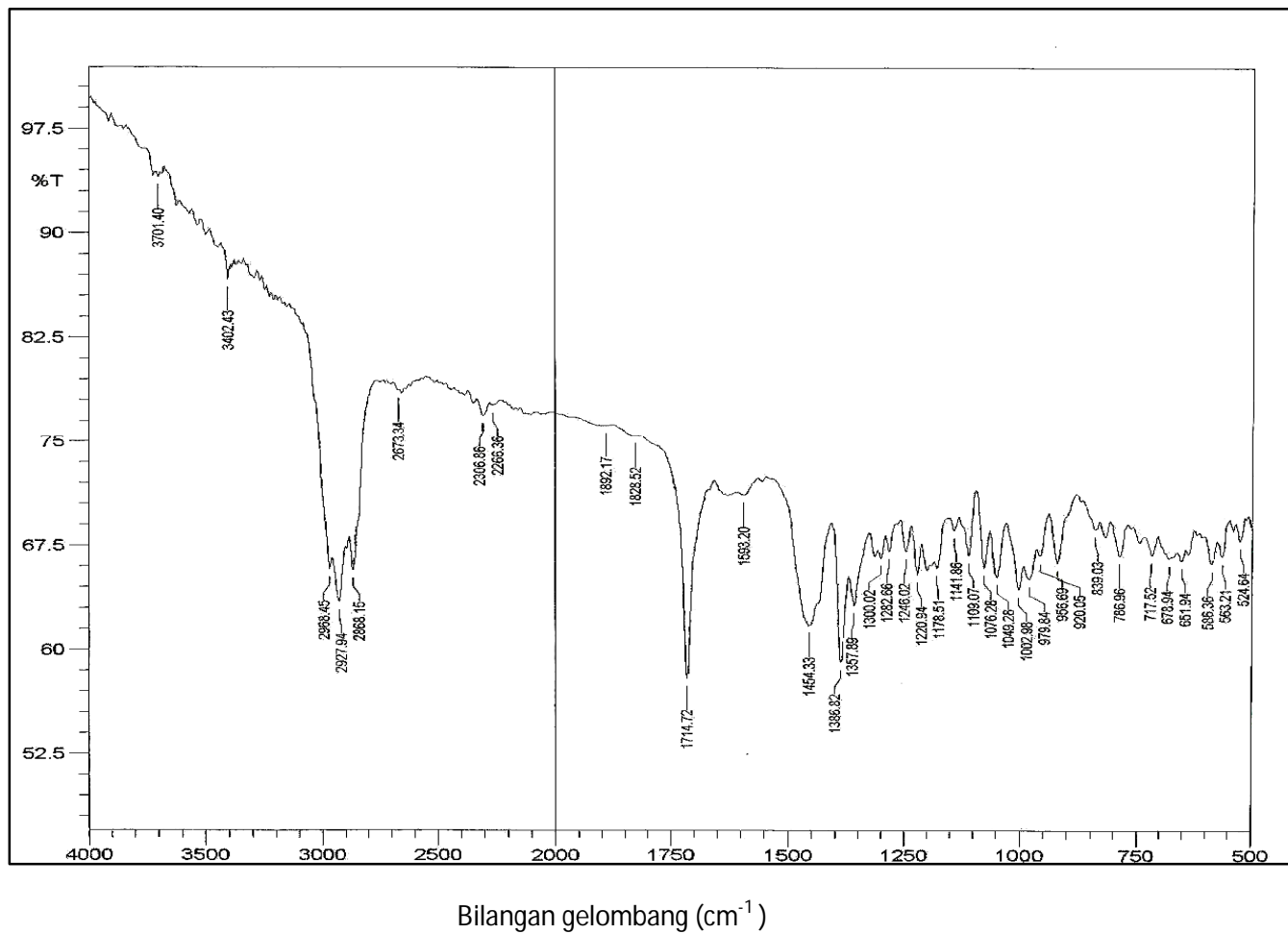
## Keterangan :

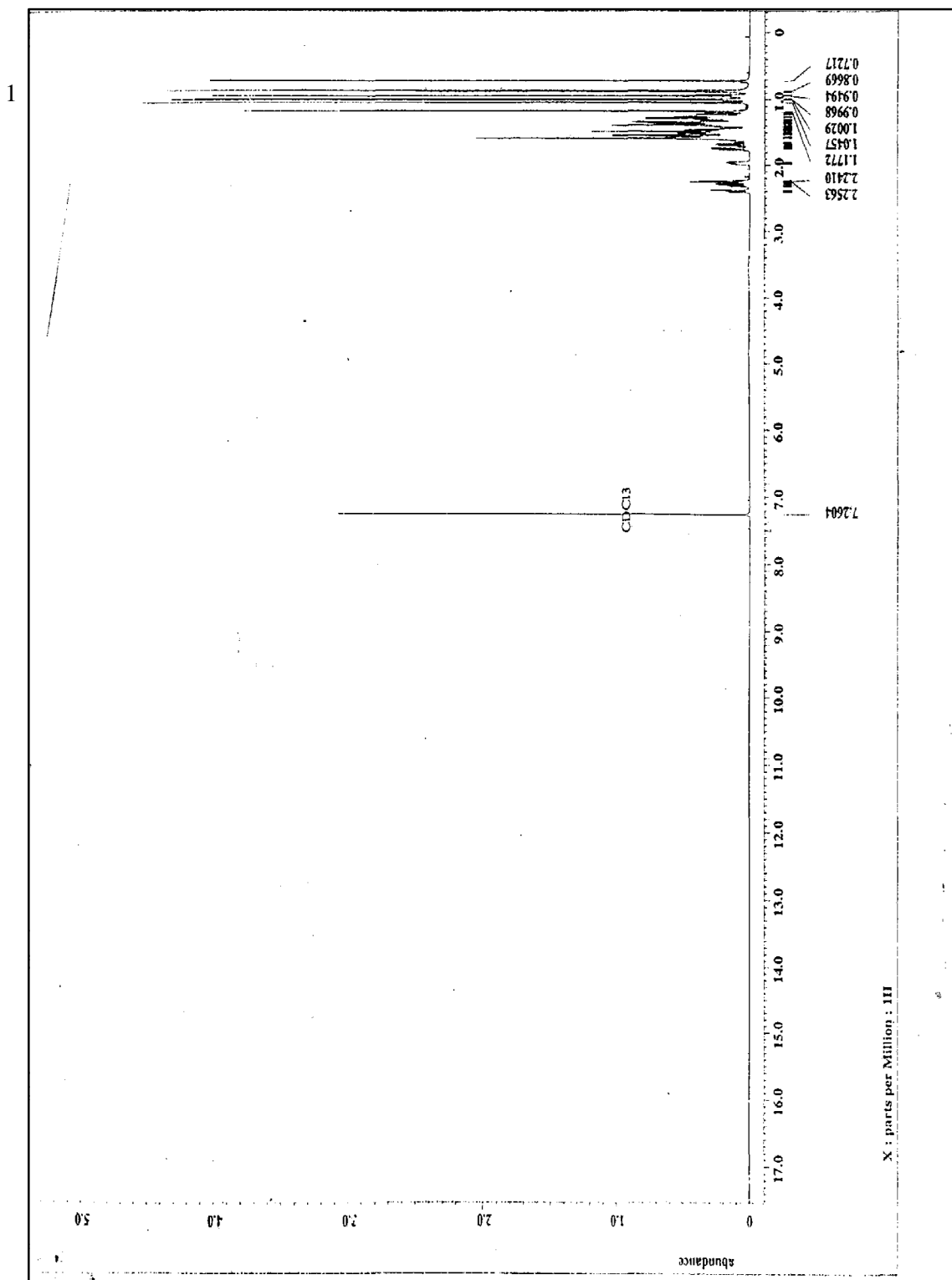
- a. Profil KLT ekstrak *n*-heksan, etil asetat, aseton dan metanol dengan menggunakan penyemprot DPPH, eluen *n*-heksan : etil asetat (8:2).
- b. Profil KLT Senyawa GBP-1 dilihat dibawah Lampu UV 254 nm; eluen *n*-heksan : etil asetat (9:1);  $R_f = 0,9$
- c. Profil KLT Senyawa GBP-2 dilihat dibawah lampu UV 254 nm; eluen etil asetat : metanol (4:6);  $R_f = 0,7$
- d. Profil KLT dua arah Senyawa GBP-2 menggunakan eluen *n*-heksan:etil asetat:metanol (1:2:3) dan etil asetat:metanol (4:6).

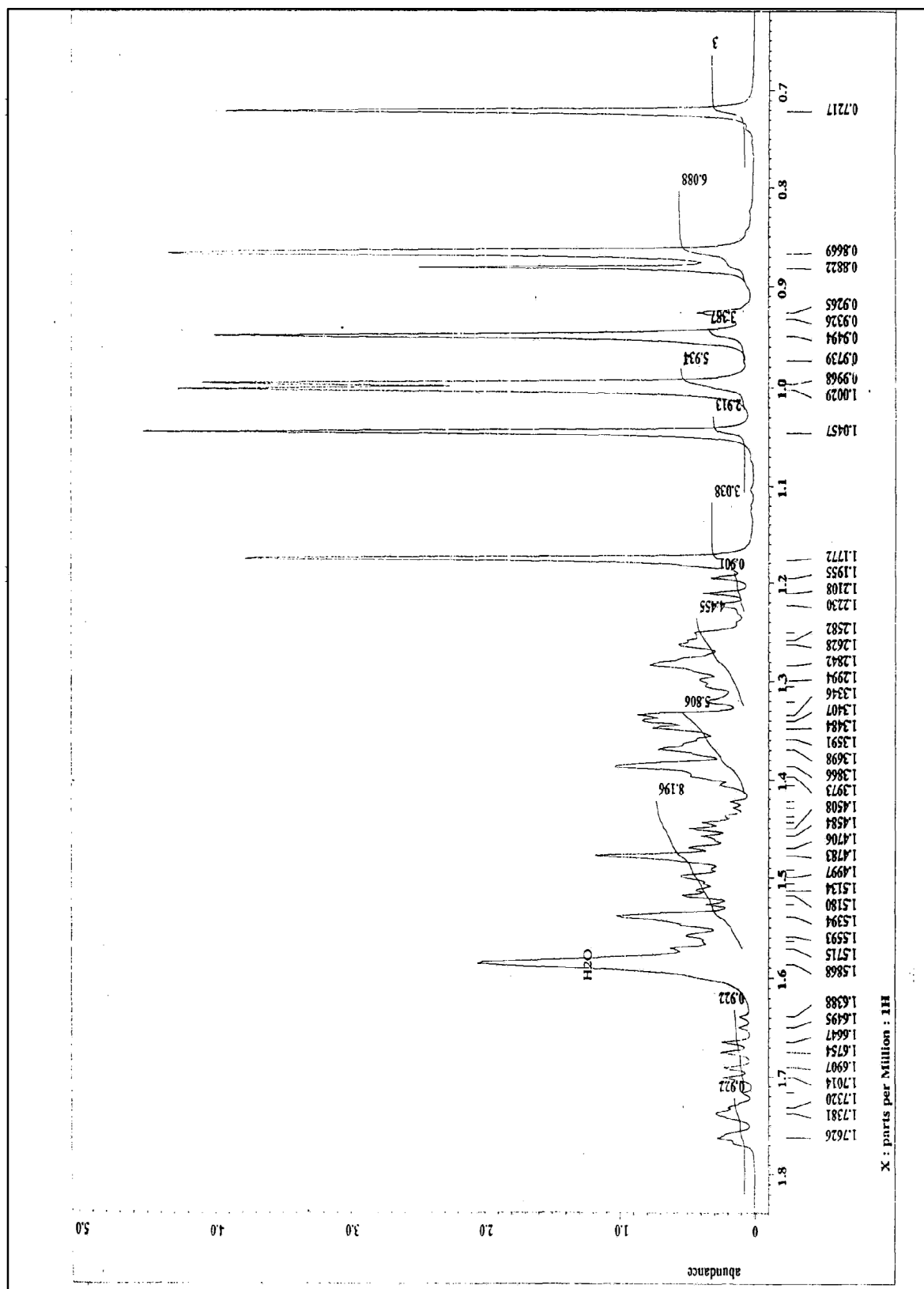
## Lampiran 4. Spektrum LC-MS Senyawa GBP-1

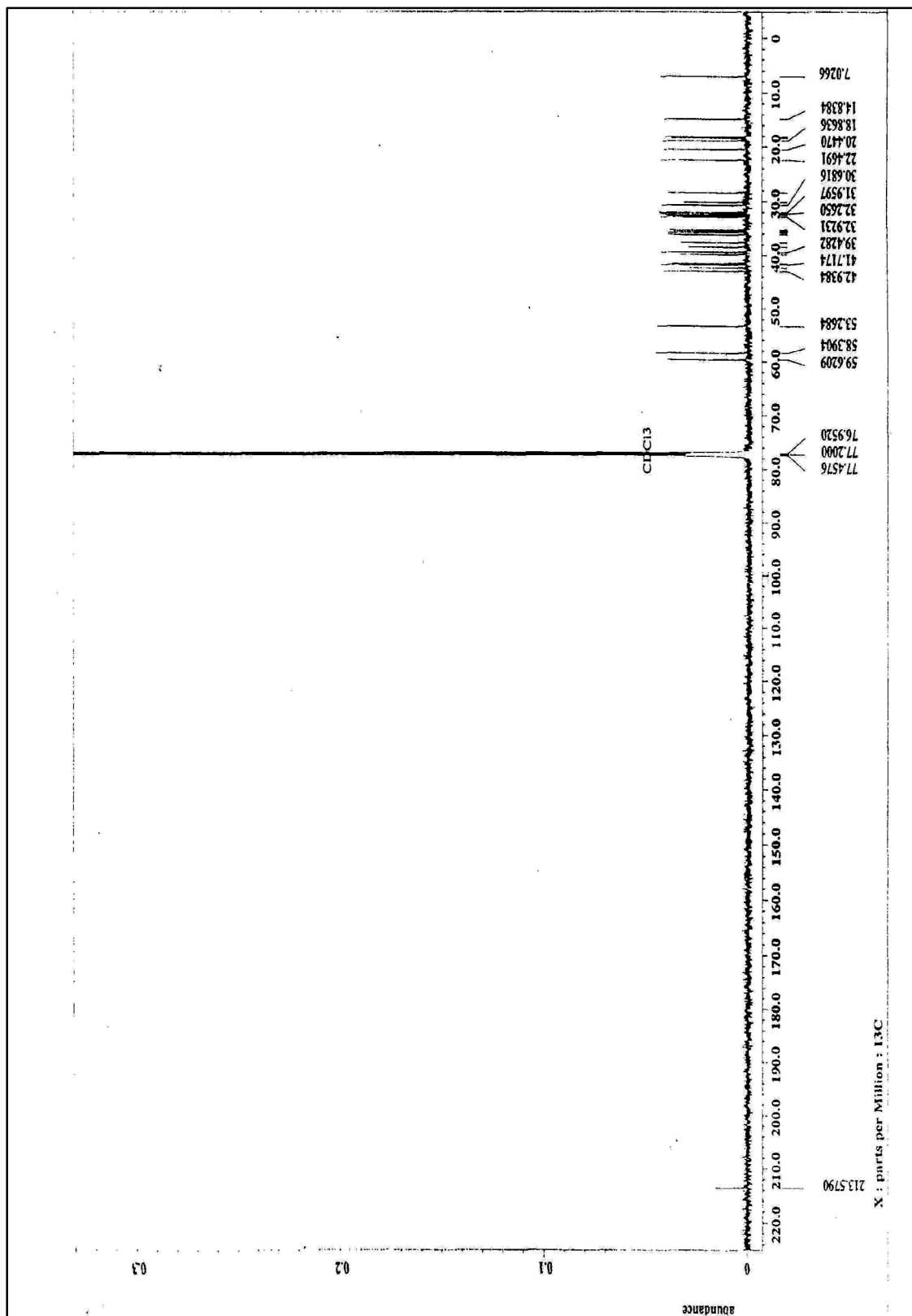


## Lampiran 5. Spektrum IR Senyawa GBP-1

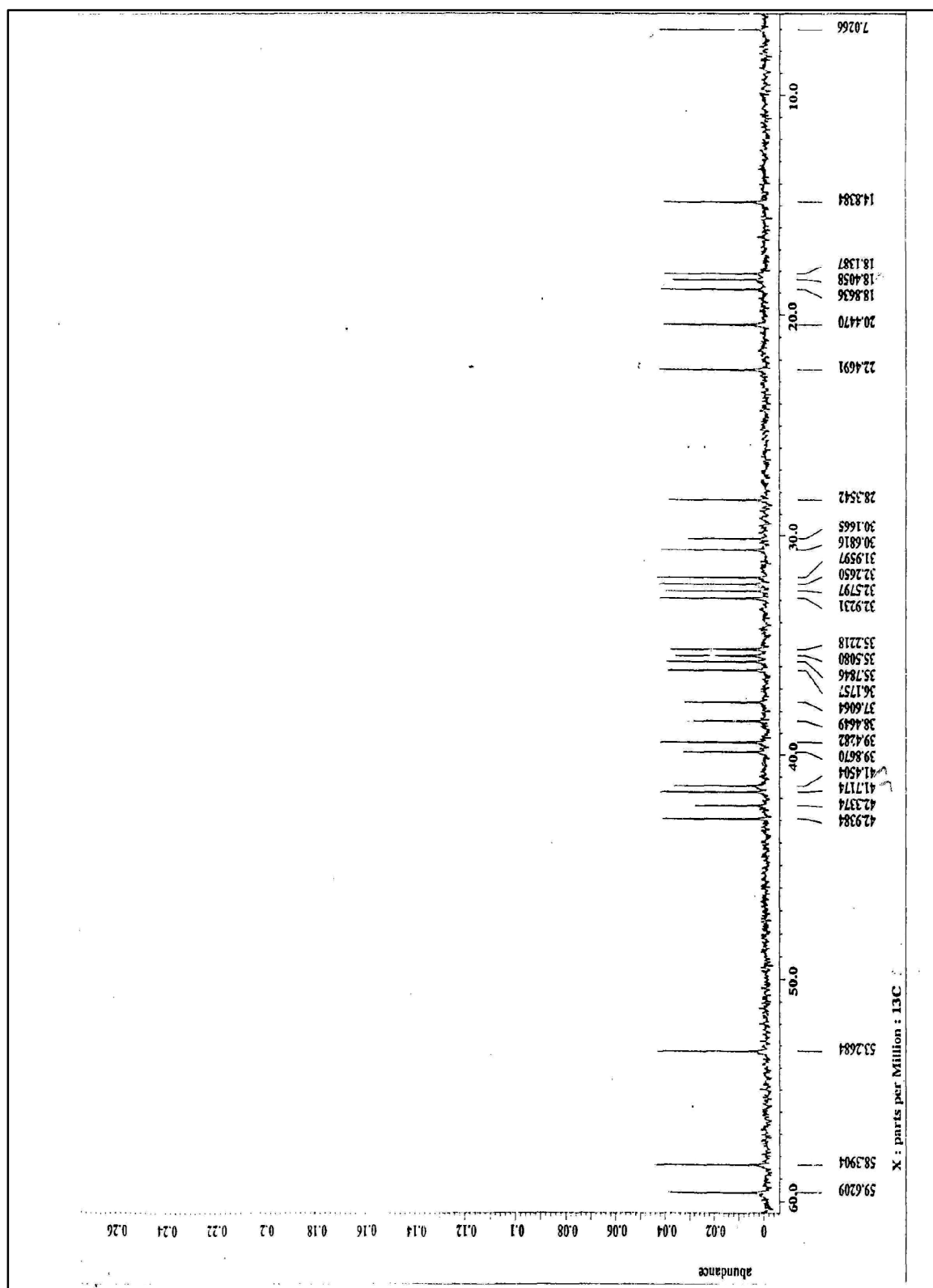


Lampiran 6. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa GBP-1 (0-15ppm)

Lampiran 7. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa GBP-1 (0,7-1,8 ppm)

Lampiran 8. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa GBP-1

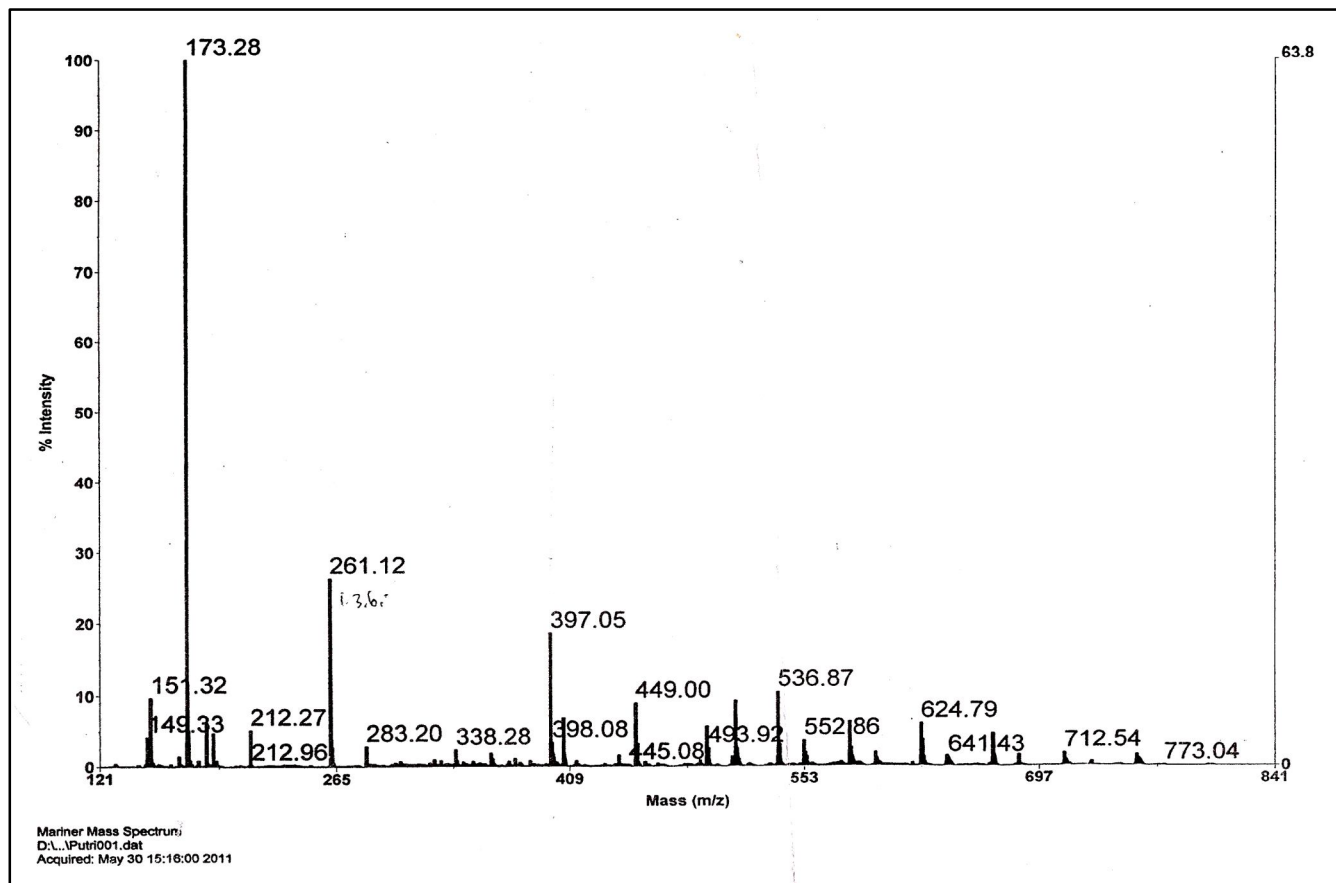
Universitas Indonesia

Lampiran 9. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa GBP-1 (7-59 ppm)

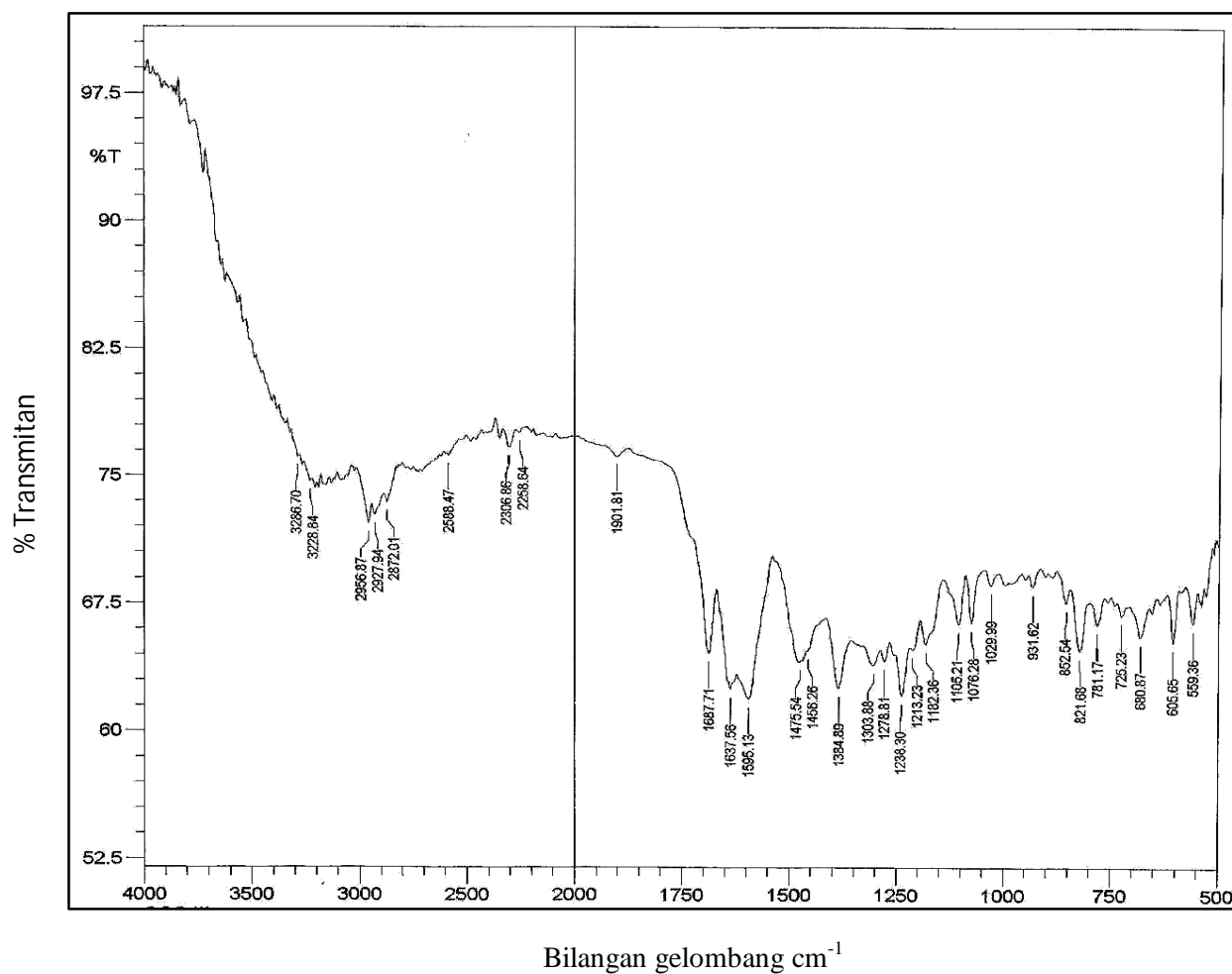
Universitas Indonesia



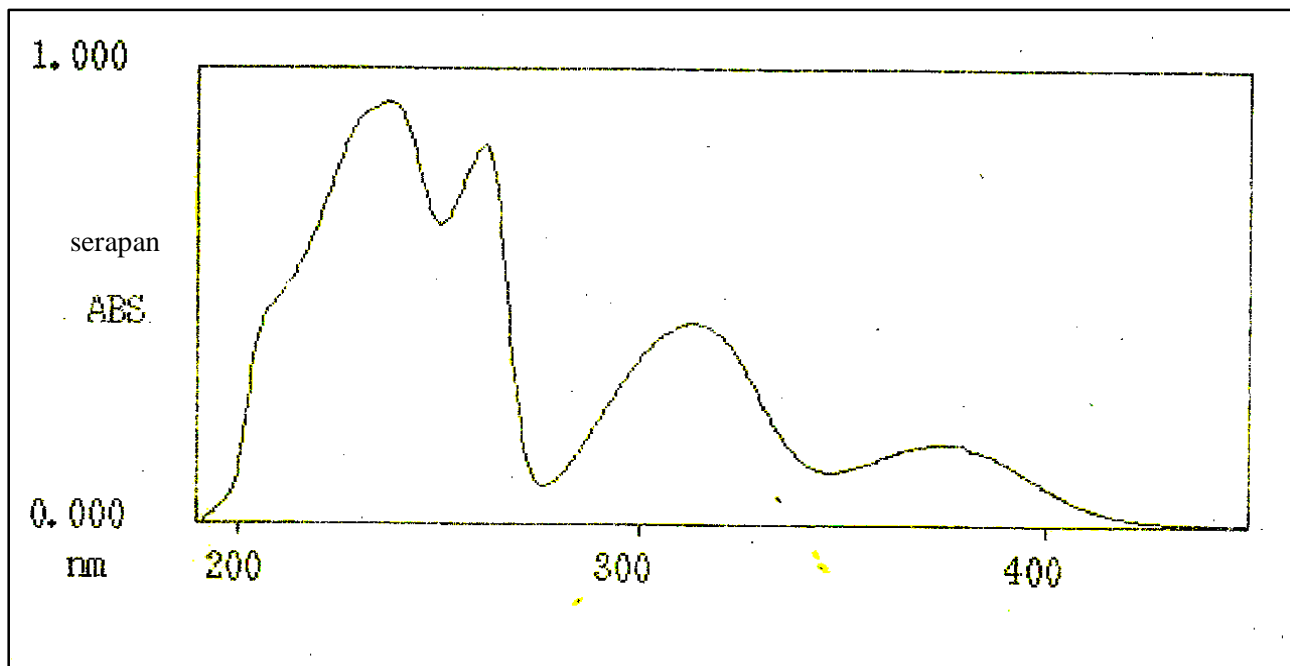
## Lampiran 10. Spektrum LC-MS Senyawa GBP-2



## Lampiran 11. Spektrum IR Senyawa GBP-2

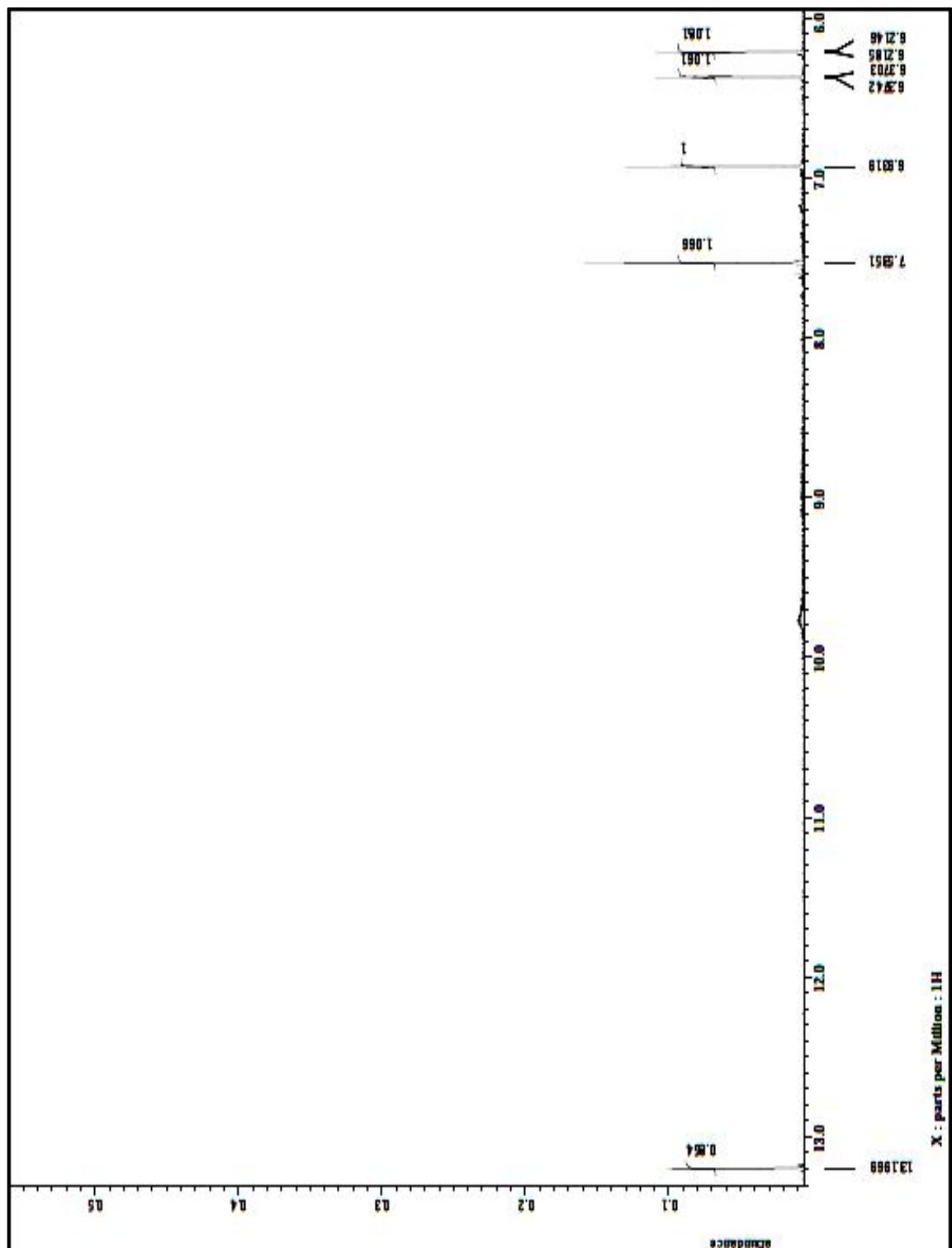


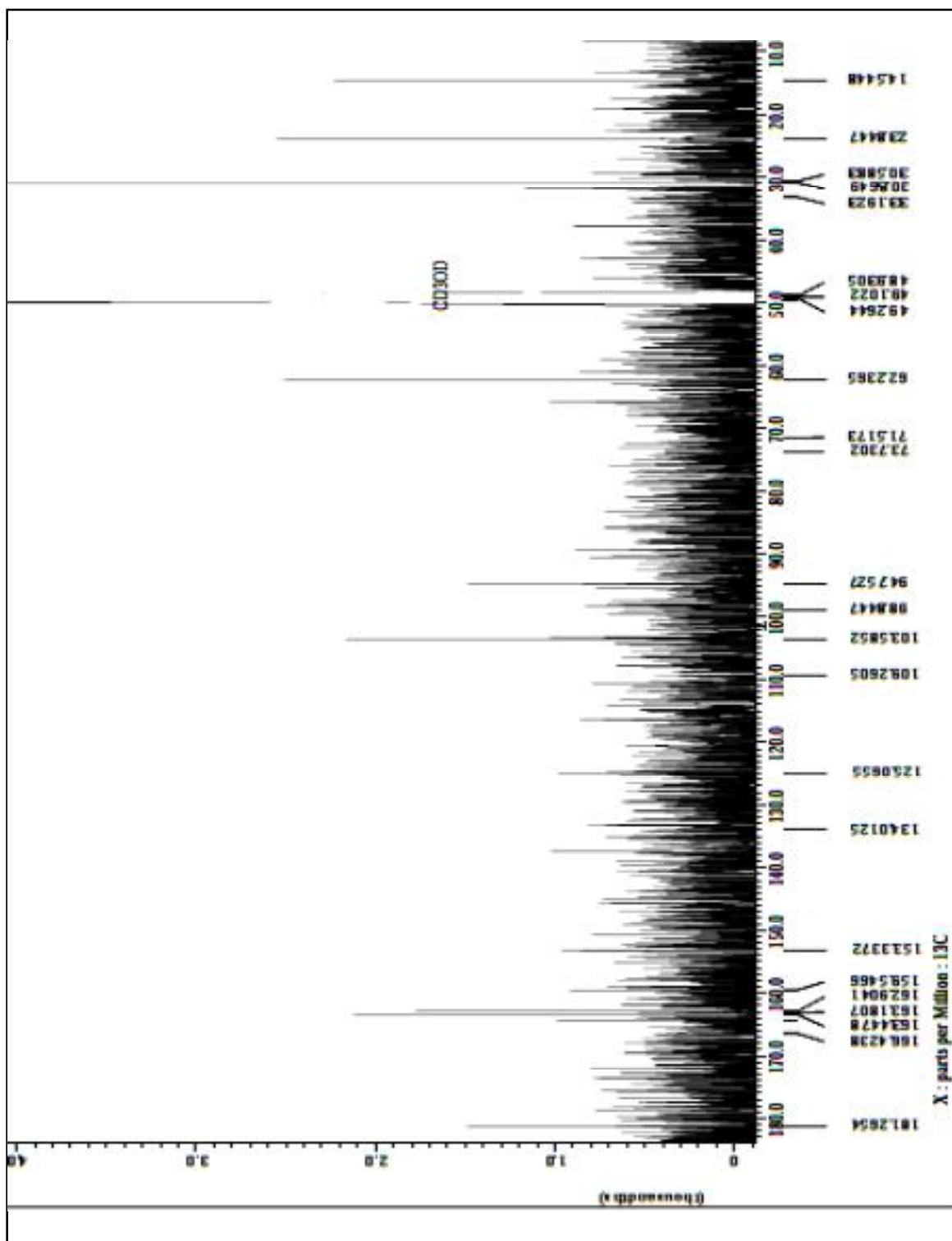
## Lampiran 12. Spektrum UV Senyawa GBP-2

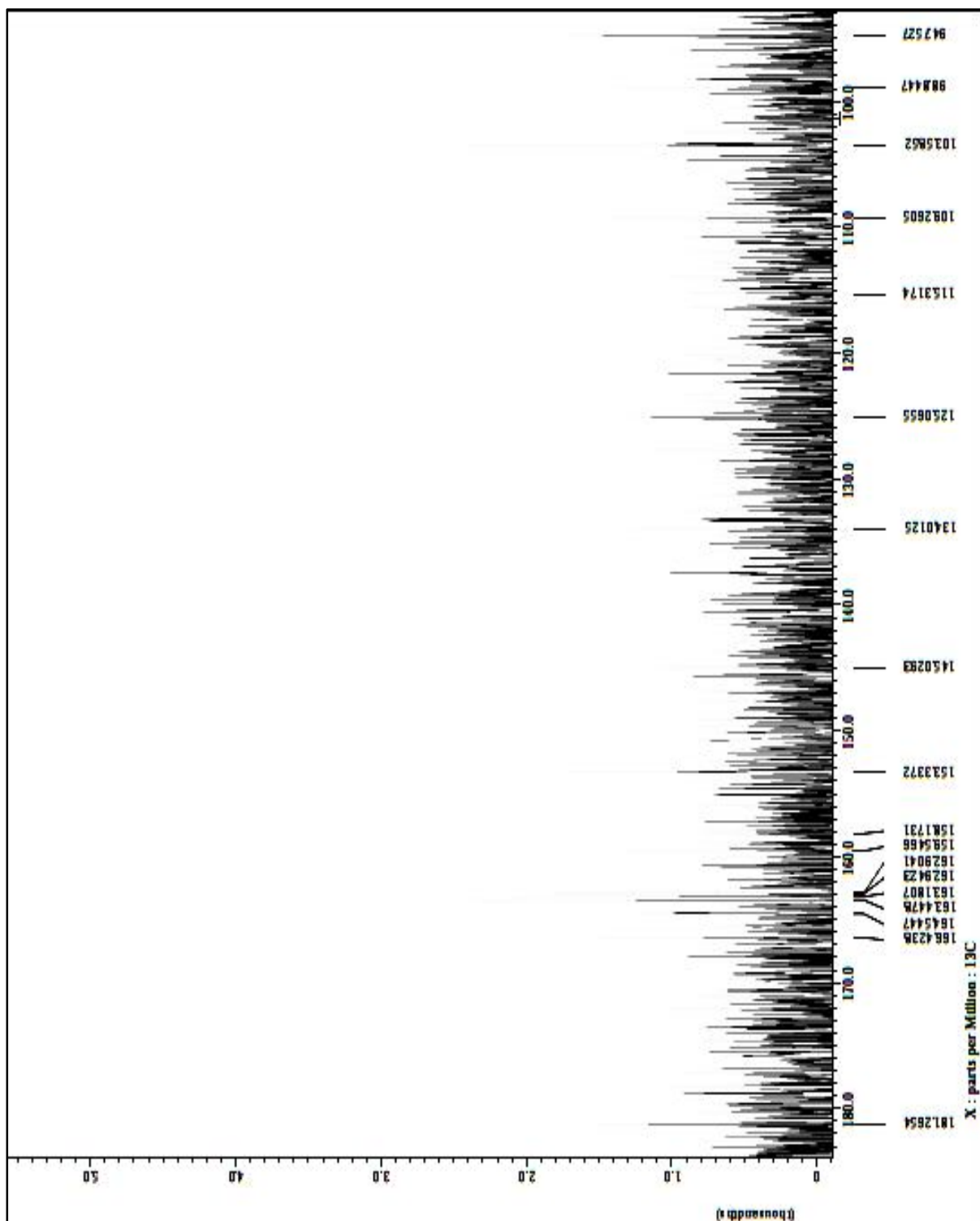


Panjang gelombang (nm)

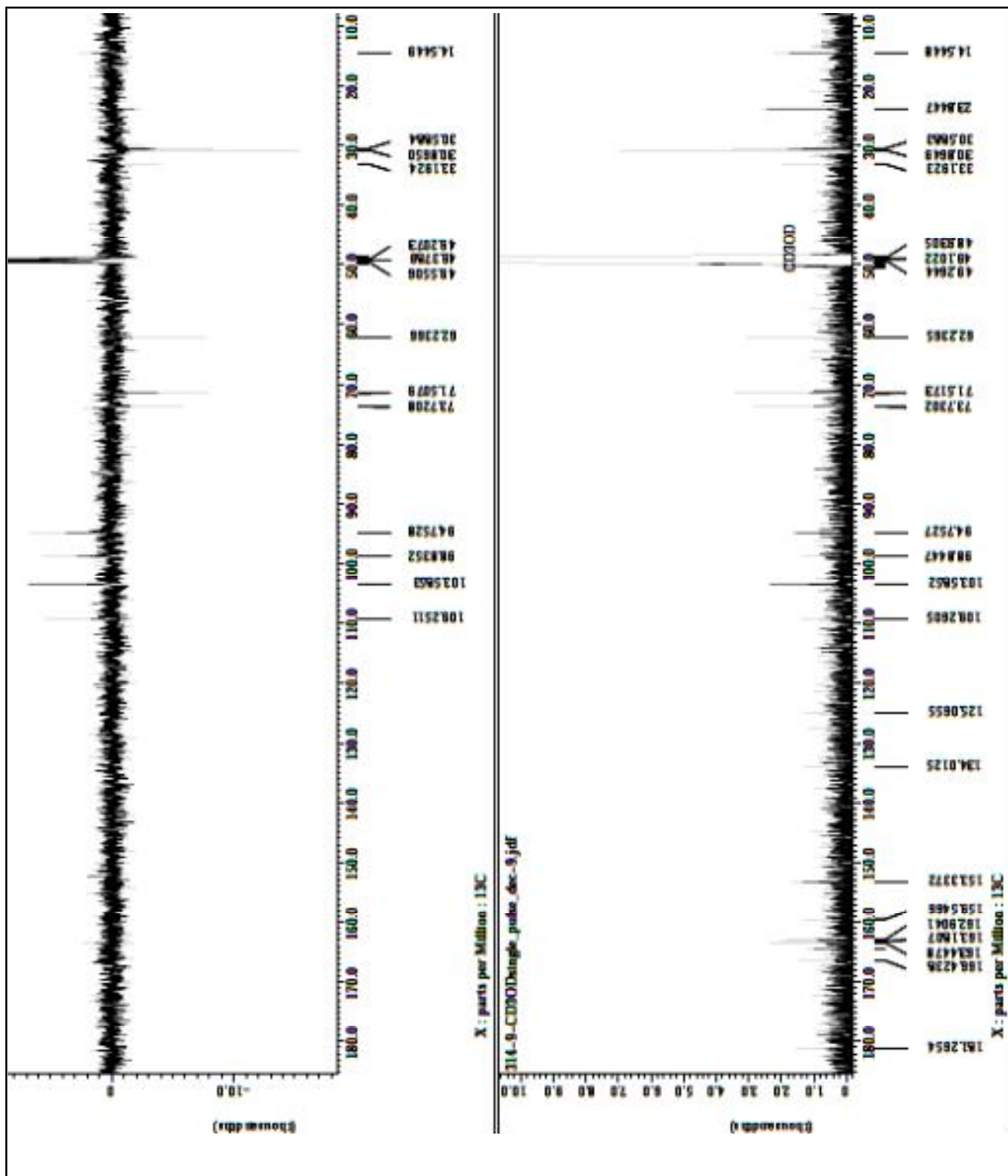


Lampiran 14. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa GBP-2 (6-13 ppm)

Lampiran 15. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa GBP-2 (10 – 180 ppm)

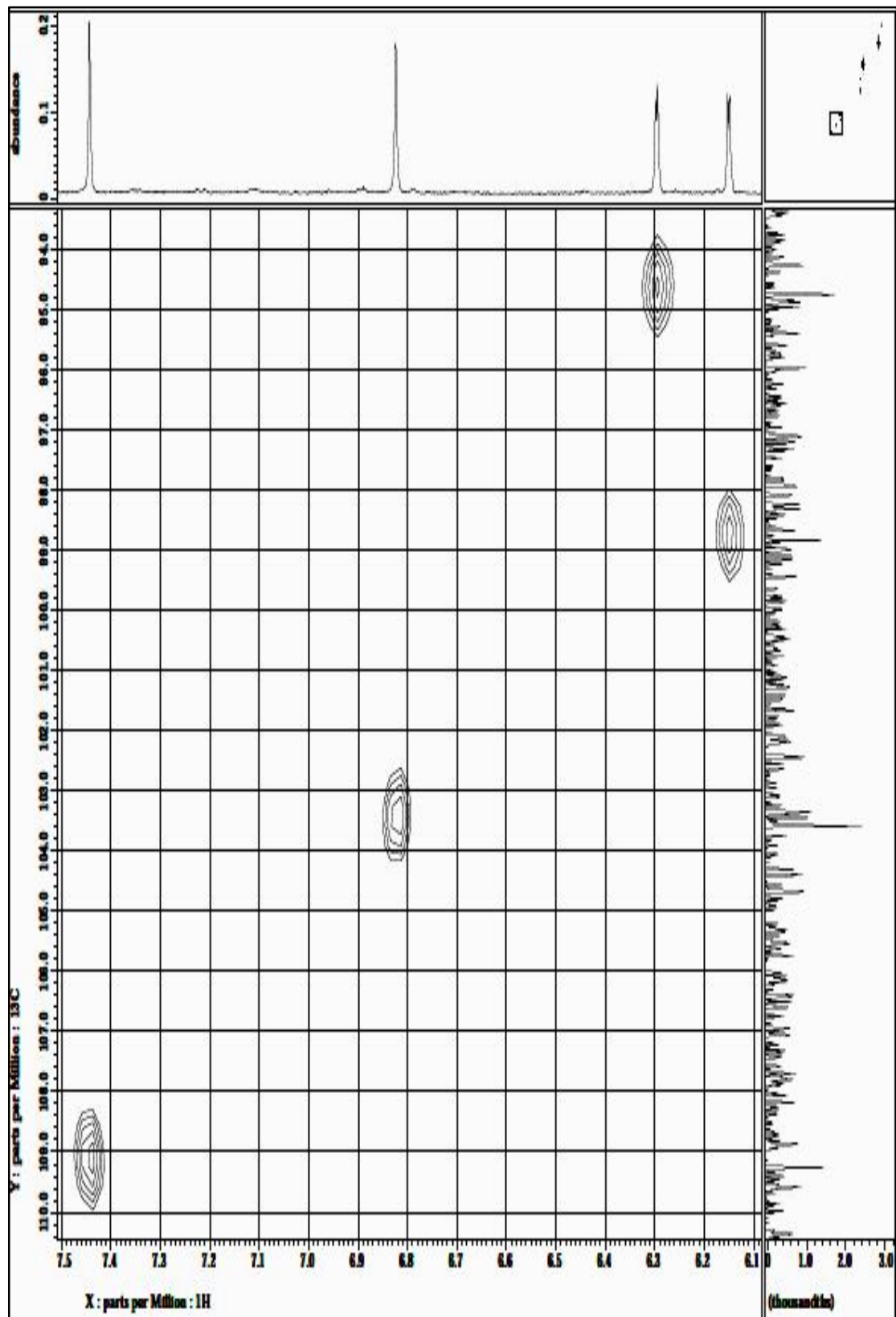
Lampiran 16. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa GBP-2 (94- 182 ppm)

Lampiran 17. Spektrum DEPT Senyawa GBP-2





Lampiran 18. Spektrum HMQC Senyawa GBP-2



Lampiran 19. Spektrum HMBC Senyawa GBP-2

