



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
KARAKTERISASI SENYAWA DARI EKSTRAK
DAUN *Garcinia hombroniana* Pierre**

SKRIPSI

**ANJU HASIROLAN DP
0706264450**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JANUARI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
KARAKTERISASI SENYAWA DARI EKSTRAK
DAUN *Garcinia hombroniana* Pierre**

SKRIPSI

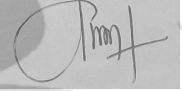
Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**ANJU HASIROLAN DP
0706264450**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JANUARI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Anju Hasiholan DP
NPM : 0706264450
Tanda Tangan : 
Tanggal : 10 Januari 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Anju Hasiholan DP
NPM : 0706264450
Program Studi : Farmasi S1 Reguler
Judul Skripsi : Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Senyawa dari Ekstrak Daun *Garcinia humbroniana* Pierre

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

Pembimbing I : Dr. Berna Etya, M. Si., Apt (.....)

Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im, MS., Apt (.....)

Penguji I : Prof. Atiek Soemati, M.S., Apt (.....)

Penguji II : Dr. Katrin, M.S., Apt (.....)

Penguji III : Dra. Maryati Kurniadi, M.Si., Apt (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Januari 2012

KATA PENGANTAR/ UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yesus Kristus, karena atas Kasih dan AnugerahNya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Berna Elya, M. Si. dan Dr. Abdul Mun'im, MS, selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini;
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M. Si, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
3. Dr Silvia Surini selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan selama selama penulis menempuh pendidikan di Farmasi UI;
4. Dr. Katrin, M.Si. selaku kepala Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi FMIPA UI;
5. Bapak Hayun, M. Si selaku kepala Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Departemen Farmasi FMIPA UI;
6. Bapak Kus selaku kepala Laboratorium Narkoba BNN yang telah memberikan bantuan penggunaan alat di Laboratorium Narkoba BNN;
7. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Pusat Penelitian Kimia atas penggunaan alat analisis $^1\text{HNMR}$.
8. Para dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
9. Kak Putri Amelia M. Si., Kak Aktsar Roskiana Ahmad, S. Far., Apt. dan Kak Ruth Elenora, SSi., Apt. yang telah memberikan bimbingan serta bantuan selama penulis menyelesaikan penelitian;

10. Kepada Arif Arrahman S. Far. yang telah berbaik hati dalam memberikan ilmunya terutama mengenai elusidasi struktur;
11. Laboran Laboratorium Fitokimia dan Kimia Farmasi Kuantitatif Mbak Ulfa dan Bapak Rustam yang telah membantu saya selama menempuh penelitian;
12. Papa dan Mama, Iriando Pasaribu dan Rosdiana Harianja serta adik saya Oshin Theresia, Indah Yani dan Nico Dharma yang telah memberikan dukungan doa, materi dan moral;
13. Teman-teman di Laboratorium Fitokimia khususnya kepada Miss Putu Indah serta teman-teman penelitian Fitokimia yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini;
14. Semua pihak yang turut membantu dan memberikan dukungan selama saya melakukan penelitian dan penyusunan skripsi.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Pengasih berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu bahan alam di Indonesia.

Penulis

2012

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

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

Nama : Anju Hasiholan DP
NPM : 0706264450
Program Studi : Sarjana S1 Reguler
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

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

Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Senyawa dari Ekstrak Daun *Garcinia hombroniana* Pierre.

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, 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 : 10 Januari 2012
Yang menyatakan



(Anju Hasiholan DP)

ABSTRAK

Nama : Anju Hasiholan DP
Program Studi : Farmasi
Judul : Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi
Senyawa dari Ekstrak Daun *Garcinia hombroniana* Pierre

Garcinia hombroniana Pierre salah satu tanaman yang termasuk ke dalam suku Clusiaceae. Berbagai kandungan kimia dari berbagai spesies *Garcinia* telah dilaporkan, diantaranya senyawa golongan xanton, kumarin, flavonoida dan terpenoid. Berdasarkan penelusuran literatur masih sedikit informasi dan penelitian mengenai tanaman *Garcinia hombroniana* Pierre, sehingga perlu dilakukan penelitian terutama mengenai aktivitas antioksidan. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan identifikasi golongan senyawa, isolasi, uji aktivitas antioksidan ekstrak dan senyawa murni serta melakukan karakterisasi senyawa murni. Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dan bagian tanaman yang digunakan adalah bagian daun. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Isolasi dilakukan dengan teknik kromatografi dipercepat serta karakterisasi senyawa murni dilakukan dengan metode spektroskopi inframerah (IR) dan resonansi magnet inti proton ($^1\text{H-NMR}$). Hasil identifikasi golongan senyawa diketahui ekstrak metanol daun *Garcinia hombroniana* Pierre mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, antraquinon, dan saponin; ekstrak etil asetat mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin; ekstrak n-heksan mengandung golongan senyawa terpenoid dan saponin Uji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak metanol, etil asetat, dan n- heksan berturut-turut mempunyai nilai IC_{50} sebesar 7,9 $\mu\text{g/mL}$, 43,7 $\mu\text{g/mL}$, dan 112,2 $\mu\text{g/mL}$. Senyawa murni GH berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat pada fraksi 95:5 dan 90:10 (n-heksan:etil asetat) dan memiliki rumus molekul $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$, diperkirakan sebagai Friedelin, namun senyawa tersebut tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 248 $\mu\text{g/mL}$.

Kata Kunci : *Garcinia hombroniana* Pierre, Xanton, Antioksidan, DPPH.
xiv + 71 halaman : 8 gambar, 6 tabel, 2 rumus, 7 lampiran.
Tinjauan Pustaka : 65 (1978-2011)

ABSTRACT

Name : Anju Hasiholan DP
Program Study : Pharmacy
Title : Isolation, Antioxidant Activity Test and Characterization Compound from *Garcinia hombroniana* Pierre Leaves Extracts.

Garcinia hombroniana Pierre belong to Clusiaceae family. Chemical contain from some species of *Garcinia* have reported as xanthones, terpenoids, coumarins and flavonoids. However the search of the literature was still a little information about *Garcinia hombroniana* Pierre, especially information about antioxidant activity. This research was intended to identified groups compounds, isolate, characterization compound and measure antioxidant activity from *Garcinia hombroniana* Pierre leaves extracts. Antioxidant activity of extracts leaves of *Garcinia hombroniana* Pierre performed measuring by the reduction of stable radical DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil). The isolation was conducted through the pressure chromatography technique and characterization compound by spectroscopy infra red (IR) and proton magnetic resonance spectrometry (¹H-NMR). Identification groups compounds known methanol extracts *Garcinia hombroniana* Pierre containing alkaloids, flavonoids, terpenoids, tannins, antraquinone, and saponin; ethyl acetate extract containing alkaloids, flavonoids, terpenoids and saponin; n-hexane extract containing terpenoids and saponin. The results showed that extracts of methanol, ethyl acetate, and n hexane in succession have radical scavengers activity with IC₅₀ value 7,9 µg/mL, 43,7 µg/mL and 112,2 µg/mL. GH compound have been found from the ethyl acetate extract fraction of 95:5 and 90:10 (n-hexane: ethyl acetate). Based on spectroscopy data GH compound have been found which has molecular formula C₃₀H₅₀O, known as Friedelin. The result of antioxidant, GH compound did not show antioxidant activity with IC₅₀ value 248 µg/mL.

Key words : *Garcinia hombroniana* Pierre, Xanton, Antioxidant, DPPH.
xiv + 71 pages : 8 figures, 6 tables, 2 formulas, 7 appendixes
Bibliography : 65 (1978-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR RUMUS	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Genus <i>Garcinia</i>	4
2.2. <i>Garcinia hombroniana</i> Pierre.....	5
2.3. Kandungan Kimia Genus <i>Garcinia</i>	7
2.4. Ekstraksi dan Fraksinasi	14
2.5. Penapisan Fitokimia	20
2.6. Radikal Bebas.....	22
2.7. Antioksidan.....	24
2.8. Metode Pengujian Antioksidan secara <i>in vitro</i>	29
2.9. Karakterisasi Senyawa	32
BAB 3. METODE PENELITIAN	34

3.1. Waktu dan Tempat	34
3.2. Alat	34
3.3. Bahan	34
3.4. Cara Kerja.....	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1. Penyiapan Bahan	44
4.2. Ekstraksi	44
4.3. Penapisan Fitokimia.....	45
4.4. Uji Aktivitas Antioksidan.....	46
4.5. Isolasi dan Pemurnian Senyawa	49
4.6. Penentuan Struktur Senyawa Murni	50
4.7. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Murni	54
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	56
5.1. Kesimpulan	56
5.2. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	55

DAFTAR TABEL

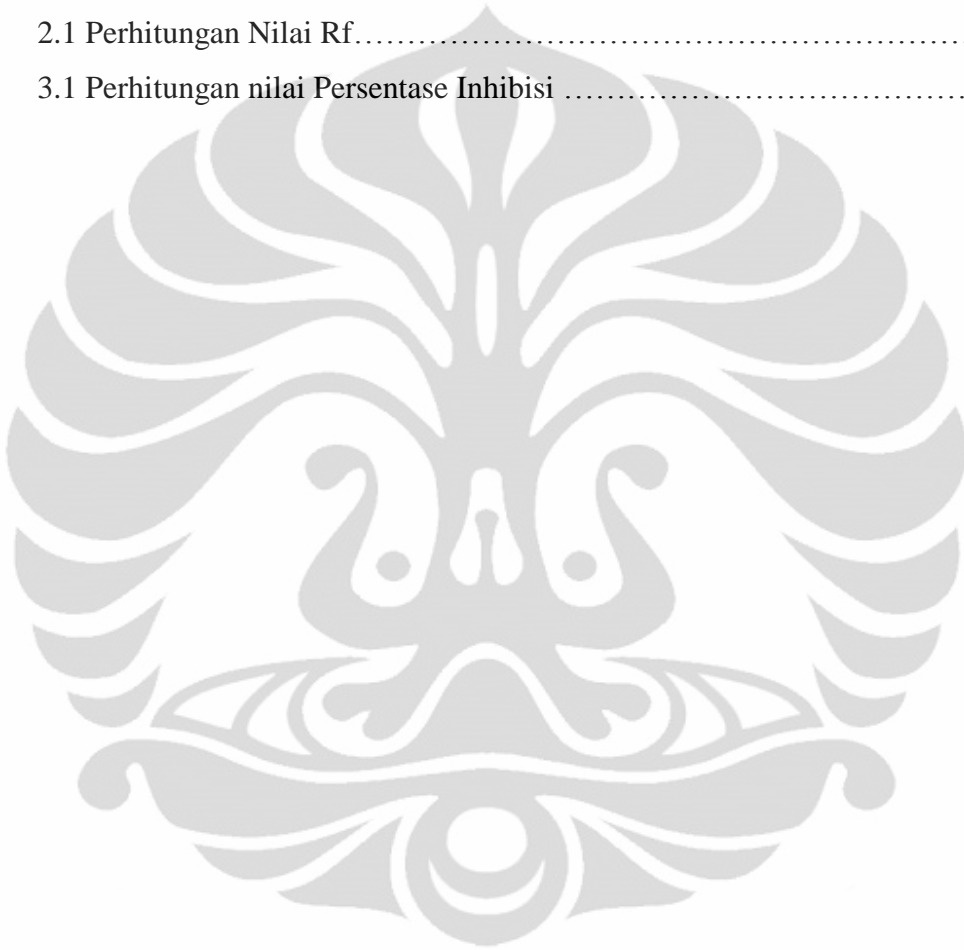
Tabel	Halaman
4.1 Data Rendemen Ekstrak daun <i>Garcinia hombroniana</i> Pierre	45
4.2 Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak daun <i>Garcinia hombroniana</i> Pierre	45
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>Garcinia hombroniana</i> Pierre	47
4.4 Data pergeseran kimia proton senyawa GH diukur pada 500 MHz dengan pelarut CDCl ₃	51
4.5 Data Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Murni	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Garcinia hombroniana</i> Pierre	6
2.2 Struktur Xanton	7
2.3 Reaksi Rantai Autooksidasi	25
2.4 Mekanisme Penghambatan Antioksidan	26
2.5 Peranan Asam Askorbat sebagai Pemusnah ROS dan RNS	27
4.1 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas	49
4.2 Struktur Kimia senyawa GH dilengkapi dengan nilai pergeseran kimia untuk setiap lingkungan hydrogen	53
4.3 Struktur Senyawa Friedelin	54

DAFTAR RUMUS

Rumus	Halaman
2.1 Perhitungan Nilai Rf.....	19
3.1 Perhitungan nilai Persentase Inhibisi	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Determinasi Tanaman	63
2. Skema Kerja	64
3. Profil KLT	65
4. Spektrum Serapan Larutan DPPH 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dalam Metanol	67
5. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak dan isolat terhadap % IC DPPH	68
6. Spektrum IR Senyawa GH	69
7. Spektrum $^1\text{HNMR}$ Senyawa GH	70

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Secara alamiah, setiap makhluk hidup atau organisme akan sampai pada proses menjadi tua. Proses tua tersebut merupakan proses alamiah terjadi dan tidak dapat dihindari. Proses tua dianggap sebagai siklus hidup yang normal bila datang sesuai waktunya, tapi terkandung terjadinya proses penuaan dini yang terlalu cepat. Kemajuan ilmu pengetahuan serta didukung dengan berbagai penelitian, ilmuwan menemukan banyak sekali faktor penyebab terjadinya proses penuaan secara dini, antara lain disebabkan oleh faktor genetik, gaya hidup, lingkungan, mutasi gen, rusaknya sistem kekebalan tubuh dan radikal bebas (Kosasih, *et al.*, 2006).

Radikal bebas muncul pada setiap proses pembakaran, seperti merokok, memasak, pembakaran bahan bakar pada mesin dan kendaraan bermotor. Ketika sinar ultraviolet menerpa suatu benda terus menerus, elektron atom benda tersebut akan meloncat dari orbitnya, dan terciptalah radikal bebas. Dalam proses oksidasi inilah radikal bebas ikut terproduksi. Pembentukan radikal bebas berdasarkan pada reaksi berantai. Reaksi ini memiliki langkah-langkah yaitu induksi, propagasi dan terminasi. Selama periode induksi, radikal alkil dan peroksil terbentuk. Pada tahap propagasi terbentuk spesies kimia yang sangat reaktif yaitu hidroperoksida (ROOH). Pada tahap selanjutnya yaitu terminasi merupakan tahap dimana penggabungan dari dua radikal bersama-sama untuk membentuk produk yang lebih stabil. Namun radikal bebas dapat muncul sebagai dampak dari kehidupan itu sendiri. Setiap makhluk hidup akan menghasilkan radikal bebas sebagai produk samping dari proses pembentukan energi. Energi dihasilkan dari proses metabolisme dengan mengoksidasi (membakar) zat-zat makanan, seperti karbohidrat, lemak, dan protein (Kosasih, *et al.*, 2006).

Keseluruhan reaksi di atas berperan dalam kereaktifan senyawa radikal yang terbentuk. Senyawa radikal yang terbentuk berperan dalam proses penuaan jaringan dan berpotensi menyebabkan penyakit kronis seperti kanker dan kardiovaskular. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan untuk perlindungan sel dan jaringan tubuh terhadap radikal bebas (Namiki, 1990).

Antioksidan adalah antiradikal yang bertindak dengan menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal (Frankel, 1993). Antioksidan berfungsi menetralkan radikal bebas sehingga dengan adanya antioksidan proses penuaan dini dapat dihambat dan mencegah terjadinya kerusakan tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif (Kosasih, dkk., 2006).

Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun antioksidan alami. Penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dari hasil penelitian diketahui bahwa antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxyl Toluena*) ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik (Takashi dan Takayuni, 1997).

Salah satu tumbuhan tinggi Indonesia yang mempunyai potensi sebagai sumber senyawa kimia bioaktif adalah dari Marga *Garcinia*. Berdasarkan data Herbarium Bogoriense, di Indonesia terdapat sekitar seratus jenis *Garcinia* (Sari, R., 1999). Namun sayangnya banyak sekali jenis *Garcinia* yang tidak mendapatkan perhatian secara khusus karena tidak mempunyai manfaat yang berarti bagi masyarakat. Khususnya untuk jenis *Garcinia hombroniana* Pierre, secara filogenik memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Garcinia mangostana*, dimana telah banyak diteliti oleh para ahli dan terbukti *Garcinia mangostana* memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Masyarakat mengenal *Garcinia hombroniana* Pierre sebagai tumbuhan keluarga manggis yang merupakan tanaman pangan, selain itu telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Dari penelusuran literatur masih sedikit informasi dan penelitian mengenai tanaman *Garcinia hombroniana* Pierre, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut terutama mengenai aktivitas antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Dari hasil penelusuran pustaka diketahui bahwa masih sedikit penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan terhadap kandungan senyawa kimia dari daun *Garcinia hombroniana* Pierre. Dengan latar belakang tersebut mencoba untuk meneliti daun tumbuhan *Garcinia hombroniana* Pierre untuk mendapatkan senyawa antioksidan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui golongan senyawa, mendapatkan isolat yang memiliki aktivitas antioksidan serta melakukan karakterisasi senyawa murni dari ekstrak daun *Garcinia hombroniana* Pierre.

1.4 Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi aktivitas antioksidan dari tanaman *Garcinia hombroniana* Pierre, mengingat informasi mengenai tanaman masih jarang ditemukan.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Marga *Garcinia*

Garcinia merupakan tumbuhan tropis tingkat tinggi dengan tinggi tanaman dapat mencapai 30-35 m. Diameter batang dapat mencapai 100 cm dengan bentuk batang lurus, mengecil ke arah ujung. Bentuk pohon seperti kerucut, memiliki percabangan berselang-seling. Seluruh bagian tanaman mengeluarkan getah putih atau kuning yang kental atau lengket bila dilukai dan sepanjang tahun daun selalu berwarna hijau. Marga ini ada yang berumah satu (*monoecious*) dan ada yang berumah dua (*dieoecious*). Letak bunga berada di ketiak daun. Daun kelopak dan daun mahkota berjumlah 4-5 helai. Bunga betina biasanya berukuran lebih besar daripada jantan, seringkali menyendiri, benang sari semu dengan tangkai-tangkai sarinya yang bersatu menjadi sebuah cincin dibagian pangkal, atau menjadi 4-5 berkas pendek, bakal buah beruang 2-12, biasanya berbentuk papilla. Bunga jantan memiliki benang sari yang jumlahnya bervariasi, dengan tangkai sari bersatu menjadi satu tiang tengah atau membentuk 4-5 berkas. Biji berukuran besar dan pada umumnya terbungkus oleh *arilus* yang berisi sari buah. Embrio berupa masa padat dan tersusun atas hipokotil. Tumbuhan dari m ini memiliki kayu dengan warna yang beragam mulai kuning sampai coklat kemerahan, keras dan umumnya memiliki tekstur bagus, sehingga kayu dari tanaman ini banyak digunakan sebagai bahan bangunan (Sosef, 1998; Veirhejj, 1992).

Garcinia mangostana dikenal dengan nama *Queen of fruit*, selain buahnya dapat dimakan, kulit ari biji dari buah ini digunakan sebagai obat luka dan infeksi, penurun panas dan mengurangi rasa sakit. *G. cambogia* digunakan sebagai suplemen untuk mengurangi berat badan. Getah bagian batang *G. hanburyi* Hook digunakan sebagai pencahar, biji *G. dulcis* Kurz dipercaya sebagai obat gondok dan buah *G. Indica* telah dimanfaatkan sebagai obat cacing dan kardiotonik. Di bidang industri tanaman ini telah dipakai sebagai bahan dasar sabun dan lilin, minyak dari tanaman ini juga dapat digunakan untuk obat urut dan urtikaria (Sosef, 1998).

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap jenis *Garcinia*, diperoleh beberapa senyawa yang memiliki aktivitas biologis dan farmakologis seperti antifungi, sitotoksik, antimikroba, penghambatan xanthin oksidase dan monoamin oksidase, antiinflamasi, serta memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Blasubramanian, 1988).

2.2 *Garcinia hombroniana* Pierre (Janick dan Paul, 2006).

Garcinia hombroniana Pierre atau dikenal dengan nama *Seashore mangosteen* atau dalam Bahasa Indonesia dikenal dengan nama manggis hutan/liar adalah pohon kecil, mencapai ketinggian 15-20 kaki (4,6-6 m) dan hidup pada ketinggian 1.500 kaki (457 m) dpl. *Garcinia hombroniana* Pierre diperbanyak dengan biji, berkecambah dalam 3-4 minggu. *Garcinia hombroniana* Pierre dapat hidup di tanah yang berbatuan, tanah liat, bersifat asam maupun daerah yang dekat dengan daerah pantai. Tumbuhan ini memiliki batang lurus dan bercabang padat. Ranting yang muda halus dan hijau, tapi ranting yang telah tua berwarna coklat tua dan kasar, dengan mengeluarkan getah putih. Daun hijau terang, berukuran panjang 6-10 inci (15-25 cm) dan lebar 2-5 inci (5-13 cm). Bunga berwarna keputihan.

Tanaman ini bersifat *dioecious* (berumah dua). Buah halus, bulat dan berparuh, dengan kulit merah muda. Interior tersegmentasi, seperti manggis, namun *pulp* kekuningan, tipis dan asam. Dalam kegunaannya, tanaman ini digunakan sebagai tanaman hias, akar dan daun secara tradisional digunakan sebagai obat gatal. Karena salah satu spesies yang paling dekat dengan manggis (*Garcinia mangostana*) maka terdapat anggapan bawasannya *Garcinia hombroniana* Pierre adalah nenek moyang dari tanaman manggis (*Garcinia mangostana*).

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

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Sub kelas : Archichlamydeae
Bangsa : Guttiferales
Suku : Clusiaceae
Marga : *Garcinia*
Jenis : *Garcinia hombroniana* Pierre



[Sumber : Koleksi penulis]

Gambar 2.1. *Garcinia hombroniana* Pierre

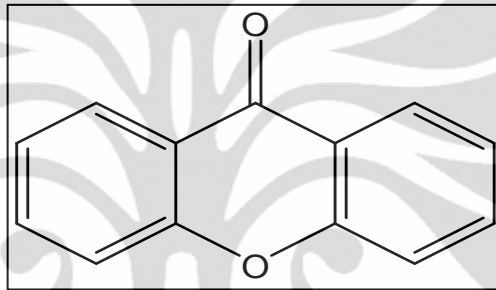
Universitas Indonesia

2.3 Kandungan Kimia Marga *Garcinia*

Berdasarkan literatur marga *Garcinia* terkandung senyawa Xanton, Benzofenon, Flavonoid, Triterpen dan asam-asam organik.

2.3.1 Xanton

Xanton adalah senyawa organik yang mempunyai struktur molekul $C_{13}H_8O_2$. Xanton mempunyai bioaktifitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiproliferatif dan antimikroba. Lebih dari 200 senyawa xanton sudah di isolasi dari Genus *Garcinia* (Iswari, K., Sudaryono, T., 2007).



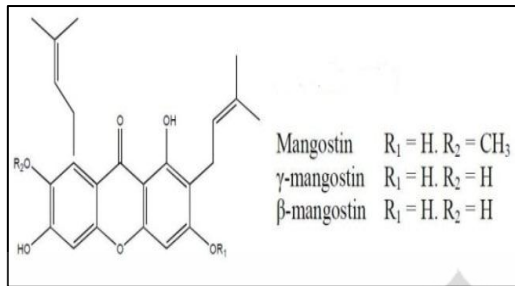
[Sumber : Harbone, J.B., 1987]

Gambar 2.2 Struktur Xanton

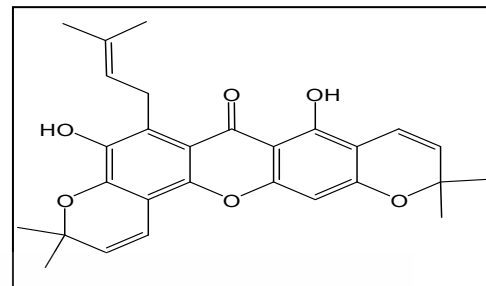
Beberapa senyawa Xanton yang telah berhasil di isolasi dari beberapa spesies dari marga *Garcinia* sebagai berikut:

a. *Garcinia mangostana*.

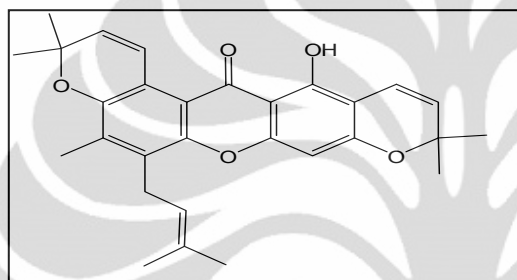
Senyawa Xanton dari kulit buah dilaporkan ditemukan dalam spesies ini α , β , γ mangostin (1), mangostenon A (2) dan mangostenon B (3), garcimangoson A (4), garcimangoson B (5), dan garcimangoson C (6) (Sunit S. *et al*, 2002; Huang *et al*, 2001).



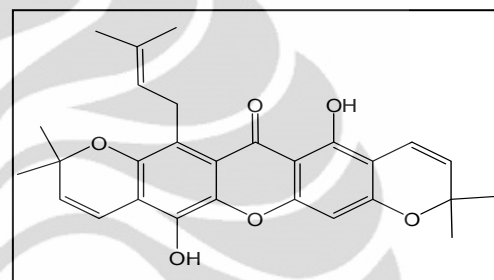
(1)



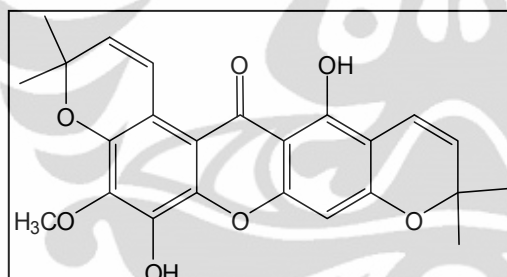
(2)



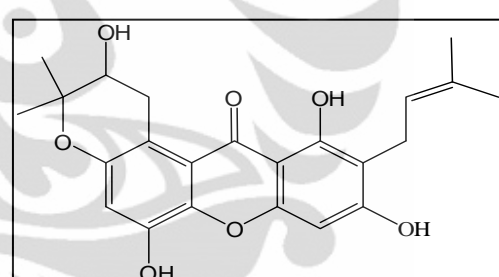
(3)



(4)



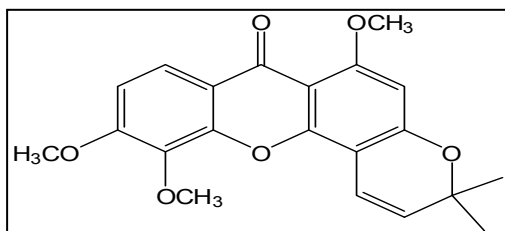
(5)



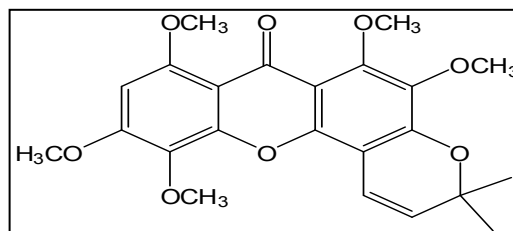
(6)

b. *Garcinia rigida*

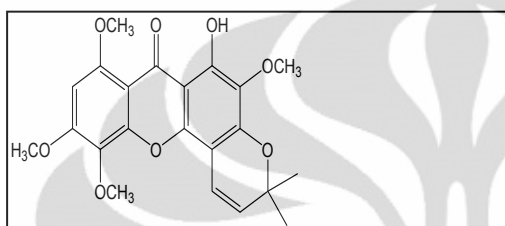
Ditemukan lima senyawa baru turunan xanton yaitu sahlaxanton (7), salmaxanton (8) (Elya, B. *et al*, 2005) dan isomernya (9), musaxanton (10), asmaxanton (11) (Elya, B. *et al*, 2006) dan yahyaxanton (12) (Elya, B. *et al*, 2008).



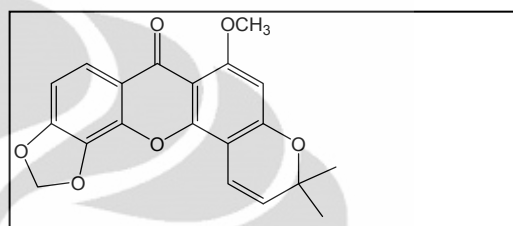
(7)



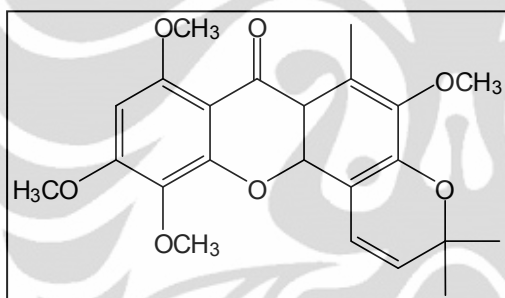
(8)



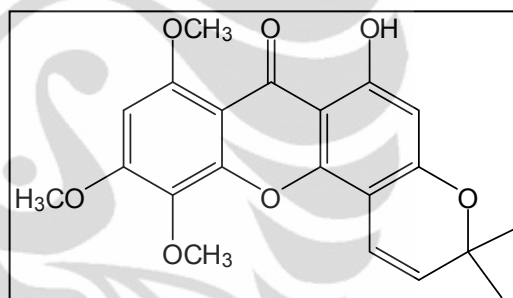
(9)



(10)



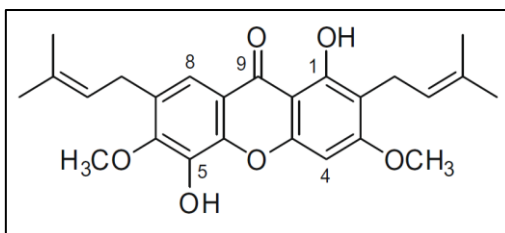
(11)



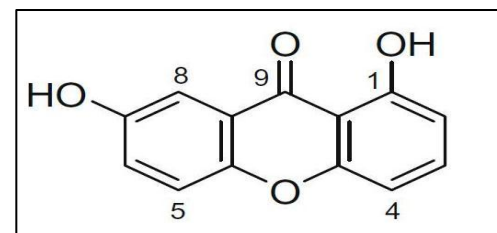
(12)

c. *Garcinia griffithii*

Telah diisolasi xanton dari kulit batang *Garcinia griffithii* senyawa 1,5-dihidro-3,6-dimetoksi-2,7-difenilxanton (13), 1,6-dihidroksanton (14), isoxantoncimol (cambogin) (15) (Elfita et al, 2009).

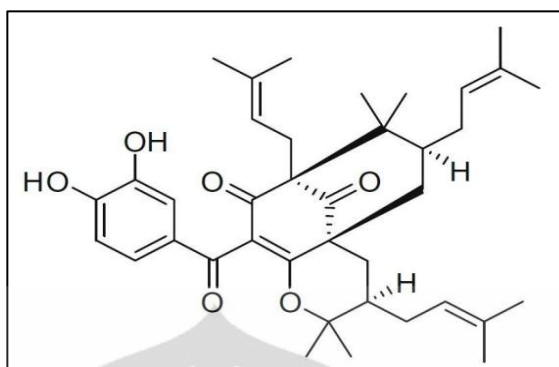


(13)



(14)

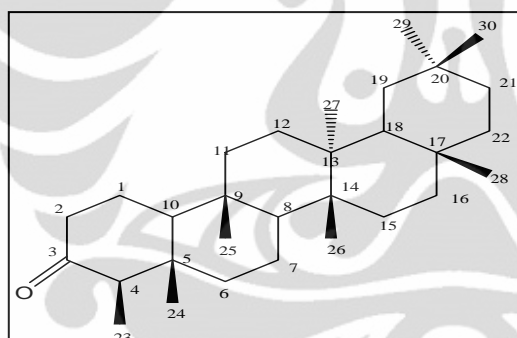
Universitas Indonesia



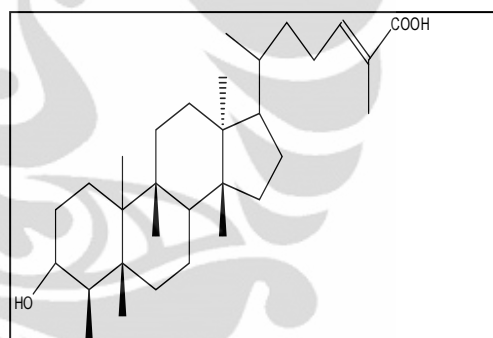
(15)

2.3.2 Senyawa Terpenoid dan Sterol

Dua senyawa triperpenoid, Fridelin (**16**) dan Asam-3 β -hidroksi-lanosta-9(11),24-dien-26-oat (**17**) telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksan kulit batang *Garcinia benthami* Pierre (Elya, B. *et al*, 2009).

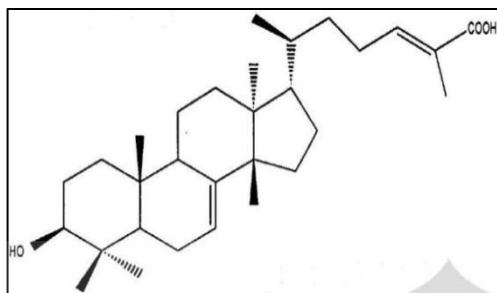


(16)

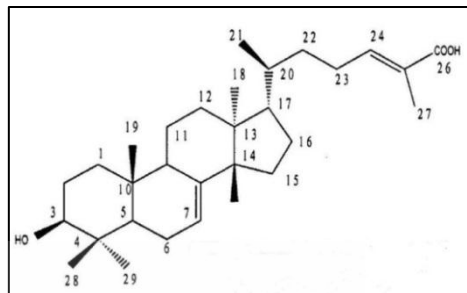


(17)

Dua senyawa triterpenoid telah berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksana dengan metoda kromatografi kolom cepat dari kulit batang *Garcinia picrorrhiza* Miq.(Cluciaceae). Senyawa hasil isolasi teridentifikasi sebagai asam-3 α -okso-7,24-euphadien-26oat (**18**), dan asam 3 β -hidroksi-7,24-euphadien-26-oat (**19**) (Soemiati, A., 2005).

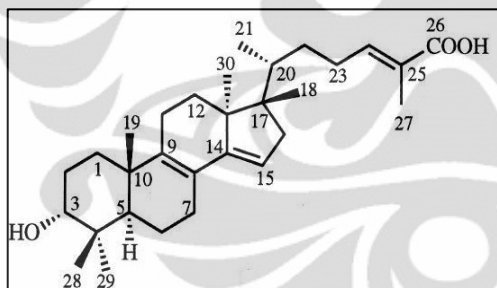


(18)

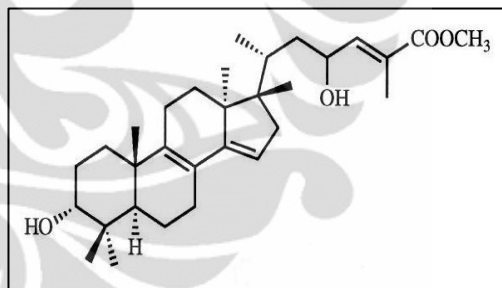


(19)

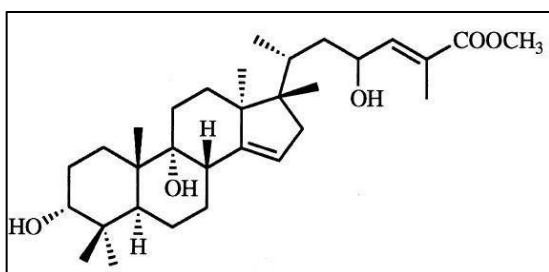
Tiga senyawa friedolanostan dan dua senyawa lanostan diisolasi dari kulit buah *Garcinia hombroniana* Pierre yaitu asam (24E)-3 α -hidroksi-17,14-Friedolanostan-8,14,24-trien-26-oat (**20**); metil (24E)-3 α , 23-dihidroksi-17,14-friedolanostan-8,14,24-trien-26-oat (**21**); metil (24E)-3 α , 9, 23-trihidroksi 17,14-friedolanostan-14,24-dien-26-oat (**22**), asam 3 β (**23**)- dan 3 α (**24**)-hidroksi-23-okso-9,16-lanosta-dien-26-oat (Rukachaisirikul, 2000).



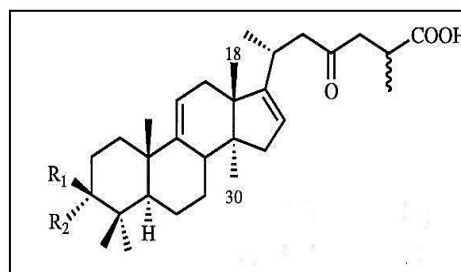
(20)



(21)



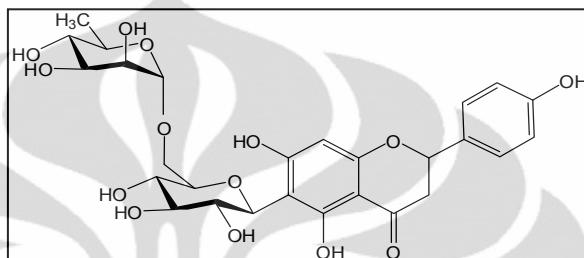
(22)

(23) $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{H}$ (24) $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{OH}$

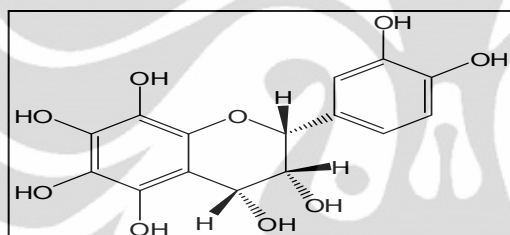
Universitas Indonesia

2.3.4 Senyawa Flavonoid

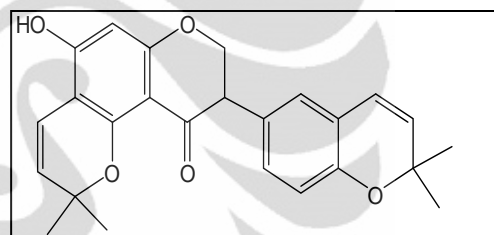
Tiga flavonoid baru yaitu Dulcinosid (**25**), Dulcisisoflavan (**26**) dan Dulcisflavan (**27**) ditemukan dari buah *Garcinia dulcis* (Deachathai S. *et al*, 2005).



(25)



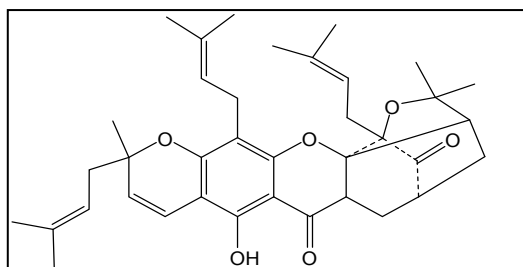
(26)



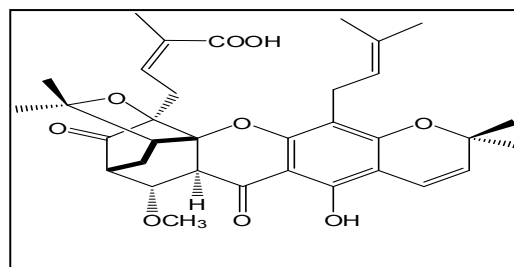
(27)

2.3.5 Senyawa Asam-asam Organik

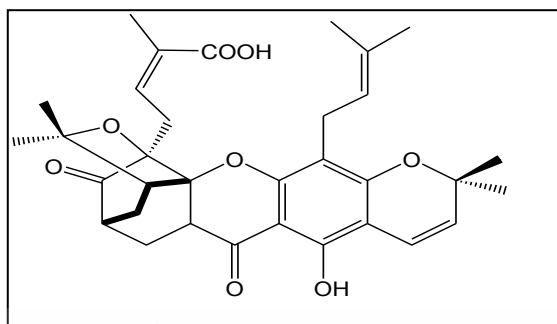
Asam gambogik (**28**) (Qing-Long Guo *et al*, 2005), asam moreollik (**29**) dan asam moreollik (**30**) diisolasi dari *Garcinia hanburyi* (Sukpondma, Y. *et al*, 2005)



(28)



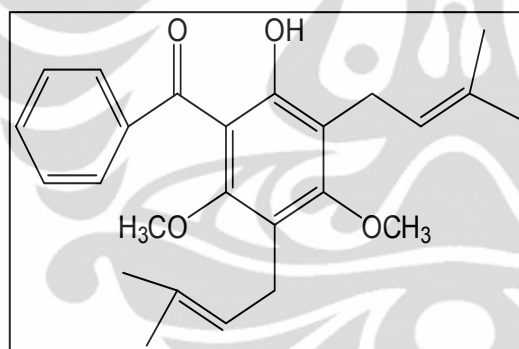
(29)



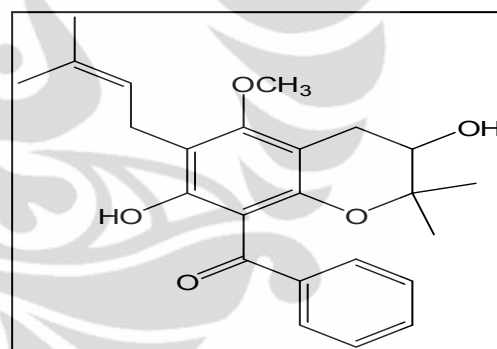
(30)

2.3.6 Senyawa Benzofenon

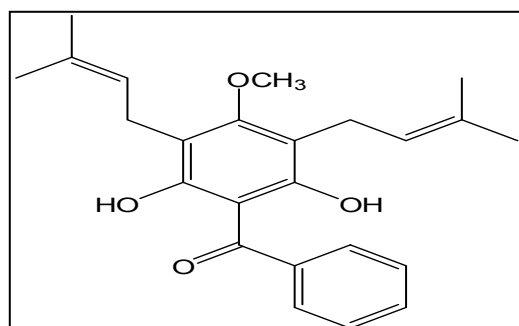
Empat benzofenon berhasil diisolasi dari *G. pseudoguttifera* yaitu myrtiaphenon-A (31), myrtiaphenon-B (32), vismiaphenon-C (33), pseudoguttiaphenon-A (34) (Sadaquat Ali *et al*, 2000).



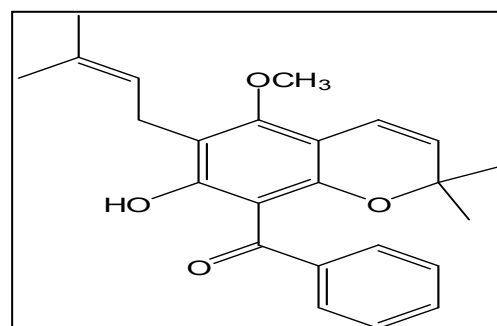
(31)



(32)



(33)



(34)

2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi

2.4.1 Metode Ekstraksi (Parameter Standar, 2000)

Ekstraksi adalah kegiatan penarik kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisahkan dari bahan yang tidak bias larut dengan pelarut cair. Beberapa cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut :

2.4.1.1 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 selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap meserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan dan penambungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2.4.1.2 Cara panas

a. Refluks

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

2.4.2 Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan *n*-heksan, untuk menarik senyawa semi polar digunakan etil asetat dan untuk menarik senyawa-senyawa polar digunakan metanol. 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 penguapan putar pada suhu kurang lebih 50°C.

Metode yang umumnya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa yaitu metode kromatografi. Untuk tujuan kualitatif dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT) sedangkan untuk pemisahan senyawa dalam jumlah besar dapat digunakan kromatografi kolom.

2.4.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Stahl, 1969; Harmita, 2006)

Kromatografi adalah metode pemisahan campuran menjadi berbagai komponennya berdasarkan keseimbangan 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.

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penyerapan, 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.

a. Fase Diam

Fase diam adalah lapisan tipis penyerapan 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 terbuat dari bahan gelas, 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 ditampakan 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 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. Terdapat pelarut yang merupakan donor atau aseptor pasangan elektron dan mempunyai kemampuan untuk membentuk jembatan intermolekular (hidrofilik dan pelarut polar) ataupun pelarut yang tidak mempunyai kemampuan tersebut (lipofilik, hidrofilik, 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 μL . 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 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 di atas 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 dua macam yaitu metode kimia dan metode fisik. Dari kedua jenis tersebut, masing-masing dapat dibedakan lagi menjadi dua macam yaitu metode destruktif dan non destruktif (tidak memberikan perubahan permanen pada identifikasi 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 sebagai besar zat, walaupun pada beberapa vitamin dan steroid dapat bersifat destruktif (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Berdasarkan senyawa yang 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) :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh pusat bercak sampel (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}} \quad (2.1)$$

2.4.2.2 Kromatografi Kolom (Stahl, 1969; Harmita, 2006)

Salah satu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar dengan menggunakan kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom fase diam yang digunakan dapat berupa silika gel, selulosa atau poliamida. Sedangkan fase geraknya dapat dimulai dengan 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 diperoleh dari kolom kromatografi 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 penampakan noda seperti larutan iod, FeCl_3 dan H_2SO_4 10 % dalam metanol.

Senyawa hasil isolasi sulit didapatkan berupa senyawa murni karena terdiri dari banyak senyawa gabungan. Untuk senyawa berbentuk kristal permuniannya dapat dilakukan dengan rekristalisasi, yaitu berdasarkan perbedaan kelarutan antara zat utama yang dimurnikan dengan senyawa minor dalam suatu pelarut tunggal atau campuran dari 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.

2.5 Penapisan Fitokimia (Harborne, 1987)

Penapisan fitokimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan diarahkan pada senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat bagi kesehatan seperti senyawa alkaloid, flavonoid, terpen, tanin, saponin, glikosida, kuinon dan antrakuinon.

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan berbentuk siklik, serta bereaksi dengan pereaksi alkaloid. Menurut sifatnya alkaloid umumnya berbentuk kristal padat dan sebagian kecil bersifat cair, memutar bidang polarisasi dan terasa pahit (Harborne, 1987). Alkaloid bentuk bebas atau biasanya mudah larut dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air. Namun, alkaloid berupa garam HCl atau H₂SO₄ dapat larut dalam air.

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang umumnya terdapat pada tumbuhan berpembuluh. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Biasanya dalam menganalisis flavonoid, yang diperiksa ialah aglikon

dalam ekstrak tumbuhan yang sudah dihidrolisis. Proses ekstraksi senyawa ini dilakukan dengan etanol mendidih untuk menghindari oksidasi enzim (Harborne, 1987). Flavonoid bagi tumbuhan bertindak sebagai penarik serangga yang berperan dalam proses penyerbukan dan menarik perhatian binatang yang membantu penyebaran biji.

2.5.3 Terpen

Terpen adalah suatu senyawa yang tersusun oleh molekul isopren $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan unit C_5 . Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang kurang menguap dan yang tidak menguap, triterpen, dan sterol. Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan eter dan kloroform. Saponin dan glikosida jantung merupakan golongan senyawa triterpen atau steroid yang terdapat dalam bentuk glikosida (Harborne, 1987).

2.5.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung-silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air.

Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harborne, 1987).

2.5.5 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang jika dikocok kuat akan menimbulkan busa. Pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus (Harborne, 1987). Pada umumnya, saponin bereaksi netral (larut dalam air), beberapa ada yang bereaksi asam (sukar larut dalam air) dan sebagian kecil ada yang bereaksi basa.

2.5.6 Glikosida

Glikosida merupakan suatu senyawa yang bila dihidrolisis akan terurai menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin). Pada umumnya glikon berupa glukosa, fruktosa, laktosa, galaktosa dan manosa. Dapat pula berupa gula khusus seperti samentosa, oleandrosa, simarosa dan rutinosa. Sedangkan aglukosa (genin) biasanya mempunyai gugus $-OH$ dalam bentuk alkoholis atau fenolis. Glikosida pada tanaman biasanya terdapat dalam bentuk β -glikosida. Glikosida yang berkhasiat obat dapat digolongkan menjadi glikosida jantung, antrakinon, saponin, sianofor, tiosianat, flavonol, aldehyd, alkohol, lakton dan fenol.

2.5.7 Kuinon dan Antrakuinon

Kuinon merupakan senyawa berwarna dan memiliki kromofor dasar. Kuinon dibagi menjadi empat kelompok untuk tujuan identifikasi, yaitu : benzokuinon, naftokuinon dan antrakuinon diperlukan hidrolisis asam untuk melepas kuinon bebasnya. Sedangkan kuinon isoprenoid yang terlibat dalam respirasi sel dan fotosintesis diperlukan cara khusus untuk memisahkannya dari bahan lipid lain (Harborne, 1987). Antrakuinon bila dihidrolisis akan terurai menjadi di, tri, atau tetra- hidroksi antrakuinon sebagai aglikon atau modifikasi dari senyawa tersebut.

2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul

lain atau sel lain. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran dari ultraviolet, 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 pencegahan atau mengurangi penyakit kronis karena radikal bebas diperlukan antioksidan (Frankel,1993).

Jika dua radikal bebas bereaksi, elektron tak berpasangan dari kedua radikal tersebut akan saling berpasangan, sehingga sifat radikal kedua spesies tersebut akan hilang. Kebanyakan molekul biologis adalah non radikal (Gutteride, Halliwell. 1994; Halliwell, 1997). Jika radikal bebas bereaksi dengan non radikal, akan dihasilkan radikal bebas baru (Gutteride, Halliwell, 1994; Halliwell, 1997; Thomas, 1998). Dengan demikian, reaksi yang melibatkan radikal bebas cenderung menyebabkan reaksi rantai radikal bebas (Gutteride, Halliwell, 1994; Halliwell, 1997). Bila radikal hidroksi atau peroksil bereaksi dengan lipid, akan terbentuk radikal lipid, akan terbentuk radikal lipid yang akan menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid (Halliwell, 1997).

Dalam tubuh manusia, oksigen dapat mengalami reduksi parsial membentuk senyawa reaktif yang dikenal dengan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) (Asikin, 2001). ROS merupakan suatu golongan senyawa yang terdiri atas radikal-radikal yang mengandung oksigen seperti O_2^{\cdot} Dan OH^{\cdot} , serta beberapa senyawa turunan oksigen nonradikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), asam hipoklorida (HOCl), dan Oksigen singlet (Gutteride, Halliwell, 1994). Diperkirakan bahwa ROS berasal dari 2-5 % oksigen yang dikonsumsi dan dalam tubuh berguna sebagai molekul regulator (misalnya NO) dan sebagai bagian dari sistem pertahanan tubuh (Thomas, 1998).

Penelitian yang menggunakan bahan biologis secara *in vitro* menunjukkan bahwa molekul radikal dapat merusak struktur protein, karbohidrat, lemak, nukleotida, dan membran sel (Asikin, 2001; Frei, Stocker, Ames, 1992). Reaksi

yang terjadi merupakan reaksi berantai yang menghasilkan radikal baru dan bereaksi dengan komponen-komponen sel yang lain (Frei, Stocker, Ames, 1992).

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. Stres oksidatif adalah keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh 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 (Frankel, 1993).

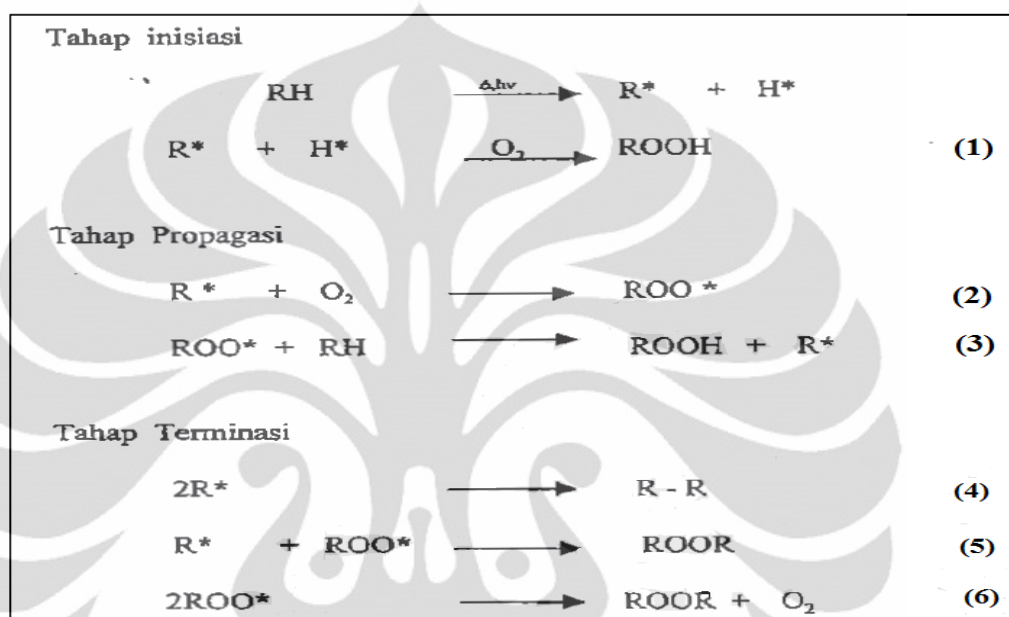
2.7 Antioksidan

Antioksidan memiliki manfaat untuk berbagai penyakit yang berkaitan dengan gaya hidup dan tingkat stres yang terjadi secara terus menerus seperti kanker, diabetes, kardiovaskular dan penyakit degeneratif lainnya. Efek negatif dari polusi dan paparan dari senyawa kimia berbahaya dapat menyebabkan akumulasi radikal bebas yang berbahaya. Manusia mengalami paparan oksidan seperti O_2^* , H_2O_2 , dan OH . Oksidasi-oksidasi tersebut merupakan hasil samping metabolisme normal dalam tubuh namun dapat juga berasal dari luar tubuh seperti asap rokok, udara yang terpolusi, dan gas-gas reaktif natural (Frei, Stocker, Ames, 1992).

Antioksidan dapat diklasifikasikan berdasarkan cara bagaimana zat tersebut berpengaruh terhadap proses autooksidasi. Ada dua jenis utama yang dapat diidentifikasi yaitu antioksidan dengan pemutusan rantai (*chain-breaking*)

Universitas Indonesia

yang merupakan proses reduksi radikal alkil peroksil atau oksidasi radikal alkil dan antioksidan pencegah yang merupakan perlambatan penguraian hidroperoksida atau penghancuran dengan mekanisme non radikal seperti deaktivator dan penyerap UV (Scott, 1988). Secara garis besar reaksi rantai autooksidasi sebagai berikut :



[Sumber : Scoot.G, 1988]

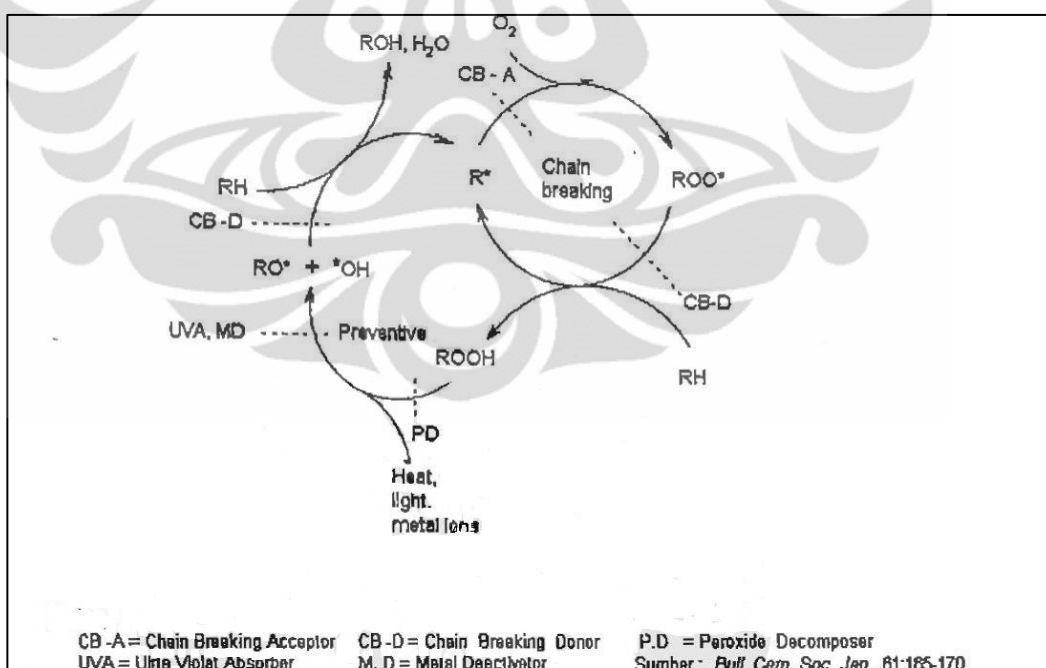
Gambar 2.3. : Reaksi Rantai Autooksidasi

Ciri kunci dari proses autooksidasi adalah terjadinya pembentukan suatu spesies peroksida intermediet. Pada tahap inisiasi terbentuk radikal bebas (R^* , H^*) dimana prosesnya dapat dikatalis oleh panas. Pada tahap propogasi berlangsung secara cepat sekali, dan terjadi perubahan radikal bebas ke bentuk radikal lain sehingga radikal semakin banyak terbentuk. Sedangkan pada tahap terminasi terjadi reaksi penggabungan dua radikal bebas menjadi suatu produk baru yang lebih stabil (RR ; $ROOR$) yang sifatnya dapat berubah dari bahan awal RH , misalnya terjadi perubahan warna, bau (Scoot.G, 1988).

Senyawa penangkal radikal bebas yang selama ini dikenal adalah antioksidan seperti vitamin A, C dan E serta banyak senyawa-senyawa sekunder dari tanaman

tingkat tinggi yang telah diuji secara *in vitro* untuk dapat memproteksi terhadap kerusakan oksidatif dengan jalan menghambat atau menghentikan radikal bebas dan spesies oksigen aktif. Senyawa-senyawa tersebut telah diteliti dan diyakini mampu mencegah reaksi yang terjadi antara radikal bebas dengan sel-sel tubuh (Larson.R.A, 1998).

Proses oksidasi dapat dihindari atau dihambat dengan penghambatan autooksidasi melalui pemutusan rantai antioksidan dan penghambatan rantai antioksidan. Pada proses autooksidasi ada beberapa tahapan yang dapat berinteraksi dalam proses siklik (Gambar 2.4). Adanya alkil peroksil ROO^* merupakan percepatan elektron dan dapat segera berkurang, tetapi karena adanya hidrogen donor (elektron donor) dari si pemberi spesies, sehingga dihasilkan reaksi oksidasi yang cukup stabil, hal ini yang mendasari mekanisme adanya pemutusan ikatan hidrogen (donor elektron) dari aktivitas antioksidan. Dalam hal ini senyawa antioksidan dapat berfungsi sebagai donor hidrogen atau CB-D (*Chain Breaking-Donor*) (Scoot.G, 1988).



[Sumber : Scoot.G, 1988]

Gambar 2.4. Mekanisme Penghambatan Antioksidan

Hubungan antara *Activator Chain-Breaking Donor* (CB-D) dengan struktur (Scoot.G, 1988) :

- a. Gugus pendorong elektron dalam senyawa aromatis menaikkan aktivitas antioksidan, sementara gugus penarik elektron menurunkan aktivitas.
- b. Gugus yang tersubstitusi yang mendelokalisir elektron dalam bentuk radikal ariloksil atau arilaminil menaikkan aktivitas antioksidan.
- c. Gugus-gugus *bulky* yang besar berfungsi untuk menghalangi gugus-gugus dari mana pengurangan elektron terjadi sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan.

Untuk mengatasi bahaya yang timbul akibat aerob ini, tubuh mengembangkan mekanisme perlindungan pembentukan oksidan dan peroksidasi lipid (Asikin, 2001). Sistem perlindungan ini melibatkan antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen terdiri atas enzim-enzim dan berbagai senyawa yang disintesis oleh tubuh, sedangkan antioksidan eksogen diperoleh dari bahan makanan, baik yang bersifat nutrient seperti vitamin maupun nonnutrien yang tergolong senyawa fitokimia (Asikin, 2001). Antioksidan dapat melindungi molekul, sel, dan jaringan sasaran dengan cara:

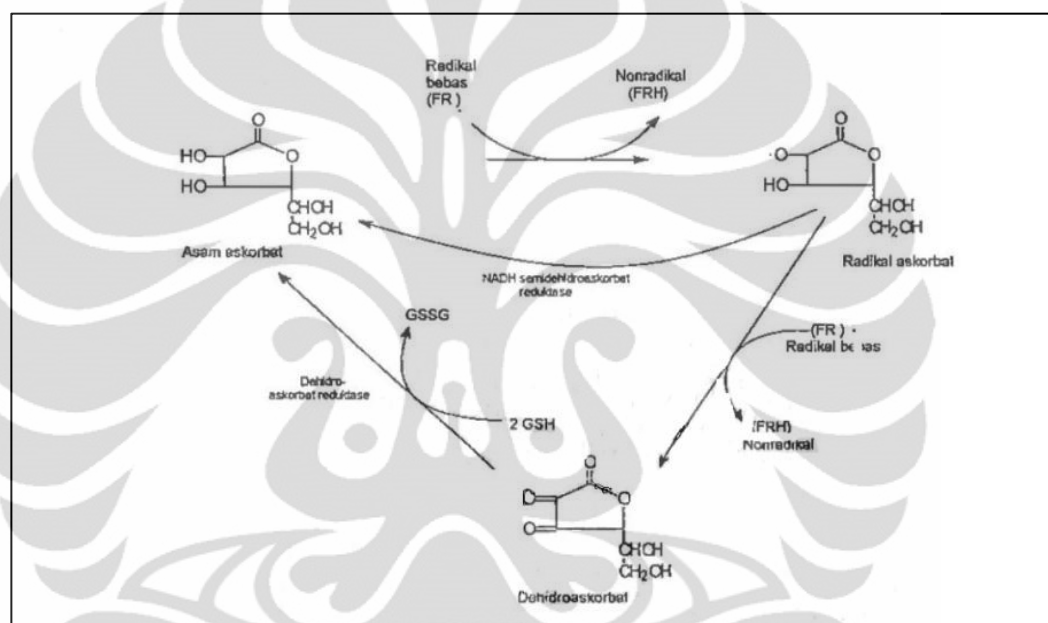
- a. Memusnakan (*scavenge*) ROS baik secara enzimatik maupun dengan reaksi kimia langsung.
- b. Mengurangi pembentukan ROS
- c. Mengikat ion-ion logam yang terlibat dalam pembentukan spesies yang reaktif.

Tubuh manusia menggunakan semua mekanisme di atas (Gutteride, Halliwell, 1994).

Pertahanan terhadap beban oksidatif secara fisiologis meliputi antioksidan molekul kecil dan protein antioksidan. Antioksidan molekul kecil seperti asam askorbat dapat bekerja dengan cara mengorbankan diri sendiri untuk memusnakan oksida atau sebagai kelator ion-ion logam transisi misalnya asam urat (Frei, Stocker, Ames, 1992).

Protein-protein antioksidan dapat berperan dengan beberapa cara yaitu (Frei, Stocker, Ames, 1992) :

- Menghancurkan oksidan dengan cara katalitik, misalnya oleh katalase, glutation, peroksidase, dan superoksida dismutase (SOD).
- Memusnakan oksidan dengan cara mengorbankan dirinya, misalnya albumin.
- Mengasingkan ion-ion logam transisi agar tidak dapat mengkatalisis reaksi pembentuk radikal bebas, misalnya oleh trasferin dan seruloplasmin.



[Sumber : Soewono, 2001]

Gambar 2.5 . Peran Asam Askorbat sebagai Pemusnah ROS dan RNS

Secara umum antioksidan dapat dikelompokkan berdasarkan sumbernya dan berdasarkan mekanisme reaksinya (Gordon, 1990) :

2.7.1 Antioksidan berdasarkan sumbernya

a. Antioksidan Sintetik

Beberapa dari antioksidan yang telah digunakan adalah antioksidan dari golongan fenol seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tersier butylhydroquinone* (TBHQ), dan ester dari asam galat seperti propil galat (PG). BHA dan BHT digunakan sebagai antioksidan dalam industri

terutama ditambahkan pada bahan yang mengandung lemak atau minyak. Antioksidan sintetik telah sepenuhnya diuji reaksi toksisitasnya, tapi beberapa menjadi toksik setelah penggunaan dalam waktu lama (Takashi dan Takayuni, 1997). Data toksikologi menentukan beberapa peringatan dalam penggunaannya.

b. Antioksidan Alami

Antioksidan alami merupakan antioksidan yang ditemukan dari bahan alam. Antioksidan alami ditemukan pada sebagian besar tanaman, mikroorganisme, jamur dan jaringan binatang. Antioksidan alami dari golongan fenol dan turunannya misalnya Tokoferol, Flavonoid, Asam Fenolat, Lignan. Antioksidan alami dari golongan Nitrogen misalnya Kafein dan Asam amino (Pokorni, *et al.*, 2001).

2.7.2 Antioksidan berdasarkan Mekanisme reaksi :

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer adalah antioksidan yang proses reaksinya terjadi dengan pemutusan rantai radikal bebas yang sangat reaktif, dan diubah menjadi senyawa yang tidak reaktif atau stabil. Antioksidan dapat berperan sebagai donor hidrogen, atau CB-D (*chain breaking donor*), atau dapat juga sebagai akseptor atau CB-A (*chain breaking acceptor*). Contoh dari antioksidan primer adalah BHT (*butylated hydroxyl toluene*).

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder adalah antioksidan yang tidak termasuk ke dalam antioksidan primer. Mekanisme reaksi sebagai antioksidan dapat berupa penyerapan terhadap sinar UV, sebagai contoh senyawa flavonoid. Mekanisme lain sebagai deaktivator dari ion logam yaitu melalui pembentukan senyawa kompleks contoh EDTA, asam sitrat, beberapa asam amino, dan asam tartarat (Connor, 1992).

2.8 Metode Pengujian Antioksidan secara *in vitro*

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

a. Metode Perendaman Radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil)

Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik akan stabil selama bertahun-tahun. Metode perendaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi efektif (*Effective Concentration*), EC_{50} atau IC_{50} (Palakawong, 2010).

b. Metode *Reducing Power*

Dalam metode ini antioksidan membentuk kompleks berwarna terhadap kalium ferrisianida, asam trikloroasetat dan besi (III) klorida, lalu serapan diukur pada panjang gelombang 700 nm. Peningkatan pada serapan campuran reaksi menunjukkan kekuatan mereduksi dari antioksidan (Joseph, G.S., Jayaprakasha, Selvi A.T., Jena B.S., Sakariah K.K, 2005)

c. Metode Uji Kapasitas Serapan Radikal Oksigen atau *Oxygen Radical Absorbance capacity* (ORAC)

Metode ORAC 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.

Pembentukan radikal bebas menggunakan 2,2-azobis-2-amindo propan dihidroklorida (AAPH). Pengukuran penurunan fluoresensi sebanding dengan penghambatan radikal. Pada uji ini menggunakan *β -phycoerythrin* (*β -PE*) sebagai target kerusakan radikal bebas, AAPH sebagai penghasil radikal peroksi dan *trolox* sebagai standar. Fluoresensi direkam dan aktivitas antioksidan ditunjukkan sebagai *trolox* ekuivalen (TE) (Arasali Sulaiman Zarena, Kadimi Udaya Sankar, 2009).

Universitas Indonesia

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

e. Uji Dien Terkonjugasi

Prinsip dari uji ini adalah selama oksidasi asam linoleat, ikatan rangkap dirubah menjadi ikatan rangkap terkonjugasi yang mana dikarakterisasi oleh serapan UV kuat pada 234 nm. Terhadap dien terkonjugasi sebagai hasil dari oksidasi awal PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acids*) diukur serapannya pada panjang gelombang 234 nm. Aktivitas diekspresikan dengan konsentrasi penghambatan (*inhibitory concentration*) IC_{50} (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005).

f. Aktivitas penghambatan Radikal Superoksida

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 panjang gelombang 560 nm (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Laksman, 2005).

IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$) 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

IC₅₀ bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai IC₅₀ 100-150 ppm, dan lemah jika nilai IC₅₀ bernilai 151-200 ppm (Blois, 1958).

2.9 Karakterisasi Senyawa

2.9.1 Spektrofotometer Inframerah

Spektrum inframerah suatu molekul adalah hasil transisi antara tingkat energi getaran (vibrasi) yang berlainan. Inti-inti atom yang terikat oleh ikatan kovalen mengalami getaran (vibrasi) atau osilasi, dengan cara serupa dengan dua bola yang terikat oleh suatu pegas. Bila molekul menyerap radiasi inframerah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom-atom yang terikat. Sehingga dapat dikatakan molekul ini berada dalam keadaan vibrasi tereksitasi, energi yang diserap ini akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul itu kembali kepada keadaan dasar (Supratman, 2010).

Panjang gelombang dari absorpsi oleh suatu ikatan, bergantung pada macam getaran dari ikatan tersebut. Oleh karena itu, tipe ikatan yang berlainan (C-H, C-C, C=O, C=C, O-H, dan sebagainya) menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang yang berlainan. Dengan demikian spektrometer inframerah dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya gugus fungsi dalam suatu molekul. (Supratman, 2010). Vibrasi yang informatif untuk tujuan elusidasi struktur adalah pada daerah antara bilangan gelombang 4000 cm⁻¹ hingga 400 cm⁻¹ (Kosela, 2010).

Besarnya bilangan gelombang bergantung pada kekuatan ikatan dan massa atom yang melakukan ikatan kimia. Cahaya yang diserap oleh molekul diterjemahkan ke dalam sebuah kurva spektrum infra merah dengan absis berupa bilangan gelombang dan ordinat berupa intensitas serapan. Hal yang perlu diperhatikan dalam menginterpretasi kurva serapan inframerah adalah bilangan gelombang, bentuk kurva serapan (sempit tajam atau melebar) dan intensitas serapan (kuat, sedang, atau lemah) (Kosela, 2010).

2.9.2 Spektrofotometri Resonansi Magnetik Inti Proton ($^1\text{H-NMR}$)

Inti-inti atom tertentu seperti ^1H , ^{13}C , ^{19}F , dan ^{31}P dapat berperilaku sebagai magnet batang kecil. Sifat tersebutlah yang mendasari prinsip resonansi magnetik inti sebagai alat analisis dengan tujuan elusidasi struktur. Atom hidrogen sebagai atom yang sering dijumpai pada senyawa organik menjadikan spektroskopi magnetik inti. Atom hidrogen memiliki beberapa isotop yaitu ^2H (Deuterium) dan ^3H (Tritium) namun kelimpahan terbesar di alam adalah ^1H sebesar 99,985% (Kosela, 2010).

Terbentuknya signal-signal terjadi karena perbedaan lingkungan kimia dari atom hidrogen. Perbedaan kedudukan tersebut akan memberikan frekuensi resonansi yang berbeda. Perbedaan kedudukan dalam kurva signal $^1\text{H-NMR}$ dikenal sebagai geseran kimia. Definisi dari geseran kimia adalah rasio antara kekuatan perlindungan terhadap inti dengan medan terapan yang digunakan. Semakin kecil frekuensi resonansinya, makin besar kerapatan elektronnya, makin kecil pula pergeseran kimia proton tersebut. Sebaliknya semakin besar frekuensi resonansinya, makin kecil kerapatan elektronnya, makin besar pergeseran kimia proton tersebut (Silverstein, Basseler dan Morrill, 1991).

Adapun faktor yang mempengaruhi pergeseran kimia adalah: faktor induktif, faktor anisotropik, faktor sterik, ikatan hidrogen, dan pelarut yang dipakai. Selain dipakai untuk menentukan kedudukan proton-proton, $^1\text{H-NMR}$ dapat menentukan perbandingan jumlah relatif proton-proton tersebut yaitu dengan mengukur intensitas dari signal-signal proton dengan alat integrator yang ada pada $^1\text{H-NMR}$ (Silverstein, Basseler dan Morrill, 1991).

Langkah yang dilakukan dalam menginterpretasikan kurva spektrum $^1\text{H-NMR}$ adalah jumlah sinyal menerangkan seberapa banyak jenis proton yang berada pada molekul analit. Kedudukan sinyal menerangkan tentang jenis lingkungan kimia tempat proton tersebut berada. Intensitas sinyal menerangkan jumlah dari proton pada lingkungan kimia tertentu. Pemecahan puncak (*splitting*) menerangkan tentang lingkungan kimia dari proton lainnya yaitu proton yang berdekatan (bertetangga) (Silverstein, Basseler dan Morrill, 1991).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Laboratorium Penelitian Fitokimia dan Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (FMIPA UI) Depok, Laboratorium Kimia PUSPITEK Serpong dan Laboratorium Narkoba BNN Jakarta selama kurang lebih empat bulan.

3.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *blender*, peralatan maserasi, penguap putar (*rotary evaporator buchii*), labu ukur, pipet volum, pipet mikro, alat-alat gelas, timbangan analitik, alat destilasi, lemari pendingin, peralatan kromatografi kolom berbagai ukuran (Pyrex), peralatan kolom kromatografi vakum (Buchii), vial dan botol penampung berbagai ukuran, spektrofotometer *UV-Vis* (Hitachi), spektrofotometer infra merah (FTIR, Prestige-21 Shimadzu), Resonansi Magnet Inti (500 MHz, Jeol).

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Uji

Tanaman yang diteliti adalah *Garcinia hombroniana* Pierre yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor. Adapun bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman tersebut.

3.3.2 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah *n*- heksan, 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); H₂SO₄ 10% dalam metanol 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); 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 dan DPPH (Sigma-Aldrich)

3.3.3 Bahan Perbandingan

Quersetin (Sigma-Aldrich) dan BHT (*butyl hydroxy toluene*)

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Penyiapan Bahan

Daun *Garcinia hombroniana* Pierre yang digunakan pada penelitian ini dikumpulkan sebanyak 2 kg daun yang telah dikeringkan pada bulan Juli 2011 dari Kebun Raya Bogor. Selanjutnya dilakukan sortasi untuk dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji. Daun yang telah disortir dihaluskan dengan *blender* lalu diayak dengan ayakan B30, kemudian serbuk disimpan dalam wadah bersih dan terlindung dari cahaya.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak

Sejumlah 1,9 kg serbuk kering daun *Garcinia hombroniana* dimaserasi dengan pelarut *n*-heksan yang telah didestilasi, selama 3 hari. Maserasi dilakukan sebanyak lima kali. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 50°C, sehingga diperoleh

Universitas Indonesia

ekstrak kental *n*-heksan. Terhadap ampas *n*-heksan dilakukan kembali maserasi berturut-turut dengan pelarut etil asetat dan metanol, kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan metanol, kemudian masing-masing ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal.

3.4.3 Penapisan Fitokimia

3.4.3.1 Saponin (Departemen Kesehatan, 1995)

Sebanyak 0,5 gram serbuk/ekstrak, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1 cm – 10 cm dan dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang.

3.4.3.2 Flavanoid (Departemen Kesehatan, 1995)

Larutan uji : 0,5 gram ekstrak ditambahkan 10 mL metanol dan 5 mL eter minyak tanah, dikocok dan didiamkan. Diambil lapisan metanol, diuapkan pada suhu 40° C. Sisa larutan ditambahkan 5 mL etil asetat P, disaring.

Percobaan :

- a. Dari larutan uji diambil 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dalam 1-2 mL etanol (95%) P, ditambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 mL asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terbentuk warna merah intensif menunjukkan adanya flavanoid (glikosida-3-flavonol).
- b. Larutan uji sebanyak 1 mL diuapkan, sisa dilarutkan dalam 1 mL etanol (95%) P, ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida P. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavanoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.

- c. Diuapkan hingga kering 1 mL larutan uji, dibasahkan sisa dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk asam borat P dan serbuk asam oksalat P, dipanaskan. Sisa dicampur dengan 10 ml eter P. Diamati dibawah sinar UV 366 nm, jika larutan berflurosensi kuning intensif menunjukkan adanya flavanoid.

3.4.3.3 Alkaloid (Departemen Kesehatan, 1995)

Larutan uji : 500 mg ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air, dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan disaring.

Percobaan :

- a. Larutan uji ditambahkan Baucharat LP, jika terbentuk endapan coklat sampai hitam maka positif mengandung alkaloid.
- b. Larutan uji ditambahkan Mayer LP, jika terbentuk endapan putih sampai kuning maka mengandung alkaloid.
- a. Molish).

3.4.3.4 Terpen (Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak ditambah 5 mL larutan eter. Residu ditambah asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (2:1). Warna merah hijau atau violet biru menunjukkan positif terpen.

3.4.3.5 Antrakuinon (Departemen Kesehatan, 1995 dan Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak dilarutkan dengan asam sulfat 2 N. Larutan dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Larutan ditambahkan 10 mL benzen P, dikocok dan didiamkan. Lapisan benzen dipisahkan, lalu disaring. Filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya Antrakuinon. Kocok lapisan benzen dengan 1 – 2 mL natrium hidroksida 2 N, didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzen tidak berwarna.

3.4.3.6 Tanin (Farnsworth, 1966; Trease & Evans, 1978)

Larutan uji. Beberapa mg ekstrak ditambah 15 ml air panas. Larutan dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit, disaring.

- a. Filtrat ditambah beberapa tetes FeCl_3 1 %, menghasilkan warna hijau violet.
- b. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan Gelatin 10% membentuk endapan putih.
- c. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan NaCl-Gelatin (larutan Gelatin 1% dalam larutan NaCl 10%) membentuk endapan putih.

3.4.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak secara KLT (Sutamihardja, Citroreksoko, Ossia dan Wardoyo, 2006)

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

Ekstrak yang akan diuji sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 mL pelarut yang digunakan pada ekstraksi sebelumnya (larutan uji), lalu ditotolkan sebanyak 20 μL 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 berfluoresensi. 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.

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Pada masing-masing ekstrak dari daun *Garcinia hombroniana* Pierre (ekstrak metanol, etil asetat, *n*-heksan) diuji aktivitas antioksidan dengan metode Blois. Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

3.4.5.1 Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah 10 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi DPPH 100 µg/mL.

3.4.5.2 Optimasi panjang gelombang DPPH

Larutan DPPH yang telah dibuat dengan konsentrasi 100 µg /mL spektrum serapannya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 400 nm hingga 700 nm, lalu ditentukan panjang gelombang optimumnya.

3.4.5.3 Pembuatan larutan blanko

Larutan blanko yang digunakan adalah 1,0 mL metanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,0 mL DPPH, lalu ditambahkan 2,0 mL metanol dikocok hingga homogen. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit.

3.4.5.4 Persiapan larutan uji

a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 1000 µg/mL)

Sejumlah 12,5 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a hingga homogen.

b. Pembuatan larutan seri (konsentrasi 200, 100, 50, 25, dan 10 µg/mL)

Dipipet masing-masing 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; dan 2,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

c. Pengujian

Dari masing-masing larutan uji dipipet 1,0 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1,0 mL DPPH 100 µg/mL lalu ditambahkan 2,0 mL metanol dikocok hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang optimumnya.

3.4.5.5 Pembuatan Larutan *Quersetin* dan BHT (*butylhydroxytoluene*) sebagai Pembanding

a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 200 µg/mL)

Masing-masing pembanding ditimbang 5 mg zat dan dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a hingga homogen.

b. Pembuatan larutan seri (konsentrasi 1, 2, 4, 10 dan 16 µg/mL)

Dipipet masing-masing 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 0,8 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

c. Pengujian

Dari masing-masing larutan uji dipipet 1,0 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1,0 mL DPPH 100 µg/mL lalu ditambahkan 2,0 mL metanol dikocok hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang optimum.

3.4.5.6 Penghitungan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban Blangko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorban Blangko}} \times 100 \% \quad (3.1)$$

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) dan y adalah persentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$.

3.4.6 Isolasi dan Pemurnian Senyawa

Isolasi dan pemurnian senyawa dilakukan terhadap ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan kuat. Sebanyak 15 g ekstrak etil asetat daun *Garcinia hombroniana* Pierre difraksinasi dengan kromatografi kolom dipercepat menggunakan fase diam 300 g silika gel 60 (230-400 mesh) dan sebagai fase gerak digunakan campuran pelarut mulai dari *n*-heksan dengan etil asetat dengan perbandingan eluen (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70, 25:75, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90, 5:95 dan 0:100) dan etil asetat dengan metanol dengan perbandingan eluen (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70, 25:75, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90, 5:95 dan 0:100) sehingga didapatkan eluen-eluen dengan gradien kepolaran yang berbeda-beda. Setiap eluat ditampung dalam botol 100 mL dan diuapkan dengan penguap putar, lalu setiap fraksi dipantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT), yang selanjutnya digabung berdasarkan kesamaan pola pada kromatogram KLT sehingga diperoleh fraksi gabungan. Lalu fraksi gabungan dilakukan rekristalisasi sehingga didapatkan isolat-isolat. Selanjutnya isolat yang didapat dilakukan uji aktivitas antioksidan dan karakterisasi senyawa.

3.4.7 Karakterisasi Senyawa Murni

Terhadap isolat dilakukan identifikasi dan penentuan struktur molekul dengan KLT, Spektrofotometri *UV-Visible*, IR, LC-MS, spektrometri resonansi magnetik ini proton (H^1 -NMR).

3.4.7.1 Pemeriksaan fisika

Terhadap isolat 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 $\pm 2^{\circ}$.

3.4.7.2 Pemeriksaan Secara Kromatografi Lapis Tipis

Cairan pengelusi dijenuhkan dalam bejana ± 10 menit. Pada plat KLT ditotolkan sampel uji menggunakan pipa kapiler kemudian dimasukkan ke dalam bejana dengan posisi cairan pengelusi di bawah bercak penotolan. Untuk senyawa GH dilakukan elusi dua arah, eluen yang digunakan adalah *n*-heksan : etil asetat (9:1) dilanjutkan dengan perbandingan eluen kloroform: *n*-heksan (2:8). Eluen dibiarkan merambat sampai mencapai batas plat yang telah ditandai. Noda diidentifikasi pada sinar UV dengan λ_{max} 254 dan 366, penyemprotan dengan H_2SO_4 10% dalam metanol atau uap Iodium kemudian ditentukan R_f -nya.

3.4.7.3 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 ton/cm^3 sehingga terbentuk sebuah pelet yang tipis dan transparan kemudian diukur serapan infra merahnya.

3.4.7.4 Pemeriksaan spektrum massa dengan LC-MS

Sebanyak 1 mg senyawa A dan B ditimbang dan dilarutkan masing-masing dalam *n*-heksan dan etil asetat lalu diambil 10 μL sampel dan disuntikkan

pada LC-MS melalui kolom C-18 (2 x 150 mm) dengan kecepatan alir 0,5 mL/menit.

3.4.7.5 Pemeriksaan Spektrum Resonansi Magnet Inti (^1H NMR)

Sejumlah 1 mg senyawa murni dilarutkan dengan 1 mL pelarut khusus untuk ^1H NMR. Senyawa GH dilarutkan dalam CDCl_3 , Selanjutnya diukur dengan alat ^1H NMR 500 MHz.

3.4.8 Uji Aktivitas Antioksidan Isolat

Pengujian aktivitas antioksidan isolat dilakukan dengan mengukur daya peredamam DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil) oleh isolat dengan metode Blois, prosedur lengkap uji aktivitas antioksidan isolat sama seperti yang dilakukan terhadap ekstrak. Secara garis besar langkah kerja diatas digambarkan pada gambar skema kerja (Lampiran 2).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan Bahan

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah *Garcinia hombroniana* Pierre, sedangkan bagian tanaman yang digunakan adalah daun dengan alasan untuk meminimalkan perusakan tanaman. Adapun dasar dalam pemilihan tanaman uji adalah berdasarkan hasil telusuran pustaka, diketahui Genus *Garcinia* telah banyak ditemukan senyawa yang memiliki aktivitas biologi yang tinggi ditambah lagi penelitian tentang *Garcinia hombroniana* Pierre masih jarang dilakukan. Berdasarkan penelitian terdahulu, Genus *Garcinia* telah banyak ditemukan senyawa xanton, benzofenon, dan triterpen yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antioksidan, dan antikanker. Senyawa antioksidan ditemukan pada genus ini menunjukkan aktivitas lebih tinggi, dibandingkan dengan senyawa antioksidan yang sudah dikenal (Muharni, Supriyatna, Husein H.Bahti, dan Dachariyanus, 2009).

Tanaman *Garcinia hombroniana* Pierre diperoleh dari Kebun Raya Bogor pada bulan Juli 2011 dan dideterminasi oleh LIPI Cibinong, Jawa Barat (Lampiran.1). Dua kilogram daun *Garcinia hombroniana* Pierre kering dilakukan sortasi untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji. Daun yang telah disortir dihaluskan dengan *blender* lalu diayak dengan ayakan nomor B 30. Untuk mencegah kerusakan atau penurunan mutu simplisia, serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

4.2 Ekstraksi

Sejumlah 1,9 kg serbuk kering daun *Garcinia hombroniana* Pierre dimaserasi dengan pelarut *n*-heksan sebanyak 3 L yang telah didestilasi. Maserasi dilakukan selama tiga hari dengan lima kali pengulangan maserasi. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan pengupuan putar vakum pada suhu lebih kurang 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksan. Terhadap

ampas *n*-heksan dilakukan kembali maserasi berturut-turut dengan 3 L etil asetat kemudian dengan metanol yang telah didestilasi. Pelarut diuapkan dengan pengupuan putar vakum hingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan metanol, kemudian masing-masing ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal. Berat ekstrak dari masing-masing ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan metanol diperoleh berturut-turut adalah 65 g, 65 g dan 150 g (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 : Data rendemen ekstrak daun *Garcinia hombroniana* Pierre.

No.	Ekstrak	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
1.	Ekstrak <i>n</i> -heksan	65	3,42
2.	Ekstrak etil asetat	65	3,42
3.	Ekstrak metanol	150	7,89

4.3 Penapisan Fitokimia

Ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan metanol dilakukan identifikasi golongan senyawa. Hasil identifikasi golongan senyawa ekstrak *Garcinia hombroniana* Pierre diperlihatkan pada Tabel 4.2. berikut :

Tabel 4.2.: Hasil Penapisan fitokimia dari ekstrak daun *Garcinia hombroniana* Pierre.

No	Golongan Senyawa	Ekstrak <i>n</i> -Heksan	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak Metanol
1.	Alkaloid	-	+	+
2.	Flavonoid	-	+	+
3.	Steroid/Terpenoid	+	+	+
4.	Tanin	-	-	+
5.	Antraquinon	+	-	+
6.	Saponin	-	+	+

4.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Metode yang digunakan dalam mengukur aktivitas antioksidan dengan mengukur kemampuan ekstrak dalam peredaman radikal bebas DPPH dengan menggunakan spektrofotometer *uv-vis*. Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (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). Sebelum dilakukan uji aktivitas kuantitatif dengan spektrofotometer, dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan KLT dengan pereaksi semprot DPPH. Ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol di elusi dengan perbandingan eluen n-heksan: etil asetat (8:2). Setelah dilakukan elusi, didapatkan bercak-bercak pada kromatogram, kemudian bercak-bercak tersebut disemprot dengan pereaksi semprot DPPH. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antioksidan, ini ditunjukkan dengan warna bercak setelah disemprot dengan pereaksi semprot DPPH menunjukkan warna putih sampai kuning dengan latar belakang ungu. Pada kromatogram KLT menunjukkan ekstrak metanol memiliki tiga bercak yang memiliki aktivitas antioksidan (bercak nomor 1 sampai 3) dengan nilai Rf berturut-turut 0,77; 0,85 dan 0,9. Ekstrak etil asetat memiliki empat bercak yang menunjukkan aktivitas antioksidan (bercak nomor 1 sampai 4) dengan nilai Rf berturut-turut 0,55; 0,77; 0,88 dan 0,9. Pada kromatogram KLT ekstrak n-heksan menunjukkan satu bercak yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai Rf 0,9. Selanjutnya kromatogram dilihat pada sinar *uv* pada panjang gelombang 366 nm. Pada kromatogram ekstrak metanol menunjukkan empat bercak yang mengalami fluoresensi (bercak no 1 sampai 4) dengan nilai Rf berturut-turut 0,51; 0,61; 0,75 dan 0,86. Pada kromatogram ekstrak etil asetat menunjukkan empat bercak yang mengalami fluoresensi dengan nilai Rf berturut-turut 0,6; 0,7; 0,78 dan 0,88. Kromatogram ekstrak n-heksan menunjukkan tiga bercak yang mengalami fluoresensi (bercak nomor 1 sampai 3) dengan nilai Rf berturut-turut 0,5; 0,58 dan 0,78 (Lampiran. 3). Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan secara

Universitas Indonesia

kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer dengan mengukur inhibisi konsentrasi yang sebanding dengan kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH. Langkah pertama dilakukan optimasi panjang gelombang DPPH. Berdasarkan penelusuran literatur panjang gelombang optimal dari DPPH sebesar 515-517 nm. Setelah dilakukan optimasi, didapatkan DPPH memiliki panjang gelombang optimum sebesar 517 nm (Lampiran. 4). Oleh sebab itu pengukuran serapan ekstrak diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Metode perendaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya, yang mana sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan kepada larutan reagen DPPH. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi efektif (*Effective Concentration*), EC_{50} atau IC_{50} (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005).

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak metanol dan etil asetat memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut menunjukkan nilai 7,9 $\mu\text{g/ml}$ dan 43,7 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan ekstrak n-heksan menunjukkan aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} 112,2 $\mu\text{g/ml}$. Sebagai pembanding, digunakan *Quersetin* dan *Butylated Hydroxyl Toluena* (BHT) memiliki nilai IC_{50} berturut-turut 2,4 $\mu\text{g/ml}$ dan 5,5 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 4.3).

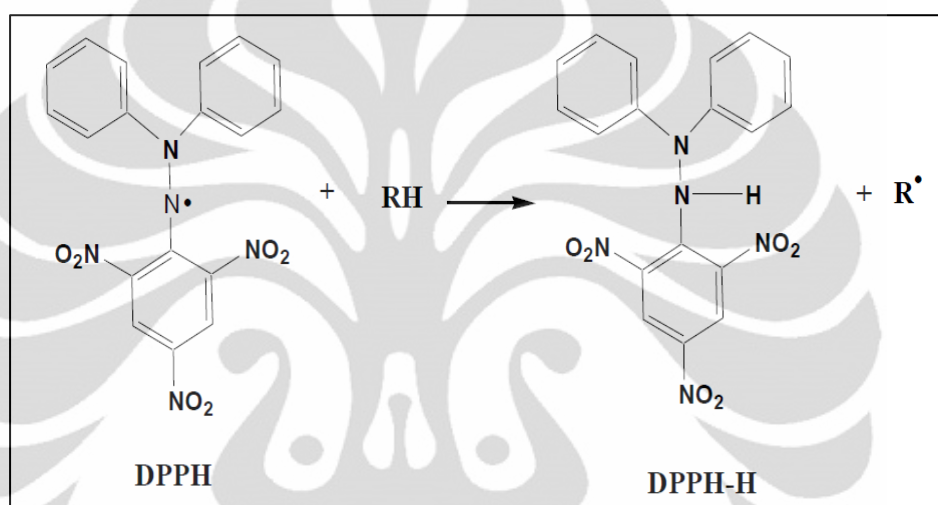
Tabel 4.3 : Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *Garcinia hombroniana* Pierre

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans		% Inhibisi	Persamaan linier	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
		Blanko	Sampel uji			
<i>Quersetin</i>	0,25	0,6091	0,4808	21,06386472	y = 12,949x + 19,005 R ² = 0,9927	2,4
	0,5		0,4622	24,11755048		
	1		0,4001	34,3129207		

Tabel 4.3: Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *Garcinia hombroniana* Pierre

	2,5		0,2876	52,78279429		
	4		0,1853	69,578066		
<i>BHT</i>	0,25	0,5592	0,5208	6,86695279	$y = 8,0282x + 5,6877$ $R^2 = 0,9951$	5,5
	0,5		0,507	9,334763948		
	1		0,4768	14,73533619		
	2,5		0,4102	26,64520744		
	4		0,3518	37,08869814		
Ekst. n-Heksan	5	0,6091	0,5649	10.40879987	$y = 0.3858x + 6.6933$ $R^2 = 0.9836$	112,2
	12.5		0,5457	13.44311279		
	25		0,5394	16.20423576		
	50		0,5104	20.90559842		
	150		0,4574	66.0505		
Ekst. Etilasetat	2,5	0,6091	0,5521	9,358069283	$y = 0,9766x + 7,3347$ $R^2 = 0,9976$	43,7
	5		0,5398	11,37744213		
	12,5		0,4807	21,08028238		
	50		0,2687	55,88573305		
Ekst. Metanol	1,5	0,5592	0,4845	13,3583691	$y = 5,2308x + 6,9083$ $R^2 = 0,9924$	7,9
	2,5		0,4443	20,5472103		
	5		0,3718	33,51216023		
	7,5		0,2891	48,30114449		
	10		0,238	57,43919886		

Senyawa yang bereaksi akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004). Selanjutnya radikal bebas DPPH akan membentuk senyawa bukan radikal yaitu DPP Hidrazin yang stabil (Windono, 2001).



[Sumber : Prakash *et al.*, 2001]

Gambar 4.1. Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas

4.5 Isolasi dan Pemurnian Senyawa

Setelah mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun *Garcinia hombroniana* Pierre secara kualitatif dan kuantitatif dengan mengukur kemampuan ekstrak untuk meredam radikal bebas DPPH didapatkan ekstrak metanol dan etil asetat memberikan aktivitas antioksidan yang kuat. Dari dasar itu dilakukan isolasi dan pemurnian senyawa dari salah satu ekstrak tersebut. Dari pemisahan dengan kolom dipercepat dengan menggunakan eluen n heksan, etil asetat dan metanol sebagai fase gerak dan silika gel sebagai fase diam (230-400 mesh) didapatkan 28 fraksi yang digabungkan berdasarkan kesamaan pola pada kromatogram KLT. Pada fraksi 95:5 dan 90:10 (n heksan: etil asetat) didapatkan

Universitas Indonesia

kristal berwarna putih. Selanjutnya pada isolasi dilakukan pemurnian zat dengan rekristalisasi sampai didapatkan 25 mg senyawa murni, selanjutnya disebut sebagai senyawa GH. Pengujian kemurnian isolat GH dilakukan dengan mengukur titik leleh, dimana dikatakan murni bila mana jarak leleh yang tajam $\pm 2^\circ$. Setelah dilakukan pengujian didapatkan senyawa GH memiliki titik leleh 263-264°C. Hasil Elusi dua arah dengan kromatografi lapis tipis dengan perbandingan eluen heksan : etil asetat (9:1) dan dilanjutkan dengan eluen kloroform: n-heksan (2:8) menunjukkan pola bercak tunggal dengan nilai Rf: 0,9.

4.6 Penentuan Struktur Senyawa Murni GH

Senyawa GH secara organoleptis berupa serbuk berwarna putih dan memiliki titik leleh 263-264°C. Senyawa GH ditemukan pada fraksi 95:5 dan 90:10 (n-heksan: etil asetat). Data IR memberikan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 1714,77 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur C=O dan pada bilangan gelombang 2926 cm^{-1} memperlihatkan adanya vibrasi ulur asimetrik ikatan -C-C-alifatik (Lampiran. 6).

Hasil pengukuran $^1\text{HNMR}$ diperoleh spektrum proton senyawa GH (Lampiran. 7). Berdasarkan spektrum tersebut diketahui senyawa GH memiliki jumlah atom H sebanyak lima puluh atom. Dimana berdasarkan spektrum $^1\text{HNMR}$ yang terbentuk, sinyal proton berada pada pergeseran kimia antara 0-2 ppm yang terdiri dari *singlet* maupun *multiplet*. Sehingga berdasarkan literatur lingkungan hidrogen pada senyawa GH berada pada lingkungan proton alifatik ataupun alisiklik karena pergeseran kimia senyawa GH berada pada pergeseran kimia 0-2 ppm (Silverstein, 2005).

Analisis spektrum $^1\text{HNMR}$ diketahui senyawa GH memiliki gugus metil (CH_3) sebanyak 8 buah yakni dengan pergeseran kimia 0,722; 0,853; 0,868; 0,881; 0,927; 0,950; 0,998 dan 1,048 ppm. Ditemukan pula 11 buah gugus metilen (CH_2) pada pergeseran kimia 1,177; 1,224; 1,285; 1,340; 1,370; 1,388; 1,481; 1,519; 1,561; 1,571 dan 1,601 ppm. Selanjutnya gugus metin (CH) muncul pada pergeseran kimia 1,964; 2,254; 2,268 dan 2,373 ppm. Lebih lanjut Geseran kimia

pelarut muncul dengan intensitas yang tinggi diduga karena terjadi transfer antara proton dengan deuterium pada CDCl_3 dan terbentuk CHCl_3 pada spektrum $^1\text{HNMR}$ yang seharusnya tidak nampak karena telah dilakukan penetapan *baseline* pelarut (Silverstein, Basseler dan Morrill, 1991). Data pergeseran kimia proton senyawa GH diperlihatkan pada Tabel 4.4 di bawah ini:

Tabel 4.4 : Data pergeseran kimia proton senyawa GH diukur pada 500 mHz dengan pelarut CDCl_3

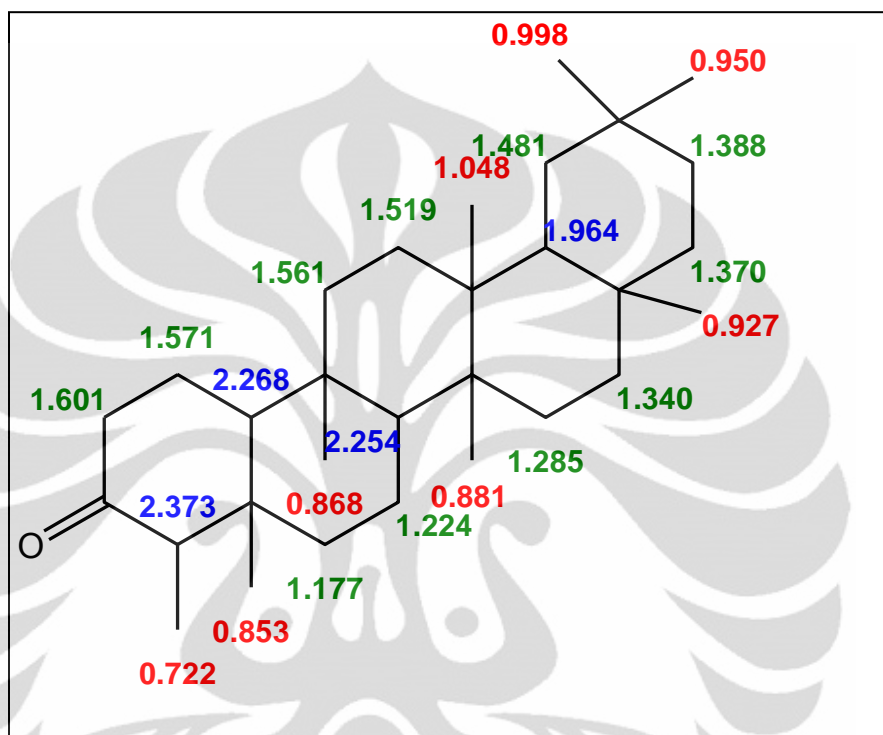
No.	Gugus Fungsi	Pergeseran Kimia Proton senyawa GH (ppm)
1.	CH₃	0,722
		0,853
		0,868
		0,881
		0,927
		0,950
		0,998
		1,048
		2.
1,224		
1,285		
1,340		
1,370		
1,388		
1,481		
1,519		
1,561		
3.	CH	1,964
		2,254
		2,268
		2,373

Selanjutnya pergeseran kimia proton senyawa GH dibandingkan dengan pergeseran kimia senyawa Friedelin, diperlihatkan pada tabel 4.5 berikut:

Tabel 4.5 Perbandingan pergeseran kimia proton Senyawa GH terhadap Friedelin (diukur pada 500 mHz dengan pelarut CDCl_3) (Amelia, P., 2011).

No.	Gugus Fungsi	Pergeseran Kimia Proton Senyawa GH (ppm)	Pergeseran Kimia Proton Senyawa Friedelin (ppm)
1.	CH_3	0,722	0,721
		0,853	0,866
		0,868	0,882
		0,881	0,926
		0,927	0,932
		0,950	0,949
		0,998	0,973
		1,048	0,996
2.	CH_2	1,177	1,001
		1,224	1,223
		1,285	1,284
		1,340	1,348
		1,370	1,369
		1,388	1,386
		1,481	1,478
		1,519	1,513
		1,561	1,559
		1,571	1,571
		1,601	1,638
3.	CH	1,964	1,950
		2,254	2,250
		2,268	2,264
		2,373	2,368

Berdasarkan data IR dan pergeseran proton diketahui bahwa senyawa GH mengandung unsur hidrogen, karbon dan oksigen. Dari data tersebut dicoba untuk melakukan dugaan struktur kimia dari senyawa GH dengan menggunakan program komputer *Chem. Office* didapatkan senyawa dengan rumus bangun sebagai berikut :



Gambar 4.2 : Dugaan struktur kimia senyawa GH dilengkapi dengan nilai pergeseran kimia untuk setiap lingkungan hidrogen.

Dari rumus senyawa di atas dapat disimpulkan rumus senyawa GH adalah $C_{30}H_{50}O$. Sehingga jumlah cincin atau ikatan rangkap dari senyawa diatas dapat dihitung dengan menggunakan rumus indeks kekurangan hidrogen (*double bond equi-valen*) dengan rumus 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

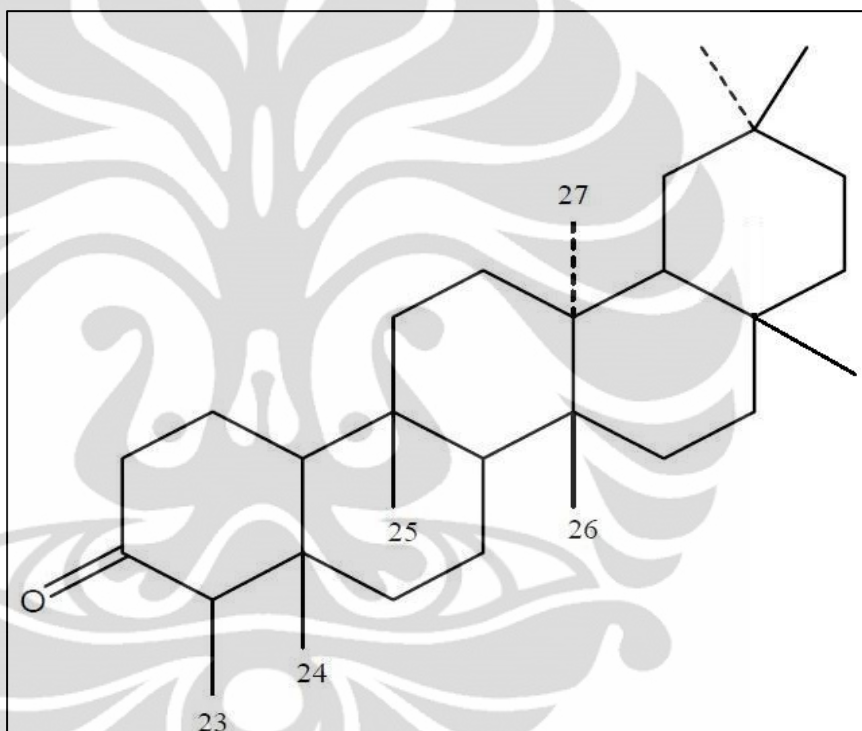
Z = jumlah atom N, P atau atom trivalent

Universitas Indonesia

Dari rumus tersebut senyawa GH mempunyai :

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

Dari hasil perhitungan diatas dan didukung dengan data IR serta $^1\text{HNMR}$ senyawa GH diketahui mempunyai lima cincin siklik dan satu ikatan rangkap. Berdasarkan data spektroskopi senyawa GH, lalu dibandingkan dengan senyawa terpen lain, sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat GH merupakan suatu senyawa Friedelin.



[Sumber : Elya, B. *et al*, 2009]

Gambar 4.3. Struktur Senyawa Friedelin

4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Murni

Aktivitas antioksidan senyawa murni yang telah didapatkan di uji dengan kemampuan senyawa tersebut dalam meredam aktivitas radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Dari hasil uji aktivitas antioksidan diketahui Senyawa GH tidak memperlihatkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat hal ini ditandai dengan nilai IC_{50} 248 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini disebabkan senyawa GH tidak

Universitas Indonesia

mempunyai gugus yang dapat mendonorkan elektron seperti gugus fenol yang dapat meredam aktivitas dari radikal DPPH.

Tabel 4.6. Data Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Murni GH

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans		% Inhibisi	Persamaan linier	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
		Blanko	Sampel uji			
<i>Quersetin</i>	0,25	0,6091	0,4808	21,0638	$y = 12,949x + 19,005$ $R^2 = 0,9927$	2,4
	0,5		0,4622	24,1175		
	1		0,4001	34,3129		
	2,5		0,2876	52,7827		
	4		0,1853	69,5780		
<i>BHT</i>	0,25	0,5592	0,5208	6,8669	$y = 8,0282x + 5,6877$ $R^2 = 0,9951$	5,5
	0,5		0,507	9,3347		
	1		0,4768	14,7353		
	2,5		0,4102	26,6452		
	4		0,3518	37,0886		
Senyawa GH	50	0,3209	0,3101	20.2568	$y = 0.1548x + 11.613$ $R^2 = 0.9854$	248
	100		0,3005	25.5673		
	150		0,2957	33.5325		
	200		0,2893	45.3367		
	300		0,2878	57.2345		

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

- a. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol, etil asetat dan n-heksan pada ekstrak daun *Garcinia hombroniana* Pierre menunjukkan nilai IC_{50} berturut-turut 112,2; 43,7 dan 7,9 $\mu\text{g/mL}$.
- b. Hasil identifikasi golongan senyawa diketahui ekstrak metanol daun *Garcinia hombroniana* Pierre mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, antraquinon, dan saponin; ekstrak etil asetat mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin; ekstrak n-heksan mengandung golongan senyawa terpenoid dan saponin.
- c. Hasil pemisahan 15 g ekstrak etil asetat dengan pemisahan kolom dipercepat diperoleh 25 mg senyawa murni GH dari fraksi 95:5 dan 90:10 (n-heksan:etil asetat). Senyawa GH memiliki titik leleh 263-264 °C, diduga sebagai senyawa Fridelin dengan rumus molekul $C_{30}H_{50}O$.
- d. Senyawa GH tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 248 $\mu\text{g/mL}$. Sebagai pembanding digunakan *Quersetin* dan BHT memiliki nilai IC_{50} masing-masing 2,4 $\mu\text{g/mL}$ dan 5,5 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

- a. Diperlukan penelitian lanjutan pada tumbuhan *Garcinia hombroniana* Pierre guna mendapatkan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai macam uji bioaktivitas terhadap tumbuhan *Garcinia hombroniana* Pierre.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhan, M. (1997). *Teknik kromatografi untuk analisis bahan makanan*. Yogyakarta: Andi, 27- 35.
- Amelia, Putri. (2011). *Isolasi, elusidasi struktur dan uji aktivitas antioksidan senyawa kimia dari daun garcinia benthami pierre*. Universitas Indonesia: Depok.
- Arasali, Sulaiman Zarena, Kadimi, Udaya Sankar. (2009). A study of antioxidant properties from *Garcinia mangostana* L. Pericarp Extract. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 8(1): 23-34.
- Asikin V. (2001). *Antioksidan endogen dan penilaian status antioksidan*. Dalam : Kursus penyegaran 2001. Radikal bebas dan antioksidan dalam kesehatan. Dasar, aplikasi, dan pemanfaatan bahan alam.
- Blois, MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199- 1200.
- Blasubramanian,K., Rajagopalan,K. (1988). *Phytochemistry* 27,1552.
- Connor, K.A. G.L. Amidon, V.J. Steila, (1992). *Stabilitas kimia sediaan farmasi*. Terj. D,gunawan, IKIP Semarang Press, Semarang.
- Deachathai, S. W., Mahabusarakam, S., Phongpaichit, W.C. Taylor. (2005). Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*. *Phytochemistry.* 66, 368-2375.
- Departemen Kesehatan RI.(1995). *Material medika indonesia jilid vi*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 333-334.
- Dachriyanus., (2004). *Analisis struktur senyawa organik secara spektroskopi*. Padang : Andalas University Press.
- Elfita, Elfita. (2009). Antiplasmodial and other constituents from four Indonesian *Garcinia* spp, *Phytochemistry* 70, 907–91.
- 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., Nurwidiyosari, D., Jun Song Wang and Xiao Jiang Hao. (2005). Two new xanthenes 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 xanthenes 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 neheksana kulit batang *Garcinia benthami* Pierre. *Jurnal Makara Sains*, Vol.13 (No.1), 9-12.
- Farnsworth, N.R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science* 55, 3, 226-276.
- Frankel, EN. (1993). Trends in food science and technology. *In search of better methods to evaluate natural antioxidant and oxidative stability in food lipids*. 4, 220-225.
- Frei B, stocker R, Ames BN. (1992). *small molecule antioxidant defenses in human extracellular fluids*. Dalam : Scandalios JG. *Molecular biology of free radicals scavenging system*. New York : cold spring Harbour Laboratory Press.
- Fumio Y., Toshiaki,A., Yoshihiro, Y. and Hiroyuki, N. (2000). Antioxidative and anti glycation activity of *garcinol indica* fruit rind. *Journal of agriculture and Food Chemistry*,48, 180-185.
- Gordon, M.H., (1996). *The mechanism of Antioxidant action in vitro*. Dalam: B.J.F. Hudson (ed), *Food Antioxidants*, Elsevier Applied Science. London. 1- 18.
- Gritter, R, J., J. M. Bobbits, and A. E. Schwarting, (1987). *Introduction to Chromatography (Pengantar Kromatografi)*, Edisi ke-2,diterjemahkan oleh K. Padmawinata, Bandung : Penerbit ITB.
- Gutteride, R, Halliwell, B. (1994). *Antioxidants nutritions and disease*. Oxford : Oxford University Press.

- Harbone, J.B., (1987). *Metode Fitokimia. Ed II.*, Diterjemahkan Oleh Kosasi Patmawinata dan Iwang Sudiro. Bandung : Penerbit ITB.
- Harmita., (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI, 205-211.
- Halliwell B. (1997). *Introduction : free radicals and human diseases trick or treat?* Dalam: Thomas CE, Kalyararaman B, ed. Oxygen radicals and the disease process. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 114.
- Heyne., (1987). *Tumbuhan berguna indonesia*, Jilid III. Cetakan ke 1, Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Departemen Kehutanan. Gatot Subroto. Jakarta, 1374-1380.
- Hesse, M., H. Meier, and B. Zeeh., (1991). *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, 4. ð berarbeitete Auflage, New York: Georg thieme Verlag Stuttgart.
- Huang, Yu-Ling., Chien-Chih Chen, Ying-Jen Chen, Ray-Ling Huang and BorJinn Shieh. (2001). Three xanthones and a benzophenone from *Garcinia mangostana*. *Journal of Natural Product*, 64, 903-906.
- Iswari, K., Sudaryono, T. (2007). BPTP SUMBAR: Empat jenis olahan manggis, si ratu buah dunia dari sumbar. *Tabloid Sinar Tani*, 22 Agustus 2007.
- Javanmardi, J., C. stushnoff, E. Locke., J.M. Vivanco. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accession. *Food Chem*, 83,547-550.
- Joseph, G.S., Jayaprakasha, Selvi A.T., Jena B.S., Sakariah K.K. (2005). Antiaflatoxicogenic and antioxidant activities of *garcinia* extract. *International Journal of Food Microbiology* 101, 153– 160.
- Kosasih, E.N., Tony S dan Hendro H., (2006). *Peran antioksidan pada usia lanjut*. Jakarta : Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia.
- Kosela, S. (2010). *Cara mudah dan sederhana penentuan struktur molekul berdasarkan spektra data (NMR, Mass, IR, UV)*. Jakarta: Lembaga Penerbit FE UI.
- Larson. R.A (1988). The antioxidant of higher Plants. *Phytochemistry*, vol 27. No.4, 969- 978.
- Linuma and Tosa. Tanaka and Yonemori. (1994). Two xanthon from root bark of *calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol 35, 527-532.

- Lopez-Alarcon, C., E. Lissi. (2006). *A novel and simple orac methodology based on the interaction of pyrogallol red with peroxy radicals*. *Free Rad Res*, 40 (9), 979-985.
- Mahato, S.B. and Kundu, A.P., (1994). Review article number 98. 13c nm spectra of pentacyclic triterpenoids. A compilation and some salient features, *Phytochemistry*, 37 (6), 1517-1575.
- Materia Medika Indonesia Jilid VI.(1995). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Mun'im, A., Azizahwati, Trastiana., (2008). Aktivitas antioksidan cebdawan suku pleurotaceae dan polyporaceae dari hutan UI. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5 (1), 36-41.
- Namiki, M., (1990). Antioxidant/antimutagens in food. *Critical Reviews in Food science and Nutrition*. (Vol 29), 273-300.
- Packer, L.M., Hiramatsu, T. and Yoshikawa. (1999). *Antioxidant Food Supplement in Human Health*, Academic Press.
- Palakawong, C., Sophanodora, P., Pisuchpen, S. and Phongpaichit, S. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) parts and some essential oils. *International Food Research Journal* 17: 583-589.
- Pokorni. (2001). *Antioxidant in Food; Practical applications*, CRC Press, New York.
- Rohman, Atta-ur. And M. Iqbal, C. (1996). *Solving Problem with NMR Spectroscopy*. Academic Press, Pakistan, 429.
- Sari, R. (1999). *Koleksi Garcinia Kebun Raya Bogor : Konservasi dan Potensi* Prosiding Seminar Nasional Konservasi Flora Nusantara. Balai Pengembangan Kebun Raya Indonesia Bogor, 217- 221.
- Scott. G., (1988) *Antioxidant*, The Chemical Society of Japan, 61, 165-170.
- Shivappasad, 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.
- Silvesterstein, Robert M. and Francis X. Webster. (1996). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*.Sixth Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York, 482.
- Silverstein, R.M., Basseler, G. C., Morrill, T. C. (1991). *spectrometric identifi-*

cation of organic compound (5th edition ed.). New York Jhon Wiley & Sons, Inc.

- Soemiati, A.(2005). Senyawa triterpenoid dari ekstrak n-heksana kulit batang *Garcinia picorrhiza* Miq. *Makara, Sains*, Vol. 9, No. 2, Nopember 2005: 66-69.
- Soewoto H.(2001). *Antioksidan eksogen sebagai lini pertahanan kedua dalam menanggulangi radikal bebas*. Kursus penyegaran 2001. Radikal bebas dan antioksidan dalam kesehatan. Dasar, aplikasi, dan pemanfaatan bahan alam. Bagian biokimia FKUI.Jakarta.
- 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, 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.
- 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., 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.
- Supratman, Unang. (2010). *Elusidasi struktur senyawa organik, metode spektroskopi untuk menentukan struktur senyawa organik*. Widya padjadjaran. Jakarta, 66-67.
- Sutamihardja, R.T.M., P.S. Citoreksoko, 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.
- Takasih. Miyake and takayumi Shibamoto., (1997). Antioxydant activity of natural compound found in plant. *Journal Agric. Food. Chemi.* 45, 1819-1822.
- Thomas SR. (1998). *Redox reaction related to lipoprotein oxidation, indoleamin 2,3-dioxygenase and icynurenine pathway metabolites*. Thesis for the degree of Doctor Phylosophy. University of Sydney.Sydney..
- Touchstone, J.C., M.F. Dobbins., (1983). *Practice of thin layer chromatography*. Canada : John Wiley & Sons, 2-12.

Trease, G.E dan Evans, W.C. (1978). *Pharmacognosy 11th Edition*. London: Bailliere Tindall.

Vatcharin Rukachaisirikul ,Ajaman Adair, Pimchit Dampawan, Walter C. Taylor Peter C. Turner. (2000). Lanostanes and friedolanostanes from the pericarp of *Garcinia hombroniana*. *Phytochemistry* 55: 183-188.

Veirhejj,E. W. M., Coronel, R.E., (1992). PROSEA (*Plant Resources of South East Asia*) No.2: *Edible Fruits and Nuts*, Bogor, 175-179.



Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan



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

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

Cibinong, 12 September 2011

Nomor : ~~0464~~/IPH.1.02/If.8/IX/2011
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Anju Hasiholan DP
 NPM : 0706264450
 Mhs. Univ. Indonesia
 Fak. MIPA
 Kampus UI Depok, 16424

Dengan hormat,

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

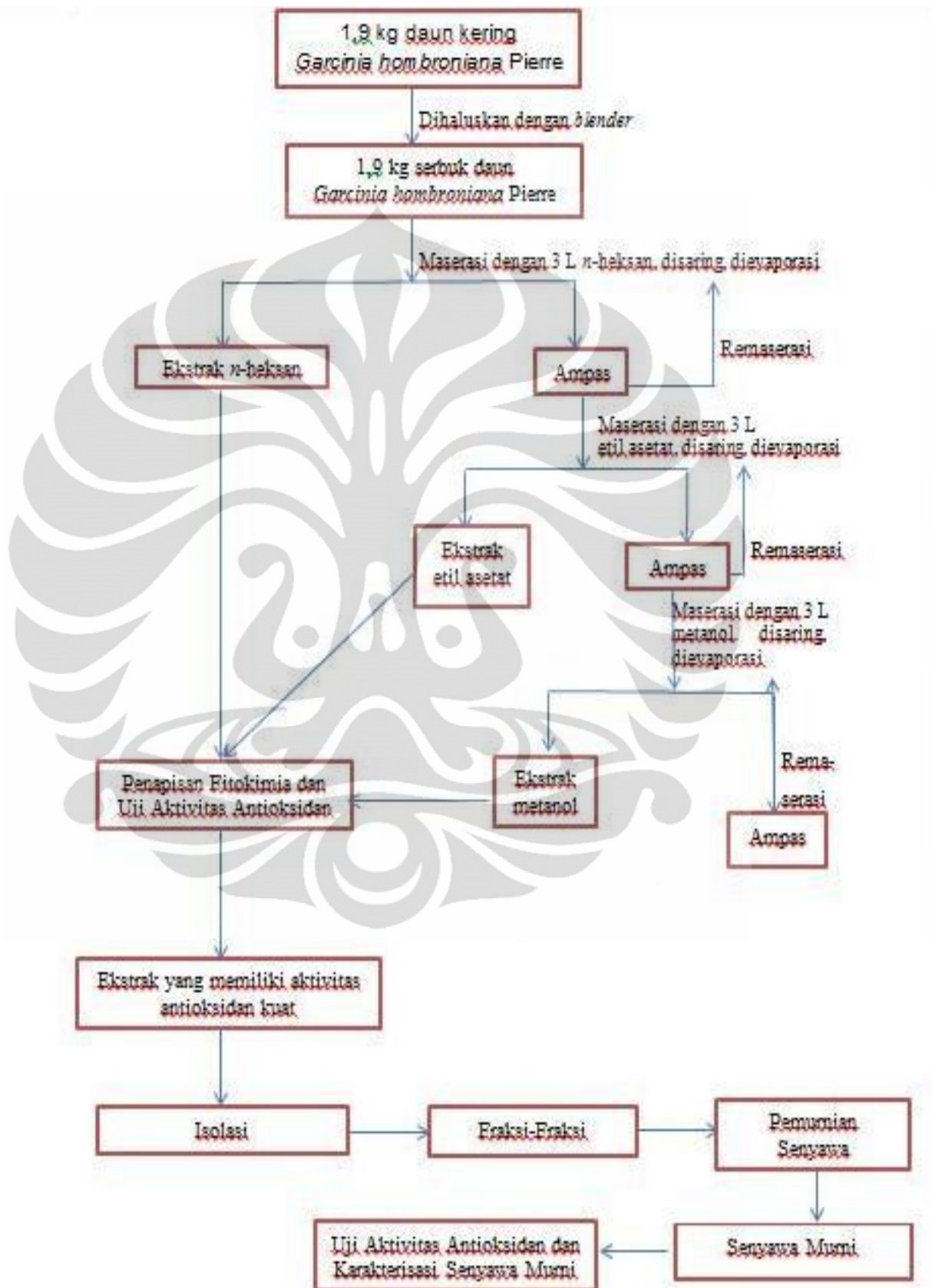
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Manggis Hutan	<i>Garcinia hombroniana</i> Pierre	Clusiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijo Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

Lampiran 2 : Skema Kerja

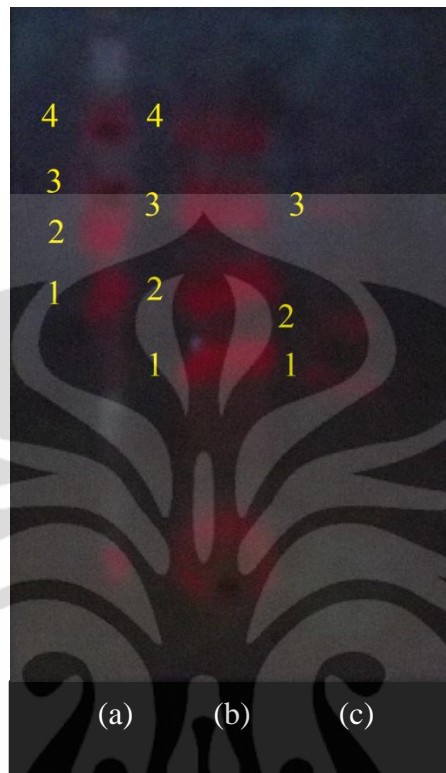


Lampiran 3. Profil KLT

Keterangan:

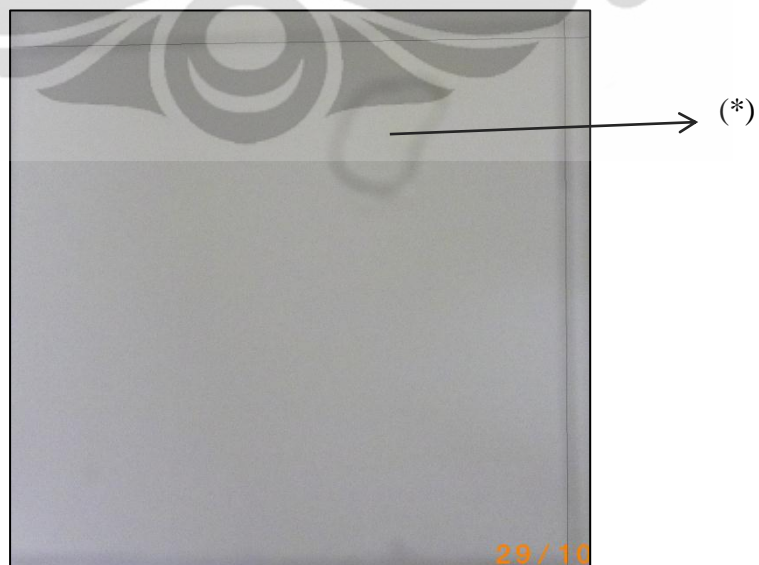
Profil KLT ekstrak metanol (a), etil asetat (b), dan *n*-heksan (c) dengan menggunakan penyemprot DPPH, eluen *n*-heksan : etil asetat (8:2).

Lampiran 3. Profil KLT (lanjutan)



Keterangan:

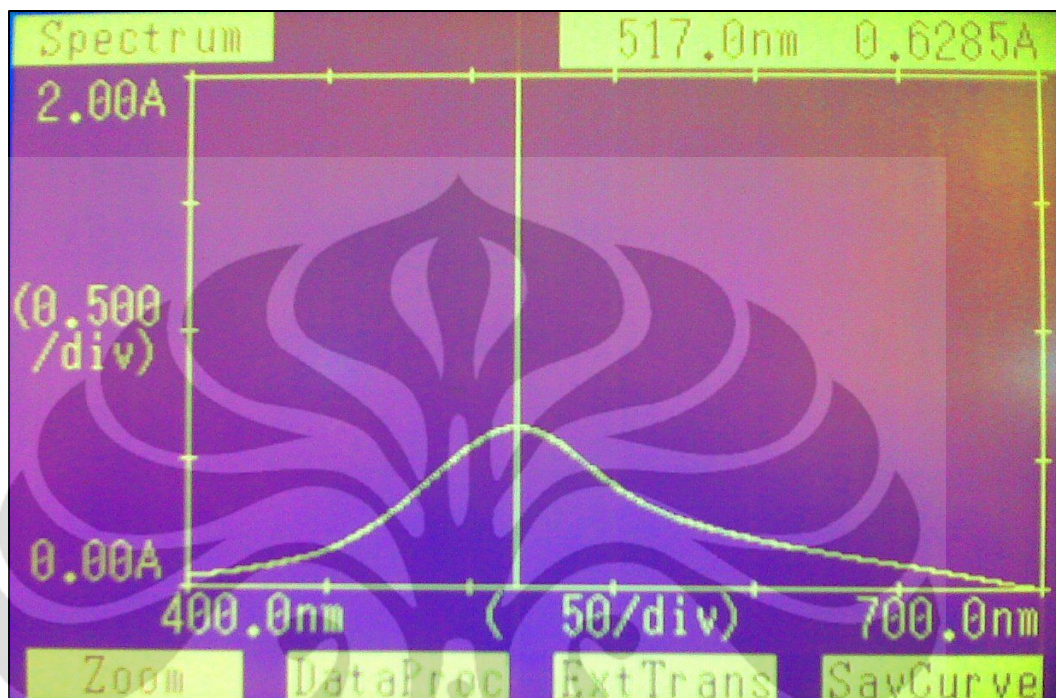
Profil KLT ekstrak etil asetat (a), metanol (b), dan n heksan (c) pada λ 254 nm, eluen *n*-heksan : etil asetat (8:2)



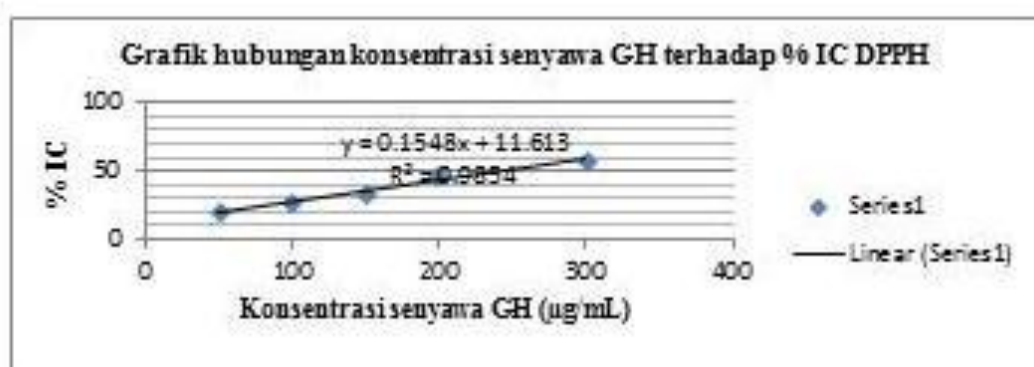
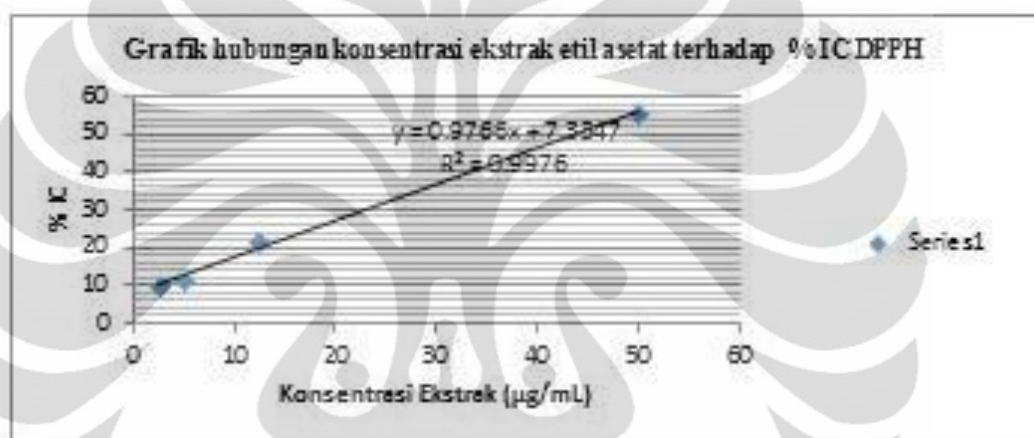
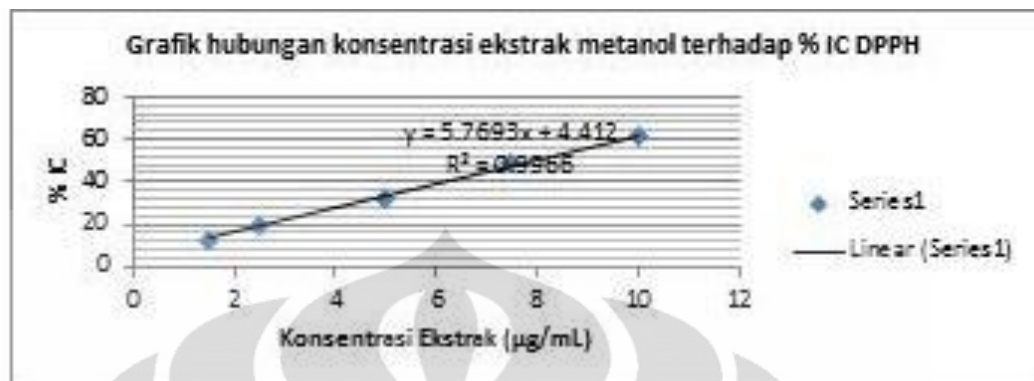
Keterangan : Fase gerak n-heksan: etil asetat= 9:1, dilanjutkan kloroform : n-heksan = 2: 8; Rf : 0,9.

Profil KLT senyawa GH (*) dua arah

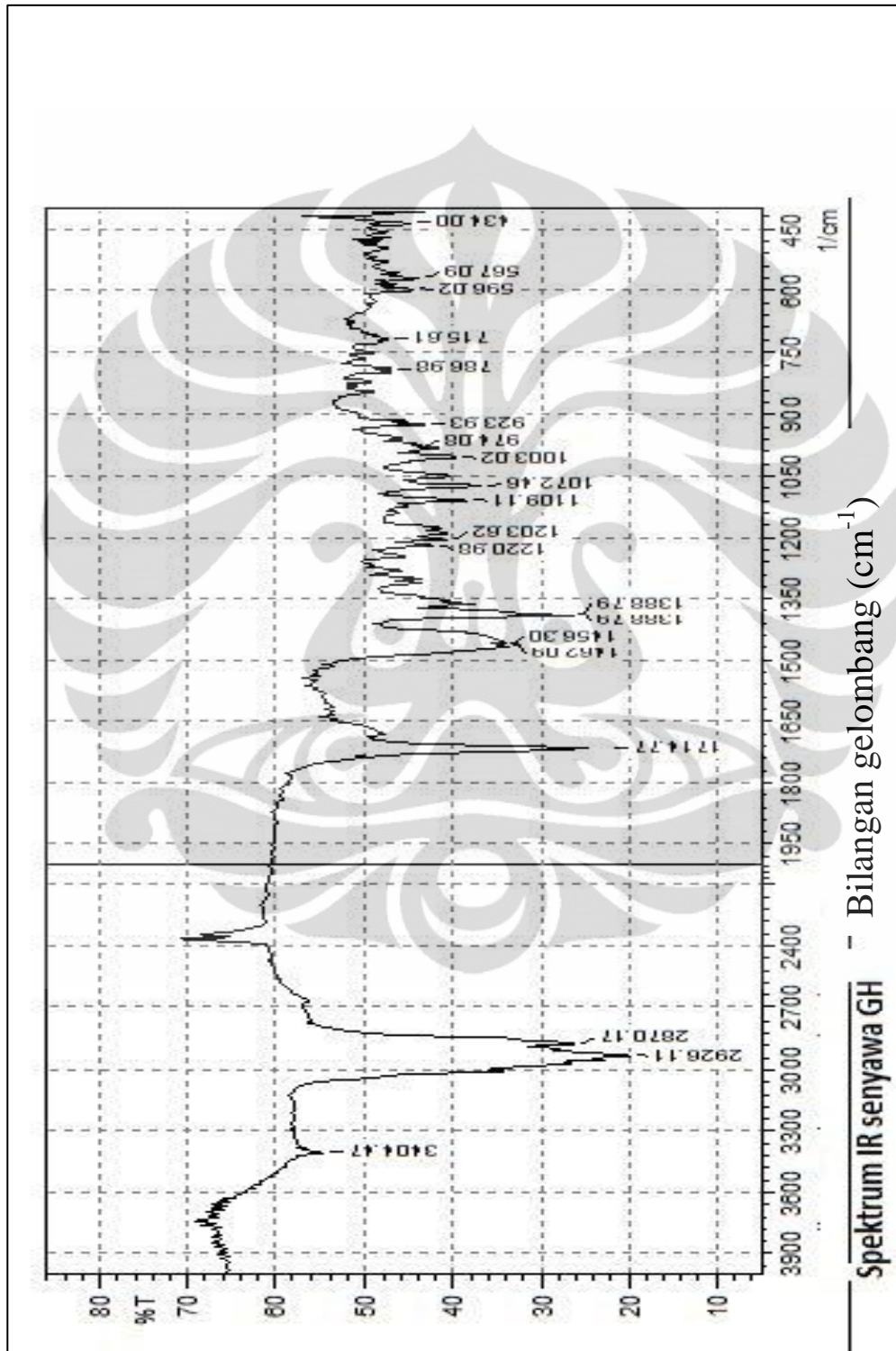
Lampiran 4. Spektrum larutan DPPH 20 $\mu\text{g/mL}$ dalam Metanol pada panjang gelombang optimum (517 nm).



Lampiran 5. Grafik hubungan antara konsentrasi (ekstrak dan isolat) daun *Garcinia hombroniana* Pierre terhadap % IC.

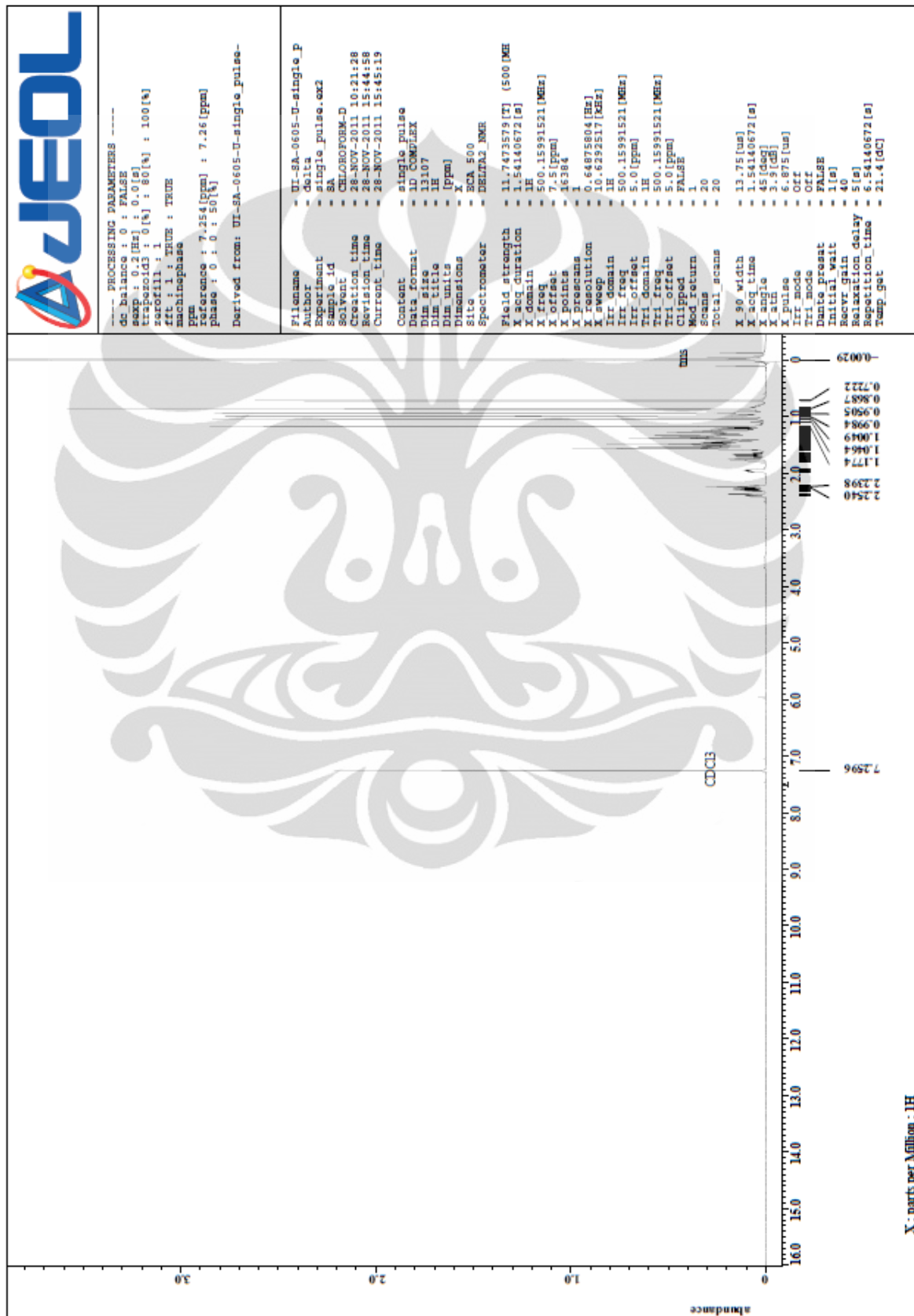


Lampiran 6. Spektrum IR Senyawa GH

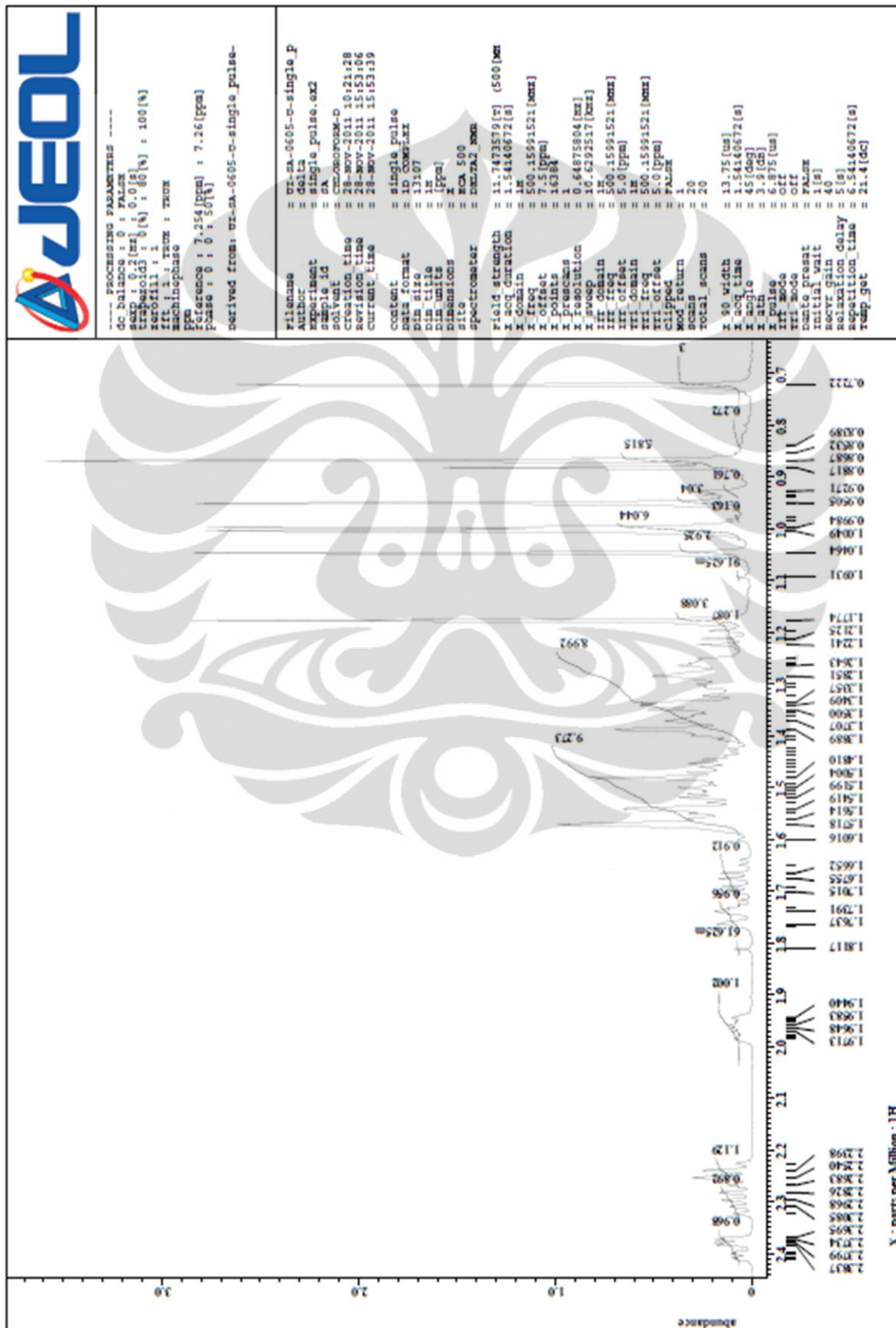


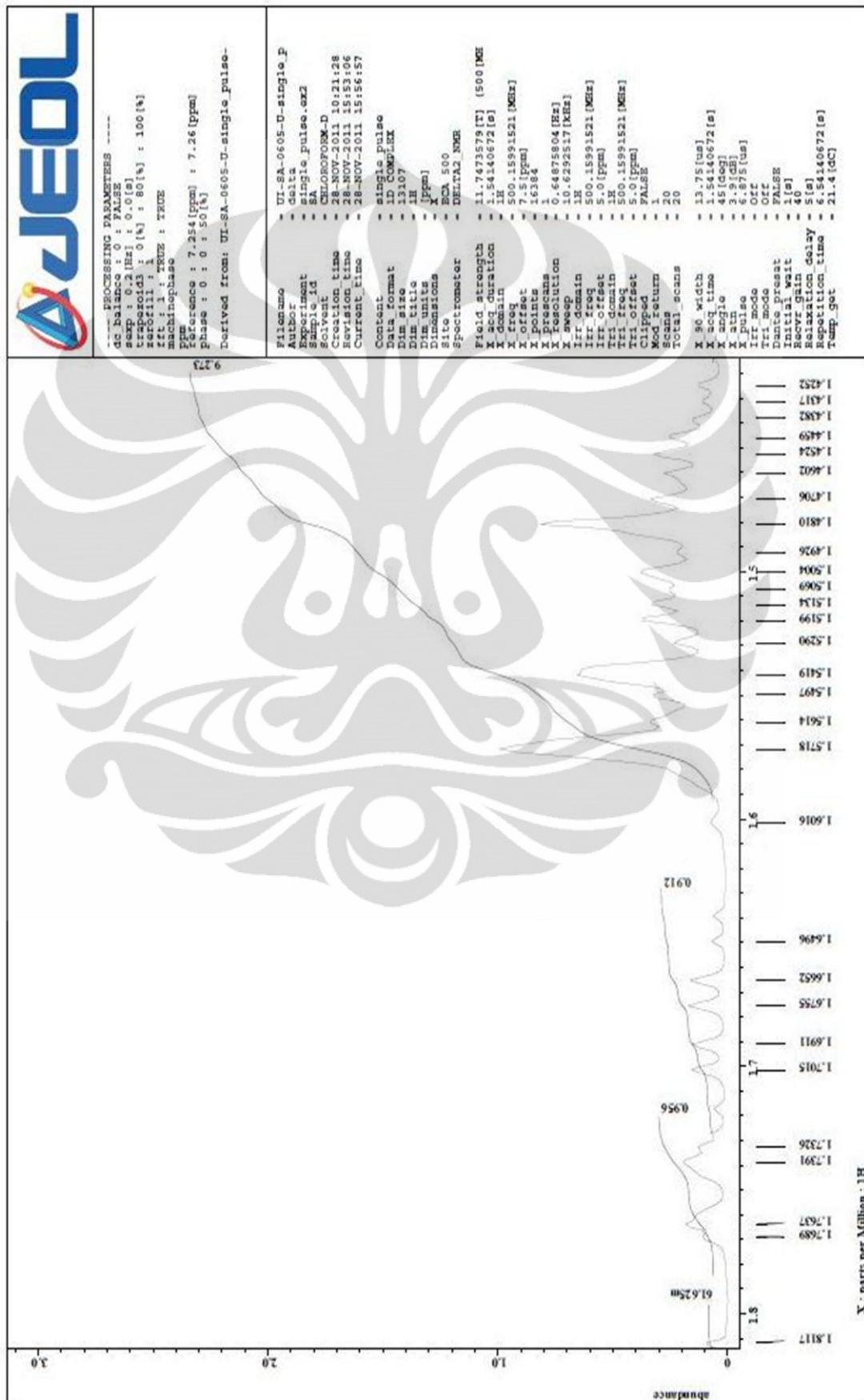
Keterangan :

Data IR memberikan pita serapan pada daerah bilangan gelombang $1714,77 \text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi ulur C=O dan pada bilangan gelombang 2926 cm^{-1} memperlihatkan adanya vibrasi ulur asimetrik ikatan -C-C- alifatik

Lampiran 7. Spektrum ¹HNMR Senyawa GH

Lampiran 7. Spektrum ¹HNMR Senyawa GH (lanjutan)



Lampiran 7. Spektrum ¹HNMR (lanjutan)

Lampiran 7. Spektrum ¹HNMR Senyawa GH (lanjutan)

