

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN
SANTON DARI KULIT BATANG NYAMPLUNG
(*Calophyllum inophyllum* Linn.)



SKRIPSI

Ditulis dan diajukan untuk memenuhi sebagian
persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Sains Kimia

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA

Agustus, 2010
commit to user

HALAMAN PENGESAHAN

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Sebelas Maret Surakarta telah Mengesahkan Skripsi Mahasiswa :

Rosalia Wahyuningsih NIM M0305008, dengan Judul "Isolasi dan Identifikasi
Senyawa Golongan Santon dari Kulit Batang Nyamplung (*Calophyllum*
inophyllum Linn.)"

Skripsi ini dibimbing oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

M. Widyo Wartono, M.Si
NIP. 19760822 200501 1001

Soerya Dewi Marliyana, M.Si
NIP. 19690313 199702 1001

Dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 27 Agustus 2010

Anggota Tim Penguji:

1. Dr.rer.nat Fajar Rakhman Wibowo, M.Si1.
NIP. 19730605 200003 1001
2. I.F. Nurcahyo, M.Si 2.
NIP. 19780617 200501 1001

Disahkan oleh
Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sebelas Maret Surakarta
Ketua Jurusan Kimia

Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D
NIP 19560507 198601 1001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN SANTON DARI KULIT BATANG NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* Linn.)” belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga belum pernah ditulis atau dipublikasikan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, 18 Agustus 2010

ROSALIA WAHYUNINGSIH

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN SANTON DARI
KULIT BATANG NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* Linn.)

ROSALIA WAHYUNINGSIH

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret

ABSTRAK

Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) merupakan spesies dari famili Clusiaceae. Spesies ini dikenal sebagai sumber senyawa metabolit sekunder turunan fenolat khususnya santon. Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi senyawa kimia dari kulit batang *Calophyllum inophyllum* dengan metode maserasi menggunakan metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh dipisahkan dan dimurnikan menggunakan beberapa teknik kromatografi seperti kromatografi vakum cair (silika gel 60 GF₂₅₄), kromatografi kolom (liphophilic sephadex 0,025-0,1 mm), dan kromatografi *flash* (silika gel 60 (0,04-0,063 mm)). Isolat yang diperoleh berupa padatan kuning dengan berat 10 mg. Penentuan struktur molekul dengan analisis UV, IR, ¹H NMR dan dibandingkan dengan senyawa lain yang memiliki data spektrum ¹H NMR yang hampir sama. Berdasarkan hasil analisis data, senyawa kimia yang disarankan adalah 2-hidroksisanton.

Kata Kunci: *Calophyllum inophyllum*, kulit batang, dan 2-hidroksisanton.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF XANTHONE DERIVATE FROM
STEM BARK OF NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* Linn.)

ROSALIA WAHYUNINGSIH

Departement of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Sebelas Maret University

ABSTRACT

Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) belongs to Clusiaceae family. This species is a well-known sources of phenolic secondary metabolites, especially xanthenes. In this research, isolation of xanthone from stem bark of *Calophyllum inophyllum* has been done by maceration method using methanol. The methanol extracts was separated and purified by chromatography techniques such as vacuum liquid chromatography (silica gel 60 GF₂₅₄), column chromatography (liphophilic sephadex 0.025-0.1 mm) and *flash* chromatography (silica gel 60 (0.04-0.063 mm)). The isolate compound was obtained as yellow powder (10 mg). Molecular structure was determined by UV, IR, ¹H NMR analysis and compared with the other compounds which had similiar data in ¹H NMR. Based on the analysis result, the compound suggested as 2-hydroxyxanthone.

Keywords: *Calophyllum inophyllum*, stem bark, and 2-hydroxyxanthone.

MOTTO

"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan kerjakanlah dengan sungguh - sungguh urusan yang lain, dan hanya kepada Allah kamu berharap"
(Q.S Al-Insyirah : 6 - 8)

Pengalaman adalah guru yang terbaik, ia memberikan ujiannya terlebih dahulu baru pelajarannya setelah itu
(Anonim)

Target adalah mimpi yang memiliki batas waktu
(Paul Hanna)

Kemarin adalah mimpi yang telah berlalu, esok hari adalah cita-cita yang indah, dan hari ini adalah kenyataan
(Anonim)

PERSEMBAHAN



Karya kecil ini kupersembahkan kepada :

Allah SWT, Robb Pencipta Alam Semesta dan

Rasul-Nya Muhammad SAW

Bapak dan Ibu

Terima kasih untuk dukungan dan doa serta kasih sayang yang tak terbatas selama ini, meski ananda belum bisa membalasnya, Semoga Allah senantiasa memberikan Anugerah dan Hidayah-Nya kepada Bapak dan Ibu.....Amiiin

Keempat kakak-q ('Mas Agus' & Mb Wening', Mb Ari' & Mas Fajar')

Keponakan-q Nanda, Naura, Vani, Putra

Yang selalu mensupport dan mendoakan-q

Ady Setyawan

yang selalu mendukung, menghibur, memberikan semangat, menemani dalam suka maupun duka, memberikan perhatian dan pengertiannya dan selalu mendoakan-q

commit to user

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan ijin-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Sains dari Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam penyusunan laporan ini, penulis tidak lepas dari bimbingan, pengarahan dan bantuan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Bapak M. Widyo Wartonu M.Si selaku pembimbing I, terimakasih atas bantuan, bimbingan dan kesabarannya membimbing penulis selama melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Soerya Dewi Marliyana, M.Si selaku pembimbing II, yang telah memberikan bimbingan dan arahnya selama penyusunan skripsi ini.
4. Bapak I.F. Nurcahyo, M.Si., selaku Ketua Lab. Dasar Kimia FMIPA UNS.
5. Bapak Achmad Ainurofiq, M.Si, Apt., selaku pembimbing akademis.
6. Staff Lab. Kimia Dasar FMIPA UNS, Mbak Nanik dan Mas Anang.
7. Bapak/Ibu Dosen jurusan Kimia UNS.
8. Teman-teman kimia '05, terima kasih atas dukungan, persaudaraan dan kebersamaan yang berwarna selama ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi hasil yang lebih baik lagi. Penulis juga berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat dan memberi tambahan ilmu bagi pembaca. Amin.

Surakarta, 18 Agustus 2010

commit to user

Rosalia Wahyuningsih

DAFTAR ISI

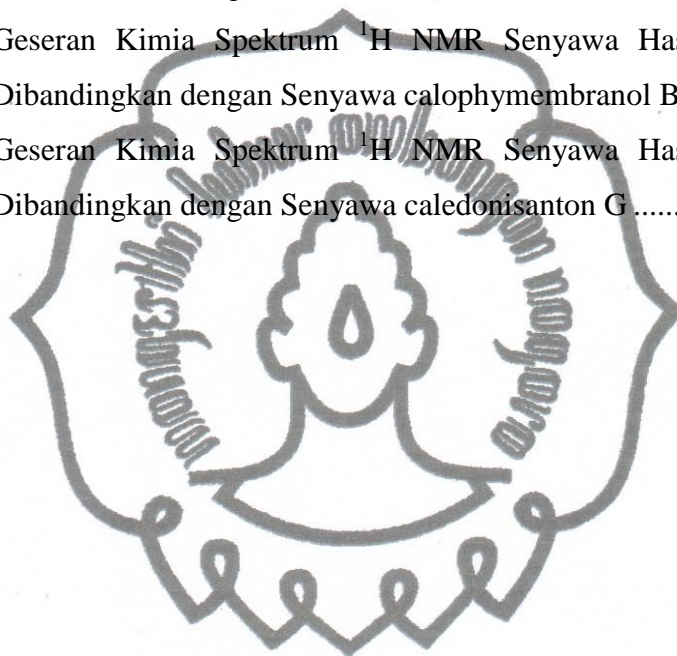
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	2
1. Identifikasi Masalah	2
2. Batasan Masalah	3
3. Rumusan masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. LANDASAN TEORI.....	4
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Tumbuhan Genus <i>Calophyllum</i>	4
2. Tumbuhan Nyamplung (<i>Calophyllum inophyllum</i> Linn.)	6
a. Deskripsi Tumbuhan.....	6
b. Manfaat Tumbuhan.....	7
c. Kandungan Tumbuhan.....	8
1) Santon	8

2) Kumarin	11
3) Triterpenoid	13
4) Steroid.....	14
5) Benzodipiranon.....	15
6) Flavonoid	16
3. Metode Isolasi Senyawa Bahan Alam	17
4. Metode Pemurnian Senyawa	18
a. Kromatografi Vacum Cair (KVC).....	18
b. Kromatografi Flash.....	19
c. Kromatografi Gravitasi.....	20
d. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
5. Spektroskopi.....	22
a. Spektroskopi UV-Vis.....	22
b. Spektroskopi Inframerah (IR).....	23
c. Spektroskopi NMR	25
B. Kerangka Pemikiran	29
C. Hipotesis	30
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	31
A. Metode Penelitian	31
B. Tempat dan Waktu Penelitian	31
C. Alat dan Bahan	31
1. Alat-alat yang digunakan	31
2. Bahan-bahan yang digunakan	31
D. Prosedur Penelitian	32
1. Determinasi tumbuhan <i>Calophyllum inophyllum</i>	32
2. Persiapan sampel tumbuhan <i>Calophyllum inophyllum</i>	33
3. Ekstraksi.....	33
4. Kromatografi Vakum Cair	33
5. Kromatografi Kolom Sephadex	34
6. Kromatografi Flash	34
E. Bagan Alir Cara Kerja.....	35

F. Teknik Pengumpulan dan Analisa Data	37
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. Determinasi Sampel.....	38
B. Ekstraksi Sampel	38
C. Hasil Isolasi dan Pemurnian Senyawa dari Kulit Batang <i>Calophyllum inophyllum</i> L.....	38
D. Identifikasi Struktur Senyawa Isolat	40
1. Analisis Data UV	40
2. Analisis Data Inframerah (IR).....	41
3. Analisis Data ^1H NMR.....	42
BAB V. PENUTUP	49
A. Kesimpulan	49
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Acuan untuk Persiapan Kromatografi Vakum cair	19
Tabel 2. Pergeseran Kimia Beberapa Jenis Inti ^1H	27
Tabel 3. Tetapan Kopling Beberapa Jenis Inti ^1H	28
Tabel 4. Proton-Proton dengan Sistem ABX dan Sistem 1,2-disubstitusi	43
Tabel 5. Geseran Kimia Spektrum ^1H NMR Senyawa Hasil Isolasi Dibandingkan dengan Senyawa calophymembranol B.....	47
Tabel 6. Geseran Kimia Spektrum ^1H NMR Senyawa Hasil Isolasi Dibandingkan dengan Senyawa caledonisanton G	47



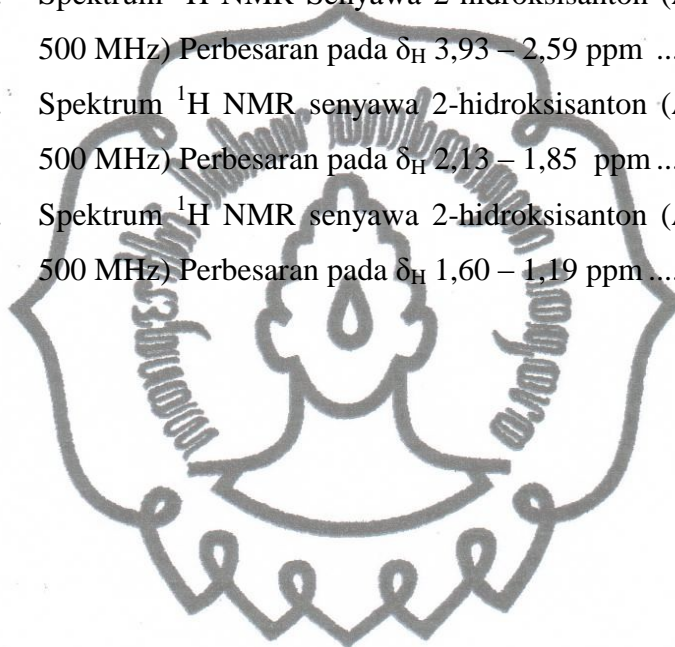
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur senyawa santon dari <i>Calophyllum brasiliensis</i>	5
Gambar 2. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian kulit batang <i>Calophyllum caledonicum</i> dan <i>Calophyllum membranaceum</i>	5
Gambar 3. Struktur senyawa kumarin yang diisolasi dari bagian kulit batang spesies <i>Calophyllum dispar</i> , <i>Calophyllum teysmanni</i> dan <i>Calophyllum brasiliensis</i>	5
Gambar 4. Tumbuhan nyamplung (<i>Calophyllum inophyllum</i> L.)	6
Gambar 5. Kerangka dasar santon	8
Gambar 6. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari akar <i>Calophyllum inophyllum</i>	9
Gambar 7. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari kulit akar <i>Calophyllum inophyllum</i>	10
Gambar 8. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian heartwood <i>Calophyllum inophyllum</i>	10
Gambar 9. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian kayu <i>Calophyllum inophyllum</i>	11
Gambar 10. Kerangka dasar kumarin	12
Gambar 11. Struktur senyawa kumarin yang diisolasi dari daun <i>Calophyllum inophyllum</i>	13
Gambar 12. Struktur senyawa kumarin yang diisolasi dari bagian aerial <i>Calophyllum inophyllum</i>	13
Gambar 13. Kerangka dasar triterpenoid	13
Gambar 14. Struktur senyawa triterpenoid yang diisolasi dari daun <i>Calophyllum inophyllum</i>	14
Gambar 15. Kerangka dasar steroid	14
Gambar 16. Struktur senyawa steroid yang diisolasi dari bagian kayu dan daun <i>Calophyllum inophyllum</i>	15
Gambar 17. Kerangka dasar benzodipiranon	15

Gambar 18.	Struktur senyawa benzodipiranon yang diisolasi dari bagian daun <i>Calophyllum inophyllum</i>	15
Gambar 19.	Kerangka dasar flavonoid	16
Gambar 20.	Struktur senyawa flavonoid yang diisolasi dari kulit akar <i>Calophyllum inophyllum</i>	16
Gambar 21.	Struktur senyawa flavonoid yang diisolasi dari <i>andraecium flower Calophyllum inophyllum</i>	16
Gambar 22.	Hasil analisis KLT fraksi A-G hasil kromatografi vakum cair dengan eluen CHCl_3 : EtOAc (9,5 : 0,5)	39
Gambar 23.	Hasil analisis KLT fraksi F_1 - F_7 hasil kromatografi kolom sephadex dengan eluen CHCl_3 : <i>n</i> -heksana (8 : 2)	39
Gambar 24.	Hasil analisis KLT fraksi F_{4a} - F_{4i} hasil kromatografi flash dengan eluen CHCl_3 : <i>n</i> -heksana : EtOAc (8,5; 1,0; 0,5).....	40
Gambar 25a.	Spektrum UV senyawa isolat dalam pelarut MeOH.....	41
Gambar 25b.	Spektrum UV senyawa isolat dalam pelarut MeOH dengan pereaksi geser NaOH.....	41
Gambar 26.	Spektrum IR senyawa isolat.....	42
Gambar 27.	Spektrum ^1H NMR senyawa isolat (aseton- d_6 , 500 MHz)...	42
Gambar 28.	Spektrum ^1H NMR senyawa isolat perbesaran pada δ_{H} 7,61-7,36 ppm (aseton- d_6 , 500 MHz).....	43
Gambar 29a.	Sistem ABX pada cincin aromatik.....	44
Gambar 29b.	Sistem 1,2-disubstitusi pada cincin benzena	44
Gambar 30.	Kerangka dasar santon	45
Gambar 31a.	Posisi proton pada sistem ABX	45
Gambar 31b.	Posisi proton pada sistem 1,2-disubstitusi cincin benzena ...	45
Gambar 32.	Struktur senyawa hasil isolasi (a), calophymembranol B (b), caledonisanton G (c), tanda lingkaran menunjukkan sistem yang sama dengan senyawa hasil isolasi	47
Gambar 33.	Struktur senyawa 2-hidroksisanton hasil isolasi	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan <i>Calophyllum inophyllum</i> L ...	54
Lampiran 2. Spektrum ^1H NMR Senyawa 2-hidroksisanton (Aseton- d_6 , 500 MHz) Perbesaran pada δ_{H} 8,24 – 1,18 ppm	55
Lampiran 3. Spektrum ^1H NMR Senyawa 2-hidroksisanton (Aseton- d_6 , 500 MHz) Perbesaran pada δ_{H} 3,93 – 2,59 ppm	55
Lampiran 4. Spektrum ^1H NMR senyawa 2-hidroksisanton (Aseton- d_6 , 500 MHz) Perbesaran pada δ_{H} 2,13 – 1,85 ppm	56
Lampiran 5. Spektrum ^1H NMR senyawa 2-hidroksisanton (Aseton- d_6 , 500 MHz) Perbesaran pada δ_{H} 1,60 – 1,19 ppm	56



BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia adalah negara yang memiliki beraneka ragam flora hayati yang mempunyai potensi dalam bidang pengobatan tradisional. Salah satu tumbuhan tersebut berasal dari famili Clusiaceae dari genus *Calophyllum*. Salah satu spesiesnya adalah *Calophyllum inophyllum* Linn atau yang sering dikenal sebagai nyamplung. Manfaat tumbuhan *Calophyllum inophyllum* dalam pengobatan tradisional yaitu getahnya dapat digunakan sebagai obat reumatik, sementara air rendaman daunnya dapat untuk mengobati peradangan pada mata dan bijinya dapat digunakan untuk obat gatal, koreng dan penumbuh rambut (Heyne, 1987).

Kelompok senyawa bahan alam yang telah diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* cukup beragam, dilihat dari kerangka yang ada senyawa yang diisolasi adalah senyawa santon, kumarin, kroman, triterpenoid, steroid dan ploroglusinol (Noldin *et al.*, 2006; Su *et al.*, 2008). Senyawa turunan santon dan kumarin merupakan senyawa yang paling banyak dilaporkan.

Penelitian yang pernah dilakukan dari spesies *Calophyllum inophyllum* menunjukkan bahwa belum keseluruhan bagian dari spesies ini yang diteliti. Penelitian mengenai komponen kimia yang terkandung dalam tumbuhan *Calophyllum inophyllum* banyak dilakukan di luar negeri. Senyawa santon berhasil diisolasi dari bagian kulit akar yang dikoleksi dari Jepang (Inuma *et al.*, 1994, 1995), Kamerun (Yimdjo, *et al.*, 2004; Hay, *et al.*, 2004) dan Malaysia (Ee, *et al.*, 2009). Senyawa tersebut juga ditemukan pada kayu bagian dalam dari Malaysia (Jebouri, *et al.*, 1971; Goh, *et al.*, 1991) dan kayu yang berasal dari Sri Lanka (Kumar, *et al.*, 1976). Senyawa kumarin ditemukan pada bagian daun yang berasal dari Jepang (Kawazu, *et al.*, 1968; Ito, *et al.*, 2003; Patil, *et al.*, 1993; Shen, *et al.*, 2003 dalam Su, *et al.*, 2008). Senyawa triterpenoid dan benzodipiranon berhasil diisolasi pada bagian daun yang berasal dari India dan Pakistan (Ali, *et al.*, 1999; Khan, *et al.*, 1996).

commit to user

Senyawa yang telah diisolasi dari bagian kulit batang *Calophyllum inophyllum* belum banyak yang dilaporkan. Penelitian yang lain dengan menggunakan bagian yang sama namun berbeda spesies yang pernah dilaporkan diantaranya dari spesies *Calophyllum paniciform* yang dikoleksi dari Jepang telah diisolasi senyawa biflavonoid menggunakan metode refluks (Ito, *et. al.*, 1999), dan dari *Calophyllum brasiliensis* ditemukan tujuh senyawa santon menggunakan metode maserasi (Ito, *et. al.*, 2002). Penelitian di Perancis dari *Calophyllum dispar* telah diisolasi senyawa kumarin (Guilet, *et. al.*, 2001) dan tiga belas senyawa santon telah diisolasi dari *Calophyllum caledonicum*, dimana keduanya menggunakan metode soxhlet (Morel, *et. al.*, 2002). Penelitian tumbuhan *Calophyllum membranaceum* yang dikoleksi dari Cina telah diisolasi tiga senyawa santon dengan metode perkolasi (Zou, 2005).

Penelitian yang telah dilakukan dari spesies *Calophyllum inophyllum* menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang terdapat pada bagian kayu, kayu bagian dalam, kulit akar, dan akar merupakan senyawa golongan santon. Senyawa golongan santon juga ditemukan pada bagian kulit batang dari spesies lain namun masih satu genus. Pendekatan kemotaksonomi memungkinkan terjadi persamaan senyawa kimia yang terkandung dalam satu genus berbeda spesies walaupun tidak menutup kemungkinan ditemukannya senyawa kimia baru. Perbedaan bagian tumbuhan yang diisolasi juga dapat memberikan perbedaan atau persamaan senyawa yang diperoleh dengan senyawa yang pernah dilaporkan. Berdasarkan pendekatan kemotaksonomi tidak menutup kemungkinan senyawa golongan santon juga terdapat pada kulit batang *Calophyllum inophyllum*. Oleh sebab itu, pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa golongan santon dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*.

B. Perumusan Masalah

1. Identifikasi Masalah

Penelitian senyawa golongan santon dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* yang telah dilaporkan menggunakan sampel yang berasal dari luar negeri sedangkan untuk sampel tumbuhan yang ada di Indonesia belum banyak yang dilaporkan.

Isolasi senyawa golongan santon dapat dilakukan dengan beberapa metode. Metode isolasi yang banyak digunakan diantaranya metode ekstraksi (maserasi, perkolasi, sokhlet) dan destilasi sedangkan untuk pemisahan senyawanya digunakan metode kromatografi. Senyawa golongan santon yang diisolasi dari spesies *Calophyllum inophyllum* kebanyakan berupa senyawa golongan santon teroksigenasi dan terprenilasi. Senyawa golongan santon teroksigenasi lebih cenderung bersifat polar sedangkan senyawa santon terprenilasi cenderung bersifat nonpolar. Isolasi yang akan dilakukan untuk mengambil semua senyawa golongan santon baik yang bersifat polar maupun nonpolar sehingga diperlukan suatu metode isolasi yang tepat untuk mengisolasi keduanya.

Identifikasi struktur senyawa golongan santon dapat dilakukan dengan berbagai metode spektroskopi seperti spektroskopi UV-Vis, spektroskopi inframerah (IR), spektroskopi resonansi magnet inti (NMR), dan spektroskopi massa (MS). Senyawa golongan santon yang dipisahkan dan dimurnikan dengan kromatografi memiliki kemurnian yang cukup tinggi dan tidak bersifat volatil sehingga diperlukan metode spektroskopi yang tepat untuk mengidentifikasi strukturnya.

2. Batasan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah di atas, maka masalah dalam penelitian ini dibatasi oleh:

- a. Kulit batang tumbuhan spesies *Calophyllum inophyllum* yang digunakan berasal dari daerah Klaten.

- b. Isolasi dilakukan dengan cara maserasi dan pemisahan dengan KVC, kromatografi kolom dan kromatografi *flash*.
- c. Identifikasi senyawa golongan santon dilakukan dengan metode spektroskopi UV-Vis, inframerah (IR), dan NMR.

3. Rumusan Masalah

- a. Apakah senyawa golongan santon dapat diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*?
- b. Bagaimana struktur senyawa golongan santon yang diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- 1. Mengisolasi senyawa golongan santon yang terkandung dalam kulit batang *Calophyllum inophyllum*.
- 2. Mengidentifikasi struktur senyawa golongan santon yang berhasil diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah memberikan informasi dan menambah referensi mengenai senyawa golongan santon yang terkandung dalam kulit batang *Calophyllum inophyllum*.

BAB II

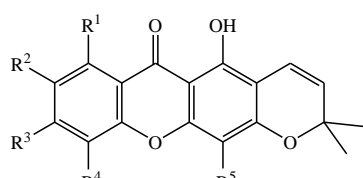
LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Tumbuhan Genus *Calophyllum*

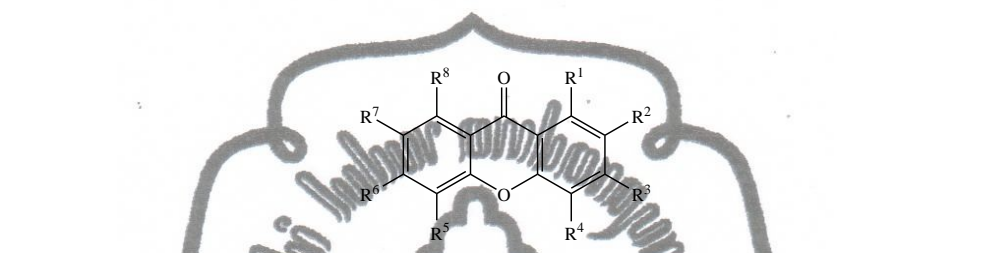
Calophyllum (dari bahasa Yunani: *kalos* yang artinya cantik, dan *phullon* yang artinya daun) adalah genus dari sekitar 180-200 spesies tumbuhan hijau dari familia Clusiaceae (Su, *et. al.*, 2008). Bagian tertentu dari genus *Calophyllum* dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional, antara lain getah dari *C. inophyllum* dapat digunakan sebagai obat reumatik, sementara air rendaman dari daun *C. inophyllum* ini dapat untuk mengobati peradangan pada mata (Heyne, 1987).

Senyawa turunan santon dan kumarin merupakan senyawa yang paling banyak dilaporkan (Su, *et. al.*, 2008). Senyawa kimia yang berhasil diisolasi dari genus *Calophyllum* memiliki aktivitas biologi diantaranya senyawa santon pada spesies *Calophyllum brasiliensis* yaitu brasisantone A – B memiliki aktivitas antikanker (10-11) (Ito, *et. al.*, 2002). Struktur senyawa santon yang telah diisolasi dari *Calophyllum brasiliensis* ditunjukkan oleh Gambar 1. Senyawa 5-hidroksi-8-metoksisanton (12) dan 3,5-dihidroksi-1,2-dimetoksisanton (13) dari spesies *Calophyllum caledonicum* memiliki aktivitas antimalaria (Hay, *et. al.*, 2004). Senyawa santon dari spesies *Calophyllum membranaceum* yaitu 2,6-dihidroksi-1,7-dimetoksisanton atau calophymembranol A (14), 2,6-dihidroksi-5-metoksisanton atau calophymembranol B (15) memiliki aktivitas anti-HIV (Zou, *et. al.*, 2005). Struktur senyawa santon dari spesies *Calophyllum caledonicum* dan *Calophyllum membranaceum* ditunjukkan pada Gambar 2. Senyawa kumarin yang diisolasi dari spesies *Calophyllum dispar* yaitu senyawa disparacetylfuran A (16) menunjukkan aktivitas sitotoksik (Guilet, *et. al.*, 2001), senyawa calanolid F (17) dari spesies *Calophyllum teysmannii* memiliki aktivitas anti-HIV (McKee, *et. al.*, 1996) dan senyawa brasimarin A (18) dari spesies *Calophyllum brasiliensis* memiliki aktivitas antikanker (Ito, *et. al.*, 2003). Struktur senyawa kumarin dari spesies *Calophyllum dispar*, *Calophyllum teysmannii*, dan *Calophyllum brasiliensis* ditunjukkan pada Gambar 3.



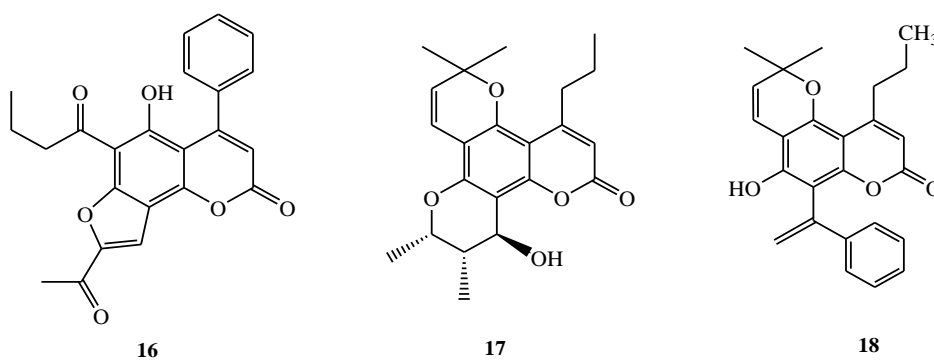
No	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
10	H	isoprenil	OH	OMe	H
11	H	OH	H	H	isoprenil

Gambar 1. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian kulit batang *Calophyllum brasiliensis*



No	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸
12	H	H	H	H	OH	H	H	OMe
13	OMe	OMe	OH	H	OH	H	H	H
14	H	OMe	OH	H	H	H	OH	OMe
15	H	H	OH	OMe	H	H	OH	H

Gambar 2. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian kulit batang *Calophyllum caledonicum* dan *Calophyllum membranaceum*



Gambar 3. Struktur senyawa kumarin dari yang diisolasi dari bagian kulit batang spesies *Calophyllum dispar*, *Calophyllum teysmannii*, dan *Calophyllum brasiliensis*

2. Tumbuhan Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn)

a. Deskripsi tumbuhan

Salah satu spesies dari genus *Calophyllum* yaitu nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn). Kelompok pohon ini tersebar di seluruh daerah tropis khususnya di sepanjang pantai dan biasanya tumbuh mengelompok. Tinggi pohon dapat mencapai 20 m. Akarnya berupa akar tunggang. Daun tumbuhan berukuran berwarna mengkilap, tunggal, bersilang berhadapan, bulat memanjang atau bulat telur, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 10-21 cm, lebar 6-11 cm, panjang tangkai 1,5-2,5 cm.

Secara umum, buah dari *Calophyllum inophyllum* berbentuk seperti bola, waktu muda hijau muda, semakin tua menjadi hijau tua agak kebiru-biruan, warna berubah menjadi kuning ketika masak dan mempunyai diameter 2,5-3,5cm. Bunga dari tanaman ini merupakan bunga majemuk, berbentuk tandan, di ketiak daun yang teratas, berkelamin dua, diameter 2-3 cm, berjumlah tujuh sampai tiga belas, daun berkelopak empat, tidak beraturan, benang sari banyak, tangkai putik membengkok, kepala putik bentuk perisai, daun bermahkota empat, lonjong dan berwarna putih. Gambar tumbuhan nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn) ditunjukkan oleh Gambar 4 berikut :



Gambar 4. Tumbuhan nyamplung

Klasifikasi tumbuhan

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub-kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Theales
Familia	: Clusiaceae/Gutiferae
Genus	: <i>Calophyllum</i>
Spesies	: <i>Calophyllum inophyllum</i> L.

(Heyne, 1987)

b. Manfaat tumbuhan

Tumbuhan nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan dalam pengobatan tradisional. Biji buah nyamplung merupakan sumber obat-obatan tradisional (obat gatal, koreng, penumbuh rambut, dsb). Bijinya setelah diolah menjadi minyak bermanfaat untuk plitur, minyak rambut, minyak urut, berkhasiat juga untuk obat urus-urus dan rematik. Getahnya dapat disadap untuk mendapatkan minyak yang diindikasikan berkhasiat untuk menekan pertumbuhan virus HIV. Daunnya berkhasiat sebagai obat oles untuk sakit encok, bahan kosmetik untuk perawatan kulit, penyembuhan luka, seperti luka bakar dan luka potong. Bunganya dapat digunakan sebagai campuran untuk mengharumkan minyak rambut (Heyne, 1987).

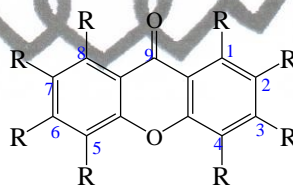
Senyawa kumarin yang dilaporkan dari spesies *Calophyllum inophyllum* menunjukkan aktivitas penghambat virus HIV (Patil, *et. al.*, 1993), aktivitas sitotoksik (Yimdjo, *et. al.*, 2004) dan anti inflammatory (Dweck, 2002). Senyawa santon dari spesies *Calophyllum inophyllum* menunjukkan aktivitas sitotoksik dan anti mikroba (Noldin, *et. al.*, 2006) serta anti inflammatory (Dweck, 2002).

c. Kandungan tumbuhan

Kandungan kimia yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan nyamplung sebagian besar merupakan senyawa aromatik seperti senyawa turunan santon (1) (Iinuma, *et. al.*, 1994, 1995), kumarin (2) (Patil, *et. al.*, 1993; Kawazu, *et. al.*, 1986; Ito, *et. al.*, 1999; Shen, *et. al.*, 2003), benzodipiranon (4) (Cao, *et. al.*, 1997; Ito, *et. al.*, 1999), triterpenoid (5) (Yimdjo, *et. al.*, 2004; Kumar, *et. al.*, 1976), steroid (6) (Su, *et. al.*, 2008), dan flavonoid (9) (Iinuma, *et. al.*, 1994).

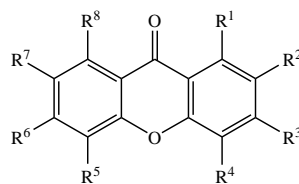
1) Santon

Santon merupakan senyawa dengan kerangka dasar dua fenil yang dihubungkan dengan jembatan karbonil dan oksigen (eter). Biosintesis senyawa santon belum diketahui secara jelas namun diduga masih berhubungan dekat dengan biosintesis senyawa flavonoid dan stilbenoid. Senyawa santon yang diisolasi dari tumbuhan genus *Calophyllum* ada yang terprenilasi dan ada juga yang tidak terprenilasi. Kebanyakan senyawa santon yang diisolasi dari *Calophyllum* menunjukkan adanya ciri khas, salah satunya adalah gugus hidroksi pada C1. Gambar kerangka dasar senyawa santon (C₆-C₁-C₆) ditunjukkan pada Gambar 5 di bawah ini.



Gambar 5. Kerangka dasar santon

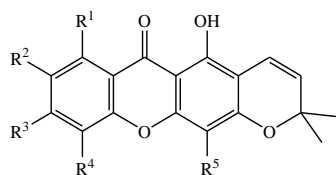
Senyawa dari golongan santon banyak diisolasi dari bagian akar, kulit akar, *heartwood*, dan kayu. Senyawa santon yang dapat diisolasi dari bagian akar yaitu 1,3,8-trihidroksi-7-metoksisanton (19), 1,3-dihidroksi-7,8-metoksisanton (20), 6-hidroksi-1,5-dimetoksisanton (21), 1,3,5-trihidroksi-2-metoksisanton (22) (Iinuma *et al.*, 1995). Struktur senyawa santon yang telah diisolasi dari akar *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan oleh Gambar 6 berikut.



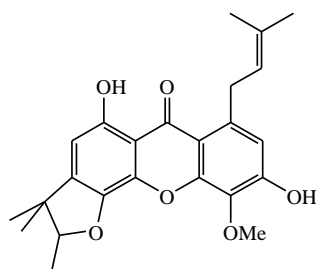
No	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸
19	OH	H	OH	H	H	H	OMe	OH
20	OH	H	OH	H	H	H	OMe	Ome
21	OMe	H	H	H	OMe	OH	H	H
22	OH	OMe	OH	H	OH	H	H	H

Gambar 6. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian akar *Calophyllum inophyllum*

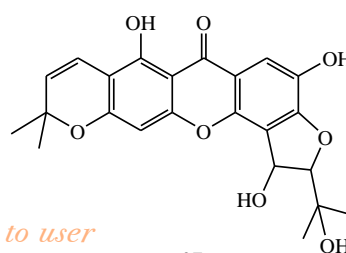
Bagian lain dari spesies *Calophyllum inophyllum* yang mengandung senyawa santon yaitu bagian kulit akar. Beberapa senyawa santon tersebut diantaranya: calosanton A (23), calosanton C (24), 3-hidroksiblankosanton (Maclurasanton) (25), calosanton B (26) (Inuma *et al.*, 1994; Yimdjo *et al.*, 2004), calosanton D (27), calosanton E (28) (Inuma *et al.*, 1995), 1,5-dihidroksisanton (29) (Inuma *et al.*, 1994; Yimdjo *et al.*, 2004). Struktur senyawa santon yang telah diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan oleh Gambar 7.



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
23	H	OH	OH	isoprenil	H
24	H	H	H	OH	CH ₂ =CHC(Me) ₂
25	H	H	OH	OH	CH ₂ =CHC(Me) ₂

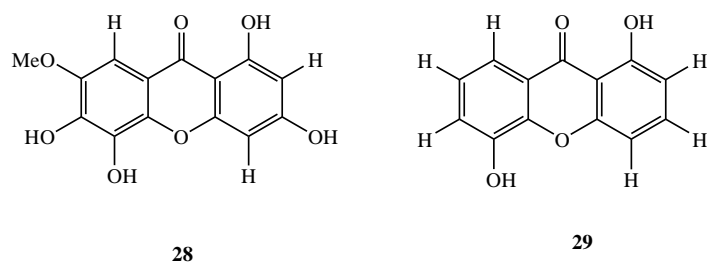


26



27

commit to user



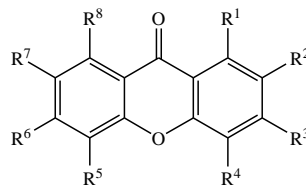
Gambar 7. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum*

Senyawa santon yang telah berhasil diisolasi dari bagian *heartwood* terbagi dalam santon terprenilasi dan tidak terprenilasi. Senyawa santon seperti 1,7 dihidroksisanton (30), 1,5,6-trihidroksisanton (31), 1,6-dihidroksi-5-metoksisanton (32), 6-dehidroksijacareubin, 2-(3,3-dimetilalil)-1,3,5-trihidroksisanton (33). Gambar senyawa golongan santon yang telah diisolasi dari bagian *heartwood Calophyllum inophyllum* ditunjukkan oleh Gambar 8.

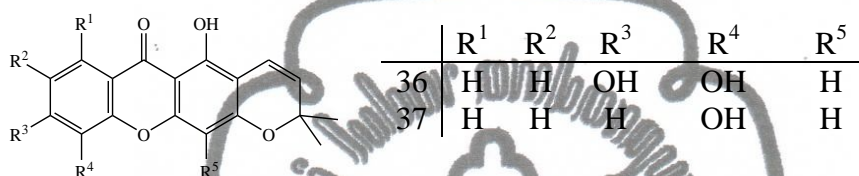
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸
30	OH	H	H	H	H	H	OH	H
31	OH	H	H	H	OH	OH	H	H
32	OH	H	H	H	MeO	OH	H	H
33	OH	isoprenil	OH	H	OH	H	H	H

Gambar 8. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian *heartwood Calophyllum inophyllum*

Senyawa santon lain juga dapat diisolasi dari bagian kayu yaitu 1,7-dihidroksi-3,6-dimetoksisanton (34) dan 6-(3',3'-dimetilalil)-1,5 dihidroksisanton (35), jacareubin (36), 6-dehidroksijacareubin (37) (Kumar *et al.*, 1976). Struktur senyawa golongan santon yang telah diisolasi dari bagian kayu *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan oleh Gambar 9.



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸
34	OH	H	OMe	H	H	OMe	OH	H
35	OH	H	H	H	OH	isoprenil	H	H

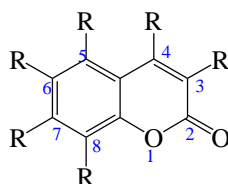


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
36	H	H	OH	OH	H
37	H	H	H	OH	H

Gambar 9. Struktur senyawa santon yang diisolasi dari bagian kayu *Calophyllum inophyllum*

2) Kumarin

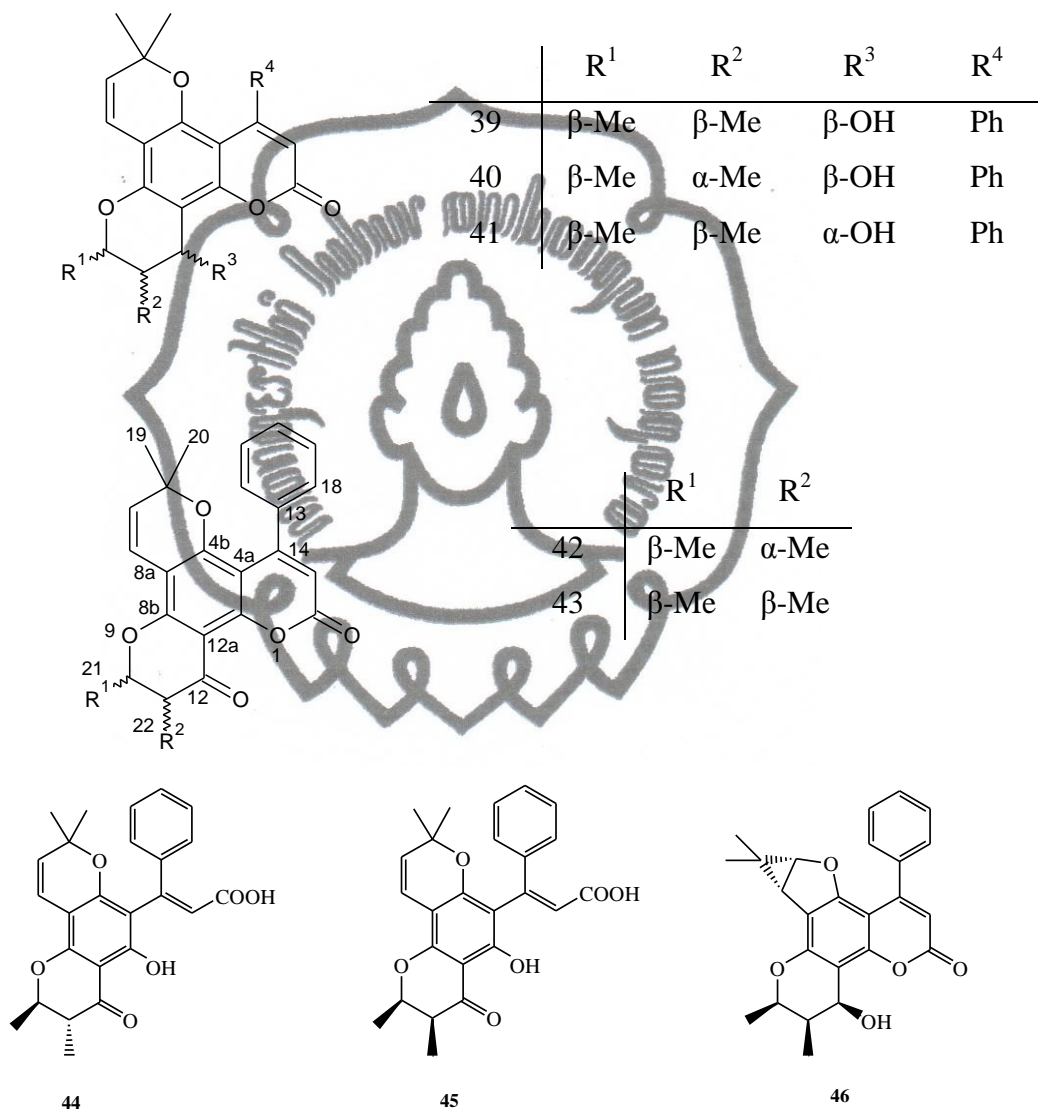
Senyawa bahan alam yang juga banyak diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* adalah golongan kumarin. Ciri khas senyawa ini adalah adanya gugus lakton yang terbentuk dari asam pada ujung gugus propan dengan hidroksi pada gugus fenil. Senyawa kumarin yang diisolasi dari genus *Calophyllum* memiliki ciri khas dengan adanya tambahan gugus prenil. Gambar kerangka dasar dari senyawa kumarin ditunjukkan pada Gambar 10.



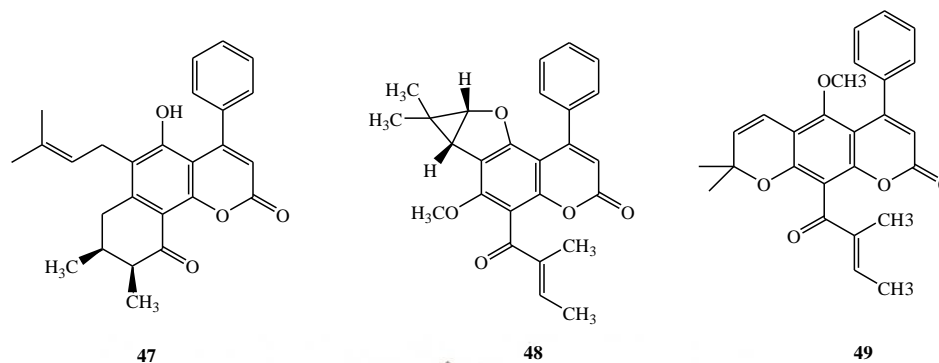
Gambar 10. Kerangka dasar kumarin

Senyawa kumarin dari bagian daun spesies *Calophyllum inophyllum* yang telah diisolasi yaitu inophyllum A (39), inophyllum B (40), inophyllum D (41), inophyllum C (42), inophyllum E (43), asam calophyllic (44), asam isocalophyllic (45), inophyllum G-1 (46) (Patil, *et. al.*, 1993; Kawazu, *et. al.*,

1968) dan dari bagian *aerial* spesies yang sama diisolasi senyawa calocoumarin A-B (47-48), dan apetatolide (49) (Itoigawa, *et. al.*, 2001). Struktur senyawa kumarin dari daun *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan pada Gambar 11 sedangkan struktur senyawa kumarin dari bagian aerial *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan pada Gambar 12.



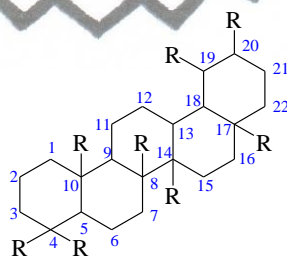
Gambar 11. Struktur senyawa kumarin dari daun *Calophyllum inophyllum*



Gambar 12. Struktur senyawa kumarin dari bagian *aerial Calophyllum inophyllum*

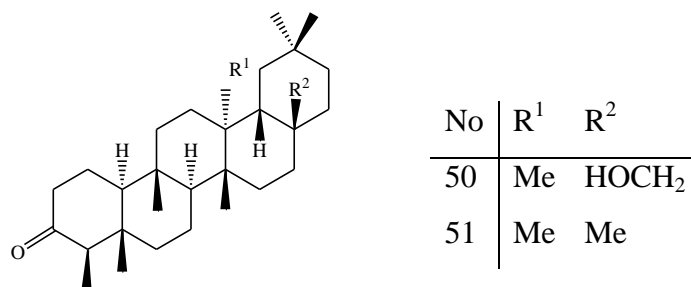
3) Triterpenoid

Triterpenoid merupakan golongan senyawa terpenoid yang terdiri dari 30 atom C atau 6 unit isopren. Triterpenoid dalam jaringan tumbuhan dapat dijumpai dalam bentuk bebasnya, tetapi juga banyak dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Triterpenoid yang paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik. Kerangka yang paling banyak dijumpai pada senyawa golongan triterpenoid adalah ursan, lupan, oleanan dan friedelin. Gambar 13 menunjukkan kerangka dasar senyawa triterpenoid (Kristanti dkk, 2008).



Gambar 13. Kerangka dasar triterpenoid

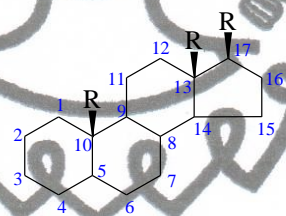
Golongan senyawa triterpenoid yang telah diisolasi dari daun spesies *C. inophyllum* yaitu canophyllol (50) dan friedelin (51) (Ali, *et. al.*, 1999; Govindanchari, *et. al.*, 1967). Friedelin juga diisolasi dari kulit akar *C. inophyllum* (Yimdjo, *et. al.*, 2004). Gambar struktur senyawa golongan triterpenoid yang telah diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan pada Gambar 14 di bawah ini.



Gambar 14. Struktur senyawa triterpenoid yang telah diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum*

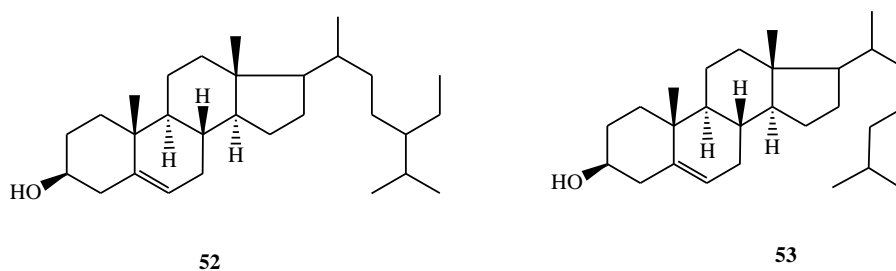
4) Steroid

Sterol adalah steroid yang memiliki gugus hidroksi pada C-3 nya. Sterol dijumpai dalam bentuk bebas ataupun bergabung dengan glukosa membentuk glikosida (sterolin) atau sebagai ester asam lemak. Sterol merupakan senyawa bahan alam yang umumnya tersusun dari 27 atom karbon. Gambar 15 menunjukkan kerangka dasar senyawa steroid (Kristanti dkk, 2008).



Gambar 15. Kerangka dasar steroid

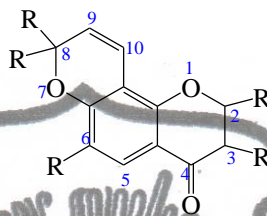
Pada tumbuhan *C. inophyllum* jenis sterol yang telah diisolasi adalah sitosterol (52). Sitosterol ini diisolasi dari bagian kayu (Kumar, *et. al.*, 1976) dan bagian dalam kayu yang tua (Goh, *et. al.*, 1991). Sedangkan kolesterol (53) diisolasi dari bagian daun *C. inophyllum* (Ali, *et. al.*, 1962). Struktur senyawa steroid yang telah diisolasi dari *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan pada Gambar 16.



Gambar 16. Struktur senyawa steroid yang diisolasi dari bagian kayu dan daun dari *Calophyllum inophyllum*

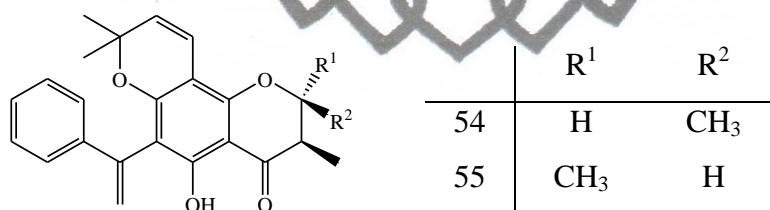
5) Benzodipiranon

Senyawa lainnya dari *C. inophyllum* yaitu senyawa dengan kerangka benzodipiranon. Senyawa-senyawa ini memiliki kerangka yang mirip dengan stilben dengan tambahan dua gugus prenil. Gambar 17 menunjukkan kerangka dasar senyawa benzodipiranon.



Gambar 17. Kerangka dasar benzodipiranon

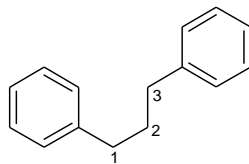
Senyawa benzodipiranon dari tumbuhan *C. inophyllum* diisolasi dari bagian daun. Senyawa-senyawa tersebut adalah (2*S*,3*R*)-2,3-dihidro-5-hidroksi-2,3,8,8-tetrametil-6-(1-feniletetil)-4*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*] dipiran-4-on (54) dan (2*R*,3*R*)-2,3-dihidro-5-hidroksi-2,3,8,8-tetrametil-6-(1-feniletetil)-4*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*] dipiran-4-on (55) (Khan, *et. al.*, 1996). Gambar struktur senyawa benzodipiranon dari daun *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan pada Gambar 18.



Gambar 18. Struktur senyawa benzodipiranon dari bagian daun *Calophyllum inophyllum*

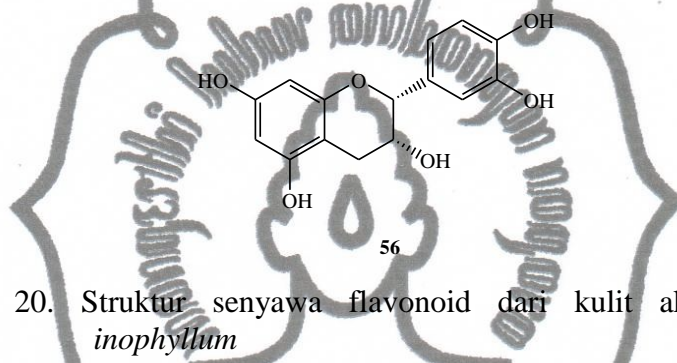
6) Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana rantai benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$. Kerangka dasar dari flavonoid ditunjukkan oleh Gambar 19 (Kristanti dkk, 2008).

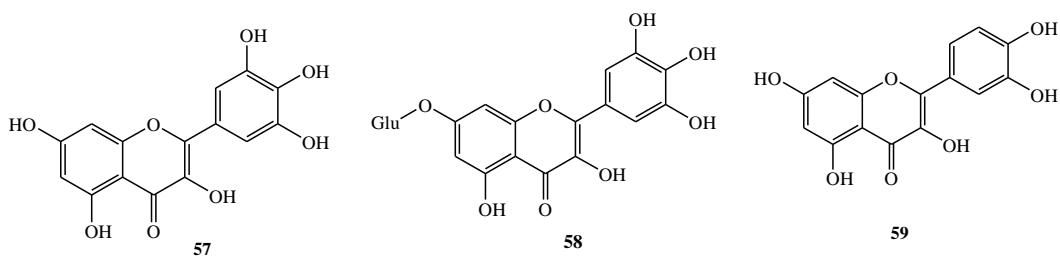


Gambar 19. Kerangka dasar flavonoid

Flavonoid yang berhasil diisolasi dari spesies *C. inophyllum* adalah senyawa flavanol (catechin) yaitu (-)-Epicatechin (56) (Iinuma, *et. al.*, 1994). Senyawa ini diisolasi dari kulit akar *C. inophyllum*. Struktur senyawa flavonoid dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan oleh Gambar 20.

Gambar 20. Struktur senyawa flavonoid dari kulit akar *Calophyllum inophyllum*

Senyawa flavonoid lain yang berhasil diisolasi yaitu myricetin (57), myricetin-7-glukosida (58) dan quercetin (59). Senyawa-senyawa ini berhasil diisolasi dari bagian *andraecium flower* *C. inophyllum* (Subramanian, *et al.*, 1971). Struktur senyawa flavonoid dari *andraecium flower* *Calophyllum inophyllum* ditunjukkan oleh gambar 21.

Gambar 21. Struktur senyawa flavonoid yang telah diisolasi dari *andraecium flower* *Calophyllum inophyllum*

3. Metode Isolasi Senyawa Bahan Alam

Ekstraksi merupakan salah satu metode isolasi komponen kimia berdasarkan atas kelarutan komponen dengan pelarut yang digunakan. Ekstraksi pada padatan digunakan untuk memisahkan senyawa hasil alam dari jaringan kering tumbuhan, mikroorganisme dan hewan. Metode ekstraksi yang tepat ditentukan oleh tekstur, kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi. Jika substansi yang akan diekstrak terdapat di dalam campurannya yang berbentuk padat, maka dilakukan proses ekstraksi padat-cair (Rusdi, 1998). Pemilihan pelarut berdasarkan kaidah *“like dissolve like”*, yang berarti suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan juga sebaliknya, senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar.

Ekstraksi berdasarkan bentuk campuran yang diekstraksi digolongkan ke dalam dua macam ekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair-padat, ekstraksi cair-padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi dan ekstraksi sinambung (soxhlet). Ekstraksi cair-cair digunakan untuk mengekstraksi senyawa glikosida yang bersifat polar (aglikon yang berikatan dengan gula monosakarida dan disakarida). Ekstraksi cair-cair untuk glikosida biasanya dilakukan terhadap ekstrak metanol atau etanol awal. Selain itu ekstraksi cair-cair dilakukan untuk menghilangkan lemak pada bagian tumbuhan yang diekstraksi jika belum dihilangkan lemaknya pada ekstrak awal.

Maserasi merupakan contoh metode ekstraksi padat-cair bertahap yang dilakukan dengan jalan membiarkan padatan terendam dalam suatu pelarut. Proses perendaman dalam usaha mengekstraksi suatu substansi dari bahan alam ini bisa dilakukan tanpa pemanasan (temperatur kamar) dan dengan pemanasan. Salah satu keuntungan metode maserasi adalah dapat menghindarkan perubahan kimia terhadap senyawa-senyawa tertentu pada simplisia yang disebabkan oleh pemanasan. Waktu rendam bahan dalam pelarut bervariasi antara 15-30 menit tetapi terkadang bisa sampai 24 jam. Perkolasi merupakan salah satu metode ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Sedangkan soxhlet adalah pemisahan berulang dengan sampel berupa padatan dan dilakukan dengan pemanasan (Rusdi, 1998).

Penelitian yang pernah dilakukan dengan proses maserasi diantaranya maserasi dengan aseton pada kulit batang spesies *Calophyllum brasiliensis* (Ito, *et. al.*, 2002), maserasi dengan etil asetat pada kulit batang *Garcinia dulcis* (Ersam, 2006), maserasi dengan metanol pada kulit batang *Garcinia tetranda* (Ersam, 2007), maserasi dengan etanol pada kulit kayu spesies *Calophyllum membranaceum* (Chen, *et. al.*, 2008). Proses ekstraksi berkesinambungan dengan soxhlet juga sering digunakan seperti pada kulit batang spesies *Calophyllum dispar* dengan pelarut etil asetat (Guilet, *et. al.*, 2001) dan kulit batang spesies *Calophyllum caledonicum* dengan pelarut n-heksan dan diklorometan (Morel, *et. al.*, 2002). Metode perkolasi digunakan pada bagian kulit dan akar dari spesies *Calophyllum membranaceum* dengan pelarut etanol (Zou, *et. al.*, 2005).

4. Metode Pemurnian Senyawa

a. Kromatografi Vakum Cair (KVC)

Fraksinasi suatu sampel bahan alam dapat dilakukan dengan metode kromatografi vakum cair (KVC) untuk memisahkan fraksi polar dan non polarnya. Teknik kromatografi vakum cair menggunakan sistem pengisapan (*suction*) untuk mempercepat proses elusi menggantikan sistem penekanan dengan gas. Kromatografi vakum cair merupakan salah satu kromatografi kolom khusus yang biasanya juga menggunakan silika gel sebagai adsorben. Alat yang digunakan adalah corong buchner atau kolom pendek dengan diameter besar. Pada kromatografi vakum cair, fraksi-fraksi yang ditampung biasanya volumenya lebih banyak dibandingkan dengan fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom biasa.

Langkah pemisahan menggunakan kromatografi vakum cair biasanya dilakukan pada tahap awal pemisahan (pemisahan terhadap ekstrak kasar yang diperoleh langsung dari proses ekstraksi). Berbeda halnya dengan kromatografi kolom yang menggunakan tekanan pada bagian atas kolom untuk meningkatkan laju aliran, pada kromatografi vakum cair, bagian atasnya terbuka sehingga untuk mengotak atik kolom atau untuk penggantian pelarut mudah dilakukan. Untuk mempersiapkan kolom pada kromatografi vakum cair perlu diperhatikan jumlah

sampel dan diameter kolom seperti yang ditunjukkan pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Acuan untuk mempersiapkan kolom pada kromatografi vakum cair

Diameter (cm)	Tinggi SiO ₂ (cm)	Berat SiO ₂ (gram)	Sampel (mg)	Eluen (ml)
3	4,5	15	15-500	10-15
4	5	30	300-3000	15-30
7	5,5	100	2000-15000	20-30

(Kristanti, 2008)

Fraaksinasi dengan kromatografi vakum cair ini dilakukan pada penelitian untuk mengisolasi senyawa santon maupun kumarin. Penelitian yang pernah dilakukan seperti isolasi senyawa kumarin dari spesies *Calophyllum teysmanii* dengan KVC dimana eluen yang digunakan yaitu n-heksan dengan etil asetat (100% n-heksan-100% etil asetat) (McKee, *et. al.*, 1996). Isolasi senyawa santon dari spesies *Calophyllum caledonicum* juga dengan KVC dimana eluen yang dipakai yaitu n-heksan dan etil asetat (100% heksan- 40% n-heksan:60% etil asetat) (Morel, *et. al.*, 2002), dari kulit akar spesies *Calophyllum inophyllum* juga menggunakan KVC dengan eluen n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan yang semakin meningkat kepolarannya (Yimdjo, *et. al.*, 2004).

b. Kromatografi Flash

Kromatografi *flash* merupakan kromatografi dengan tekanan rendah (pada umumnya <20 psi) yang digunakan sebagai kekuatan bagi elusi bahan pelarut melalui suatu ruangan atau kolom yang lebih cepat. Kelebihan kromatografi kolom *flash* ini dibandingkan kromatografi kolom gravitasi adalah prosesnya memerlukan waktu yang relatif lebih singkat. Pemilihan kolom disesuaikan dengan jumlah cuplikan yang akan dipisahkan. Adsorben yang paling sering digunakan adalah silika gel G₆₀ ukuran 63-200 µm dan silika gel G₆₀ ukuran 40-43 µm (Kristanti dkk, 2008). Pelarut yang digunakan pada umumnya merupakan variasi dua pelarut dimana salah satu pelarut memiliki kepolaran yang lebih tinggi dari pelarut lainnya.

Isolasi senyawa santon maupun kumarin dari penelitian yang telah dilaporkan menggunakan kromatografi *flash* ini. Teknik ini digunakan pada isolasi senyawa 1,5-dihidroksisanton (29), calosanton A (23), dan calosanton B (26) dari kulit akar spesies *Calophyllum inophyllum* (Yimdjo, *et. al.*, 2004) dan isolasi senyawa kumarin dari spesies *Calophyllum dispar* menggunakan eluen n-heksan dengan etil asetat (Guilet, *et. al.*, 2001).

c. Kromatografi Gravitasi

Kromatografi gravitasi merupakan salah satu jenis dari kromatografi kolom. Kromatografi kolom merupakan suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi. Pada kromatografi gravitasi eluen keluar dari kolom berdasarkan adanya gaya gravitasi bumi, tanpa ada pemvakuman atau penekanan. Salah satu kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama.

Gel Sephadex (G) merupakan salah satu adsorben yang digunakan sebagai fasa diam dalam kromatografi kolom. Pada kromatografi ini senyawa dipisahkan berdasarkan berat molekulnya. Jika yang digunakan sebagai eluen adalah air maka senyawa dengan berat molekul lebih besar akan terelusi terlebih dahulu. Jika yang digunakan sebagai eluen adalah pelarut organik maka gel shepadex berperilaku seperti selulosa tetapi kapasitas pemisahannya lebih besar karena ukuran partikelnya lebih teratur. Gel sephadex (LH-20) dirancang untuk digunakan memakai eluen organik. Biasanya yang digunakan adalah metanol. Sebelum digunakan sebaiknya gel sephadex digembungkan terlebih dahulu dalam eluen selama 12 jam (Kristanti dkk, 2008).

Beberapa penelitian isolasi senyawa dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* juga menggunakan metode kromatografi kolom dengan menggunakan gel sephadex LH-20. Contohnya isolasi calosanton D (27) dari kulit akar tumbuhan ini (Iinuma, *et. al.*, 1995).

d. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen), komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak

sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan (Rohman, 2007).

Fase diam dalam KLT berupa padatan penyerap yang diltakkan pada sebuah plat datar dari gelas atau alumunium sehingga membentuk lapisan tipis dengan ketebalan tertentu. Kebanyakan penyerap yang digunakan adalah silika gel, dimana telah tersedia plat yang siap pakai (Padmawinata, 1991). Salah satu jenis silika gel yang banyak digunakan untuk KLT adalah silika gel 60 GF₂₅₄. Identifikasi senyawa pada hasil analisis KLT dengan fasa diam 60 GF₂₅₄ dapat dilakukan dengan melihat warna noda di bawah sinar UV. Senyawa akan tampak berupa spot gelap (tidak berfluoresence) dengan background yang berpendar saat disinari dengan lampu UV λ_{254} . Identifikasi senyawa juga dapat dilakukan dengan menyemprotkan pereaksi warna yang bersifat universal seperti Ce(SO₄)₂.

Pelarut sebagai fasa gerak atau eluen merupakan faktor yang menentukan gerakan komponen-komponen dalam campuran. Pemilihan pelarut tergantung pada sifat kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Kekuatan elusi dari deret-deret pelarut untuk senyawa-senyawa dalam KLT dengan menggunakan silika gel akan turun dengan urutan sebagai berikut : air murni > metanol > etanol > propanol > aseton > etil asetat > kloroform > metil klorida > benzena > toluen > trikloroetilena > tetraklorida > sikloheksana > heksana. Fasa gerak yang bersifat lebih polar digunakan untuk mengelusi senyawa-senyawa yang adsorbsinya kuat, sedangkan fasa gerak yang kurang polar digunakan untk mengelusi senyawa yang adsorbsinya lemah (Sastrohamidjojo, 1991).

Analisis suatu senyawa dalam KLT biasanya dilakukan dengan dibandingkan terhadap senyawa standarnya. Pengamatan yang lazim berdasarkan pada kedudukan noda relatif terhadap batas pelarut yang dikenal sebagai R_f (*Retardation factor*) yang didefinisikan sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak komponen yang bergerak}}{\text{Jarak pelarut yang bergerak}}$$

Jarak pelarut yang bergerak

commit to user

Identifikasi senyawa pada kromatogram dapat dilakukan dengan melihat warna noda di bawah sinar UV atau dengan menyemprotkan pereaksi warna sesuai dengan jenis atau kelas senyawa yang dianalisis. KLT digunakan untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa (uji kemurnian), analisis fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, dan menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom terutama untuk mencari pelarut yang sesuai untuk kromatografi kolom (Rohman, 2007).

5. Spektroskopi

Penentuan golongan senyawa merupakan proses pertama-tama yang dilakukan pada identifikasi senyawa kimia dan tahap selanjutnya baru penentuan jenis senyawanya. Golongan senyawa biasanya dapat ditentukan dengan uji warna, harga R_f atau berdasarkan ciri spektrum UV. Beberapa sifat yang diukur dalam proses identifikasi adalah titik leleh (untuk senyawa padat), titik didih (untuk cairan), putaran optis (untuk senyawa optis aktif) dan harga R_f . Data lain yang juga penting adalah data spektrum, baik spektrum UV, IR, NMR maupun MS. Senyawa yang sudah pernah diidentifikasi dapat dibandingkan data sifat fisik maupun data spektrumnya dengan data senyawa standarnya. Jika standarnya tidak ada, perbandingan data dapat dilakukan terhadap data pada pustaka (Kristanti dkk, 2008). Proses identifikasi untuk menentukan jenis senyawa kimia dilakukan dengan elucidasi struktur menggunakan spektroskopi UV-Vis, IR maupun NMR.

a. Spektroskopi UV-Vis

Spektroskopi UV-Vis adalah pengukuran absorpsi radiasi elektromagnetik suatu senyawa di daerah ultraviolet (200-400 nm) dan sinar tampak (400-750nm). Prinsip dari spektroskopi UV-Vis adalah adanya transisi elektronik suatu molekul yang disebabkan oleh peristiwa adsorpsi (penyerapan) energi yang berupa radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai oleh molekul tersebut (Rohman, 2007).

Spektroskopi UV-Vis merupakan salah satu metode yang penting untuk menganalisis flavonoid. Metode ini digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan memecahkan pola oksigenasi. Kedudukan

gugus fungsi hidroksil bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan sampel dan diamati pergeseran puncak yang terjadi. Pengukuran senyawa santon maupun kumarin dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm. Santon memberikan serapan pada panjang gelombang 230-245, 250-265, 305-330, dan 340-400 nm. Seperti spektrum flavonoid, spektrum santon mengalami pergeseran batokhromik yang khas dengan suatu basa seperti NaOH. Reagen geser NaOH dapat digunakan untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil (Kristanti, 2008).

Senyawa calosanton D (27) menunjukkan spektrum UV dengan pelarut metanol pada panjang gelombang 221, 239sh, 249, 280sh, 290, 337 dan 365sh nm yang mengalami pergeseran bathokromik menjadi 285, 305, 350, dan 403 nm ketika ditambahkan pereaksi geser NaOH yang menandakan adanya gugus hidroksi (Iinuma, *et. al.*, 1995). Senyawa calosanton B (26) menunjukkan 5 puncak utama pada spektrum UV dengan pelarut metanol yaitu 247, 256sh, 282, 321, dan 350sh nm dan mengalami pergeseran bathokromik menjadi 244, 265, 282sh, dan 360 nm ketika ditambahkan pereaksi geser NaOH. Senyawa kumarin disparacetylfuran A (16) dari spesies *Calophyllum dispar* menunjukkan spektrum UV pada panjang gelombang 255, 282, 314 dan 419 nm yang mengalami pergeseran batokromik menjadi 289, 363, dan 434 nm (Guilet, *et. al.*, 2001). Senyawa inophyllum A (39) dengan spektroskopi UV dalam pelarut metanol menunjukkan adanya empat puncak pada 235, 280, 286, dan 337 nm (Patil, *et. al.*, 1993).

b. Spektroskopi Inframerah (IR)

Metode Spektroskopi inframerah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik (Hartomo dan Purba, 1984). Spektrum IR mempunyai jarak pengukuran dari 4000 cm^{-1} - 667 cm^{-1} atau dari $2,5\text{ }\mu\text{m}$ sampai $15\text{ }\mu\text{m}$. Spektrum IR yang berada pada daerah di atas 1200 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum yang disebabkan oleh getaran ikatan kimia atau gugus fungsi molekul yang ditentukan. Sedangkan spektrum IR yang berada pada daerah di bawah 1200 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum yang disebabkan oleh getaran seluruh molekul dan dikenal dengan nama sidik

jari (Harborne, 1987). Daerah penyerapan terpenting dalam IR meliputi :

1) Aromatik

Untuk aromatik akan muncul serapan (ν) dari ikatan rangkap C=C pada sekitar $1600\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ dan (C-H)_{vinilik} ($\text{sp}^2\text{-s}$) benzena akan muncul di atas 3000 cm^{-1} . Penelitian isolasi senyawa calosanton E (28) dengan spektroskopi IR menunjukkan serapan aromatik pada $1605, 1595\text{ cm}^{-1}$ (Iinuma, *et. al.*, 1995), senyawa calosanton D (27) menunjukkan serapan pada 1585 cm^{-1} (Iinuma, *et. al.*, 1995), senyawa calosanton C (24) menunjukkan serapan aromatik pada $1620, 1585\text{ cm}^{-1}$ (Yimdjo, *et. al.*, 2004). Senyawa kumarin calanolide E dari spesies *Calophyllum lanigerum* menunjukkan serapan aromatik pada $1621, 1580, 1456, 1441\text{ cm}^{-1}$ (McKee, *et. al.*, 1996).

2) Alkena

Alkena pada umumnya mirip dengan aromatik yaitu munculnya serapan (=C-C) pada sekitar 1650 cm^{-1} dan serapan (=C-H) alkena akan muncul di bawah 3000 cm^{-1} . Penelitian isolasi senyawa calosanton D (27) menunjukkan serapan alkena pada 1650 cm^{-1} (Iinuma, *et. al.*, 1995), senyawa calosanton B (26) menunjukkan serapan 1650 cm^{-1} (Iinuma, *et. al.*, 1994). Senyawa kumarin cordatolide E dari spesies *Calophyllum lanigerum* menunjukkan serapan alkena pada 1653 cm^{-1} dan serapan (=C-H) alkena pada $2974, 2923, 2872\text{ cm}^{-1}$ (McKee, *et. al.*, 1996).

3) Karbonil

Senyawa karbonil (C=O) akan muncul serapan pada interval $1820\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ dan puncak ini biasanya terkuat dengan penampilan lebar tajam, dan sangat karakteristik. Penelitian isolasi senyawa calosanton E (28) menunjukkan serapan karbonil terkonjugasi pada 1645 cm^{-1} (Iinuma, *et. al.*, 1995), senyawa calosanton C (24) menunjukkan serapan karbonil terkonjugasi pada 1646 cm^{-1} (Yimdjo, *et. al.*, 2004), dan senyawa 5-hidroksi-8-metoksisanton (12) dari spesies *Calophyllum caledonisanton* menunjukkan serapan pada 1720 cm^{-1} (Morel, *et. al.*, 2002). Identifikasi kerangka kumarin pada senyawa inophyllum G-1 (46) dapat diamati

dengan adanya serapan karbonil terkonjugasi pada 1671 cm^{-1} (Patil, *et. al.*, 1993). Senyawa cordatolide E dari spesies *Calophyllum lanigerum* menunjukkan serapan karbonil pada 1708 cm^{-1} (McKee, *et. al.*, 1996).

4) Alkohol dan Fenol

Kedua golongan senyawa ini akan memunculkan serapan (O-H) pada sekitar $3500\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas kuat dan melebar dan diperkuat dengan serapan C-O pada sekitar $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$.

Penelitian isolasi senyawa calosanton E (28) menunjukkan serapan hidroksil bebas pada 3430 cm^{-1} dan hidroksil terkhelet pada 3300 cm^{-1} (Iinuma, *et. al.*, 1995), senyawa calosanton D (27) menunjukkan serapan hidroksil pada fenol pada 3605 cm^{-1} , hidroksil pada alkohol pada 3230 cm^{-1} (Iinuma, *et. al.*, 1995), dan senyawa calosanton C (24) menunjukkan serapan gugus hidroksil bebas pada 3458 cm^{-1} , gugus hidroksil terkelasi pada 3293 cm^{-1} (Yimdjo, *et. al.*, 2004). Senyawa kumarin yaitu inophyllum G-1 (46) menunjukkan serapan gugus hidroksil pada 3440 cm^{-1} (Patil, *et. al.*, 1993) dan senyawa calanolide F dari spesies *Calophyllum teysmanni* menunjukkan serapan hidroksil pada 3449 cm^{-1} (McKee, *et. al.*, 1996).

c. Spektroskopi NMR

Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) merupakan salah satu metode spektroskopi yang bermanfaat dalam penentuan struktur. Dasar dari metode spektroskopi ini adalah kajian terhadap momen magnet dari inti atom. Inti atom dalam molekul yang timbul akibat perputaran inti tersebut. Momen magnet dari suatu inti atom dipengaruhi oleh atom-atom yang ada di dekatnya, sehingga atom yang sama dapat mempunyai momen magnet yang berbeda bergantung pada lingkungannya. Sifat inilah yang digunakan untuk menentukan struktur suatu molekul.

Spektroskopi ^1H dapat memberikan informasi (1) Banyaknya sinyal dan pergeseran kimianya dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis inti ^1H yang secara kimia berbeda di dalam molekul, (2) luas puncak menginformasikan banyaknya inti ^1H dari setiap jenis yang ada, (3) pola pembelahan spin-spin

menginformasikan tentang jumlah ^1H tetangga terdekat yang dimiliki oleh inti ^1H tertentu. Spektrum NMR ^1H biasanya diperoleh dengan cara melarutkan sampel senyawa yang sedang dikaji (biasanya hanya beberapa miligram) dalam sejenis pelarut lembam yang tidak memiliki inti ^1H . Contoh pelarut seperti itu ialah CCl_4 atau pelarut dengan hidrogen yang digantikan oleh deuterium, seperti CDCl_3 (deuteriokloroform) dan CD_3COCD_3 (heksadeutioaseton).

Tidak semua inti ^1H membalikkan spinnya tepat sama dengan frekuensi radio karena inti-inti tersebut mungkin berbeda dalam lingkungan kimianya atau bahkan lingkungan elektroniknya. Kondisi ini menyebabkan adanya pergeseran kimia. Kebanyakan senyawa organik memiliki puncak *bawah medan* (di medan rendah) dari TMS / senyawa standar dan diberi nilai δ positif. Nilai δ 1,00 berarti bahwa puncak muncul 1 ppm di bawah medan dari puncak TMS.

Setiap inti ^1H dalam molekul berperilaku sebagai magnet kecil. Bila kita mengoperasikan spektrum NMR ^1H , setiap hidrogen tidak hanya merasakan medan magnetik terpasang yang sangat besar, tetapi juga medan kecil yang timbul karena hidrogen tetangga. Bila kita mengeksitasi inti ^1H pada satu karbon, inti ^1H pada karbon tetangga dapat berada dalam keadaan spin berenergi rendah atau keadaan spin berenergi tinggi dengan probabilitas yang nyaris sama (karena selisih energi diantara kedua keadaan ini sangat kecil). Jadi medan magnetik dari inti yang puncaknya kita amati sedikit terganggu oleh medan kecil dari inti ^1H tetangga. Kita dapat meramalkan pola pembelahan dengan aturan $n + 1$, jika inti ^1H atau satu set inti ^1H yang ekuivalen memiliki n ^1H tetangga dengan pergeseran kimia yang sangat berbeda, sinyal NMRnya akan terbelah menjadi $n + 1$ puncak.

Terdapat beberapa cara untuk menetapkan puncak. Salah satu cara adalah dengan mengintegrasikan luas di bawah setiap puncak. Luas puncak (*peak area*) berbanding lurus dengan jumlah inti ^1H yang menyebabkan puncak tersebut. Cara yang lebih umum untuk menetapkan puncak adalah dengan membandingkan pergeseran kimia dengan proton yang serupa dengan senyawa rujukan yang diketahui. Pergeseran kimia dari inti ^1H pada berbagai

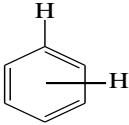
lingkungan kimia telah ditetapkan dengan mengukur spektrum NMR ^1H sejumlah senyawa dengan struktur sederhana yang diketahui. Tabel 2 berikut memuat pergeseran kimia beberapa jenis inti ^1H yang lazim (Achmadi, 2003).

Tabel.2 Pergeseran Kimia Beberapa Jenis Inti ^1H

Jenis ^1H	δ (ppm)	Jenis ^1H	δ (ppm)
$\text{C} - \text{CH}_3$	0,85 - 0,95	$-\text{CH}_2 - \text{CH}_3$	4,3 - 4,4
$\text{C} - \text{CH}_2 - \text{C}$	1,2 - 1,35	$\text{CH}_2 = \text{C}$	4,6 - 5,0
$\begin{array}{c} \text{C} \\ \\ \text{C} - \text{CH} - \text{C} \end{array}$	1,40 - 1,65	$-\text{CH} = \text{C}$	5,2 - 5,7
$\text{CH}_3 - \text{C} = \text{C}$	1,6 - 1,9	$\text{R} - \text{OH}$	0,5 - 5,5
$\text{CH}_3 - \text{Ar}$	2,2 - 2,5	$\text{Ar} - \text{H}$	6,6 - 8,0
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{C} = \text{O} \\ \end{array}$	2,1 - 2,6	$\text{C} \equiv \text{C} - \text{H}$	2,4 - 2,7
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ - \text{C} - \text{OH} \end{array}$	10 - 13	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ - \text{C} - \text{H} \end{array}$	9,5 - 9,7
$\text{Ar} - \text{OH}$	4 - 8	$\text{CH}_3 - \text{O}$	3,5 - 3,8

Inti ^1H yang membelah sinyal lain dikatakan terkopling (*coupled*). Besarnya kopling atau hertz yang membelah sinyal disebut tetapan kopling (*coupling constant*), disingkat dengan J . Sementara proton pada karbon yang bersebelahan dapat menunjukkan pembelahan yang cukup besar ($J=6-8$ Hz), proton yang berjauhan dapat dikatakan tidak merasakan kehadiran satu sama lain ($J=0-1$ Hz). Tetapan kopling dapat digunakan untuk membedakan antara posisi substituen pada cincin benzena. Inti ^1H yang ekuivalen secara kimia tidak saling membelah. Tabel 3 berikut memuat tetapan kopling untuk beberapa jenis inti ^1H yang lazim (Achmadi, 2003).

Tabel 3. Tetapan Kopling untuk Beberapa Jenis Inti ^1H

Gugus	J(Hz)	Gugus	J(Hz)
$\begin{array}{c} & \\ -\text{C} & - & \text{C}- \\ & \\ \text{H} & \text{H} \end{array}$	6-8		Orto : 6-10 Meta: 1-3 Para : 0-1
$\begin{array}{c} & & \\ -\text{C} & - & \text{C} & - & \text{C}- \\ & & \\ \text{H} & & \text{H} \end{array}$	0-1	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{R}_1 \\ & \diagdown & / \\ & \text{C} = \text{C} \\ & / & \diagdown \\ \text{H} & & \text{R}_2 \end{array}$	0-3
$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{R}_2 \\ & \diagdown & / \\ & \text{C} = \text{C} \\ & / & \diagdown \\ \text{R}_1 & & \text{H} \end{array}$	12-18	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{H} \\ & \diagdown & / \\ & \text{C} = \text{C} \\ & / & \diagdown \\ \text{R}_1 & & \text{R}_2 \end{array}$	6-12

Spektroskopi NMR sangat berperan penting dalam penentuan struktur suatu senyawa yang berhasil diisolasi dari suatu bahan alam. Analisa data ^1H NMR pada senyawa calosanton E (28) menunjukkan adanya empat proton pada OH fenol dimana salah satunya merupakan OH terkhelat. Pergeseran proton tersebut adalah $\{\delta\ 9,56; 9,99; 10,85\ (1\text{H}, \text{brs})$; dan $13,15\ (1\text{H}, \text{s}, \text{OH terkhelat})\}$. Selain itu adanya proton pada gugus metoksi ($\delta\ 3,88$), proton pada karbon aromatik ($\delta\ 7,06; 6,14; 6,38$) dimana pasangan proton pada $\delta\ 6,14$ dan $6,38$ berposisi meta dengan tetapan kopling (J) sebesar 2 Hz. Dari data tersebut menunjukkan sebagian struktur dari calosanton E adalah 1-hidroksi-7-metoksisanton. Pada bagian yang lain adanya korelasi antara proton OH terkhelat ($\delta\ 13,15$) dengan karbon pada karbon aromatik ($\delta\ 97,7$) yang mana juga berkorelasi dengan salah satu pasangan proton yang berposisi meta yaitu proton ($\delta\ 6,14$). Dari data tersebut menunjukkan posisi 1,3-dihidroksisanton (Inuma, *et. al.*, 1995).

B. Kerangka Pemikiran

Tumbuhan nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) merupakan salah satu spesies dari genus *Calophyllum* yang memiliki kemampuan sebagai obat bagi beberapa penyakit. Penelitian tumbuhan dari spesies *Calophyllum inophyllum* banyak dilakukan di luar negeri dengan senyawa kimia yang telah diisolasi cukup beragam. Perbedaan penelitian yang dilakukan meliputi asal sampel yang digunakan, metode isolasi, dan jenis pelarut yang digunakan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa golongan santon dari kulit batang *Calophyllum inophyllum* mengingat belum banyak senyawa golongan santon yang dilaporkan dari bagian ini. Metode isolasi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi dan untuk pemisahan senyawanya dengan metode kromatografi. Isolasi awal dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol sehingga semua komponen yang terdapat pada kulit batang *Calophyllum inophyllum* dapat terambil. Ekstrak yang didapat dipartisi dan dimurnikan dengan kromatografi vakum cair, kromatografi *flash* dan kromatografi gravitasi dengan sephadex LH-20. KLT digunakan sebagai pemandu dalam penentuan sistem pelarut pada kromatografi *flash* dan mengetahui pola pemisahan *spot* pada kromatografi kolom. Isolat yang didapatkan kemudian diidentifikasi strukturnya menggunakan spektroskopi UV, IR, dan ^1H NMR sehingga struktur dari isolat tersebut dapat diketahui. Penentuan struktur juga dibantu dengan membandingkan data senyawa hasil isolasi dengan data literatur atau senyawa pembanding

C. Hipotesis

1. Senyawa golongan santon dapat diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*.
2. Senyawa golongan santon yang diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum* dapat diidentifikasi strukturnya.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metodologi Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium. Isolasi senyawa kimia dari kulit batang nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut metanol pada suhu kamar. Pemisahan dan purifikasi senyawa murni menggunakan teknik kromatografi yaitu kromatografi vakum cair (KVC), kromatografi kolom dan kromatografi *flash*. Identifikasi struktur isolat yang diperoleh dengan metode spektroskopi. Spektrofotometer yang digunakan adalah jenis spektrofotometer UV, IR, dan ^1H NMR.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian untuk isolasi dan pemurnian senyawa dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS dan Sub Lab. Biologi Laboratorium MIPA Pusat. Analisis struktur senyawa dengan spektrofotometer UV dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar UNS. Determinasi sampel tumbuhan *Calophyllum inophyllum* L. dilakukan di Herbarium Fakultas Farmasi UGM. Analisis struktur senyawa dengan spektrofotometer IR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, FMIPA UGM. Analisis struktur senyawa dengan spektrofotometer ^1H NMR dilakukan di LIPI Serpong. Penelitian ini dilakukan selama 11 bulan dari Mei 2009 - April 2010.

C. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Isolasi dan pemurnian senyawa digunakan KVC dengan diameter kolom 9 cm, kolom kromatografi *flash* 1 cm sedangkan pada kromatografi kolom digunakan kolom berdiameter 2 cm. Penyaringan ekstrak setelah maserasi menggunakan penyaring buchner dan untuk pemekatannya digunakan *rotary evaporator* EKA-WERKE HB4 basic. Lampu UV λ_{254} digunakan sebagai

penampak noda pada hasil analisis dengan KLT. Struktur molekul dari senyawa murni yang didapat ditentukan menggunakan spektroskopi UV, IR, dan ^1H NMR. Spektrum UV ditentukan dengan spektrofotometer UV-VIS Shimadzu UV mini 1240. Spektrum inframerah ditentukan dengan spektrofotometer Shimadzu PRESTIGE 21. Spektrum ^1H NMR diukur dengan spektrofotometer Bruker 500 MHz.

3. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *Calophyllum inophyllum* L. yang dikumpulkan dari daerah Klaten, Jawa Tengah pada bulan April 2009. Pelarut yang digunakan untuk maserasi dan kromatografi adalah pelarut teknis yang didestilasi yaitu MeOH, EtOAc, dan *n*-heksana. Pelarut CHCl_3 dan aseton yang digunakan dengan *grade* pro analisis. Fasa diam pada KVC digunakan silika gel Merck Si-gel 60 GF₂₅₄, untuk kromatografi *flash* digunakan silika gel Merck Kieselgel 60 (0,04-0,063 mm) 230-400 mesh, sedangkan pada kromatografi kolom digunakan sephadex LH-20 Liphophilic Sephadex 0,025-0,1 mm. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan plat alumunium berlapis silika (Merck Kieselgel 60 GF₂₅₄ 0,25 mm). Silika gel Merck Kieselgel 60 (0,2-0,5mm) digunakan sebagai silika adsorb untuk impregnasi sampel dalam KVC dan kromatografi *flash*. Larutan 2% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ dalam 1M H_2SO_4 digunakan sebagai pereaksi penampak noda pada KLT. Untuk reagen geser pada spektrofotometer UV-Vis digunakan larutan NaOH 10% dalam aquades.

D. Prosedur Penelitian

1. Determinasi tumbuhan *Calophyllum inophyllum* L.

Determinasi sampel tumbuhan *Calophyllum inophyllum* L. dilakukan di Herbarium Fakultas Farmasi UGM. Determinasi dilakukan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tumbuhan.

2. Persiapan sampel tumbuhan *Calophyllum inophyllum* L.

Kulit batang tumbuhan *Calophyllum inophyllum* L. dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan dioven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya kulit batang tumbuhan *Calophyllum inophyllum* L. kering dibuat berbentuk serbuk. Serbuk kering yang diperoleh sebanyak 3 kg.

3. Ekstraksi

Sebanyak 3 kg serbuk kulit batang *Calophyllum inophyllum* kering dimaserasi dalam 11 L metanol selama 1x24 jam pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan penyaring *buchner* untuk memisahkan ekstrak metanol dari residunya. Filtrat yang terkumpul dievaporasi sampai kering dengan *rotary evaporator vacuum* sehingga diperoleh filtrat MeOH pekat.

4. Kromatografi Vakum Cair

Pemisahan awal dari ekstrak metanol pekat digunakan kromatografi vakum cair. Fasa diam yang digunakan yaitu silika gel 60 GF₂₅₄ sebanyak 128,8 gr. Silika gel dimasukkan ke dalam kolom kemudian dipadatkan dengan *vacuum* sehingga tinggi silika kira-kira setengah tinggi kolom. Kemudian dibasahi dengan pelarut yang paling non polar yang nantinya akan digunakan untuk elusi. Sebanyak 20 g sampel ditimbang kemudian diimpregnasi dengan silika adsorp (silika gel 60 (0,2-0,5 mm)). Sedangkan fasa gerak yang digunakan adalah campuran antara n-heksana EtOAc dengan perbandingan 10:0; 9:1(2x); 8:2(4x); 7:3(4x); 6:4(2x) dan 0:10.

Proses elusi dimulai dari pelarut yang paling non polar kemudian ditingkatkan kepolarannya untuk menyempurnakan proses elusi sampel dengan jumlah eluen 150 ml untuk sekali elusi. Setiap pengelusian, kolom divacum dengan mesin *vacuum*. Eluat ditampung dalam botol 150 ml. Fraksi-fraksi yang dihasilkan selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* kemudian ditimbang berat masing-masing fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh baik dari fraksinasi pertama maupun kedua dianalisis dengan KLT untuk mengetahui pola pemisahan *spot*nya. Fraksi hasil fraksinasi pertama dan kedua yang mempunyai

pola pemisahan *spot* sama digabung.

4. Kromatografi Kolom Sephadex

Kromatografi kolom sephadex digunakan untuk proses pemisahan fraksi yang diperoleh pada proses KVC. Kolom yang digunakan berdiameter 2 cm. Fasa diam yang digunakan sephadex LH-20 liphophilic sephadex 0,025-0,1 mm. Sebanyak 0,5 g sampel dipisahkan dengan kromatografi kolom sephadex siap pakai menggunakan 300 ml metanol sebagai eluennya. Eluat ditampung dalam vial 10 ml. Fraksi-fraksi yang dihasilkan selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* kemudian ditimbang berat masing-masing fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh dilakukan uji KLT untuk mengetahui pola pemisahannya. Selanjutnya fraksi yang diperoleh dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi *flash*.

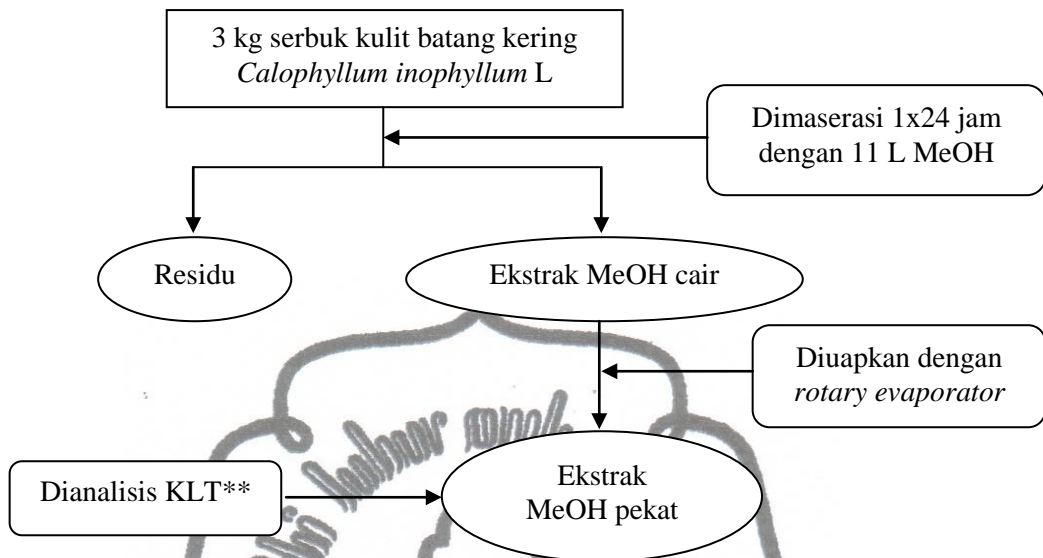
5. Kromatografi Flash

Kromatografi *flash* digunakan untuk pemisahan lanjut dari suatu fraksi sehingga diperoleh isolat murni. Kolom kromatografi *flash* yang digunakan berdiameter 1 cm. Fasa diam yang digunakan silika gel 60 (0,04-0,063 mm) dengan perbandingan sampel:silika kolom (1 : 50-60). Silika gel dibuat kolom dengan cara kering yaitu silika dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi sedikit pelarut yang akan digunakan untuk elusi kemudian dikocok sehingga silika bercampur dengan eluen. Selanjutnya kolom ditekan dengan *air pump* agar silika memadat. Setelah itu sejumlah sampel yang telah dilarutkan dalam sedikit pelarut yang akan digunakan ditempatkan di atas silika kolom. Selama proses elusi kolom ditekan dengan *flash* dan eluat ditampung dalam vial 5 ml.

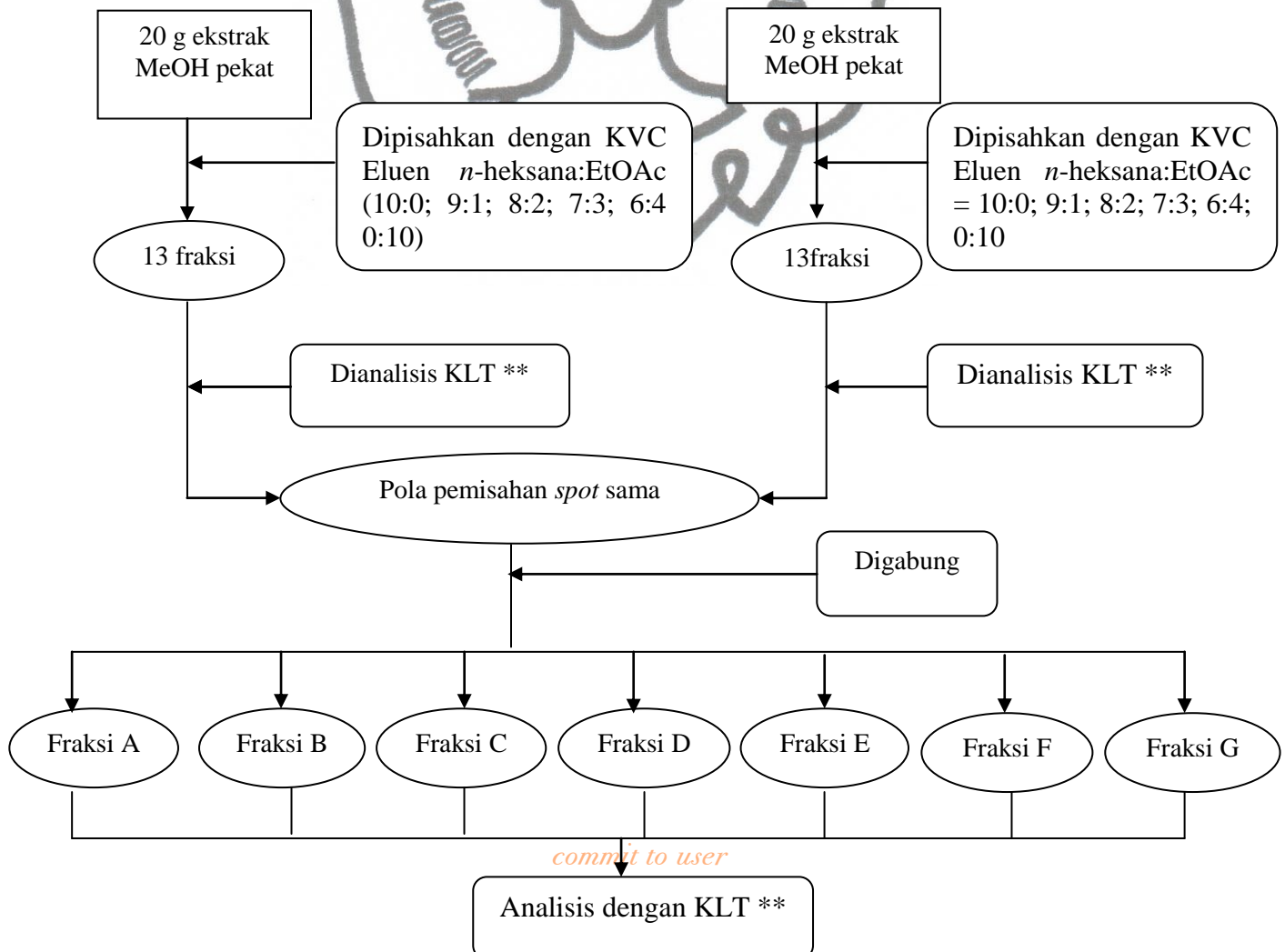
Sebanyak 35 mg sampel dimurnikan dengan kromatografi *flash* berdiameter kolom 1 cm menggunakan eluen CHCl_3 : *n*-heksana : EtOAc (8,5 : 1,0 : 0,5) sebanyak 200 ml. Fraksi-fraksi yang dihasilkan selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* kemudian ditimbang berat masing-masing fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh selanjutnya diuji KLT untuk mengetahui pola pemisahannya.

E. Bagan Alir Cara Kerja

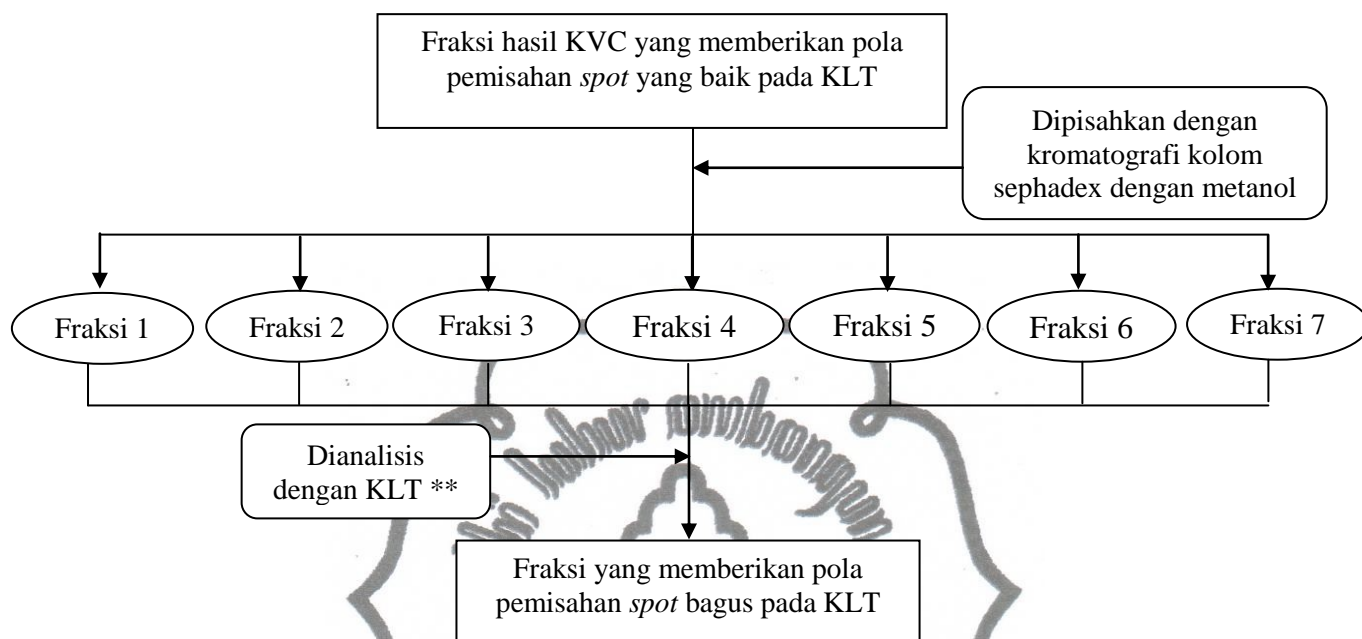
1. Ekstraksi



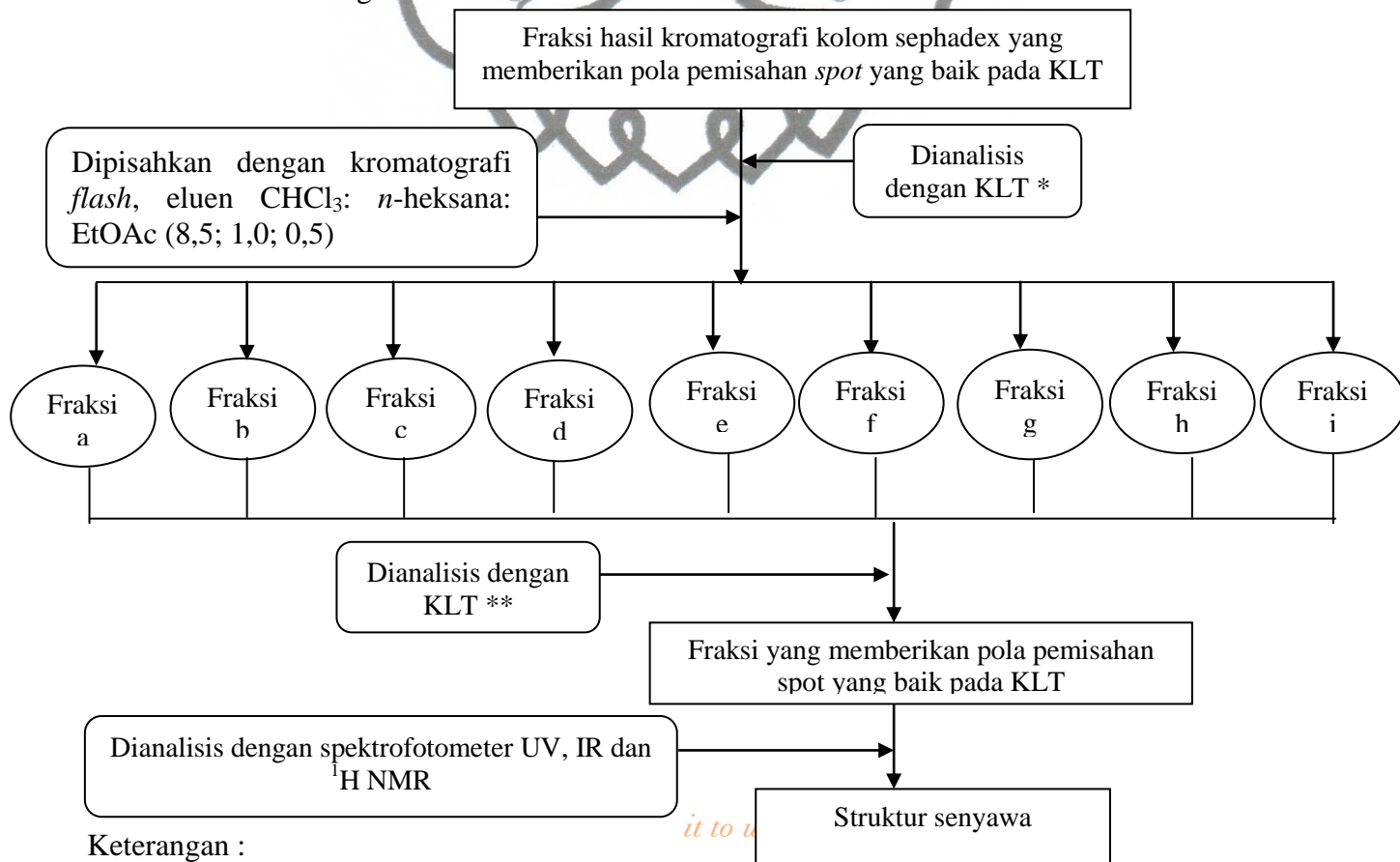
2. Kromatografi Vacum Cair



3. Kromatografi Kolom



4. Kromatografi Flash



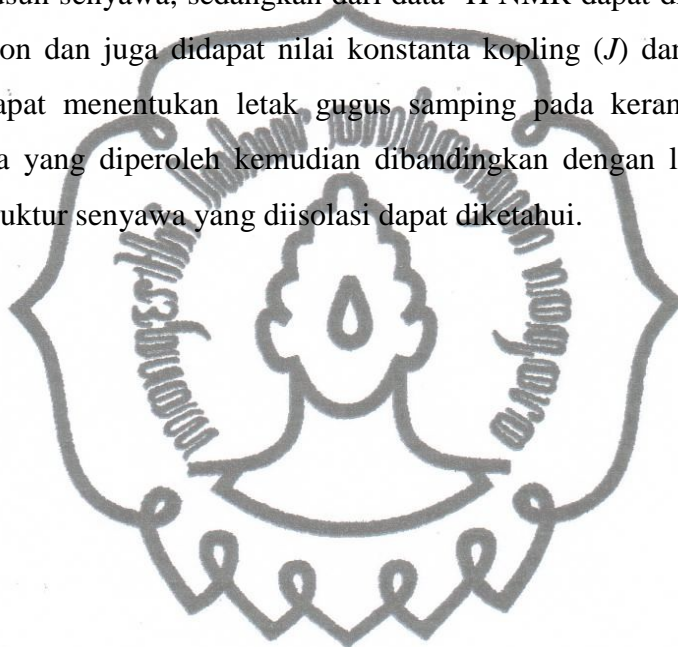
Keterangan :

* = Analisis KLT untuk menentukan pelarut

** = Analisis KLT untuk mengetahui pola pemisahan *spot*

E. Teknik Analisis Data

Isolat yang didapat dari pemisahan dan pemurnian menggunakan KVC, kromatografi *flash* dan sephadex LH-20 dianalisa dengan KLT dan diidentifikasi strukturnya dengan menggunakan spektroskopi UV, IR, dan ^1H NMR. Analisis dengan KLT didapatkan spot yang berwarna. Melalui data UV dapat diperkirakan gugus kromofor yang ada pada senyawa, dari data IR dapat diketahui jenis ikatan yang menyusun senyawa, sedangkan dari data ^1H NMR dapat diketahui jenis dan jumlah proton dan juga didapat nilai konstanta kopling (J) dan *multiplicity* (m) sehingga dapat menentukan letak gugus samping pada kerangka dasar. Hasil analisis data yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan literatur yang ada sehingga struktur senyawa yang diisolasi dapat diketahui.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Sampel

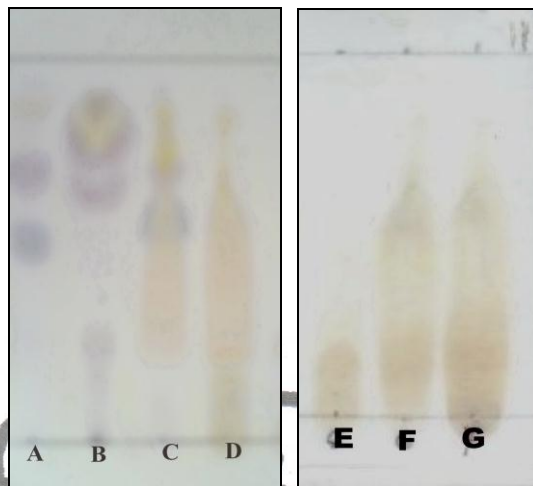
Determinasi tumbuhan nyamplung yang diperoleh dari daerah Klaten, dilakukan di laboratorium Taksonomi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar tumbuhan nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Ekstraksi Sampel

Maserasi 3 kg serbuk kering dengan 11 L pelarut metanol selama 1 x 24 jam menghasilkan ekstrak encer berwarna coklat. Selanjutnya ekstrak hasil maserasi diuapkan dengan rotary evaporator menghasilkan ekstrak metanol pekat sebanyak 485,3 g dengan rendemen 16,18 %. Ekstrak metanol pekat ini digunakan sebagai sampel pada prosedur kerja selanjutnya.

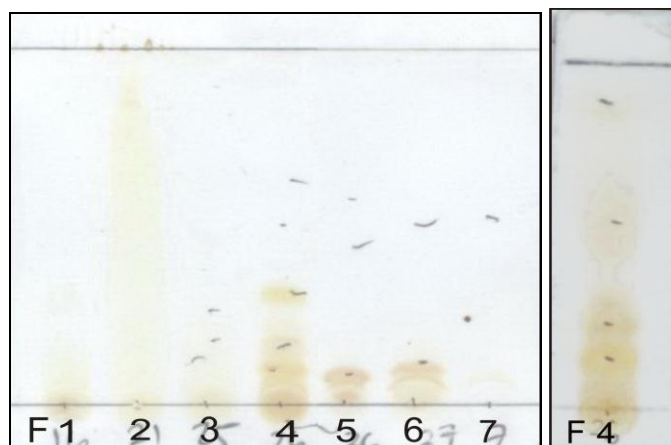
C. Hasil Isolasi dan Pemurnian Senyawa dari Kulit Batang *C. inophyllum* L

Sebanyak 40 gram ekstrak metanol pekat difraksinasi dua kali menggunakan kromatografi vakum cair. Fraksi-fraksi yang diperoleh pada fraksinasi pertama dan kedua kemudian dianalisis dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Fraksi yang memiliki pola pemisahan *spot* yang sama disatukan sehingga didapatkan 7 fraksi utama (A-G) dengan berat masing-masing fraksi sebagai berikut: fraksi A (0,16 g), fraksi B (0,35 g), fraksi C (5,61 g), fraksi D (3,04 g), fraksi E (0,16 g), fraksi F (0,79 g), dan fraksi G (0,23 g). Fraksi-fraksi tersebut dianalisis dengan KLT dengan eluen CHCl_3 : EtOAc (9,5 : 0,5). Hasil analisis KLT fraksi A-G hasil kromatografi vakum cair dengan eluen CHCl_3 : EtOAc (9,5 : 0,5) ditunjukkan pada Gambar 22.



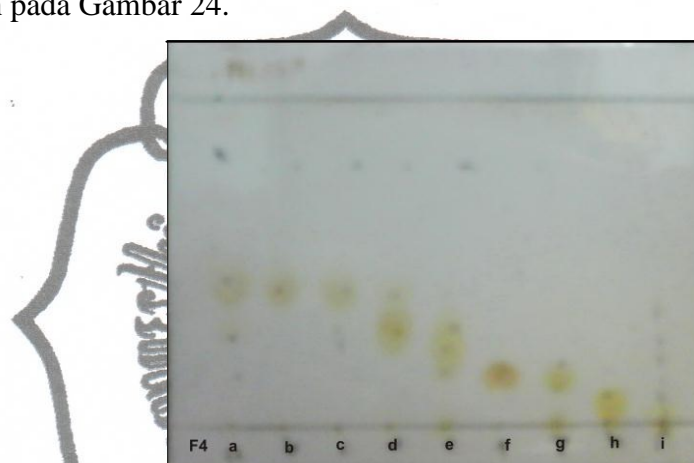
Gambar 22. Hasil analisis KLT fraksi A-G hasil kromatografi vakum cair dengan eluen CHCl_3 : EtOAc (9,5 : 0,5)

Berdasarkan hasil analisis KLT di atas, *spot* dari fraksi F terlihat terpisah cukup baik. Fraksi F mempunyai berat yang mencukupi sehingga dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi gravitasi menggunakan sephadex LH 20 dengan metanol sebagai eluennya. Tahap ini menghasilkan 7 fraksi. Berat dari fraksi-fraksi tersebut adalah fraksi F_1 (0,039 g), F_2 (0,325 g), F_3 (0,006 g), F_4 (0,035 g), F_5 (0,007 g), F_6 (0,022 g), dan F_7 (0,012 g). Tahap selanjutnya mengerjakan fraksi F_4 . Alasan pemilihan fraksi F_4 untuk dimurnikan kembali karena pemisahan noda pada fraksi ini cukup jelas bila dibandingkan dengan fraksi yang lain. Hasil analisis KLT fraksi F_1 - F_7 ditunjukkan pada Gambar 23.



Gambar 23. Hasil analisis KLT fraksi F_1 - F_7 hasil kromatografi kolom sephadex dengan eluen CHCl_3 : *n*-heksana= (8:2)

Fraksi F_4 akan dimurnikan menggunakan kromatografi *flash* menggunakan eluen CHCl_3 : *n*-heksana: EtOAc (8,5; 1,0; 0,5). Pemilihan eluen dengan variasi tiga eluen ini karena memberikan pola pemisahan yang baik. Pada tahap ini dihasilkan 9 fraksi dengan berat masing-masing fraksi sebagai berikut: fraksi F_{4a} (3 mg), F_{4b} (2 mg), F_{4c} (3 mg), F_{4d} (2 mg), F_{4e} (1 mg), F_{4f} (10 mg), F_{4g} (2 mg), F_{4h} (5 mg), dan F_{4i} (2 mg). Hasil analisis KLT fraksi (F_{4a} - F_{4i}) ditunjukkan pada Gambar 24.



Gambar 24. Hasil analisis KLT fraksi F_{4a} - F_{4i} hasil kromatografi *flash* (eluen CHCl_3 : *n*-heksana: EtOAc= 8,5; 1,0; 0,5)

Hasil analisis menggunakan kromatografi lapis tipis menunjukkan, fraksi F_{4f} menunjukkan pemisahan spot yang cukup baik dibandingkan fraksi yang lain di bawah lampu UV λ 254 nm maupun setelah disemprot dengan pereaksi penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. Senyawa hasil isolasi ini berupa serbuk berwarna kuning yang selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektrometer UV-Vis, IR dan ^1H NMR.

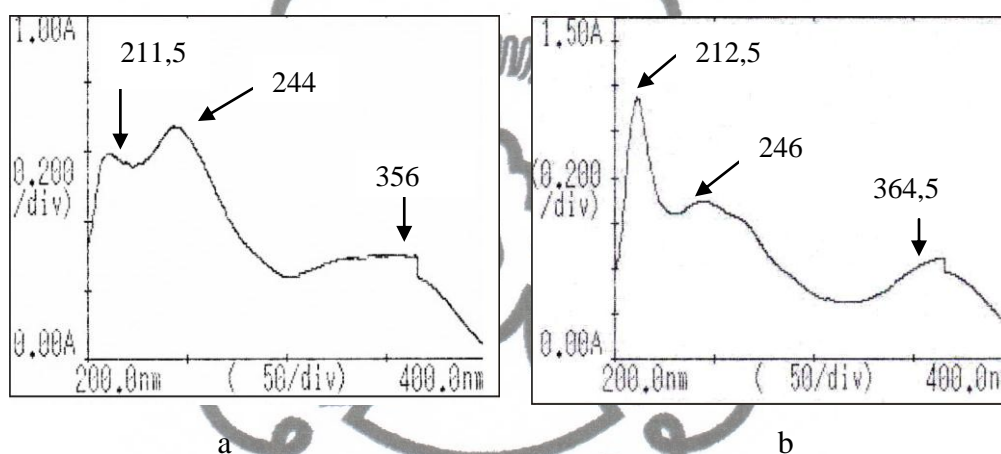
D. Identifikasi Struktur Senyawa Isolat

1. Analisis Data UV

Hasil analisis dengan metode spektroskopi UV terhadap senyawa isolat dalam pelarut metanol dan dengan penambahan pereaksi geser ditunjukkan pada gambar 25a. Spektrum ultra violet (UV) senyawa isolat dalam metanol menunjukkan adanya serapan pada λ_{maks} 211,5; 244; dan 356 nm. Serapan pada 244 nm (pita II) menunjukkan adanya gugus kromofor yang khas untuk suatu

sistem ikatan rangkap terkonjugasi dari cincin aromatik sedangkan serapan pada λ_{maks} 356 nm menunjukkan adanya ikatan terkonjugasi dari heteroatom dengan sistem aromatik.

Penambahan pereaksi geser NaOH pada senyawa menunjukkan serapan maksimum pada λ_{maks} 211,5, 246 dan 364,5 nm yang menunjukkan pergeseran batokromik. Pergeseran ini menunjukkan adanya gugus hidroksi pada senyawa. Spektrum UV senyawa isolat dalam pelarut metanol ditunjukkan oleh Gambar 25b.



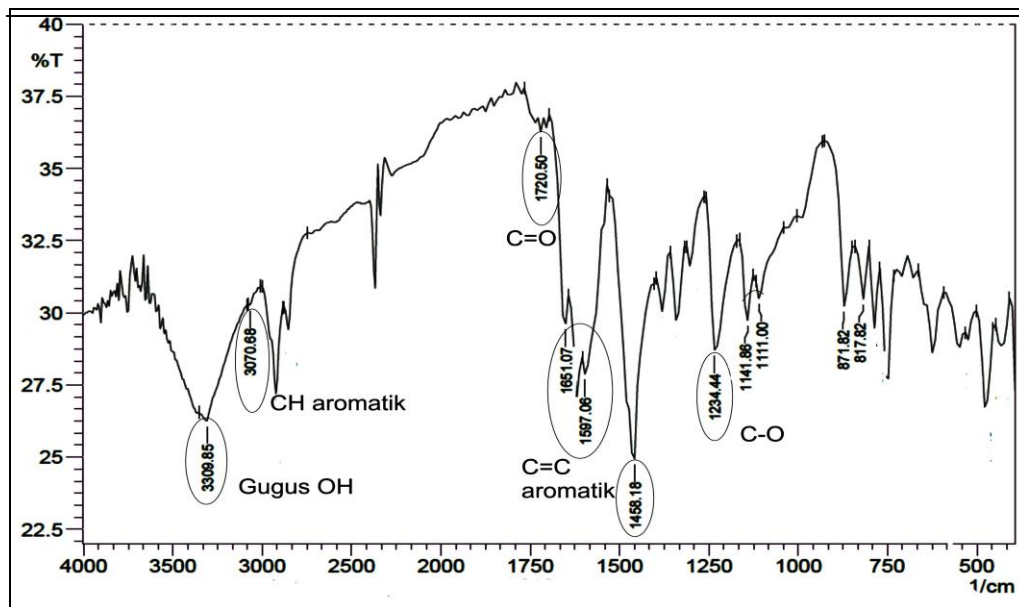
Gambar 25. a. Spektrum UV senyawa isolat dalam MeOH
b. Spektrum UV senyawa isolat dalam MeOH + NaOH

Berdasarkan analisis spektrum UV dapat diketahui bahwa senyawa isolat mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi dari sistem aromatik yang tersubstitusi oleh gugus karbonil dan gugus hidroksi.

2. Analisis Data Inframerah (IR)

Spektrum IR dari senyawa isolat memperlihatkan adanya serapan yang melebar dari gugus hidroksil pada bilangan gelombang $3309,85 \text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat vibrasi ulur C-O pada bilangan gelombang $1234,44 \text{ cm}^{-1}$ yang mendukung adanya gugus hidroksil. Serapan dari gugus karbonil ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang $1720,50 \text{ cm}^{-1}$. Serapan -C-H aromatik ditunjukkan pada bilangan gelombang $3070,68 \text{ cm}^{-1}$ yang didukung dengan adanya serapan ikatan karbon-karbon aromatik pada bilangan gelombang $1651,07$;

1597,06; dan 1458,18 cm^{-1} dan diperkuat dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang 817,82 cm^{-1} . Gambar spektrum IR dari senyawa isolat dapat dilihat pada Gambar 26 di bawah ini.

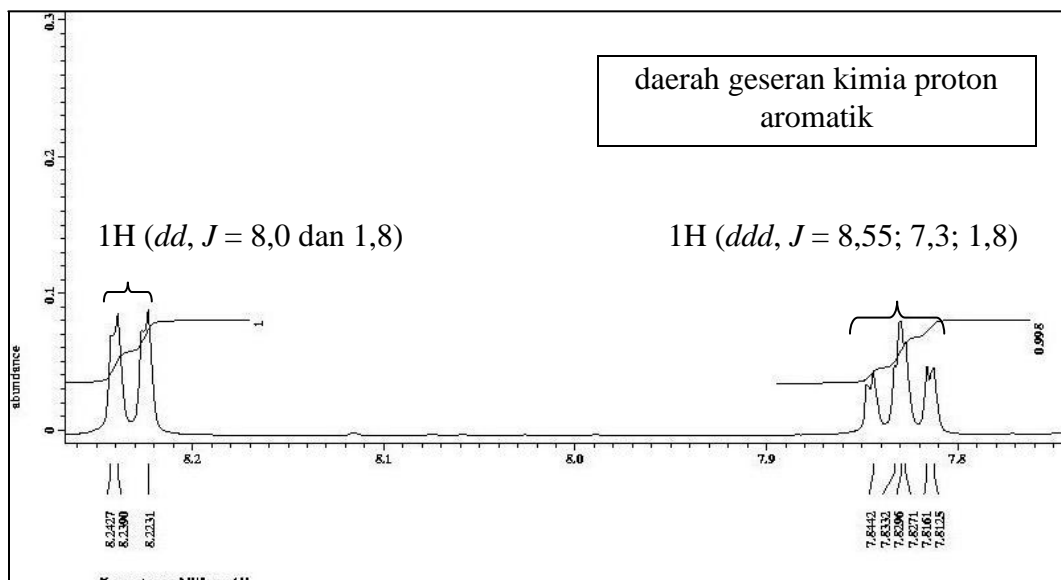


Gambar 26. Spektrum IR senyawa isolat

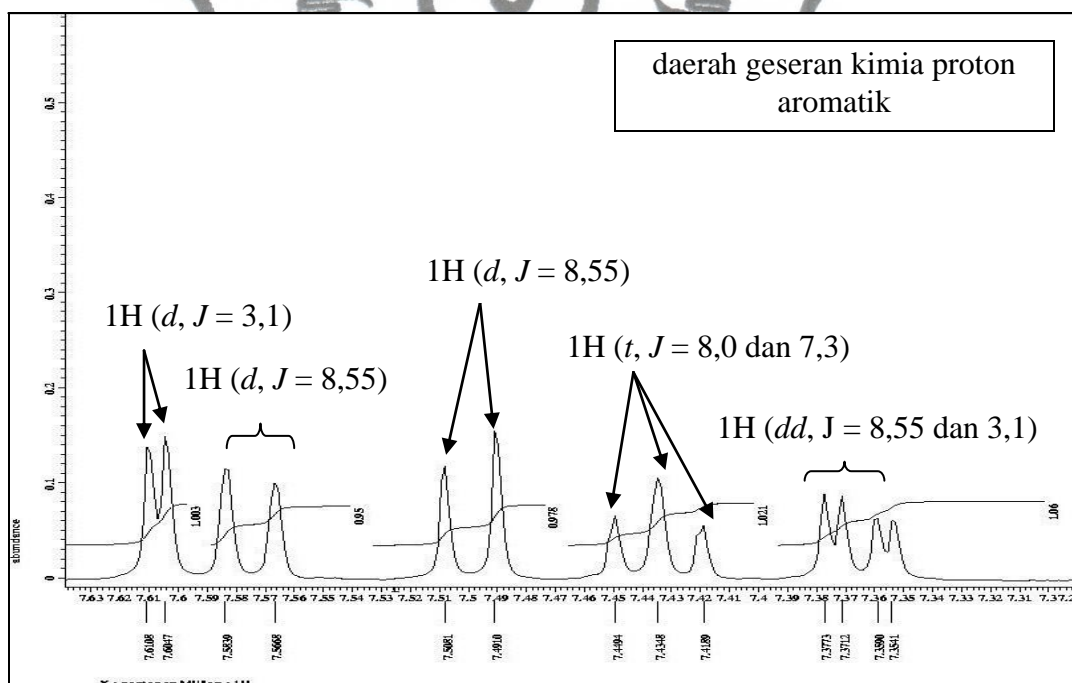
Sesuai dengan hasil analisa data IR maka dapat diketahui bahwa senyawa isolat kemungkinan merupakan senyawa aromatik yang tersubstitusi gugus karbonil keton yang berkonjugasi dengan cincin aromatik dan tersubstitusi gugus hidroksi.

3. Analisis Data ^1H NMR

Data spektrum ^1H NMR memperlihatkan adanya 7 proton aromatik yang ditunjukkan pada Gambar 27 dan 28 di bawah ini. Data ^1H NMR tidak menunjukkan adanya sinyal proton metil yang merupakan proton alifatik. Sinyal singlet proton metil ini dapat membentuk gugus metoksi dan gugus isoprenil. Tidak ditemukannya sinyal proton pada gugus metoksi dan gugus isoprenil menunjukkan senyawa isolat tidak tersubstitusi oleh gugus metoksi maupun isoprenil. Tidak ditemukannya sinyal proton pada gugus metoksi dan gugus isoprenil serta sinyal proton alifatik dapat dilihat pada Lampiran 3, 4, dan 5.



Gambar 27. Spektrum ^1H NMR dari senyawa isolat (aseton- d_6 , 500 MHz)



Gambar 28. Spektrum ^1H NMR dari senyawa isolat perbesaran pada δ_{H} 7,61 - 7,36 ppm (aseton- d_6 , 500 MHz)

Spektrum ^1H NMR menunjukkan adanya 7 proton aromatik dengan sistem ABX dan 1,2-disubstitusi. Proton-proton dengan sistem ABX dan 1,2-disubstitusi ditunjukkan pada Tabel 4.

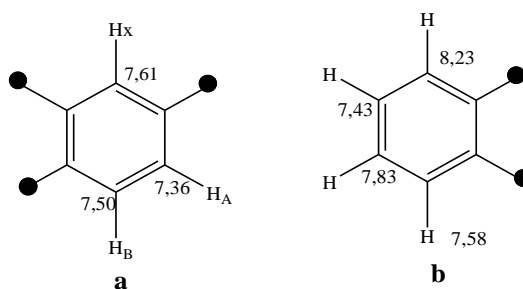
commit to user

Tabel 4. Proton-Proton dengan Sistem ABX dan Sistem 1,2-disubstitusi

δ_H proton dengan sistem ABX ppm (multiplisitas, J Hz)	δ_H proton dengan sistem 1,2-disubstitusi ppm (multiplisitas, J Hz)
7,36 (<i>dd</i> , $J = 8,55$ dan 3,1)	8,23 (<i>dd</i> , $J = 8,0$ dan 1,8)
7,50 (<i>d</i> , $J = 8,55$)	7,43 (<i>t</i> , $J = 8,0$ dan 7,3)
7,61 (<i>d</i> , $J = 3,1$)	7,83 (<i>ddd</i> , $J = 8,55$; 7,3 dan 1,8)
-	7,58 (<i>d</i> , $J = 8,55$)
-	-

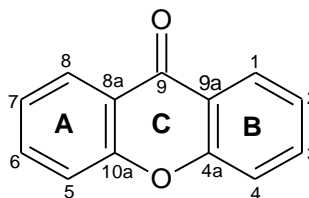
Spektrum ^1H NMR menunjukkan adanya tiga sinyal proton yang memperlihatkan adanya sistem ABX pada salah satu cincin benzennya, dimana 2 proton berposisi orto (AB) dan satu proton lainnya berposisi meta (X). Hal ini diperkuat dengan adanya proton dengan pergeseran kimia 7,36 dan 7,50 ppm yang mempunyai tetapan kopling sebesar 8,55. Tetapan kopling ini menandakan posisi dari kedua proton tersebut pada posisi orto. Proton dengan pergeseran kimia sebesar 7,36 dan 7,61 ppm saling berkopling, posisi kedua proton tersebut yaitu pada posisi meta. Sistem ABX pada aromatik ditunjukkan pada Gambar 29a.

Proton dengan pergeseran kimia 8,23 dan 7,43 ppm mempunyai tetapan kopling sebesar 8,0 yang menandakan kedua proton tersebut saling berkopling. Posisi kedua proton tersebut yaitu pada posisi orto. Proton dengan pergeseran kimia 7,43 dan 7,83 ppm berada pada posisi orto karena memiliki tetapan kopling sebesar 7,3. Proton dengan pergeseran kimia 7,83 dan 7,58 ppm juga berada pada posisi orto karena memiliki tetapan kopling yang sama yaitu sebesar 8,55. Berdasarkan data ^1H NMR dapat disimpulkan adanya sistem 1,2-disubstitusi pada cincin benzena ditunjukkan pada Gambar 29b.



Gambar 29. a. Sistem ABX pada cincin aromatik
b. Sistem 1,2-disubstitusi cincin benzena

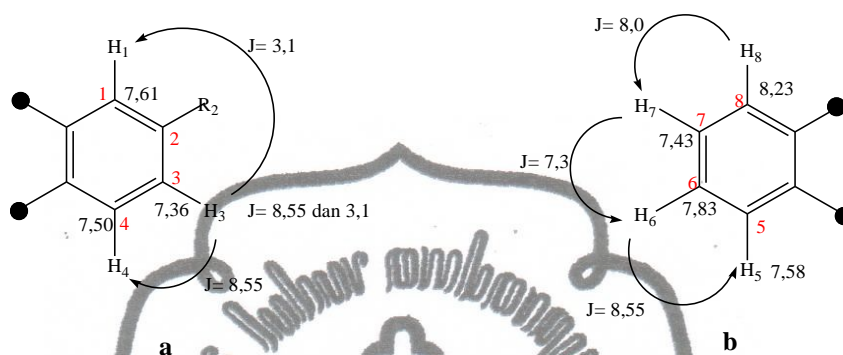
Senyawa isolat yang disarankan berdasarkan data UV, IR maupun ^1H NMR adalah senyawa santon, kumarin dan flavonoid. Berdasarkan literatur, spektrum ^1H NMR pada senyawa kumarin yang berhasil diisolasi dari genus *Calophyllum* tidak menunjukkan adanya sistem ABX pada strukturnya dan data ^1H NMR dari senyawa isolat tidak menunjukkan adanya sinyal singlet proton dengan pergeseran kimia 5,9-6,07 ppm yang menunjukkan proton pada posisi C-3 sehingga senyawa isolat bukanlah senyawa kumarin. Spektrum ^1H NMR pada senyawa flavonoid yang berhasil diisolasi dari genus *Calophyllum* menunjukkan sistem ABX pada salah satu cincin benzenya namun tidak menunjukkan sistem 1,2-disubstitusi pada cincin lainnya. Berdasarkan literatur spektrum ^1H NMR dari flavonoid menunjukkan sistem AA'BB' dimana dalam cincin benzena terdapat dua proton (H) yang simetri sehingga memunculkan satu sinyal doublet yang mewakili dua proton (H) dalam spektrum ^1H NMR-nya sehingga senyawa isolat bukanlah senyawa flavonoid. Spektrum ^1H NMR pada senyawa santon yang berhasil diisolasi dari genus *Calophyllum* menunjukkan sistem ABX pada salah satu cincin benzena dan sistem 1,2-disubstitusi pada cincin lainnya sehingga senyawa isolat yang disarankan adalah senyawa santon. Gambar kerangka dasar santon ditunjukkan pada Gambar 30.



Gambar 30. Kerangka dasar santon

Proton dengan sistem ABX menempati posisi pada H-1, H-3 dan H-4. Hal ini diperkuat dengan adanya proton yang berkopling pada posisi orto ($J = 8,55$) dan posisi meta ($J = 3,1$). Posisi proton dengan sistem ABX ditunjukkan pada Gambar 31a. Posisi proton yang mungkin untuk sistem 1,2-disubstitusi cincin benzena adalah pada H-6, H-7 dan H-8. Hal ini diperkuat dengan adanya proton yang berkopling pada posisi orto ($J = 8,0$ dan $7,3$) yaitu proton dengan pergeseran kimia 8,23; 7,43; dan 7,83 ppm. Proton yang lain yaitu proton dengan pergeseran

kimia 7,58 ppm memiliki kopling sebesar 8,55 sehingga proton tersebut berposisi orto dengan proton dengan pergeseran kimia 7,83 ppm yang menempati posisi H-6. Proton dengan pergeseran kimia 7,58 ppm menempati posisi H-5. Posisi keempat proton tersebut ditunjukkan pada Gambar 31b.



Gambar 31. a. Posisi proton pada sistem ABX
b. Posisi proton pada sistem 1,2-disubstitusi cincin benzena

Posisi R_2 diperkirakan adalah proton dari suatu gugus fungsi yang tidak stabil. Berdasarkan penelusuran pustaka beberapa gugus fungsi yang sifatnya tidak stabil pada analisis menggunakan NMR yaitu gugus OH dan NH. Pada spektrum IR maupun NMR tidak ditemukan adanya serapan NH sehingga gugus fungsi yang mungkin untuk posisi R_2 yaitu gugus hidroksi. Gugus hidroksi sangat sensitif terhadap pelarut, temperatur, konsentrasi serta adanya ikatan hidrogen yang mengakibatkan gugus ini tidak stabil saat dilakukan pengukuran menggunakan ^1H NMR. Tidak munculnya sinyal proton gugus hidroksi bebas pada spektrum ^1H NMR senyawa hasil isolasi diduga karena proton dari gugus hidroksi membentuk ikatan hidrogen dengan pelarut mengingat pelarut yang digunakan cukup polar yaitu aseton, sehingga δ_{H} proton hidroksi bergeser ke bawah medan yang lebih jauh.

Data ^1H NMR senyawa F_{4f} memiliki kemiripan pergeseran proton dengan senyawa calophymembranol B dari spesies *Calophyllum membranaceum*, hal ini mempertegas posisi proton pada cincin B senyawa F_{4f} . Perbandingan pergeseran untuk setiap proton pada cincin B dari senyawa F_{4f} dengan senyawa calophymembranol B ditunjukkan pada Tabel 5, sedangkan untuk cincin A

sebagai pembanding adalah senyawa caledonisanton G dari spesies *Calophyllum caledonicum* yang mempunyai sistem 1,2-disubstitusi cincin benzena. Perbandingan pergeseran untuk setiap proton pada cincin A dari senyawa F_{4f} dengan senyawa caledonisanton G ditunjukkan pada Tabel 6. Gambar struktur senyawa F_{4f} (a) dengan senyawa calophymembranol B (b) dan senyawa caledonisanton G (c) dapat dilihat pada Gambar 32.

Tabel 5. Geseran kimia (δ ppm) spektrum ^1H NMR senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan senyawa calophymembranol B.

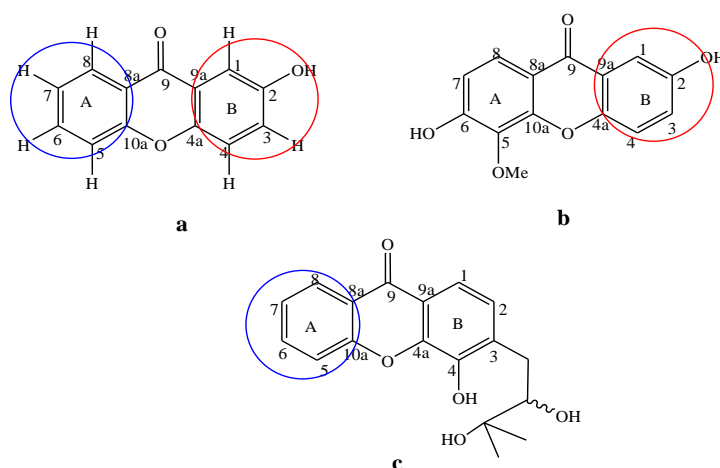
No C	Senyawa calophymembranol B (DMSO- d_6 , 400 MHz)*	Senyawa F _{4f} (aseton- d_6 , 500 MHz)
1	7,61 (d , $J=3,1$)	7,61 (d , $J=3,1$)
2	-	-
3	7,34 (dd , $J=9,2$ dan $3,1$)	7,36 (dd , $J=8,55$ dan $3,1$)
4	7,52 (d , $J=9,2$)	7,50 (d , $J=8,55$)

*(Zou, 2005)

Tabel 6. Geseran kimia (δ ppm) spektrum ^1H NMR senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan senyawa caledonisanton G.

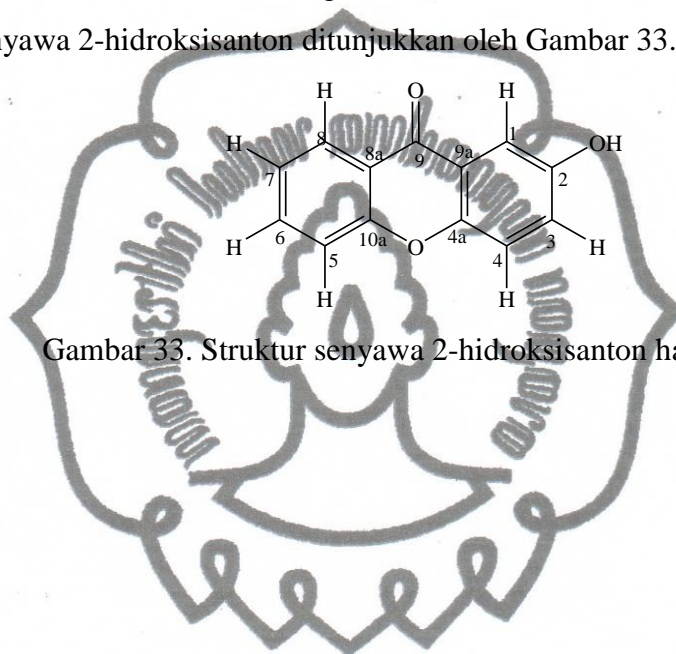
No C	Senyawa calophymembranol B (Metanol- d_4 , 400 MHz)**	Senyawa F _{4f} (aseton- d_6 , 500 MHz)
5	7,60 (d , $J=8,0$)	7,58 (d , $J=8,55$)
6	7,81 (ddd , $J=8,0$; $8,0$; $2,0$)	7,83 (ddd , $J=8,55$; $7,3$; $1,8$)
7	7,43 (dd , $J=8,0$ dan $8,0$)	7,43 (t , $J=8,0$ dan $7,3$)
8	8,23 (dd , $J=8,0$ dan $2,0$)	8,23 (dd , $J=8,0$ dan $1,8$)

** (Morel, 2002)



Gambar 32. Struktur senyawa hasil isolasi (a), calophymembranol B (b) dan caledonisanton G (c), tanda lingkaran menunjukkan sistem yang sama dengan senyawa hasil isolasi

Berdasarkan analisis data ^1H NMR yang didukung oleh data UV dan IR yang menunjukkan senyawa hasil isolasi mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi dari sistem aromatik yang tersustitusi oleh gugus karbonil keton dan gugus hidroksi serta perbandingan literatur dengan senyawa lain yang memiliki pola pergeseran proton yang sama, struktur yang disarankan untuk senyawa hasil isolasi adalah 2-hidroksisanton dengan rumus molekul $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_3$ (BM = 212). Struktur senyawa 2-hidroksisanton ditunjukkan oleh Gambar 33.



Gambar 33. Struktur senyawa 2-hidroksisanton hasil isolasi

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Senyawa golongan santon dapat diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*.
2. Struktur senyawa golongan santon yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum* disarankan adalah 2-hidroksisanton.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan struktur senyawa yang diisolasi diperoleh dengan membandingkan dengan senyawa lain yang memiliki struktur hampir sama sehingga perlu dilakukan isolasi dan pemurnian lebih lanjut dengan jumlah yang lebih banyak terhadap senyawa ini sehingga bisa dianalisis dengan spektrofotometer ^{13}C NMR dan NMR 2 dimensi untuk memastikan strukturnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S.S., 2003. *Kimia Organik*. Edisi 11. Erlangga. Jakarta. Terjemahan: *Organic Chemistry*. Hart, H., L.E. Craine, D.J. Hart. 2003. 11th edition. Houghton Mifflin Company
- Ali, M.S., S. Mahmud, S. Perveen, V.U. Ahmada, and G.H. Rizwani, 1998. Epimers from the leaves of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*. Vol. 50, 1385-1389.
- Cao, S.G., K.Y. Sim, J. Pereira, and S.H. Goh, 1997. Biflavanoids of *Calophyllum venulosum*, *Journal Natutal Product*. 1245-1250.
- Chen, G.Y., G.Y. Zhu, C.R. Han, J. Zhao, X.P. Song and W.F. Fong, 2008. A new pyranoxanthone from the stems of *Calophyllum membranaceum*, *Arkivoc*. 249-254.
- Dweck, A.C, and T. Meadows, 2002. Tamanu (*Calophyllum inophyllum*) - The African, Asian, Polynesian and Pacific Ponaceae. *International Journal of Cosmetic Science*, 1-8.
- Ersam, T. dan Sukamat, 2006. Dua Senyawa Santon Dari Kayu Batang Mundu *Garcinia Dulcis* (Roxb.) Kurz., *Prosiding Seminar Nasional Kimia V* (ITS Surabaya).
- Ersam, T. dan Purwaningsih, S., 2007. Senyawa Santon Sebagai Antioksidan dari Kayu Batang *Garcinia tetrandia* Pierre. *Akta Kimindo*. Vol. 2, 103-108.
- Fessenden, J. R. dan Fessenden, S. J. 1982. *Kimia Organik*. Edisi ketiga, jilid I. Erlangga, Jakarta.
- Goh, S.H., and I. Jantan. 1991. A Xanthone from *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*. Vol. 30, 366-367.
- Govindachari, T.R., N. Viswanathan, B.R. Pai, U.R. Rao, M. Srinivasan, 1967 dalam Su, X.H., M. L. Zhang, L.G. Li, C.H. Huo, Y.C. Gu, *et. al*. 2008. Chemical Constituent of the Plants of the Genus *Calophyllum*, *Chemistry & Biodiversity*, Vol. 5, 2579-2608.
- Guilet, D., J.J. Helesbeux, D. Seraphin, T. Sevenet, P. Richomme, *et. al*. 2001. Novel Cytotoxic 4-Phenylfuranocoumarins from *Calophyllum dispar*, *Journal of Natural Products*. Vol. 64, 563-568.
- Harborne, J.B, 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB Press, Bandung. *commit to user*

- Hartomo, N. dan Purba V. 1984. *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik*, Edisi ke-4. Erlangga, Jakarta, Terjemahan: *Spectroscopic Identification of Inorganic Compound*. Silverstein, R. M., G.C Bassler, and T.C. Morill. 1981. 4th edition. John Wiley and Sons. New York.
- Hay, A.E., J.J. Helesbeux, O. Duval, M. Labaie, and P. Richomme, 2004. Antimalarial xanthenes from *Calophyllum caledonicum* and *Garcinia vieillardii*, *Life Science*. Vol. 75, 3077-3085.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia III*, Penerjemah : Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Yayasan Sarana Wahajaya, Jakarta, pp 1385 –1386.
- Inuma, Munekazu, Hideki Tosa, Toshnuki Tanaka and Sgigetomo Yonemori, 1994, Two xanthenes from root bark of *Calophyllum*, *Phytochemistry*, Vol.35, 572-532.
- Inuma, Munekazu, Hideki Tosa, Toshnuki Tanaka and Sgigetomo Yonemori, 1995. Two xanthenes from roots of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*, Vol. 38, no. 3, 725-728.
- Itoigawa, M., C. Ito, H.T.W. Tan, M. Kuchide, H. Tokuda, *et.al*. 2001. Cancer Chemopreventive Agents, 4-phenylcoumarins from *Calophyllum inophyllum*, *Cancer Letters*, Vol 169, 15-19.
- Ito C., M. Itoigawa, Y. Miyamoto, K.S. Rao, J. Takayasu, *et. al*. 1999. A New Biflavonoid from *Calophyllum panicflorum* with Antitumor-Promoting Activity, *Journal of Natural Products*. Vol. 62, 1668-1671.
- Ito, C., M. Itoigawa, Y. Mishina, V.C. Filho, T. Mukainaka, *et. al*. 2002. Chemical Constituents of *Calophyllum brasiliensis*: Structure Elucidation of Seven New Xanthenes and Their Cancer Chemopreventive Activity, *Journal of Natural Products*. Vol. 65, 267-272.
- Ito, C., M. Itoigawa, Y. Mishina, V.C. Filho, F. Enjo, *et.al*, 2003. Chemical Constituents of *Calophyllum brasiliense*. 2. Structure of Three New Coumarins and Cancer Chemopreventive Activity of 4-Substituted Coumarins, *Journal of Natural Product*. Vol. 66, 368-371.
- Jeboury, F.S. and H.D. Locksley, 1971. Xanthenes in the Heartwood of *Calophyllum inophyllum* : A Geographical Survey, *Phytochemistry*. Vol. 10, 603-606.

- Kawazu, Kayuyoshi, Hajime Ohigashi, and Tetsuo Mitsui, 1968. The piscicidal constituents of *Calophyllum inophyllum* linn., *Tetrahedron Letters*. Vol. 9, 2383-2385.
- Khan, Nizam Ud-Din, Nazneen Parveen, Mahendra P. singh, Rajinder Singh, Basudeb Achari, *et al.*, 1996. Two isomeric benzodipyrone derivatives from *Calophyllum Inophyllum*, *Phytochemistry*. Vol. 42, 1181-1183.
- Kristanti, A. N., N.S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Kumar, V., S. Ramachandran and M.U.S. Sultanbawa, 1976. Xanthoness and Triterpenoids from Timber of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*. Vol. 15, 2016-2017.
- McKee, T.C., R.W. Fuller, C.D. Covington, J.H. Cardellina, and R.J. Gulakowski, *et. al.*, 1996. New Pyranocoumarins Isolated from *Calophyllum lanigerum* and *Calophyllum teysmannii*, *Journal of Natural Products*. Vol. 59, 754-758.
- Morel, C., A.E. Hay, M. Litaudon, T. sevenet, D. Seraphin, *et.al.*, 2002. Thirteen New Xanthone Derivatives from *Calophyllum caledonicum* (Clusiaceae), *Molecules*. Vol. 7, 38-50.
- Noldin, V. F., D. B. Isaías, and V. C. Filho. 2006. *Calophyllum* Genus: Chemical and Pharmacological Importance. *Quim. Nova*. Vol. 29, 549-554.
- Padmawinata, K. dan Sudiro, I., 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisi tumbuhan*. ITB. Bandung. Terjemahan: *Phytochemical Methods*. Harborne, J. B., 1973, Chapman and Hall Ltd, London.
- Patil, Ashok D., Alan J. Freyer, Drake S. Eggleston, R. Curtis Haltiwanger, Mark F. Bean, *et al.*, 1993. The Inophyllums, Novel Inhibitors of HIV- 1 Reverse Transcriptase Isolated from the Malaysian Tree, *Calophyllum inophyllum* Linn., *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol.36 no.26, 4131-4138.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*, Cetakan Pertama. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Rusdi. 1998. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian Universitas Andalas, Padang.

- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Liberty, Yogyakarta.
- Shen, Y.C., Hung, M.C., Wang, L.T., Chen, C.Y. 2003 dalam Su, X.H., M. L. Zhang, L.G. Li, C.H. Huo, Y.C. Gu, *et. al.* 2008. Chemical Constituent of the Plants of the Genus *Calophyllum*, *Chemistry & Biodiversity*, Vol. 5, 2579-2608.
- Silverstein, R.M., 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compound*, 7th ed., John Wiley and Sons, inc., New York.
- Su, X.H., M.L. Zhang, L.G. Li, C.H. Huo, and Y.C. Gu, *et. al.* 2008. Chemical Constituent of the Plants of the Genus *Calophyllum*, *Chemistry & Biodiversity*. Vol. 5, 2579-2608.
- Subramanian, S.S., and A.G.R. Nair, 1971. Myricetin-7-Glucoside from the Andraecium of the Flowers of *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*. Vol. 10, 1679-1680.
- Yimdjo, M.C., A.G. Azebaze, A.E. Nkengfack, A. M. Meyer, and B. Bodo, *et. al.* 2004. Antimicrobial and Cytotoxic Agents from *Calophyllum inophyllum*, *Phytochemistry*. Vol. 65, 2789-2795.
- Zou, J., D. Jin, W. Chen, J. Wang, Q. Liu, *et.al.*, 2005. Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors from *Calophyllum membranaceum*, *Journal of natural product*. Vol. 68, 1514-1518.

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan *Calophyllum inophyllum* L.**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA**

Nomor : FA/BF/135/Ident./IX/09
Hal : Hasil Determinasi/Identifikasi Tumbuhan

Kepada Yth. :
Sdr./Sdri. Devita Permanasari
NIM. M 0305002
Fakultas MIPA
Universitas Negeri Surakarta
Di Surakarta

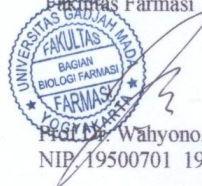
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaft.	Jenis	Suku
192	<i>Calophyllum inophyllum</i> L.	Clusiaceae

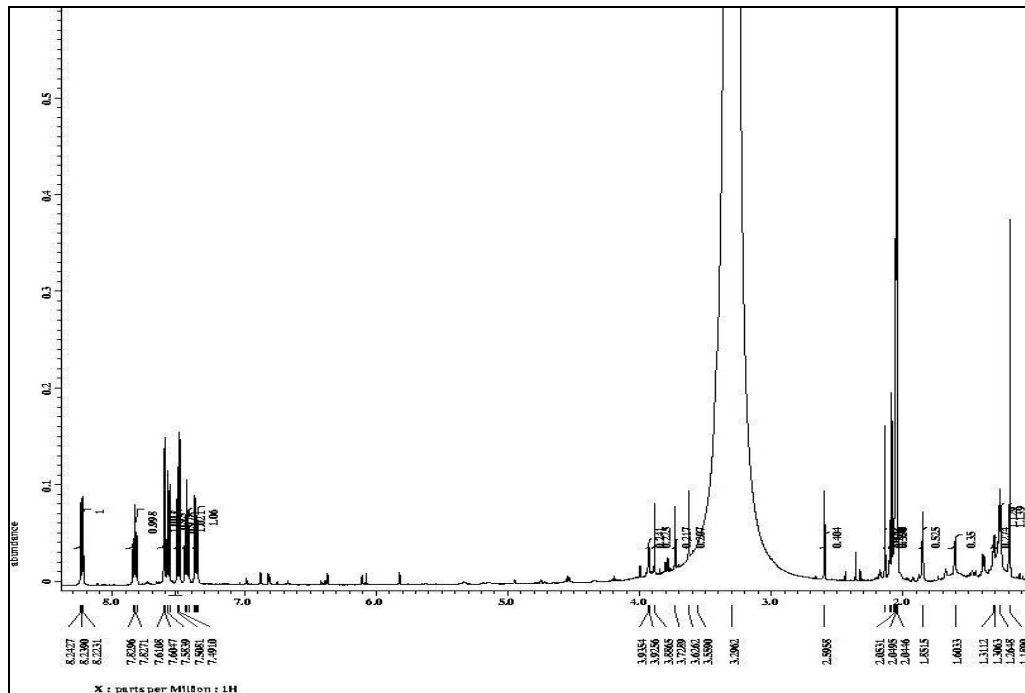
Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 15 September 2009
Ketua Bagian Biologi Farmasi
Fakultas Farmasi

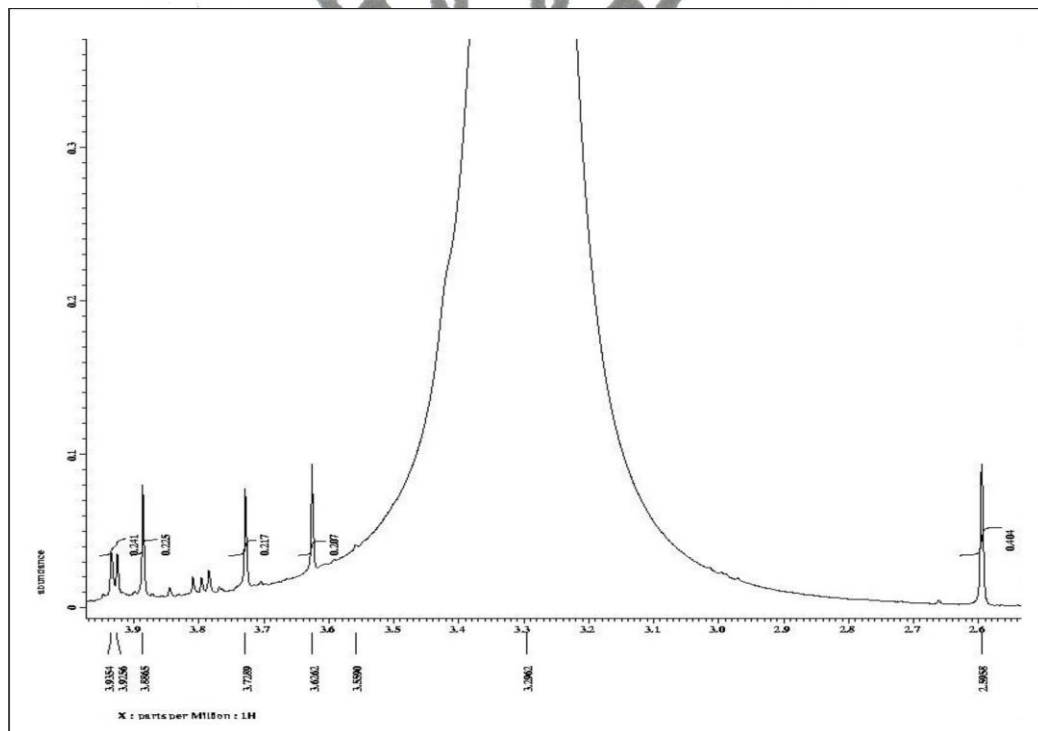


PRATNYA Wāhyono, SU., Apt.
NIP. 19500701 197702 1 0012

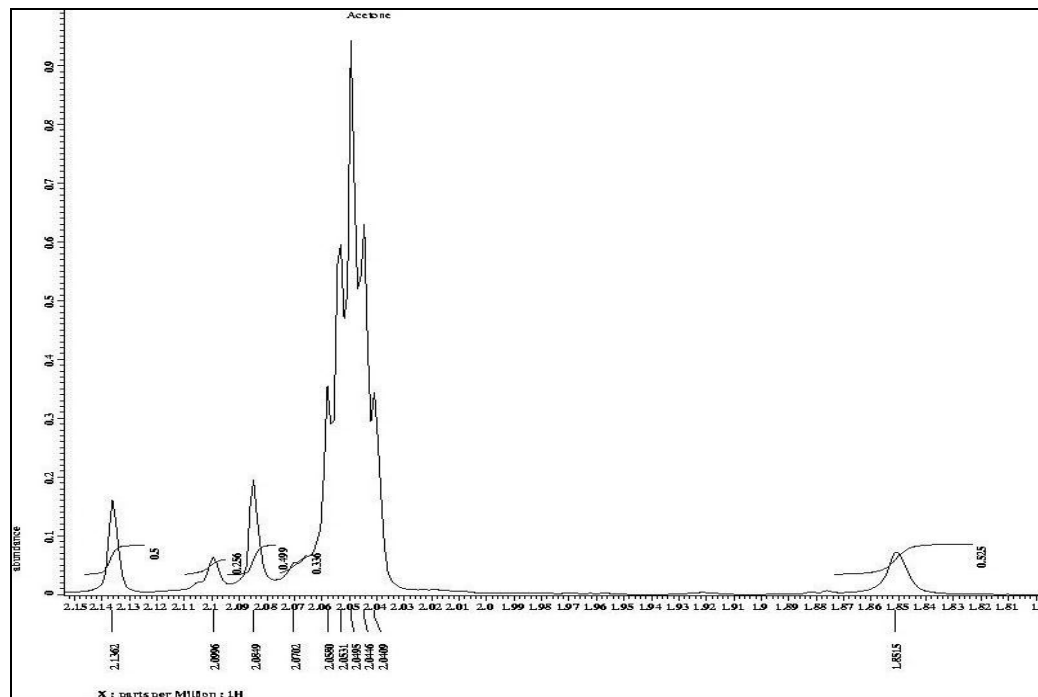
Lampiran 2. Spektrum ^1H NMR 2-hidroksisanton (aseton- d_6 , 500 MHz) perbesaran pada δ_{H} 8,24 – 1,18 ppm



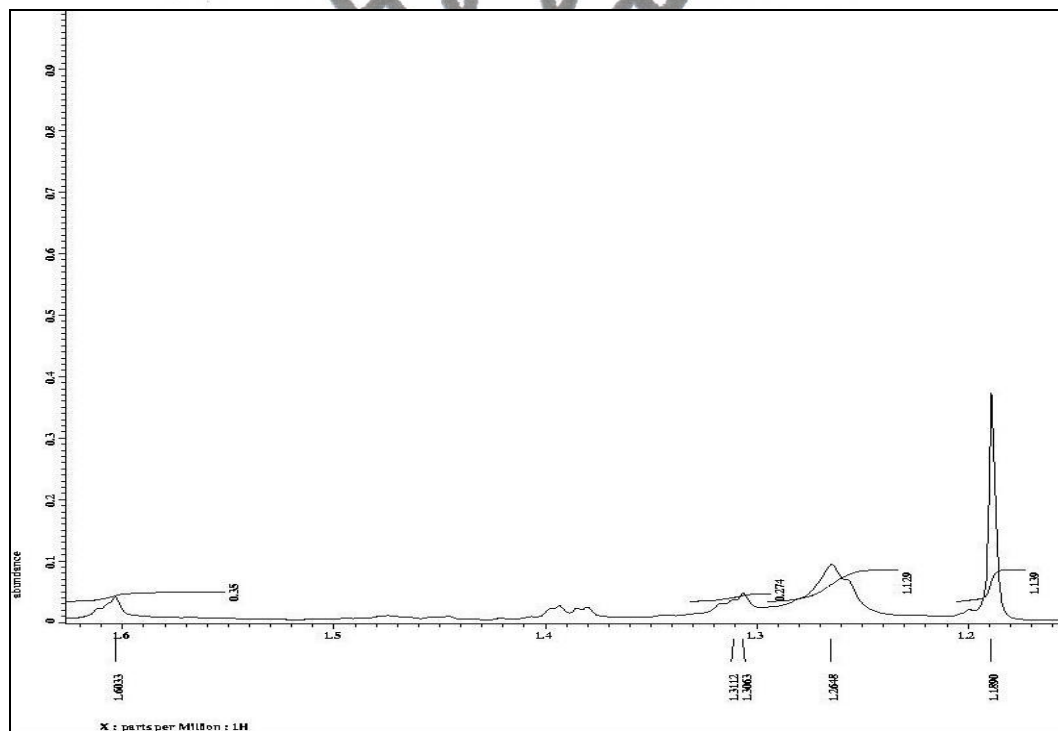
Lampiran 3. Spektrum ^1H NMR 2-hidroksisanton (aseton- d_6 , 500 MHz) perbesaran pada δ_{H} 3,93 – 2,59 ppm



Lampiran 4. Spektrum ^1H NMR 2-hidroksisanton (aseton- d_6 , 500 MHz) perbesaran pada δ_{H} 2,13 – 1,85 ppm



Lampiran 5. Spektrum ^1H NMR 2-hidroksisanton (aseton- d_6 , 500 MHz) perbesaran pada δ_{H} 1,60 – 1,19 ppm





commit to user



commit to user



commit to user



commit to user



commit to user



commit to user



commit to user