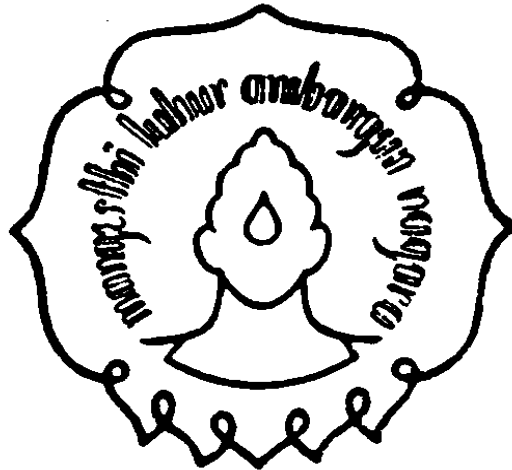


**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA CALOXANTHONE B  
DARI KULIT BATANG NYAMPLUNG  
(*Calophyllum inophyllum* Linn.)**



Disusun Oleh :  
**DEVITA PERMANASARI**  
M 0305002

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk memenuhi sebagian  
persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Sains Kimia**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**September, 2010**

## HALAMAN PENGESAHAN

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

Devita Permanasari, NIM M0305002 dengan Judul "Isolasi dan Identifikasi  
Senyawa Caloxanthone B dari Kulit Batang Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*  
Linn.)"

Skripsi ini dibimbing oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

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

Nestri Handayani, M.Si, Apt  
NIP 19701211 200501 2001

Dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 3 September 2010

Anggota Tim Penguji :

- |  |    |
|--|----|
| 1. Dr. rer. nat Fajar Rakhman Wibowo, M.Si | 1. |
| NIP 19730605 200003 1001                   |    |
| 2. Candra Purnawan, M.Sc                   | 2. |
| NIP 19781228 200501 1001                   |    |

Disahkan oleh :

Jurusan Kimia

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

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

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul "ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA CALOXANTHONE B DARI KULIT BATANG NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* Linn.)" adalah benar-benar hasil penelitian sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat kerja atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 3 September 2010

Devita Permanasari

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA CALOXANTHONE B DARI KULIT BATANG NYAMPLUNG

(*Calophyllum inophyllum* Linn)

DEVITA PERMANASARI

Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sebelas Maret

### ABSTRAK

Senyawa turunan santon telah diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi komponen kimia kulit batang *Calophyllum inophyllum*. Isolasi dilakukan dengan metode maserasi dan beberapa teknik kromatografi, seperti kromatografi vakum cair (silika gel 60 GF<sub>254</sub>), kromatografi kolom (sephadex LH-20) dan kromatografi *flash* (silika gel 60), menghasilkan 8 mg padatan berwarna orange. Senyawa hasil isolasi diidentifikasi dengan metode spektroskopi UV-Vis, IR dan <sup>1</sup>H NMR. Hasil analisis kemudian dibandingkan dengan standar, sehingga diketahui senyawa hasil isolasi adalah caloxanthone B.

Kata kunci : caloxanthone B, kulit batang, *Calophyllum inophyllum*

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CALOXANTHONE B  
FROM STEM BARKS OF NYAMPLUNG**

*(Calophyllum inophyllum Linn)*

**DEVITA PERMANASARI**

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

**ABSTRACT**

A xanthone derivate has been obtained from the isolation and identification of the chemical constituent of stem barks of *Calophyllum inophyllum*. Isolation was done by maceration and several chromatography techniques such as vacuum liquid chromatography (silica gel 60 GF<sub>254</sub>), column chromatography (sephadex LH-20) and flash chromatography (silica gel 60), yielded 8 mg of orange powder. This compound identified by UV-Vis, IR and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy methods. The analysis result was compared to standart, giving caloxanthone B as the name of isolated compound.

Key words: caloxanthone B, stem barks, *Calophyllum inophyllum*

## MOTTO

Kesedihan tidak bisa mengembalikan sesuatu yang hilang,  
ketakutan tidaklah baik untuk masa depan,  
kekhawatiran tidak akan dapat mewujudkan keberhasilan,  
jiwa yang tenang dan hati yang ridho adalah dua sayap untuk terbang  
menuju kebahagiaan

Siapa saja yang memahami hikmah dibalik perintah menuntut ilmu,  
niscaya dia tidak akan pernah menyia-kan waktunya sedikitpun dengan hal  
yang tidak bermanfaat

Sesungguhnya setiap kesulitan tersimpan hikmah,  
dan sesudahnya pasti ada kemudahan,  
karenanya bersabarlah karena sabar itu indah

*commit to user*

## PERSEMBAHAN



Karya kecil ini ku persembahkan kepada :

Bapak, Ibu', De' Nita  
Mbah Kakung (alm), Mbah Uti  
Mb Pi, Mb Yan, Mb Ca', Handa, Anna  
*commit to user* h@ny, Aghaugm  
Teman-teman Kimia '05

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Caloxanthone B dari Kulit Batang *Calophyllum inophyllum* Linn.” ini disusun atas dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
2. M. Widyo Wartono M.Si selaku pembimbing I, terimakasih atas bantuan, bimbingan dan kesabarannya membimbing penulis selama melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Nestri Handayani, M.Si, Apt selaku pembimbing II, yang telah memberikan bimbingan dan arahnya selama penyusunan skripsi ini.
4. Ahmad Ainurofiq, M.Si, Apt selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahnya.
5. I.F. Nurcahyo, Msi., selaku Ketua Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
6. Seluruh Dosen di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret atas ilmu yang berguna dalam menyusun skripsi ini.
7. Para Laboran di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan dalam melaksanakan penelitian.
8. Teman-teman kimia '05, terima kasih atas dukungan, persaudaraan dan kebersamaannya selama ini.
9. Kakak-kakak dan adik-adik tingkat atas semua masukan dan persahabatannya.
10. Semua pihak yang secara langsung atau tidak langsung telah memberikan bantuan dan saran dalam penyelesaian skripsi ini.

*commit to user*



Semoga Allah SWT membalas jerih payah dan pengorbanan yang telah diberikan dengan balasan yang lebih baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak dalam rangka untuk menyempurnakan skripsi ini. Akhir kata, semoga karya kecil ini dapat memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan dan bagi pembaca.



Surakarta, 3 September 2010

Devita Permanasari

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN ABSTRAK .....	iv
HALAMAN ABSTRACT .....	v
HALAMAN MOTTO .....	vi
PERSEMBAHAN .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
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 Nyamplung ( <i>Calophyllum inophyllum</i> L.).....	4
a. Diskripsi Tumbuhan .....	4
b. Kandungan Kimia Tumbuhan .....	5
1) Senyawa Golongan Kumarin.....	5
2) Senyawa Golongan Santon .....	6
3) Senyawa Golongan Flavonoid .....	11

4) Senyawa Golongan Benzodipiranon .....	11
5) Senyawa Golongan Triterpenoid .....	13
6) Senyawa Golongan Steroid .....	13
2. Metode Isolasi Senyawa Bahan Alam .....	15
a. Ekstraksi .....	15
b. Kromatografi .....	16
1) Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	16
2) Kromatografi Vakum Cair (KVC) .....	17
3) Kromatografi <i>Flash</i> .....	18
4) Kromatografi Kolom Sephadex .....	18
3. Metode Identifikasi Senyawa Bahan Alam .....	19
a. Spektroskopi Ultraviolet- Visibel (UV-Vis) .....	19
b. Spektroskopi <i>Infra Red</i> (IR) .....	20
c. Hidrogen <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> ( $^1\text{H}$ NMR) .....	21
B. Kerangka Pemikiran .....	24
C. Hipotesis .....	24
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN .....	25
A. Metode Penelitian .....	25
B. Tempat dan Waktu Penelitian .....	25
C. Alat dan Bahan .....	25
1. Alat yang digunakan .....	25
2. Bahan yang digunakan .....	26
D. Prosedur Penelitian .....	26
1. Determinasi Sampel .....	26
2. Persiapan Sampel .....	27
3. Isolasi Senyawa dari Kulit Batang <i>Calophyllum</i> <i>inophyllum</i> .....	27
E. Teknik Analisis Data .....	28
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	29
A. Isolasi Senyawa dari Kulit Batang <i>Calophyllum inophyllum</i> ....	29
B. Identifikasi Spektroskopi UV-Vis .....	32

C. Identifikasi Spektroskopi IR.....	33
D. Identifikasi Spektroskopi $^1\text{H}$ NMR .....	34
E. Perbandingan Senyawa Hasil Isolasi dengan Senyawa Standar.	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
A. Kesimpulan .....	43
B. Saran .....	43
DAFTAR PUSTAKA .....	44
LAMPIRAN .....	47



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Serapan Beberapa Gugus Kromofor Sederhana.....	19
Tabel 2. Serapan Khas Beberapa Gugus Fungsi pada Spektroskopi IR ....	20
Tabel 3. Pergeseran Kimia untuk Beberapa Jenis inti $^1\text{H}$ .....	22
Tabel 4. Tetapan Kopling untuk Beberapa Jenis Inti $^1\text{H}$ .....	23
Tabel 5. Perbandingan data spektrum $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil isolasi dengan senyawa standar.....	40



## DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Tumbuhan nyamplung .....	5
Gambar 2.	Kerangka dasar senyawa kumarin.....	5
Gambar 3.	Struktur senyawa golongan kumarin yang telah berhasil diisolasi dari daun <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Malaysia.....	6
Gambar 4.	Kerangka dasar senyawa santon .....	7
Gambar 5.	Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Madagaskar.....	8
Gambar 6.	Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Australia .....	8
Gambar 7.	Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Malaysia.....	8
Gambar 8.	Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Jepang .....	10
Gambar 9.	Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Kamerun .....	10
Gambar 10.	Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari akar <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Malaysia.....	10
Gambar 11.	Kerangka dasar senyawa flavonoid.....	11
Gambar 12.	Struktur senyawa golongan flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Jepang .....	11
Gambar 13.	Kerangka dasar senyawa benzodipiranon.....	12

Gambar 14.	Struktur senyawa golongan benzodipiranon yang telah berhasil diisolasi dari daun <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari India .....	12
Gambar 15.	Struktur senyawa golongan benzodipiranon yang telah berhasil diisolasi dari daun <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Pakistan.....	12
Gambar 16.	Kerangka dasar senyawa triterpenoid .....	13
Gambar 17.	Struktur senyawa golongan triterpenoid yang telah berhasil diisolasi dari daun <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Pakistan.....	13
Gambar 18.	Kerangka dasar senyawa golongan steroid .....	14
Gambar 19.	Struktur senyawa golongan steroid yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Malaysia.....	14
Gambar 20.	Struktur senyawa golongan steroid yang telah berhasil diisolasi dari daun <i>Calophyllum inophyllum</i> yang diperoleh dari Pakistan.....	15
Gambar 21a.	Hasil analisis KLT fraksi A-G dilihat dibawah lampu UV $\lambda_{254}$ .....	32
Gambar 21b.	Hasil analisis KLT fraksi A-G dengan larutan pengembang kloroform:etil asetat (9,5:0,5) dan penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .....	29
Gambar 22.	Hasil analisis KLT fraksi $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ dengan larutan pengembang <i>n</i> -heksana:kloroform (8:2) dan penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .....	30
Gambar 23.	Hasil analisis KLT fraksi $\text{C}_{4A}$ - $\text{C}_{4C}$ dengan larutan pengembang <i>n</i> -heksana:kloroform (6:4) dan penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .....	31
Gambar 24.	Hasil analisis KLT fraksi $\text{C}_{4B1}$ - $\text{C}_{4B3}$ dengan larutan pengembang <i>n</i> -heksana:kloroform (6:4) dan penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .....	31



Gambar 25a.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol	32
Gambar 25b.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol dan penambahan pereaksi geser NaOH .....	32
Gambar 26.	Spektrum IR senyawa hasil isolasi .....	33
Gambar 27.	Spektrum $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil isolasi .....	34
Gambar 28.	Geseran kimia proton aromatik.....	35
Gambar 29.	Geseran kimia dan posisi proton metin vinilic pada gugus isoprenil bebas.....	35
Gambar 30a.	Geseran kimia dan posisi proton metil vinilic pada gugus isoprenil bebas.....	36
Gambar 30b.	Geseran kimia dan posisi proton metilen pada gugus isoprenil bebas.....	36
Gambar 31.	Posisi proton pada gugus isoprenil bebas .....	36
Gambar 32.	Geseran kimia dan posisi proton metin pada gugus isoprenil siklis .....	37
Gambar 33.	Geseran kimia dan posisi proton-proton metil pada gugus isoprenil siklis .....	37
Gambar 34.	Posisi proton pada gugus isoprenil siklis .....	37
Gambar 35.	Geseran kimia dan posisi proton metil pada gugus metoksi .	38
Gambar 36.	Senyawa 4-fenil Kumarin .....	39
Gambar 37.	Posisi oksigenasi cincin aromatik senyawa benzodipiranon	39
Gambar 38.	Struktur senyawa caloxanthone B.....	40
Gambar 39a.	Hasil analisis KLT senyawa hasil isolasi dan senyawa standar dengan larutan pengembang <i>n</i> -heksana:aseton (8:2).	39
Gambar 39b.	Hasil analisis KLT senyawa hasil isolasi dan senyawa standar dengan larutan pengembang <i>n</i> -heksana:etil asetat (8:2).....	39
Gambar 39c.	Hasil analisis KLT senyawa hasil isolasi dan senyawa standar dengan larutan pengembang kloroform: <i>n</i> -heksana:etil asetat (7:2,5:0,5).....	39

*commit to user*



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bagan Alir Cara Kerja.....	47
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tumbuhan <i>Calophyllum inophyllum</i> L....	49



## BAB I PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Indonesia memiliki beragam spesies tumbuhan tropis yang sangat berpotensi sebagai sumber bahan kimia dan dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan. Banyak spesies tumbuhan yang telah dilaporkan manfaatnya dalam bidang pengobatan tradisional, namun penelitian kandungan kimia tumbuhan yang bermanfaat tersebut belum semuanya dilaporkan di Indonesia. Salah satu kelompok tumbuhan yang memiliki manfaat dalam bidang pengobatan adalah famili Clusiaceae, khususnya genus *Calophyllum* (Heyne, 1987).

Genus *Calophyllum* terdiri dari 180-200 spesies berbeda. Spesies tumbuhan yang termasuk dalam genus ini antara lain *Calophyllum lanigerum*, *Calophyllum panicflorum*, *Calophyllum dispar*, *Calophyllum brasiliensis*, *Calophyllum enervosum*, *Calophyllum caledonicum* dan *Calophyllum inophyllum* (Noldin, et. al., 2006). Salah satu spesies tumbuhan dalam genus *Calophyllum* yang belum keseluruhan bagiannya diteliti di Indonesia adalah *Calophyllum inophyllum*. Dalam bidang pengobatan tradisional, diketahui air yang dipakai merendam daunnya selama satu malam dapat digunakan untuk mencuci mata yang meradang. Minyak pada bijinya dapat digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit kulit, menumbuhkan rambut dan masih banyak lagi kegunaan lainnya (Heyne, 1987).

Isolasi senyawa kimia tumbuhan *Calophyllum inophyllum* telah banyak dilakukan di luar negeri. Sampel yang banyak digunakan adalah dari bagian daun (Patil, et. al., 1993; Khan, et. al., 1996; Ali, et. al., 1999), kayu batang (Jackson, et. al., 1969; Jeboury and Locksley, 1971; Goh and Jantan, 1991) dan kulit akar (Inuma, et. al., 1994; Inuma, et. al., 1995; Yimdjo, et. al., 2004; Ee, et. al., 2009). Penelitian terhadap komponen kimia tumbuhan *Calophyllum inophyllum* dari bagian tumbuhan yang sama dengan asal sampel yang berbeda dapat memberikan perbedaan senyawa hasil isolasi. Senyawa kimia yang telah diisolasi dari bagian-bagian tersebut cukup beragam, diantaranya senyawa golongan kumarin (Patil, et.

al., 1993), santon (Jackson, *et. al.*, 1969; Jeboury and Locksley, 1971; Goh and Jantan, 1991; Inuma, *et. al.*, 1994; Inuma, *et. al.*, 1995; Yimdjo, *et. al.*, 2004; Ee, *et. al.*, 2009), flavonoid (Inuma, *et. al.*, 1994), benzodipiranon (Khan, *et. al.*, 1996; Ali, *et. al.*, 1999), triterpenoid (Ali, *et. al.*, 1999) dan steroid (Goh and Jantan, 1991; Ali, *et. al.*, 1999). Senyawa golongan kumarin dan santon merupakan senyawa yang paling banyak dilaporkan. Beberapa senyawa golongan kumarin dilaporkan menunjukkan aktivitas penghambat virus HIV (Patil, *et. al.*, 1993), aktivitas sitotoksik (Yimdjo, *et. al.*, 2004) dan anti radang (Dweck and Meadows, 2002). Senyawa golongan santon juga dilaporkan menunjukkan aktivitas sitotoksik dan anti mikroba (Noldin, *et. al.*, 2006) serta anti radang (Dweck and Meadows, 2002). Berdasarkan penelitian yang telah dilaporkan, dapat diketahui bahwa sebagian besar senyawa yang terkandung pada bagian kayu batang dan kulit akar adalah senyawa golongan santon yang dapat diisolasi dengan menggunakan beberapa metode yang berbeda. Alasan inilah yang melatarbelakangi penelitian, sehingga pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa santon yang terdapat dalam kulit batang *Calophyllum inophyllum*.

## **B. Perumusan Masalah**

### **1. Identifikasi Masalah**

Tumbuhan *Calophyllum inophyllum* tumbuh subur di beberapa daerah di Indonesia, seperti Jawa, Sumatera, Sulawesi, Nusa Tenggara dan Bali. Perbedaan kondisi geografis dan ekologi dari asal sampel dapat mempengaruhi kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalamnya.

Isolasi senyawa santon dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* dapat dilakukan dengan beberapa metode. Metode isolasi yang banyak digunakan antara lain ekstraksi dan kromatografi.

Identifikasi senyawa santon dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti skrining fitokimia, spektroskopi UV-Vis (Ultraviolet-Visibel), IR (*Infra Red*), NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) dan MS (*Mass Spectroscopy*). Penggunaan metode tertentu membutuhkan kemurnian yang sangat tinggi dan jumlah yang cukup besar.

## 2. Batasan Masalah

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

- a. Sampel kulit batang *Calophyllum inophyllum* yang digunakan tumbuh di daerah Klaten, Jawa Tengah.
- b. Isolasi dilakukan dengan metode maserasi, dilanjutkan dengan kromatografi vakum cair, kromatografi *flash* dan kromatografi kolom sephadex.
- c. Identifikasi dilakukan dengan metode KLT, spektroskopi UV-Vis, IR dan <sup>1</sup>H NMR.

## 3. Rumusan Masalah

Senyawa santon apakah yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*?

### C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

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

### D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Segi teoritis, memberikan informasi mengenai senyawa santon yang terkandung dalam kulit batang *Calophyllum inophyllum*.
2. Segi praktis, sebagai langkah awal studi penelusuran bioaktivitas senyawa santon yang berhasil diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum*.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Tumbuhan Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.)

###### a. Diskripsi Tumbuhan

Tumbuhan nyamplung tersebar di seluruh daerah tropis, biasanya tumbuh mengelompok di sepanjang pantai. Berikut klasifikasi tumbuhan nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub-kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Theales
Familia	: Clusiaceae
Genus	: <i>Calophyllum</i>
Spesies	: <i>Calophyllum inophyllum</i> L.

(Heyne, 1987)

Batangnya padat dan berurat kusut serta mempunyai dua macam warna, yakni kelabu yang kadang mempunyai bercak pudar atau agak kuning dan merah pudar seperti bata yang setengah bakar (Heyne, 1987). Kayunya termasuk kayu komersial yang dapat digunakan untuk bahan pembuatan perahu, tiang, papan lantai dan bahan konstruksi ringan. Air yang dipakai merendam daunnya selama satu malam akan memperoleh warna kebiru-biruan yang dapat digunakan untuk mencuci mata yang meradang. Buahnya berbentuk bulat seperti peluru dengan sebuah mancung kecil di depannya, berwarna hijau terusi selama masih bergantung pada pohon, tetapi menjadi kekuning-kuningan atau berwarna seperti kayu bila sudah luruh. Daging buahnya yang tipis lambat laun menjadi keriput dan mudah mengelupas. Biji yang tersisa berupa bulatan kecil yang bundar, juga dengan sebuah mancung, terdiri dari sebuah kulit kering rapuh dan di dalamnya terdapat sebuah inti

yang merupakan minyak berwarna kuning. Minyak ini dapat digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit kulit, menumbuhkan rambut dan masih banyak lagi kegunaan lainnya (Heyne, 1987). Dengan berbagai potensi keunggulannya, nyamplung merupakan tanaman yang memberikan multifungsi dan manfaat kepada manusia. Gambar 1 menunjukkan gambar dari tumbuhan nyamplung.



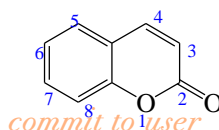
Gambar 1. Tumbuhan nyamplung

b. Kandungan Kimia Tumbuhan

Komponen kimia yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* cukup beragam, diantaranya senyawa golongan kumarin, santon, flavonoid, benzodipiranon, triterpenoid dan steroid (Su, et. al., 2008).

1) Senyawa Golongan Kumarin

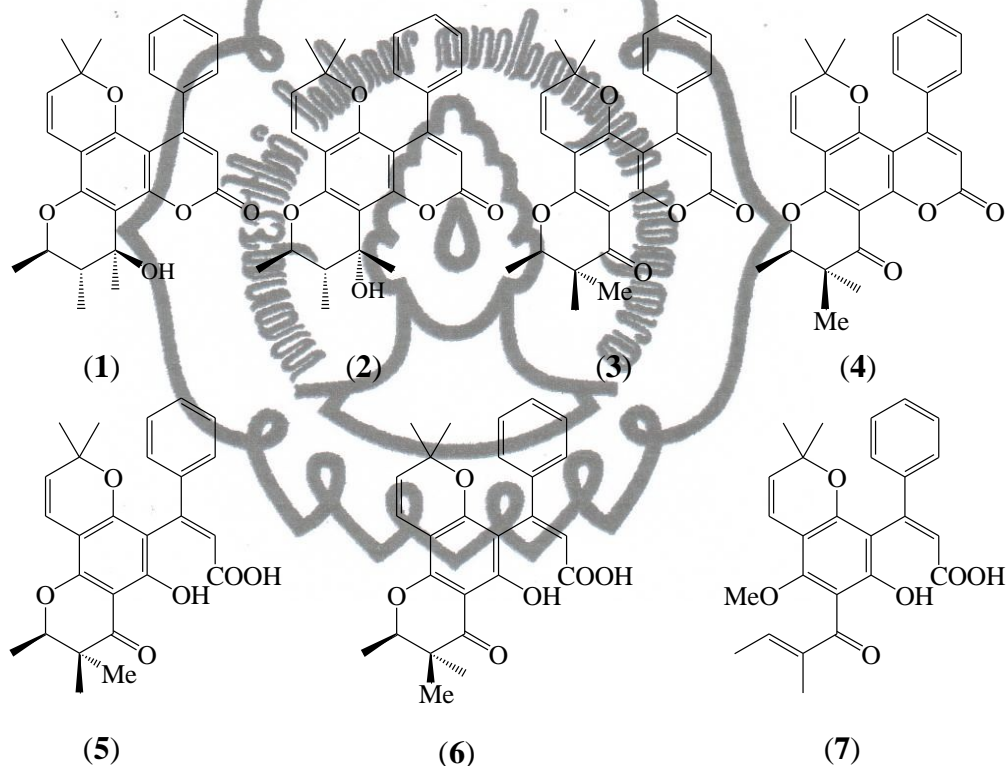
Senyawa bahan alam yang banyak diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* adalah senyawa golongan kumarin. Biosintesis senyawa kumarin berasal dari jalur sikimat. Ciri khas senyawa ini adalah adanya gugus lakton yang terbentuk dari asam pada ujung gugus propan dengan hidroksi pada gugus fenil. Senyawa kumarin yang pernah diisolasi memiliki ciri khas adanya tambahan gugus prenil. Gambar 2 menunjukkan kerangka dasar senyawa kumarin (Koensoemardiyah, 1992).



Gambar 2. Kerangka dasar senyawa kumarin



Struktur senyawa turunan kumarin dilihat dari gugus yang terikat pada C<sub>4</sub> dapat dibedakan menjadi 4-metil kumarin, 4-fenil kumarin dan 4-(*n*-propil) kumarin (Kristanti, dkk., 2008). Sejumlah senyawa golongan kumarin telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia, diantaranya inophyllum B (1), inophyllum P (2), inophyllum C (3), inophyllum E (4), calophyllic acid (5) isocalophyllic acid (6) dan calophyllolide (7) (Patil, et. al., 1993) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 3.



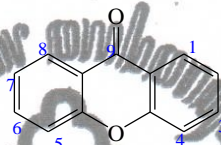
Gambar 3. Struktur senyawa golongan kumarin yang telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia

Senyawa inophyllum B (1) dan inophyllum P (2) menunjukkan aktivitas penghambat virus HIV (Patil, 1993). Senyawa calophyllolide (7) menunjukkan aktivitas sitotoksik (Yimdjo, et. al., 2004) dan anti radang (Dweck and Meadows, 2002).

## 2) Senyawa Golongan Santon

Santon ialah pigmen fenol kuning yang reaksi warna serta gerakan kromatografinya serupa dengan flavonoid (Padmawinata dan Sudiro, 1987).

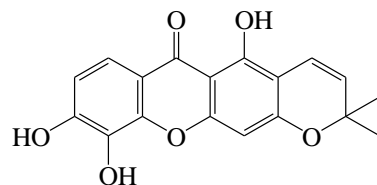
Santon merupakan senyawa dengan kerangka dasar dua fenil yang dihubungkan dengan jembatan karbonil dan oksigen (eter). Biosintesis senyawa santon belum diketahui secara jelas, namun diduga masih berhubungan dekat dengan biosintesis senyawa flavonoid dan stilbenoid. Hal ini bisa dilihat dari tipe oksigenasi dua jenis cincin aromatik yang ada. Satu cincin aromatik memperlihatkan ciri berasal dari jalur sikimat dan satu cincin lagi memperlihatkan ciri berasal dari jalur asetat-malonat. Gambar 4 menunjukkan kerangka dasar senyawa santon (Koensoemardiyah, 1992).



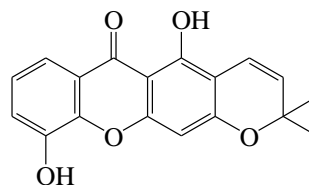
Gambar 4. Kerangka dasar senyawa santon

Senyawa santon yang diisolasi ada yang terprenilasi dan ada juga yang tidak terprenilasi. Kebanyakan senyawa golongan santon yang diisolasi menunjukkan adanya ciri khas, salah satunya adalah adanya gugus hidroksi pada C<sub>1</sub>. Selain itu, kebanyakan senyawa tersebut mengandung gugus tambahan terutama gugus isoprenil. Sejumlah senyawa golongan santon telah berhasil diisolasi dari kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Madagaskar, diantaranya jacareubin (8), 6-desoxyjacareubin (9) dan 2-(3,3-dimethylallyl)-1,3,5,6-tetrahydroxyxanthone (10) (Jackson, et. al., 1969) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 5. Senyawa turunan santon telah berhasil diisolasi pula dari bagian kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Australia, diantaranya 1,7-dihydroxyxanthone (11), 1,5,6 trihydroxyxanthone (12), 1,6-dihydroxy-5-methoxyxanthone (13) dan 2-(3,3-dimethylallyl)-1,3,5-trihydroxyxanthone (14) (Jeboury and Locksley, 1971) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 6. Selain itu, senyawa santon juga telah berhasil diisolasi dari kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia, yaitu 2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-1,3,5,6-tetrahydroxyxanthone (15) (Goh and Jantan, 1991) dengan struktur yang ditunjukkan oleh Gambar 7.

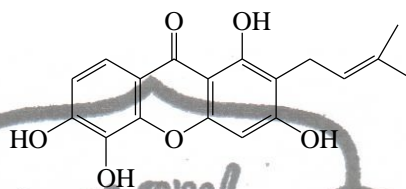




(8)

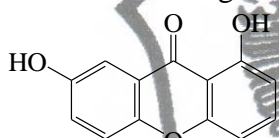


(9)

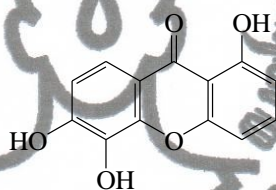


(10)

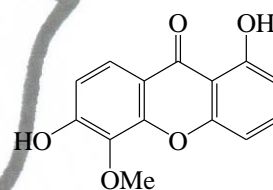
Gambar 5. Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Madagaskar



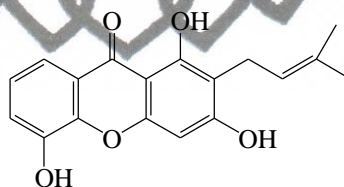
(11)



(12)

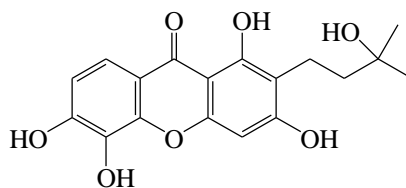


(13)



(14)

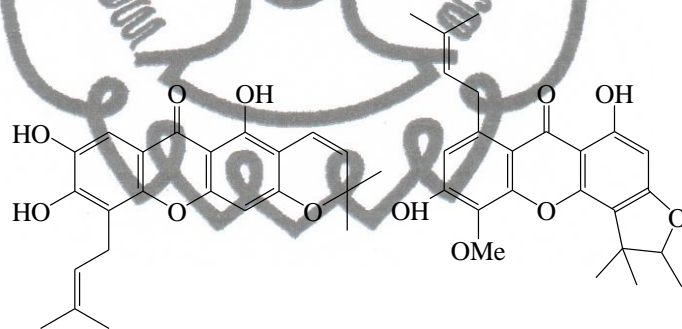
Gambar 6. Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Australia



(15)

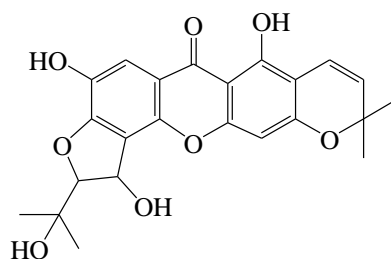
Gambar 7. Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia  
Sejumlah senyawa golongan santon telah berhasil diisolasi dari kulit

akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Jepang, diantaranya caloxanthone A (16) dan caloxanthone B (17) (Inuma, *et. al.*, 1994), caloxanthone D (18), caloxanthone E (19), 1,3,8-trihydroxy-7-methoxyxanthone (20), 1,3-dihydroxy-7,8-methoxyxanthone (21) dan 6-hydroxy-1,5-dimethoxyxanthone (22) (Inuma, *et. al.*, 1995) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 8. Senyawa turunan santon telah berhasil diisolasi pula dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Kamerun, diantaranya inoxanthone (23), macuraxanthone (24) dan 1,5-dihydroxyxanthone (25) (Yimdjo, *et. al.*, 2004) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 9. Selain itu, senyawa santon juga telah berhasil diisolasi dari akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia, diantaranya brasilixanthone (26), pyranojacareubin (27), 1,3,5-trihydroxy-2-methoxy xanthone (28) dan tovopyrifolin (29) (Ee, *et. al.*, 2009) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 10.

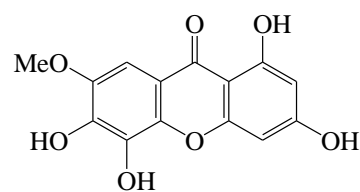


(16)

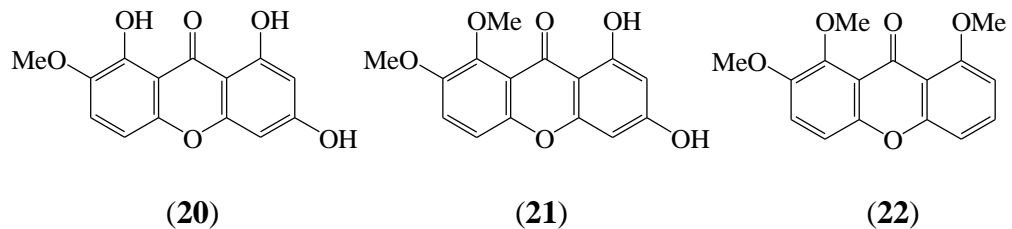
(17)



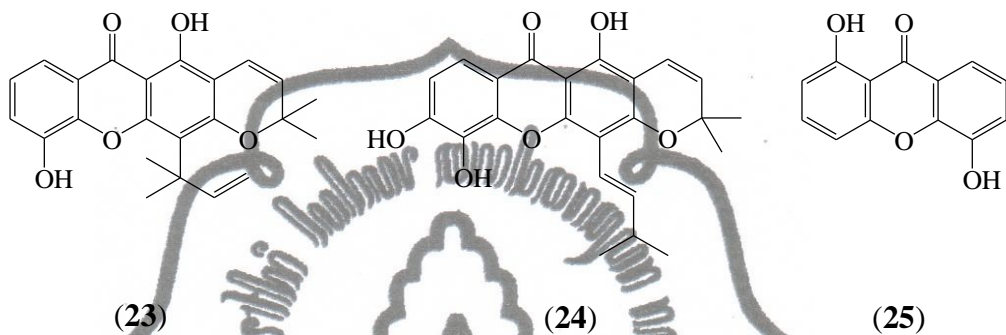
(18)



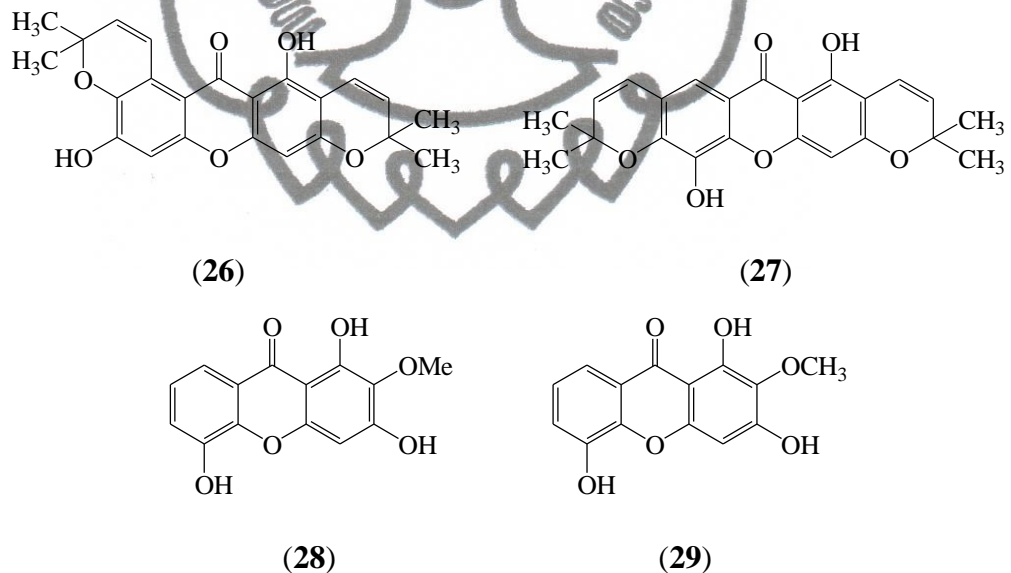
(19)



Gambar 8. Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Jepang



Gambar 9. Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Kamerun

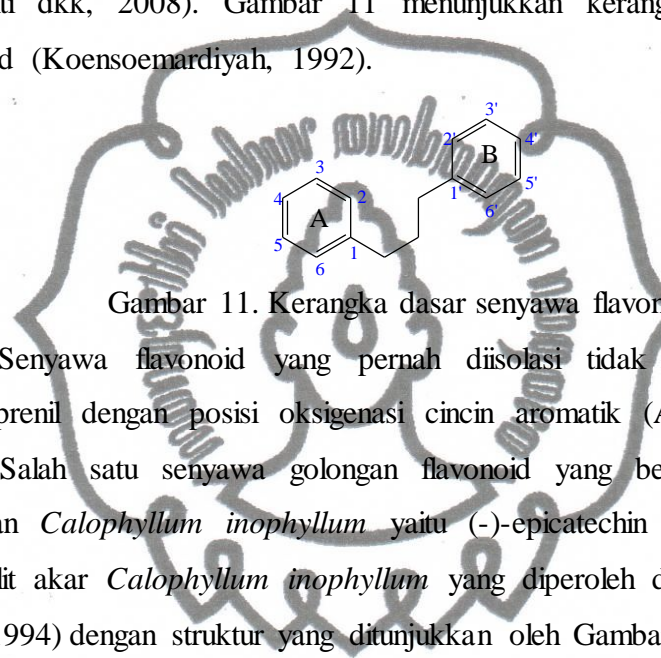


Gambar 10. Struktur senyawa golongan santon yang telah berhasil diisolasi dari akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia

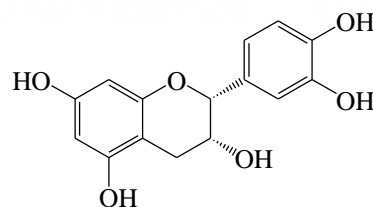
Senyawa caloxanthone A (**16**), caloxanthone B (**17**), inoxanthone (**23**) dan machuraxanthone (**24**) menunjukkan aktivitas sitotoksik dan anti mikroba (Noldin, *et. al.*, 2006). Aktivitas anti radang ditunjukkan oleh senyawa jacareubin (**8**) dan 6-desoxyjacareubin (**9**) (Dweck and Meadows, 2002).

### 3) Senyawa Golongan Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan  $C_6-C_3-C_6$ . Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid. Biosintesis flavonoid melibatkan dua jalur biosintesis yaitu jalur sikimat dan jalur asetat-malonat (Kristanti dkk, 2008). Gambar 11 menunjukkan kerangka dasar senyawa flavonoid (Koensoemardiyah, 1992).



Senyawa flavonoid yang pernah diisolasi tidak memiliki tambahan gugus prenil dengan posisi oksigenasi cincin aromatik (A) yang berselang-seling. Salah satu senyawa golongan flavonoid yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* yaitu (-)-epicatechin (**30**) yang diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Jepang (Inuma, et. al., 1994) dengan struktur yang ditunjukkan oleh Gambar 12.

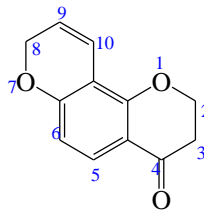


(30)

Gambar 12. Struktur senyawa golongan flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Jepang

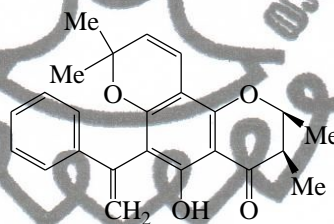
### 4) Senyawa Golongan Benzodipiranon

Senyawa benzodipiranon yang pernah diisolasi juga memiliki posisi oksigenasi cincin aromatik yang berselang-seling. Gambar 13 menunjukkan kerangka dasar senyawa benzodipiranon.



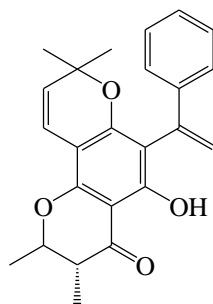
Gambar 13. Kerangka dasar senyawa benzodipiranon

Senyawa golongan benzodipiranon yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* yaitu (2S,3R)-2,3-dihydro-5-hydroxy-2,3,8,8-tetramethyl-6-(1-phenylethenyl)-4H,8H-benzo[1,2-b:3,4-b']dipyran-4-one (**31**) yang diisolasi dari daun *Calophyllum Inophyllum* yang diperoleh dari India (Khan, *et. al.*, 1996) dengan struktur yang ditunjukkan oleh Gambar 14. Selain itu, senyawa benzodipiranon juga telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Pakistan, diantaranya inophynone (**32**) dan isoinophynone (**33**) (Ali, *et. al.*, 1999) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 15.

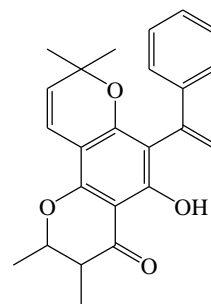


(31)

Gambar 14. Struktur senyawa golongan benzodipiranon yang telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari India



(32)

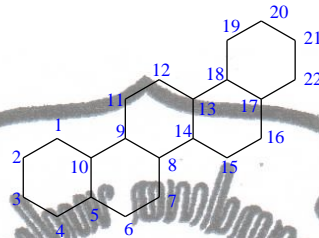


(33)

Gambar 15. Struktur senyawa golongan benzodipiranon yang telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Pakistan

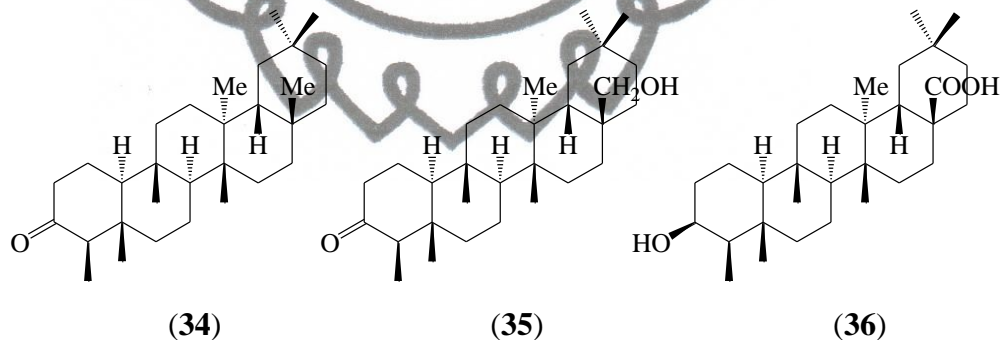
### 5) Senyawa Golongan Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon  $C_{30}$  asiklik, yaitu skualena (Padmawinata dan Sudiro 1987). Gambar 16 menunjukkan kerangka dasar senyawa triterpenoid (Robinson, 1995).



Gambar 16. Kerangka dasar senyawa triterpenoid

Senyawa golongan triterpenoid yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum*, diantaranya friedelin (34), canophyllol (35) dan canophyllic acid (36) yang diisolasi dari daun *Calophyllum Inophyllum* yang diperoleh dari Pakistan (Ali, et. al., 1999) dengan struktur masing-masing ditunjukkan oleh Gambar 17.

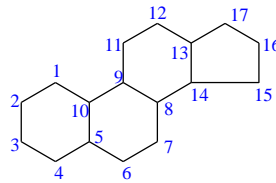


Gambar 17. Struktur senyawa golongan triterpenoid yang telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Pakistan

### 6) Senyawa Golongan Steroid

Steroid adalah kelompok senyawa bahan alam yang kebanyakan strukturnya terdiri atas 17 atom karbon dengan membentuk struktur dasar 1, 2-siklopentenoperhidrofenantren. Gambar 18 menunjukkan kerangka dasar senyawa steroid (Koensoemardiyah, 1992).

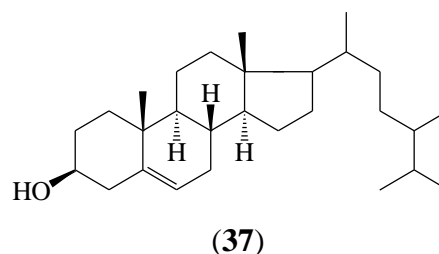




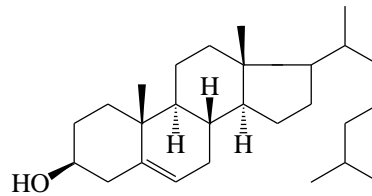
Gambar 18. Kerangka dasar senyawa golongan steroid

Steroid terdiri atas beberapa kelompok senyawa yang pengelompokannya didasarkan pada efek fisiologis yang dapat ditimbulkan. Ditinjau dari segi struktur, perbedaan antara berbagai kelompok ini ditentukan oleh jenis substituent yang terikat pada kerangka dasar, sedangkan perbedaan antara senyawa yang satu dengan senyawa yang lain dari satu kelompok ditentukan oleh panjangnya rantai karbon substituen, gugus fungsi yang terdapat pada substituen, jumlah dan posisi gugus fungsi oksigen dan ikatan rangkap pada kerangka dasar serta konfigurasi pusat asimetris pada kerangka dasar (Kristanti, dkk., 2008).

Senyawa golongan steroid yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* yaitu yaitu sitosterol (37) yang diisolasi dari kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia (Goh and Jantan, 1991) dengan struktur yang ditunjukkan oleh Gambar 19. Selain itu, senyawa steroid juga telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Pakistan, yaitu kolesterol (38) (Ali, *et. al.*, 1999) dengan struktur yang ditunjukkan oleh Gambar 20.



Gambar 19. Struktur senyawa golongan steroid yang telah berhasil diisolasi dari kayu batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Malaysia



(38)

Gambar 20. Struktur senyawa golongan steroid yang telah berhasil diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Pakistan

## 2. Metode Isolasi Senyawa Bahan Alam

### a. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan kimia berdasarkan kelarutan komponen dalam pelarut yang digunakan. Ekstraksi pada padatan digunakan untuk memisahkan senyawa bahan alam dari jaringan kering tumbuhan, mikroorganisme dan hewan. Jika substansi yang akan diekstrak terdapat di dalam campurannya yang berbentuk padat, maka dilakukan proses ekstraksi padat-cair (Rusdi, 1998). Pelarut *n*-heksana, eter, petroleum eter atau kloroform digunakan untuk mengambil senyawa yang kepolarannya rendah. Pelarut yang lebih polar seperti alkohol dan etil asetat digunakan untuk mengambil senyawa-senyawa yang lebih polar. 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 (Padmawinata dan Sudiro, 1987).

Maserasi merupakan contoh metode ekstraksi padat-cair yang dilakukan dengan jalan membiarkan padatan terendam dalam suatu pelarut. Salah satu keuntungan metode maserasi adalah cepat. Waktu rendam bahan dalam pelarut bervariasi antara 15-30 menit tetapi terkadang bisa sampai 24 jam. Jumlah pelarut yang diperlukan juga cukup besar (Kristanti, dkk., 2008). Pada proses maserasi, jika dilakukan dengan pelarut air, maka diperlukan proses ekstraksi lebih lanjut, yaitu ekstraksi fasa air yang diperoleh dengan pelarut organik (Padmawinata dan Sudiro, 1987). Jika maserasi dilakukan dengan pelarut organik maka filtrat hasil ekstraksi dikumpulkan menjadi satu kemudian dievaporasi atau didestilasi. Selanjutnya dapat dilakukan proses



pemisahan dengan kromatografi atau rekristalisasi langsung (Kristanti, dkk., 2008).

b. Kromatografi

Kromatografi merupakan salah satu metode pemisahan komponen dalam suatu sampel dimana komponen tersebut didistribusikan di antara dua fasa yaitu fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak adalah fasa yang membawa cuplikan, sedangkan fasa diam adalah fasa yang menahan cuplikan secara efektif (Sastrohamidjojo, 1995). Fase diam atau penyerap yang biasa digunakan adalah silika gel ( $\text{SiO}_2$ ), selulosa dan alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) (Padmawinata, 1991). 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 (Sastrohamidjojo, 1995).

1) Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Tujuan KLT adalah untuk (1) mencari eluen yang sesuai untuk kromatografi kolom, (2) analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, (3) memonitor jalannya suatu reaksi kimia, (4) identifikasi senyawa (Kristanti, dkk., 2008). 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 GF<sub>254</sub>. Identifikasi senyawa pada hasil analisis KLT dengan fasa diam 60 GF<sub>254</sub> dapat dilakukan dengan melihat warna noda di bawah sinar UV. Senyawa aromatik akan tampak berupa noda gelap (tidak berfluoresence) dengan background yang berpendar saat disinari dengan lampu UV  $\lambda_{254}$  (Padmawinata dan Sudiro, 1987). Identifikasi senyawa juga dapat dilakukan dengan menyemprotkan pereaksi warna yang bersifat universal seperti  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .

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 untuk mengelusi senyawa yang adsorbsinya lemah (Sastrohamidjojo, 1995).

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 :

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

## 2) Kromatografi Vakum Cair (KVC)

Kromatografi vakum cair merupakan salah satu kromatografi kolom khusus yang biasanya juga menggunakan silika gel sebagai adsorben. Alat yang digunakan adalah corong buchner berkaca masir atau kolom pendek dengan diameter yang cukup besar. Pada KVC, kolom dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan adsorben yang maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang paling non polar yang akan dipakai dituang ke permukaan adsorben, kemudian divakum lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap dipakai jika kolom tidak retak atau turunnya eluen sudah rata dengan kolom. Sample dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau sample dibuat serbuk bersama adsorben (impregnasi) dan dimasukkan ke bagian atas kolom kemudian dihisap perlahan-lahan. Kolom selanjutnya dielusi dengan pelarut yang sesuai, dimulai dengan yang paling non polar. Kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Pada KVC, fraksi-fraksi yang ditampung biasanya bervolume jauh lebih besar dibandingkan dengan fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom biasa.

Langkah pemisahan menggunakan KVC biasanya dilakukan pada tahap awal pemisahan (pemisahan terhadap ekstrak kasar yang diperoleh langsung dari proses ekstraksi). Pada KVC, bagian atasnya terbuka sehingga

untuk mengotak-atik kolom atau penggantian pelarut mudah dilakukan (Kristanti, dkk., 2008). Penelitian yang menggunakan KVC dalam tahap fraksinasi diantaranya isolasi senyawa santon dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* (Linuma, et. al., 1995) dan isolasi senyawa benzodipiranon dari daun *Calophyllum inophyllum* (Ali, et. al., 1999).

### 3) Kromatografi Flash

Fraksi yang diperoleh dari hasil fraksinasi menggunakan metode KVC dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom. Kromatografi *flash* merupakan kromatografi kolom yang dimodifikasi dengan bantuan tekanan. Kelebihan kromatografi *flash* dibandingkan dengan kromatografi kolom gravitasi adalah prosesnya memerlukan waktu yang relatif lebih singkat. Pemilihan sistem eluen untuk kromatografi *flash* dipandu dengan KLT. Rf senyawa dianjurkan berada pada range 0,15-0,2. Sistem pelarut biner dengan salah satu pelarut mempunyai kepolaran yang lebih tinggi sering digunakan dalam kromatografi ini (Still, et. al., 1978). Penelitian yang menggunakan kromatografi *flash* dalam tahap pemisahan diantaranya isolasi senyawa santon dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* (Yindjo, et. al., 2004).

### 4) Kromatografi Kolom Sephadex

Gel sephadex (G) merupakan salah satu adsorben yang digunakan sebagai fasa diam dalam kromatografi kolom. Salah satu kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama. 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). Penelitian yang menggunakan kromatografi kolom gravitasi

dengan menggunakan gel sephadex LH-20 diantaranya isolasi senyawa santon dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* (Inuma, *et. al.*, 1995).

### 3. Metode Identifikasi Senyawa Bahan Alam

#### a. Spektroskopi Ultraviolet- Visibel (UV-Vis)

Daerah UV-Vis berada pada panjang gelombang 180-350 nm. Prinsip dasar dari spektroskopi UV-Vis adalah penyerapan sinar tampak atau ultraviolet oleh suatu molekul yang dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul tersebut dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Absorpsi radiasi oleh suatu sampel diukur detektor pada berbagai panjang gelombang dan diinformasikan ke perekam untuk menghasilkan spektrum. Spektrum ini akan memberikan informasi penting untuk identifikasi adanya gugus kromofor (Hendayana, 1994).  $\lambda_{\text{maks}}$  beberapa gugus kromofor sederhana ditunjukkan pada Tabel 1. Data ini hanya dapat memberikan petunjuk kasar untuk identifikasi gugus fungsional, karena posisi maksimal juga dipengaruhi oleh struktur molekul kromofor (Kemp, 1987).

Tabel 1. Serapan Beberapa Gugus Kromofor Sederhana

Gugus Kromofor	$\lambda_{\text{maks}}$ (nm)
C=C	175
C=O	160, 185 dan 280
C=C-C=C	217
C=C-C=O	220 dan 315
Benzena	184, 204 dan 255

Senyawa aromatik mengabsorpsi pada daerah cahaya ultraviolet. Jika pada cincin benzena terdapat pasangan elektron sunyi seperti pada fenol, maka panjang gelombang maksimumnya mengalami pergeseran bathokromik. Senyawa terpenoid dan steroid jarang dianalisis menggunakan Spektroskopi UV-Vis karena strukturnya yang tidak menyerap sinar UV-Vis (Kismane dan Ibrahim, 1985).

Beberapa senyawa santon dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang telah berhasil diisolasi memberikan pola spektra UV-Vis yang hampir sama. Sebagai contoh, hasil analisa UV-Vis caloxanthone B (**17**) dengan pelarut metanol menunjukkan adanya 4 puncak utama yaitu pada 247, 256, 282 dan

321 nm. Penambahan pereaksi penggeser NaOH memberikan pergeseran  $\lambda_{\text{maks}}$  pada 224, 265, 282 dan 360 nm (Linuma, *et. al.*, 1994).

b. Spektroskopi Infra Red (IR)

Metode Spektroskopi inframerah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik (Hartomo dan Purba, 1984). Instrumen biasa memindai (*scan*) pada kisaran sekitar 600-5000  $\text{cm}^{-1}$  (Achmadi, 2003). Tipe ikatan yang berlainan akan menyerap radiasi IR pada karakteristik panjang gelombang yang berbeda. Ikatan non polar tidak mengabsorpsi radiasi IR karena tidak ada perubahan momen ikatan apabila atom-atom saling berosilasi. Ikatan non polar relatif menyebabkan absorpsi yang lemah dan pada ikatan polar menunjukkan absorpsi yang kuat (Pudjaatmaka, 1982). Spektroskopi IR terutama bermanfaat untuk menetapkan jenis ikatan yang ada dalam molekul (dengan menggunakan daerah gugus fungsi). Serapan khas beberapa gugus fungsi ditunjukkan pada Tabel 2 (Achmadi, 2003).

Tabel 2. Serapan Khas Beberapa Gugus Fungsi pada Spektroskopi IR

Jenis ikatan	Gugus	Golongan senyawa	Kisaran frekuensi
Ikatan tunggal dengan hidrogen	C-H	alkana	2850-3000
	=C-H	alkena	3020-3080
		aromatik	3000-3100
	O-H	alkohol dan fenol	3500-3700 (bebas) 3200-3500 (berikatan hidrogen)
	O-H	asam karboksilat	2500-3000
Ikatan rangkap	C=C	alkena	1600-1700
		aromatik	1450-1600
	C=O	aldehida, keton, ester dan asam karboksilat	1650-1780

Spektrum IR suatu senyawa dapat dengan mudah diperoleh dengan meletakkan sedikit sampel dalam instrumen dengan sumber radiasi inframerah. Spektrometer secara otomatis membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu dan merekam pada kertas berapa persen radiasi yang ditransmisikan. Radiasi yang diserap oleh molekul



muncul sebagai pita pada spektrum. Daerah  $600\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$  disebut daerah frekuensi rendah atau daerah sidik jari dan dapat digunakan untuk menyatakan apakah dua zat identik atau berbeda. Pita-pita di daerah ini dihasilkan dari gabungan gerakan bengkok dan regangan dari atom-atom yang ada dan khas untuk setiap senyawa (Achmadi, 2003).

Identifikasi kerangka pada caloxanthone B (**17**), dapat dilihat serapan gugus fungsi utama seperti gugus hidroksi ( $3400\text{ cm}^{-1}$ ) dan aromatik ( $1610\text{ cm}^{-1}$ ) (Iinuma, *et. al.*, 1994).

c. Hidrogen Nuclear Magnetic Resonance ( $^1\text{H}$  NMR)

Spektroskopi  $^1\text{H}$  dapat memberikan informasi (1) Banyaknya sinyal dan pergeseran kimianya dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis inti  $^1\text{H}$  yang secara kimia berbeda di dalam molekul, (2) luas puncak menginformasikan banyaknya inti  $^1\text{H}$  dari setiap jenis yang ada, (3) pola pembelahan spin-spin menginformasikan tentang jumlah  $^1\text{H}$  tetangga terdekat yang dimiliki oleh inti  $^1\text{H}$  tertentu. Spektrum  $^1\text{H}$  NMR biasanya diperoleh dengan cara melarutkan sampel senyawa yang sedang dikaji (biasanya hanya beberapa miligram) dalam sejenis pelarut lembam yang tidak memiliki inti  $^1\text{H}$ . Contoh pelarut seperti itu ialah  $\text{CCl}_4$  atau pelarut dengan hidrogen yang digantikan oleh deuterium, seperti  $\text{CDCl}_3$  (deuteriokloroform) dan  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (heksadeutioaseton). Sejumlah kecil senyawa rujukan juga ditambahkan. Larutan dimasukkan ke dalam tube kaca, diletakkan di tengah kumparan frekuensi radio (rf), yaitu di antara ujung-ujung kutub magnet yang sangat kuat. Plot dari energi yang diserap oleh sampel terhadap frekuensi terpasang pada kumparan rf memberikan spektrum NMR.

Posisi puncak spektrum diukur dalam unit  $\delta$  (delta) dari puncak senyawa rujukan, yaitu tetrametilsilana (TMS),  $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ . Pergeseran kimia (*chemical shift*) dari jenis sinyal  $^1\text{H}$  tertentu adalah nilai  $\delta$ -nya terhadap TMS. Disebut pergeseran kimia karena nilainya bergantung pada lingkungan kimia dari hidrogen dan tidak bergantung pada instrumen yang digunakan untuk mengukur.

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  $^1\text{H}$  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  $^1\text{H}$  pada berbagai lingkungan kimia telah ditetapkan dengan mengukur spektrum  $^1\text{H}$  NMR sejumlah senyawa dengan struktur sederhana yang diketahui. Tabel 3 berikut memuat pergeseran kimia beberapa jenis inti  $^1\text{H}$  yang lazim (Achmadi, 2003).

Tabel 3. Pergeseran Kimia untuk Beberapa Jenis inti  $^1\text{H}$

Jenis $^1\text{H}$	$\delta$ (ppm)	Jenis $^1\text{H}$	$\delta$ (ppm)
$\text{C}-\text{CH}_3$	0,85-0,95	$\text{CH}_3-\text{O}-$	3,5-3,8
$\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}$	1,20-1,35	$-\text{CH}_2=\text{C}$	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	$\text{Ar}-\text{H}$	6,0-8,0
$\text{CH}_3-\text{Ar}$	2,2-2,5	$\text{R}-\text{OH}$	5,0-5,5
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{C}=\text{O} \\   \\ \text{C} \end{array}$	2,1-2,6	$\text{Ar}-\text{OH}$	4-8

Salah satu faktor penting yang mempengaruhi pergeseran kimia adalah elektronegativitas dari gugus pada lingkungan di seputar inti  $^1\text{H}$ . Gugus penarik elektron biasanya menyebabkan pergeseran kimia bawah medan. Faktor kedua yang mempengaruhi pergeseran kimia adalah keberadaan elektron pi. Banyak senyawa menghasilkan spektrum yang menunjukkan puncak yang lebih rumit, bukan hanya satu puncak (singlet) untuk setiap jenis hidrogen melainkan dua puncak (duplet), tiga puncak (triplet), empat puncak (kuartet), bahkan multiplet. Hal yang demikian disebut dengan pembelahan spin-spin (*spin-spin splitting*).

Setiap inti  $^1\text{H}$  dalam molekul berperilaku sebagai magnet kecil. Bila kita mengoperasikan spektrum  $^1\text{H}$  NMR, setiap hidrogen tidak hanya merasakan medan magnetik terpasang yang sangat besar, tetapi juga medan kecil yang timbul karena hidrogen tetangga. Bila kita mengeksitasi inti  $^1\text{H}$  pada satu karbon, inti  $^1\text{H}$  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  $^1\text{H}$  tetangga. Kita dapat meramalkan pola pembelahan dengan aturan  $n + 1$ , jika inti  $^1\text{H}$  atau satu set inti  $^1\text{H}$  yang ekuivalen memiliki  $n$   $^1\text{H}$  tetangga dengan pergeseran kimia yang sangat berbeda, sinyal NMRnya akan terbelah menjadi  $n + 1$  puncak.

Inti  $^1\text{H}$  yang membelah sinyal lain dikatakan terkopling (*coupled*). Besarnya kopling atau hertz yang membelah sinyal disebut tetapan kopling (*coupling constant*), disingkat dengan  $J$ . Pembelahan spin-spin menurun dengan cepat dengan bertambahnya jarak. Sementara hidrogen pada karbon yang bersebelahan dapat menunjukkan pembelahan yang cukup besar ( $J=6-8$  Hz), hidrogen 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  $^1\text{H}$  yang ekuivalen secara kimia tidak saling membelah. Tabel 4 berikut memuat tetapan kopling untuk beberapa jenis inti  $^1\text{H}$  yang lazim (Achmadi, 2003).

Tabel 4. Tetapan Kopling untuk Beberapa Jenis Inti  $^1\text{H}$

Gugus	$J(\text{Hz})$	Gugus	$J(\text{Hz})$
	6-8		Orto : 6-10 Meta: 1-3 Para : 0-1
	0-1		0-3
	12-18		6-12

Spektroskopi  $^1\text{H}$  NMR sangat berperan penting dalam penentuan struktur senyawa yang berhasil diisolasi dari suatu bahan alam, sebagai contoh penentuan struktur senyawa caloxanthone B (17), adanya substituen gugus isoprenil bebas pada kerangka dasar dapat dilihat dari adanya dua sinyal metil vinilic singlet ( $\delta$  1,73), sinyal metilen duplet ( $\delta$  3,94) dan sinyal proton triplet



( $\delta$  5,39). Sinyal-sinyal tersebut juga mengindikasikan keberadaan rantai  $\gamma,\gamma$ -dimetilalil. Adanya cincin  $\alpha,\alpha,\beta$ -trimetildihidrofuran ditunjukkan adanya dua sinyal metil singlet ( $\delta$  1,34 dan  $\delta$  1,73), sinyal metil duplet ( $\delta$  1,41,  $J = 7$  Hz) dan sinyal proton quartet ( $\delta$  4,57,  $J = 7$  Hz) (Inuma, *et. al.*, 1994).

## B. Kerangka Pemikiran

Isolasi senyawa kimia tumbuhan *Calophyllum inophyllum* telah banyak dilakukan di luar negeri dengan sampel dari bagian daun (Patil, *et. al.*, 1993; Khan, *et. al.*, 1996; Ali, *et. al.*, 1999), kayu batang (Jackson, *et. al.*, 1969; Jeboury and Locksley, 1971; Goh and Jantan, 1991) dan kulit akar (Inuma, *et. al.*, 1994; Inuma, *et. al.*, 1995; Yindjo, *et. al.*, 2004; Ee, *et. al.*, 2009). Senyawa golongan santon adalah Senyawa yang paling banyak dilaporkan dari bagian kayu batang dan kulit akar. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa golongan santon dari kulit batang *Calophyllum inophyllum* mengingat belum banyak senyawa golongan santon yang dilaporkan dari bagian tersebut, kemudian senyawa yang diperoleh diidentifikasi.

Metode isolasi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi, dilanjutkan dengan kromatografi vakum cair, kromatografi *flash* dan kromatografi kolom sephadex. Isolasi awal dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol sehingga komponen kimia yang terdapat pada kulit batang *Calophyllum inophyllum* dapat diambil. Pemisahan komponen kimia dalam filtrat metanol menggunakan metode KVC, kromatografi *flash* dan kromatografi kolom sephadex, dipandu dengan KLT. Identifikasi senyawa kimia yang dihasilkan menggunakan metode KLT, spektroskopi UV-Vis, IR dan  $^1\text{H}$  NMR.

## C. Hipotesis

Senyawa santon yang berhasil diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum* dapat diidentifikasi.

### BAB III

#### METODOLOGI PENELITIAN

##### A. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium. Isolasi senyawa kimia dari kulit batang tumbuhan *Calophyllum inophyllum* yang tumbuh di daerah Klaten dilakukan dengan metode maserasi dan kromatografi. Maserasi dilakukan dengan pelarut metanol untuk mengambil senyawa kimia dari kulit batang tumbuhan *Calophyllum inophyllum*. Pemisahan dilakukan dengan beberapa teknik kromatografi, yaitu KVC (Kromatografi Vakum Cair), kromatografi *flash* dan kromatografi kolom sephadex. Isolasi senyawa dipandu dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Senyawa yang diperoleh diidentifikasi dengan metode KLT, spektroskopi UV-Vis (Ultraviolet-Visibel), IR (*Infra Red*) dan  $^1\text{H}$  NMR (Hidrogen *Nuclear Magnetic Resonance*).

##### B. Tempat dan Waktu Penelitian

Pada penelitian ini, isolasi senyawa dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS dan Laboratorium Pusat MIPA Sub Laboratorium Biologi Pusat UNS. Determinasi tumbuhan dilakukan di bagian Biologi, Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta. Analisis spektroskopi UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS. Analisis IR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA UGM Yogyakarta dan untuk analisis  $^1\text{H}$  NMR dilakukan di LIPI Serpong. Penelitian ini dilakukan selama 11 bulan dari Mei 2009-April 2010.

##### C. Alat dan Bahan

###### 1. Alat yang Digunakan

Isolasi senyawa kimia dari kulit batang tumbuhan *Calophyllum inophyllum* yang tumbuh di daerah Klaten dilakukan dengan metode maserasi dan kromatografi. Penyaringan ekstrak setelah maserasi menggunakan penyaring buchner, sedangkan untuk menguapkan pelarut digunakan *rotary evaporator* EKA-WERKE HB4 basic, kemudian dikeringkan dengan desikator. Pemisahan senyawa menggunakan KVC dengan diameter kolom 9 cm, kromatografi *flash*

dengan diameter kolom 1 cm serta kromatografi kolom gravitasi dengan diameter 3 cm dan 2 cm. Lampu UV  $\lambda_{254}$  digunakan sebagai penampak noda pada hasil analisis dengan KLT. Identifikasi senyawa yang diperoleh ditentukan dengan metode KLT, spektroskopi UV-Vis, IR dan  $^1\text{H}$  NMR. Spektrum UV ditentukan dengan spektrometer UV-VIS Shimadzu UV mini 1240. Spektrum IR ditentukan dengan spektrometer Shimadzu Prestige 21. Spektrum  $^1\text{H}$  NMR diukur dengan spektrometer Bruker 500 MHz.

## 2. Bahan yang Digunakan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari daerah Klaten pada bulan April 2009. Pelarut yang digunakan untuk maserasi dan kromatografi adalah pelarut teknis yang didestilasi yaitu *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Pelarut kloroform dan aseton yang digunakan dengan *grade* pro analisis. Sebagai fase diam untuk KVC digunakan silika gel Merck Si-gel 60 GF<sub>254</sub>, untuk kromatografi *flash* digunakan silika gel Merck Kieselgel 60 (0,04-0,063 mm), sedangkan pada kromatografi kolom gravitasi digunakan sephadex LH-20. Silika gel Merck Kieselgel 60 (0,2-0,5mm) digunakan sebagai silika adsorb untuk impregnasi sampel pada KVC. Analisis KLT menggunakan plat aluminium berlapis silika gel Merck Si-gel 60 GF<sub>254</sub> (0,25 mm). Untuk pereaksi penampak noda digunakan larutan 2%  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  dalam 1M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , sedangkan sebagai pereaksi geser pada analisis spektroskopi UV digunakan NaOH 10% dalam aquades. Senyawa yang digunakan sebagai pembanding pada KLT adalah caloxanthone B hasil isolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang tumbuh di daerah Klaten (Kharismasari, 2010).

## D. Prosedur Penelitian

### 1. Determinasi Sampel

Determinasi sampel yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan di bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta. Determinasi dilakukan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tumbuhan.

## 2. Persiapan Sampel

Kulit batang *Calophyllum inophyllum* dipotong kecil-kecil, kurang lebih 2x2 cm, kemudian diangin-anginkan, setelah itu dioven pada temperatur  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ . Selanjutnya kulit batang *Calophyllum inophyllum* kering dibuat serbuk.

## 3. Isolasi Senyawa dari Kulit Batang *Calophyllum inophyllum*

Sebanyak 3 kg serbuk kering kulit batang *Calophyllum inophyllum* dimaserasi dalam 11 L metanol selama 24 jam pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan penyaring buchner untuk memisahkan filtrat metanol dari residunya. Filtrat yang terkumpul dievaporasi hingga diperoleh filtrat pekat, kemudian dikeringkan dengan desikator sehingga diperoleh filtrat kering.

Sebanyak 20 g filtrat kering difraksinasi menggunakan KVC dengan diameter kolom 9 cm dan fasa diam silika gel Merck Si-gel 60 GF<sub>254</sub> sebanyak 150 g. Fasa gerak yang digunakan adalah *n*-heksana:etil asetat dengan perbandingan 10:0; 9:1 (2x); 8:2 (4x); 7:3 (4x); 6:4 (2x) dan 0:10. Sampel kemudian diimpregnasi dengan 40 gr silika adsorb Merck Kieselgel 60 (0,2-0,5mm). Sampel yang telah diimpregnasi ditempatkan di atas fasa diam dengan permukaan rata dan dilusi dengan fasa geraknya sejumlah 150 ml untuk sekali elusi. Fraksinasi dilakukan sebanyak 2x dengan jumlah sampel yang sama. Fraksi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan KLT menggunakan fasa diam silika gel Merck Si-gel 60 GF<sub>254</sub> (0,25 mm) dengan larutan pengembang kloroform:etil asetat (9,5:0,5), lalu disemprot pereaksi penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ , kemudian dipanaskan. Fraksi yang mempunyai pola pemisahan noda sama digabung. Berdasarkan hasil analisis KLT, dipilih fraksi yang menunjukkan adanya senyawa aromatik dan memiliki berat paling besar untuk dikerjakan lebih lanjut.

Diambil 1 g fraksi yang telah dipilih untuk dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi berdiameter 3 cm menggunakan fasa diam sephadex LH-20 dan fasa gerak metanol sebanyak 300 ml. Pengelompokan fraksi hasil pemisahan dilakukan dengan panduan KLT menggunakan larutan pengembang *n*-heksana:kloroform (8:2) serta pereaksi penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  dengan disertai pemanasan. Berdasarkan hasil analisis KLT, fraksi yang mempunyai pola pemisahan noda terlihat baik dengan  $\Delta R_f \geq 0,1$  dikerjakan lebih lanjut.

Fraksi yang dipilih, kemudian dipisahkan dengan kromatografi *flash* menggunakan kolom berdiameter 1 cm dan fasa diam silika gel Merck Kieselgel 60 (0,04-0,063 mm). Fasa gerak yang digunakan adalah *n*-heksana:kloroform dengan perbandingan 8:2 (200 ml) dan 6:4 (100 ml). Dilakukan pengelompokan fraksi berdasarkan pola pemisahan noda yang sama dengan panduan KLT menggunakan larutan pengembang *n*-heksana:kloroform (6:4), lalu disemprot pereaksi penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  dan kemudian dipanaskan. Berdasarkan hasil analisis KLT, fraksi yang berisi spot target dipilih untuk dipisahkan lebih lanjut.

Fraksi yang dipilih, kemudian dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi berdiameter 2 cm menggunakan fasa diam sephadex LH-20 dan fasa gerak metanol sebanyak 100 ml. Dilakukan pengelompokan fraksi berdasarkan pola pemisahan noda yang sama dengan panduan KLT menggunakan larutan pengembang *n*-heksana:kloroform (6:4) serta pereaksi penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  dan kemudian dipanaskan. Berdasarkan hasil analisis KLT, dipilih fraksi dengan spot target terlihat dominan sehingga akan memiliki rendemen yang cukup untuk diidentifikasi menggunakan KLT, spektrometer UV-Vis, IR dan  $^1\text{H}$  NMR.

#### **E. Teknik Analisis Data**

Senyawa yang diperoleh diidentifikasi dengan metode KLT, spektroskopi UV-Vis, IR dan  $^1\text{H}$  NMR. Analisis dengan menggunakan KLT menunjukkan noda gelap (tidak berfluoresence) dengan background yang berpendar pada lampu UV  $\lambda_{254}$ , serta noda yang berwarna setelah disemprot dengan pereaksi penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  dan dipanaskan. Berdasarkan data spektrum UV dapat diperkirakan gugus kromofor yang ada pada senyawa, dari data spektrum IR dapat diketahui jenis gugus fungsi yang menyusun senyawa, sedangkan dari data spektrum  $^1\text{H}$  NMR dapat diketahui jenis dan jumlah proton. Hasil analisis data yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan literatur yang ada sehingga senyawa yang diperoleh dapat diketahui.

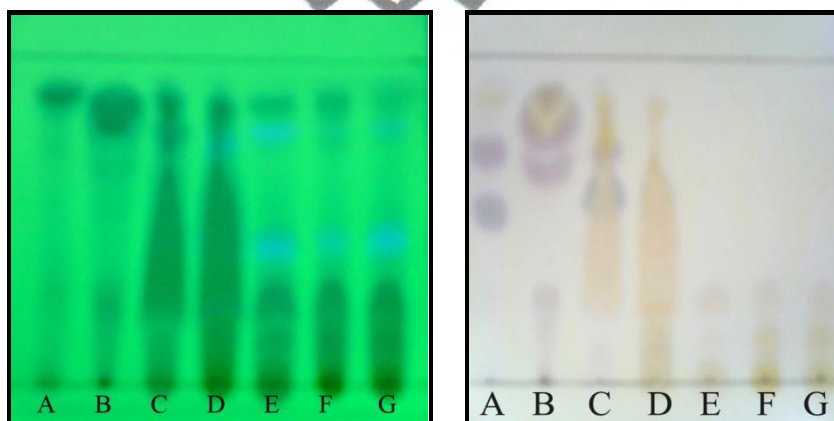


## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Isolasi Senyawa dari Kulit Batang *Calophyllum inophyllum*

Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian adalah benar *Calophyllum inophyllum* L. atau nyamplung. Sampel kulit batang *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari daerah Klaten menghasilkan 3 kg serbuk kering. Selanjutnya, 3 kg serbuk kering dimaserasi dalam 11 L metanol selama 24 jam pada suhu kamar untuk mengambil senyawa kimia yang ada dalam kulit batang *Calophyllum inophyllum*. Setelah dilakukan penyaringan, kemudian filtrat yang terkumpul dievaporasi dan dikeringkan sehingga diperoleh 485,3 g filtrat kering. Filtrat kering yang diperoleh difraksinasi menggunakan KVC (Kromatografi Vakum Cair). Fraksinasi dilakukan sebanyak 2x dengan jumlah sampel @ 20 g dan menghasilkan 7 fraksi utama (A-G) setelah digabung berdasarkan pola pemisahan noda yang sama. Berat masing-masing fraksi adalah sebagai berikut: fraksi A (0,163 g), fraksi B (0,354 g), fraksi C (5,610 g), fraksi D (3,314 g), fraksi E (0,314 g), fraksi F (0,787 g) dan fraksi G (0,228 g). Hasil analisis KLT fraksi A-G ditunjukkan oleh Gambar 21.



(a)

(b)

Gambar 21. (a). Hasil analisis KLT fraksi A-G dilihat dibawah lampu UV  $\lambda_{254}$

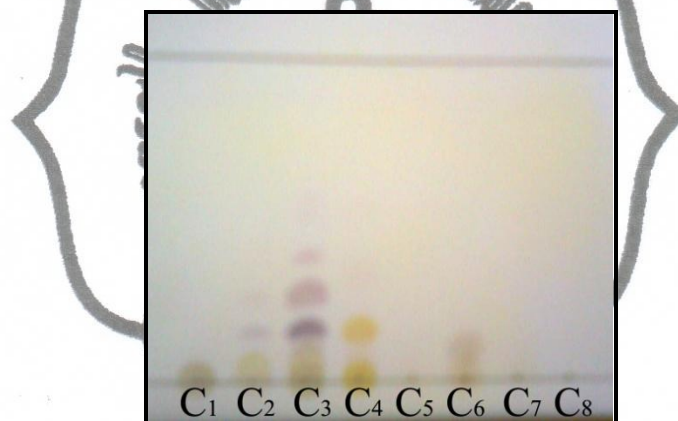
(b). Hasil analisis KLT fraksi A-G dengan larutan pengembang kloroform:etil asetat (9,5:0,5) dan penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$

Berdasarkan hasil analisis KLT, fraksi C tampak jelas menunjukkan



adanya senyawa aromatik saat dilihat dibawah lampu UV  $\lambda_{254}$  yang ditunjukkan dengan adanya noda gelap (tidak berfluoresence) dengan background yang berpendar. Selain itu, fraksi C memiliki berat paling besar, sehingga dipilih untuk dikerjakan lebih lanjut dengan kromatografi kolom sephadex LH-20.

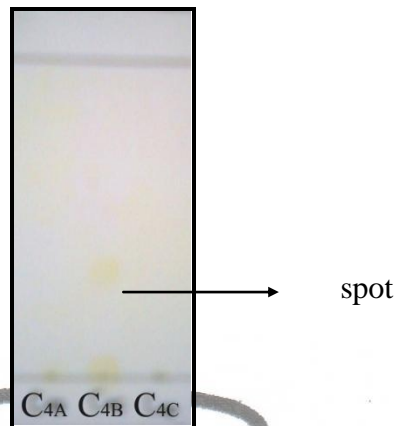
Hasil pemisahan dari 1 g fraksi C dianalisis dengan KLT dan diperoleh 8 fraksi utama ( $C_1$ - $C_8$ ) setelah digabung berdasarkan pola pemisahan noda yang sama. Berat masing-masing fraksi adalah sebagai berikut: fraksi  $C_1$  (0,057 g), fraksi  $C_2$  (0,820 g), fraksi  $C_3$  (0,085 g), fraksi  $C_4$  (0,023 g), fraksi  $C_5$  (0,001 g), fraksi  $C_6$  (0,005 g), fraksi  $C_7$  (0,003 g) dan fraksi  $C_8$  (0,002 g). Hasil analisis KLT dari fraksi  $C_1$ - $C_8$  ditunjukkan oleh Gambar 22.



Gambar 22. Hasil analisis KLT fraksi  $C_1$ - $C_8$  dengan larutan pengembang *n*-heksana:kloroform (8:2) dan penampak noda  $Ce(SO_4)_2$

Fraksi yang dikerjakan pada tahap selanjutnya adalah fraksi  $C_4$ , sebab pemisahan noda terlihat baik dengan spot berwarna kuning pada  $r_f$  0,16 sebagai target, karena saat dilihat dibawah lampu UV  $\lambda_{254}$  berupa noda gelap (tidak berfluoresence) dengan background yang berpendar yang menunjukkan adanya senyawa aromatik, sehingga bisa dipisahkan menggunakan kromatografi *flash*.

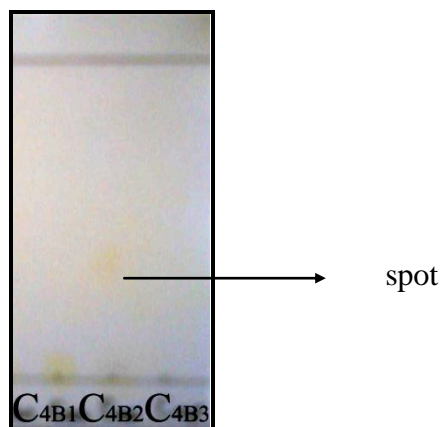
Sebanyak 0,023 g fraksi  $C_4$  yang dipisahkan dengan kromatografi *flash* menghasilkan sejumlah fraksi yang kemudian dianalisis dengan KLT dan diperoleh 3 fraksi utama ( $C_{4A}$ - $C_{4C}$ ) setelah digabung berdasarkan pola pemisahan noda yang sama. Berat masing-masing fraksi adalah sebagai berikut: fraksi  $C_{4A}$  (0,002 g), fraksi  $C_{4B}$  (0,016 g), fraksi  $C_{4C}$  (0,003 g). Hasil analisis KLT dari fraksi  $C_{4A}$ - $C_{4C}$  ditunjukkan oleh Gambar 23.



Gambar 23. Hasil analisis KLT fraksi C<sub>4A</sub>-C<sub>4C</sub> dengan larutan pengembang *n*-heksana:kloroform (6:4) dan penampak noda Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>

Spot target berada pada fraksi C<sub>4B</sub>, sehingga fraksi ini dikerjakan lebih lanjut. Jarak pemisahan antar noda cukup jauh, namun karena pada proses sebelumnya dengan menggunakan kromatografi *flash* pemisahan kedua senyawa tidak dapat optimal, maka dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom sephadex LH-20.

Sebanyak 0,016 g fraksi C<sub>4B</sub> yang dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom sephadex LH-20 menghasilkan sejumlah fraksi yang kemudian dianalisis dengan KLT dan diperoleh 3 fraksi utama (C<sub>4B1</sub>-C<sub>4B3</sub>) setelah digabung berdasarkan pola pemisahan noda yang sama. Berat masing-masing fraksi adalah sebagai berikut: fraksi C<sub>4B1</sub> (0,007 g), C<sub>4B2</sub> (0,008 g) dan fraksi C<sub>4B3</sub> (0,001 g). Hasil analisis KLT dari fraksi C<sub>4B1</sub>-C<sub>4B3</sub> ditunjukkan oleh Gambar 24.

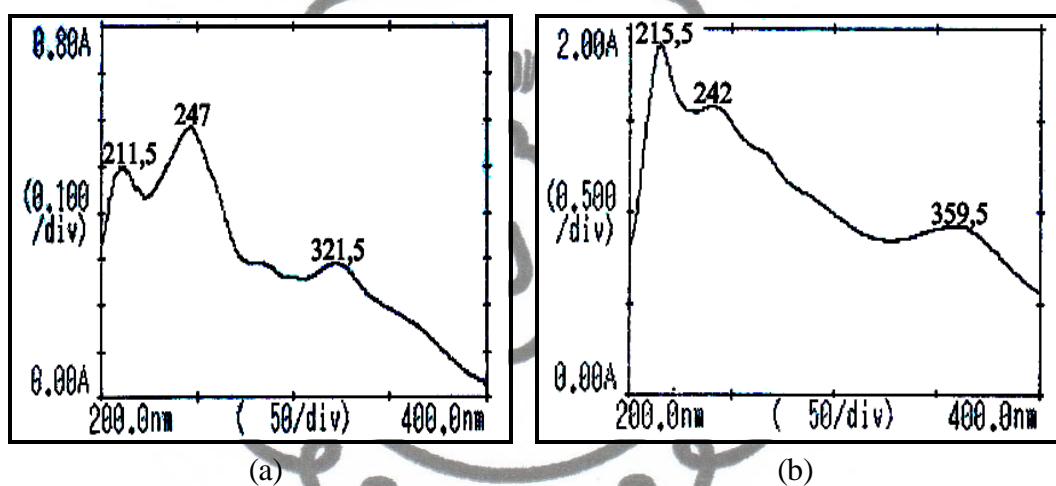


Gambar 24. Hasil analisis KLT fraksi C<sub>4B1</sub>-C<sub>4B3</sub> dengan larutan pengembang *n*-heksana:kloroform (6:4) dan penampak noda Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>

Fraksi C<sub>4B2</sub> berupa padatan berwarna orange dengan spot target terlihat dominan, sehingga akan memiliki rendemen yang cukup untuk selanjutnya diidentifikasi menggunakan KLT, spektrometer UV-Vis, IR dan <sup>1</sup>H NMR.

### B. Identifikasi Spektroskopi UV-Vis

Spektrum UV (Ultraviolet) senyawa hasil isolasi memperlihatkan serapan yang khas untuk beberapa gugus kromofor. Hasil identifikasi spektroskopi UV-Vis senyawa hasil isolasi ditunjukkan oleh Gambar 25.



Gambar 25. (a). Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol

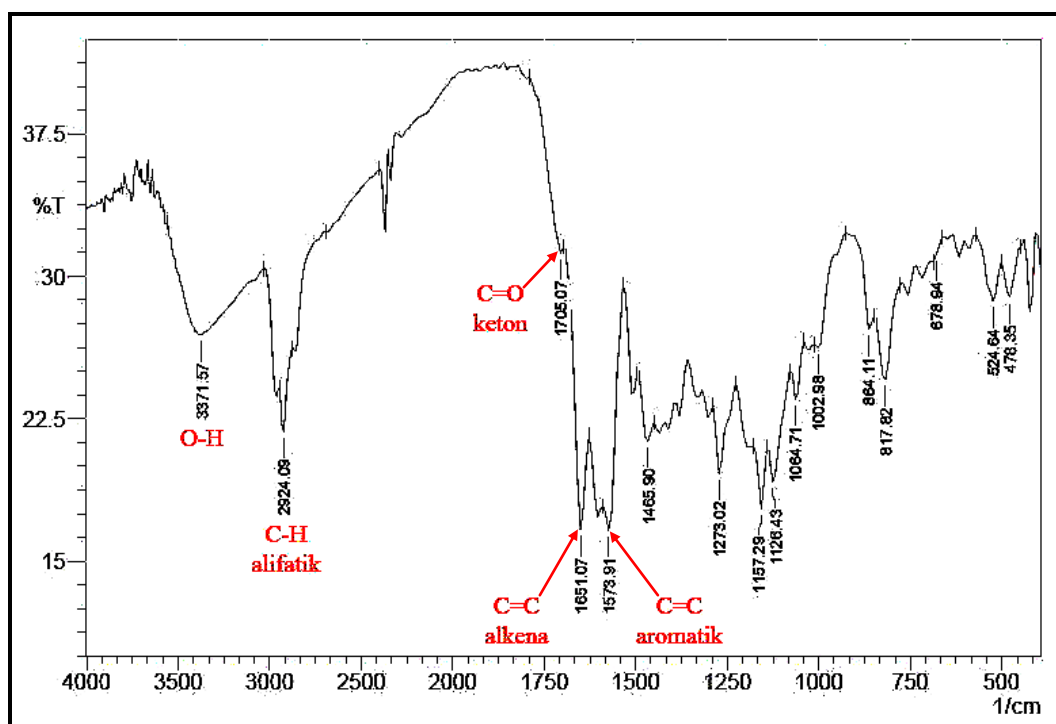
(b). Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol dan penambahan pereaksi geser NaOH

Serapan maksimum pada panjang gelombang ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) 247 nm menunjukkan adanya gugus kromofor yang khas untuk suatu sistem ikatan rangkap terkonjugasi dari cincin aromatik atau benzena. Serapan pada  $\lambda_{\text{maks}}$  321,5 nm menunjukkan adanya ikatan terkonjugasi dari heteroatom dengan sistem aromatik, sehingga dapat disarankan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai cincin aromatik yang tersubstitusi oleh gugus karbonil atau menunjukkan suatu sistem benzoil. Penambahan pereaksi geser NaOH menyebabkan pergeseran batokromik pada pita dengan daerah  $\lambda_{\text{maks}}$  321,5 nm ke 359,5 nm. Hal ini menunjukkan adanya gugus fenol yang mengalami kesetimbangan keto-enol dengan gugus karbonil.

Berdasarkan analisis spektrum UV, dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai sistem aromatik yang tersubstitusi gugus karbonil dan gugus hidroksi.

### C. Identifikasi Spektroskopi IR

Spektrum IR (*Infra Red*) senyawa hasil isolasi memperlihatkan serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi. Hasil identifikasi spektroskopi IR senyawa hasil isolasi ditunjukkan oleh Gambar 26.



Gambar 26. Spektrum IR senyawa hasil isolasi

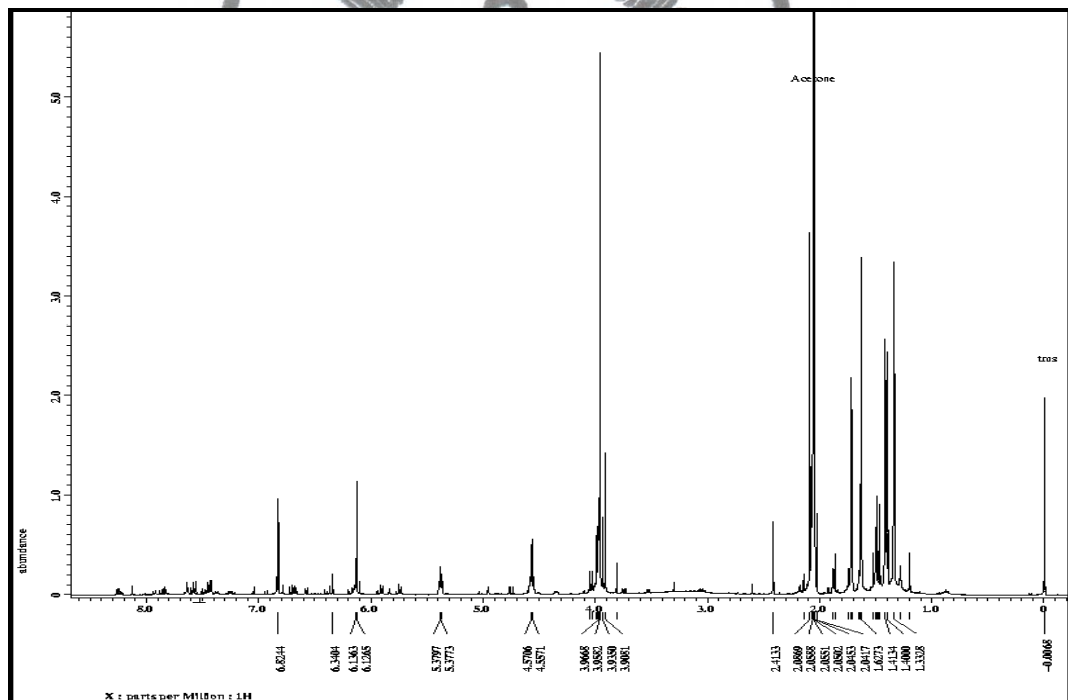
Serapan yang muncul diantaranya pada bilangan gelombang ( $\nu_{\text{maks}}$ )  $3371,57 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi ulur O-H. Adanya serapan pada daerah  $1260\text{-}1000 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi ulur C-O dari suatu alkohol dan atau fenol yang memperkuat keberadaan gugus O-H. Munculnya vibrasi ulur C-H (alifatik) pada  $\nu_{\text{maks}}$   $2924,09 \text{ cm}^{-1}$  memberikan petunjuk adanya gugus prenil dan atau metoksi. Adanya keton diketahui dengan munculnya serapan C=O pada  $\nu_{\text{maks}}$   $1705,07 \text{ cm}^{-1}$ . Munculnya serapan pada  $\nu_{\text{maks}}$   $1651,07 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi ulur C=C alkena yang diperkuat dengan vibrasi tekuk =C-H pada daerah  $1000\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$ . Sistem aromatik diketahui dengan munculnya serapan pada  $\nu_{\text{maks}}$   $1573,91 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan vibrasi ulur C=C aromatik yang diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk C-H aromatik pada  $\nu_{\text{maks}}$   $900\text{-}675 \text{ cm}^{-1}$ . Serapan yang tajam pada daerah vibrasi tekuk C-H aromatik menunjukkan adanya substituen

pada gugus aromatik. Serapan C-H aromatik tidak muncul karena adanya serapan O-H yang melebar.

Berdasarkan analisis spektrum IR, dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai gugus hidroksi, C-H alifatik yang menyusun gugus prenil dan atau metoksi, gugus karbonil keton, gugus alkena serta aromatik.

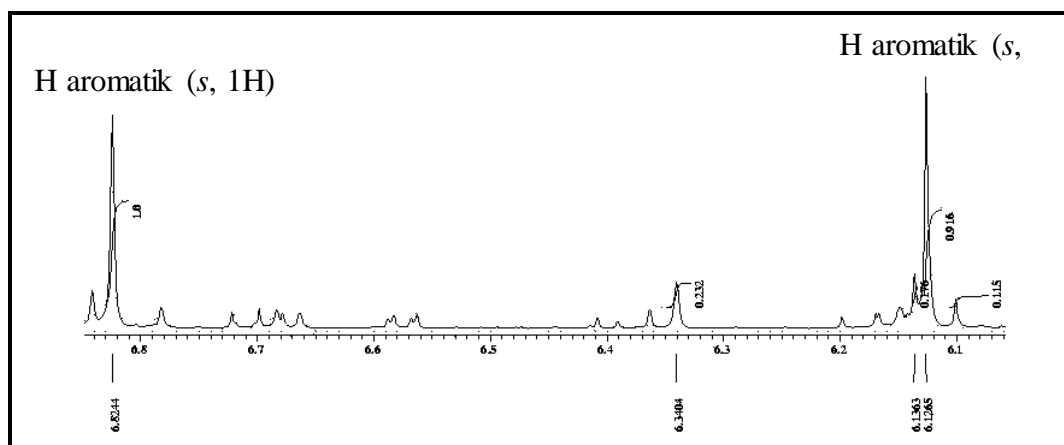
#### D. Identifikasi Spektroskopi $^1\text{H}$ NMR

Spektrum  $^1\text{H}$  NMR (Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance) menunjukkan adanya 24 proton. Hasil identifikasi spektroskopi  $^1\text{H}$  NMR senyawa hasil isolasi ditunjukkan oleh Gambar 27.



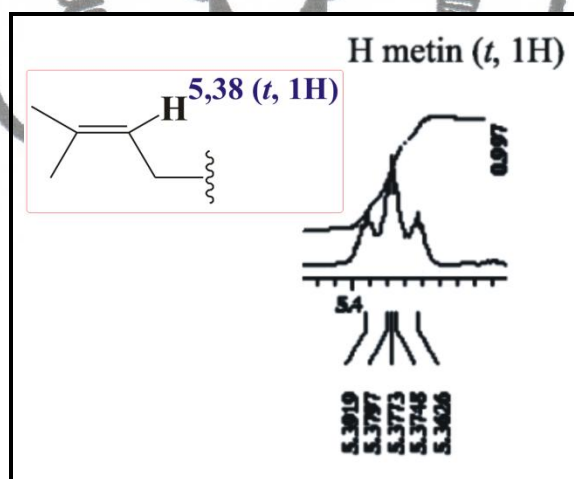
Gambar 27. Spektrum  $^1\text{H}$  NMR senyawa hasil isolasi

Sinyal singlet pada geseran kimia proton ( $\delta_{\text{H}}$ ) 6,82 ppm dan 6,13 ppm menunjukkan adanya dua proton aromatik. Perbesaran spektrum  $^1\text{H}$  NMR untuk serapan kedua proton aromatik ditunjukkan oleh Gambar 28.



Gambar 28. Geseran kimia proton aromatik

Munculnya sinyal proton metin (CH) vinilic (metin yang terikat pada C=C) triplet pada  $\delta_H$  5,38 ppm memberikan petunjuk adanya gugus isoprenil bebas. Perbesaran spektrum  $^1H$  NMR dan posisi proton metin vinilic pada gugus isoprenil bebas ditunjukkan oleh Gambar 29.

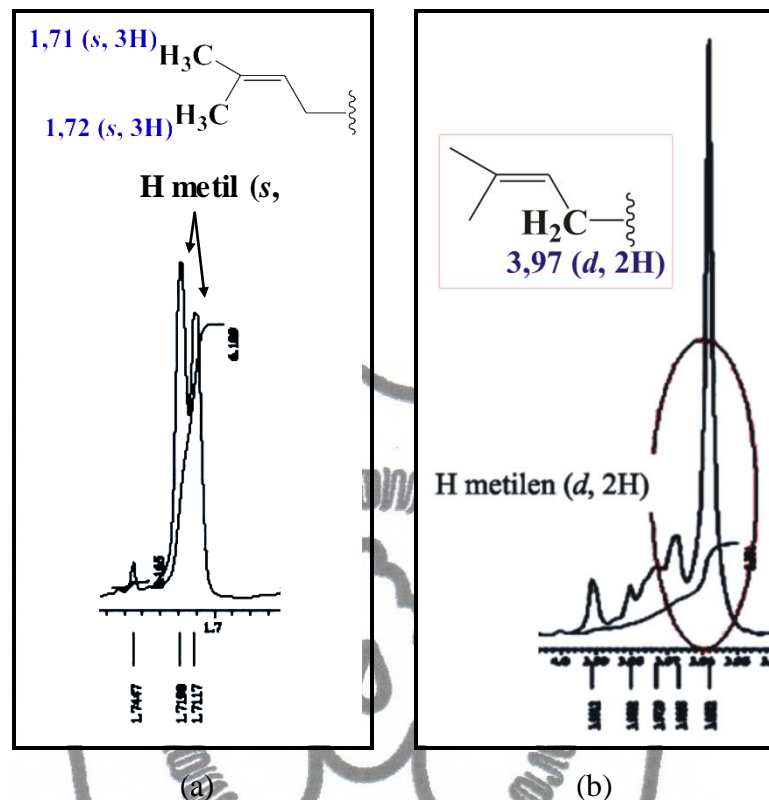


Gambar 29. Geseran kimia dan posisi proton metin vinilic pada gugus isoprenil bebas

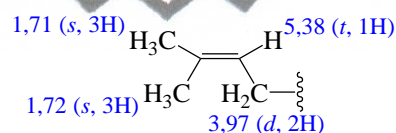
Adanya gugus isoprenil bebas diperkuat dengan adanya dua sinyal proton metil ( $CH_3$ ) vinilic singlet pada  $\delta_H$  1,71 ppm dan 1,72 ppm, serta satu sinyal proton metilen ( $CH_2$ ) duplet pada  $\delta_H$  3,97 ppm. Perbesaran spektrum  $^1H$  NMR dan posisi proton-proton tersebut pada gugus isoprenil bebas ditunjukkan oleh Gambar 30. Posisi proton penyusun gugus isoprenil bebas secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 31.

*commit to user*



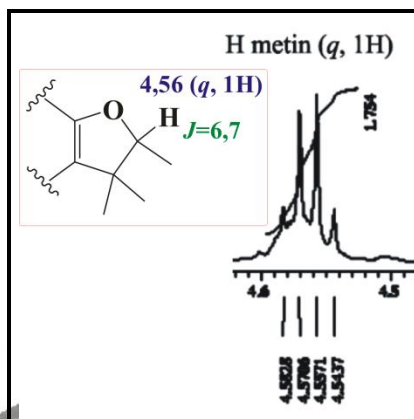


Gambar 30. (a). Geseran kimia dan posisi proton metil vinilic pada gugus isoprenil bebas  
(b). Geseran kimia dan posisi proton metilen pada gugus isoprenil bebas

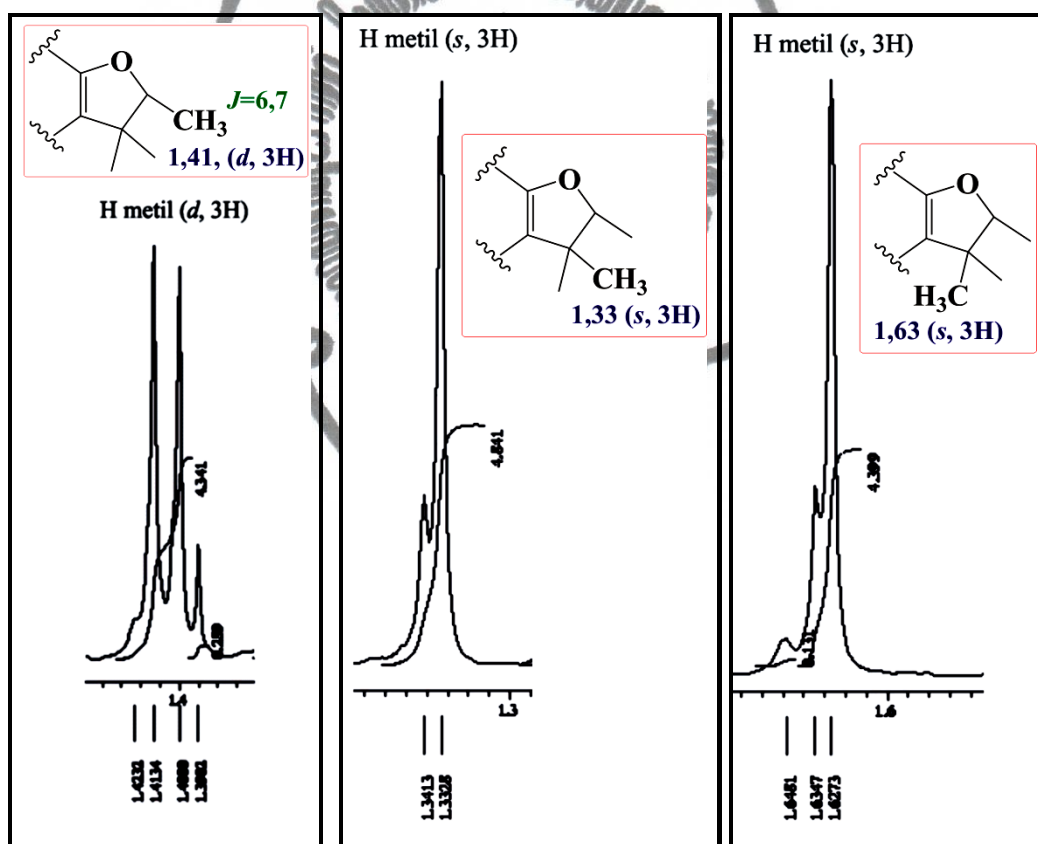


Gambar 31. Posisi proton pada gugus isoprenil bebas

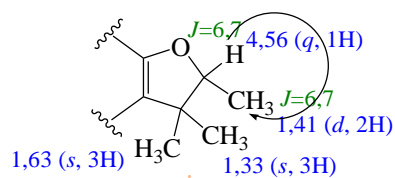
Munculnya satu sinyal proton metin quartet pada  $\delta_{\text{H}}$  4,56 ppm; satu sinyal proton metil duplet pada  $\delta_{\text{H}}$  1,41 ppm serta dua sinyal proton metil singlet pada  $\delta_{\text{H}}$  1,33 ppm dan 1,63 ppm menunjukkan adanya gugus isoprenil yang mengalami siklisasi oksidatif membentuk furan. Hal ini dibuktikan dengan adanya kopling antara proton duplet dan proton quartet dengan konstanta kopling ( $J$ ) 6,7 Hz. Perbesaran spektrum  $^1\text{H}$  NMR dan posisi proton metin pada gugus isoprenil siklis ditunjukkan oleh Gambar 32, sedangkan untuk proton-proton metil penyusun gugus isoprenil siklis ditunjukkan oleh Gambar 33. Posisi proton penyusun gugus isoprenil siklis secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 34.



Gambar 32. Geseran kimia dan posisi proton metin pada gugus isoprenil siklis

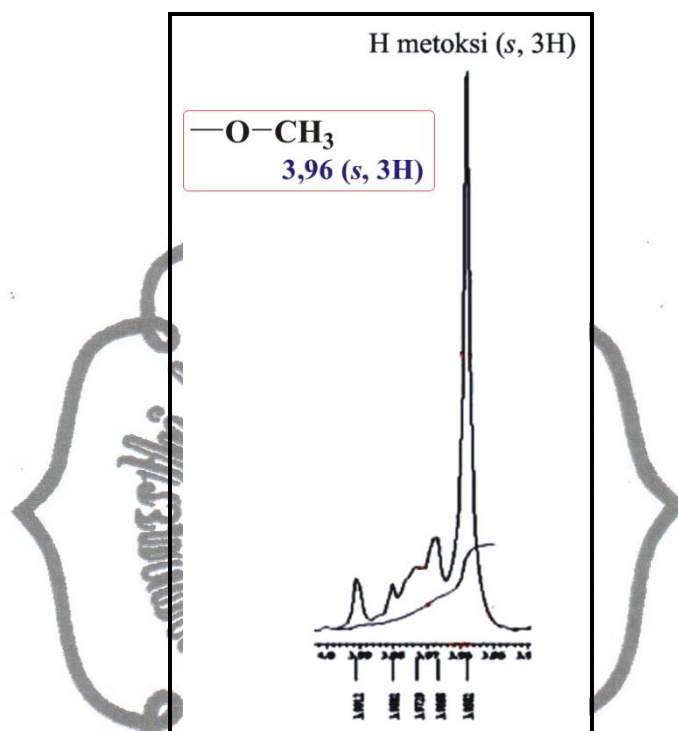


Gambar 33. Geseran kimia dan posisi proton-proton metil pada gugus isoprenil siklis



Gambar 34. Posisi proton pada gugus isoprenil siklis

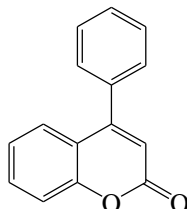
Adanya gugus metoksi ditunjukkan oleh sinyal proton metil singlet pada  $\delta_H$  3,96 ppm. Perbesaran spektrum  $^1H$  NMR dan posisi proton metil pada gugus metoksi ditunjukkan oleh Gambar 35.



Gambar 35. Geseran kimia dan posisi proton metil pada gugus metoksi

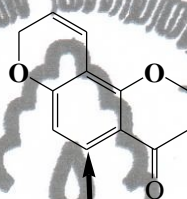
Berdasarkan analisis spektrum  $^1H$  NMR, dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai 2 proton aromatik, satu gugus isoprenil bebas, satu gugus isoprenil siklis serta satu gugus metoksi.

Hasil penelusuran pustaka menunjukkan, senyawa aromatik yang telah dilaporkan dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* adalah senyawa golongan kumarin, santon, flavonoid dan benzodipiranon. Adanya dua proton aromatik memberikan petunjuk bahwa senyawa yang diisolasi bukanlah senyawa golongan kumarin, sebab senyawa kumarin yang pernah diisolasi memiliki ciri khas adanya tambahan gugus fenil pada  $C_4$  seperti ditunjukkan oleh Gambar 36, sehingga tidak mungkin hanya ada dua proton aromatik.



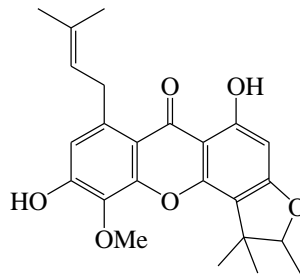
Gambar 36. Senyawa 4-fenil kumarin

Senyawa yang diisolasi juga bukan golongan benzodipiranon, sebab posisi oksigenasi pada cincin aromatik senyawa benzodipiranon yang pernah diisolasi berselang-seling seperti ditunjukkan oleh Gambar 37, sehingga tidak mungkin ada dua proton aromatik.



Gambar 37. Posisi oksigenasi cincin aromatik senyawa benzodipiranon

Senyawa yang diisolasi juga bukan golongan flavonoid, sebab senyawa flavonoid yang pernah diisolasi tidak mempunyai gugus prenil. Senyawa hasil isolasi diduga golongan santon, sebab posisi oksigenasi pada cincin aromatik senyawa santon yang pernah diisolasi tidak menunjukkan suatu pola yang khas, sehingga sangat mungkin ada dua proton aromatik. Selain itu, sebagian besar senyawa santon yang pernah diisolasi tersubstitusi oleh gugus prenil. Hasil penelusuran pustaka terhadap senyawa santon yang pernah diisolasi menunjukkan senyawa santon dengan dua proton aromatik, satu gugus isoprenil bebas, satu gugus isoprenil siklis serta satu gugus metoksi pernah diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Jepang, yaitu caloxanthone B (Inuma, et. al., 1994) dengan struktur ditunjukkan oleh Gambar 38. Sehingga struktur yang disarankan untuk senyawa hasil isolasi adalah caloxanthone B yang mempunyai rumus molekul  $C_{24}H_{26}O_6$ .



Gambar 38. Struktur senyawa caloxanthone B

Struktur yang disarankan didukung pula oleh hasil analisis spektrum UV dan IR yang menunjukkan senyawa hasil isolasi mempunyai sistem aromatik yang tersubstitusi gugus karbonil keton, gugus hidroksi, gugus prenil dan atau metoksi yang kesemuanya dimiliki oleh senyawa caloxanthone B.

#### E. Perbandingan Senyawa Hasil Isolasi dengan Senyawa Standar

Perbandingan data  $^1\text{H}$  NMR senyawa hasil isolasi dengan senyawa standar, yaitu caloxanthone B yang diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang diperoleh dari Jepang (Inuma, et. al., 1994) ditunjukkan oleh Tabel 5.

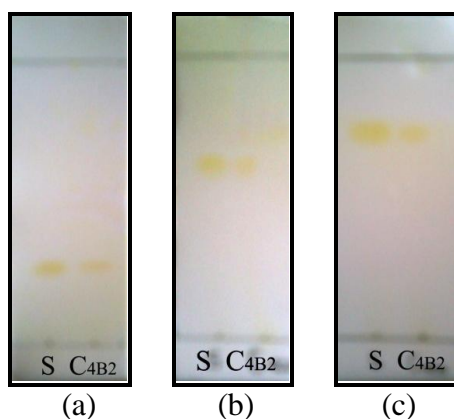
Tabel 5. Perbandingan Data Spektrum  $^1\text{H}$  NMR Senyawa Hasil Isolasi dengan Senyawa Standar

$\delta_{\text{H}}$ (ppm) (multiplisitas, J (Hz))			
Senyawa hasil isolasi	Senyawa standar *	Senyawa hasil isolasi	Senyawa standar *
-	13,72 (1H, OH)	3,96 (s, 3H)	3,97 (s, 3H)
-	9,38 (1H, OH)	1,72 (s, 3H)	1,73 (s, 3H)
6,82 (s, 1H)	6,82 (s, 1H)	1,71 (s, 3H)	1,73 (s, 3H)
6,13 (s, 1H)	6,13 (s, 1H)	1,63 (s, 3H)	1,63 (s, 3H)
5,38 (t, 1H)	5,39 (t, 1H)	1,41 (d, 3H)	1,41 (d, 3H)
4,56 (q, 1H)	4,57 (q, 1H)	1,33 (s, 3H)	1,34 (s, 3H)
3,97 (d, 2H)	3,94 (d, 2H)	* (Inuma, et. al., 1994)	

Senyawa standar menunjukkan adanya sinyal pada  $\delta_{\text{H}}$  13,72 ppm yang merupakan sinyal proton dari gugus hidroksi terkhelet, sedangkan sinyal pada  $\delta_{\text{H}}$  9,38 ppm menunjukkan adanya sinyal proton gugus hidroksi bebas. Sinyal proton hidroksi terkhelet yang muncul pada spektrum  $^1\text{H}$  NMR senyawa hasil isolasi sangat lemah. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya puncak yang sangat kecil, sehingga nilai pergeseran protonnya tidak terukur secara pasti, sedangkan sinyal proton gugus hidroksi bebas tidak muncul. Gugus hidroksi sangat sensitif terhadap

pelarut, temperatur, konsentrasi serta adanya ikatan hidrogen yang mengakibatkan gugus ini tidak stabil saat dilakukan pengukuran menggunakan  $^1\text{H}$  NMR. Tidak munculnya sinyal proton gugus hidroksi bebas pada spektrum  $^1\text{H}$  NMR senyawa hasil isolasi diduga karena proton dari gugus hidroksi membentuk ikatan hidrogen dengan pelarut mengingat pelarut yang digunakan cukup polar yaitu aseton, sehingga  $\delta_{\text{H}}$  proton hidroksi bergeser ke bawah medan yang lebih jauh. Meskipun kedua senyawa sama-sama menggunakan pelarut aseton dalam pengukuran  $^1\text{H}$  NMRnya, namun hasil yang diperoleh sedikit berbeda, hal ini dimungkinkan karena tingkat kemurnian aseton yang digunakan saat pengukuran berbeda. Adanya gugus hidroksi pada senyawa hasil isolasi diperkuat oleh data spektrum UV yang ditunjukkan dengan terjadinya pergeseran batokromik pada pita dengan daerah  $\lambda_{\text{maks}}$  321,5 nm ke 359,5 nm setelah penambahan pereaksi geser NaOH serta hasil identifikasi spektrometer IR yang ditunjukkan dengan adanya serapan vibrasi ulur O-H pada  $\nu_{\text{maks}}$  3371,57  $\text{cm}^{-1}$ .

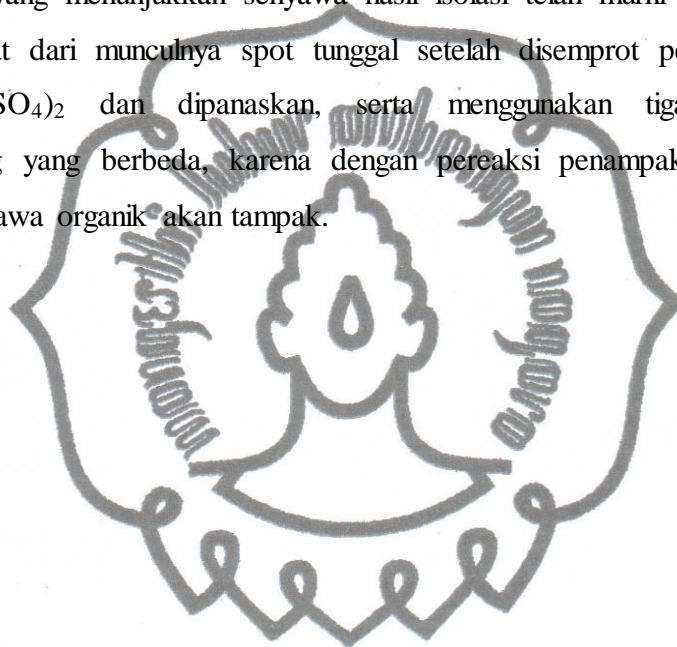
Data pendukung lain, yaitu dengan membandingkan secara langsung Rf senyawa hasil isolasi dengan senyawa caloxanthone B yang diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* yang tumbuh di daerah Klaten menggunakan metode KLT dengan beberapa larutan pengembang yang berbeda. Hasil analisis KLT antara senyawa hasil isolasi dengan senyawa standar dapat dilihat pada Gambar 39.



Gambar 39. (a). Hasil analisis KLT isolat dan senyawa standar dengan larutan pengembang *n*-heksana:aseton (8:2)  
(b). Hasil analisis KLT isolat dan senyawa standar dengan larutan pengembang *n*-heksana:etil asetat (8:2)  
(c). Hasil analisis KLT isolat dan senyawa standar dengan larutan pengembang kloroform:*n*-heksana:etil asetat (7:2,5:0,5)



Berdasarkan hasil analisis KLT, diketahui senyawa hasil isolasi dan senyawa standar memiliki nilai  $R_f$  yang sama. Dengan larutan pengembang  $n$ -heksana:aseton (8:2), keduanya memberikan harga  $R_f$  0,27, sedangkan dengan larutan pengembang  $n$ -heksana:etil asetat (8:2), harga  $R_f$  keduanya adalah 0,64 dan dengan larutan pengembang kloroform: $n$ -heksana:etil asetat (7:2,5:0,5), keduanya memberikan harga  $R_f$  0,74. Hasil KLT juga dapat digunakan sebagai uji kemurnian yang menunjukkan senyawa hasil isolasi telah murni secara KLT yang dapat dilihat dari munculnya spot tunggal setelah disemprot pereaksi penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  dan dipanaskan, serta menggunakan tiga variasi larutan pengembang yang berbeda, karena dengan pereaksi penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  semua senyawa organik akan tampak.



## BAB V

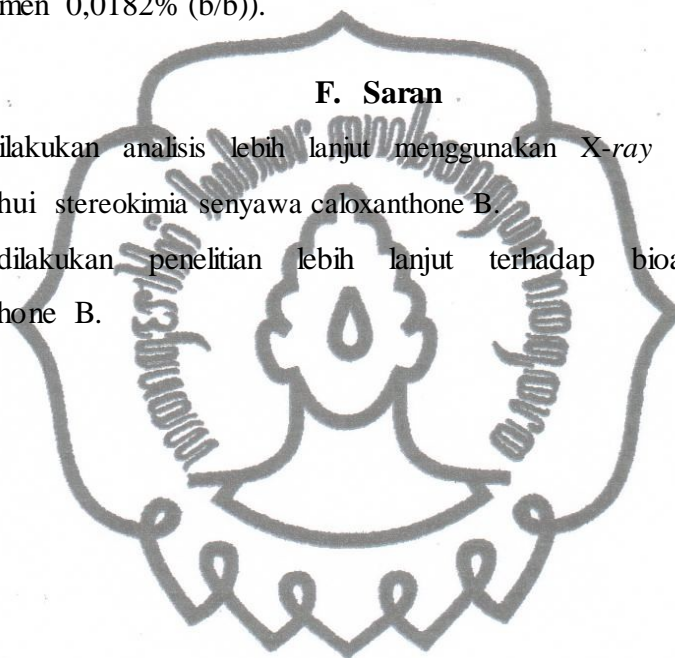
### KESIMPULAN DAN SARAN

#### E. Kesimpulan

Senyawa santon yang berhasil diisolasi dari kulit batang *Calophyllum inophyllum* adalah caloxanthone B, berupa padatan berwarna orange dengan berat 8 mg (rendemen 0,0182% (b/b)).

#### F. Saran

1. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan X-ray kristalografi untuk mengetahui stereokimia senyawa caloxanthone B.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap bioaktivitas senyawa caloxanthone B.

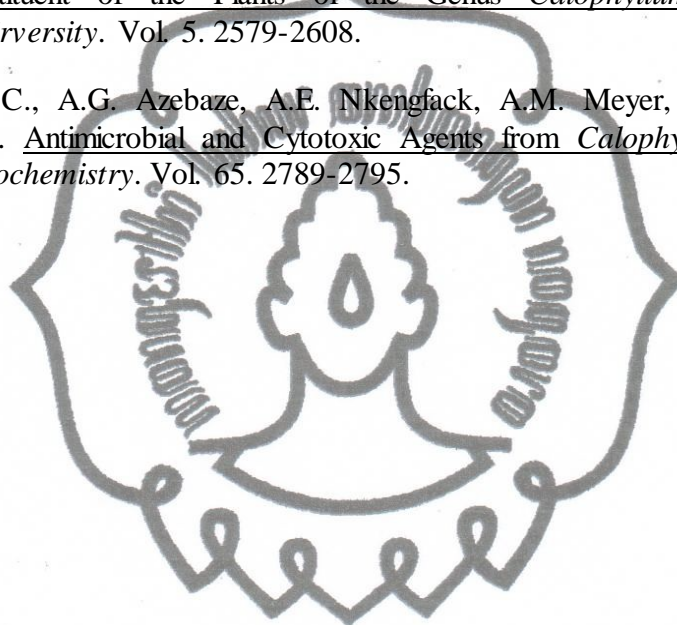


## DAFTAR PUSTAKA

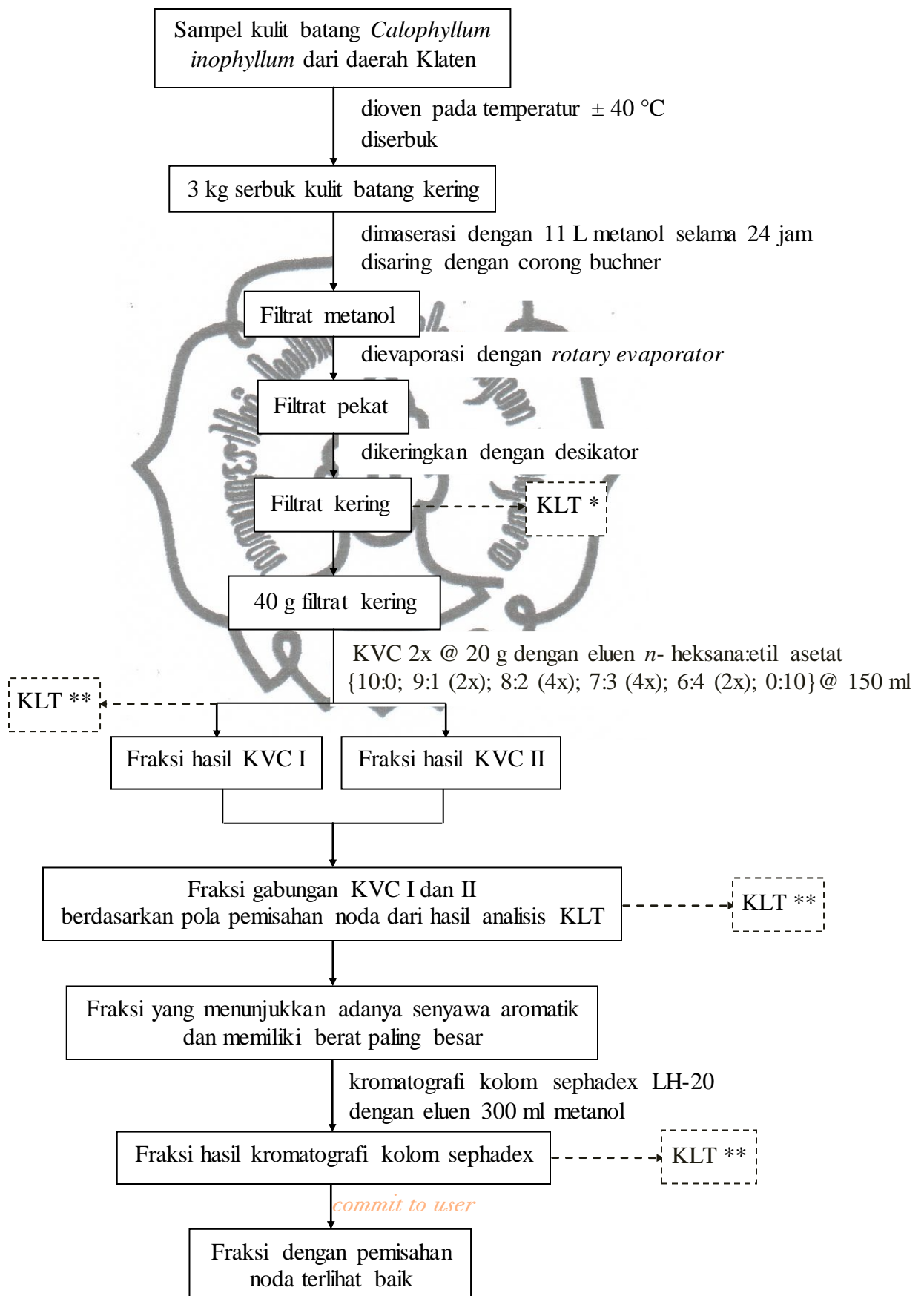
- Achmadi, S.S., 2003. *Kimia Organik*. Edisi 11. Erlangga. Jakarta. Terjemahan: *Organic Chemistry*. Hart, H., L.E. Craine, D.J. Hart. 2003. 11<sup>th</sup> edition. Houghton Mifflin Company.
- Ali, M.S., S. Mahmud, S. Parveen, V.U. Ahmad and G.H. Rizwani. 1999. Epimers from Leaves of *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol. 50. 1385-1389.
- Dweck, A.C. and T. Meadows, 2002. Tamanu (*Calophyllum inophyllum*) - The African, Asian, Polynesian and Pacific Ponaceae. *International Journal of Cosmetic Science*. Vol. 24. 1-8.
- Ee, G.C.L., V.Y.M. Jong, M.A. Sukari, M. Rahmani, and A.S.M. Kua. 2009. Xanthones from *Calophyllum inophyllum*. *Pertanika Journal Science and Technology*. Vol. 17. 307-312.
- Goh, S.H., and I. Jantan, 1991. A Xanthone from *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol. 30. 366-367.
- 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. 4<sup>th</sup> edition. John Wiley and Sons. New York.
- Hendayana, S. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*, Edisi 1. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 1. Terjemahan: *De nuttige Planten van Indonesia*. Badan Litbang Kehutanan, Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Inuma, M., H. Tosa, T. Tanaka and S. Yonemori. 1994. Two Xanthones from Root Bark of *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol. 35. 527-532.
- Inuma, M., H. Tosa, T. Tanaka and S. Yonemori. 1995. Two Xanthones from Roots of *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol. 38. 725-728.
- Jackson, B., H. D. Locksley, and F. Scheinmann. 1969. The Isolation of Desoxyjacareubin, 2-(3,3-Dimethylallyl)-1,3,5,6-Tetrahydroxyxanthone and Jacareubin from *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol. 8. 927-929.

- Jeboury, F.S., and H.D. Locksley. 1971. Xanthones in the Heartwood of *Calophyllum inophyllum*: A Geographical Survey. *Phytochemistry*. Vol. 10. 603-606.
- Kemp, W. 1987. *Organic Spectroscopy*. 2<sup>nd</sup> edition. Macmillan. London.
- Khan, N.U., N. Parveen, M.P. Singh, R. Singh, B. Achari, *et. al.* 1996. Two Isomeric Benzodipyrone Derivatives from *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol. 42. 1181-1183.
- Kharismasari, L.I. 2010. *Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Caloxanthone B dari Kulit Akar Calophyllum inophyllum Linn.* Skripsi Program Sarjana. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Kismane, S dan S. Ibrahim. 1985. *Analisis Farmasi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Terjemahan: *Pharmazeutische Analytik*. Roth, H.J. and G. Blaschke. 1981.
- Koensoemardiyah. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. IKIP Semarang Press, Terjemahan: *Biosynthesis of Natural Products*. Manitto, P. 1985. John Wiley and Sons. New York.
- Kristanti, A.N., N.S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Noldin, V.F., D.B. Isaias and V.C. Filho. 2006. *Calophyllum* Genus: Chemical and Pharmacological Importance. *Quim. Nova*. Vol. 29. 549-554.
- Padmawinata, K. 1991. *Pengantar Kromatografi*, Edisi ke-2. ITB Press. Bandung.
- Padmawinata, K. dan Sudiro I. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung, Terjemahan: *Phytochemical Methods*. Harborne, J.B. 1973. Chapman and Hall Ltd. London.
- Patil, A.D., A.J. Freyer, D.S. Eggleston, R.C. Haltiwanger, M.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. 4131-4138.
- Pudjaatmaka, A.H. 1982. *Kimia Organik*, Edisi Ketiga, Jilid 1. Erlangga. Jakarta, Terjemahan: *Organic Chemistry*. Fessenden, J. R. dan Fessenden, S. J. 1982. Wadsworth Inc. California.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi VI. Penerjemah : Kokasih Padmawinata. ITB Press. Bandung.
- Rusdi. 1998. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.

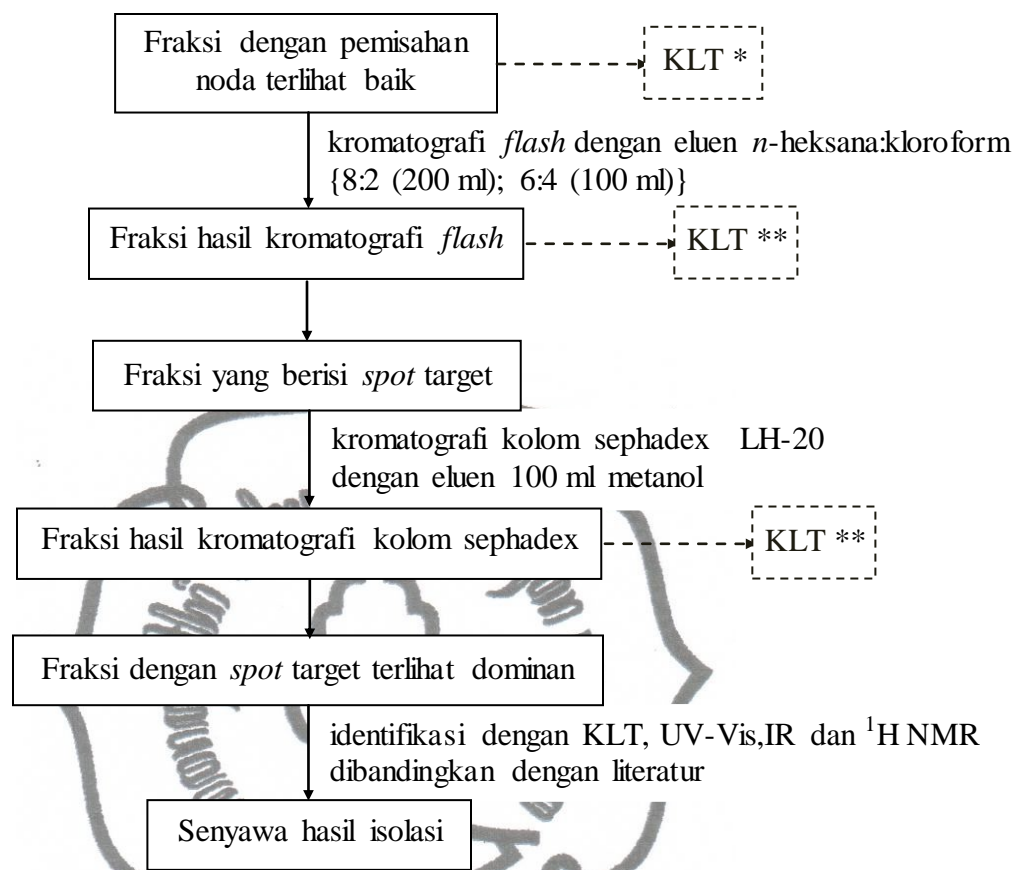
- Sastrohamidjojo, H. 1995. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta.
- Silverstein, R. M., Francis X. W. and David J. K. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley & Sons. New York.
- Still, W.C., M. Kahn, and A. Mitra. 1978. Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution. *Journal Organic Chemistry*. Vol. 43. 2923-2925.
- 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.
- Yimdjo, M.C., A.G. Azebaze, A.E. Nkengfack, A.M. Meyer, B. Bodo, *et. al.* 2004. Antimicrobial and Cytotoxic Agents from *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. Vol. 65. 2789-2795.



## Lampiran 1. Bagan Alir Cara Kerja

**Bagan Alir Cara Kerja**





Keterangan :

- \* = KLT untuk menentukan pelarut yang digunakan pada proses pemisahan selanjutnya
- \*\* = KLT untuk mengetahui pola pemisahan *spot*

Lampiran 2. 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



**PRATIKA Wahyono, S.U., Apt.**  
NIP. 19500701 197702 1 001 2