

LOGANIACEAE

KK
TF + 02/04
Per
19

TESIS

STUDI AKTIFITAS DAN KANDUNGAN KIMIA TANAMAN *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



SRI PURWATININGSIH

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003

**STUDI AKTIFITAS DAN KANDUNGAN KIMIA
TANAMAN *Fagraea racemosa* Jack ex Wall**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Farmasi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Oleh :

**SRI PURWATININGSIH
NIM. 090014161 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Tanggal 27 Maret 2003

Telah pasti datangnya ketetapan Allah, maka janganlah kamu minta disegerakan (datangnya). Maha Suci Allah dan Maha Tinggi dari apa yang mereka sekutukan.

Dialah yang menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu.

Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman : zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkannya.

Dan (Dia ciptakan) tanda-tanda (penunjuk jalan). Dan dengan bintang-bintang itulah mereka mendapat petunjuk.

Maka apakah (Allah) yang menciptakan itu sama dengan yang tidak dapat menciptakan (apa-apa)? Maka mengapa kamu tidak mengambil pelajaran.

Dan jika kamu hitung-hitung ni'mat Allah, niscaya kamu tak dapat menentukan jumlahnya. Sesungguhnya Allah benar-benar Maha Pengampun dan Maha Penyayang.

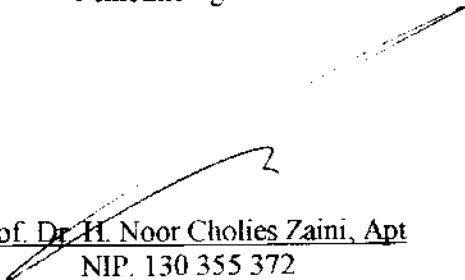
(QS: AN-NAHJ: 1, 10, 11, 16, 17, 18)



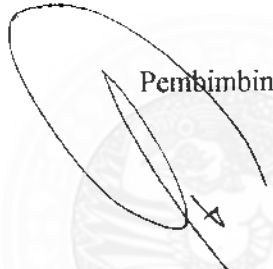
**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 3 SEPTEMBER 2003**

Oleh

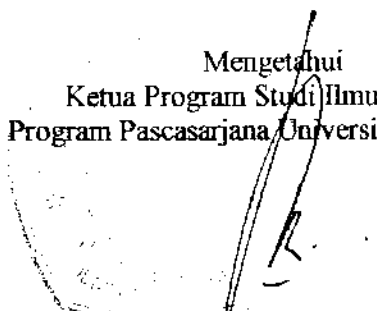
Pembimbing Ketua


Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini, Apt
NIP. 130 355 372

Pembimbing


Prof. Dr. rer.nat. Gunawan Indrayanto, Apt
NIP. 130541 814

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Farmasi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga


Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt
NIP. 131 563 457

Telah diuji pada

Tanggal 27 Maret 2003

PANITIA PENILAI TESIS

Ketua : Dr. Wahjo Dyatmiko, Apt.

Anggota :

1. Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini, Apt
2. Prof. Dr. rer. nat. Gunawan Indrayanto, Apt
3. Dr. rer.nat. Mulja Hadi Santosa, Apt
4. Dr. H. Achmad Syahrani, Apt



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Penulis panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Namun demikian, semua ini tidak terlepas pula dari bimbingan, dorongan dan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

Pemerintah Indonesia melalui Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Nasional melalui bantuan Beasiswa Program Pasca Sarjana yang telah memberikan bantuan dana dalam rangka menyelesaikan program magister ini.

Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini, Apt., sebagai Pembimbing Utama, atas segala nasehat, petunjuk dan bimbingannya dengan penuh kesabaran selama penelitian berlangsung.

Prof. Dr. rer.nat. Gunawan Indrayanto, Apt., sebagai Pembimbing, atas segala nasehat, petunjuk, dan bimbingan dengan penuh kesabaran selama penelitian berlangsung.

Rektor Universitas Nusa Cendana yang telah memberikan ijin dan kesempatan untuk mengikuti Program Magister di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Segecap Civitas Akademik Universitas Dusseldorf Jerman, atas bantuannya dalam rangka pengumpulan data instrumen.

Dr. Ir. Kade Sidiyasa, M.Sc., dari Stasiun Wanariset Balai Penelitian Kehutanan Samarinda di Samboja atas bantuannya dalam mendeterminasi tumbuhan.

Dr. rer.nat. Mulja Hadi Santosa, Apt., selaku Kepala Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga atas fasilitas, petunjuk dan nasehat yang diberikan dalam rangka melengkapi data.

Tim Penilai yang telah meluangkan banyak waktu dalam rangka membimbing untuk menyelesaikan program ini.

Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt selaku Ketua Program Studi Ilmu Farmasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan nasehat, bantuan, dorongan dan kemudahan dalam menyelesaikan program ini.

Dra. Sismindari, Apt., Ph.D di Fakultas Farmasi Universitas Gajah yang telah dengan ikhlas memberikan bahan dan informasi yang berkaitan dengan tugas penelitian.

Dr. Sugianto Apt dan Dra. Noor Erma SN, Apt., MS di Laboratorium Mikrobiologi - Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah banyak memberikan nasehat dan bimbingan yang sangat berarti selama Penulis menjalani studi di Universitas Airlangga.

Drs. Abdul Rahman Apt. MS, selaku kepala Dry-Lab di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin dan bantuan yang berkaitan dengan penulisan.

Drs. H. Achmad Fuad Hafidz, Apt. MS, Drs. Hera Studiawan Apt. MS, Dra. Rahmawati, Msi, Apt., Ida Kusumawati, Ssi, Msi, Apt., dan Drs. Sukardiman, Apt. MS., beserta seluruh staf di laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bantuan dan saran-saran yang baik dan penuh perhatian.

Mas Catur, Mbak Tutik, mbak Anik, Mbak Devi (FKG), Roy, mas Jarwo, mas Iwan, dik Zumaroh, dik Avita, mbak Mahda, Pak Alo Masan, Ibu Suzana dan adik-adik di Biotek serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan kebaikannya sehingga dapat melancarkan baik penelitian maupun penulisan tesis ini.

Segenap karyawan dan karyawan Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah banyak membantu.

Suami atas jerih payahnya mencarikan tanaman dan kesabarannya bersama anak-anak yang memberikan semangat, inspirasi dan doa sehingga dapat terselesaikannya semua tugas dengan baik.

Kepada semuanya itu saya berdoa semoga Allah SWT memberikan imbalan yang berlipat ganda sesuai dengan amalannya.

Surabaya, 6 September 2003

PENULIS

RINGKASAN

Penelitian terhadap *Fagraea racemosa* Jack ex Wall yang dilakukan oleh Okuyama *et.al* (1995). mencakup isolasi, identifikasi, elusidasi struktur dan penentuan aktifitas biologis hanya pada bagian akarnya, jadi bagian lain dari tanaman ini belum diteliti. Selain itu uji aktifitas toksisitas terhadap larva udang atau Brine Shrimp Lethality Test (BST) dan uji peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-pyrcilhidrazil atau uji anti radikal bebas belum dilakukan. Oleh karena itu masih memungkinkan untuk dilakukan penelitian tersebut.

Fagraea racemosa Jack ex Wall telah digunakan dalam pengobatan tradisional. Dari beberapa suku yang ada di pulau Kalimantan seperti suku Dayak memanfaatkan kulit batang dan akarnya untuk obat penurun panas dan penghilang rasa sakit atau nyeri dada (Kulip, 2002), kemudian masyarakat di sekitar hutan Mentoko-Bontang Kalimantan Timur menggunakan pucuk tumbuhan ini sebagai lalapan untuk obat maag (disadur oleh Gunawan, 2000) dan suku Banjar menggunakan daunnya untuk melemaskan otot-otot yang kaku pada penderita stroke. Selain itu sekelompok masyarakat di Philipina menggunakan bunga dan akarnya untuk tonik dan penawar racun gigitan ular berbisa. (Anonymous, 1972).

Tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall diambil pada bulan April 2001 dari daerah Kalimantan Timur, tepatnya di hutan sekunder antara Samboja – Samarinda pada ketinggian 300 meter dpl ; dengan tinggi 5,5 meter ; diameter \pm 10 cm ; warna bunga putih dan buah yang masih muda berwarna hijau. Bagian-bagian tanaman seperti daun, kulit batang dan akar dipisahkan, dibersihkan dan dikeringkan di tempat terbuka, namun tidak langsung terkena sinar matahari. Sebagian akar yang sudah kering dikelupas kulitnya dan sebagian dibiarkan ada kulitnya. Semua bagian dihancurkan dengan digiling atau diblender, sehingga diperoleh simplisia yang halus yaitu menjadi serbuk dan serpihan-serpihan kecil.

Pada prosedur pengambilan dan pengumpulan data dilakukan tahapan-tahapan : determinasi tumbuhan, pembuatan serbuk *Fagraea racemosa* Jack ex Wall, skrining simplisia, pembuatan ekstrak, fraksinasi atau isolasi dengan menggunakan kromatografi kolom, uji aktifitas ekstrak dan fraksi atau isolat, dan analisis instrumen menggunakan HPLC-DAD dan HPLC-MS. Hewan percobaan yang digunakan pada uji toksisitas adalah sejenis *Artemia salina* L dan uji antioksidan dengan mengukur peredaman ekstrak atau isolat terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-pyrcilhidrazil (DPPH).

Pembuatan ekstrak tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall menggunakan ekstraksi bertahap, mula-mula diekstraksi dengan petroleum eter selama 48 jam, kemudian ampasnya diekstraksi dengan kloroform selama 18 jam, dipisahkan dan ampasnya diekstraksi dengan metanol selama 18 jam. Masing-masing ekstraksi dilakukan pada bagian daun, kulit batang, akar dan kulit akar secara terpisah. Alat yang digunakan untuk ekstraksi adalah soxhlet. Filtrat-filtrat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan dengan rotavapor. Selanjutnya dilakukan uji aktifitas terhadap ekstrak, hasil dari uji ini antara lain dijadikan sebagai dasar untuk melakukan fraksinasi atau isolasi.

Ternyata dari hasil skrining fitokimia diperoleh data bahwa : bagian daun dan kulit batang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, sterol-terpenoid dan tanin dengan jumlah yang relatif banyak ; bagian akar (berkulit) mengandung senyawa alkaloid, saponin dan sterol-terpenoid yang relatif sangat banyak ; bagian kulit akar mengandung senyawa alkaloid, saponin, sterol-terpenoid dan tanin yang relatif sangat banyak.

Cara pengujian toksisitas terhadap larva udang (BST) adalah dengan menetasakan telur udang pada media air laut alami atau air laut buatan (ALB) (lampiran 4). Air laut alami atau ALB diambil secukupnya proposional dengan jumlah telur, dibiarkan hingga telur menetas menjadi larva. Sementara itu dibuat sederetan larutan pada beberapa konsentrasi, untuk

ekstrak dibuat konsentrasi 10,0 ; 100 dan 100 x 10 µg/mL dan isolat atau fraksi dengan konsentrasi 10,0 ; 50,0 ; 100 dan 250 µg/mL, juga dibuat blankonya. Selanjutnya larutan-larutan tersebut ditaruh dalam vial-vial hingga kering, kemudian larva udang yang telah berumur 48 jam dimasukkan ke dalam masing-masing vial dan ditambah air laut alami atau ALB hingga volume 5,0 mL. Setelah 24 jam dicatat jumlah larva udang yang hidup dan yang mati. Hasil kematian larva udang kemudian dihitung dengan analisis probit dan diperoleh hasil akhir yang dinyatakan sebagai harga median lethal concentration (LC₅₀).

Ternyata hasil penetasan tidak berbeda antara media air laut alami dan ALB. Dari uji toksisitas ekstrak dan fraksi pada semua bagian tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall, diperoleh hasil : pada ekstrak CHCl₃: kulit akar > akar > kulit batang > daun ; sedangkan pada ekstrak MeOH: kulit batang > akar > kulit akar > daun. Pada fraksi : CHCl₃ kulit akar(C) > MeOH kulit batang (K) > MeOH akar (M). Harga LC₅₀ terkecil diperoleh pada ekstrak kulit CHCl₃ kulit akar (KAC) yaitu : 994 µg/mL, sementara pada fraksi diperoleh pada fraksi C1 (dari ekstrak C) yaitu: 226 µg/mL.

Adapun pada uji anti radikal bebas atau antioksidan dilakukan dengan mengukur besarnya peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH). Pengukuran dilakukan pada 3 (tiga) titik panjang gelombang untuk tujuan validitas menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Untuk ekstrak dibuat konsentrasi (ppm) : 16,67 ; 50,00 ; 83,33 ; 116,7 dan 150,0 dan dilakukan pengukuran pada menit ke-5, ke-15, ke-30, ke-45 dan ke-60, kecuali ekstrak MeOH daun (DM) dibuat konsentrasi (ppm) : 16,67 ; 33,33 ; 50,00 ; 66,67 dan 83,33 dengan pengukuran pada menit ke-5, ke-10, ke-15, ke-20, ke-25 dan ke-30. Hal ini dilakukan sebab ekstrak MeOH daun pada konsentrasi diatas 83,33 ppm pada menit ke-0 sudah bereaksi sangat cepat dengan DPPH, sehingga sulit dilakukan pengukuran. Sedangkan untuk fraksi dibuat konsentrasi (ppm) : 20,00 ; 60,00 ; 100,0 ; 140,0 ; dan 180,0 dan diukur pada menit ke-5, ke-15, ke-30, ke-45 dan ke-60. Selanjutnya dihitung % peredamannya kemudian dianalisis dengan regresi untuk menghitung EC₅₀nya.

Dari uji diperoleh hasil untuk ekstrak pada : ekstrak CHCl₃: kulit batang > daun > akar = kulit akar dan ekstrak MeOH : daun > kulit batang > kulit akar > akar. Sedangkan pada fraksi : MeOH akar (M) > MeOH kulit batang (K) > CHCl₃ kulit akar (C). Harga EC₅₀ terkecil diperoleh pada ekstrak MeOH daun (DM) yaitu 46,71 ppm pada pengukuran menit ke-30, dengan % peredaman : 79,7%. Sedangkan pada fraksi diperoleh fraksi M1 dengan % peredaman mencapai 98,5% dan fraksi M2 99,4%, keduanya terukur pada menit ke-45 dengan konsentrasi sangat kecil.

Jadi dari kedua hasil uji aktifitas ini diperoleh data bahwa ekstrak KAC dan fraksi C1 bersifat toksik terhadap larva udang, tetapi tidak berpotensi sebagai antioksidan. Ekstrak DM dan fraksi M1 serta fraksi M2 berpotensi sebagai antioksidan, tetapi tidak bersifat toksik terhadap larva udang. Ekstrak KBM dan fraksi K6 mempunyai potensi sebagai antioksidan dan mempunyai sifat toksik terhadap larva udang.

Sementara itu isolasi dilakukan hanya pada 3 (tiga) macam ekstrak, yaitu ekstrak CHCl₃ kulit akar (C), ekstrak MeOH akar (M) dan ekstrak MeOH kulit batang (K). Untuk ekstrak C didasarkan pada hasil uji BST, dimana toksisitas ekstrak kulit akar kloroform terhadap larva udang paling besar dibandingkan ekstrak yang lain. Penambahan ekstrak akar kloroform untuk tujuan menambah jumlah ekstrak yang akan diisolasi, supaya hasil isolasi banyak, selain itu dari uji BST masih menunjukkan hasil yang relatif besar. Sedangkan untuk ekstrak M semata-mata hanya didasarkan pada hasil penelitian Okuyama *et.al* (1995) yang mendapatkan beberapa senyawa lignan dari fraksi akar metanol. Dan untuk ekstrak K didasarkan pada uji BST dan antioksidan, dimana keduanya menunjukkan adanya aktifitas positif.

Ekstrak C diisolasi dengan fase diam (penjerap) silika gel F 254 ; 35 – 70 mesh dengan fase gerak = EtOAc : Iso-oktan : HOAc = 5 : 4 : 1. Diperoleh 6 (enam) fraksi (C1 – C6). Untuk ekstrak M diisolasi dengan fase diam (penjerap) silika gel F 254 ; 35 – 70 mesh dengan fase gerak = EtOAc : MeOH : H₂O = 10 : 3 : 1. Diperoleh 5 (lima) fraksi (M1 – M5). Dan untuk ekstrak K diisolasi dengan fase diam (penjerap) silika gel F 254 ; 70 – 230 mesh dengan fase gerak = EtOAc : MeOH : H₂O = 100 : 16,5 : 13,5. Diperoleh 8 (delapan) fraksi (K1 – K8).

Dari hasil analisis HPLC-DAD dan HPLC-MS terhadap ke-19 fraksi tersebut diketahui bahwa semua fraksi tidak ada yang murni. Untuk fraksi yang aktif yaitu fraksi C1 mengandung 6 (enam) komponen atau senyawa yang dominan dengan 5 (lima) senyawa relatif murni, namun tidak dapat dihitung dengan pasti massa molekul relatifnya (M^+). Fraksi M1 mengandung 4 (empat) senyawa yang dominan, 2 (dua) diantaranya diketahui mempunyai massa molekul relatif (M^+) = 587 (m/z) dan M^+ = 891 (m/z). Fraksi M2 mengandung 3 (tiga) senyawa yang dominan, satu diantaranya mempunyai M^+ = 587 (m/z) dan fraksi K6 mengandung 7 (tujuh) senyawa yang dominan salah satunya mempunyai M^+ = 456 (m/z).



ABSTRACT

Study on constituents and their activity on Brine Shrimp Lethality Test (BST) and antioxidant of *Fagraea racemosa* Jack ex Wall have been performed. Antioxidant activity was carried out by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) reagent quenching method.

Chloroform extract of root bark (KAC) showed positive activity on BST, but no antioxidant activity was observed. On the contrary, methanolic extract of the leave (DM) showed no activity on BST, but strong antioxidant activity was observed. Methanolic extract of the bark (KBM) showed positive result on both tests with quite lower activity compared to KAC and DM.

Fractination followed by isolation of KAC gave six fractions (C1-C6), and only fraction C1 possesses the strongest activity on BST and containing six dominant compound. Five compounds those have been isolated were relatively pure compounds. Fractination of the extract methanolic of the root (AM) gave five fractions namely M1-M5. Fractions M1 and M2 showed no activity on BST but very strong antioxidant.

Fraction M1 containing four dominant compounds, two of them having relative molecule compounds ($M^+(m/z) = 587$ and $M^-(m/z) = 891$). Fraction M2 containing three dominant compounds, one of them has $M^+(m/z) = 587$. Fractination of KBM gave eight fractions namely K1-K8, but only K6 showed the strongest activity on BST and antioxidant test. K6 containing six dominant compounds and one of them has $M^-(m/z) = 456$.

Key words : *Fagraea racemosa* Jack ex Wall, Brine Shrimp Lethality Test , antioxidant, relative molecule compounds.

SINGKATAN

ALB	: Air Laut Buatan
ASTM	: American System Material
BST	: Brine Shrimp Lethality Test
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil
EC50	: Median Effective Consentration
ESI	: Electrospray Ionisation
HPLC-DAD	: Kromatografi Kolom Kinerja Tinggi dengan Detektor Diode Array
HPLC-MS	: Kromatografi Kolom Kinerja Tinggi dengan Spektromassa
LC50	: Median Lethal Concentration
ROS	: Reactive Oxygen Species
SOD	: Superoxide Dismutase
SPSS	: Statistical Product and Service Solution
TLC	: Kromatografi Lapisan Tipis
UV	: Ultraviolet
UV-Vis	: Ultaviolet-sinar tampak

DAFTAR ISI

	hal
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	viii
Abstrak.....	xi
Singkatan	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Botani.....	6
2.1.1. Klasifikasi Tanaman	6
2.1.2. Nama Daerah.....	6
2.1.3. Ekologi dan Penyebarannya.....	7
2.1.4. Morfologi	8
2.2. Kegunaan, Kandungan dan Aktifitas Farmakologis – Biologis	9
2.3. Tinjauan Tentang Lignan	9

2.4. Tinjauan Tentang Toksisitas	13
2.5. Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang <i>Artemia salina</i> .L atau Brine Shrimp Lethality Test (BST).....	14
2.6. Tinjauan Tentang Antioksidan.....	16
2.7. Pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl (DPPH)	17
2.8. <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall Sebagai Harapan Sumber Bahan Baku Obat.....	18
2.9. Analisis Instrumen Fraksi atau Isolat	20
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	22
BAB 4 METODE PENELITIAN	25
4.1. Rancangan Penelitian	25
4.2. Bahan Penelitian.....	25
4.2.1 Bahan Yang Diuji	25
4.2.3 Bahan Kimia dan Bahan Uji	25
4.3. Instrumen Penelitian.....	26
4.4. Lokasi Penelitian	26
4.5. Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data.....	28
4.5.1 Skrining Fitokimia.....	28
4.5.2 Pemisahan Komponen Kimia	28
4.5.2.1. Ekstraksi.....	29
4.5.2.2. Isolasi.....	31
4.5.3. Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (BST)	39
4.5.4. Uji Peredaman Terhadap Pereaksi 2,2-diphenyl-1-picryl- hidrazyl (DPPH)	40
4.5.5. Analisis Instrumen Terhadap Fraksi atau Isolat	41
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	42
5.1. Data Penelitian	42
5.1.1. Skrining Fitokimia	42
5.1.2. Pemisahan Komponen <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	44
a. Ekstraksi	44

b. Isolasi	44
5.1.3. Analisis Ekstrak dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC)	46
5.1.4. Analisis Fraksi dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC)	47
5.1.5. Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (BST)	51
5.1.6. Uji Peredaman Terhadap Pereaksi 2,2-diphenyl-1-picryl- hidrazyl (DPPH)	52
5.2. Analisis dan Hasil Penelitian	52
5.2.1. Hasil Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (BST)	52
5.2.2. Hasil Uji Peredaman Terhadap Pereaksi 2,2-diphenyl-1-picryl- hidrazyl (DPPH)	53
5.2.3. Perbandingan antara Uji Toksisitas terhadap Larva Udang dan Uji Peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl (DPPH) ..	55
a. Ekstrak	55
b. Fraksi	55
5.2.4. Hasil Analisis HPLC-DAD dan HPLC-MS dari Fraksi atau Isolat ..	57
a. Hasil Analisis Fraksi C1	59
b. Hasil Analisis Fraksi M1	66
c. Hasil Analisis Fraksi K6	69
 BAB 6 PEMBAHASAN	 75
 BAB. 7 KESIMPULAN DAN SARAN	 84
7.1. Kesimpulan	84
7.2. Saran	85
 DAFTAR PUSTAKA	 86

DAFTAR GAMBAR

	hal
Gambar 2.1. Daun dan Bunga <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	7
Gambar 2.2. Biosintesis Senyawa Lignan atau Lignin.....	10
Gambar 2.3. Biosintesis Senyawa Podofilotoksin.....	12
Gambar 2.4. Struktur dari 2,2-diphenyl-1-pyrcilhydrazyl (DPPH).....	18
Gambar 2.5. Reaksi antara antioksidan dengan senyawa 2,2-diphenyl-1-pyrcilhydrazyl (DPPH).....	20
Gambar 3.1. Skema Kerangka Konseptual Penelitian	24
Gambar 4.1. Skema Kerangka Operasional Penelitian	27
Gambar 4.2. Skema Ekstraksi Daun <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall	35
Gambar 4.3. Skema Ekstraksi dan Isolasi Kulit batang <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall	36
Gambar 4.4. Skema Ekstraksi Kulit akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	37
Gambar 4.5. Skema Ekstraksi dan Isolasi Akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	38
Gambar 5.1. TLC hasil pemisahan dari Ekstrak-ekstrak Kloroform <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	46
Gambar 5.2. TLC hasil pemisahan dari Ekstrak-ekstrak Metanol <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	47
Gambar 5.3. TLC hasil pemisahan dari Fraksi Kloroform Kulit Akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall (C).....	48
Gambar 5.4. TLC hasil pemisahan dari Fraksi Metanol Akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall (M).....	49
Gambar 5.5. TLC hasil pemisahan dari Fraksi Metanol Kulit Batang <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall (K)	50
Gambar 5.6. Perbandingan harga LC ₅₀ dan EC ₅₀ (menit ke-30) dari ekstrak-ekstrak <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	55
Gambar 5.7. Perbandingan harga LC ₅₀ dan EC ₅₀ (menit ke-30) dari Fraksi Kloroform Kulit akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall (C).....	55
Gambar 5.8. Perbandingan harga LC ₅₀ dan EC ₅₀ (menit ke-30) dari Fraksi Metanol Akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall (M).....	56
Gambar 5.9. Perbandingan harga LC ₅₀ dan EC ₅₀ (menit ke-30) dari Fraksi Metanol Kulit Batang <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall (K)	56

Gambar 5.10. Kromatogram Fraksi C1 pada $\lambda = 235$ nm.....	59
Gambar 5.11. Kromatogram Fraksi C1 pada $\lambda = 254$ nm.....	59
Gambar 5.12. Kromatogram Fraksi C1 pada $\lambda = 280$ nm.....	60
Gambar 5.13. Kromatogram Fraksi C1 pada $\lambda = 340$ nm.....	60
Gambar 5.14. Spektra UV Fraksi C1 yang diukur pada 3 (tiga) titik puncak HPLC	62
Gambar 5.15. Total Kromatogram Ion positif (+).....	63
Gambar 5.16. Total Kromatogram Ion negatif (-).....	63
Gambar 5.17. Spektromassa ESI positif (+) dari puncak pada RT = 20,70 menit.....	64
Gambar 5.18. Spektromassa ESI negatif (-) dari puncak pada RT = 18,09 menit.....	64
Gambar 5.19. Spektromassa ESI negatif (-) dari puncak pada RT = 19,07 menit.....	65
Gambar 5.20. Spektromassa ESI negatif (-) dari puncak pada RT = 24,01 menit.....	65
Gambar 5.21. Total kromatogram ion positif (+) Fraksi M1.....	66
Gambar 5.22. Total Kromatogram ion negatif (-) Fraksi M1.....	66
Gambar 5.23. Spektromassa ESI positif (+) dari puncak pada RT = 23,19 menit.....	67
Gambar 5.24. Spektromassa ESI positif (+) dari puncak pada RT = 32,04 menit.....	67
Gambar 5.25. Spektromassa ESI positif (+) dari puncak pada RT = 34,11 menit.....	68
Gambar 5.26. Spektromassa ESI negatif (-) dari puncak pada RT = 27,49 menit.....	68
Gambar 5.27. Kromatogram Fraksi K6 pada $\lambda = 235$ nm.....	69
Gambar 5.28. Kromatogram Fraksi K6 pada $\lambda = 254$ nm.....	69
Gambar 5.29. Kromatogram Fraksi K6 pada $\lambda = 280$ nm.....	70
Gambar 5.30. Kromatogram Fraksi K6 pada $\lambda = 340$ nm.....	70
Gambar 5.31. Spektra UV Fraksi K6 yang diukur pada 3 (tiga) titik puncak HPLC	71
Gambar 5.32. Total Kromatogram ion positif (+) Fraksi K6.....	72
Gambar 5.33. Total Kromatogram ion negatif (-) Fraksi K6.....	72
Gambar 5.34. Spektromassa ESI positif (+) dari puncak pada RT = 22,74 menit.....	73
Gambar 5.35. Spektromassa ESI negatif (-) dari puncak pada RT = 22,69 menit.....	73
Gambar 5.36. Spektromassa ESI positif (+) dari puncak pada RT = 24,96 menit.....	74
Gambar 5.37. Spektromassa ESI negatif (-) dari puncak pada RT = 24,90 menit.....	74
Gambar 5.38. Spektromassa ESI positif (+) dari puncak pada RT = 26,24 menit.....	75
Gambar 5.39. Spektromassa ESI negatif (-) dari puncak pada RT = 26,08 menit.....	75

DAFTAR TABEL

	hal
Tabel 5.1. Hasil Skrining terhadap simplisia tanaman <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall . .	44
Tabel 5.2. Hasil Ekstraksi bagian/unit tanaman <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	45
Tabel 5.3. Hasil Isolasi Ekstrak Kloroform Kulit akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall .	45
Tabel 5.4. Hasil Isolasi Ekstrak Metanol Akar <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall	45
Tabel 5.5. Hasil Isolasi Ekstrak Metanol Kulit Batang <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.	46
Tabel 5.6. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak-ekstrak <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall terhadap Udang	51
Tabel 5.7. Hasil Uji Toksisitas Fraksi-fraksi <i>Fagraea</i> Jack ex Wall terhadap Udang	51
Tabel 5.8. Harga LC ₅₀ dari Ekstrak-ekstrak <i>Fagraea</i> Jack ex Wall	52
Tabel 5.9. Harga LC ₅₀ dari Fraksi-fraksi <i>Fagraea</i> Jack ex Wall	54
Tabel 5.10. Harga EC ₅₀ dari Ekstrak pada tiap waktu Percobaan	54
Tabel 5.11. Harga EC ₅₀ dari Ekstrak Daun metanol pada tiap waktu Percobaan.....	54
Tabel 5.12. Harga EC ₅₀ dari Fraksi pada tiap waktu Percobaan.....	54
Tabel 5.13. Hasil Perhitungan berat molekul relatif Fraksi-fraksi dari analisis HPLC-MS	57

DAFTAR LAMPIRAN

	hal
Lampiran 1. Surat Determinasi Tanaman	89
Lampiran 2. Hasil Analisis Probit dari Uji Toksisitas Terhadap larva udang (BST).....	90
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Uji peredaman DPPH Ekstrak dan Fraksi <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall.....	96
Lampiran 4. Komposisi Air Laut Buatan (ALB)	102





BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1

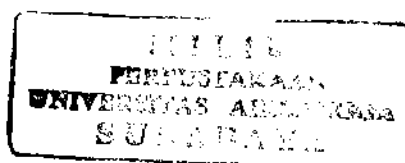
PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG MASALAH

Negara-negara maju yang secara luas telah menggunakan obat-obat modern untuk mengatasi kasus-kasus yang berkaitan dengan kesehatan, akhir-akhir ini menunjukkan perubahan mulai menggunakan obat-obatan tradisional yaitu baik yang berasal dari tumbuh-tumbuhan maupun bahan alam lainnya. Hal ini di dorong oleh adanya fakta bahwa penggunaan obat-obatan sintetik selama ini mempunyai efek yang merugikan bagi kesehatan. Kecenderungan ini telah meluas ke berbagai negara di seluruh dunia dan dikenal sebagai trend gaya hidup kembali ke alam (back to nature).

Kawasan Indonesia terutama hutan Kalimantan merupakan salah satu sumber keanekaragaman hayati akan tumbuhan obat yang terbesar didunia, namun pemanfaatannya masih belum maksimal dan penelitian-penelitian fitofarmaka terhadap tumbuhan yang berkhasiat obat masih sedikit dan belum menunjukkan hasil sesuai harapan.

Di seluruh dunia terdapat 70 jenis (species) *Fagraea spp*, 42 jenis diantaranya terdapat di hutan Kalimantan, salah satunya adalah *Fagraea racemosa* Jack ex Wall. Tanaman ini banyak tumbuh di hutan-hutan sekunder yang cukup banyak memperoleh cahaya matahari. Dapat tumbuh dari tanah berrawa hingga tanah kering pada ketinggian 0 – 2000 m dpl. (Keßler and Sidiyasa, 1994). Pada umumnya tanaman ini hanya dimanfaatkan sebagai bahan bangunan dan kayu bakar, karena sebagian besar masyarakat terutama yang tinggal disekitar koloni tanaman tersebut berada, tidak banyak yang mengetahui kegunaannya sebagai tanaman obat. Bahkan dilaporkan tanaman ini terancam punah, baik disebabkan oleh aktifitas manusia maupun bencana alam seperti kebakaran. Namun juga ada laporan bahwa beberapa suku terutama di Kalimantan



menggunakannya dalam pengobatan tradisional, seperti suku Dayak memanfaatkan kulit batang dan akarnya untuk obat penurun panas dan penghilang rasa sakit atau nyeri dada (Kulip, 2002), kemudian masyarakat di sekitar hutan Mentoko Bontang Kalimantan Timur menggunakan pucuk tanaman ini sebagai lalapan untuk obat maag (disadur oleh Gunawan, 2000) dan suku Banjar menggunakan daunnya untuk melemaskan otot-otot yang kaku pada penderita stroke. Selain itu sekelompok masyarakat di Philipina menggunakan bunga dan akarnya untuk tonik dan penawar racun gigitan ular berbisa. (Anonymous, 1972).

Hingga kini studi fitokimia dan farmakologi dari *Fagraea racemosa* Jack ex Wall belum banyak dilakukan. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Okuyama *et.al* (1995) telah berhasil mengisolasi senyawa-senyawa lignan dari akar *Fagraea racemosa* Jack ex Wall, yaitu : (+)-pinoresinol, (+)-epipinoresinol, (+)-lariciresinol, (+)-isolariciresinol dan bersama-sama fenol lainnya syringaldehid dan 7,8-dihydro-7-oxycoumarilalcohol. Dari uji aktifitas biologis yang mereka lakukan diperoleh fakta bahwa ekstrak akar ini memberikan efek relaksasi, juga mempunyai aktifitas analgesik, terutama di dalam fraksi lignannya. Khusus untuk senyawa (+)-pinoresinol memberikan efek analgesik dan lokal anestesi.

Dari pendekatan kemotaksonomi pada species *Fagraea* lainnya diantaranya : *Fagraea gracilipes* A. Gray, diketahui mengandung senyawa glukosida secoiridoid, namun sayang tidak dilakukan uji aktifitas. (Camble *et.al*, 1990). Sedangkan dari hasil penelitian ekstrak metanol batang *Fagraea blumei* G. Don diketahui mengandung senyawa glukosida iridoid dan flavonoid yang memiliki aktifitas anti radikal bebas. (Cuendet, *et.al*, 1997). Pada bunga *Fagraea berteriana* terkandung senyawa methyl Eugenol (Shelly *et.al*, 2000), namun belum dilakukan uji aktivitas biologisnya..

Senyawa-senyawa lignan juga terdapat dalam beberapa spesies tanaman yang lain, diantaranya dalam *Forsythia suspensa* dan *Magnolia coco* terdapat senyawa pinoresinol,

phillygenin dan syringaresinol yang berpotensi menghambat oksidasi plasma darah Low Density Lipoprotein (LDL) dan menghancurkan atherosklerosis (Chen, *et.al*, 1999). Sedangkan (+)-pinoresinol dan (+)-1-acetoxypinoresinol yang terdapat dalam minyak zaitun (Owen *et.al*, 2000) serta isolariciresinol, matairesinol dan secoilariciresinol dalam tepung Flaxseed terbukti mempunyai aktifitas kemopreventif melawan kanker payudara, usus dan prostat. (Schottner, *et.al*, 1997).

Dewasa ini perhatian terhadap senyawa lignan sebagai sumber atau bahan untuk obat anti kanker semakin meningkat, seiring dengan ditemukannya senyawa lignan podophyllotoxin yang berasal dari spesies *Podophyllum peltatum*, yang memperlihatkan kemampuan menghambat pembelahan sel kanker. Beberapa senyawa lignan lain dari tanaman spesies yang berbeda yang juga berpotensi sebagai anti kanker atau anti tumor adalah (+) lariciresinol dan (+)-syringaresinol (Harborne, *et al.*, 1999).

Berdasarkan beberapa uraian di atas, maka ada harapan bahwa senyawa yang terkandung dalam *Fagraea racemosa* Jack ex Wall, terutama senyawa lignannya mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai sumber bahan antioksidan, kemopreventif atau pun antikanker. Namun sejauh ini uji-uji yang mendukung maksud tersebut belum ada laporan pernah dilakukan. Untuk itu dalam penelitian ini akan dilakukan serangkaian kegiatan penelitian terhadap semua bagian-bagian tanaman meliputi : daun, kulit batang, kulit akar dan akar, dengan rancangan sebagai berikut : mula-mula dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan kimia metabolit sekundernya. Kemudian dilakukan pemisahan komponen dengan ekstraksi dan isolasi, selanjutnya ekstrak maupun isolat yang diperoleh dilakukann uji aktifitas biologisnya yaitu uji toksisitas dengan larva udang lokal sejenis *Artemia salina* L (Brine Shrimp Lethality Test screening) dan uji peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)

Skринing BST adalah uji hayati untuk tujuan melihat toksisitas dari ekstrak maupun isolat dengan menggunakan larva udang yang ditentukan dari harga LC50 (*Median Lethal Concentration*). Aktifitas peredaman terhadap pereaksi DPPH menunjukkan adanya aktifitas antioksidan atau anti radikal bebas yang ditunjukkan dengan harga EC50 (*Median Effective Concentration*).

Tehnik pemisahan komponen yang digunakan meliputi ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut non polar, semi polar dan polar dengan alat soxhlet. Kemudian dilanjutkan dengan isolasi senyawa dari ekstrak yang terpilih. Selanjutnya dilakukan analisis instrumen terhadap isolat atau fraksi dengan menggunakan HPLC - DAD dan HPLC - MS.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Adapun permasalahan penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut : Adakah ekstrak dan fraksi dari *Fagraea racemosa* Jack ex Wall yang mempunyai kandungan kimia atau senyawa yang bersifat toksik terhadap larva udang dan atau mempunyai aktifitas meredam pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil ?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktifitas biologis dan kandungan kimia *Fagraea racemosa* Jack ex Wall, sehingga diharapkan tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan antioksidan, kemopreventif atau pun obat anti kanker.

1.3.2 Tujuan Khusus

Menentukan ekstrak dan fraksi dari *Fagraea racemosa* Jack ex Wall yang mempunyai kandungan kimia atau senyawa yang bersifat toksik terhadap larva udang dan atau mempunyai aktifitas meredam pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

- a. Diperoleh informasi apakah ekstrak dan fraksi tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall mempunyai kandungan kimia yang positif terhadap uji toksisitas pada larva udang dan atau mampu meredam pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil.
- b. Data yang diperoleh dari penelitian ini dapat digunakan untuk melakukan penelitian selanjutnya yaitu uji sitotoksitas dan uji aktifitas anti scavenger baik secara in vitro maupun in vivo.





BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 BOTANI

2.1.1. Klasifikasi Tanaman

(Backer and Brink ,1968)

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Apocynales
Suku	: Loganiaceae
Marga	: <i>Fagraea</i>
Jenis	: <i>Fagraea racemosa</i> Jack ex Wall in ROXB

2.1.2. Nama Daerah

Mengkudu hutan, membera gading, tembusu paya (Melayu-Peninsula), kopi-kopi, si markopi-kopi, rampisi, lengugu (Smtr), tadapun puak, todopun puok kasadapa (Borneo), baagu (Philp), tuma tafeu, simalur, kayu naga (Enggano), bogosagala (Tagalog), kore haru (Halmahera), sibeh, sumbe (New Guinea). (Anonymous,1972)



Gambar 2.1. A. Daun dan bunga *Fagraea racemosa* Jack ex Wall
 Dari hutan sekunder Km 38 Samboja-Kalimantan Timur (300 m dpl)
 Umur 2-3 th ; tinggi 5,5 m ; diameter minimum 10 cm.

*B. Dikutip dari : <http://www.rci.rutgers.edu/~struwe/gentnet/genera/genfagrimg.htm>

2.1.3. Ekologi dan Penyebarannya

Mudah tumbuh di hutan sekunder yaitu hutan heterogen/primer yang telah dibuka atau dieksploitasi, yang cukup banyak memperoleh cahaya matahari. Tumbuh dengan baik pada tanah berrawa, berpasir, padang savana, padang ilalang hingga tanah kering/padat pada ketinggian 0–2000 meter di atas permukaan laut. (Keßler and Sidiyasa, 1994). Berbunga pada bulan April s.d September dan berbuah pada bulan Juli s.d Nopember. Bunganya berbau harum butter dan disukai semut hitam. Penyebarannya diduga dilakukan oleh kelelawar, namun belum ada pengamatan yang dilaporkan. (Anonymous, 1972).

Umur tanaman ini, konon bisa puluhan tahun, namun kebanyakan umur 2 – 5 tahun sudah dieksploitasi terutama bila diameternya sudah lebih dari 20 cm atau tinggi 5 – 6 m. Di

Kalimantan keberadaan *Fagraea racemosa* dan habitatnya dikhawatirkan akan punah karena adanya berbagai aktivitas manusia seperti pembukaan areal perkebunan, peladangan berpindah, maupun bencana alam seperti kebakaran.

Tanaman ini tersebar luas di daerah : Jawa kecuali Jawa Tengah bagian selatan, Bali, Kalimantan, Sulawesi, Timor, Sebagian Papua, Indocina, Siam, Birma bagian selatan, Malaysia, Kep. Solomon dan Australia bagian utara. Di Kalimantan Timur tanaman ini dapat ditemui di semua areal terbuka yaitu areal yang cukup banyak memperoleh cahaya matahari. Di Kalimantan Timur tanaman ini banyak tumbuh di pinggiran jalan raya sepanjang jalan antara Balikpapan hingga Bontang.

2.1.4. Morfologi

Fagraea racemosa Jack ex Wall berupa pohon yang tingginya 2-10 m, bahkan ada yang tingginya sampai 35 m, bercabang-cabang mirip pohon kopi. Daunnya berbentuk bulat telur sampai hampir ellips, panjang 15-30 cm, lebar 8-15 cm, pangkal membulat ujung meruncing dengan tulang besar keras, sepintas mirip daun mengkudu (*Morinda citrifolia*). Perbungaan pada ujung batang (terminal), kelopak berbentuk lonceng atau terompet panjangnya 2-4 cm, berwarna putih, berbau harum. Buah mirip berry, buah muda berwarna hijau muda, buah masak berwarna hijau tua, panjang 2 cm. Bunga dan buah menggerombol dan berkelompok-kelompok dalam satu tangkai yang sangat kuat, menggantung di ujung pertunasan (terminal) 2-60 cm dengan jumlah 50 sampai 90 (100) buah. Kulit Batang dan kulit akar agak tebal dan bisa dikelupas, kayunya keras dan akarnya berupa akar tunggang. (Keßler and Sidiyasa, 1994 ; Anonymous, 1972).

2.2 KEGUNAAN, KANDUNGAN DAN AKTIFITAS FARMAKOLOGI-BIOLOGIS

Pada umumnya kayunya dimanfaatkan untuk kayu bakar dan bahan bangunan, sedangkan untuk pengobatan tradisional seperti suku Dayak memanfaatkan kulit batang dan akarnya untuk obat penurun panas dan penghilang rasa sakit atau nyeri dada (Kulip, 2002), kemudian masyarakat di sekitar hutan Mentoko – Bontang Kalimantan Timur menggunakan pucuk tanaman ini sebagai lalapan untuk obat maag (disadur oleh Gunawan, 2000) dan suku Banjar menggunakan daunnya untuk melemaskan otot-otot yang kaku pada penderita stroke. Selain itu sekelompok masyarakat di Philipina menggunakan bunga dan akarnya untuk tonik dan penawar racun gigitan ular berbisa. (Anonymous, 1972).

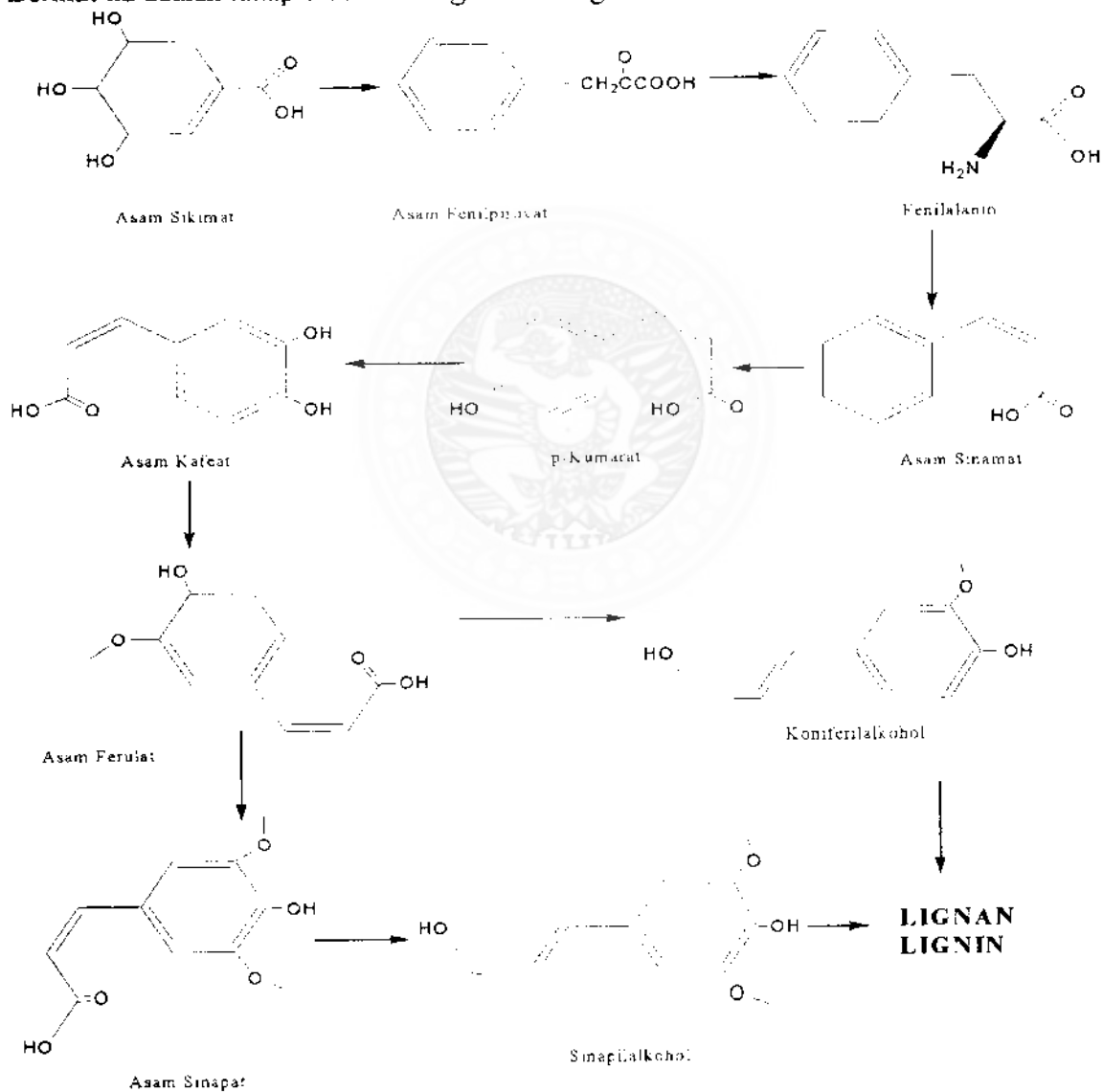
Bunganya mengandung senyawa diacetyl, dimana keberadaan senyawa ini menarik kelelawar untuk mendekatinya. Sedangkan dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Okuyama, *et.al*, 1991 diperoleh senyawa-senyawa yang berasal dari akar *Fagraea racemosa* Jack ex Wall yaitu senyawa-senyawa lignan : (+)-pinoresinol, (+)-epipinoresinol, (+)-lariciresinol, (+)-isolariciresinol dan juga senyawa fenol syringaldehid dan 7,8-dihydro-7-oxyconiferylalcohol. Dari uji aktifitas biologi yang mereka lakukan diperoleh fakta bahwa ekstrak akar ini memberikan efek relaksasi, juga mempunyai aktifitas analgesik, terutama dalam fraksi lignannya. Khusus untuk senyawa (+)-pinoresinol memberikan efek analgesik dan lokal anestesi.

2.3 TINJAUAN TENTANG LIGNAN

Senyawa lignan merupakan senyawa yang berhubungan dengan suatu polimer lignin pada dinding sel tanaman dan umumnya ditemukan dalam jaringan kayu. Kedua senyawa ini merupakan senyawa dimer yang sama dari unit fenilpropana. Senyawa lignan dan lignin diasumsikan terbentuk pada proses biosintesis yang hampir selalu berasal dari asam sikimat dan dibentuk oleh 2 unit fenil propana yang disatukan paling sedikit satu ikatan C-C antara dua posisi

sentral (β dan β') dari kedua rantai C_3 . Asam sikimat itu sendiri merupakan derivat dari asam hidroksibenzoat, dengan berbagai proses kimia terbentuklah fenilalanin dan tirosin dimana masing-masing merupakan pembentuk utama dari asam sinamat dan asam p-kumarat. Hidroksilasi pada asam sinamat menjadi asam o-kumarat atau asam p-kumarat dengan sebuah katalis mikrosomal p.450 akan membentuk asam kafeat dan seterusnya hingga menjadi lignan atau lignin (Robinson, 1983 ; Harborne *et.al*, 1999).

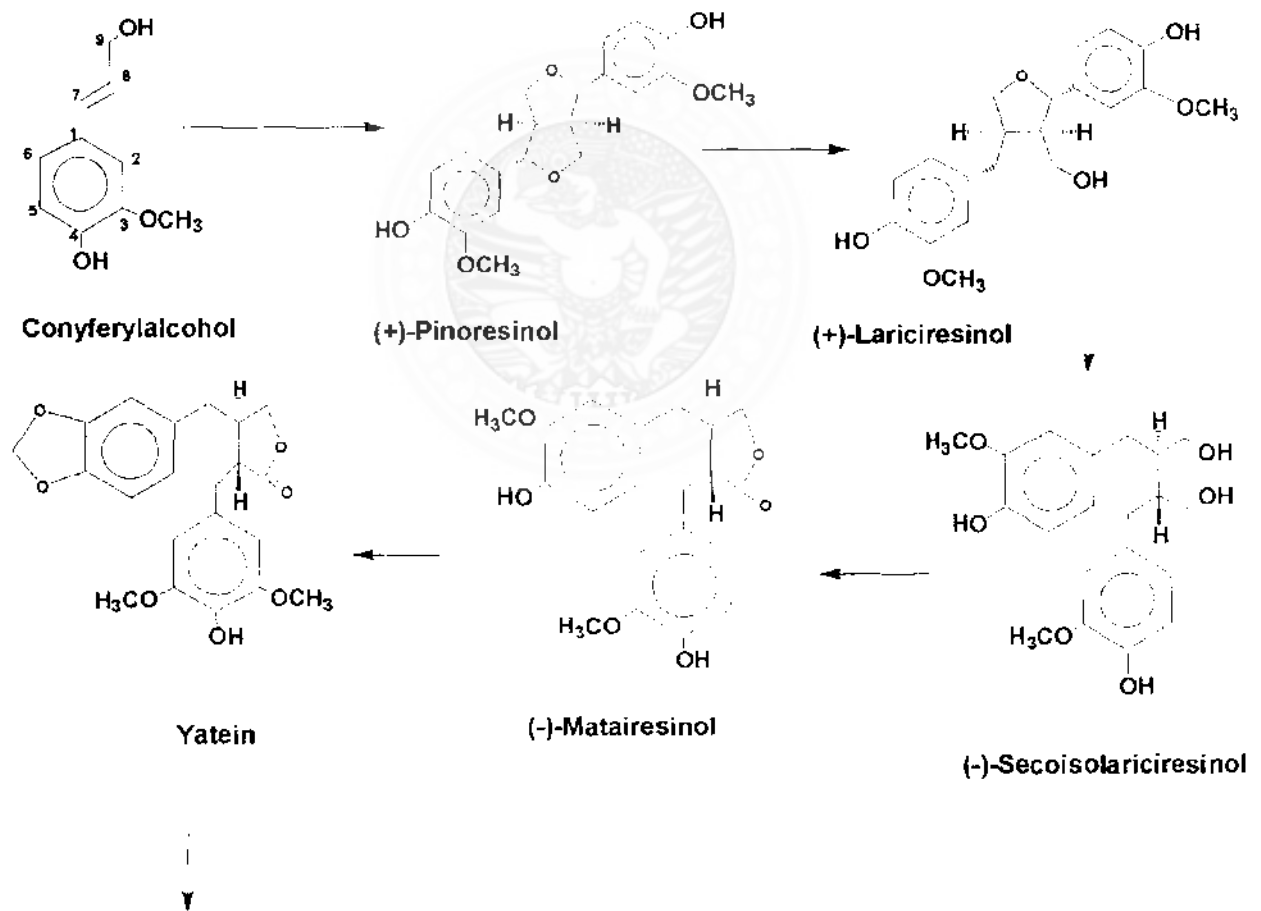
Berikut ini adalah tahap biosintesis lignan atau lignin

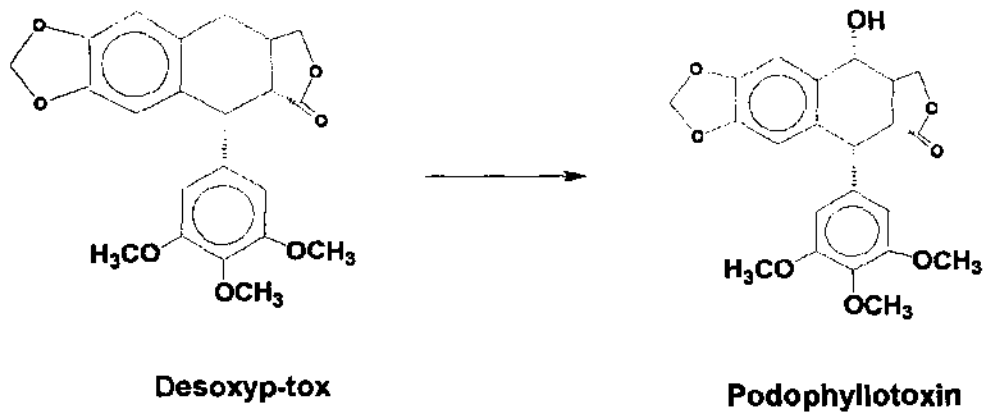


Gambar 2.2. Biosintesis dari senyawa lignan dan lignin
(dikutip dari Robinson, 1983 dengan modifikasi)

Struktur dari lignan dan lignin tidak diketahui dengan pasti, jadi mekanisme pembentukannya tidak bisa digambarkan. Dugaan pertama adalah penghilangan secara enzimatik pada sebuah atom hidrogen senyawa fenolik dari Coniferylalkohol untuk memproduksi sebuah atom radikal bebas yang dapat mengalami penyusunan kembali tanpa reaksi enzimatik dan reaksi-reaksi dengan molekul-molekul utama menjadi dimer-dimer fenilpropana. Selanjutnya menjadi lignan dan lignin.

Berikut ini adalah contoh pembentukan senyawa lignan podophyllotoxin dari radikal Coniferylalkohol.





Gambar 2.3. Biosintesis senyawa lignan *Podophyllotoxin*
(Dikutip dari Marcleuscher, 1999 ; dengan modifikasi).

Menurut Harborne, *et.al.*, 1999, senyawa lignan terbagi atas :

1. Neolignan, yang dibentuk dari prekursor yang berbeda yaitu dari golongan metil dan metilen yang terikat bersama-sama pada ujung rantai C-3, contohnya : austrobailignan.
2. Nor-lignan, mempunyai 5 atom karbon alifatik.
3. Dilignan, merupakan lignan yang tersusun oleh 4 unit fenilpropana.
4. Lignalonides dengan substitusi laktone, contohnya: matairesinol.
5. Monoepoksilignan, contohnya : burseran.
6. Bisepoksilignan, contohnya : pinoresinol.
7. Siklolignan, contohnya : podophyllotoxin.

Hingga kini, telah ditemukan 200 lebih lignan alam dalam jaringan keras kayu. Beberapa diantaranya telah diisolasi dari bagian tanaman seperti: akar, batang, daun dan bunganya. Dalam banyak kasus ditemukan bersama-sama di dalam glikosidanya. Secara luas lignan ditemukan di dalam kayu kelompok tumbuhan Gymnospermae, namun juga tidak kurang dari 50 famili dari



anak divisi Angiospermae dapat ditemukan dalam kayu dan kulit kayunya. (Luckner, 1984, Harborne, *et.al*, 1999).

Lignan biasanya mempunyai satu atau lebih molekul atau atom bebas, oleh karena itu dapat dianalisis dengan beberapa metode seperti yang digunakan untuk menganalisis polifenol lainnya. Senyawa lignan biasanya larut dalam semi polar atau polar. Lignan mempunyai aktifitas farmakologis yang sangat menarik, diantaranya mempunyai aktivitas anti virus, anti tumor, menghambat siklus AMP, anti mikroba, antiinflamatory, bahan kemopreventif dan sebagainya.

2.4 TINJAUAN TENTANG TOKSISITAS

Salah satu uji aktifitas biologi terhadap ekstrak atau fraksi atau isolat tanaman adalah uji toksisitas. Toksisitas diukur dengan mengamati kematian hewan percobaan, tetapi sifat dari pengukuran ini masih kasar dan hanya memberikan sedikit informasi tentang sebab utama dari kematian tersebut. Namun uji ini tetap penting untuk dilakukan, karena merupakan dasar untuk mengetahui batas-batas dosis yang diperlukan untuk tujuan praktis. Kematian hewan percobaan dianggap sebagai respon dari pengaruh senyawa tertentu. Dengan demikian perlu untuk diketahui hubungan antara dosis dan respon dengan menggunakan kematian sebagai jawaban dari suatu istilah yang disebut toksisitas. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan dan bahaya zat yang dicoba terhadap hewan percobaan. Uji toksisitas senyawa terhadap hewan percobaan adalah yang digunakan sebelum senyawa tersebut digunakan pada manusia. (Timbrell, 1985).

Kematian merupakan salah satu diantara beberapa kriteria dari toksisitas. Salah satu cara untuk mengetahuinya adalah dengan menggunakan dosis yang maksimal dan paling kecil kemudian kematian hewan percobaan dicatat. Angka kematian hewan percobaan dihitung sebagai harga median lethal dose (LD50) atau median lethal concentration (LC50). Harga ini

merupakan indikator yang baik untuk mengetahui toksisitas senyawa dan digunakan sebagai dasar atau pedoman untuk memperkirakan dosis kematian pada manusia. Selain itu LC50 sangat bermanfaat dalam mencari kandungan aktif dari bahan alam.

Hewan percobaan yang pernah digunakan dalam uji toksisitas adalah ikan dan larva udang *Artemia salina* L. Ekstrak, fraksi atau isolat dengan harga LC50 relatif kecil dari hasil percobaan dapat diartikan toksik dan selanjutnya bisa dilakukan uji sitotoksitasnya terhadap kultur sel tertentu. Dari hasil percobaan-percobaan yang telah dilakukan para ilmuwan menunjukkan hubungan antara toksisitas dan sitotoksitas. (Meyer, *et al* dalam Harborne, 1991).

2.5 UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* L ATAU BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)

Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* L atau Brine Shrimp Lethality Test (BST) merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui adanya aktifitas biologi senyawa tertentu yang ditunjukkan dengan adanya respon kematian dari larva udang. Metode ini adalah metode yang sederhana, mudah, murah, cepat dan cukup dilakukan dalam ruangan. Secara umum digunakan untuk mendeteksi suatu rentang lebar aktifitas biologis dari keanekaragaman struktur kimia.

Spesies larva udang *Artemia salina* L yang digunakan adalah sejenis udang kecil dari suku Crustaceae, telurnya harganya murah, mudah didapat dan memiliki daya tahan hidup selama bertahun-tahun dalam keadaan kering. Air laut atau pun air laut buatan (ALB) digunakan sebagai media kehidupan bagi *Artemia salina* L. Di dalam air laut telur ini menetas pada umur 24 - 48 jam.

Dari penelitian yang dilakukan oleh para peneliti terbukti bahwa uji BST ini mempunyai korelasi yang baik terhadap uji antikanker dengan beberapa jenis sel kanker seperti sel kanker

9kb, tumor kentang, dan lain-lain. Pada uji ini dicari hubungan antara konsentrasi atau dosis larutan ekstrak, fraksi atau isolat dengan respon kematian larva udang. Data yang diperoleh dianalisis dengan program SPSS untuk mengetahui harga LC₅₀ dengan rentang kepercayaan 95%. Untuk ekstrak, fraksi tanaman dianggap memiliki aktifitas biologi jika harga LC₅₀ lebih kecil dari 1000 ppm, sedangkan isolat atau senyawa murni harga LC₅₀ lebih kecil dari 200 ppm (Mc. Laughlin dalam Harborne, 1991).

2.7 TINJAUAN TENTANG ANTIOKSIDAN

Tinjauan mengenai antioksidan tidak terlepas dari munculnya berbagai penyakit degeneratif dan kanker yang di duga berkaitan dengan adanya radikal bebas. **Radikal bebas** adalah atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Padahal supaya stabil, elektron di setiap atom atau molekul harus berpasangan. Oleh karena itu radikal bebas cenderung menjadi lebih reaktif untuk mencari elektron untuk berpasangan. (Haliwell Barry, 1991; Pine, et al., 1988). Artinya untuk memenuhi pasangannya molekul tersebut akan mudah bereaksi dengan berbagai senyawa kimia lain. Reaksi yang terjadi pada peristiwa ini disebut reaksi oksidasi atau reaksi pembakaran.

Di dalam tubuh, “senyawa lain” yang diserang oleh radikal bebas, seperti lipid atau lemak dan protein dalam membran sel, enzim dan asam deoksiribonukleat atau DNA. Akibatnya fungsi membran sel, enzim dan DNA menjadi berubah bahkan mengalami kerusakan total. Apabila kerusakan terjadi pada DNA maka akan timbul adanya kanker, karena melibatkan perubahan sel normal menjadi bentuk ganas akibat serangkaian mutasi dan perubahan ekspresi gen (Bast et al., 1991).

Sebenarnya tubuh itu sendiri telah memiliki senyawa radikal bebas yaitu *reactive oxygen species* (ROS). Senyawa ini secara terus menerus dihasilkan dalam proses metabolisme,

fungsinya di dalam tubuh dalam jumlah tertentu berperan untuk melindungi tubuh dari serangan mikroba yang masuk, reaksi detoksifikasi, serta sel-sel kanker dan sel lainnya yang berbahaya bagi tubuh dengan cara mengoksidasi komponen sel sehingga menimbulkan kerusakan atau kematian sel (apoptosis). Hanya saja ROS jangan sampai dibiarkan hingga mencapai kadar yang tinggi, sebab dapat memicu kerusakan DNA. Namun demikian radikal bebas dapat dihilangkan dari tubuh apabila bereaksi dengan radikal bebas lainnya seperti antioksidan. Oleh karena itu antioksidan disebut juga sebagai senyawa anti radikal bebas.

Sebenarnya tubuh juga memproduksi **antioksidan** yang bekerja melindungi sel dan jaringan dari serangan radikal bebas, seperti enzim *superoksid dismutase* (SOD), *katalase* dan *sistein glutation peroksidase* (GPx) serta *metionin sulfoksida reduktase*. Senyawa antioksidan yang beragam itu memiliki cara kerja yang berbeda-beda, misalnya langsung bereaksi dengan radikal oksigen untuk mengubahnya menjadi senyawa yang kurang berbahaya (SOD dan GPx), senyawa yang bertugas mengikat ion logam (*feritin* dan *seruloplasmin*) dan ada pula senyawa antioksidan yang berfungsi untuk memperbaiki kerusakan biomolekul misalnya enzim-enzim yang memperbaiki DNA (Bast Aalt, et al., 1992; Halliwell B., 1991). Sedangkan senyawa antioksidan yang berasal dari bahan-bahan alam seperti vitamin C (asam askorbat), vitamin E (α -tokoferol), bilirubin, albumin, β -karoten, sesamol, katekin, epigallokatekin, dan lain-lain, berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan terjadinya reaksi berantai.

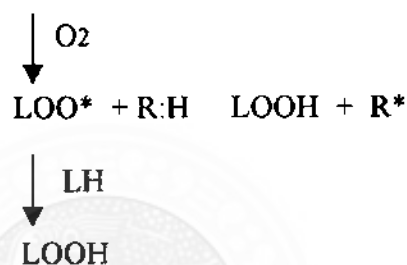
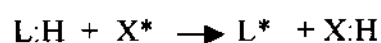
Kekurangan salah satu dari senyawa antioksidan tersebut dapat menyebabkan terjadinya penurunan status antioksidan pada tubuh secara keseluruhan, akibatnya mekanisme perlindungan tubuh terhadap serangan radikal bebas menjadi lemah. Hal ini menimbulkan beberapa gangguan patologis seperti penyakit jantung koroner, katarak dan penyakit degeneratif lainnya bahkan kanker (Halliwell B., 1991).

Berikut ini adalah contoh tahapan reaksi antara senyawa antioksidan dan radikal bebas yang terjadi pada lipid atau lemak dalam tubuh :

1. Sebelum radikal bebas menyerang lemak tak jenuh, antioksidan bereaksi dengan radikal bebas.



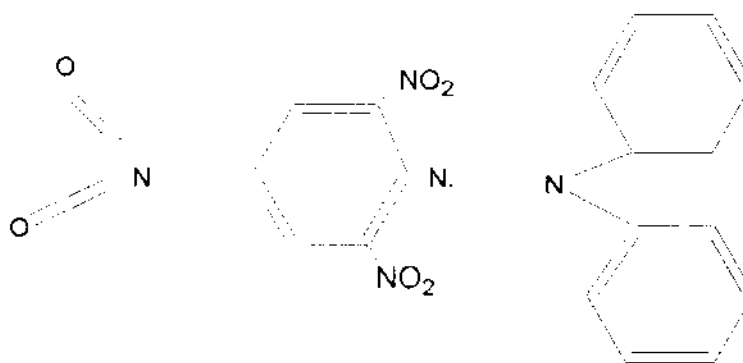
2. Antioksidan mencegah terjadinya reaksi rantai (scavenge) antara lemak tak jenuh dan radikal bebas.



Dengan adanya RH (antioksidan), radikal peroksil (LOO^*) tidak akan mengambil hidrogen dari lemak tak jenuh (LH), tetapi mengambil dari antioksidan sehingga reaksi rantai berhenti.

2.7 PEREAKSI 2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL (DPPH)

Pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) adalah senyawa berwarna hijau, dengan BM = 394,33. Merupakan senyawa radikal bebas yang stabil, reaktifitasnya meningkat bila berdekatan dengan radikal lainnya dibanding dengan molekul yang bersifat netral. DPPH larut dalam etanol atau metanol dan memberikan warna ungu. Apabila bereaksi dengan senyawa maka warna larutan akan memucat. Perubahan ini dapat diamati dengan spektrofotometer pada $\lambda = 517 \text{ nm}$.



Gambar 2.4. Struktur dari 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)

Senyawa-senyawa yang mengandung gugus OH atau ikatan rangkap terkonjugasi umumnya dapat menangkap radikal bebas, sehingga apabila ada di dalam ekstrak atau fraksi maka akan memperlihatkan efek peredaman terhadap pereaksi DPPH.

2.8 *Fagraea racemosa* Jack ex Wall SEBAGAI HARAPAN SUMBER BAHAN BAKU OBAT

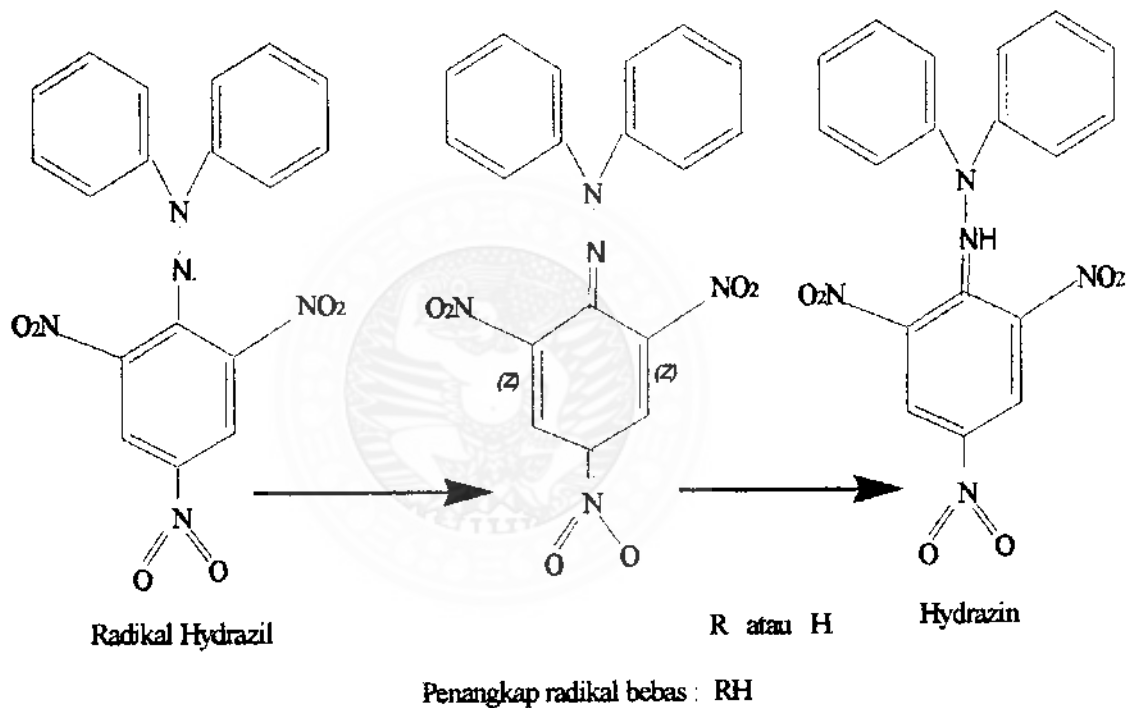
Seperti telah diuraikan dalam bab 1, maka dengan uji aktifitas terhadap larva udang (BST) dan uji peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH), diharapkan dapat diperoleh jawaban atas potensi lain dari *Fagraea racemosa* Jack ex Wall yaitu sebagai antioksidan, anti tumor atau pun anti kanker. Namun uji toksisitas terhadap larva udang lokal atau BST seperti diuraikan dalam 2.5. tidak ada informasi spesifik yang dapat menjelaskan sebab utama kematian dari larva udang. Oleh karena itu uji toksisitas ini hanya ditujukan untuk mengetahui seberapa jauh toksisitas ekstrak dan fraksi dari semua bagian tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall terhadap larva udang. Jika pada uji ini ada ekstrak atau fraksi bahkan isolat yang berpotensi toksik, maka ekstrak atau fraksi tersebut dapat dilanjutkan ke uji sitotoksitas yaitu untuk mengetahui potensi anti tumor atau anti kankernya.

Tumor adalah suatu pembengkakan atau benjolan yang disebabkan oleh apapun baik pertumbuhan jaringan baru (bukan radang) maupun adanya pengumpulan cairan seperti kista atau benjolan yang berisi darah akibat benturan. Pertumbuhannya lambat, setempat dan tidak mengganggu kesehatan. Sedangkan kanker adalah tumor yang ganas yaitu yang laju pertumbuhannya tidak normal, sangat cepat, tidak terkendali, bisa menyebar ke seluruh tubuh dan sangat mengganggu kesehatan. Timbulnya kanker disebabkan oleh adanya **karsinogen** yang diantaranya akan mengakibatkan terbentuknya radikal bebas. Contohnya bila jaringan terkena radiasi sinar gamma, maka semua energi akan diserap oleh air dalam sel. Radiasi menyebabkan ikatan kovalen oksigen-hidrogen dalam air terputus dan terbentuklah H^* dan $*OH$ yang merupakan radikal.

Radikal hidroksil ($*OH$) merupakan radikal yang sangat reaktif serta dapat merusak dan menyerang hampir setiap molekul yang ditemui dalam sel hidup secara cepat. Reaksi antara $*OH$ dan molekul biologi yang bersifat non radikal dapat menyebabkan reaksi rantai. Bahkan radikal hidroksil dapat menyerang purin dan pirimidin sebagai dasar DNA (Bast et al., 1991). Dengan terserangnya DNA ini maka akan terjadi mutasi DNA atau mutasi gen, akibatnya pertumbuhan sel akan tidak normal dan akhirnya membentuk sel kanker.

Senyawa lignan yang terdapat pada tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall seperti : (+)-pinoresinol dan (+)-larisirecinol mempunyai gugus OH yang suatu saat gugus tersebut mampu melepaskan satu elektron yaitu atom H. Senyawa DPPH merupakan salah satu senyawa radikal bebas yang mempunyai atom yang tak berpasangan. Senyawa tersebut digunakan untuk menguji aktifitas senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Fagraea racemosa* Jack ex Wall sebagai penangkap radikal bebas. Gugus OH dari senyawa lignan yang terkandung dalam *Fagraea racemosa* Jack ex Wall akan melepaskan atom H dan ditangkap oleh radikal DPPH (hydrazil). Dengan demikian senyawa hydrazyl berubah strukturnya menjadi senyawa yang lebih

stabil yaitu senyawa DPPH (hydrazin) (gb. 2.5). Perubahan dari reaksi ini dapat diamati dari perubahan warna yang terjadi pada larutan senyawa hidrazil yang mula-mula berwarna ungu kemudian pada saat bereaksi dengan atom H yang berasal dari ekstrak atau fraksi *Fagraea racemosa* Jack ex Wall berubah warnanya menjadi pudar atau pucat. Peristiwa ini disebut peredaman terhadap DPPH dan secara kuantitatif dapat diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada $\lambda = 517$ nm. Bahan atau sampel yang dapat meredam DPPH disebut sebagai bahan antioksidan.



Gambar 2.5. Reaksi antara antioksidan dengan senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil

2.9 ANALISIS INSTRUMEN FRAKSI ATAU ISOLAT

Analisis instrumen terhadap fraksi atau isolat dapat menggunakan beberapa instrumen tergantung dari tujuan dan kondisi fraksi atau isolat. Untuk memperoleh hasil lengkap yaitu sampai struktur senyawa dari sampel yang dianalisis maka harus dilakukan analisis lengkap

antara lain dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis, Infra red (IR), Resonansi magnetik inti (NMR) baik ^1H maupun ^{13}C , dan spektroskopi massa. Analisis yang lengkap seperti ini disebut dengan elusidasi struktur. Spektrum UV memberikan informasi adanya sistem elektron π dan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dari suatu molekul. Spektroskopi infra red (IR) dapat digunakan untuk mengetahui adanya gugus fungsional yang ada dalam molekul sedangkan spektroskopi resonansi magnetik inti digunakan untuk mengetahui kerangka molekul dan jenis proton serta gugus karbonil dan jenis rantai karbon yang lainnya dari molekul yang dicari. Spektroskopi massa memberikan informasi dari massa molekul relatif atau bobot molekul dan mendeteksi pada bagian molekul yang sudah mengalami fragmentasi. Hasil spektrum massa akan memperlihatkan sederetan sinyal yang tersusun berdasarkan bobot molekul per muatan (m/z) atau massa per muatan (m/e).

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) adalah kromatografi yang berfungsi memisahkan campuran senyawa. HPLC yang menggunakan detektor diode array disebut HPLC-DAD menghasilkan kromatogram (yang menunjukkan puncak-puncak dominan dari campuran senyawa) dan spektra UV-Vis. Sedangkan HPLC yang dilengkapi dengan spektromassa disebut HPLC-MS menghasilkan kromatogram dan mass spektra (berat molekul). HPLC-MS yang dilengkapi dengan ESI (electrospray ionisation) rumus perhitungan berat molekulnya untuk ESI positif (+) : $M + H$ dan ESI negatif (-) : $M-H$ (Rao, 1999). Jika dalam analisisnya menggunakan buffer Na-formiat, maka perhitungannya ditambahkan Na atau asam formiat misalnya perhitungan untuk ESI (+) : $M + Na$; $2M + Na$; $M + Na + H$; $2M + Na + H$; $M + \text{HCOOH}$, $2M + \text{HCOOH}$. Dan untuk ESI (-) : $M + Na - H$; $2M + Na - H$; $M + \text{HCOOH} - H$; $2M + \text{HCOOH} - H$. M adalah berat molekul dari senyawa.



BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

Melalui konsep tanaman sebagai bahan baku obat, maka ekstrak dan isolat dari *Fagraea racemosa* Jack ex Wall berdasarkan data-data sebagai berikut:

a. Etnomedisin

Suku Dayak memanfaatkan kulit batang dan akarnya untuk obat penurun panas dan penghilang rasa sakit atau nyeri dada (Kulip, 2002), kemudian masyarakat di sekitar hutan Mentoko – Bontang Kalimantan Timur menggunakan pucuk tanaman ini sebagai lalapan untuk obat maag (disadur oleh Gunawan, 2000) dan suku Banjar menggunakan daunnya untuk melemaskan otot-otot yang kaku pada penderita stroke. Selain itu sekelompok masyarakat di Philipina menggunakan bunga dan akarnya untuk tonik dan penawar racun gigitan ular berbisa. (Anonymous, 1972).

b. Kemotaksonomi

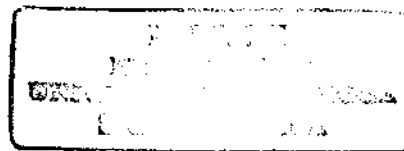
Beberapa spesies dari marga *Fagraea* telah diteliti dan diketahui mempunyai komponen kimia dan aktivitas biologi yang bermacam-macam, diantaranya :

1. *Fagraea blumei* G.Don mengandung senyawa glukosida secoiridoid dan flavonoid dalam fraksi metanolnya yang mempunyai aktivitas antioksidan (Cuendet, *et.al*, 1997).
2. *Fagraea berteriana* bunganya mengandung senyawa Eugenol, di duga mempunyai aktifitas anti insektisida (Shelly, *et.al*, 2000).
3. *Fagraea gracilipes* A. Gray, mengandung senyawa glucosida secoiridoid, namun tidak dilakukan uji aktifitasnya. (Camble, *et.al*, 1990).

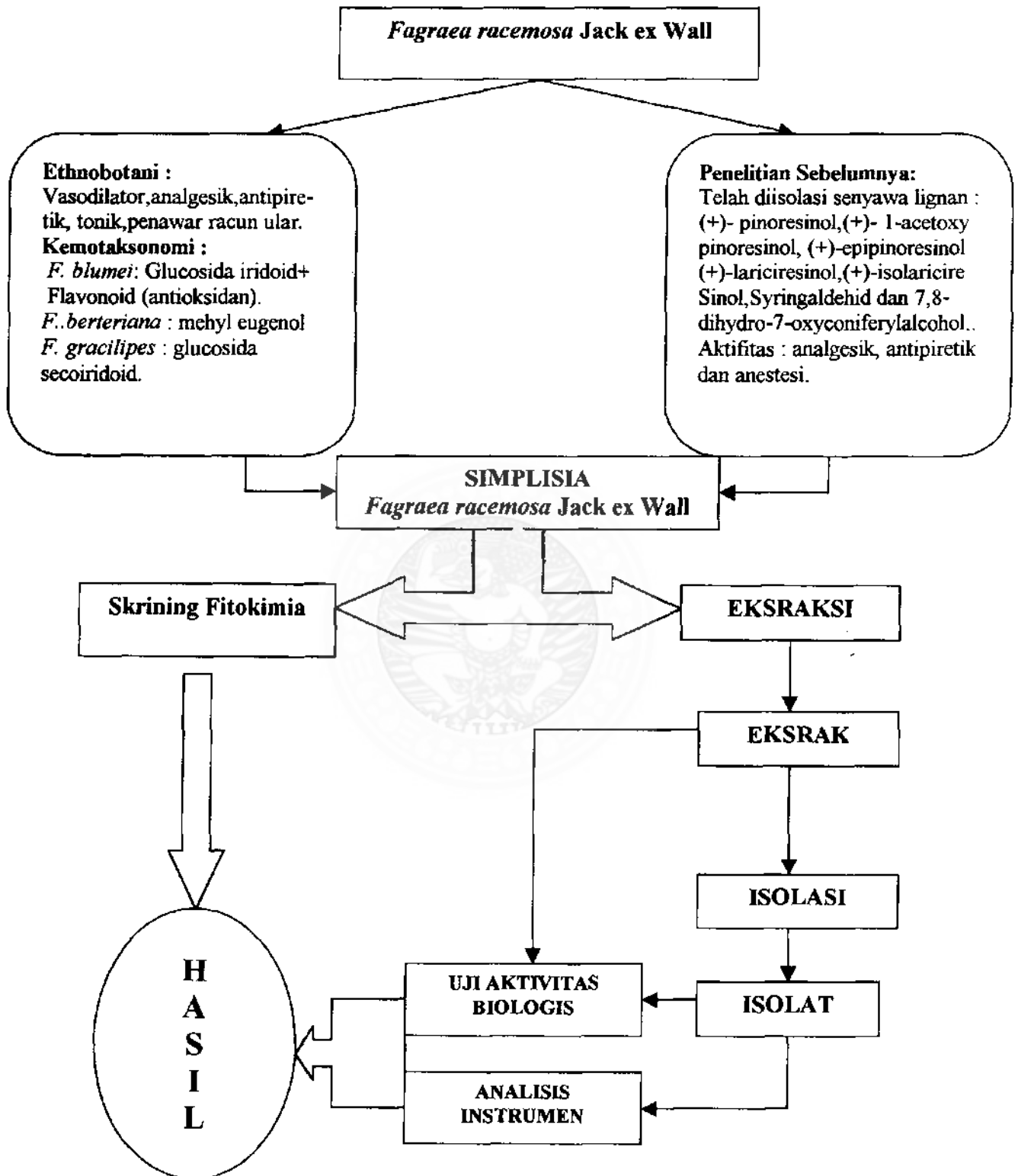
c. Penelitian sebelumnya

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Okuyama, *et.al*, 1995 diperoleh senyawa-senyawa yang berasal dari ekstrak metanol akar *Fagraea racemosa* terdapat senyawa-senyawa lignan : (+)-pinoresinol, (+)-epipinoresinol, (+)-lariciresinol, (+)-isolariciresinol juga fenol syringaldehid dan 7,8-dihydro-7-oxyconiferylalcohol. Dari uji aktifitas biologi yang mereka lakukan diperoleh fakta bahwa ekstrak akar ini memberikan efek relaksasi, juga mempunyai aktifitas analgesik, terutama dalam fraksi lignannya. Khusus untuk senyawa (+)-pinoresinol memberikan efek analgesik dan lokal anestesi.

Selanjutnya terhadap simplisia *Fagraea racemosa* Jack ex Wall dilakukan skrining fitokimia dan ekstraksi. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitasnya yaitu dengan uji toksisitas terhadap larva udang lokal sejenis *Artemia salina* L dan uji peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-pyrcilhydrazil untuk mengetahui sifat anti radikal bebas atau potensi antioksidannya. Selanjutnya dilakukan isolasi terhadap salah satu atau beberapa ekstrak yang positif terhadap kedua uji tersebut maupun terhadap ekstrak yang lain yang diinginkan. Dari isolat atau fraksi yang diperoleh dilakukan uji aktivitas biologisnya dan analisis HPLC-DAD serta HPLC-MS. Dari serangkaian kegiatan penelitian ini akan diperoleh hasil yang memberikan jawaban atas permasalahan yang dimaksud.



KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN



Gambar 3.1. Skema Kerangka Konseptual Penelitian



BAB 4

METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 RANCANGAN PENELITIAN

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, secara berturut-turut dilakukan sebagai berikut:

1. Skrining Fitokimia
2. Pemisahan komponen (ekstraksi dan isolasi)
3. Uji Hayati dengan larva udang (Brine Shrimp Lethality Test)
4. Uji peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)
5. Analisis HPLC - DAD dan HPLC - MS

4.2 BAHAN PENELITIAN

4.2.1. Bahan Yang Diuji

Tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall diperoleh dari hutan sekunder di sepanjang pinggiran jalan raya Km 38 Samboja sampai dengan Samarinda – Kalimantan Timur (300 m dpl). Tinggi tanaman 5,5 m dengan diameter minimum 10 cm. Umur tanaman 2-3 tahun. Bahan tanaman setelah dikumpulkan, dideterminasi, dibersihkan, dikeringkan dan dihaluskan. Determinasi dilakukan oleh Stasiun Wanariset Balai Penelitian Kehutanan Samarinda di Samboja - Kalimantan Timur (lampiran 1).

4.2.2. Bahan Kimia dan Bahan Uji

Bahan baku pembanding (+)-pinoresinol (berasal dari Univ. Dusseldorf Jerman), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) (sigma), Petroleum eter p.a (JT.Baker), Kloroform p.a (

merck), Methanol p.a (merck), Iso-oktan p.a (merck), Etil asetat p.a(merck), As. Asetat glasial (merck), Lempeng TLC Kieselgel GF²⁵⁴(merck), Kieselgel 60 GF²⁵⁴(35 –70 mesh ASTM) (merck), Kieselgel 270 GF²⁵⁴(70 – 135 mesh ASTM) (merck), NaCl (merck), KCl (merck), CaCl₂(merck), MgSO₄(merck), aquadest, telur udang *Artemia spp*, air laut alami.

4.3 INSTRUMEN PENELITIAN

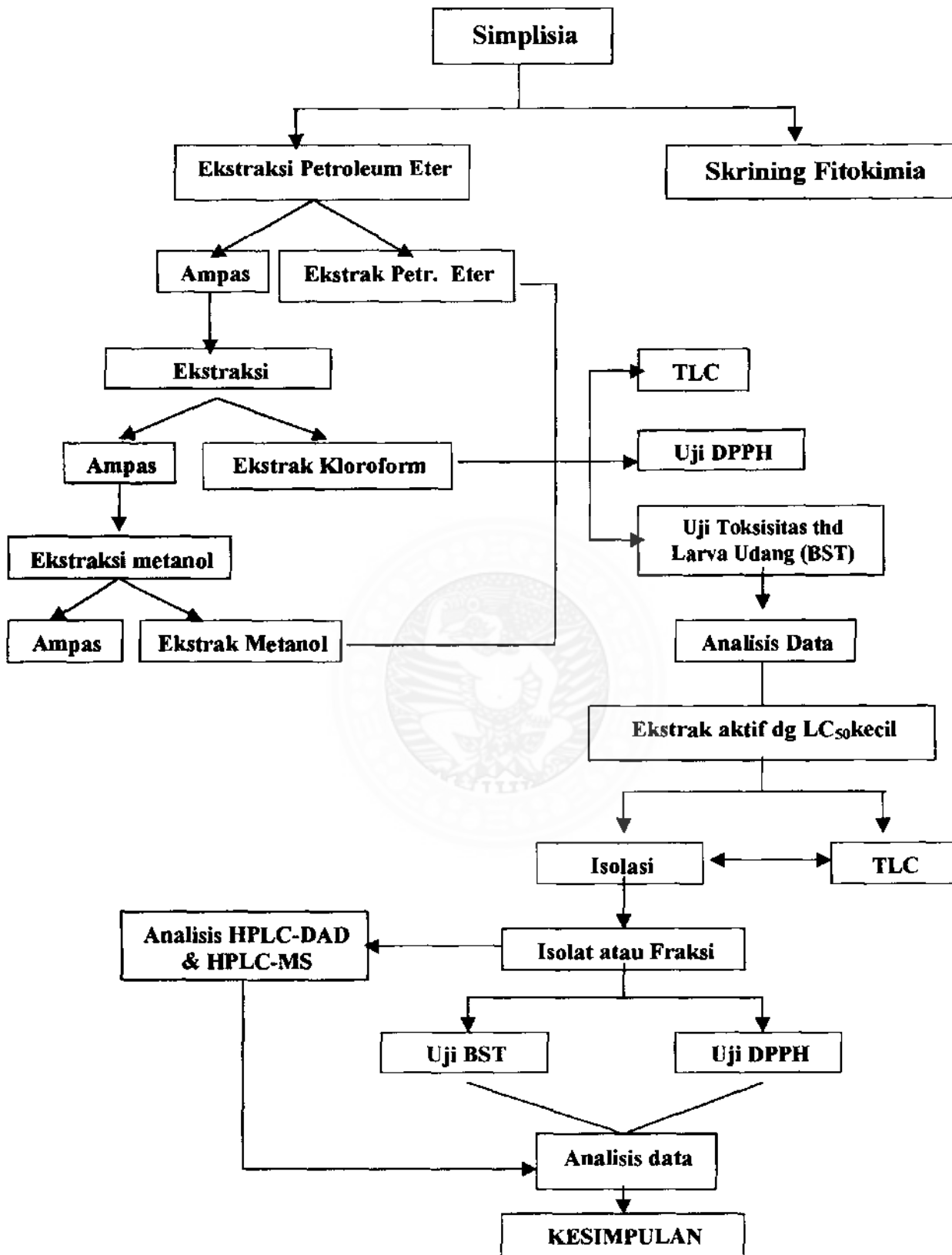
Alat-alat gelas (pyrex dan non pyrex), vial-vial (3 mL dan 5 mL), Alat-alat Pengukur gelas, Termostat, Tanur, Oven, TLC plate, Rotavapour ,. Brand Transverpette, Chamber, , Ultrasonik, Direct reading micro balance Lm-20 (Shimadzu), Electronic balance Ex-200A (Shimadzu), Mikro kapiler, Sentrifuge, Spektrofotometer (UV-VIS-NIR–365 Shimadzu), HPLC-DAD, HPLC - MS (Chromleon (c) Dionex version 6.30 Build 576).

4.4 LOKASI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di :

- a. Laboratorium Botani Wanariset Balai Penelitian Kehutanan Samarinda di Samboja – Kalimantan Timur.
- b. Laboratorium Fitokimia Jurusan Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga di Surabaya – Jawa Timur.
- c. Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga di Surabaya – Jawa Timur.
- d. Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga di Surabaya – Jawa Timur.

KERANGKA OPERASIONAL PENELITIAN



Gambar 4.1. Kerangka Operasional Penelitian

4.5 PROSEDUR PENGAMBILAN ATAU PENGUMPULAN DATA

4.5.1. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan metode reaksi warna, meliputi pemeriksaan golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan sterol-terpenoid.

a. Pemeriksaan Alkaloid

Sebanyak 2,0 g bahan dilembabkan dengan 5 mL amoniak 25% dan digerus dalam mortar. Setelah ditambah 20 mL kloroform, digerus kuat-kuat dan disaring, filtrat (larutan A) digunakan untuk percobaan selanjutnya. Sedikit larutan A diteteskan pada kertas saring yang telah disemprot atau ditetesi dengan pereaksi Dragendorff. Warna merah atau jingga pada kertas saring menandakan adanya alkaloid. Sisa larutan A diekstraksi 2 kali dengan larutan asam klorida dalam air 1 : 10 v/v, diperoleh larutan B. Ke dalam 2 tabung berisi 5 mL larutan B ditambahkan masing-masing beberapa tetes pereaksi Dragendorff dan pereaksi Meyer. Bila terjadi endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorff atau endapan putih dengan pereaksi Meyer menunjukkan adanya alkaloid.

b. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 1,0 g serbuk ditambah 100 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit, dalam keadaan panas disaring, filtrat (larutan C) digunakan untuk percobaan berikutnya. 5 mL larutan C ditambah serbuk magnesium dan 2 mL larutan alkohol klorhidrik, kemudian ditambah amil alkohol, dikocok kuat-kuat dan dibiarkan memisah. Timbulnya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

c. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 10 mL larutan C dalam tabung reaksi dikocok tegak lurus dengan kuat selama 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Pembentukan busa yang mantap dalam tabung reaksi menunjukkan adanya saponin.

d. Pemeriksaan Tanin

Ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing berisi 5 mL larutan C ditambahkan beberapa tetes larutan besi (III) klorida 1% dan larutan gelatin. Warna hijau violet dengan besi (III) klorida atau endapan putih dengan gelatin, menandakan adanya tanin.

e. Pemeriksaan Sterol-Terpenoid

Sebanyak 1,0 g serbuk dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, disaring. Filtrat digunakan untuk reaksi Liebermann-Burchard yaitu 5 mL filtrat diuapkan dalam cawan porselen, residu ditambah 2 tetes anhidrida asetat, kemudian ditambah 1 tetes asam sulfat pekat. Adanya sterol atau terpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, hijau, violet atau biru. Dicoba juga dengan penambahan asam sulfat pekat saja.

4.5.2. Pemisahan Komponen**4.5.2.1. Ekstraksi****1. Ekstraksi Daun**

Serbuk simplisia dengan berat 115 gram dimasukkan dalam soxhlet diekstraksi dengan Petroleum eter. Setelah ekstraksi dianggap cukup selanjutnya residu diambil, lalu diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering dimasukkan soxhlet lagi dan diekstraksi dengan kloroform dan setelah ekstraksi dianggap cukup, residu diambil, diangin-anginkan kemudian dimasukkan lagi ke dalam soxhlet dan diekstraksi dengan metanol.

2. Ekstraksi Kulit Batang

Serbuk simplisia dengan berat 75,0 gram dimasukkan dalam soxhlet diekstraksi dengan Petroleum eter. Setelah ekstraksi dianggap cukup selanjutnya residu diambil, lalu diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering dimasukkan soxhlet lagi dan diekstraksi dengan kloroform dan setelah ekstraksi dianggap cukup, residu diambil, diangin-anginkan kemudian dimasukkan lagi ke dalam soxhlet dan diekstraksi dengan metanol.

3. Ekstraksi Akar

Serbuk simplisia dengan berat 300 gram dimasukkan dalam soxhlet diekstraksi dengan Petroleum eter. Setelah ekstraksi dianggap cukup selanjutnya residu diambil, lalu diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering dimasukkan soxhlet lagi dan diekstraksi dengan kloroform dan setelah ekstraksi dianggap cukup, residu diambil, diangin-anginkan kemudian dimasukkan lagi ke dalam soxhlet dan diekstraksi dengan metanol.

4. Ekstraksi Kulit Akar

Serbuk simplisia dengan berat 83,5 gram dimasukkan dalam soxhlet diekstraksi dengan Petroleum eter. Setelah ekstraksi dianggap cukup selanjutnya residu diambil, lalu diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering dimasukkan soxhlet lagi dan diekstraksi dengan kloroform dan setelah ekstraksi dianggap cukup, residu diambil, diangin-anginkan kemudian dimasukkan lagi ke dalam soxhlet dan diekstraksi dengan metanol.

Masing-masing ekstrak yang diperoleh, dipekatkan dengan rotavapour, kemudian ditimbang, selanjutnya dianalisis dengan lempeng TLC.

❖ Analisis Kromatografi Lapisan Tipis (TLC) Ekstrak Kloroform

1. Ekstrak akar, kulit akar, kulit batang dan ekstrak daun dilarutkan dengan pelarutnya hingga konsentrasi 10.000 ppm (larutan uji).
2. Kemudian dari masing-masing larutan uji diambil $\pm 4 \mu\text{L}$ dan ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F 254, ditotolkan juga larutan standart (pinoresinol), selanjutnya dieluasi dengan fase gerak : Etil asetat : Iso-oktan : HOAc = 5 : 4 : 1
3. Setelah elusi selesai, lempeng diangkat dan dikeringkan, kemudian hasil eluasi diperiksa pada UV 254 nm

❖ Analisis Kromatografi Lapisan Tipis (TLC) Ekstrak Metanol

1. Ekstrak akar, kulit akar, kulit batang dan ekstrak daun dilarutkan dengan pelarutnya hingga konsentrasi 10.000 ppm (larutan uji).
2. Kemudian dari masing-masing larutan uji diambil $\pm 4 \mu\text{L}$ dan ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F 254, ditotolkan juga larutan standart (pinoresinol), selanjutnya dieluasi dengan fase gerak: Etil asetat : MeOH : H₂O = 100 : 16,5 : 13,5
3. Setelah elusi selesai, lempeng diangkat dan dikeringkan, kemudian hasil eluasi diperiksa pada UV 254 nm

4.5.2.2. Isolasi**❖ Menyiapkan Kolom Kromatografi**

1. Timbang silika gel 40 no mesh. 35 – 70 ASTM (untuk ekstrak kloroform kulit akar) dan silika gel 60 no. mesh. 70 – 230 ASTM (untuk ekstrak metanol kulit batang dan ekstrak metanol akar) sebanyak 50,0 g (untuk panjang kolom 48 cm ; Ø sama dengan 2,6 cm) atau 100,0 g (untuk panjang kolom 60 cm ; Ø = 2,8 cm).

2. Diisi eluen (fase gerak) sesuai dengan ekstrak masing-masing secukupnya.
3. Silika gel bersama eluen dimasukkan ke dalam kolom, pastikan tidak ada udara yang terjebak.
4. Kolom dibiarkan 24 jam dalam keadaan terendam eluen.

❖ Pelaksanaan Isolasi Ekstrak Kloroform Kulit akar

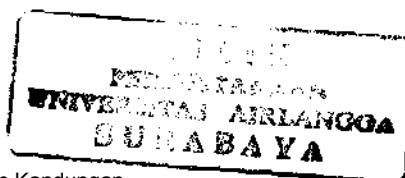
1. Disiapkan ekstrak kloroform kulit akar (1,286 g) + ekstrak kloroform akar yang berkulit (2,714 g), selanjutnya ini diasumsikan sebagai ekstrak kloroform kulit akar. Ekstrak-ekstrak ini dilarutkan dalam eluen secukupnya sampai terbentuk massa setengah padat. Selanjutnya ekstrak tersebut dicampur dengan silika gel secukupnya sampai kering, turunkan eluen yang ada dalam kolom hingga batas silika, lalu masukkan ekstrak tadi ke dalam kolom, tambahkan silika gel secukupnya diatas campuran ekstrak dan silika gel sebagai pelapis. Tambahkan eluen \pm 10 cm dan turunkan pelan-pelan lewat kran yang ada di bagian bawah kolom hingga batas silika gel, ulangi 3-4 kali hingga tidak ada udara yang terjebak. Tambahkan eluen secukupnya dan dijaga agar eluen tetap berada di atas permukaan silika gel.
2. Dilakukan eluasi dan eluat ditampung dalam vial-vial yang bernomor masing-masing \pm 3 ml.
3. Pada vial yang berisi eluat (fraksi) dengan nomor kelipatan 20 dilakukan TLC dengan eluen : Etil asetat : Iso-oktan : HOAc = 5 : 4 : 1 Periksa dengan UV 254 nm, bila rangenya masih lebar maka TLC dilakukan lagi dengan vial nomor kelipatan 10.
4. Fraksi yang memiliki noda yang memiliki Rf yang sama ditampung dalam satu wadah.
5. Biarkan mengkristal, kemudian lakukan lagi uji TLC.

❖ Pelaksanaan Isolasi Metanol Akar

1. Disiapkan ekstrak metanol akar (4,2444 g), dilarutkan dalam eluen secukupnya sampai terbentuk massa setengah padat. Selanjutnya ekstrak tersebut dicampur dengan silika gel secukupnya sampai kering, turunkan eluen yang ada dalam kolom hingga batas silika, lalu masukkan ekstrak tadi ke dalam kolom, tambahkan silika gel secukupnya diatas campuran ekstrak dan silika gel sebagai pelapis. Tambahkan eluen \pm 10 cm dan turunkan pelan-pelan lewat kran yang ada di bagian bawah kolom hingga batas silika gel, ulangi 3-4 kali hingga tidak ada udara yang terjebak. Tambahkan eluen secukupnya dan dijaga agar eluen tetap berada di atas permukaan silika gel.
2. Dilakukan eluasi dan eluat ditampung dalam vial-vial yang bernomor masing-masing \pm 3 ml.
3. Pada vial yang berisi eluat (fraksi) dengan nomor kelipatan 20 dilakukan TLC dengan eluen : Etil asetat : MeOH : H₂O = 10 : 3 : 1. Periksa dengan UV 254 nm, bila rangenya masih lebar maka TLC dilakukan lagi dengan vial nomor kelipatan 10.
4. Fraksi yang memiliki noda yang memiliki R_f yang sama ditampung dalam satu wadah.
5. Biarkan mengkristal, kemudian lakukan lagi uji TLC.

❖ Pelaksanaan Isolasi Metanol Kulit Batang

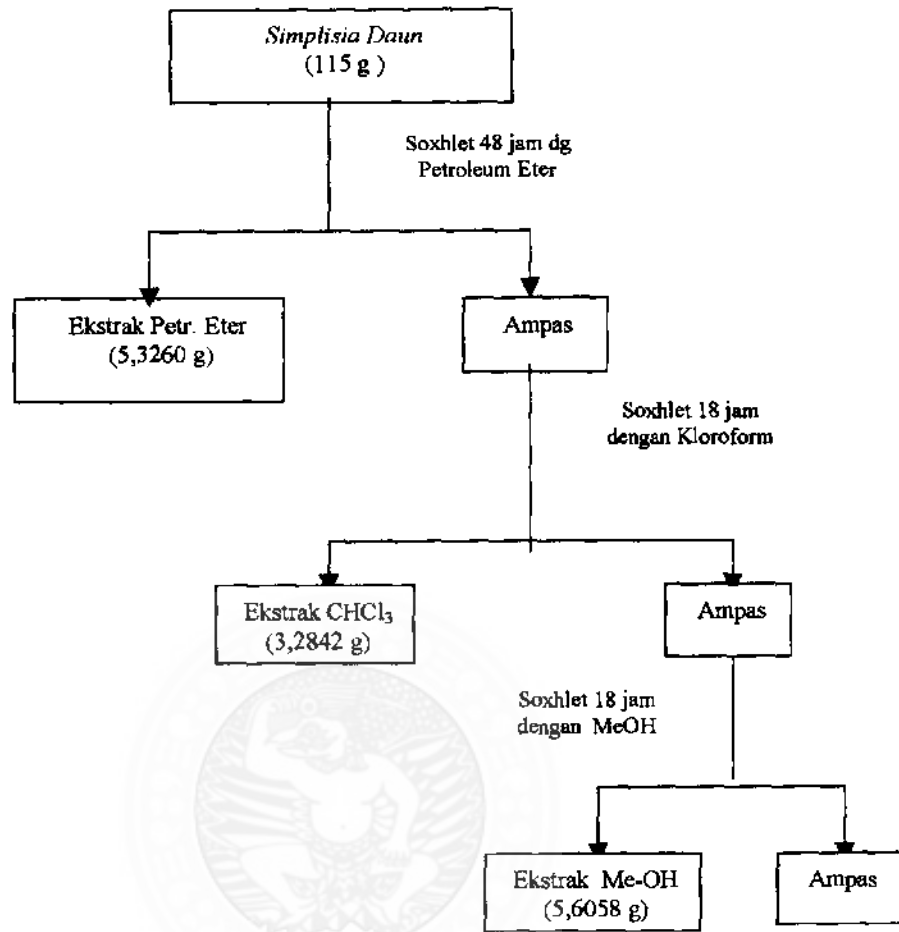
1. Disiapkan ekstrak metanol kulit batang (2,8175 g), dilarutkan dalam eluen secukupnya sampai terbentuk massa setengah padat. Selanjutnya ekstrak tersebut dicampur dengan silika gel secukupnya sampai kering, turunkan eluen yang ada dalam kolom hingga batas silika, lalu masukkan ekstrak tadi ke dalam kolom, tambahkan silika gel secukupnya diatas campuran ekstrak dan silika gel sebagai pelapis. Tambahkan eluen \pm 10 cm dan turunkan pelan-pelan lewat kran yang ada di bagian



bawah kolom hingga batas silika gel, ulangi 3-4 kali hingga tidak ada udara yang terjebak. Tambahkan eluen secukupnya dan dijaga agar eluen tetap berada di atas permukaan silika gel.

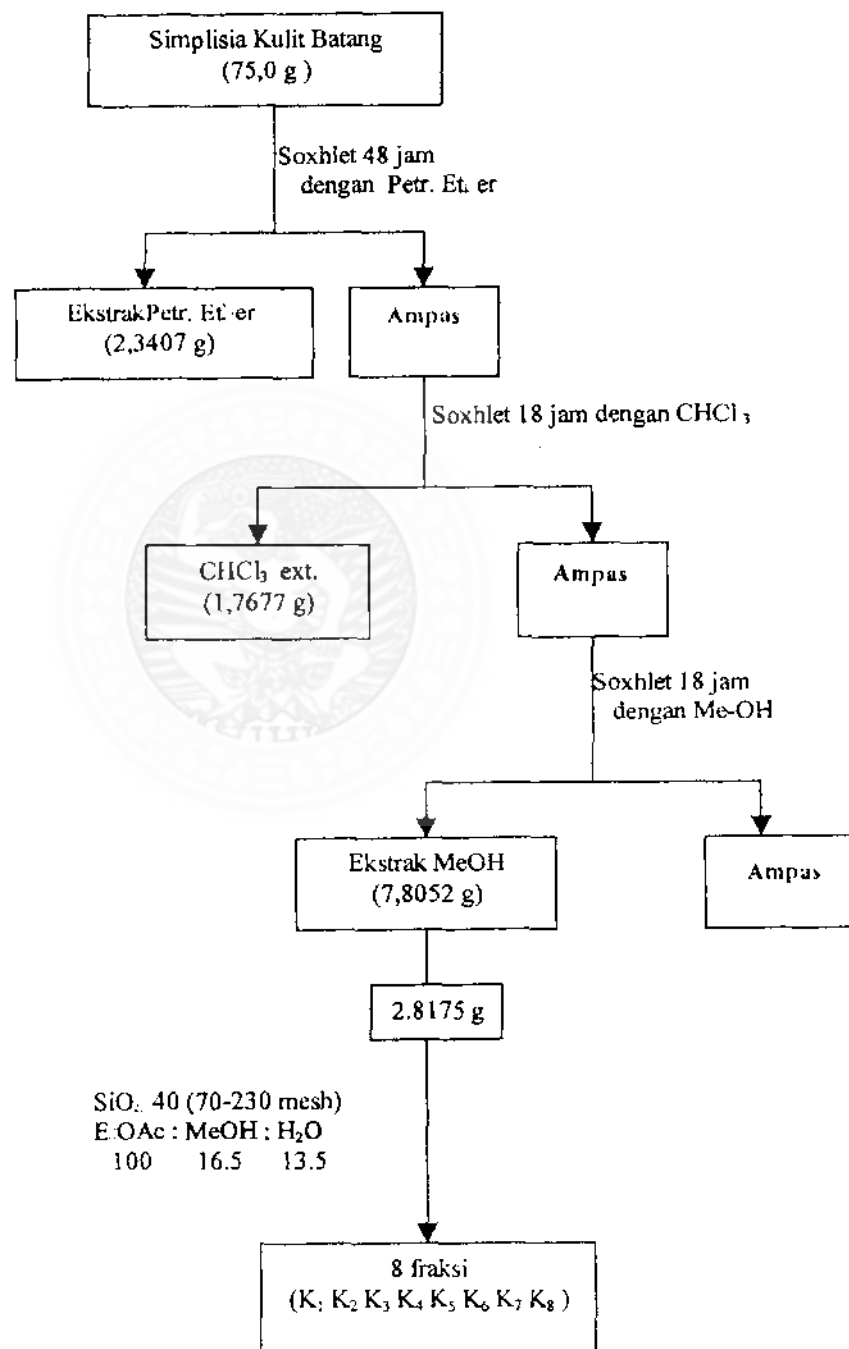
2. Dilakukan eluasi dan eluat ditampung dalam vial-vial yang bernomor masing-masing ± 3 ml.
3. Pada vial yang berisi eluat (fraksi) dengan nomor kelipatan 20 dilakukan TLC dengan eluen : Etil asetat : MeOH : H₂O = 100 : 16,5 : 13,5. Periksa dengan UV 254 nm, bila rangenya masih lebar maka TLC dilakukan lagi dengan vial nomor kelipatan 10.
4. Fraksi yang memiliki noda yang memiliki R_f yang sama ditampung dalam satu wadah.
5. Biarkan mengkristal, kemudian lakukan lagi uji TLC.



EKSTRAKSI DAUN *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

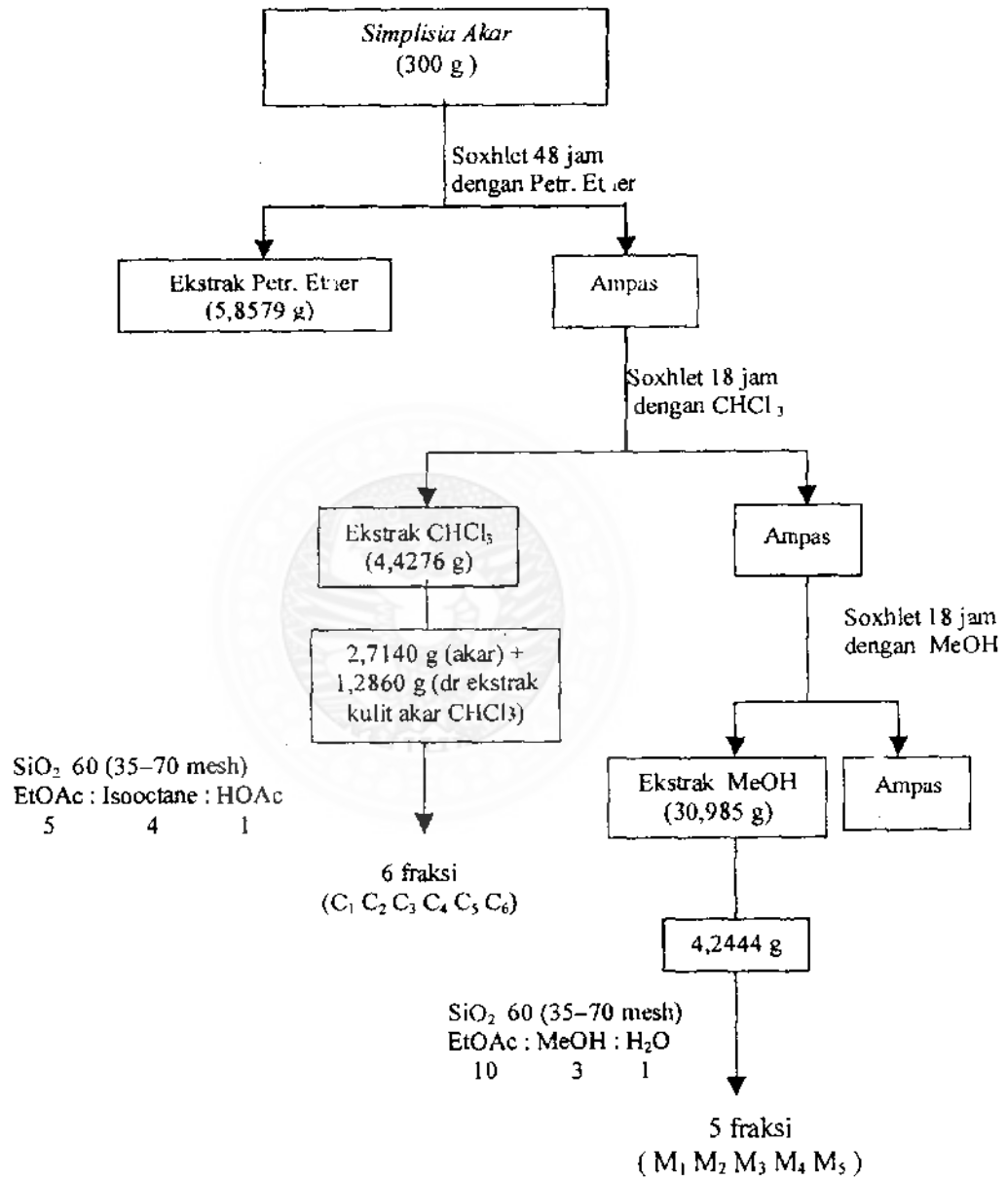
Gambar 4.2. Skema Ekstraksi Daun *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

Ekstraksi dan Isolasi Kulit Batang *Fagraea racemosa* Jack ex Wall



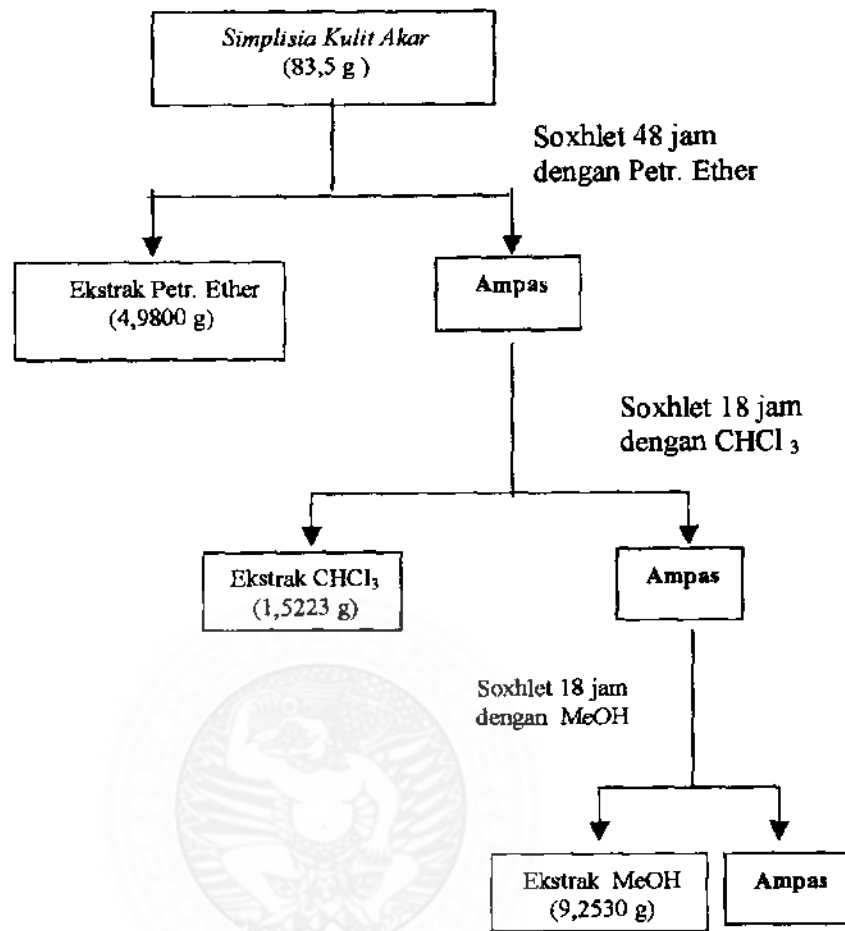
Gambar 4.3. Skema Ekstraksi dan Isolasi Kulit batang *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

Ekstraksi dan Isolasi Akar
***Fagraea racemosa* Jack ex Wall**



Gambar 4.4. Skema Ekstraksi dan Isolasi Akar *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

Ekstraksi Kulit Akar
Fagraea racemosa Jack ex Wall



Gambar 4.5. Skema Ekstraksi Kulit akar *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

4.5.3. Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (BST)

Modifikasi dari metode Meyer (Harborne, 1991)

Uji toksisitas terhadap larva udang dilakukan sebagai berikut:

1. Media untuk larva udang bisa menggunakan air laut buatan (ALB) (formula lampiran 4) atau air laut.
2. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam akuarium yang dibagi menjadi dua bagian. Satu bagian dari akuarium dibuat gelap dengan menutupinya menggunakan kertas hitam. Telur udang diletakkan secukupnya pada bagian yang gelap, dibiarkan selama 48 jam sehingga telur itu menetas menjadi *naupii* yang siap digunakan untuk pengujian.
3. Disiapkan 27 buah vial (sample tube) untuk setiap ekstrak dan 24 vial (sampil tube) untuk setiap fraksi Dan masing-masing konsentrasi dibuat kontrolnya. Ke dalam tiap-tiap 3 buah vial (untuk satu konsentrasi) dimasukkan berturut-turut larutan yang dibuat dengan melarutkan 100,0 mg ekstrak kering dalam 10,0 mL pelarutnya, diambil sebanyak 5,0 μL , 50,0 μL , dan 500 μL (untuk ekstrak). Sedangkan untuk fraksi tiap-tiap 3 buah vial (untuk satu konsentrasi) dimasukkan berturut-turut larutan yang dibuat dengan melarutkan 20,0 mg fraksi kering dalam 4,00 mL pelarutnya, diambil sebanyak 10,0 μL , 50,0 μL , 100 μL dan 250 μL . Masing-masing konsentrasi untuk satu vial digunakan sebagai kontrol tanpa diisi dengan larutan ekstrak, kemudian diuapkan selama 24 jam. Ke dalam masing-masing vial ditambah 10 ekor anak udang, kemudian ditambah air laut hingga 5,0 mL. Jadi konsentrasi ekstrak sekarang masing-masing adalah 10,0 ; 100, dan 100 x 10 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan fraksi 10,0 ; 50,0 ; 100 dan 250 $\mu\text{g/mL}$
4. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan terhadap kematian larva udang pada masing-masing vial dan jumlah larva yang mati dihitung dan dicatat.

5. Percobaan ini diulangi sampai tiga kali.
6. Hasil perhitungan kemudian dianalisis dengan Program SPSS untuk mengetahui harga LC50-nya untuk mengetahui seberapa jauh pengaruh konsentrasi terhadap kematian larva udang.

4.5.4. Uji Peredaman terhadap pereaksi 2,2-diphenyl -1-picrylhydrazil (DPPH)

a. Pembuatan larutan baku DPPH

Ditimbang 4,000 mg DPPH (ditimbang dengan neraca mikro balance), dimasukkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100,0 mL dan ditambah metanol sampai tanda batas.

b. Pembuatan larutan uji

Ditimbang kuantitatif 5,000 mg untuk ekstrak dan 3,000 mg untuk fraksi (ditimbang dengan neraca mikro balance). Masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 10,0 mL dan 5,00 mL dan ditambah metanol sampai tanda batas.

c. Uji peredaman

1. Untuk Ekstrak

Dalam masing-masing kuvet (6 buah) dimasukkan : 2,0 mL DPPH, kemudian 1 vial ditambah 1,0 mL MeOH, 5 vial lainnya ditambah larutan ekstrak masing-masing 100,0 μ L, 300,0 μ L, 500,0 μ L, 700,0 μ L dan 900,0 μ L. Kemudian diamati pada waktu (t) 5 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Kecuali untuk ekstrak Daun metanol masing-masing 100,0 μ L, 200,0 μ L, 300,0 μ L, 400,0 μ L dan 500,0 μ L dan diukur pada waktu (t) 5 menit, 10 menit, 15 menit, 20 menit 25 menit dan 30 menit. Masing-masing dengan spektrofotometer pada $\lambda = 497 \text{ nm}$, $\lambda = 517 \text{ nm}$ dan $\lambda = 537 \text{ nm}$. Pengukuran dilakukan dua kali.

2. Untuk Isolat atau Fraksi

Dalam masing-masing kuvet (6 buah) dimasukkan : 2,0 mL DPPH, kemudian 1 vial ditambah 1,0 mL MeOH, 5 vial lainnya ditambah larutan isolat/fraksi masing-masing 100,0 μL , 300,0 μL , 500,0 μL , 700,0 μL dan 900,0 μL , kemudian diamati pada 5 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit dan 60 menit dengan spektrofotometer pada $\lambda = 497 \text{ nm}$, $\lambda = 517 \text{ nm}$ dan $\lambda = 537 \text{ nm}$. Pengukuran dilakukan dua kali.

4.5.5. Analisis Instrumen terhadap Fraksi atau Isolat

Analisis instrumen terhadap fraksi atau isolat dilakukan dengan HPLC-DAD dan HPLC-MS di Universitas Dusseldorf - Jerman





BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 DATA PENELITIAN

5.1.1 Skrining Fitokimia

Dari skrining fitokimia yang telah dilakukan terhadap simplisia tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall diperoleh hasil sebagai berikut:

1. ALKALOID

- **Dragendorff :**

- a. Akar (+ kulit akar) : Terjadi perubahan dengan mudah/cepat dari larutan berwarna coklat menjadi endapan berwarna merah bata.
- b. Kulit akar : Terjadi perubahan dengan mudah/cepat dari larutan berwarna coklat menjadi endapan berwarna merah bata
- c. Kulit batang : Terjadi perubahan warna larutan dari coklat menjadi endapan merah bata, namun jumlah endapan sangat sedikit.
- d. Daun : Terjadi perubahan warna larutan dari coklat menjadi endapan merah bata, dengan jumlah lebih banyak dibandingkan pada kulit batang.

- **Meyer :**

- a. Akar (+ kulit akar): Terjadi endapan berwarna putih
- b. Kulit akar : Terjadi endapan berwarna putih.
- c. Kulit batang : Terjadi endapan putih, namun jumlah endapan sangat sedikit.
- d. Daun : Terjadi endapan putih.

2. FLAVONOID

- a. Akar (+ kulit akar): Tidak ada perubahan
- b. Kulit akar : Tidak ada perubahan.
- c. Kulit batang : Timbul warna kuning muda pada lapisan amilalkohol.
- d. Daun : Timbul warna kuning muda pada lapisan amilalkohol.

3. SAPONIN

- a. Akar(+ kulit akar) : Terjadi buih yang tetap dan jumlahnya banyak (5 cm)
- b. Kulit akar : Terjadi buih yang tetap dengan jumlah cukup banyak (3 cm).
- c. Kulit batang : Terjadi buih yang tetap, namun jumlahnya sedikit (< 1 cm).
- d. Daun : Terjadi buih yang tetap, namun jumlahnya sedikit (< 1 cm)

4. TANIN

- **FeCl₃ :**

- a. Akar(+ kulit akar) : Tidak ada perubahan.
- b. Kulit akar : Terjadi perubahan warna dari coklat menjadi hijau.
- c. Kulit batang : Terjadi perubahan warna dari coklat menjadi hijau.
- d. Daun : Terjadi perubahan warna dari coklat menjadi ungu.

- **Gelatin :**

- a. Akar (+ kulit akar) : Tidak ada perubahan.
- b. Kulit akar : Tidak ada perubahan.
- c. Kulit batang : Timbul endapan putih.
- d. Daun : Timbul endapan putih.

5. STEROL-TERPENOID

- a. Akar(+ kulit akar) : Timbul warna ungu.
- b. Kulit akar : Timbul warna ungu yang pekat.
- c. Kulit batang : Timbul warna ungu.
- d. Daun : Timbul warna ungu.

5.1.2 Pemisahan Komponen kandungan Tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

a. Ekstraksi

Hasil ekstraksi dari masing-masing bagian atau unit tanaman adalah sebagai berikut :

Tabel. 5.1. Hasil Ekstraksi Bagian atau Unit tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

NO	BAGIAN TANAMAN	BERAT SIMPLISIA	HASIL EKSTRAKSI		
			PETH. ETER.	CHCL ₃	Me-OH
1	Akar (+ kulit akar)	300 g	9,7964 g	4,4276 g	30,895 g
2	Kulit Akar	83,5 g	4,9800 g	1,5223 g	9,2530 g
3	Kulit Batang	75,0 g	2,3407 g	1,7677 g	7,8052 g
4	Daun	115 g	5,3260 g	3,2842 g	9,2530 g

b. Isolasi

Isolasi dilakukan pada Ekstrak kloroform kulit akar, Ekstrak metanol akar dan Ekstrak metanol kulit batang. Hasil isolasi ditunjukkan pada tabel-tabel sebagai berikut :

Tabel 5.2. Hasil Isolasi Ekstrak CHCl₃ Kulit akar Tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

FRAKSI TANAMAN	HASIL ISOLASI
Jumlah ekstrak	4,00 gram
Fraksi C1	0,3492 gram
Fraksi C2	0,0736 gram
Fraksi C3	0,1014 gram
Fraksi C4	0,1277 gram
Fraksi C5	0,0802 gram
Fraksi C6	0,3036 gram

Tabel 5.3. Hasil Isolasi Ekstrak MeOH Akar Tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

FRAKSI TANAMAN	HASIL ISOLASI
Jumlah ekstrak	4,2444 gram
Fraksi M1	0,0136 gram
Fraksi M2	0,0846 gram
Fraksi M3	0,1127 gram
Fraksi M4	0,0741 gram
Fraksi M5	0,2768 gram

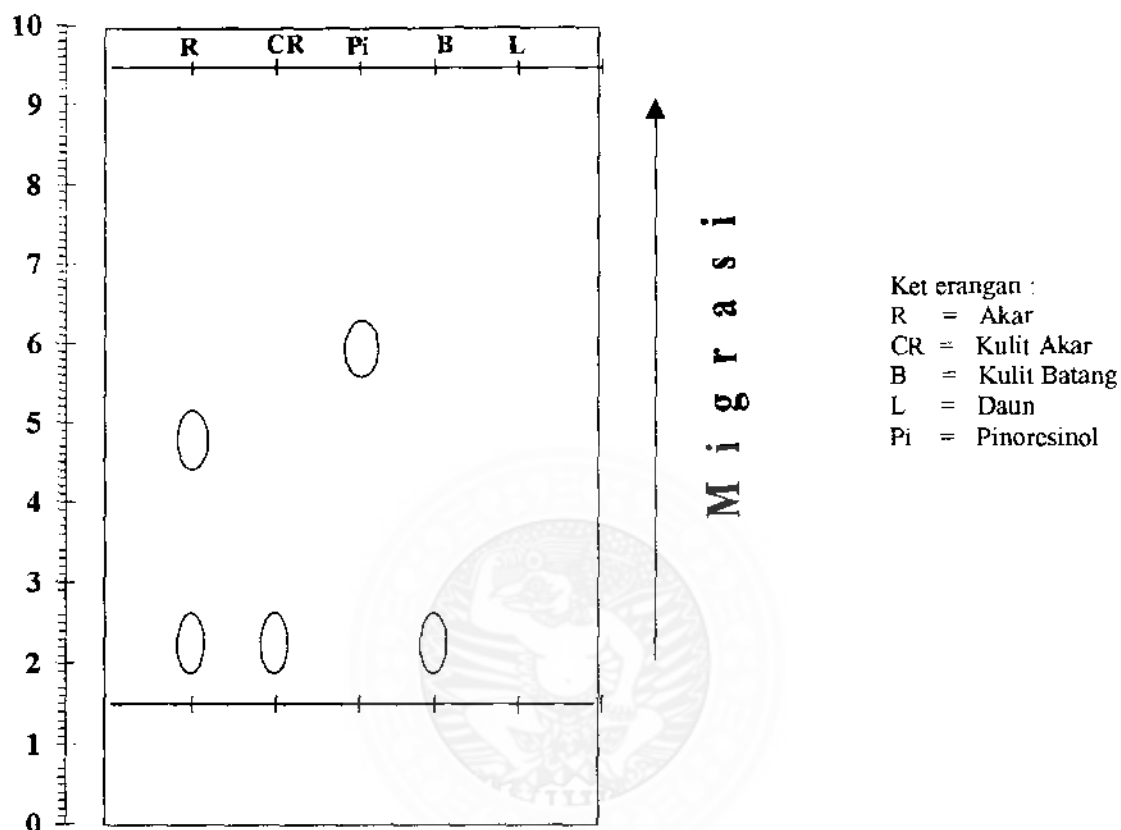
Tabel 5.4. Hasil Isolasi Ekstrak MeOH Kulit Batang Tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

FRAKSI TANAMAN	HASIL ISOLASI
Jumlah ekstrak	2,8175 gram
Fraksi K1	0,0057 gram
Fraksi K2	0,0062 gram
Fraksi K3	0,0022 gram
Fraksi K4	0,0076 gram
Fraksi K5	0,0074 gram
Fraksi K6	0,0199 gram
Fraksi K7	0,0609 gram
Fraksi K8	0,0118 gram

5.1.3. Analisis Ekstrak Dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC)

Kromatogram dari masing-masing ekstrak kloroform dan metanol sebagai berikut

1. Ekstrak Kloroform



Gambar 5.1. TLC hasil pemisahan dari ekstrak-ekstrak kloroform *Fagraea*

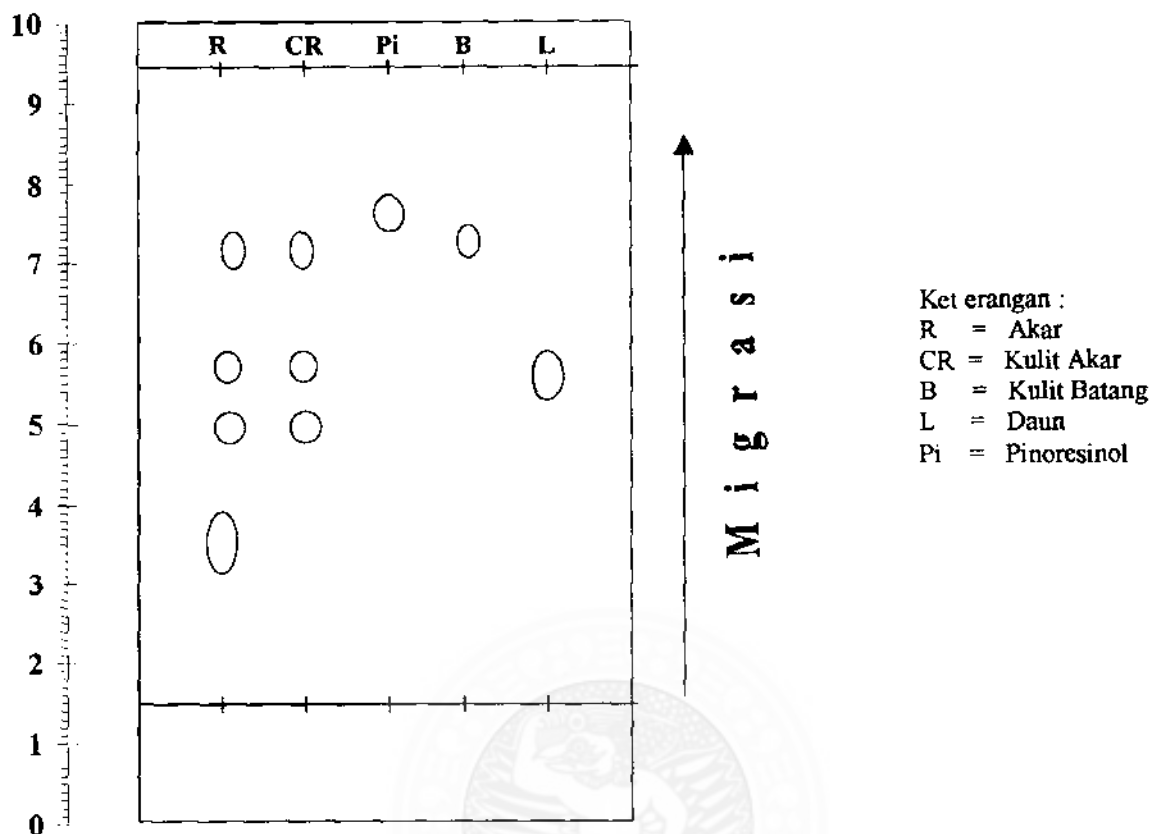
racemosa Jack ex Wall dengan menggunakan :

Fase diam : lempeng TLC Silika F-254

Fase gerak : EtOAc : Iso-oktan : HOAc = 5 : 4 : 1

Penampak bercak : sinar UV 254 nm

2. Ekstrak Metanol



Gambar 5.2. TLC hasil pemisahan dari ekstrak-ekstrak metanol *Fagraea racemosa* Jack ex Wall dengan menggunakan :

Fase diam : lempeng TLC silika gel F-254
 Fase gerak : EtOAc : MeOH : H₂O = 10 : 3 : 1
 Penampak bercak : sinar UV 254 nm

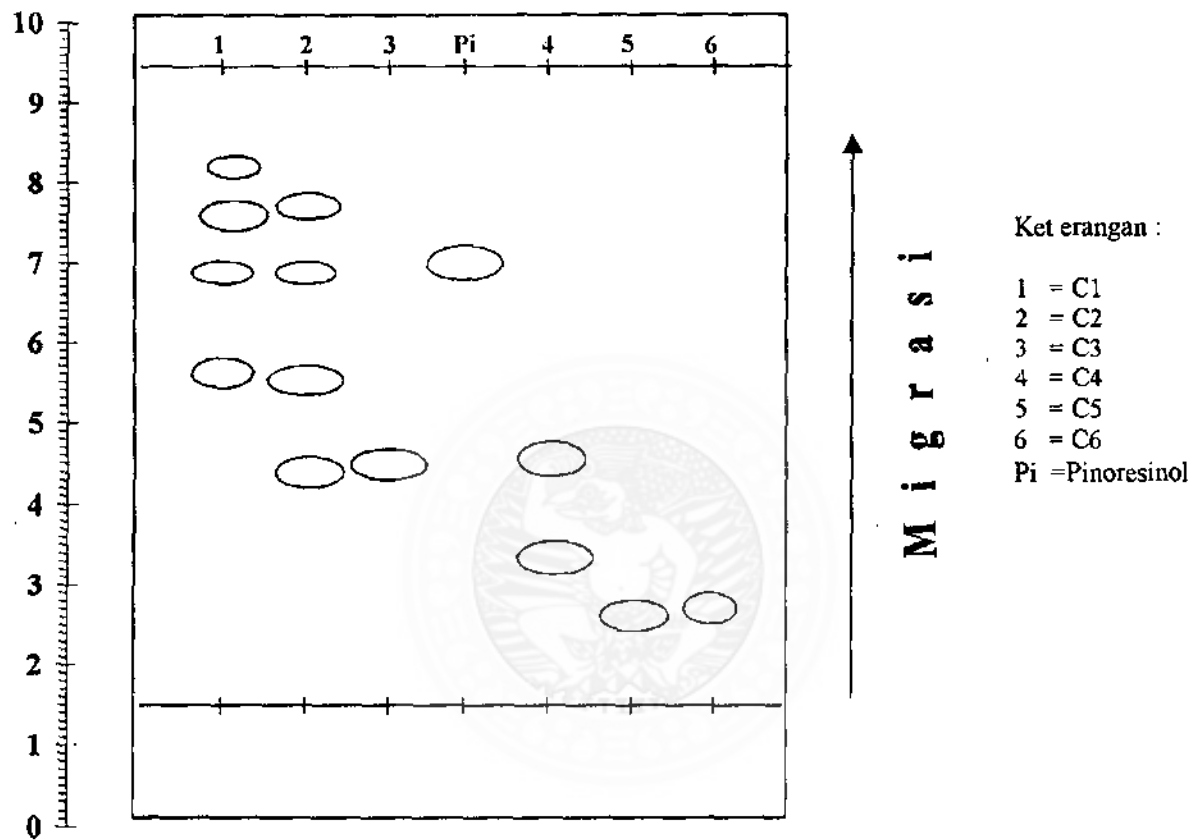
5.1.4 Analisis Fraksi Dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC)

Kromatogram dari masing-masing fraksi hasil isolasi adalah sebagai berikut

1. Fraksi Kloroform Kulit akar (C)

Adapun hasil isolasi dari ekstrak kloroform kulit akar dengan menggunakan fase diam (penjerap) : Kiesel gel 35 – 70 mesh ASTM dan fase gerak : EtOAc : Iso-oktan :

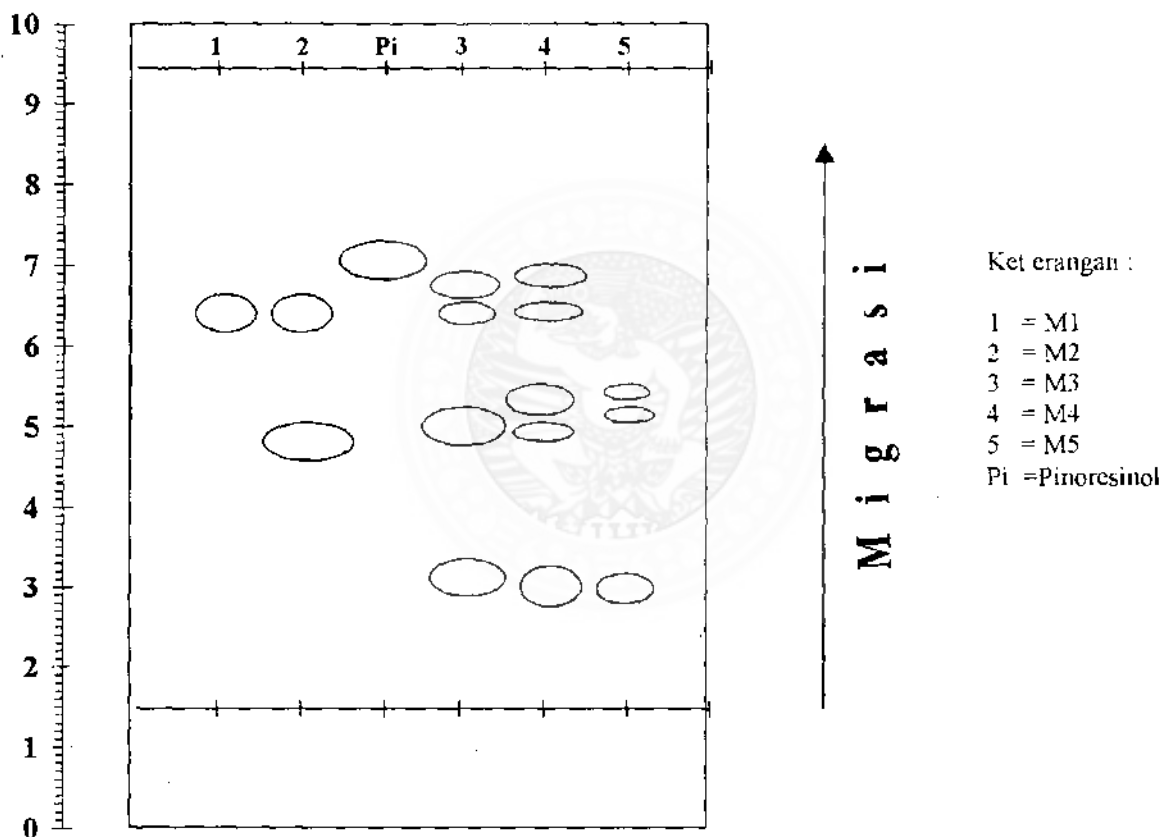
HOAc = 5 : 4 : 1 diperoleh 6 (enam) fraksi. Kromatogramnya seperti tampak pada gambar 5.3 di bawah ini.



Gambar 5.3. TLC hasil pemisahan dari fraksi kloroform Kulit akar (C)
Fagraea racemosa Jack ex Wall (C) dengan menggunakan :
 Fase diam : lempeng TLC silika F-254
 Fase gerak : EtOAc : Iso-Oktan : HOAc = 5 : 4 : 1
 Penampak bercak : sinar UV 254 nm

2. Fraksi Metanol Akar (M)

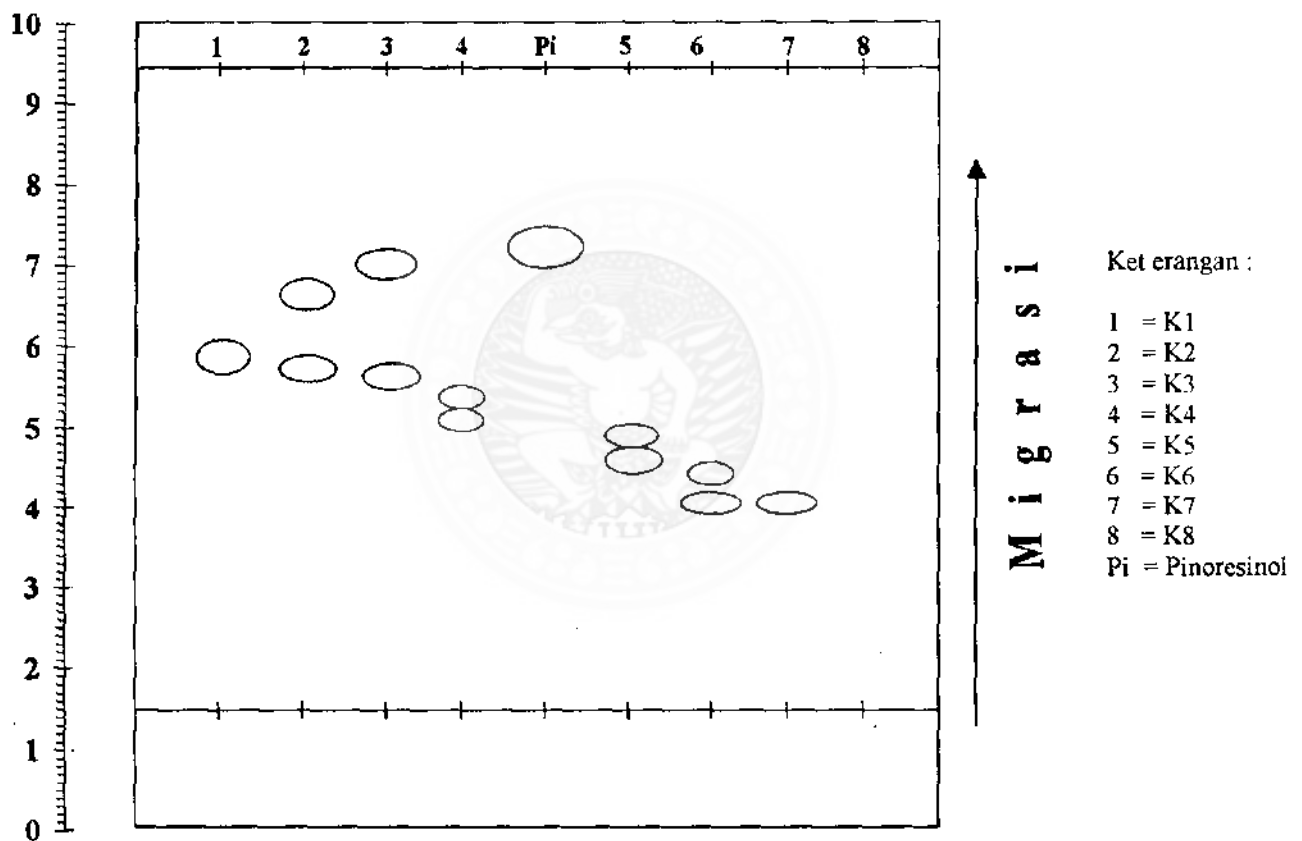
Hasil isolasi dari ekstrak metanol akar dengan menggunakan fase diam (penjerap) : kiesel gel 35 – 70 mesh ASTM dan fase gerak : EtOAc : MeOH : H₂O = 10 : 3 : 1 diperoleh 5 (lima) fraksi dan kromatogramnya seperti yang tampak pada gambar 5.4 di bawah ini.



Gambar 5.4. TLC hasil pemisahan dari fraksi metanol akar (M)
Fagraea racemosa Jack ex Wall (M) dengan menggunakan :
 Fase diam : lempeng TLC Kieselgel GF-254
 Fase gerak : EtOAc : MeOH : H₂O = 100 : 16,5 : 13,5
 Penampak bercak : sinar UV 254 nm

3. Fraksi Metanol Kulit batang (K)

Adapun hasil isolasi dari ekstrak metanol kulit batang dengan menggunakan fase diam (penjerap) : kiesel gel 70 – 135 mesh ASTM dan fase gerak : EtOAc : MeOH : H₂O = 100 : 16,5 : 13,5 diperoleh 8 (delapan) fraksi dan kromatogramnya seperti tampak pada gambar 5.5 di bawah.



Gambar 5.5. TLC hasil pemisahan dari fraksi Metanol Kulit batang (K)
Fagraea racemosa Jack ex Wall (K) dengan menggunakan:
 Fase diam : lempeng TLC Kieselgel GF-254
 Fase gerak : EtOAc : MeOH : H₂O = 100 : 16,5 : 13,5
 Penampak bercak : sinar UV 254 nm

5.1.5 Uji Toksisitas terhadap Larva Udang (BST)

Uji toksisitas dilakukan terhadap larva udang lokal. Untuk ekstrak dibuat konsentrasi 10,0 ; 100 dan 100 x 10 µg/mL. dan fraksi dengan konsentrasi 10,0 ; 50,0 ; 100 dan 250 µg/mL. Hasil kematian larva udang untuk tiap-tiap vial seperti tampak pada tabel 5.6 dan 5.7 di bawah ini.

5.6. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak-ekstrak *Fagraea racemosa* Jack ex Wall terhadap Larva Udang

Konsentrasi (µg/mL)	Jumlah Larva	Jumlah Larva Yang Mati														
		DM	KBM	AM a	AM b	KAM	DC	KBC	AC a	AC b	KAC	DP	KBP	AP	KAP	Blanko
10,0	30	0	0	1	4	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0
10,0	30	0	0	0	0	0	0	0	2	12	0	0	0	0	0	0
10,0	30	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	1	0	0	0	0
100	30	0	3	2	3	1	0	0	4	4	3	3	1	0	0	0
100	30	1	0	0	1	2	0	1	18	7	3	0	3	0	0	0
100	30	0	1	1	2	0	0	3	12	8	1	2	0	0	0	1
100 x 10	30	0	13	9	7	5	2	10	14	11	16	2	3	1	0	0
100 x 10	30	3	11	4	4	3	1	9	11	14	14	3	1	0	0	0
100 x 10	30	3	7	6	6	6	1	6	13	12	16	1	1	0	2	0

Keterangan :

DM	: Ekstrak MeOH Daun	DC	: Ekstrak CHCl ₃ Daun	DP	: Ekstrak Peth. Eter Daun
KBM	: Ekstrak MeOH Kulit Batang	KBC	: Ekstrak CHCl ₃ Kulit Batang	KBP	: Ekstrak Peth. Eter Kulit Batang
AM a	: Ekstrak MeOH Akar a	AC a	: Ekstrak CHCl ₃ Akar a	AP	: Ekstrak Peth. Eter Akar
AM b	: Ekstrak MeOH Akar b	AC b	: Ekstrak CHCl ₃ Akar b	KAP	: Ekstrak Peth. Eter Kulit Akar
KAM	: Ekstrak MeOH Kulit Akar	KAC	: Ekstrak CHCl ₃ Kulit akar		

5.7. Hasil Uji Toksisitas Fraksi-fraksi *Fagraea racemosa* Jack ex Wall terhadap Larva Udang

Konsentrasi (µg/mL)	Jumlah Larva	Jumlah Larva Yang Mati														
		K4	K5	K6	K7	C1	C2	C3	C4	C6	M1	M2	M3	M4	M5	Blanko
10,0	30	4	6	9	7	12	5	10	4	9	3	2	0	0	0	0
10,0	30	2	5	7	6	7	5	7	6	6	3	2	0	0	0	0
50,0	30	5	9	8	9	16	15	10	8	3	4	3	1	0	0	0
50,0	30	6	9	7	12	15	12	12	10	7	2	4	0	0	0	0
100	30	10	11	6	17	19	18	12	11	9	3	3	2	0	0	0
100	30	6	12	12	9	18	15	13	10	9	5	5	1	1	1	0
250	30	11	11	16	9	23	14	15	13	8	9	6	5	3	1	0
250	30	12	7	17	13	18	15	16	14	12	8	7	4	2	2	0

Keterangan :

K4	: Fraksi ke-4 MeOH Kulit Batang	C1	: Fraksi ke-1 CHCl ₃ Kulit Akar	M1	: Fraksi ke-1 MeOH Akar
K5	: Fraksi ke-5 MeOH Kulit Batang	C2	: Fraksi ke-2 CHCl ₃ Kulit Akar	M2	: Fraksi ke-2 MeOH Akar
K6	: Fraksi ke-6 MeOH Kulit Batang	C3	: Fraksi ke-3 CHCl ₃ Kulit Akar	M3	: Fraksi ke-3 MeOH Akar
K7	: Fraksi ke-7 MeOH Kulit Batang	C4	: Fraksi ke-4 CHCl ₃ Kulit Akar	M4	: Fraksi ke-4 MeOH Akar
		C6	: Fraksi ke-6 CHCl ₃ Kulit Akar	M5	: Fraksi ke-5 MeOH Akar

5.1.6 Uji Peredaman Terhadap Pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)

Pengukuran dilakukan pada 3 (tiga) titik panjang gelombang untuk tujuan validitas pengukuran. Diukur pada menit ke-5, ke-15, ke-30, ke-45 dan ke-60, untuk ekstrak dibuat konsentrasi (ppm) : 16,67 ; 50,00 ; 83,33 ; 116,7 dan 150,0 kecuali ekstrak metanol daun dibuat konsentrasi (ppm) : 16,67 ; 33,33 ; 50,00 ; 66,67 dan 83,33 serta dilakukan uji pada menit ke-5, ke-10, ke-15, ke-20, ke-25 dan ke-30. Hal ini dilakukan sebab ekstrak metanol daun pada konsentrasi diatas 83,33 ppm pada menit ke-0 sudah bereaksi sangat cepat dengan DPPH, sehingga sulit dilakukan pengukuran. Sedangkan untuk fraksi dibuat konsentrasi (ppm) : 20,00 ; 60,00 ; 100,0 ; 140,0 ; dan 180,0. Data penelitian terdapat pada lampiran 3.

5.2 ANALISIS DAN HASIL PENELITIAN

5.2.1. Hasil Uji Toksisitas terhadap Larva Udang (BST)

Setelah dilakukan analisis dengan menggunakan Program SPSS dengan analisis probit, berdasarkan hubungan dosis-respon maka diperoleh harga LC₅₀ (Median Lethal Concentration) untuk ekstrak dan fraksi berturut-turut pada tabel 5.8 dan tabel 5.9.

Tabel 5.8. Harga LC₅₀ dari ekstrak-ekstrak *Fagraea racemosa* Jack ex Wall.

NO	EKSTRAK	Harga LC ₅₀ utk tiap konsentrasi (ug/mL)		
		10,0	100	100 x 10
1	Metanol Kulit Akar (KAM)	-	160	131 x 10
2	Kloroform Kulit Akar (KAC)	-	150	994
3	Peth. Eter Kulit Akar (KAP)	-	-	154 x 10
4	Metanol Akar a (AMa)	17,3	160	123 x 10
5	Metanol Akar b (AMb)	13,2	153	125 x 10
6	Kloroform Akar a (ACa)	14,9	111	105 x 10
7	Kloroform Akar b (ACb)	12,6	123	105 x 10
8	Peth. Eter Akar (AP)	-	-	174 x 10
9	Metanol Kulit Batang (KBM)	-	155	110 x 10
10	Kloroform Kulit Batang (KBC)	-	155	138 x 10
11	Peth. Eter Kulit Batang (KBP)	-	155	158 x 10
12	Metanol Daun (DM)	-	169	157 x 10
13	Kloroform Daun (DC)	-	-	149 x 10
14	Peth. Eter Daun (DP)	17,3	140	156 x 10

Tabel 5.9. Harga LC₅₀ dari fraksi-fraksi *Fagraea racemosa* Jck ex Wall

No	Fraksi	Harga LC ₅₀ pada tiap konsentrasi (ug/mL)			
		10,0	50,0	100	250
II C					
1	C1	11,2	49,5	93,8	226
2	C2	12,7	51,5	103	252
3	C3	11,5	52,6	105	248
4	C4	12,5	56,6	105	257
5	C6	11,8	64,6	108	277
II M					
1	M1	15,9	70,5	133	286
2	M2	16,1	74,7	133	303
3	M3	-	78,9	160	325
4	M4	-	-	170	362
5	M5	-	-	170	386
III K					
1	K4	14,1	62,5	117	268
2	K5	12,5	56,6	107	284
3	K6	11,6	58,8	114	243
4	K7	12,1	54,8	105	271

Keterangan :

- C : Ekstrak Kloroform Kulit Akar
M : Ekstrak Metanol Akar
K : Ekstrak Metanol Kulit Batang

5.2.2. Hasil Uji Peredaman terhadap DPPH

Hasil uji aktifitas peredaman terhadap DPPH dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Peredaman} = [\{ (1 - (As_{517} - (As_{497} + As_{537}))) / Ab \} \times 100]$$

Ab = absorpsi blanko As = absorpsi sampel

Kemudian dari % peredaman yang diperoleh, dibuat regresi pada setiap waktu pengukuran terhadap semua konsentrasi. Maka diperoleh persamaan regresinya, lalu dihitung harga EC₅₀ (Median Effective Concentration)-nya dengan rumus :

$$EC_{50} = [(50 - b) / a]$$

A dan b dari persamaan regresi : $y = ax + b$

Dari perhitungan tersebut diperoleh harga EC₅₀ pada :

a. Ekstrak-ekstrak

Tabel. 5.10. Harga EC₅₀ dari Ekstrak Pada tiap Waktu Percobaan

EKSTRAK	HARGA EC ₅₀ (ppm) DARI EKSTRAK/ WAKTU (menit)				
	5"	15"	30"	45"	60"
KAM	147,1	112,1	104,5	95,70	79,86
AM	133,5	134,2	109,0	102,5	88,43
KBM	143,0	119,4	87,49	103,2	96,74
AC	2053	430,4	423,0	171,6	167,7
KBC	398,6	209,4	245,7	105,0	74,50
DC	197,4	159,8	182,7	146,9	149,7

Keterangan :

KAM	: Metanol Kulit akar	AC	: Kloroform Akar
AM	: Metanol Akar	KBC	: Kloroform Kulit batang
KBM	: Metanol Kulit batang	DC	: Kloroform Daun

Tabel. 5.11. Harga EC₅₀ dari Ekstrak Metanol Daun Pada tiap Waktu Percobaan

EKSTRAK	HARGA EC ₅₀ (ppm) EKSTRAK MEOH DAUN/ WAKTU (menit)					
	5"	10"	15"	20"	25"	30"
DM	56,30	55,52	50,00	52,53	50,55	46,71

b. Isolat atau Fraksi

Tabel. 5.12. Harga EC₅₀ dari Fraksi Pada tiap Waktu Percobaan

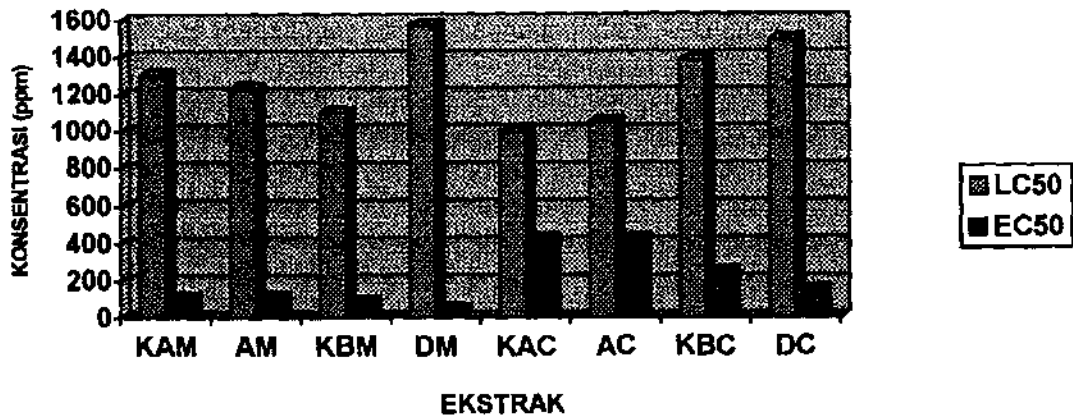
FRAKSI	HARGA EC ₅₀ (ppm) DARI FRAKSI/WAKTU (menit)				
	5"	15"	30"	45"	60"
K					
K4	140,3	111,6	92,29	81,84	75,24
K5	153,2	86,81	86,15	69,08	65,02
K6	146,2	68,86	68,74	62,56	43,19
K7	148,0	59,62	89,27	50,45	50,71
C					
C1	147,2	117,4	91,28	122,95	111,5
C3	167,6	170,6	207,9	169,19	146,6
C4	193,2	168,8	147,6	146,69	153,1
C6	336,8	264,6	329,9	224,45	234,8
M					
M1	79,58	74,44	74,02	-998,90	81,21
M2	119,2	87,27	77,80	-858,68	71,41
M3	171,4	137,9	132,5	162,52	113,1
M4	2016	1095	250,0	55,78	121,2
M5	166,0	8333	466,0	206,56	261,8

Keterangan :

K	: Fraksi yang berasal dari ekstrak metanol kulit batang.
C	: Fraksi yang berasal dari ekstrak kloroform kulit akar.
M	: Fraksi yang berasal dari ekstrak methanol akar.

5.2.3. Perbandingan Hasil Uji Toksisitas terhadap Larva Udang dan Peredaman terhadap Pereaksi 2,2-diphenyl-1-pyrcilhydrazil (DPPH)

a. Ekstrak



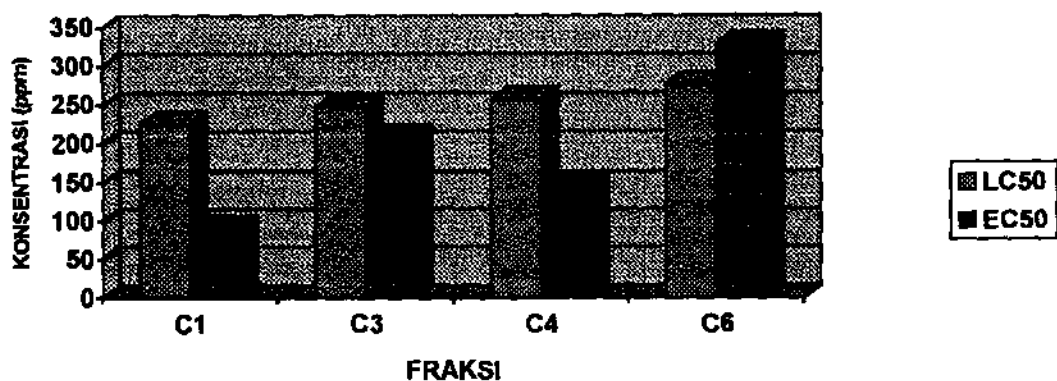
Gambar 5.6. Perbandingan harga LC50 dan EC50 (menit ke-30) dari ekstrak-ekstrak *Fagraea racemosa* Jack ex Wall.

Keterangan :

KAM	: Metanol Kulit akar	KAC	: Kloroform Kulit akar
AM	: Metanol Akar	AC	: Kloroform Akar
KBM	: Metanol Kulit batang	KBC	: Kloroform Kulit batang
DM	: Metanol Daun	DC	: Kloroform Daun

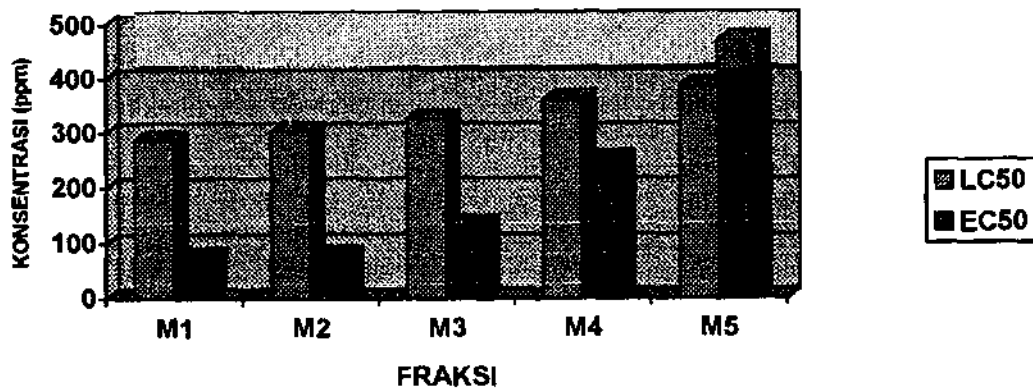
b. Fraksi

1. Fraksi Kloroform Kulit akar (C)



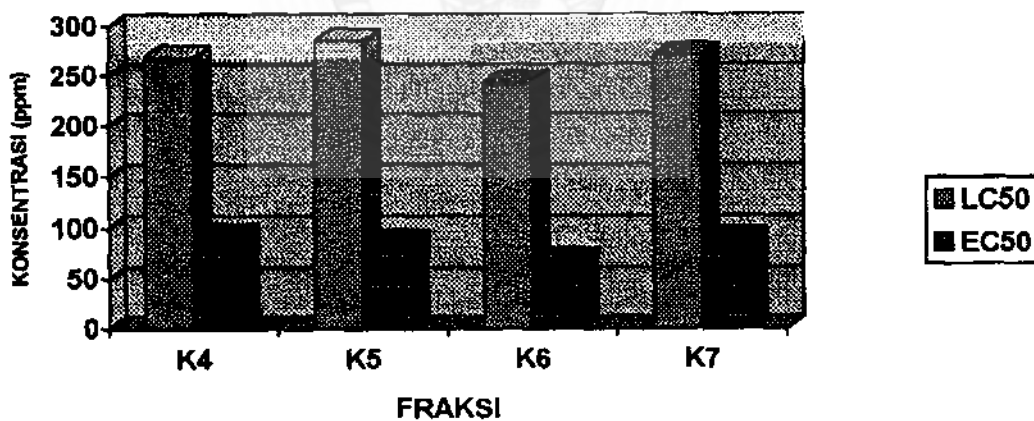
Gambar 5.7. Perbandingan harga LC50 dan EC50 (menit ke-30) dari fraksi kloroform Kulit akar (C) *Fagraea racemosa* Jack ex Wall.

2. Fraksi Metanol Akar (M)



Gambar 5.8. Perbandingan harga LC50 dan EC50 (menit ke-30) dari fraksi metanol akar (M) *Fagraea racemosa* Jack ex Wall.

3. Fraksi Metanol Kulit batang (K)



Gambar 5.8. Perbandingan harga LC50 dan EC50 (menit ke-30) dari fraksi metanol Kulit Batang (K) *Fagraea racemosa* Jack ex Wall.

5.2.4. Hasil Analisis HPLC - DAD dan HPLC - MS Terhadap Fraksi.

Analisis HPLC – DAD dan HPLC - MS dilakukan terhadap semua fraksi yang diperoleh (19 fraksi), ternyata semua fraksi belum murni. Hasil perhitungan spektromassanya terangkum dalam tabel 5.13 dan gambar-gambar berikutnya adalah hanya beberapa contoh dari hasil analisis ke-19 fraksi yang dianggap mewakili dan didasarkan pada hasil uji aktifitasnya.

Tabel 5.13. Hasil perhitungan spektromassa dari fraksi-fraksi *Fagraea racemosa* Jack ex Wall

No	Fraksi	M ⁺ (m/z)	Spektromassa ESI (+)		Spektromassa ESI (-)				
			Rumus (m/z)	Waktu retensi (menit)	Rumus (m/z)	Waktu retensi (menit)			
1	2	3	4	5	6	7			
A	Kulit akar kloroform (C)								
1	C1	-	-	-	-	-			
2	C2	462	[(M + Na) + H] ⁺ [2M + Na] ⁺ [M + Na] ⁺	27,72 27,72 27,62	[M - H] ⁻ [(M+HCOOH) - H] ⁻ -	27,68 27,94 -			
3	C3	462	[(M + Na) + H] ⁺ [2M + Na] ⁺ [M + Na] ⁺	27,74 27,74 27,88	[(M + HCOOH)-H] ⁻ [(2M + Na) - H] ⁻ [M - H] ⁻	27,80 27,80 27,94			
			488	[(M + Na) + H] ⁺ [2M + Na] ⁺ [(M + Na) + H] ⁺ [2M + Na] ⁺	30,97 30,97 30,37-31,43 30,37-31,43	[(M+HCOOH) - H] ⁻ [(2M+HCOOH) -H] ⁻ [(M + HCOOH) - H] ⁻ [(2M+HCOOH) - H] ⁻	30,90 30,90 30,55-31,49 30,55-31,49		
			488	[(M + Na) + H] ⁺ [2M + Na] ⁺	30,89 30,89	[(M + HCOOH) - H] ⁻ [(2M+HCOOH) - H] ⁻	30,96 30,96		
		5	C5	-	-	-	-	-	
6	C6	587	[M + Na] ⁺ [2M + Na] ⁺	36,69 36,69	[(M + HCOOH) - H] ⁻ [(2M+HCOOH) - H] ⁻	36,87 36,87			
B	Akar Metanol								
1	M1	587	[M + Na] ⁺ [2M + Na] ⁺ [M + Na] ⁺ [2M + Na] ⁺ [M + Na] ⁺ [2M + Na] ⁺	32,04 32,04 34,11 34,11 34,23 34,23	- - - - - -	- - - - - -			
			891	[M + Na] ⁺ [2M + HCOOH] ⁺	40,77 40,77	- -	- -		
			2	M2	587	[M + Na] ⁺ [2M + Na] ⁺	34,27 34,27	- -	- -
						3	M3	-	-
			4	M4	-	-	-	-	-
			5	M5	-	-	-	-	-

1	2	3	4	5	6	7
C	Kulit batang metanol					
1	K1	586	$[(M + Na) + H]^+$ $[2M + Na]^+$	34,80 34,80	$[(M + HCOOH) - H]^-$ $[2M + HCOOH]^-$	34,73 34,73
2	K2	579	$[M + HCOOH + H]^+$ $[M + HCOOH + H]^+$ - -	31,14 32,99 - -	$[M + Na - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$ $[M + Na - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$	31,19 31,19 33,15 33,15
		587	$[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$ $[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$	34,71 34,71 36,95 36,95	$[M + HCOOH]^-$ $[2M + HCOOH]^-$ $[M + HCOOH]^-$ $[2M + HCOOH]^-$	34,78 34,78 36,75 36,75
3	K3	587	$[2M + Na]^+$ $[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$ $[M + Na]^+$	34,83 34,83 36,78 36,78	$[M + HCOOH - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$ $[M + HCOOH - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$	34,76 34,76 36,83 36,83
		603	$[2M + Na]^+$ $[M + Na]^+$	31,25 31,25	$[M - H]^-$ $[2M - H]^-$	31,30 31,30
4	K4	579	$[M + HCOOH + H]^+$ -	33,21 -	$[(2M + HCOOH) - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$	33,05 33,05
		587	$[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$	34,81 34,81	$[M + HCOOH]^-$ $[2M + HCOOH]^-$	34,86 34,86
		596	$[M + HCOOH]^+$ $[M + HCOOH]^+$	29,84 27,01	$[M + Na - H]^-$ $[M + Na - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$	29,78 27,06 27,06
		603	$[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$	31,29 31,29	$[M - H]^-$ $[2M - H]^-$	31,11 31,11
5	K5	618	$[M + Na + H]^+$ $[2M + Na]^+$	29,67 29,67	$[M - H]^-$ -	31,39 -
6	K6	456	$[2M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$ - $[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$	22,74 24,96 - 26,24 26,24	$[M + HCOOH - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$ $[M + HCOOH - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$ $[M + HCOOH - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$	22,69 22,69 24,90 24,90 26,08 26,08
7	K7	416	$[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$	19,81 19,81	$[M + HCOOH - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$	19,75 19,75
		456	$[M + Na]^+$ $[2M + Na]^+$	26,00 26,00	$[M + HCOOH - H]^-$ $[(2M + HCOOH) - H]^-$	26,06 26,06
8	K8	-	-	-	-	-

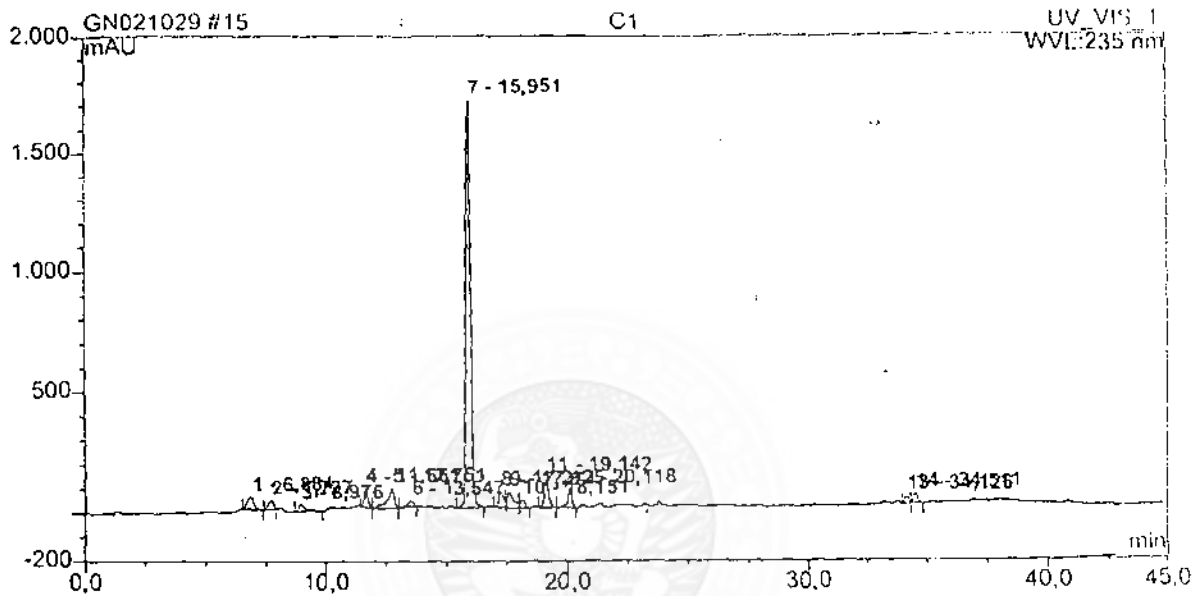
Keterangan :

- Fraksi C1 : Antara ESI (+) dan ESI (-) tidak muncul puncak yang muncul pada waktu retensi (RT) yang sama.
- Fraksi M3 ; M4 & M5 : ESI (+) dan ESI (-) ada puncak yang muncul pada RT yang sama, namun puncak yang dianalisis tidak tepat.
- Fraksi K : Data Spektromassa tidak ada.

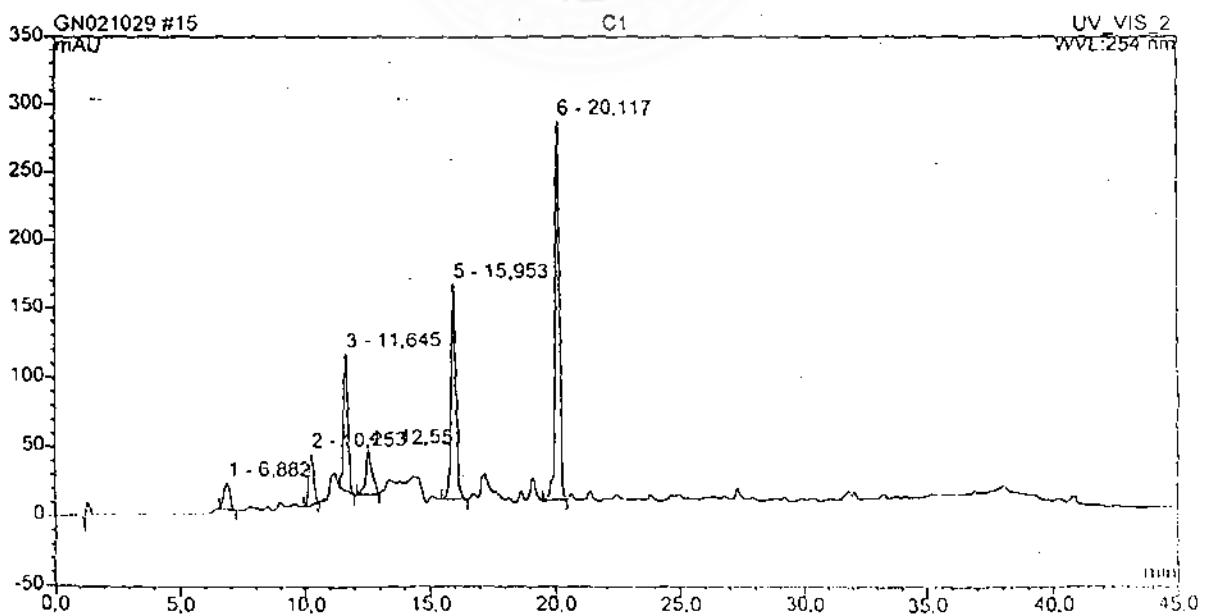
A. Hasil Analisis Fraksi C1 (lihat gb. 5.3)

❖ Kromatogram HPLC – DAD

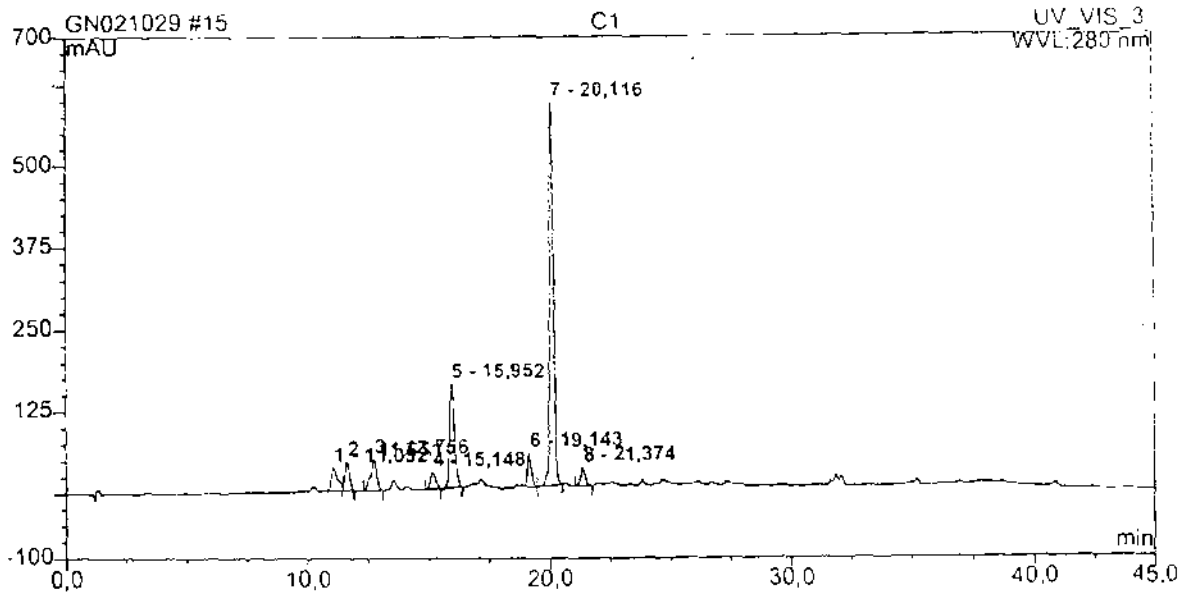
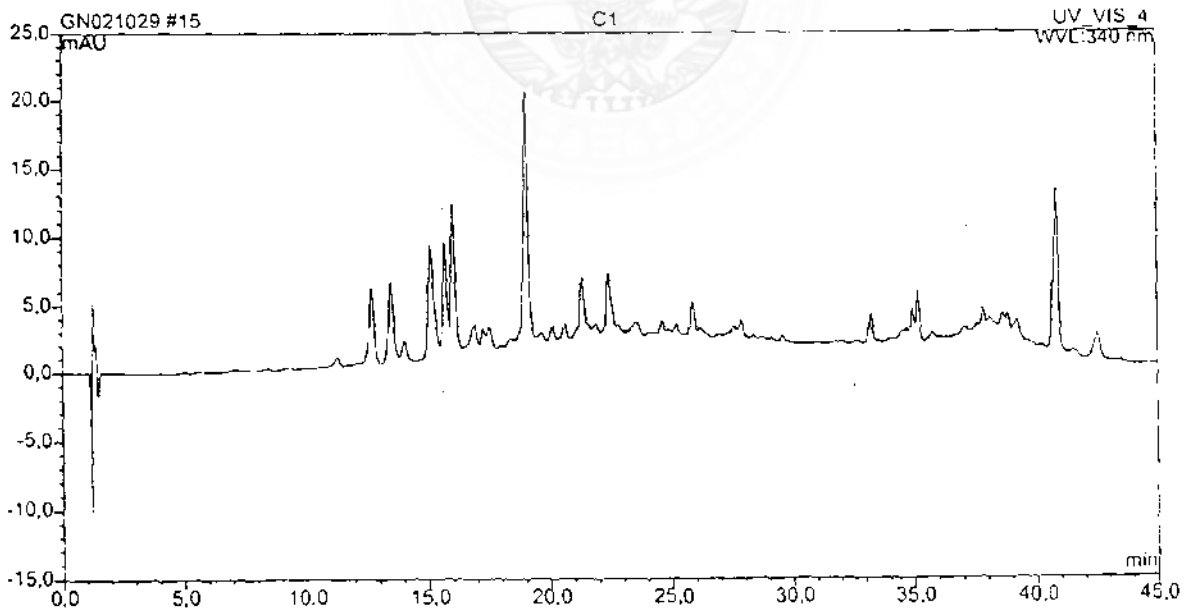
Gambar-gambar di bawah ini adalah kromatogram hasil analisis HPLC-DAD dari fraksi C1 pada pengukuran 4 (empat) macam panjang gelombang.



Gambar 5.10. Kromatogram fraksi C1 pada $\lambda = 235 \text{ nm}$

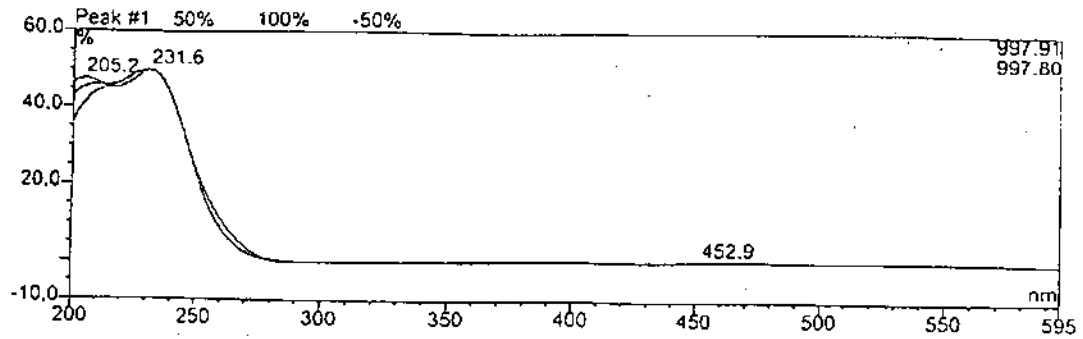


Gambar 5.11. Kromatogram fraksi C1 pada $\lambda = 254 \text{ nm}$

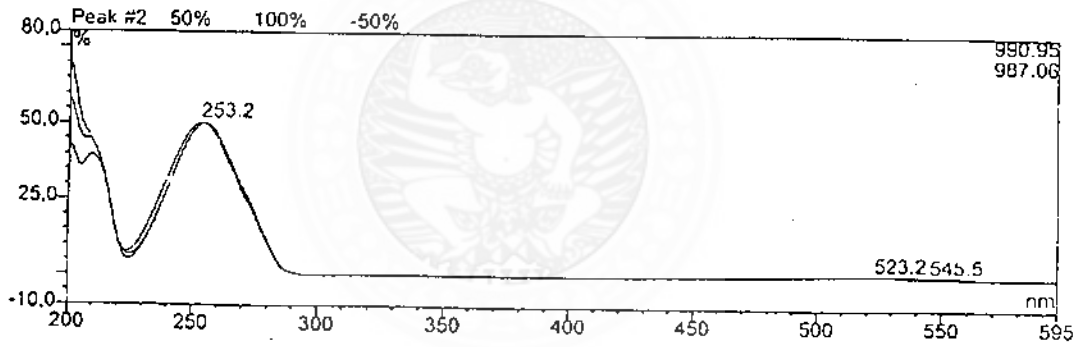
Gambar 5.12. Kromatogram fraksi C1 pada $\lambda = 280$ nmGambar 5.13. Kromatogram fraksi C1 pada $\lambda = 340$ nm

❖ Spektra UV dari fraksi C1 (lihat gb. 5.11)

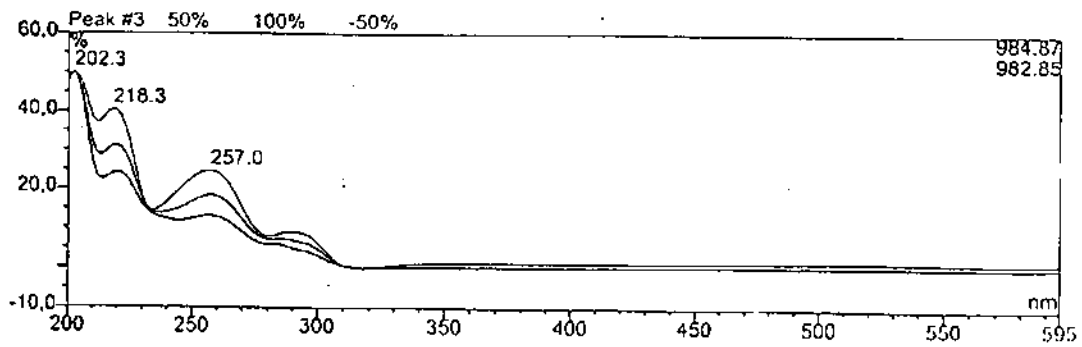
a. Puncak ke-1



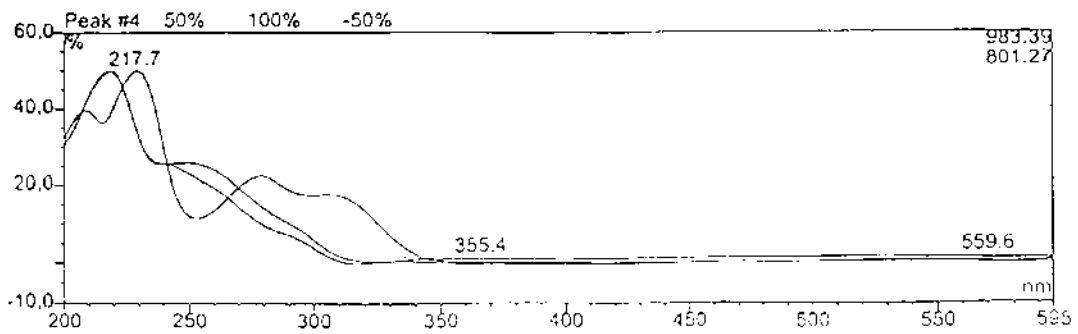
b. Puncak ke-2



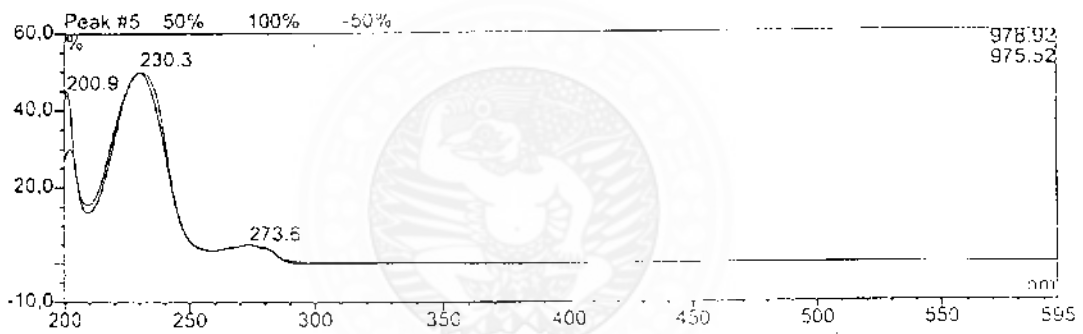
c. Puncak ke-3



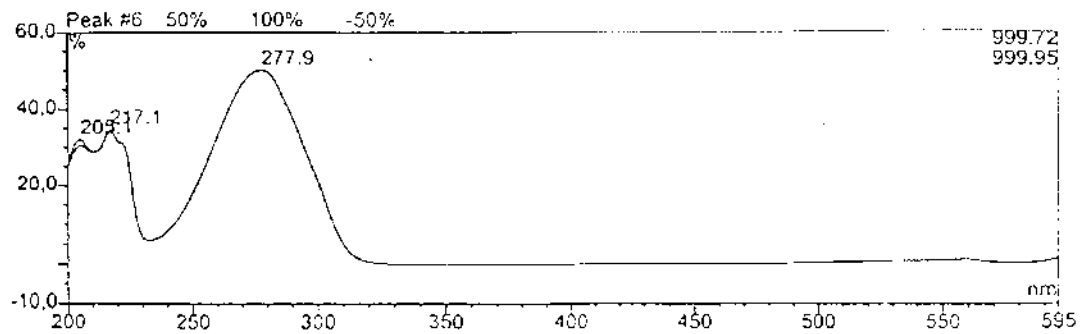
d. Puncak ke-4



e. Puncak ke-5

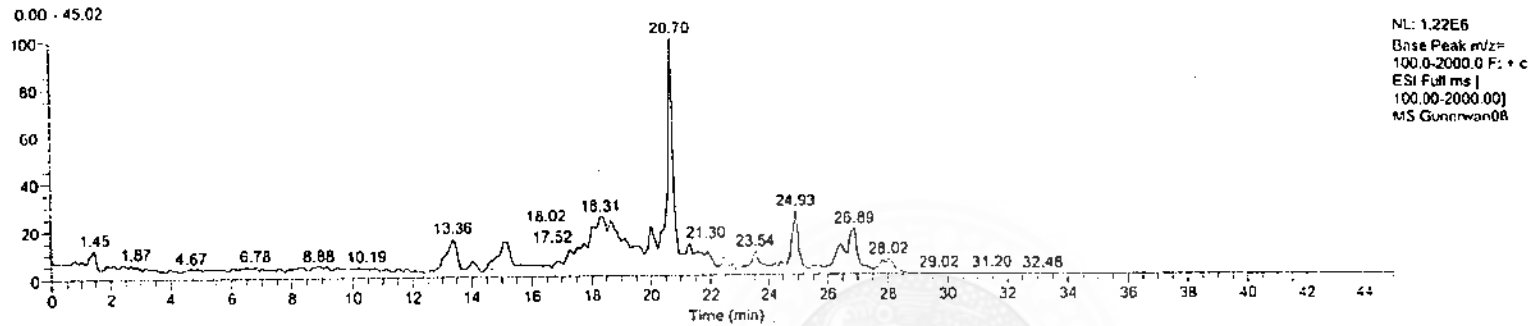


f. Puncak ke-6

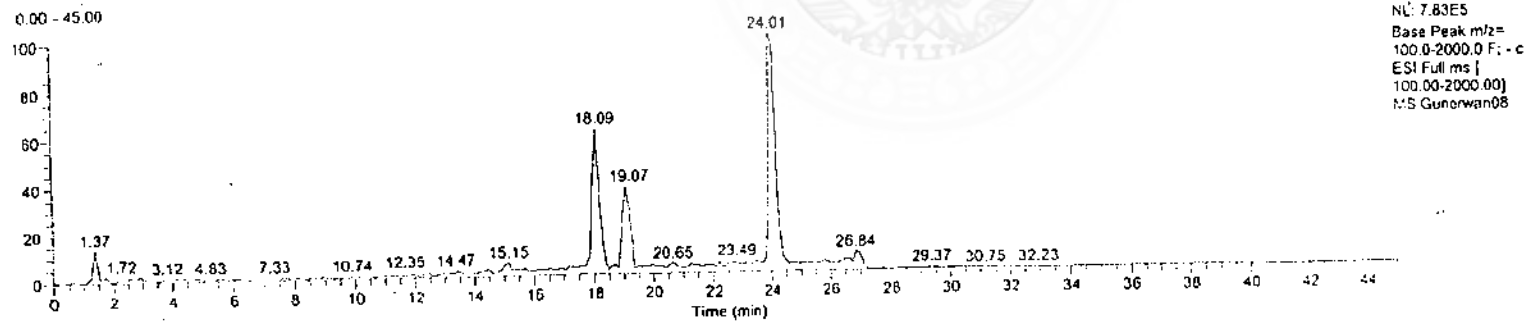


Gambar 5.14. Spektra UV fraksi C1 yang diukur pada 3 (tiga) titik puncak HPLC

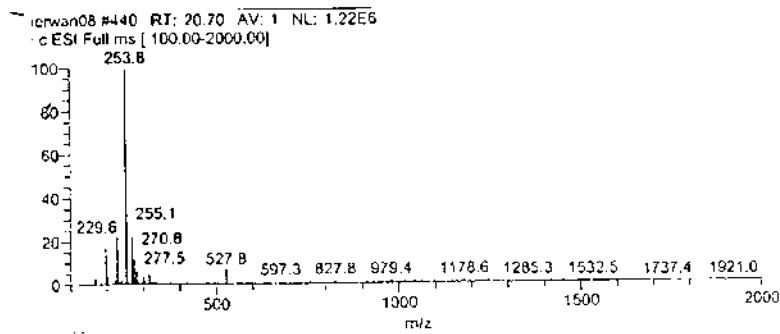
❖ Hasil Analisis HPLC-MS Fraksi C1
Pada gambar-gambar di bawah ini menunjukkan kromatogram hasil analisis
HPLC-MS dari fraksi C1.



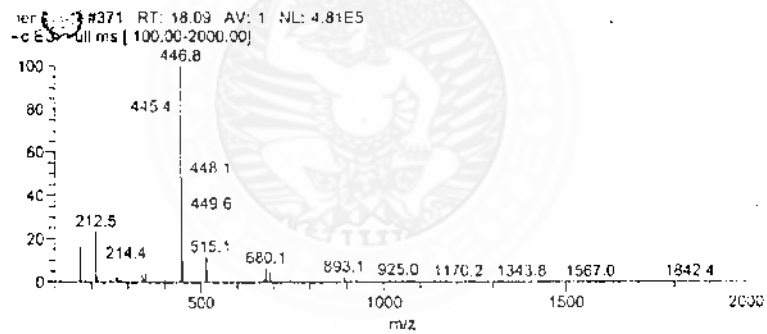
Gambar 5.15. Total kromatogram ion positif (+) fraksi C1



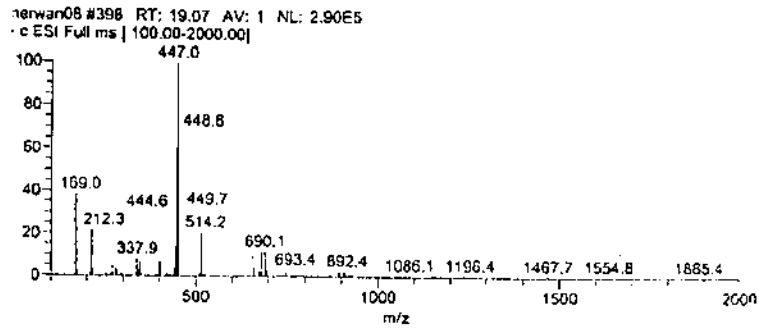
Gambar 5.16. Total kromatogram ion negatif (-) fraksi C1



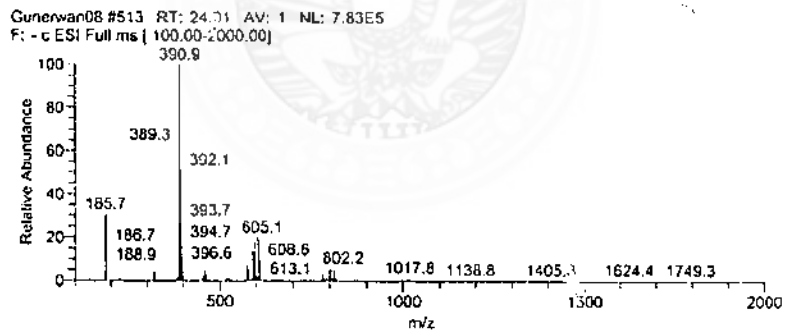
Gambar 5.17. Spektromassa ESI (+) dari puncak dengan RT = 20,70 menit



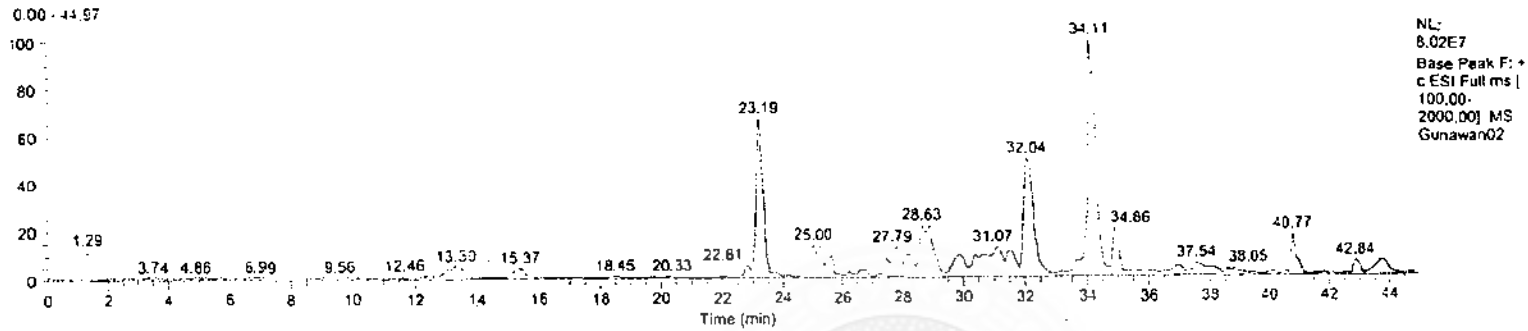
Gambar 5.18. Spektromassa ESI (-) dari puncak dengan RT = 18,09 menit



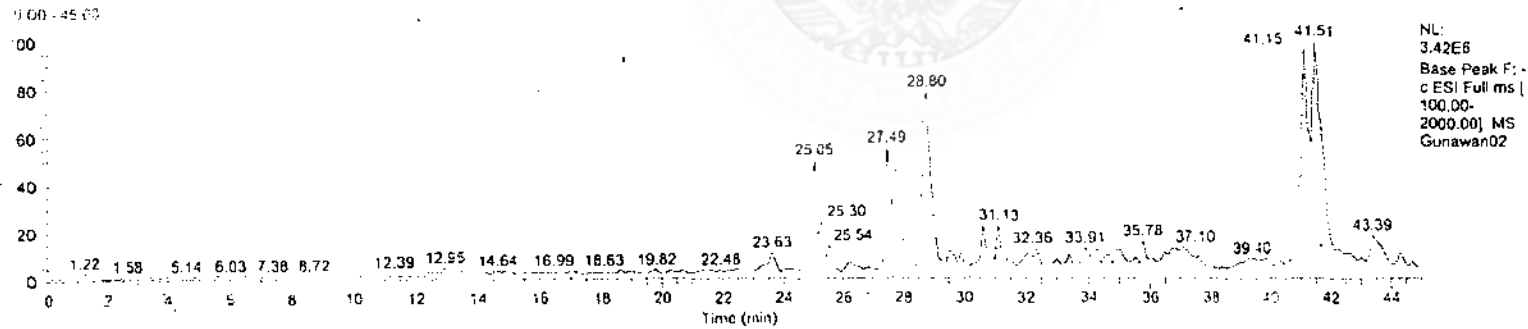
Gambar 5.19. Spektromassa ESI (-) dari puncak dengan RT = 19,07 menit



Gambar 5.20. Spektromassa ESI (-) dari puncak dengan RT = 24,01 menit

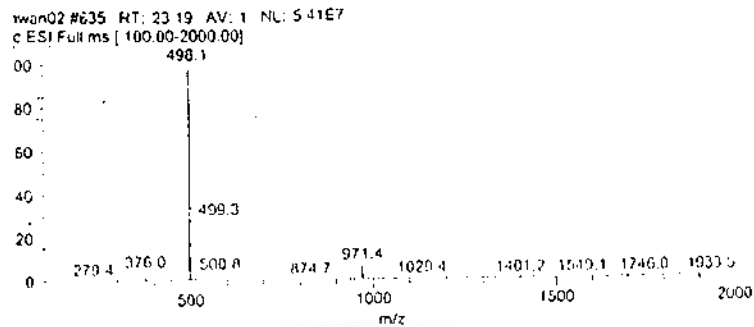


Gambar 5.21. Total kromatogram ion positif (+) fraksi M1

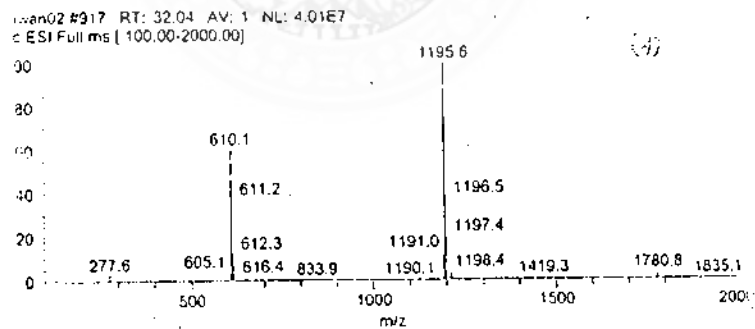


Gambar 5.22. Total kromatogram ion negatif (-) fraksi M1

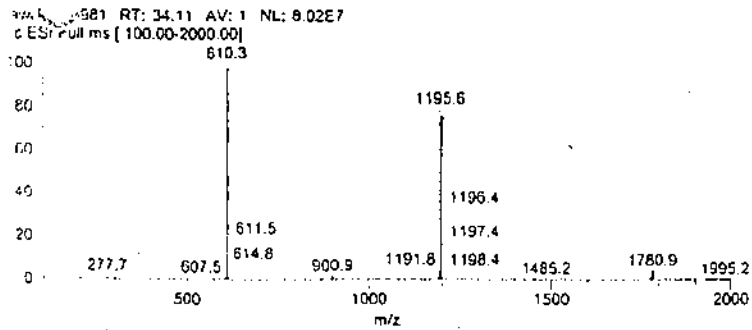
B. Hasil Analisis HPLC-MS Fraksi M1 (lihat gb. 5.4)
Pada gambar-gambar di bawah ini menunjukkan kromatogram hasil analisis HPLC-MS dari fraksi M1.



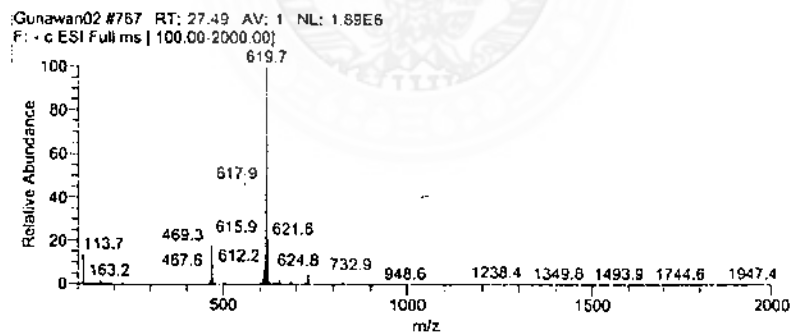
Gambar 5.23. Spektromassa ESI (+) dari puncak dengan RT = 23,19 menit



Gambar 5.24. Spektromassa ESI (+) dari puncak dengan RT = 32,04 menit



Gambar 5.25. Spektromassa ESI (+) dari puncak dengan RT = 34,11 menit

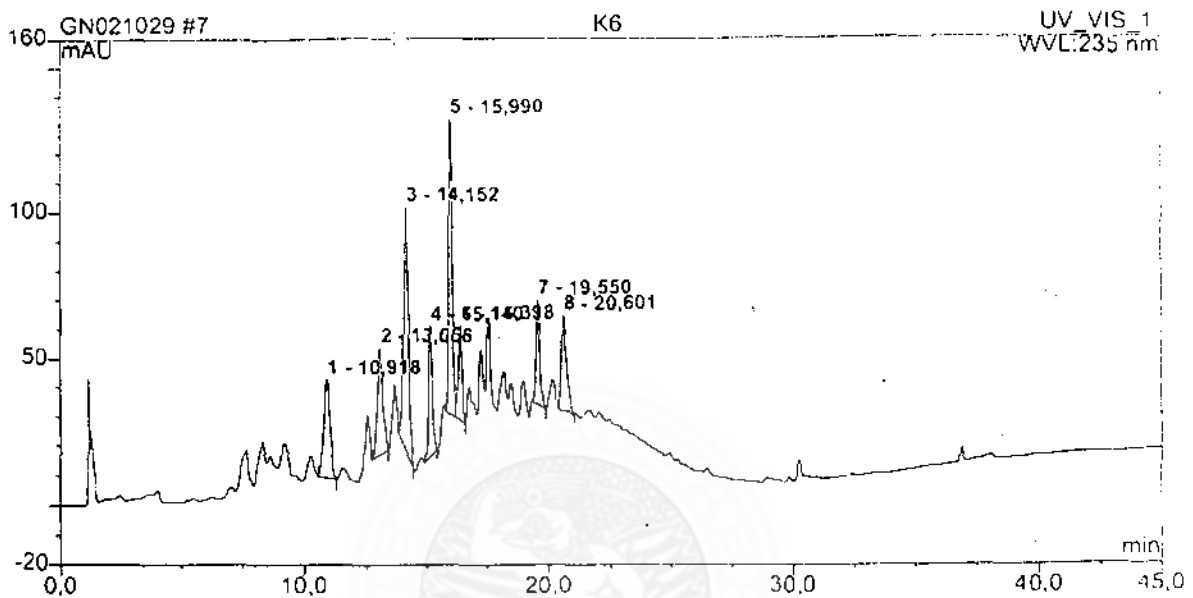


Gambar 5.26. Spektromassa ESI (-) dari puncak dengan RT = 27,49 menit

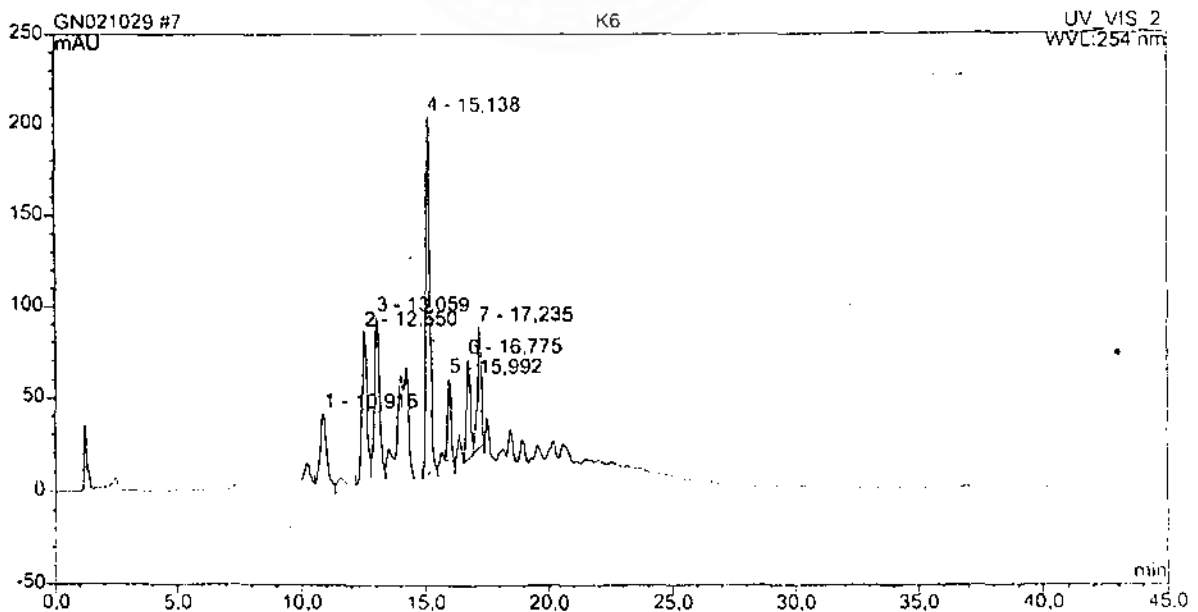
C. Hasil Analisis Fraksi K6 (lihat gb. 5.5)

❖ Kromatogram HPLC – DAD

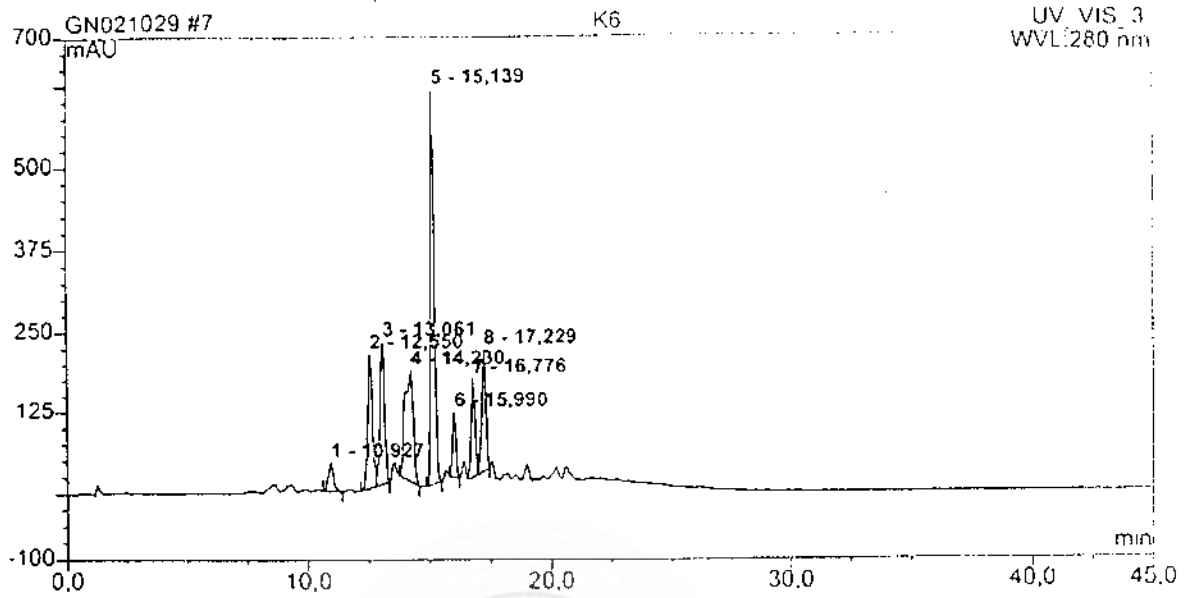
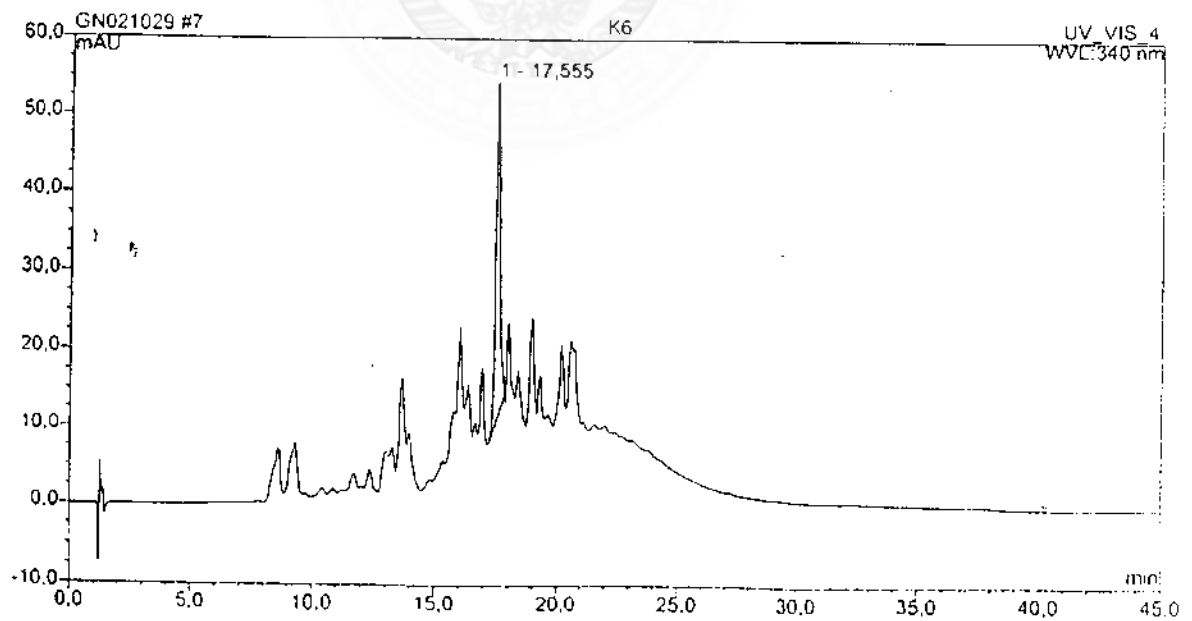
Gambar-gambar di bawah ini adalah kromatogram hasil analisis HPLC-DAD dari fraksi C1 pada pengukuran 4 (empat) macam panjang gelombang.



Gambar 5.27. Kromatogram fraksi K6 pada $\lambda = 235$ nm

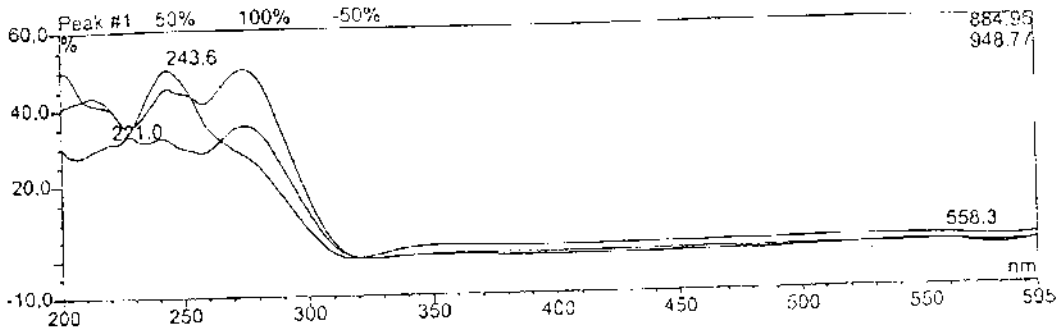


Gambar 5.28. Kromatogram fraksi K6 pada $\lambda = 254$ nm

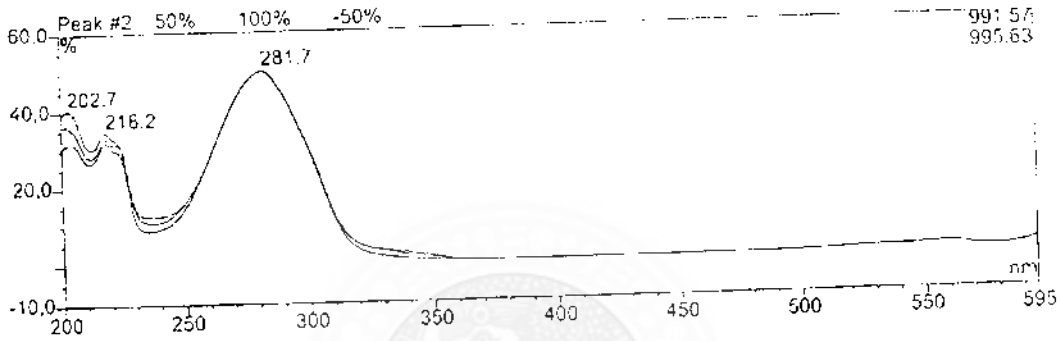
Gambar 5.29. Kromatogram fraksi K6 pada $\lambda = 280$ nmGambar 5.30. Kromatogram fraksi K6 pada $\lambda = 340$ nm

❖ **Spektra UV dari fraksi K6 (lihat gb. 5.28)**

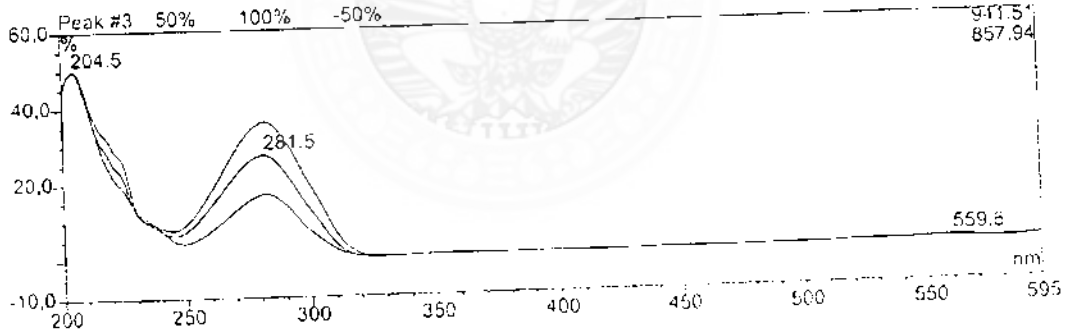
a. Puncak ke-1



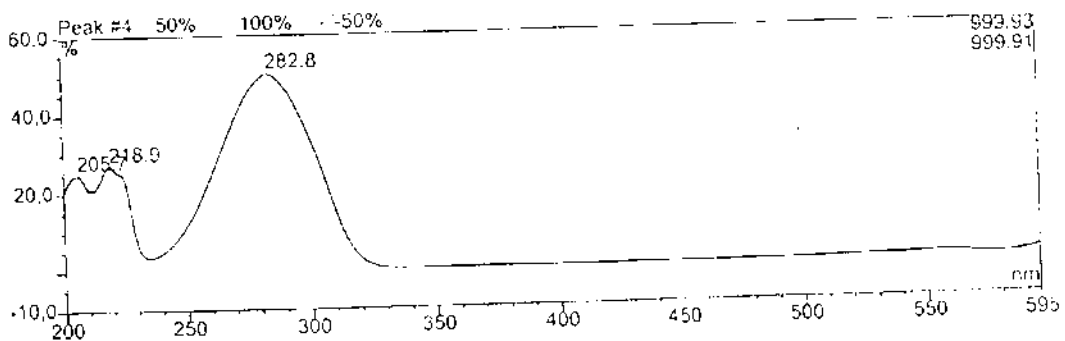
b. Puncak ke-2



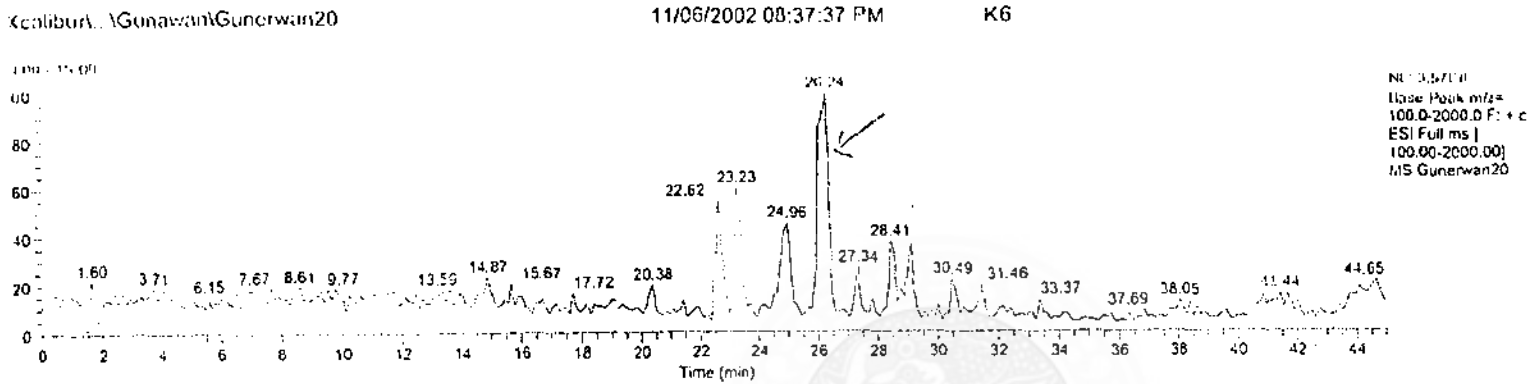
c. Puncak ke-3



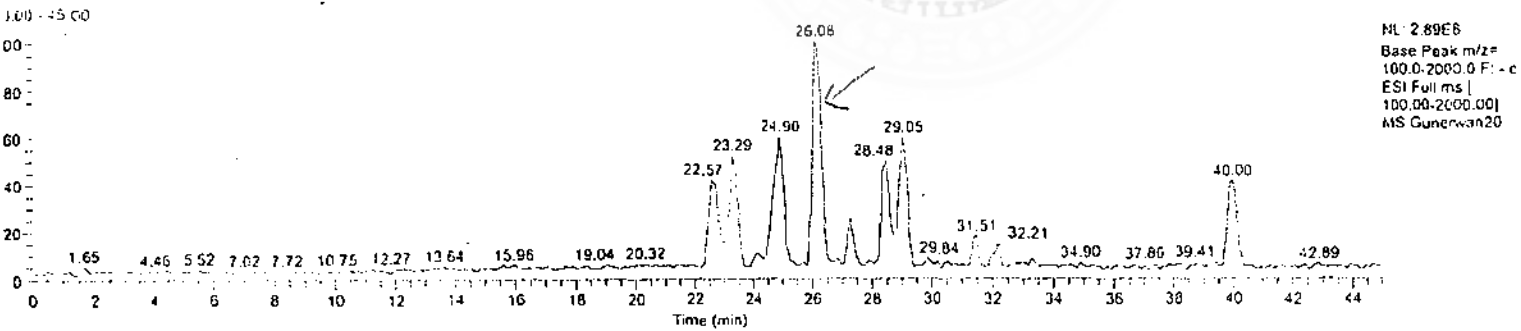
d. Puncak ke-4



Gambar 5.31. Spektra UV fraksi K6 yang diukur pada 3 (tiga) titik puncak HPLC

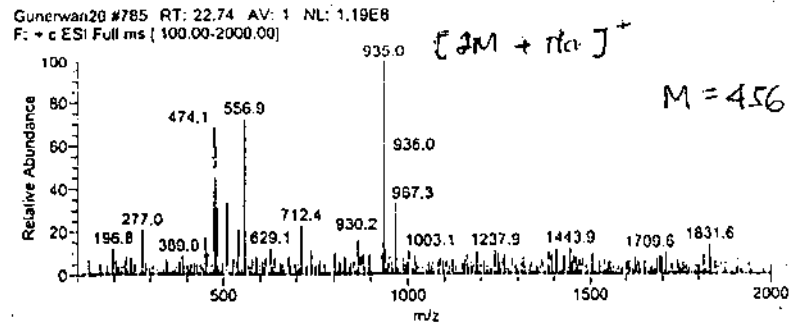


Gambar 5.32. Total kromatogram ion positif (+) fraksi K6

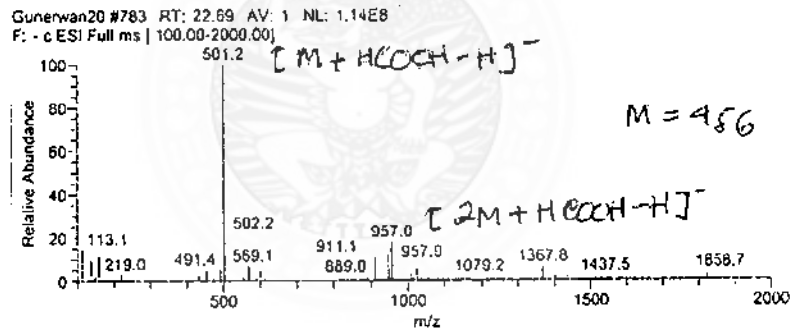


Gambar 5.33. Total kromatogram ion negatif (-) fraksi K6

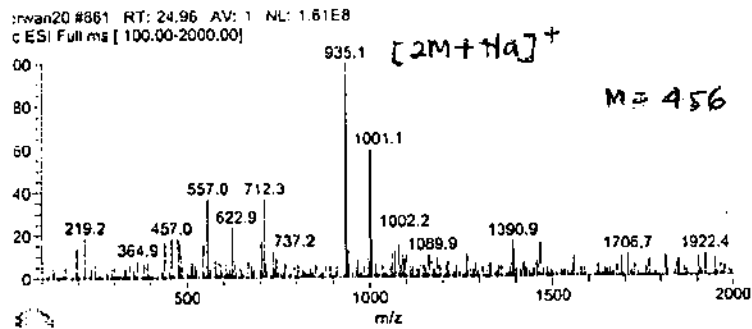
❖ Hasil analisis HPLC-MS Fraksi K6
 Pada gambar-gambar di bawah ini menunjukkan kromatogram hasil analisis HPLC-MS dari fraksi K6.



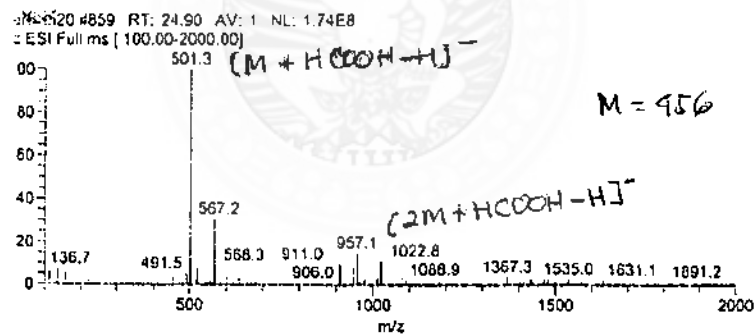
Gambar 5.34. Spektromassa ESI (+) dari puncak dengan RT = 22,74 menit



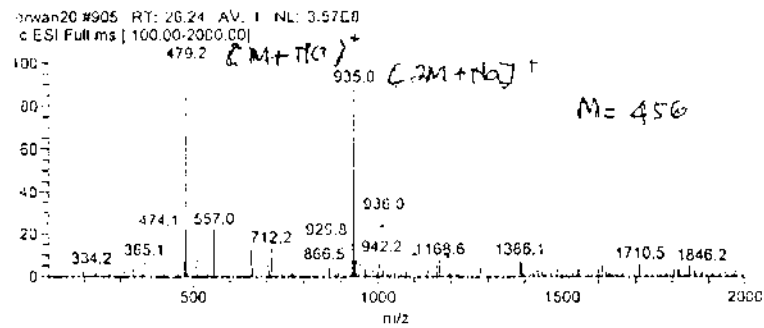
Gambar 5.35. Spektromassa ESI (-) dari puncak dengan RT = 22,69 menit



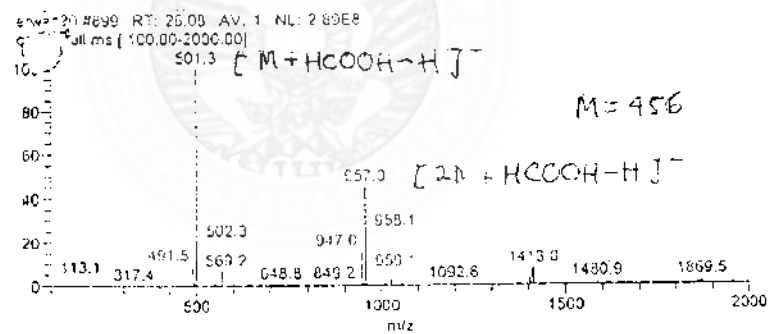
Gambar 5.36. Spektromassa ESI (+) dari puncak dengan RT = 24,96 menit



Gambar 5.37. Spektromassa ESI (-) dari puncak dengan RT = 24,90 menit



Gambar 5.38. Spektromassa ESI (+) dari puncak dengan RT = 26,24 menit



Gambar 5.39. Spektromassa ESI (-) dari puncak dengan RT = 26,08 menit



BAB 6

PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Hasil skrining fitokimia terhadap simplisia *Fagraea racemosa* Jack ex Wall yang dilakukan secara kualitatif dengan metode reaksi warna seperti yang terdapat pada tabel 5.1, dapat disimpulkan bahwa simplisia akar + kulit akar mengandung banyak alkaloid, saponin, sedikit tanin dan banyak mengandung sterol-terpenoid. Simplisia kulit akar mengandung banyak alkaloid, saponin, sedikit tanin dan sterol-terpenoid. Simplisia kulit batang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan sterol terpenoid. Dan simplisia daun mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan sterol terpenoid.

Sedangkan hasil pemisahan komponen yang terkandung dalam *Fagraea racemosa* Jack ex Wall pada ekstraksi, prosentase terbesarnya pada semua bagian tanaman (kulit akar, akar, kulit batang dan daun) adalah pada fase metanol yaitu 9 – 10%, kemudian fase petroleum eter 4 – 5% dan prosentase terkecil pada fase kloroform yaitu 1 – 3%. Untuk hasil isolasi prosentase terbesar dari masing-masing isolat atau fraksi berbeda berturut-turut : pada fraksi kulit akar+akar kloroform (C) diperoleh pada fraksi C1 ± 8,7%, pada fraksi akar metanol (M) adalah fraksi M5 yaitu ± 6,5% dan pada fraksi kulit batang metanol (K) prosentase terbesar diperoleh pada fraksi K7 yaitu ± 2.2 %.

Hasil analisis kromatografi lapisan tipis (TLC) terhadap ekstrak kloroform (gambar 5.1) tampak bahwa pada ekstrak akar ada 2 (dua) bercak. Untuk ekstrak kulit akar dan kulit batang hanya 1 (satu) bercak, dimana Rf-nya sama dengan salah satu dari ekstrak akar. Ini mungkin senyawa lignan atau lignin karena pada ketiga bagian tanaman tersebut sama-sama memiliki jaringan keras yaitu yang disebut kayu (Harborne, 1999), sedangkan pada ekstrak daun tidak

terelusi. Dari semua bagian tanaman tidak ada bercak yang sama dengan senyawa standar (pinoresinol). Sementara hasil uji toksisitasnya terhadap larva udang (tabel 5.6) ekstrak akar (AC) dan kulit akar (KAC) menunjukkan kematian yang paling besar, hal ini signifikan dengan harga LC₅₀-nya (tabel 5.8) yaitu AC = 105 x 10 µg/mL dan KAC = 994 µg/mL. Sementara hasil uji peredamannya terhadap pereaksi DPPH yang dinyatakan dengan harga EC₅₀, untuk ekstrak AC sebenarnya merupakan campuran dengan ekstrak KAC. Jadi harga EC₅₀-nya pada menit ke-45 maupun ke-60 adalah terbesar dibandingkan dengan yang lainnya (tabel 5.10). Harga EC₅₀ terkecil terjadi pada ekstrak kulit batang (KBC) yaitu 74,50 ppm (pada menit ke-60). Tetapi uji toksisitasnya terhadap larva udang ternyata terjadi sebaliknya yaitu harga LC₅₀-nya cukup besar = 138 x 10 µg/mL. Harga EC₅₀ yang besar menunjukkan peredaman yang lemah terhadap pereaksi DPPH, sebaliknya harga EC₅₀ terkecil menunjukkan peredaman yang kuat terhadap pereaksi DPPH. Untuk selanjutnya ekstrak kulit akar (KAC) dan akar (AC) dipilih untuk dilanjutkan isolasinya, berdasarkan dari hasil uji toksisitasnya ini.

Pada **ekstrak metanol** hasil analisis TLC-nya (gambar 5.2) menunjukkan bahwa pada ekstrak akar diperoleh 4 (empat) bercak, kulit akar ada 3 (tiga) bercak dan ketiga-tiganya mempunyai kemiripan R_f dan bentuk bercak yang sama dengan 3 bercak dari ekstrak akar. Pada ekstrak kulit batang hanya ada satu bercak dan mempunyai kemiripan harga R_f dan bentuk yang sama dengan salah satu bercak dari ekstrak akar dan kulit akar. Analog pada ekstrak kloroform, maka walaupun R_f-nya tidak sama dengan lignan pinoresinol mungkin senyawa ini juga senyawa lignan atau lignin yang lain, sebab didalam ketiga bagian tanaman tersebut memiliki jaringan keras. Sementara itu pada ekstrak daun hanya ada satu bercak yang R_f-nya tidak ada yang sama dengan ekstrak-ekstrak yang lain, mungkin di dalam daun tidak terdapat senyawa lignan atau lignin. Hal ini didukung dengan fakta bahwa di dalam daun hampir tidak ada jaringan kerasnya.

Hasil uji aktifitas dari ekstrak-ekstrak yaitu uji toksisitas terhadap larva udang hampir

pada semua ekstrak menunjukkan kematian yang kecil kecuali kulit batang (KBM), dimana harga LC50-nya = $110 \times 10 \mu\text{g/mL}$ (tabel 5.8). Peredamannya terhadap pereaksi DPPH (tabel 5.10) ternyata juga cukup besar dengan harga EC50 = 87,29 ppm (pada menit ke-30) dan 96,74 ppm (pada menit ke-60). Namun harga EC50 terkecil terjadi pada ekstrak daun (DM) yaitu 46,71 ppm (pada menit ke-30) (tabel 5.11) tetapi harga LC50-nya besar yaitu $157 \times 10 \mu\text{g/mL}$. Selanjutnya ekstrak kulit batang dipilih untuk diisolasi dengan pertimbangan kedua macam uji (toksisitas terhadap larva udang dan peredaman terhadap DPPH) ternyata memberikan hasil yang cukup besar. Sementara ekstrak akar juga dilanjutkan ke isolasi, ini mengacu pada hasil penelitian Okuyama *et al* (1995) yang mendapatkan senyawa lignan pada bahan ini, yang mana pada tumbuhan lain mempunyai khasiat bermacam-macam diantaranya sebagai antikanker (lariciresinol) dan kemopreventif melawan kanker-kanker (pinoresinol). Juga didukung adanya teori bahwa senyawa-senyawa lignan larut dalam pelarut-pelarut polar (Harborne, 1999).

Adapun perbandingan toksisitas ekstrak berdasarkan harga LC50 dari ekstrak kloroform berturut-turut : Kulit akar < akar < kulit batang < daun, dan perbandingan harga LC50 dari ekstrak metanol berturut-turut : kulit batang < akar < kulit akar < daun. Jika dibandingkan dari jenis pelarutnya maka perbandingan harga LC50 : ekstrak CHCl₃ < ekstrak MeOH. Hal ini terjadi, kemungkinan senyawa toksik yang larut dalam fase kloroform paling banyak, ini didukung oleh teori yang menyatakan bahwa zat-zat yang terlarut dalam kloroform adalah flavonoid, seskuiterpen, lakton dan terpenoid (Harborne, 1973). Sedangkan pada fase metanol masih ada sedikit zat toksik yang terlarut, terutama pada ekstrak kulit batang.

Sementara itu peredaman ekstrak-ekstrak terhadap pereaksi DPPH berdasarkan harga EC50 diperoleh hasil perbandingan antar bagian tanaman berturut-turut : DM < KAM < KBM < AM < DC < KBC < AC .

Perbandingan kedua uji aktifitas tersebut diatas seperti tampak pada gambar 5.6, memberikan gambaran relatif bahwa ekstrak yang mempunyai potensi toksik terhadap larva udang ternyata tidak cukup kuat meredam pereaksi DPPH, sebaliknya ekstrak yang kuat peredamannya terhadap pereaksi DPPH ternyata tidak cukup toksik untuk mematikan larva udang.

Analisis kromatografi lapisan tipis (TLC) pada masing-masing fraksi sebagai berikut. Pada **fraksi kloroform kulit akar (C)** (gambar 5.3) menunjukkan pemisahan yang cukup bagus yaitu adanya bercak senyawa yang Rf-nya semakin kecil. Pada **fraksi C1** diperoleh 4 (empat) bercak atau komponen senyawa, salah satunya mempunyai kemiripan Rf dengan senyawa pinoresinol. Sedangkan dari analisis instrumennya yaitu HPLC – DAD yang diukur pada $\lambda = 235$ nm diperoleh 1 (satu) puncak atau komponen senyawa yang dominan (gb. 5.10); pada $\lambda = 254$ nm diperoleh 6 (enam) senyawa yang dominan (gambar 5.11) ; pada $\lambda = 280$ nm diperoleh 2 (dua) senyawa yang dominan (gb. 5.12) dan pada $\lambda = 340$ nm diperoleh 6 (enam) beberapa senyawa namun masih belum murni (gb. 5.13). Bila dibandingkan dengan hasil analisis TLC-nya berarti bahwa kemungkinan masih ada senyawa yang tertumpuk dengan yang lainnya atau dengan menggunakan eluen tersebut elusinya tidak sempurna. Sementara itu dari hasil analisis pada UV 254 nm (gambar 5.14) yang diukur pada 3 (tiga) titik puncak HPLC menunjukkan spektra pada masing-masing puncak yaitu puncak ke-1 ; 2 ; 3 ; 5 dan 6 yang cukup bagus, ini berarti senyawanya relatif murni. Sedangkan pada puncak ke-4 menunjukkan spektra dari senyawa yang tidak murni. Dari hasil analisis HPLC – MS pada gambar 5.15 yaitu total kromatogram ion positif (+) menunjukkan adanya satu puncak atau senyawa yang dominan yang muncul pada waktu retensi (RT) = 20,70 menit. Dan pada gambar 5.16 yaitu total kromatogram ion negatif (-) menunjukkan adanya 3 (tiga) puncak atau senyawa yang dominan masing-masing muncul pada RT = 18,09 menit ; 19,07 menit dan 24,01 menit. Namun diantara

keduanya tidak ada senyawa yang muncul pada (RT) yang sama. Hal ini berpengaruh pada penghitungan pada analisis spektromassanya yaitu tidak bisa diperoleh massa molekul relatifnya (M^+) m/z. Seperti contohnya, dari fragmentasi spektromassanya, yaitu spektromassa ESI positif (+) (gb. 5.17), jika $M^+ = 231$ maka $[M + Na]^+ = 254$ mendekati $M^+ = 253,8$. Namun M^+ ini tidak ada yang sesuai dengan spektromassa ESI negatif (-)-nya (gb. 5.18). Ini berarti bahwa M^+ tersebut meragukan, sehingga tidak bisa digunakan untuk meramalkan senyawa tertentu. Ketidaktepatan hasil analisis ini mungkin disebabkan oleh kurang murninya fraksi atau eluen yang digunakan atau alat yang digunakan atau faktor-faktor yang lainnya. Sementara itu **uji toksisitas** terhadap larva udang dari fraksi C1 menunjukkan kematian larva udang yang paling besar, hal ini signifikan dengan harga LC50 yang terkecil yaitu 226 $\mu\text{g/mL}$ (tabel 5.9), namun **uji peredaman** terhadap DPPH relatif kecil (tabel 5.12), dimana diperoleh harga EC50 = 91,28 ppm (pada menit ke-30) dan 111,5 ppm (pada menit ke-60) dengan % peredaman maksimal 37,3% (lampiran 3).

Hasil analisis TLC dari fraksi C2 juga diperoleh 4 (empat) komponen senyawa, 3 (tiga) senyawa diantaranya mempunyai harga Rf sama dengan fraksi C1 dan salah satunya mempunyai Rf yang sama dengan senyawa pinosresinol. Selain itu salah satu senyawa yang lain dari fraksi C2 mempunyai harga Rf yang sama dengan fraksi C3 dan C4. Dari hasil analisis HPLC-MS (tabel 5.13) yaitu fraksi C2 dapat dihitung minimal satu senyawa yang mempunyai $M^+ = 462$, sedangkan fraksi C3 minimal 2 (dua) macam senyawa M^+ -nya = 462 dan 488 padahal pada analisis TLC cuma 1 (satu) senyawa. Ini menunjukkan bahwa dari hasil analisis TLC tidak akurat, ini mungkin disebabkan oleh kekurangtepatan eluennya. Untuk fraksi C4 minimal 1 (satu) senyawa dengan $M^+ = 488$. Sementara itu fraksi C5 dan fraksi C6 masing-masing diperoleh 1 (satu) senyawa dengan Rf berbeda satu sama lainnya. Dan dari analisis HPLC-MS

untuk C5 tidak dilakukan fragmentasi pada RT yang bersesuaian dan dari fraksi C6 diperoleh minimal 1 (satu) senyawa dengan $M^+ = 587$.

Perbandingan hasil uji toksisitas terhadap larva udang dari fraksi-fraksi ini ditunjukkan dengan harga LC_{50} , seperti yang tampak pada tabel 5.9 adalah : $C1 < C3 < C2 < C4 < C6$. Dan perbandingan uji peredamannya terhadap DPPH sebagai harga EC_{50} pada menit ke-30 adalah : $C1 < C4 < C3 < C6$ dan pada menit ke-60 : $C1 < C3 < C4 < C6$. Dari hasil ini dapat dinyatakan bahwa fraksi-fraksi kloroform kulit akar (C) menunjukkan sifat cukup toksik terhadap larva udang, tetapi peredamannya terhadap DPPH lemah, sebaliknya jika toksisitasnya terhadap larva udang kecil ternyata peredamannya terhadap DPPH lebih lemah lagi. Secara umum dapat disimpulkan bahwa fraksi ini toksisitasnya terhadap larva udang cukup besar, namun peredamannya terhadap pereaksi DPPH sangat lemah.

Pada fraksi metanol akar (M) menunjukkan pemisahan yang kurang bagus, ini bisa dilihat dari pola bercak yang nampak dimana dari fraksi ke fraksi masih terbawa senyawa yang sama. Sementara tak satu pun fraksi yang mempunyai harga R_f yang sama dengan pinoresinol, padahal dalam penelitian yang dilakukan oleh Okuyama *et.al*, 1995 terdapat senyawa tersebut. Hal ini kemungkinan disebabkan antara lain: metode ekstraksi dan isolasi yang dipakai tidak tepat dan kemungkinan juga faktor-faktor teknis lain yang berbeda. Pada gambar 5.4 tampak bahwa hasil analisis TLC dari fraksi M1 diperoleh 1 (satu) senyawa, sementara dari hasil analisis HPLC-MS yaitu total kromatogram ion positif (+) menunjukkan adanya 4 (empat) senyawa yang dominan yang masing-masing muncul pada $RT = 23,19 ; 28,63 ; 32,04$ dan $34,11$ (gb. 5.21) dan pada total kromatogram ion negatif (-) menunjukkan beberapa senyawa yang dominan namun tidak terlalu tajam (bercabang atau bercampur) (gb. 5.22). dari kedua kromatogram tersebut tampak adanya persamaan puncak yang muncul pada RT tertentu. Dari fragmentasi spektrumnya, yaitu dari tabel 5.13 dihitung minimal 2 (dua) senyawa dengan

M^+ = 587 dan 891. Sementara itu dari hasil analisis TLC pada fraksi M2 diperoleh 2 (dua) senyawa dan salah satunya R_f -nya sama dengan fraksi M1 dan hasil analisis spektromassanya (tabel 5.13) diperoleh minimal 1 (satu) senyawa dengan M^+ = 587. Hasil analisis untuk fraksi M3 diperoleh 4 (empat) senyawa dan fraksi M4 diperoleh 5 (lima) senyawa. Pada fraksi M3 dan M4 ada 4 (empat) senyawa yang sama, satu diantaranya ada yang sama R_f -nya dengan fraksi M1 dan M2 dan masing-masing satu dengan yang lainnya sama dengan fraksi M2 dan M5. Fraksi M5 diperoleh 3 (tiga) senyawa. Hasil analisis HPLC-MS untuk fraksi M3, M4 dan M5 puncak-puncak yang dianalisis tidak tepat, sehingga sulit dilakukan penghitungan M^+ nya.

Perbandingan hasil uji toksisitas terhadap larva udang dari fraksi-fraksi ini ditunjukkan dengan harga LC_{50} , seperti yang tampak pada tabel 5.9 adalah : $M1 < M2 < M3 < M4 < M5$. Dan perbandingan uji peredamannya terhadap DPPH (tabel 5.12) pada menit ke-45 adalah : $M1 < M2 < M4 < M3 < M5$. Dan pada menit ke-60 : $M2 < M1 < M3 < M4 < M5$. Dari perbandingan kedua uji ini (gb. 5.8) dapat disimpulkan bahwa fraksi-fraksi metanol akar (M) tidak menunjukkan sifat toksik terhadap larva udang namun peredamannya terhadap DPPH sangat kuat, terutama fraksi M1 dan M2.

Untuk analisis TLC pada **fraksi metanol kulit batang (K)** yang nampak pada gambar. 5.5, diperoleh pemisahan 8 (delapan) fraksi dan hasil pemisahannya relatif lebih bagus dibandingkan dengan 2 (dua) pengerjaan isolasi terdahulu. Hal ini nampak dari bercaknya yang bergradien dengan harga R_f relatif tidak sama satu dengan yang lainnya. Dari hasil isolasi ini juga tidak nampak adanya senyawa pinoresinol. Ini kemungkinan salah satunya disebabkan oleh kekurangtepatan fase gerak yang dipakai walaupun elusinya sudah cukup bagus. Uji toksisitas dari fraksi ini hanya dilakukan pada 4 (empat) fraksi yaitu fraksi : K4 ; K5 ; K6 dan K7, sisanya tidak dilakukan karena jumlah bahan tidak mencukupi. Adapun hasil toksisitasnya ditunjukkan dengan harga LC_{50} (tabel 5.9) dan diperoleh perbandingan = $K6 < K4 < K7 < K5$. Di lain pihak

Uji peredaman fraksi ini terhadap DPPH yang ditunjukkan sebagai harga EC50 yang nampak pada tabel 5.12 pada menit ke-45 adalah : $K7 < K6 < K5 < K4$ dan pada menit ke-60 : $K6 < K7 < K5 < K4$. Dari kedua uji aktifitas ini (gb. 5.9) dapat disimpulkan bahwa jika toksisitas fraksi metanol kulit batang terhadap larva udang besar, maka peredamannya terhadap pereaksi DPPH juga relatif besar. Berarti fraksi K6 adalah fraksi yang paling potensial toksisitas dan peredamannya terhadap DPPH. Hasil analisis TLC dari fraksi K6 (gb. 5.5) hanya diperoleh 2 (dua) senyawa, sedangkan dari hasil analisis HPLC-DADnya pada $\lambda = 235$ nm diperoleh 7 (tujuh) puncak atau komponen senyawa yang dominan (gb. 5.27) ; pada $\lambda = 254$ nm (gb. 5.28) tampak 7 (tujuh) senyawa yang dominan (gb. 5.28) ; pada $\lambda = 280$ nm diperoleh 9 (sembilan) yang dominan dan pada $\lambda = 340$ nm diperoleh 1 (satu) puncak atau komponen senyawa yang dominan. Dari spektra UV (gb. 5.31) puncak ke-1 senyawanya tidak murni dan puncak-puncak ke-2, ke-3, dan ke-4 senyawanya relatif murni. Puncak ke- 5, ke-6 dan ke-7 tidak dibuat spektranya. Ini menunjukkan bahwa hasil-hasil isolasi atau analisis TLCnya menunjukkan masih belum murni. Dari hasil analisis HPLC-MS yaitu pada total kromatogram ion positif (gb. 5.32) tampaknya ada kesesuaian dengan total kromatogram ion negatif (gb. 5.33), sehingga dapat diperoleh M^+ nya. Contohnya pada spektromassa ESI (+) (gb. 5.34 jika $M^+ = 456$ maka $[2M + Na]^+ = 935$ dan pada spektromassa ESI (-) (gb.5.35) $[M + HCOOH - H]^- = 501$ mendekati 501,2. Demikian juga pada gambar 5.36 – gb.5.39.

Secara umum dapat disimpulkan perbandingan toksisitas fraksi terhadap larva udang fraksi $CHCl_3$ kulit akar) MeOH kulit batang) MeOH akar dan peredaman terhadap DPPH berturut-turut : Fraksi MeOH akar (M)) Fraksi MeOH kulit batang (K)) Fraksi $CHCl_3$ kulit akar (C). Jadi fraksi C berpotensi toksik terhadap larva udang, namun tidak meredam DPPH. Sedangkan fraksi M sebaliknya sangat meredam DPPH, namun tidak toksik terhadap larva

udang. Sementara fraksi K mempunyai sifat toksik terhadap larva udang dan juga cukup meredam DPPH.

Jika suatu senyawa dinyatakan potensial bersifat toksik terhadap larva udang, maka senyawa tersebut berpotensi sitotoksik yaitu dapat digunakan sebagai obat anti tumor atau anti kanker. Dan jika suatu senyawa dinyatakan berpotensi meredam DPPH berarti senyawa tersebut antioksidan. Kanker disebabkan oleh adanya radikal bebas yang menyerang purin dan pirimidin sebagai dasar DNA, akhirnya perilaku sel berubah (rusak) atau terjadi mutasi gen (DNA). Dengan adanya senyawa antioksidan maka kerusakan sel bisa dicegah (senyawa bersifat antioksidan) dan bisa diperbaiki sehingga tidak berubah menjadi sel ganas (senyawa bersifat kemopreventif terhadap kanker). Namun bila suatu senyawa dinyatakan sitotoksik, mempunyai kemampuan membunuh sel kanker atau menghentikan pertumbuhan sel kanker (sitostatika) tetapi tidak dapat dijamin bahwa sel normal tidak mati. Dengan kata lain bahwa senyawa sitotoksik tidak mempunyai selektivitas membunuh sel kanker saja.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

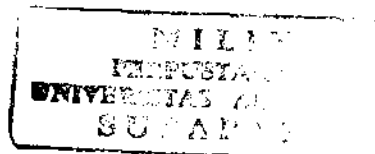
BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman *Fagraea racemosa* Jack ex Wall dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak kloroform kulit akar (KAC) adalah ekstrak yang relatif paling toksik terhadap larva udang, namun ekstrak ini tidak berpotensi sebagai bahan antioksidan.
2. Ekstrak metanol daun (DM) relatif sangat berpotensi sebagai bahan antioksidan, namun tidak toksik terhadap larva udang.
3. Ekstrak metanol kulit batang (KBM) relatif toksik terhadap larva udang dan berpotensi sebagai bahan antioksidan.
4. Fraksi C1 yang berasal dari isolasi ekstrak kloroform kulit akar adalah fraksi yang relatif paling toksik terhadap larva udang, namun tidak potensial sebagai bahan antioksidan. Dari hasil analisis HPLC-DAD dan HPLC-MS diketahui ada 6 (enam) komponen atau senyawa yang dominan dengan 5 (lima) senyawa relatif murni dan 1 (satu) senyawa tidak murni. Namun belum bisa diketahui jenis maupun massa molekul relatifnya (M^+).
5. Fraksi M1 dan M2 yaitu yang berasal dari isolasi ekstrak metanol akar tidak toksik terhadap larva udang, namun relatif sangat potensial sebagai bahan antioksidan, Dari hasil analisis HPLC-MS pada fraksi M1 diketahui ada 4 (empat) senyawa yang dominan, diantaranya diketahui ada 2 (dua) macam senyawa dengan M^+ (m/z) = 587 dan 891. Sedangkan pada fraksi M2 diketahui ada 3 (tiga) senyawa yang dominan, salah satunya adalah senyawa dengan M^+ (m/z) = 587.



DAFTAR PUSTAKA

- Aalt, B., Ronald, G., Crystal, M.D. 1991. **Proceedings of A Symposium. Oxidants and Antioxidants : Pathophysiologic Determinants and Therapeutic Agents.** The American Journal of Medicine, Vol. 91 (3C).
- Anonymous. 1972. **Flora Malesiana** 6, Kluwer, Dordrecht. pp. 309-315
- Backer, C.A, D.Sc and R.C. Bakhuizen Van Der Brink, Jr, Phd. 1968. **Flora of Java.** Wolter-Noordhof Groningen, The Netherlands Vol. II. pp 206.
- Camble, R., Lal, A.R., Rikard, C and Tanaka, N. 1990 **Chemistry of Fijian Plants Constituent of *Fagraea gracilipes* A.Gray.** Chem.Pharm. Bull. Vol. 38. no.7 pp. 1857-1861.
- Chen, C., Chen, H., Shiao, M., Lin, Y., Kuo and Ou, J. 1979. **Inhibition of Low Density Lipoprotein Oxidation by Tetrahydrofuran Lignans from *Forsythia suspensa* and *Magnolia coco*.** Journal Planta Medica vol.65, pp 709-711.
- Chen, J., Duh, C and Ih Sheng, C. 1999. **New Tetrahydroprotoberberine N-Oxide Alkaloids and Citotoxic Constituents of *Corydalis tashiroi*.** Journal Planta Medica Vol.65 pp. 643-647.
- Cuendet, M., Hostettman, K., Potterat, O and Dyatniko, W. 1997. **Iridoid Glucosides With Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea Blumei*.** Helvetica Chimica Acta, Vol. 80 pp. 1144 - 1152.
- Dallas, F.A. 1989. **Recent Advances in Thin-Layer Chromatography.** Present Press New York and London.
- Feng, C., Zhang, S., Chen, K., Zhou, B., Wang, P., Consentino, L.M and Lee, K. 1996. **Two New Lignans Intheriotherm A and B, as Anti HIV Principles from *Kadsura Interior*.** Journal Natural Product vol. 59, pp. 1066-1068.
- Halliwell, B. 1991. **Reactive Oxygen Species in Living Systems : Source, Biochemistry, and Role in Human Disease.** Proceedings of A Symposium. Oxidants and Antioxidants : Pathophysiologic Determinants and Therapeutic Agents. The American Journal of Medicine. Bast Aalt (eds), Vol. 91, 3C- 14S-20S.
- Harborne J.B. 1973. **Phytochemical Methods,** Chapman and Hall, London, pp. 101-102.
- Harborne J.B. 1991. **Methods in Plant Biochemistry, Vol. 6: Assays for Bioactivity.** Hostettman (ed). Series editor, pp. 7-10, Academic Press Limited.
- Harborne, J.B., Herbert, B and Gerard, P. 1999. **Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds From Plants.** Second Edition. Copyright Taylor & Francis Ltd.

- Kawamura, F., Kawai, S., Ohashi, H. 2000. **Lignan Causing photodiscoloration of *Tsuga heterophylla* : 8-hydroxy-oxomatairesinol from Sapwood.** Journal Phytochemistry Vol. 54, pp 439-444
- Keßler, J.A and Sidiyasa, K. 1994. **Trees of The Balikpapan-Samarinda Area, East Kalimantan, Indonesia. A Manual to 280 Selected Species.** Pp. 162. The Tropenbos Foundation Wageningen, The Netherlands.
- Kernan, M., Send ,A., Chen, J., Jolad,S., Blanc,P., Murphy,JT., Narakorn, W Stodart,CA., Balick,M and Rozhon, E. 1997. **Two New Lignans With Activity Against Influenza Virus from The Medicinal Plant *Rhinacanthus nasutus*.** Journal Natural Product vol.60, pp.635-637.
- Kulip, J.A 2002. **Preliminary Survey of Tradisional Medicinal Plants in The West Coast and Interior of Sabah.** [http : //www.borneofocus.com/vaic/R & D/articles.html](http://www.borneofocus.com/vaic/R%20D/articles.html). 24/04/02.
- Luckner, Martin. 1984. **Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants, and Animals.** pp. 442. Second revised and Enlarged Edition Springer Verlac. Berlin Heidelberg New York Tokyo
- Lucy, P., Gary, B , Vincent, F., Betty, W. 1999. **Isolation and Characterization of The Lignans, Isolariresinol and Pinoresinol in Flaxseed Meal.** <http://www.nsl.usda.gov/ttic/tektran/data/000009/53/0000095351.html> 7/3/99.
- Marcleuscher. 1998. **Untersuchungen Zur Enzymatik Dor UDP-Glucose : Conyferalkohol- β -glucosyltransferase in Zellkulturen Von *Linum album* und *Linum nodiflorum* der mathematisch-Naturwissen Schaffhiden fakultat der Heinrich-Heire Universitat Dusseldorf** Vorgelegt. Pp. 1-8.
- Markham, K.R. 1988 **Cara Mengidentifikasi Flavonoid.** (Terjemahan), Penerbit ITB Bandung.
- Pine, L., Stanley H., James B. Hendrickson, Donald J. Cram dan George S. Hammond, 1988. **Kimia Organik I dan II.** Edisi keempat, Penerbit ITB Bandung, hlm. 925, 954 – 959, 962, 979.
- Okuyama, E., Suzumura, K and Yamazaki, M. 1995 **Pharmacologically Active Components of Todopon Puok (*Fagraea racemosa*), a Medicinal Plant From Borneo.** Chem.Pharm.Bull. Vol.43. no. 12, pp 2200-2204.
- Owen, R., Mier,W., Giacosa, A., Hull, Spiegelhalder, B and Bartsch, H. 2000. **Identification of Lignans as Major Components in The Phenolic Fraction of Olive Oil.** Journal Clinical Chemistry Vol. 46 pp. 976-988.
- Rao, R. 1999. **MS Detection for LC Using Atmospheric Presurre Ionisation Techniques.** ThermoQuest Corporation. [http : //www.laballiance.com](http://www.laballiance.com).

- Schottner, M., Ganßer, D and Spitzler, G. 1997. **Lignans From The Roots of *Urtica dioica* and Their Metabolites Bond To Human Sex Hormone Binding Globulin (SHBG)**. Journal Planta Medica Vol.63, pp. 529-532.
- Shelly, T.E. 2000. **Trapping Male Oriental Fruits Flies (Diptera : Tephritidae): Does Feeding on A Natural Source of Methyl Eugenol Reduce Capture Probability?** Florida Entomologist, Vol.8, no.1, starting on page 109.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C and Morrill T.C. 1991. **Spectrometric Identification of Organic Compound**. John Wiley & Sons, Inc. pp. 3 – 40.
- Su, B., Zhu, Q., Gao, K., Yuan, C and Jia, Z. 1999. **Lignan and Phenylpropanoid Glycosides from *Lancea tibetica* and Their Antitumor Activity**. Journal Planta Medica Vol.65, pp. 558-561.
- Taborska, E., 1997. **Lignan in The Seeds and Fruits of *Schisandra Chinensis* Cultured in Europe**. Journal Planta Medica vol.63 pp. 277-280.
- Timbrell, J.A. 1985. **Principles Biochemical Toxicology**. Taylor Francis LTD London. Pp. 7-9.
- Tunsutapanich, A. 1986. **The Use of Rocksalt as a Substitute for Sea water in Macrobrachin Hatchery**. Training Course on Thailand.



LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Determinasi Tanaman

HERBARIUM WANARISSET
EAST KALIMANTAN, INDONESIA
(FLORA OF EAST KALIMANTAN)

HERBARIUM WANARISSET
EAST KALIMANTAN, INDONESIA
(FLORA OF EAST KALIMANTAN)

Adi, K.F. 1

16 Apr 2001

Loganiaceae

Mussaenda racemosa Jack ex Wall.

Detby.: Kustaniah Apr 2001

East Kalimantan, Km 38 Samboja.

Treelet 5.5 m tall, 10 cm diam. Flowers
whitish, young fruits green.

Common name:
Collected with


Dr. Ir. Kade Sidivasa

Lampiran 2 Hasil Analisis Probit dari Uji Toksisitas terhadap Larva Udang (BST)

No	Ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	LC50 ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata LC50 ($\mu\text{g/mL}$)
1	2	3	4	5	6
1	Kulit akar metanol (KAM)	10.0	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100	I	169.92	160
			II	149.79	
			III	-	
		100 x 10	I	1279.09	1305
			II	1405.59	
			III	1228.87	
2	Kulit akar kloroform (KAC)	10.0	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100	I	139.54	150
			II	139.54	
			III	169.92	
		100 x 10	I	981.82	994
			II	1018.86	
			III	981.82	
3	Kulit akar poth.eter (KAP)	10.0	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100 x 10	I	-	1537
			II	-	
			III	1537.18	
4	Akar metanol a (AMa)	10.0	I	17.28	17.3
			II	-	
			III	-	
		100	I	149.79	159.9
			II	-	
			III	169.92	
		100 x 10	I	1131.29	1229
			II	1325.91	
			III	1228.87	
5	Akar metanol b (AMb)	10.0	I	13.19	13.2
			II	-	
			III	-	
		100	I	139.54	153
			II	169.92	
			III	149.79	
		100 x 10	I	1192.02	1249
			II	1325.91	
			III	1228.87	

1	2	3	4	5	6
6	Akar kloroform a (ACa)	10.0	I	12.68	14.9
			II	14.68	
			III	17.28	
		100	I	132.54	111
			II	94.69	
			III	105.94	
		100 x 10	I	1018.86	1046
			II	1081.55	
			III	1038.59	
7	Akar kloroform b (ACb)	10.0	I	13.88	12.6
			II	10.59	
			III	13.19	
		100	I	132.54	123
			II	119.17	
			III	115.97	
		100 x 10	I	1081.55	1053
			II	1018.86	
			III	1059.4	
8	Akar peth.eter (AP)	10.0	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100 x 10	I	1739.43	1739
			II	-	
			III	-	
9	Kulit batang metanol (KBM)	10.0	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100	I	139.54	155
			II	-	
			III	169.92	
		100 x 10	I	1038.59	1104
			II	1081.55	
			III	1192.02	
10	Kulit batang kloroform (KBC)	10.0	I	-	-
			II	-	
			III	-	
		100	I	-	155
			II	169.92	
			III	139.54	
		100 x 10	I	-	-
			II	-	
			III	-	

1	2	3	4	5	6
11	Kulit batang peth.eter (KBP)	10.0	I	-	-
			II	-	-
			III	-	-
		100	I	169.92	155
			II	139.54	-
			III	-	-
		100 x 10	I	1272.39	1584
			II	1739.43	-
			III	1739.43	-
12	Daun metanol (DM)	10.0	I	-	-
			II	-	-
			III	-	-
		100	I	-	169
			II	169.00	-
			III	-	-
		100 x 10	I	-	-
			II	-	-
			III	-	-
13	Daun kloroform (DC)	10.0	I	-	-
			II	-	-
			III	-	-
		100	I	-	-
			II	-	-
			III	-	-
		100 x 10	I	1325.91	1490
			II	1405.59	-
			III	1739.43	-
14	Daun peth.eter (DP)	10.0	I	17.28	17.3
			II	-	-
			III	17.28	-
		100	I	-	140
			II	139.54	-
			III	-	-
		100 x 10	I	1537.18	1561
			II	1405.59	-
			III	1739.43	-

No	Fraksi	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml.}$)	Replikasi	LC50 ($\mu\text{g/ml.}$)	Rata-rata LC50 ($\mu\text{g/ml.}$)
1	2	3	4	5	6
1	C1		I	10.59	
		10.0	II	11.89	11.2
		50.0	I	49.09	
			II	50.00	49.5
		100	I	92.98	
		II	94.69	93.8	
		250	I	215.32	
			II	236.73	226
2	C2		I	12.67	
		10.0	II	12.67	12.7
		50.0	I	50.00	
			II	52.97	51.5
		100	I	105.94	
		II	100.00	103	
		250	I	254.72	
			II	250.00	252
3	C3		I	11.05	
		10.0	II	11.89	11.5
		50.0	I	55.26	
			II	50.00	52.6
		100	I	105.94	
		II	103.86	104.9	
		250	I	250.00	
			II	245.46	248
4	C4		I	12.67	
		10.0	II	12.25	12.5
		50.0	I	57.98	
			II	55.26	56.6
		100	I	105.94	
		II	103.86	105	
		250	I	259.65	
			II	254.72	257
5	C6		I	11.29	
		10.0	II	12.25	11.8
		50.0	I	69.68	
			II	59.57	64.6
		100	I	108.15	
		II	108.15	108.2	
		250	I	289.98	
			II	264.85	277

No	Fraresi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	LC50 ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata LC50 ($\mu\text{g/mL}$)
1	2	3	4	5	6
1	K4	10.0	I	13.19	14.1
			II	14.98	
		50.0	I	63.57	62.5
			II	61.41	
		100	I	110.53	117
			II	122.85	
		250	I	270.38	268
			II	264.85	
2	K5	10.0	I	12.25	12.5
			II	12.67	
		50.0	I	56.55	56.6
			II	56.55	
		100	I	108.15	107
			II	105.94	
		250	I	298.06	284
			II	270.38	
3	K6	10.0	I	11.29	11.6
			II	11.89	
		50.0	I	57.98	58.8
			II	59.57	
		100	I	105.94	114
			II	122.85	
		250	I	241.04	243
			II	245.46	
4	K7	10.0	I	11.89	12.1
			II	12.25	
		50.0	I	56.55	54.8
			II	52.97	
		100	I	96.42	105
			II	113.12	
		250	I	282.81	271
			II	259.65	

No	Fraksi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	LC50 ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata LC50 ($\mu\text{g/mL}$)
1	2	3	4	5	6
1	M1		I	14.60	
		10.0	II	17.28	15.9
		50.0	I	66.22	
			II	74.71	70.5
		100	I	139.54	
		II	127.19	133	
		250	I	282.81	
			II	289.99	286
2	M2		I	17.28	
		10.0	II	14.98	16.1
		50.0	I	74.71	
			II	74.71	74.7
		100	I	127.19	
			II	139.54	133
		250	I	307.35	
			II	298.60	303
3	M3		I	-	
		10.0	II	-	
		50.0	I	-	
			II	78.94	78.9
		100	I	149.79	
			II	169.92	160
		250	I	318.06	
			II	331.43	325
4	M4		I	-	
		10.0	II	-	
		50.0	I	-	
			II	-	
		100	I	-	
			II	169.92	170
		250	I	348.88	
			II	374.26	362
5	M5		I	-	
		10.0	II	-	
		50.0	I	-	
			II	-	
		100	I	169.92	
			II	-	170
		250	I	397.36	
			II	374.26	386

Lampiran 3. Hasil Pengukuran Uji Peredaman DPPH Ekstrak dan Fraksi *Fagraea racemosa* JACK EX WALL

Dilute Ekstrak

Dosis (µg/ml)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam
40	0.812	0.959	0.819	0.1235		0.821	0.940	0.812	0.1235		0.827	0.945	0.816	0.1235		0.831	0.952	0.822	0.1235		0.831	0.946	0.817	0.1290	
40	0.767	0.878	0.763	0.1130		0.807	0.929	0.796	0.1235		0.839	0.963	0.835	0.1260		0.846	0.915	0.847	0.1285		0.858	0.991	0.850	0.1370	
				0.1183					0.12550					0.12475					0.1270						0.1330

EKSTRAK KAM

16.67	0.581	0.679	0.595	0.0910	23.0769	0.589	0.683	0.602	0.0895	28.6853	0.600	0.699	0.614	0.0920	26.2515	0.604	0.704	0.618	0.0930	26.7717	0.621	0.709	0.621	0.0880	33.8346
50	0.500	0.586	0.516	0.0780	34.0659	0.495	0.582	0.512	0.0785	37.4502	0.492	0.578	0.511	0.0760	39.0782	0.484	0.569	0.502	0.0760	40.1535	0.471	0.561	0.493	0.0785	40.9774
83.33	0.497	0.578	0.511	0.0740	37.4472	0.483	0.562	0.500	0.0705	43.8247	0.469	0.549	0.487	0.0710	43.0662	0.461	0.536	0.474	0.0685	46.0630	0.442	0.523	0.462	0.0710	46.6165
116.7	0.457	0.530	0.475	0.0640	45.9003	0.436	0.501	0.451	0.0623	50.1992	0.402	0.473	0.426	0.0590	52.7054	0.378	0.447	0.402	0.0570	55.1181	0.359	0.427	0.383	0.0560	57.8947
150	0.395	0.464	0.412	0.0605	48.8588	0.315	0.400	0.361	0.0530	58.5657	0.301	0.362	0.338	0.0475	61.9238	0.287	0.345	0.314	0.0445	64.9606	0.264	0.313	0.298	0.0320	75.9398

EKSTRAK AM

16.67	0.533	0.630	0.578	0.0845	28.5714	0.550	0.648	0.575	0.0855	31.8725	0.530	0.633	0.580	0.0900	23.4429	0.565	0.667	0.595	0.0870	31.4961	0.596	0.703	0.626	0.0920	30.8271
50	0.497	0.585	0.517	0.0780	34.0659	0.488	0.574	0.504	0.0780	37.8486	0.484	0.574	0.509	0.0775	37.8758	0.489	0.581	0.515	0.0790	37.7953	0.498	0.589	0.523	0.0785	40.9774
83.33	0.449	0.535	0.479	0.0710	39.9831	0.426	0.508	0.456	0.0670	46.6135	0.412	0.495	0.446	0.0660	49.0942	0.409	0.492	0.445	0.0650	48.8189	0.406	0.488	0.443	0.0635	52.2556
116.7	0.395	0.470	0.419	0.0630	46.7456	0.394	0.469	0.393	0.0555	39.8406	0.371	0.446	0.404	0.0583	53.1062	0.359	0.437	0.395	0.0600	52.7559	0.351	0.426	0.399	0.0555	58.2707
150	0.422	0.488	0.446	0.0550	53.5080	0.350	0.419	0.377	0.0555	55.7769	0.334	0.402	0.363	0.0535	57.1142	0.316	0.384	0.348	0.0520	59.0551	0.309	0.376	0.341	0.0510	61.6541

EKSTRAK KBM

Dosis (µg/ml)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam	AS37	AS17	A497	Ahit	%redam
16.67	0.446	0.518	0.461	0.0645	22.1014	0.443	0.516	0.457	0.0660	21.1470	0.446	0.520	0.462	0.0660	12.0000	0.451	0.524	0.463	0.0670	18.9843	0.457	0.530	0.468	0.0675	17.1779
50	0.380	0.446	0.394	0.0390	28.7440	0.371	0.433	0.386	0.0750	10.3943	0.365	0.429	0.382	0.0555	26.0000	0.363	0.427	0.378	0.0565	31.0808	0.363	0.429	0.380	0.0575	29.4479
83.33	0.355	0.415	0.370	0.0325	36.5942	0.342	0.402	0.361	0.0505	39.6655	0.365	0.389	0.352	0.0305	59.3333	0.328	0.384	0.347	0.0465	43.7727	0.321	0.379	0.342	0.0475	41.7178
116.7	0.326	0.377	0.340	0.0470	41.2367	0.305	0.354	0.325	0.0390	53.4050	0.385	0.334	0.352	0.0355	79.3333	0.275	0.325	0.296	0.0395	52.2370	0.273	0.315	0.293	0.0320	60.7362
150	0.303	0.356	0.330	0.0395	52.2947	0.278	0.326	0.307	0.0335	59.9761	0.264	0.301	0.286	0.0270	64.0000	0.253	0.289	0.272	0.0265	67.9565	0.243	0.280	0.272	0.0225	72.3926

EKSTRAK AC

16.67	0.766	0.872	0.754	0.1120	5.3254	0.776	0.887	0.777	0.1105	11.9522	0.687	0.793	0.702	0.0985	21.0421	0.715	0.822	0.709	0.1100	13.3858	0.587	0.705	0.566	0.1285	3.1835
50	0.820	0.942	0.823	0.1205	-1.8597	0.746	0.851	0.738	0.1090	13.1474	0.716	0.815	0.718	0.0980	21.4429	0.701	0.810	0.700	0.1095	13.7795	0.718	0.824	0.718	0.1060	20.3008
83.33	0.838	0.949	0.822	0.1190	-0.5917	0.767	0.871	0.765	0.1050	16.3347	0.735	0.827	0.724	0.0975	21.8437	0.664	0.762	0.671	0.0945	25.3906	0.634	0.752	0.661	0.0955	18.1955
116.7	0.823	0.944	0.835	0.1150	2.7895	0.724	0.833	0.732	0.1050	16.3347	0.701	0.802	0.716	0.0935	25.0501	0.604	0.693	0.617	0.0825	35.0394	0.587	0.675	0.600	0.0815	38.7218
150	0.817	0.918	0.799	0.1100	7.0163	0.658	0.753	0.663	0.0925	26.2948	0.623	0.714	0.635	0.0850	31.8437	0.512	0.590	0.532	0.0680	46.4567	0.498	0.589	0.523	0.0785	40.9774

FAKSI KULTUR BATAANG PACEMORA (K5)

20	0.534	0.629	0.328	0.0940	-19.6151	0.519	0.604	0.511	0.0890	14.0091	0.509	0.595	0.505	0.0895	-18.6667	0.504	0.388	0.499	0.0865	20.4963	0.501	0.584	0.495	0.0860	20.0000
60	0.472	0.556	0.476	0.0820	-21.8125	0.444	0.520	0.446	0.0750	27.5762	0.474	0.497	0.478	0.0710	5.3533	0.417	0.488	0.419	0.0704	35.6618	0.408	0.477	0.410	0.0680	36.7442
100	0.393	0.463	0.392	0.0705	-4.7548	0.408	0.348	0.405	0.0605	41.5439	0.319	0.379	0.322	0.0583	22.0000	0.307	0.363	0.310	0.0545	49.9081	0.290	0.344	0.296	0.0510	52.5581
140	0.320	0.381	0.328	0.0570	15.3046	0.266	0.310	0.276	0.0490	52.6570	0.239	0.286	0.245	0.0440	43.3333	0.224	0.266	0.217	0.0395	67.3715	0.205	0.245	0.220	0.0325	69.7674
180	0.237	0.341	0.294	0.0375	-12.1842	0.236	0.275	0.243	0.0355	65.7005	0.202	0.242	0.216	0.0330	56.0000	0.184	0.224	0.200	0.0320	70.5882	0.166	0.201	0.183	0.0265	73.3488

FAKSI KULTUR BATAANG PACEMORA (K6)

20	0.529	0.614	0.518	0.0905	-34.4725	0.515	0.601	0.507	0.0910	12.0775	0.511	0.600	0.504	0.0875	-23.3333	0.513	0.599	0.505	0.0900	12.2794	0.510	0.598	0.505	0.0905	15.8140
60	0.465	0.543	0.451	0.0800	-18.7907	0.439	0.514	0.438	0.0735	27.0731	0.418	0.490	0.419	0.0715	4.6667	0.411	0.484	0.414	0.0715	34.2831	0.403	0.472	0.402	0.0695	35.3488
100	0.445	0.521	0.449	0.0740	-9.9534	0.413	0.483	0.415	0.0690	33.3333	0.381	0.448	0.388	0.0620	17.3333	0.372	0.436	0.379	0.0605	44.2934	0.359	0.418	0.364	0.0565	47.4419
140	0.372	0.437	0.371	0.0635	2.6746	0.323	0.384	0.320	0.0575	44.4444	0.284	0.340	0.297	0.0515	31.3333	0.269	0.322	0.281	0.0470	56.8015	0.248	0.299	0.260	0.0450	58.1595
180	0.343	0.406	0.349	0.0600	10.8170	0.292	0.344	0.296	0.0500	51.6908	0.245	0.293	0.232	0.0445	40.6667	0.232	0.275	0.240	0.0396	64.1544	0.208	0.245	0.221	0.0305	71.6279

FAKSI KULTUR BATAANG PACEMORA (K7)

40	0.662	0.770	0.763	0.0575		0.613	0.715	0.609	0.1030		0.613	0.714	0.606	0.1035		0.615	0.716	0.609	0.1040		0.612	0.711	0.605	0.1021	0.1073	
40	0.605	0.705	0.651	0.0720		0.665	0.705	0.587	0.1040		0.665	0.654	0.645	0.0465		0.663	0.711	0.653	0.1135		0.662	0.720	0.653	0.1125		

RIWAYAT INTER FAKSI KULTUR BATAANG

150	0.502	0.564	0.527	0.0495	40.2174	0.435	0.532	0.501	0.0440	47.4313	0.451	0.509	0.480	0.0475	42.0000	0.432	0.487	0.463	0.0395	52.2379	0.418	0.476	0.450	0.0420	48.6663	
116.7	0.481	0.545	0.503	0.0530	35.9903	0.457	0.517	0.483	0.0480	42.6323	0.440	0.498	0.461	0.0475	36.6667	0.425	0.481	0.447	0.0450	45.5865	0.412	0.471	0.437	0.0465	42.9449	
83.33	0.478	0.544	0.496	0.0570	31.1594	0.460	0.523	0.479	0.0535	36.0812	0.443	0.510	0.466	0.0565	27.3333	0.434	0.495	0.435	0.0605	26.8440	0.427	0.487	0.446	0.0505	38.0368	
50	0.668	0.536	0.666	0.0690	16.6667	0.456	0.524	0.473	0.0595	28.9128	0.446	0.513	0.465	0.0585	22.0000	0.446	0.509	0.445	0.0640	22.6119	0.443	0.508	0.458	0.0580	28.8344	
16.67	0.458	0.532	0.471	0.0675	18.8783	0.453	0.526	0.468	0.0645	22.5591	0.457	0.529	0.470	0.0655	12.6667	0.438	0.520	0.471	0.0655	20.7981	0.443	0.514	0.475	0.0660	19.0184	

KESTRAK B3

150	0.817	0.905	0.820	0.0865	26.8808	0.762	0.851	0.785	0.0775	38.2470	0.731	0.824	0.757	0.0800	35.8117	0.765	0.799	0.785	0.0750	40.3159	0.712	0.806	0.719	0.0730	55.9398	
116.7	0.812	0.948	0.848	0.1080	8.2067	0.694	0.782	0.708	0.0860	31.4743	0.641	0.733	0.666	0.0785	37.0741	0.583	0.666	0.605	0.0720	43.2071	0.449	0.500	0.464	0.0435	67.2932	
83.33	0.810	0.912	0.799	0.1075	8.1293	0.743	0.845	0.747	0.1000	30.3187	0.641	0.736	0.656	0.0875	29.8297	0.627	0.718	0.658	0.0735	40.5512	0.532	0.598	0.547	0.0585	56.0150	
50	0.769	0.861	0.756	0.1085	8.2840	0.715	0.825	0.720	0.1085	13.5458	0.664	0.762	0.679	0.0905	27.4549	0.680	0.782	0.686	0.0890	22.0472	0.619	0.679	0.645	0.0650	31.1278	
16.67	0.787	0.896	0.785	0.1100	7.0161	0.779	0.889	0.777	0.1110	11.5538	0.685	0.789	0.694	0.0995	20.2405	0.779	0.888	0.779	0.1100	13.5846	0.800	0.913	0.801	0.1100	17.2932	

FRAKSI KULIT BATANG FAGRAEA BACEMOSA (K6)

20	0.530	0.616	0.525	0.0885	-31.9007	0.503	0.586	0.501	0.0840	18.8606	0.492	0.572	0.487	0.0829	-10.8000	0.482	0.565	0.482	0.0810	25.5515	0.478	0.558	0.478	0.0800	25.5814
40	0.458	0.531	0.453	0.0795	-12.1842	0.591	0.456	0.591	0.0640	37.1981	0.536	0.419	0.361	0.0605	19.3333	0.526	0.384	0.333	0.0543	49.9081	0.507	0.361	0.315	0.0500	51.4884
100	0.397	0.461	0.395	0.0650	3.4173	0.389	0.361	0.517	0.0500	91.6908	0.265	0.314	0.276	0.0435	42.8000	0.229	0.268	0.243	0.0370	70.5852	0.206	0.257	0.236	0.0350	67.4419
140	0.538	0.420	0.369	0.0563	16.9475	0.262	0.306	0.374	0.0380	63.2850	0.224	0.258	0.240	0.0260	65.3333	0.182	0.214	0.200	0.0230	78.0401	0.151	0.182	0.176	0.0180	83.2558
180	0.284	0.332	0.288	0.0460	31.6493	0.186	0.225	0.209	0.0275	75.4300	0.146	0.176	0.164	0.0210	72.0000	0.100	0.127	0.126	0.0140	87.1324	0.076	0.099	0.101	0.0105	90.2326

FRAKSI KULIT BATANG FAGRAEA BACEMOSA (K7)

20	0.374	0.667	0.575	0.0935	-38.9302	0.552	0.643	0.548	0.0930	18.1449	0.553	0.643	0.549	0.0920	-22.6667	0.554	0.646	0.551	0.0915	44.0623	0.559	0.652	0.557	0.0940	12.5561
40	0.541	0.626	0.535	0.0490	-30.7578	0.488	0.569	0.501	0.0745	28.0193	0.476	0.554	0.478	0.0770	-2.6667	0.468	0.546	0.470	0.0770	29.2279	0.460	0.538	0.466	0.0750	30.2326
100	0.458	0.559	0.463	0.0783	-16.6419	0.458	0.455	0.392	0.0300	71.0143	0.367	0.432	0.372	0.0625	16.6667	0.347	0.413	0.356	0.0595	45.3125	0.335	0.396	0.345	0.0560	47.9070
140	0.235	0.289	0.260	0.0515	23.4770	0.160	0.195	0.185	0.0223	78.2609	0.142	0.174	0.166	0.0200	73.3333	0.121	0.149	0.119	0.0290	73.3456	0.111	0.139	0.114	0.0255	76.2791
180	0.155	0.183	0.170	0.0205	69.5394	0.069	0.094	0.099	0.0100	90.3382	0.054	0.078	0.086	0.0080	89.3333	0.038	0.060	0.073	0.0045	95.8640	0.030	0.052	0.041	0.0045	95.8140

BLANKO UNTUK FRAKSI AKAR CBCL3

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Ahit	%terdam	A537	A517	A497	Ahit	%terdam	A537	A517	A497	Ahit	%terdam	A537	A517	A497	Ahit	%terdam	A537	A517	A497	Ahit	%terdam
40	0.478	0.556	0.483	0.0755		0.480	0.556	0.482	0.0750		0.478	0.555	0.481	0.0755		0.477	0.554	0.483	0.0740		0.477	0.553	0.480	0.0745	
48	0.644	0.744	0.648	0.0980		0.653	0.755	0.656	0.1005		0.586	0.664	0.593	0.0745		0.649	0.750	0.653	0.0990		0.647	0.751	0.653	0.1010	
				0.0868					0.08775					0.0750					0.0865						0.0878

FRAKSI AKAR CBCL3 (C1)

20	0.637	0.738	0.645	0.0970	-11.7512	0.644	0.743	0.648	0.0910	-10.5413	0.657	0.758	0.642	0.0961	-31.3333	0.661	0.763	0.661	0.1020	-17.9191	0.676	0.781	0.685	0.1005	-14.4647
40	0.596	0.693	0.602	0.0940	-8.2949	0.582	0.674	0.590	0.0880	-8.2849	0.467	0.520	0.479	0.0470	37.3333	0.572	0.666	0.581	0.0895	-3.4682	0.572	0.664	0.582	0.0870	0.9112
100	0.628	0.724	0.647	0.0865	0.3456	0.601	0.690	0.614	0.0825	5.9829	0.517	0.584	0.534	0.0585	-22.0000	0.572	0.659	0.592	0.0770	10.9827	0.563	0.650	0.583	0.0760	13.4396
140	0.588	0.672	0.599	0.0785	9.5622	0.551	0.631	0.565	0.0730	14.8091	0.513	0.592	0.533	0.0690	8.0000	0.513	0.590	0.530	0.0645	20.9092	0.495	0.573	0.513	0.0670	23.6902
180	0.586	0.673	0.608	0.0760	12.4424	0.540	0.621	0.561	0.0705	19.6581	0.516	0.584	0.539	0.0565	24.6667	0.491	0.565	0.518	0.0600	30.6338	0.470	0.541	0.495	0.0585	33.3713

FRAKSI AKAR CBCL3 (C2)

20	0.699	0.809	0.687	0.1160	-33.6406	0.691	0.801	0.680	0.1135	-31.6239	0.705	0.809	0.688	0.1125	-50.0000	0.705	0.816	0.643	0.1420	-64.1618	0.712	0.821	0.703	0.1135	-29.2711
40	0.654	0.760	0.639	0.0835	3.8018	0.628	0.730	0.630	0.1010	-15.8997	0.618	0.721	0.619	0.1025	-36.6667	0.617	0.716	0.617	0.0990	-14.4509	0.618	0.717	0.618	0.0990	-12.7563
100	0.569	0.668	0.569	0.0990	-14.0353	0.535	0.628	0.535	0.0930	-5.9829	0.520	0.612	0.520	0.0920	-22.6667	0.513	0.603	0.517	0.0900	-4.0462	0.511	0.600	0.514	0.0875	0.3417
140	0.578	0.665	0.574	0.0890	-2.5346	0.520	0.603	0.524	0.0810	7.6923	0.493	0.576	0.501	0.0790	-3.3333	0.477	0.558	0.487	0.0760	12.1387	0.464	0.541	0.474	0.0720	17.9984
180	0.584	0.678	0.603	0.0845	2.4498	0.519	0.603	0.578	0.0745	15.0997	0.484	0.562	0.502	0.0690	8.0000	0.467	0.541	0.481	0.0670	21.5434	0.443	0.515	0.464	0.0615	29.9544

FRAKSIKAR CBCL3 (C4)

20	0.692	0.800	0.699	0.1045	-20.3917	0.701	0.810	0.705	0.1070	-21.9373	0.487	0.559	0.501	0.0650	13.3333	0.731	0.836	0.730	0.1055	-21.9653	0.750	0.864	0.754	0.1120	-27.5636
40	0.620	0.718	0.626	0.0950	-8.4470	0.611	0.710	0.612	0.0985	-12.2507	0.533	0.598	0.543	0.0600	20.0000	0.618	0.715	0.625	0.0935	-8.0925	0.627	0.727	0.635	0.0960	-9.3394
100	0.614	0.711	0.626	0.0910	-8.3387	0.599	0.697	0.609	0.0930	-5.9029	0.514	0.566	0.523	0.0475	36.6667	0.599	0.682	0.603	0.0810	6.3384	0.593	0.688	0.608	0.0875	0.2417
140	0.585	0.679	0.599	0.0870	-0.2304	0.563	0.654	0.581	0.0820	6.5517	0.411	0.458	0.420	0.0425	41.3333	0.546	0.623	0.561	0.0785	9.2486	0.541	0.628	0.568	0.0775	11.7312
180	0.560	0.651	0.575	0.0835	3.8018	0.534	0.617	0.547	0.0765	12.8205	0.324	0.358	0.337	0.0235	63.3333	0.502	0.583	0.523	0.0705	18.4971	0.497	0.576	0.515	0.0700	20.2731

FRAKSIKAR CBCL3 (C6)

20	0.701	0.815	0.693	0.1180	-15.8447	0.704	0.818	0.695	0.1185	-35.0427	0.716	0.827	0.707	0.1155	-54.0000	0.725	0.837	0.714	0.1175	-35.8382	0.735	0.849	0.727	0.1180	-34.3964
40	0.686	0.795	0.675	0.1145	-31.9124	0.675	0.784	0.671	0.1110	-26.4957	0.676	0.785	0.672	0.1110	-48.0000	0.683	0.790	0.674	0.1115	-28.9017	0.686	0.794	0.680	0.1110	-26.4217
100	0.655	0.763	0.651	0.1100	-26.7281	0.635	0.740	0.630	0.1075	-32.5071	0.635	0.738	0.630	0.1055	-40.6667	0.636	0.739	0.632	0.1050	-21.3875	0.638	0.741	0.634	0.1050	-49.5900
140	0.634	0.736	0.629	0.1045	-20.3917	0.603	0.701	0.601	0.0990	-12.8205	0.597	0.694	0.594	0.0985	-31.3333	0.595	0.692	0.593	0.0980	-13.2948	0.590	0.689	0.591	0.0985	-12.1868
180	0.705	0.809	0.715	0.0990	-14.0553	0.660	0.758	0.670	0.0930	-5.9029	0.636	0.731	0.647	0.0895	-19.3333	0.631	0.715	0.637	0.0810	6.3584	0.603	0.694	0.612	0.0865	1.4806

BLANKO ENTEK FRAKSIKAR MEDE (M1 & M2)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam
40	0.518	0.610	0.560	0.0705		0.517	0.609	0.560	0.0705		0.515	0.608	0.556	0.0725		0.516	0.608	0.557	0.0715		0.514	0.605	0.555	0.0705	
40	0.300	0.390	0.356	0.0720		0.301	0.390	0.356	0.0715		0.301	0.391	0.357	0.0720		0.301	0.392	0.357	0.0730		0.301	0.392	0.358	0.0725	
				0.0712					0.0710					0.0750					0.0723					0.0715	

FRAKSIKAR MEDE (M1)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam	A537	A517	A497	Ahit	%redam
20	0.324	0.390	0.318	0.0690	3.0899	0.478	0.565	0.523	0.0645	9.1949	0.478	0.565	0.523	0.0645	14.0000	0.481	0.567	0.527	0.0630	9.12863	0.486	0.574	0.535	0.0625	12.5874
40	0.491	0.583	0.541	0.0650	8.7079	0.371	0.433	0.423	0.0360	49.2958	0.350	0.414	0.406	0.0350	53.3333	0.339	0.406	0.404	0.0345	91.1111	0.326	0.389	0.393	0.0295	58.7413
100	0.428	0.498	0.472	0.0480	32.5843	0.254	0.306	0.316	0.0210	70.4215	0.239	0.279	0.297	0.0160	78.6667	0.216	0.264	0.286	0.0130	98.2019	0.201	0.261	0.263	0.0290	59.4406
140	0.288	0.329	0.334	0.0180	74.1191	0.200	0.237	0.266	0.0040	94.3661	0.173	0.230	0.245	0.0210	72.0000	0.165	0.220	0.239	0.0180	97.5104	0.154	0.217	0.235	0.0225	68.5315
180	0.232	0.279	0.308	0.0090	87.3596	0.174	0.212	0.247	0.0015	97.8873	0.167	0.218	0.243	0.0130	82.6667	0.165	0.214	0.242	0.0105	98.5477	0.167	0.215	0.247	0.0080	88.8112

FRAKSI AKAR MEOR (M2)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam
20	0.475	0.558	0.516	0.0625	11.2191	0.451	0.530	0.493	0.0560	18.3099	0.442	0.520	0.484	0.0560	25.3533	0.436	0.519	0.481	0.0605	91.6321	0.431	0.509	0.476	0.0555	22.3776
60	0.386	0.457	0.429	0.0495	30.4775	0.350	0.420	0.400	0.0450	36.6197	0.339	0.387	0.340	0.0435	36.6667	0.340	0.409	0.395	0.0415	44.2600	0.334	0.403	0.394	0.0390	45.4545
100	0.344	0.412	0.399	0.0405	43.1160	0.305	0.359	0.356	0.0285	59.8592	0.288	0.341	0.343	0.0255	66.0000	0.285	0.339	0.342	0.0255	96.4730	0.275	0.329	0.336	0.0235	67.1529
140	0.305	0.356	0.352	0.0375	61.3764	0.244	0.299	0.312	0.0210	79.4225	0.226	0.275	0.292	0.0160	78.6667	0.215	0.267	0.287	0.0160	97.7870	0.209	0.256	0.283	0.0100	86.0140
180	0.236	0.311	0.321	0.0225	68.3989	0.190	0.227	0.256	0.0040	94.2662	0.169	0.210	0.239	0.0060	92.0000	0.157	0.196	0.227	0.0040	99.4467	0.146	0.184	0.217	0.0025	96.5033

BLANKO UNTUK FRAKSI AKAR MEOR (M3, M4 & M5)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam
40	0.546	0.633	0.543	0.0885		0.549	0.636	0.543	0.0900		0.548	0.635	0.543	0.0885		0.548	0.635	0.543	0.0895		0.549	0.634	0.542	0.0885	
40	0.542	0.624	0.532	0.0770		0.540	0.621	0.547	0.0775		0.535	0.615	0.541	0.0760		0.530	0.610	0.538	0.0760		0.529	0.607	0.536	0.0745	
				0.0628					0.0837					0.0750					0.0827						0.0815

FRAKSI AKAR MEOR (M3)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam
20	0.457	0.532	0.462	0.0725	12.4396	0.448	0.521	0.453	0.0705	15.7706	0.447	0.520	0.451	0.0710	5.3333	0.447	0.520	0.453	0.0700	15.3567	0.448	0.523	0.458	0.0720	11.6564
60	0.322	0.381	0.334	0.0580	31.5749	0.303	0.363	0.315	0.0540	35.4839	0.292	0.351	0.306	0.0520	30.6667	0.302	0.382	0.303	0.2870	247.0375	0.287	0.342	0.303	0.0470	42.3117
100	0.324	0.380	0.331	0.0515	37.8019	0.297	0.349	0.309	0.0460	49.0418	0.283	0.331	0.295	0.0425	43.3333	0.274	0.325	0.289	0.0435	47.4002	0.270	0.321	0.289	0.0415	49.0798
140	0.322	0.379	0.334	0.0510	38.4058	0.289	0.341	0.303	0.0460	45.0418	0.264	0.313	0.278	0.0420	44.0000	0.250	0.298	0.267	0.0395	51.2370	0.246	0.290	0.263	0.0355	56.4417
180	0.273	0.321	0.290	0.0395	52.2947	0.241	0.280	0.254	0.0325	61.1708	0.212	0.247	0.236	0.0230	69.3333	0.193	0.235	0.223	0.0260	68.5611	0.189	0.227	0.215	0.0250	69.3252

FRAKSI AKAR MEOR (M4)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam
20	0.499	0.581	0.497	0.0830	-0.2415	0.497	0.579	0.494	0.0835	0.2189	0.500	0.582	0.497	0.0835	-11.3333	0.503	0.587	0.504	0.0835	-0.9674	0.511	0.594	0.513	0.0860	-5.5213
60	0.486	0.562	0.482	0.0780	5.7971	0.484	0.560	0.482	0.0770	0.0044	0.480	0.559	0.477	0.0803	-7.3333	0.486	0.563	0.484	0.0780	5.6832	0.490	0.571	0.490	0.0810	0.6115
100	0.478	0.559	0.480	0.0800	3.3816	0.454	0.541	0.477	0.0755	9.7969	0.477	0.557	0.475	0.0810	-8.0000	0.480	0.558	0.476	0.0760	8.1016	0.483	0.561	0.478	0.0805	1.2270
140	0.480	0.558	0.476	0.0800	3.3816	0.474	0.552	0.475	0.0775	7.4074	0.475	0.550	0.474	0.0755	-0.6667	0.475	0.552	0.476	0.0765	7.4970	0.481	0.556	0.483	0.0760	6.748*
180	0.485	0.564	0.487	0.0780	5.7971	0.480	0.557	0.482	0.0760	9.1995	0.474	0.552	0.476	0.0770	-2.6667	0.471	0.547	0.475	0.0770	11.7291	0.478	0.550	0.477	0.0725	11.0429

FRAKSIKAR MEGH (M5)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 15 menit					A setelah 30 menit					A setelah 45 menit					A setelah 60 menit				
	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam
20	0.531	0.617	0.527	0.0840	-1.4493	0.531	0.614	0.528	0.0845	-0.9558	0.531	0.615	0.526	0.0865	-13.3333	0.534	0.619	0.530	0.0870	-5.1995	0.538	0.623	0.535	0.0865	-6.1350
60	0.487	0.564	0.479	0.0835	-0.8454	0.480	0.563	0.481	0.0825	1.4337	0.481	0.564	0.479	0.0840	-12.0000	0.485	0.568	0.483	0.0845	-2.1765	0.493	0.574	0.489	0.0830	-1.8405
100	0.501	0.589	0.504	0.0835	-0.8454	0.503	0.586	0.504	0.0825	1.4337	0.505	0.587	0.504	0.0825	-10.0000	0.509	0.594	0.508	0.0855	-3.3857	0.515	0.601	0.514	0.0865	-6.1350
140	0.517	0.600	0.520	0.0815	1.5700	0.519	0.601	0.516	0.0815	0.2389	0.517	0.601	0.515	0.0850	-13.3333	0.521	0.605	0.522	0.0835	-0.9674	0.528	0.614	0.530	0.0830	-4.2945
180	0.504	0.583	0.500	0.0825	0.3623	0.497	0.579	0.495	0.0830	0.8363	0.496	0.576	0.495	0.0805	-7.3333	0.499	0.581	0.500	0.0815	1.4510	0.504	0.586	0.507	0.0805	1.2270

BLANKO UNTUK EKSTRAK DAUN ME-OM

Dosis	A setelah 5 menit					A setelah 10 menit					A setelah 15 menit					A setelah 20 menit					A setelah 25 menit					A setelah 30 menit				
	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam
blanko	0.767	0.838	0.763	0.1130		0.768	0.881	0.763	0.1145		0.772	0.886	0.771	0.1145		0.777	0.893	0.775	0.1170		0.785	0.902	0.783	0.1180		0.787	0.905	0.786	0.1185	

EKSTRAK Daun Metanadi (DM)

Dosis (ppm)	A setelah 5 menit					A setelah 10 menit					A setelah 15 menit					A setelah 20 menit					A setelah 25 menit					A setelah 30 menit				
	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam	A537	A517	A497	Abst	%redam
16.7	0.694	0.806	0.705	0.1065	5.7522	0.666	0.772	0.670	0.1040	9.1703	0.651	0.754	0.657	0.1000	12.6638	0.652	0.750	0.655	0.0965	17.5214	0.648	0.750	0.655	0.0983	16.5134	0.65	0.751	0.656	0.0990	16.4517
33.3	0.667	0.757	0.654	0.0965	14.6018	0.647	0.739	0.647	0.0920	19.6507	0.560	0.650	0.568	0.0860	24.8908	0.567	0.645	0.568	0.0775	33.7607	0.574	0.655	0.579	0.0783	33.4746	0.53	0.583	0.534	0.0560	52.7426
50	0.582	0.684	0.617	0.0845	25.2212	0.518	0.599	0.532	0.0740	35.3742	0.463	0.536	0.481	0.0640	44.1048	0.448	0.518	0.466	0.0610	47.8632	0.436	0.500	0.455	0.0545	53.8136	0.424	0.496	0.449	0.0595	49.7890
66.7	0.415	0.579	0.591	0.0760	32.7434	0.416	0.489	0.441	0.0605	47.1636	0.342	0.406	0.367	0.0515	55.0218	0.326	0.379	0.348	0.0470	64.1026	0.307	0.361	0.334	0.0405	65.6780	0.291	0.349	0.322	0.0415	64.9789
83.3	0.456	0.544	0.503	0.0645	42.9204	0.334	0.397	0.367	0.0465	59.3886	0.285	0.318	0.318	0.0365	68.1223	0.264	0.306	0.291	0.0285	75.6410	0.243	0.284	0.273	0.0260	77.9661	0.224	0.264	0.256	0.0240	79.7468

Lampiran 14

KOMPOSISI ALB
(Air Laut Buatan)

Kadar Garam 5 per mil :

Bahan	Konsentrasi
Natrium klorida	0,5% (b/v)
Magnesium sulfat	0,13% (b/v)
Magnesium klorida	0,1% (b/v)
Kalsium klorida	0,02% (b/v)
Kalium klorida	0,02% (b/v)
Natrium bicarbonat	0,2% (b/v)
Aquades	ad 100 mL