

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA SANTON DARI KULIT
BATANG *Calophyllum tetrapterum* Miq. DAN UJI AKTIVITAS SEBAGAI
ANTI-HIV**

SKRIPSI



BAHARRANI DWI KURNIA

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2016

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA SANTON DARI KULIT
BATANG *Calophyllum tetrapterum* Miq. DAN UJI AKTIVITAS SEBAGAI
ANTI-HIV**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia
Pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga**

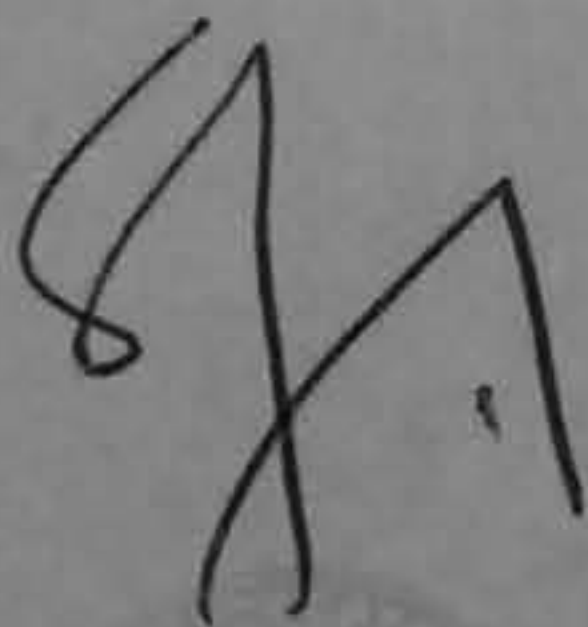
Oleh:

**BAHARRANI DWI KURNIA
NIM 081211531133**

Telah dinyatakan lulus pada 19 Juli 2016

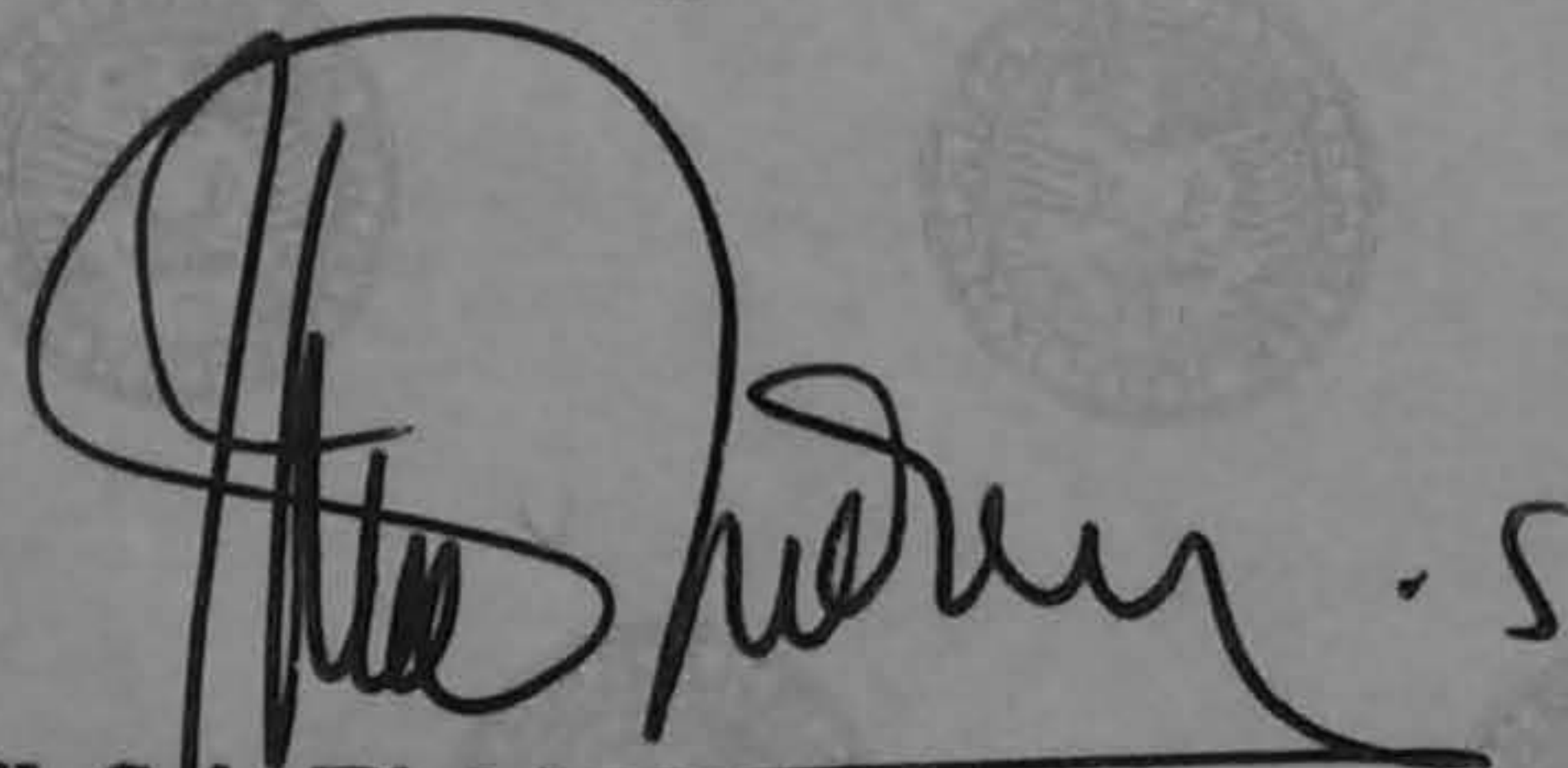
Disetujui oleh :

Pembimbing I



**Dr. Mulyadi Tanjung, M.S.
NIP. 196504221991021001**

Pembimbing II



**Tjitjik Sri-Fiahjandarie, Ph.D
NIP. 196502061988102001**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Isolasi dan Identifikasi Senyawa Santon dari Kulit Batang *Calophyllum tetrapterum* Miq. dan Uji Aktivitas sebagai Anti-HIV

Penyusun : Baharrani Dwi Kurnia

NIM : 081211531133

Pembimbing I : Dr. Mulyadi Tanjung, M.S.

Pembimbing II : Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D

Tanggal Ujian : 19 Juli 2016

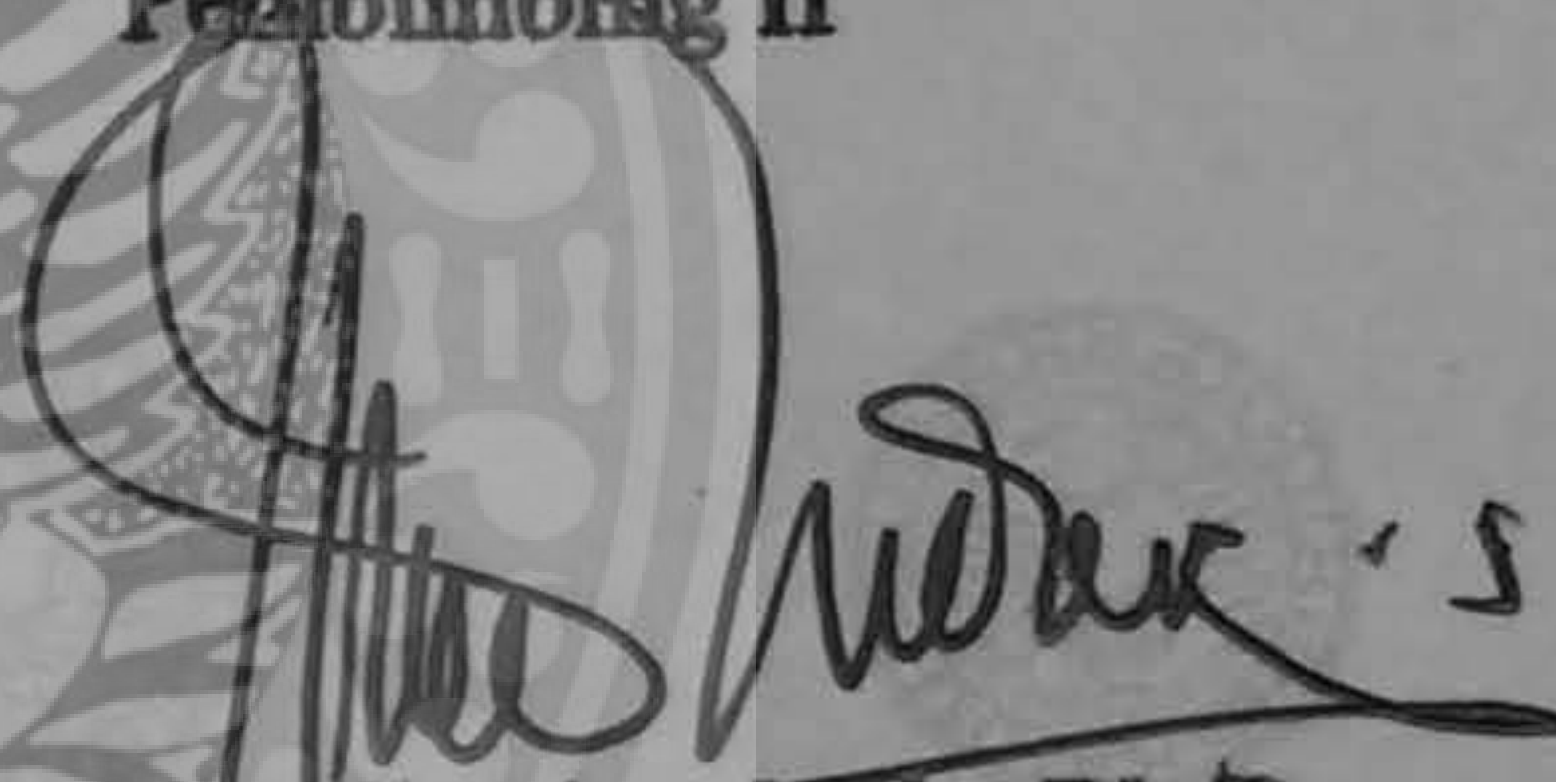
Disetujui oleh :

Pembimbing I



Dr. Mulyadi Tanjung, M.S.
NIP. 196504221991021001

Pembimbing II



Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D
NIP. 196502061988102001

Mengetahui,
Ketua Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga




Dr. Purkan, M.Si
NIP. 197211161997021001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT, atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Identifikasi Senyawa Santon dari Kulit Batang *Calophyllum tetrapterum* Miq. dan Uji Aktivitas sebagai Anti-HIV”**. Naskah skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan guna memperoleh gelar Sarjana Sains bidang Kimia di Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan penulisan skripsi ini terutama kepada yang terhormat:

1. Dr. Mulyadi Tanjung, M.S. sebagai Pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing dan mendidik dalam proses penyelesaian skripsi.
2. Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D. sebagai Pembimbing II yang banyak memberikan dorongan berupa kritik dan saran untuk perbaikan penulisan skripsi.
3. Dr. Purkan, S.Si, M.Si sebagai Ketua Departemen Kimia yang telah memberikan arahan dalam proses penyusunan skripsi.
4. Dr. Alfinda Novi Kristanti selaku dosen wali yang senantiasa memberikan motivasi dan nasehat demi kelancaran perkuliahan.
5. Seluruh dosen pengajar dan karyawan Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi yang membantu kelancaran skripsi ini.
6. Kedua orang tua dan orang tersayang yang senantiasa memberikan doa dan motivasi selama menjalani perkuliahan dan penelitian.
7. Okky Putri Rahayu, Rizky Ratu Balqis, dan Erika Herdiana yang senantiasa menjadi teman seperjuangan menjalankan penelitian.
8. Wahyu Sara Novita, Dini Oktavia, Dian Ningsih, Muafillah Shofah, Murobbiyatul Wathoniyah, dan Aditya Riawan Wibisono yang telah memberikan semangat, dukungan, dan motivasi selama menempuh kuliah dan skripsi.

9. Ratih Dewi Saputri, S.Si, M.Si yang banyak memberi masukan dan membantu proses penyelesaian skripsi.
10. Teman-teman kimia 2012 yang telah memberikan banyak informasi dan pengetahuan dalam menyelesaikan penulisan skripsi.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu penyelesaian skripsi ini.

Penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran dari penguji serta pembaca akan sangat membantu dalam menyempurnakan skripsi ini.

Surabaya, 11 Juli 2016

Penulis,

Baharrani Dwi Kurnia



Kurnia B. D., 2016, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Santon dari Kulit Batang *Calophyllum tetrapterum* Miq. dan Uji Aktivitas sebagai Anti-HIV. Skripsi Ini Dibawah Bimbingan Dr. Mulyadi Tanjung, M.S dan Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D. Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Calophyllum tetrapterum Miq. merupakan salah satu spesies dari famili Guttiferae. Tanaman *Calophyllum* menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa golongan kumarin, santon, terpenoid, benzofenon dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan struktur kimia senyawa santon yang terdapat pada kulit batang *Calophyllum tetrapterum* Miq. serta menentukan aktivitas anti-HIV ekstrak etil asetat dan senyawa santon hasil isolasi. Ekstraksi senyawa santon menggunakan pelarut metanol pada suhu kamar dengan metode maserasi. Fraksinasi dan pemurnian menggunakan kromatografi cair vakum, kromatografi kolom tekan, dan kromatografi radial. Dua senyawa santon yakni piranojakareubin dan garciniafuran berhasil diisolasi dan penetapan strukturnya berdasarkan metode spektroskopi, meliputi UV, IR, HR-ESI-MS, 1D NMR (^1H dan ^{13}C) dan 2D NMR (HMQC dan HMBC). Uji aktivitas anti-HIV ekstrak dan dua senyawa santon hasil isolasi yakni piranojakareubin dan garciniafuran dilakukan menggunakan metode *syncytia* memperlihatkan nilai IC_{50} berturut-turut 29,3 ppm; 79,4 ppm; dan 111,5 ppm. Berdasarkan data uji anti-HIV menunjukkan bahwa ekstrak *C. tetrapterum* Miq. memiliki potensi sebagai anti-HIV sedangkan dua senyawa santon hasil isolasi dikategorikan tidak aktif.

Kata kunci : *Calophyllum tetrapterum* Miq., santon, piranojakareubin, garciniafuran, anti-HIV, *syncytia*

Kurnia, B. D., 2016, Isolation and Identification Xanthone Compounds from The Stem Bark of *Calophyllum tetrapterum* Miq. with Anti-HIV Activity. This Thesis is Under Advisement of Dr. Mulyadi Tanjung, M.S dan Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D. Departement of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga.

ABSTRACT

Calophyllum tetrapterum Miq. is one of species of Guttiferae family. *Calophyllum* are produce secondary metabolites such as coumarin, xanthenes, terpenoids, chromen, benzophenone and flavonoids compound. The objective of this research are to determine the chemical structure of xanthone compounds from the stem bark of *Calophyllum tetrapterum* Miq. and determine anti-HIV activity of extract ethyl acetate and xanthone compounds. Extraction of xanthone compounds from the stem bark of *Calophyllum tetrapterum* Miq. Was used methanol at room temperature. The process of fractination and purification used various chromatography techniques, including vacuum liquid chromatography, flash chromatography, and radial chromatography. Two xanthone compounds, piranojacareubin and garciniafuran have been isolated and determined the structure of both compounds by spectroscopic methods, including UV, IR, HR-ESI-MS, 1D NMR (^1H dan ^{13}C) dan 2D NMR (HMQC dan HMBC). The anti-HIV activity test of extract ethyl acetate and both of isolated compounds by syncytia method showing their IC_{50} values are 29,3 ppm; 79,4 ppm; dan 111,5 ppm, respectively. Based on data of the anti-HIV test indicated that ethyl acetate has a potential as an anti-HIV and both of isolated compounds are categorized inactive.

Keywords : *Calophyllum tetrapterum* Miq., xanthone, piranojacareubin, garciniafuran, anti-HIV, syncytia

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Baharrani Dwi Kurnia

NIM : 081211531133

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul :

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Santon Dari Kulit Batang *Calophyllum tetrapterum* Miq. dan Uji Aktivitas sebagai Anti-HIV

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah diterapkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 11 Juli 2016



Baharrani Dwi Kurnia
NIM. 081211531133

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
PERNYATAAN ORISINALITAS	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Calophyllum tetrapterum</i> Miq.	5
2.2 Profil Fitokimia <i>Calophyllum</i>	6
2.3 Senyawa Santon <i>Calophyllum</i>	6
2.3.1 Santon sederhana.....	7
2.3.2 Santon terisoprenilasi.....	9
2.3.3 Furanosanton.....	11
2.3.4 Piranosanton.....	12
2.4 Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Santon.....	16
2.5 Biosintesis Senyawa Santon.....	17
2.6 Analisis Spektroskopi.....	18
2.7 Tinjauan tentang HIV.....	19
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	21
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	21
3.2.1 Sampel penelitian.....	21
3.2.2 Bahan penelitian.....	21
3.2.2 Peralatan penelitian.....	22
3.3 Prosedur Kerja.....	23
3.3.1 Ekstraksi dan isolasi senyawa santon.....	23
3.3.2 Penentuan struktur molekul senyawa santon.....	24
3.3.3 Penentuan aktivitas anti-HIV.....	25
3.3.3.1 Penyiapan kultur.....	25

3.3.3.2 Penentuan aktivitas anti-HIV.....	26
3.5 Diagram Alir Penelitian.....	27
BAB IV PEMBAHASAN	
4.1 Ekstraksi dan Pemurnian Senyawa Santon.....	28
4.2 Penentuan Struktur Molekul Senyawa Santon Hasil Isolasi.....	30
4.2.1 Senyawa piranojakareubin (Calt-10).....	30
4.2.2 Senyawa garciniafuran (Calt-7).....	40
4.3 Penentuan Aktivitas Anti-HIV Senyawa Hasil Isolasi.....	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
2.1	Distribusi senyawa santon sederhana tumbuhan <i>Calophyllum</i>	8
2.2	Distribusi senyawa santon terisoprenilasi tumbuhan <i>Calophyllum</i>	10
2.3	Distribusi senyawa furanosanton tumbuhan <i>Calophyllum</i>	12
2.4	Distribusi senyawa piranosanton tumbuhan <i>Calophyllum</i>	15
2.5	Ekstraksi dan isolasi senyawa santon <i>Calophyllum</i>	16
4.1	Data spektrum HMQC senyawa santon piranojakareubin hasil isolasi dalam CDCl ₃	33
4.2	Data spektrum ¹ H dan ¹³ C-NMR senyawa piranojakareubin dalam CDCl ₃	38
4.3	Perbandingan data spektrum ¹ H dan ¹³ C-NMR senyawa piranojakareubin.....	39
4.4	Data spektrum HMQC senyawa santon garciniafuran hasil isolasi dalam CDCl ₃	42
4.5	Data spektrum ¹ H dan ¹³ C-NMR senyawa garciniafuran dalam CDCl ₃	47
4.6	Perbandingan data spektrum ¹ H dan ¹³ C-NMR senyawa garciniafuran.....	48

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
2.1	Tanaman <i>Calophyllum tetrapterum</i> Miq.....	6
2.2	Kerangka dasar santon.....	7
2.3	Senyawa santon sederhana <i>Calophyllum</i>	8
2.4	Senyawa santon terisoprenilasi <i>Calophyllum</i>	9
2.5	Senyawa furanosanton <i>Calophyllum</i>	11
2.6	Senyawa piranosanton <i>Calophyllum</i>	13
2.7	Biosintesis senyawa santon.....	17
	Struktur senyawa 3,6-dihidroksi-1,5-dimetoksisanton.....	18
3.1	Diagram alir penelitian.....	26
4.1	Kemungkinan struktur senyawa santon calt-10 hasil isolasi.....	32
4.2	Korelasi sinyal proton 1-OH dan pirano dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa piranojakareubin hasil isolasi.....	35
4.3	Korelasi sinyal proton H-4 dengan sinyal karbon di C-2, C-3 dan C-4a senyawa piranojakareubin hasil isolasi	36
4.4	Korelasi sinyal proton H-8, sinyal proton pirano dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa piranojakareubin hasil isolasi...	37
4.5	Struktur piranojakareubin hasil isolasi.....	38
4.6	Korelasi antara δ H 13,70, 6,73, 5,74 dan 1,46 ppm dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa garciniafuran hasil isolasi.....	43
4.7	Korelasi sinyal proton δ H 6,25 dengan sinyal karbon di C-2, C-3, C-4a dan C-9a senyawa garciniafuran hasil isolasi.....	43
4.8	Korelasi antara sinyal proton isoprenil dan metoksi dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa garciniafuran hasil isolasi.....	44
4.9	Korelasi antara sinyal proton H-5 dan 6-OH dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa garciniafuran hasil isolasi.....	45
4.10	Struktur garciniafuran senyawa santon hasil isolasi.....	46
4.11	Grafik aktivitas anti-HIV ekstrak etilasetat <i>C.tetrapterum</i> Miq.....	50
4.12	Grafik aktivitas anti-HIV senyawa piranojakareubin.....	50
4.13	Grafik aktivitas anti-HIV senyawa garciniafuran.....	51
5.1	Struktur senyawa piranojakareubin dan garcinifuran	52

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul
1	Hasil Uji KLT Senyawa Piranojakareubin dan Garciniafuran
2	Data analisis spektrum HR-ESI-MS senyawa piranojakareubin
3	Data analisis spektrum UV senyawa piranojakareubin
4	Data analisis FTIR senyawa piranojakareubin
5	Data analisis spektrum ¹ H-NMR senyawa piranojakareubin
6	Data analisis spektrum ¹³ C-NMR senyawa piranojakareubin
7	Data analisis spektrum HMQC senyawa piranojakareubin
8	Data analisis spektrum HMBC senyawa piranojakareubin
9	Data analisis spektrum HR-ESI-MS senyawa garciniafuran
10	Data analisis spektrum UV senyawa garciniafuran
11	Data analisis FTIR senyawa garciniafuran
12	Data analisis spektrum ¹ H-NMR senyawa garciniafuran
13	Data analisis spektrum ¹³ C-NMR senyawa garciniafuran
14	Data analisis spektrum HMQC senyawa garciniafuran
15	Data analisis spektrum HMBC senyawa garciniafuran
16	Data uji aktivitas anti-HIV

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Calophyllum merupakan salah satu genus dari famili Guttiferae yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa golongan kumarin, santon, terpenoid, benzofenon dan flavonoid. Berdasarkan studi pustaka senyawa golongan santon dan kumarin merupakan senyawa fenolik utama dari tumbuhan *Calophyllum*. Senyawa metabolit sekunder *Calophyllum* memperlihatkan berbagai aktivitas antara lain sebagai antifungal, antinflamasi antimikroba, antioksidan, antikanker dan anti-HIV (Cesar, *et al.*,2011; Iinuma, *et al.*,1996; Reyes, *et al.*, 1997; Morel, *et al.*, 2000; Hay, *et al.*,2004; Prasad, *et al.*, 2012).

Human immunodeficiency virus (HIV) merupakan virus penyebab penyakit *Acquired immuno deficiency syndrome* (AIDS) yang menyerang sel darah putih sehingga sistem kekebalan tubuh menurun. HIV mempunyai enzim *reverse transcriptase* yang berfungsi mengubah RNA menjadi DNA dalam sistem replikasi. Oleh karena itu, inhibisi mekanisme kerja *reverse transcriptase* merupakan kata kunci dan telah disetujui untuk pengobatan yang terinfeksi HIV (Pengsuparp, *et al.*,1996). Senyawa kаланolida A dan kostatolida dari *C. inophyllum* telah direkomendasi oleh *National Cancer Institute* Amerika untuk uji praklinik sebagai inhibitor *reverse transcriptase* (Spino, *et al.*,1998). Selain itu, ekstrak *n*-heksana, ekstrak metanol, dan ekstrak aseton tumbuhan *C. brasiliense*

menunjukkan aktivitas inhibitor *reverse transcriptase* yang potensial (Cesar, *et al.*,2011).

C. tetrapterum Miq. merupakan salah satu spesies tumbuhan endemik Indonesia dan sampai saat ini belum ada publikasi tentang senyawa metabolit sekunder tumbuhan ini. Berdasarkan studi pendahuluan, hasil kromatografi lapis tipis kulit batang *C. tetrapterum* Miq. dengan pereaksi anisaldehyd menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa santon yang ditandai dengan spot warna coklat.

Berdasarkan penjelasan tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan struktur senyawa santon yang terkandung dalam kulit batang *C. tetrapterum* Miq. serta menentukan aktivitas sebagai inhibitor anti-HIV senyawa santon hasil isolasi. Sampai saat ini belum ada penelitian tentang aktivitas anti-HIV senyawa santon *Calophyllum*. Berdasarkan studi pustaka senyawa santon yang telah diteliti memiliki aktivitas anti-HIV adalah senyawa desoksigambogenin dan dihidroisomorellin dari *Garcinia hanburyi* yang merupakan tumbuhan dalam satu famili yang sama dengan tumbuhan *Calophyllum* (Reutracul, *et al.*,2007).

Tahapan untuk mengisolasi senyawa santon dalam kulit batang *C. tetrapterum* Miq. meliputi proses ekstraksi pada suhu kamar dengan metanol, partisi metanol dengan *n*-heksana dan etilasetat, fraksinasi, dan pemurnian menggunakan teknik kromatografi seperti kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom tekan, dan kromatografi radial. Penentuan struktur molekul senyawa santon hasil isolasi menggunakan analisis spektroskopi, antara lain

spektroskopi ultraviolet (UV), spektroskopi inframerah (IR), spektroskopi massa (MS), dan spektroskopi resonansi magnet inti. Uji terhadap ekstrak dan senyawa santon hasil isolasi dalam berbagai konsentrasi sebagai anti-HIV-1 menggunakan sel limfosit manusia (MOLT-4) dalam media RPMI-1640. Evaluasi nilai potensial hambatan anti-HIV-1 dari ekstrak dan senyawa santon hasil isolasi ditentukan berdasarkan nilai daya hambat konsentrasi IC_{50} .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah struktur senyawa santon yang terdapat pada kulit batang *C.tetrapterum* Miq.?
2. Bagaimana aktivitas anti-HIV ekstrak dan senyawa santon hasil isolasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan struktur kimia senyawa santon yang terdapat pada kulit batang *C.tetrapterum* Miq.
2. Menentukan aktivitas anti-HIV berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak dan senyawa santon hasil isolasi yang terdapat pada kulit batang *C. tetrapterum* Miq.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang struktur kimia senyawa santon yang terdapat pada kulit batang *C. tetrapterum* Miq. dan menambah informasi pemanfaatan senyawa ekstrak dan senyawa santon yang terdapat pada kulit batang *C. tetrapterum* Miq. sebagai anti-HIV.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Calophyllum tetrapterum* Miq.

C. tetrapterum Miq. merupakan salah satu spesies famili Guttiferae dan endemik di kepulauan Kalimantan dengan nama daerah bintangur. *C. tetrapterum* Miq. dimanfaatkan sebagai perabot kayu dan sebagai obat luka, rematik, ambeien, dan iritasi mata (Oliveira, *et al.*,2014; Zakaria, *et al.*,2014). Kajian fitokimia tumbuhan ini belum ada laporan publikasi terhadap tanaman *C.tetrapterum* Miq sampai saat ini.

Taksonomi tanaman *C.tetrapterum* Miq. dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Guttiferales
Famili	: Guttiferae
Genus	: <i>Calophyllum</i>
Spesies	: <i>Calophyllum tetrapterum</i> Miq



Gambar 2.1 Tanaman *Calophyllum tetrapterum* Miq.

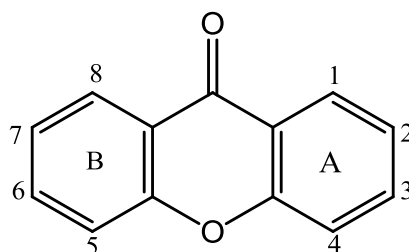
2.2 Profil Fitokimia *Calophyllum*

Senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan *Calophyllum* antara lain senyawa golongan kumarin, santon, terpenoid, benzofenon dan flavonoid. Senyawa metabolit sekunder tersebut ditemukan pada seluruh jaringan tanaman antara lain daun, buah, kulit batang, batang, dan akar. Senyawa golongan santon dan kumarin merupakan senyawa fenolik yang sering ditemukan pada tumbuhan *Calophyllum* (Inuma, *et al.*,1997; Morel, *et al.*,2000; Yimdjo, *et al.*,2004).

2.3 Senyawa Santon *Calophyllum*

Santon merupakan salah satu golongan senyawa fenolik yang ditemukan di alam antara lain beberapa famili tumbuhan tingkat tinggi, lichen dan jamur. *Calophyllum* merupakan salah satu genus tumbuhan yang menghasilkan senyawa santon. Senyawa santon *Calophyllum* ditemukan pada seluruh jaringan tumbuhan seperti akar, biji, batang, daun dan kulit batang. Secara biogenetik, senyawa santon berasal dari penggabungan dua jalur yakni jalur shikimat dan asetat

malonat. Jalur shikimat yakni cincin A + karbonil C=O sedangkan cincin B berasal dari jalur asetat malonat. Kerangka dasar senyawa santon dapat dilihat pada Gambar 2.1.

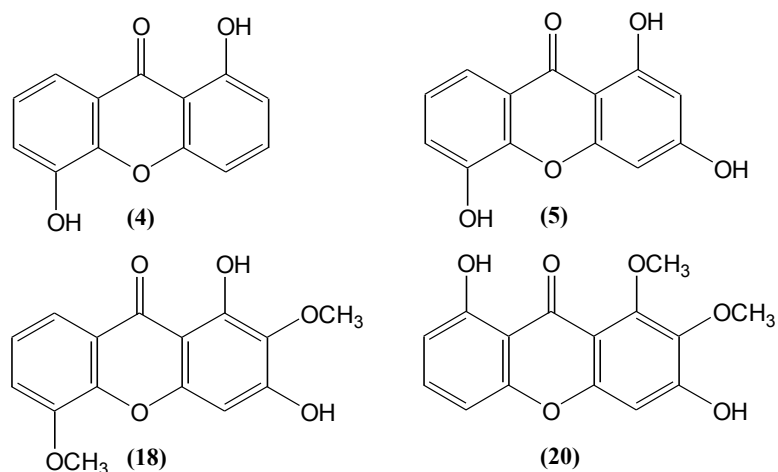


Gambar 2.2 Kerangka Dasar Santon

Senyawa golongan santon *Calophyllum* yang berhasil diisolasi terdiri dari turunan santon sederhana, santon terisoprenilasi, piranosanton, dan furanosanton. Substituen hidroksi, metoksi, dan isoprenil terikat pada kedua cincin aromatik dan menghasilkan keragaman senyawa santon *Calophyllum* (Peres, *et al.*,2000; Gottlieb, *et al.*,1968; Nguyen, *et al.*,2013; Ito, *et al.*,2002).

2.3.1 Santon sederhana

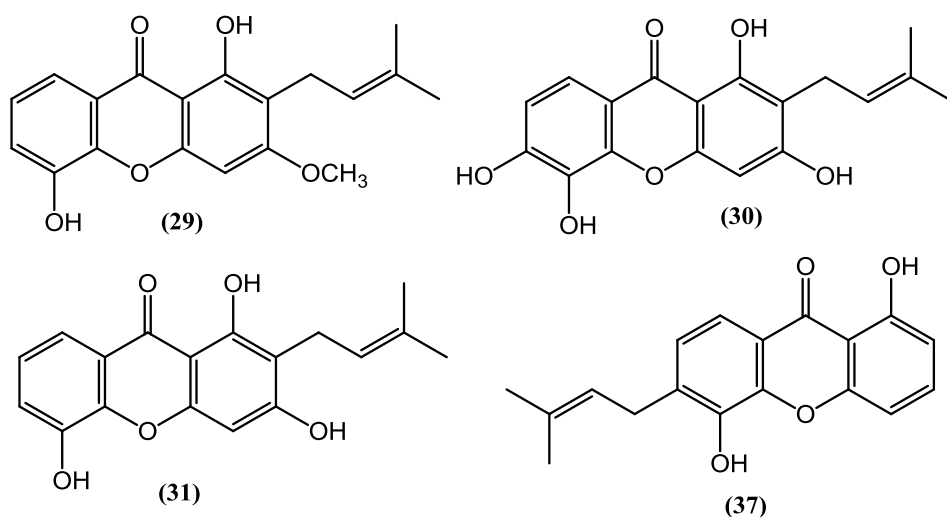
Santon sederhana didefinisikan sebagai senyawa santon yang mempunyai substituen hidroksi atau metoksi pada kedua inti aromatik. Berdasarkan penelusuran pustaka, 28 senyawa santon sederhana telah berhasil dipisahkan dari seluruh jaringan tumbuhan *Calophyllum* seperti terlihat pada Tabel 2.1. Beberapa senyawa santon sederhana yang diisolasi dari tanaman *Calophyllum apetalum* antara lain senyawa 1,5-dihidroksisanton (**4**), 1,3,5-trihidroksisanton (**5**), 1,3-dihidroksi-2,5-dimetoksisanton(**18**), dan 3,8-dihidroksi-1,2-dimetoksisanton (**4**) (Iinuma,*et al.*,1997) seperti terlihat pada Gambar 2.2.

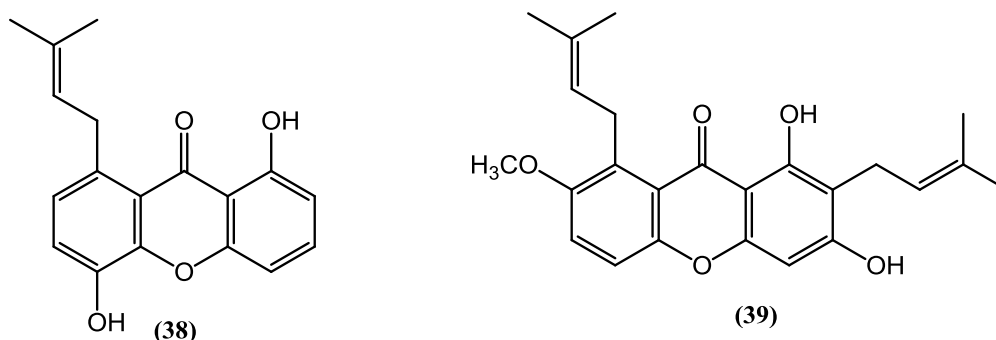
Gambar 2.3. Senyawa santon sederhana *Calophyllum*Tabel 2.1. Distribusi senyawa santon sederhana tumbuhan *Calophyllum*

Senyawa	Spesies	Pustaka
2-Hidroksisanton (1)	<i>C. teysmannii</i>	Kijjoa, <i>et al.</i> ,2000
4-Hidroksisanton (2)	<i>C. brasiliensis</i>	Sultanbawa, <i>et al.</i> 1980
2-Metoksisanton (3)	<i>C. austroindicum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1996
1,5-Dihidroksisanton (4)	<i>C. Apetalum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
1,3,5-Trihidroksisanton (5)	<i>C. Apetalum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
1,7-Dihidroksisanton (6)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
5-Hidroksi-8-metoksisanton (7)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2002
1-Hidroksi-5-metoksisanton (8)	<i>C. thwaitesii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,2009
1,5,6-Trihidroksisanton (9)	<i>C. calaba</i>	Sultanbawa, <i>et al.</i> ,1980
1,4,8-Trihidroksisanton (10)	<i>C. thorelii</i>	Nguyen, <i>et al.</i> ,2013
1-Hidroksi-5,6-dimetoksisanton (11)	<i>C. thwaitesii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,2009
3-Hidroksi-2,4-dimetoksisanton (12)	<i>C. teysmannii</i>	Kijjoa, <i>et al.</i> ,2000
1,6-Dihidroksi-5-metoksisanton (13)	<i>C. tomentosum</i>	Krunanayake, <i>et al.</i> ,1980
1,7-Dihidroksi-3-metoksisanton (14)	<i>C. teysmannii</i>	Kijjoa, <i>et al.</i> ,2000
1,3,5,6-Tetrahidroksisanton (15)	<i>C. thorelii</i>	Nguyen, <i>et al.</i> ,2013
7-Hidroksi-1,2,8-trimetoksisanton (16)	<i>C. teysmannii</i>	Kijjoa, <i>et al.</i> ,2000
6-Hidroksi-1,3,5-trimetoksisanton (17)	<i>C. austroindicum</i>	Peres, <i>et al.</i> ,2000
1,3-Dihidroksi-2,5-dimetoksisanton (18)	<i>C. apetalum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
1,7-Dihidroksi-3,6-dimetoksisanton (19)	<i>C. inophyllum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1996
3,8-Dihidroksi-1,2-dimetoksisanton (20)	<i>C. apetalum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
3,6-Dihidroksi-1,5-dimetoksisanton (21)	<i>C. austroindicum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1996
2,6-Dihidroksi-1,7-dimetoksisanton (22)	<i>C. membranaceum</i>	Zou, <i>et al.</i> ,2005
1,3,5-Trihidroksi-2-metoksisanton (23)	<i>C. apetalum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
1,3,8-Trihidroksi-5,7-dimetoksisanton (24)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2002
6-Hidroksi-1,2,5-trimetoksisanton (25)	<i>C. teysmannii</i>	Kijjoa, <i>et al.</i> ,2000
3,8-Dihidroksi-1,2,4-trometoksisanton (26)	<i>C. teysmannii</i>	Kijjoa, <i>et al.</i> ,2000
2-Karbometoksi-6-metoksisanton (27)	<i>C. teysmannii</i>	Kijjoa, <i>et al.</i> ,2000
2,5,6,7,8-pentahidroksisanton (28)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2002

2.3.2 Santon terisoprenilasi

Santon terisoprenilasi merupakan pengembangan dari senyawa santon sederhana yakni dengan adanya tambahan substituen isoprenil yang terikat pada inti aromatik santon. Posisi substituen isoprenil tersebut dipengaruhi oleh substituen hidroksi atau metoksi melalui reaksi substitusi elektrofilik yakni melalui pengaruh *ortho* atau *para*. Dengan demikian substituen isoprenil selalu pada posisi *ortho* atau *para* dari substituen hidroksi atau metoksi. Distribusi senyawa santon terisoprenilasi *Calophyllum* dapat dilihat pada Tabel 2.2. Senyawa santon terisoprenilasi yang telah diisolasi dari tanaman *Calophyllum* antara lain 1,5-dihidroksi-3-metoksi-2-prenilsanton (**29**), 1,3,5,6-tetrahidroksi-2-prenilsanton (**30**), 1,3,5-trihidroksi-2-prenilsanton (**31**), guanandin (**37**), isoguanandin (**38**), dan kalokalabasanton (**39**) (Gotllieb, *et al.*, 1968; Kumar, *et al.*, 1982; Inuma, *et al.*, 1997; Reyes, *et al.*, 1997). Struktur senyawa santon terisoprenilasi tanaman *Calophyllum* dapat dilihat pada Gambar 2.3.

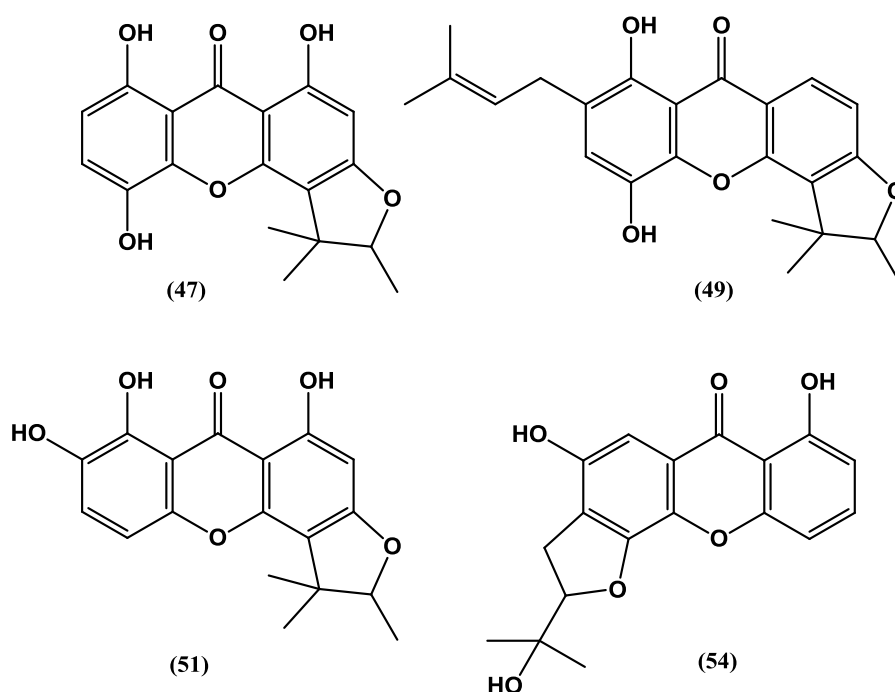


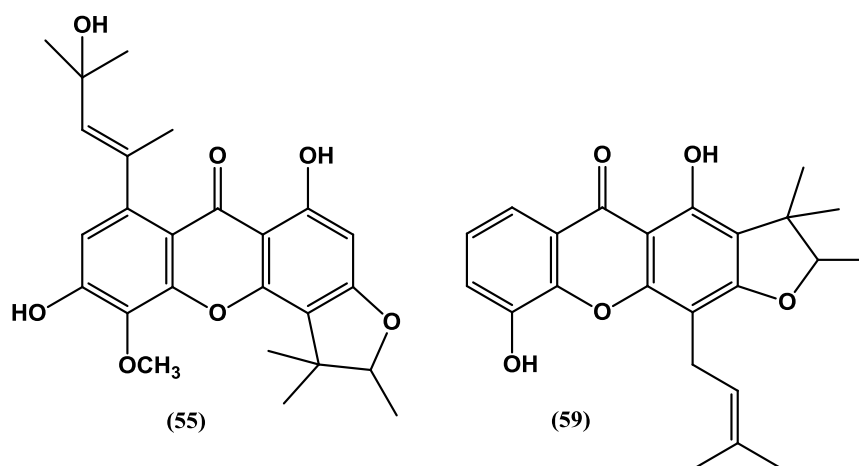
Gambar 2.4. Senyawa santon terisoprenilasi *Calophyllum*Tabel 2.2. Distribusi senyawa santon terisoprenilasi tumbuhan *Calophyllum*

Senyawa	Spesies	Pustaka
1,5-Dihidroksi-3-metoksi-2-isoprenilsanton (29)	<i>C. brasiliensis</i>	Reyes, <i>et al.</i> ,1997
1,3,5,6-tetrahidroksi-2-isoprenilsanton (30)	<i>C. brasiliensis</i>	Reyes, <i>et al.</i> ,1997
1,3,5-trihidroksi-2-isoprenilsanton (31)	<i>C. brasiliensis</i>	Reyes, <i>et al.</i> ,1997
β -Mangostin (32)	<i>C. hosei</i>	Daud, <i>et al.</i> ,2014
Apetalinon A (33)	<i>C. apelatum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
Apetalinon C (34)	<i>C. apelatum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
Apetalinon D (35)	<i>C. apelatum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
Globusanton (36)	<i>C. thorelii</i>	Nguyen, <i>et al.</i> ,2013
Guanandin(37)	<i>C. brasiliensis</i>	Gottlieb, <i>et al.</i> ,1968
Isoguanandin(38)	<i>C. brasiliensis</i>	Gottlieb, <i>et al.</i> ,1968
Kalokalabasanton (39)	<i>C. calaba</i>	Kumar, <i>et al.</i> ,1982
Kalozeylosanton(40)	<i>C. zeylanicum</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
Pilatin(41)	<i>C. inophyllum</i>	Mah, <i>et al.</i> ,2015
Pinetosanton (42)	<i>C. pinetorum</i>	Alarcon, <i>et al.</i> ,2008
Tomentonon (43)	<i>C. tomentosum</i>	Banerji, <i>et al.</i> ,1994
Zeylosanton(44)	<i>C. teysmannii</i>	Linuma, <i>et al.</i> ,1997
6-Deoxy- γ -mangostin (45)	<i>C. thwaitesii</i>	Peres, <i>et al.</i> ,1997
1-hidroksi-3,5,6-trimetoksi-2-prenilsanton (46)	<i>C. ramiflorum</i>	Sultanbawa, <i>et al.</i> ,1980

2.3.3 Furanosanton

Senyawa furanosanton merupakan modifikasi kimiawi senyawa turunan santon terprenilasi melalui reaksi intramolekular antara gugus hidroksi dengan ikatan rangkap di C-2' gugus isoprenil (Nguyen, *et al.*,2013). Senyawa furanosanton yang telah berhasil diisolasi dari tanaman *Calophyllum* antara lain garbogiol (47), inopinin (49), kalotoresanton (51), kalosanton F (54), kalosanton N (55), dan toresanton (59) (Iinuma, *et al.*,1997; Xiao, *et al.*,2008; Nguyen, *et al.*,2013; Mah, *et al.*,2015). Struktur senyawa furanosanton *Calophyllum* dapat dilihat pada Gambar 2.4 dan Tabel 2.3.



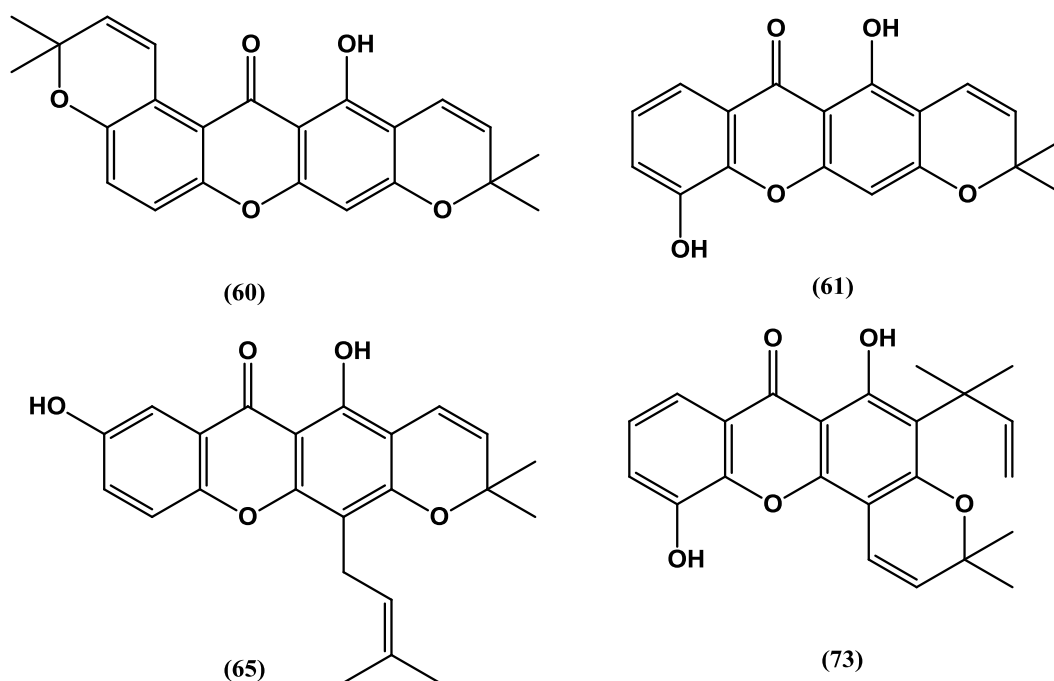
Gambar 2.5. Senyawa Furanosanton *Calophyllum*Tabel 2.3. Distribusi senyawa furanosanton tanaman *Calophyllum*

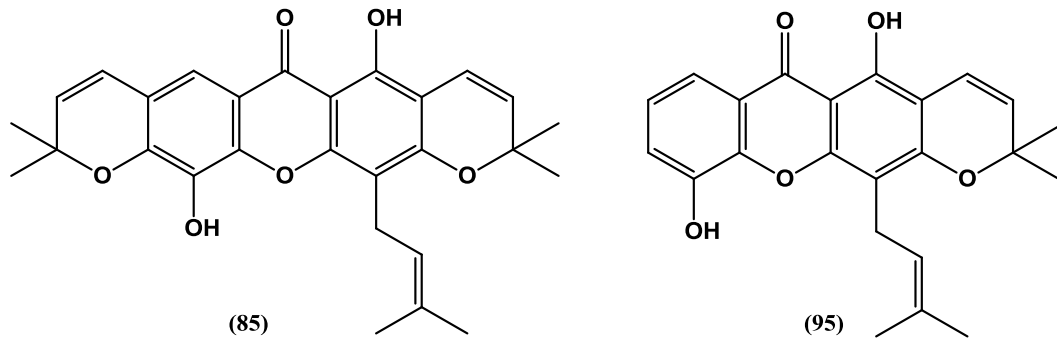
Senyawa	Spesies	Pustaka
Garbogiol (47)	<i>C. thorelii</i>	Nguyen, <i>et al.</i> ,2013
Gerontosanton (48)	<i>C. inophyllum</i>	Xiao, <i>et al.</i> ,2008
Inopin (49)	<i>C. inophyllum</i>	Mah, <i>et al.</i> ,2015
Kaledonisanton C (50)	<i>C. thorelii</i>	Nguyen, <i>et al.</i> ,2013
Kalotoresanton (51)	<i>C. thorelii</i>	Nguyen, <i>et al.</i> ,2013
Kalosanton B (52)	<i>C. inophyllum</i>	Li, <i>et al.</i> ,2011
KalosantonC (53)	<i>C. inophyllum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2000
Kalosanton F(54)	<i>C. austroindicum</i>	Iinuma, <i>et al.</i> ,1997
Kalosanton N(55)	<i>C. inophyllum</i>	Xiao, <i>et al.</i> ,2008
Kalosanton O(56)	<i>C. inophyllum</i>	Dai, <i>et al.</i> ,2010
Kaloanton P (57)	<i>C. inophyllum</i>	Dai, <i>et al.</i> ,2010
Kalosanton Q(58)	<i>C. inophyllum</i>	Wei, <i>et al.</i> ,2011
Toresanton(59)	<i>C. thorelii</i>	Nguyen, <i>et al.</i> ,2013

2.3.4 Piranosanton

Senyawa turunan piranosanton tanaman *Calophyllum* merupakan modifikasi kimiawi antara reaksi gugus hidroksi dengan ikatan rangkap di C-3'

gugus isoprenil menghasilkan senyawa turunan piranosanton. Senyawa piranosanton yang berhasil diisolasi dari tanaman *Calophyllum* antara lain 11,12-dihidrotwaitesisanton (**60**), 6-deoksijakareubin (**61**), brasisanton B (**65**), inopilin A (**73**), kalosanton I (**85**), dan trapezifolisanton (**94**) (Ito, *et al.*,2002; Cheng, *et al.*,2004; Ee, *et al.*,2006; Dharmaratne, *et al.*,2009; Kawamura, *et al.*,2012). Struktur senyawa piranosanton tanaman *Calophyllum* dapat dilihat pada Gambar 2.5. Berdasarkan penelusuran pustaka sebanyak 42 senyawa turunan piranosanton telah dipisahkan dari *Calophyllum* seperti terlihat pada Tabel 2.4.





Gambar 2.6. Senyawa piranosanton *Calophyllum*

Berdasarkan Gambar 2.5 senyawa turunan piranosanton mempunyai substituen hidroksi, isoprenil atau 3-metil-1-butena sehingga keragaman senyawa piranosanton lebih banyak variasinya.

Tabel 2.4. Distribusi senyawa piranosanton tanaman *Calophyllum*

Senyawa	Spesies	Pustaka
11,12-Dihidrotwaitesisanton (60)	<i>C. thwatesii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,2009
6-Deoksijakareubin (61)	<i>C. brasiliensis</i>	Kawamura, <i>et al.</i> ,2012
Ananisanton (62)	<i>C. venulosum</i>	Ismail, <i>et al.</i> ,2015
Apetanolin B (63)	<i>C. inophyllum</i>	Ee, <i>et al.</i> , 2006
Brasisanton A (64)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Brasisanton B (65)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Brasisanton C (66)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Brasisanton D (67)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Brasisanton E (68)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Brasisanton F (69)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Batukinasanton (70)	<i>C. monii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,1997
Dehidroksiguanandin(71)	<i>C. brasiliensis</i>	Gottlieb, <i>et al.</i> ,1968
Grasilisanton(72)	<i>C. gracilipes</i>	Cao, <i>et al.</i> ,1997
Inopilin A(73)	<i>C. inophyllum</i>	Ee, <i>et al.</i> ,2006
Inosanton (74)	<i>C. inophyllum</i>	Yimdjo, <i>et al.</i> ,2004
Jakareubin (75)	<i>C. brasiliensis</i>	Reyes, <i>et al.</i> ,1997
Kalabasanton (76)	<i>C. calaba</i>	Kumar, <i>et al.</i> ,1982
Kaledonisanton A (77)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2000
Kaledonisanton B (78)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2000
Kaledonisanton G (79)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2000
Kaledonisanton I (80)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2000
Kaledonisanton L (81)	<i>C. caledonicum</i>	Morel, <i>et al.</i> ,2000
Kalopinon (82)	<i>C. inophyllum</i>	Cheng, <i>et al.</i> ,2004
Kalosanton C (83)	<i>C. gracilipes</i>	Cao, <i>et al.</i> ,1997
Kalosanton G (84)	<i>C. austroindicum</i>	Iinuma, <i>et al.</i> ,1996
Kalosanton I(85)	<i>C. inophyllum</i>	Cheng, <i>et al.</i> ,2004
Kalotwaitesisanton (86)	<i>C. thwatesii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,2009
Kalozeylosanton (87)	<i>C. tomentosum</i>	Banerji, <i>et al.</i> ,1994
Latisanton C (88)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Membrasanton A (89)	<i>C. membranaceum</i>	Chen, <i>et al.</i> ,2008
Nigrolineasanton (90)	<i>C. membranaceum</i>	Chen, <i>et al.</i> ,2008
Piranojakareubin (91)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Sikloguanandin (92)	<i>C. brasiliensis</i>	Gottlieb, <i>et al.</i> ,1968
Soulattrin (93)	<i>C. soulattri</i>	Mah, <i>et al.</i> ,2015
Toksilosanton (94)	<i>C. brasiliensis</i>	Ito, <i>et al.</i> ,2002
Trapezifolisanton (95)	<i>C. thwatesii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,2009
Twaitesisanton (96)	<i>C. thwatesii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,2009
Batukinasanton (97)	<i>C. monii</i>	Dharmaratne, <i>et al.</i> ,1997
Venulosanton (98)	<i>C. venulosum</i>	Ismail, <i>et al.</i> ,2015
Blankosanton (99)	<i>C. blancoi</i>	Shen, <i>et al.</i> ,2005
Asetil blankosanton (100)	<i>C. blancoi</i>	Shen, <i>et al.</i> ,2005
3-hidroksiblankosantono (101)	<i>C. blancoi</i>	Shen, <i>et al.</i> ,2005

2.4 Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Santon

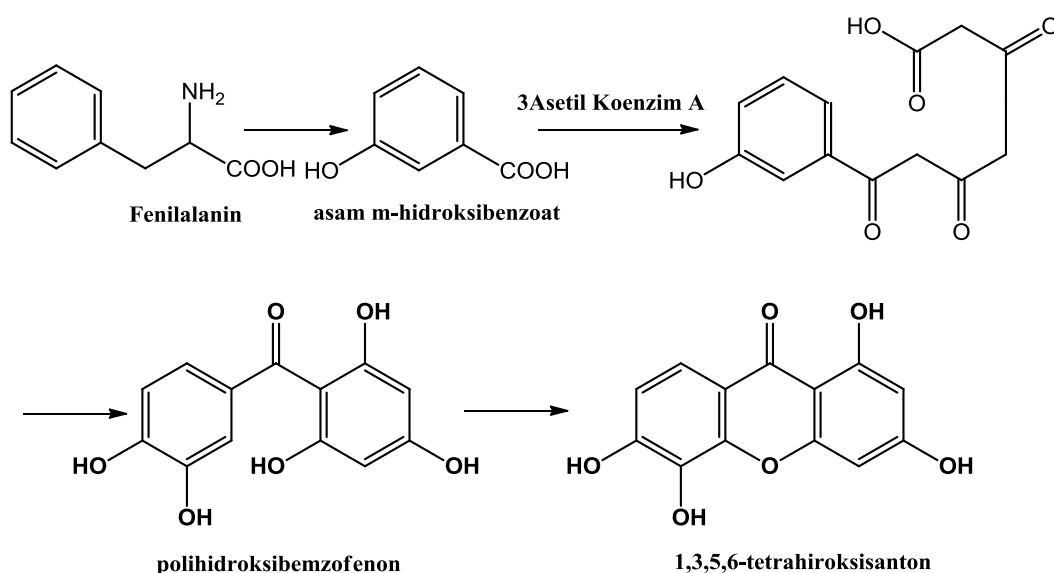
Senyawa santon terdapat pada semua bagian jaringan tumbuhan *Calophyllum*. Senyawa santon umumnya mempunyai tingkat kepolaran semi polar yang terekstraksi menggunakan pelarut semi polar seperti diklorometan, kloroform atau etilasetat. Umumnya ekstraksi dan isolasi senyawa santon *Calophyllum* menggunakan metode maserasi pada suhu kamar (Morel, *et al.*,2002; Reyes, *et al.*, 2004). Selanjutnya, pemisahan dan pemurnian senyawa santon menggunakan metode kromatografi seperti kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom grafitasi, TLC preparatif dan HPLC preparatif (Dharmaratne, *et al.*,1997; Inuma, *et al.*,1997; Morel, *et al.*,2002). Proses ekstraksi, dan isolasi senyawa santon *Calophyllum* tercantum pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5. Ekstraksi dan isolasi senyawa santon *Calophyllum*

Spesies	Ekstrak atau partisi	Pustaka
<i>C.apelatum</i>	Ekstraksi dengan benzena, aseton dan 70% metanol dan pemisahan dengan KCV	Inuma, <i>et al.</i> ,1997
<i>C.brasiliense</i>	Ekstraksi dengan <i>n</i> -heksana, aseton dan metanol dan pemisahan menggunakan kolom kromatografi	Reyes, <i>et al.</i> ,2004
<i>C.caledonicum</i>	Ekstraksi dengan <i>n</i> -heksan, diklorometan, etilasetat dan metanol selanjutnya pemisahan dengan kolom kromatografi	Morel, <i>et al.</i> ,2002
<i>C. gracilipes</i>	Ekstraksi dengan 95% etanol dan <i>n</i> -heksana selanjutnya pemisahan dengan KCV	Cao, <i>et al.</i> ,1997
<i>C.monii</i>	Ekstraksi dengan <i>n</i> -heksana, etilasetat dan metanol dan pemisahan menggunakan TLC preparative	Dharmaratne, <i>et al.</i> , 1997
<i>C. venulosum</i>	Ekstraksi dengan <i>n</i> -heksana, kloroform, dan metanol selanjutnya pemisahan dengan kromatografi kolom tekan.	Ismail, <i>et al.</i> ,2015

2.5 Biosintesis Senyawa Santon

Biosintesis senyawa santon berasal dari kombinasi dua jalur yakni jalur shikimat dan asetat malonat. Jalur shikimat membentuk kerangka dasar cincin A dan gugus keton, sedangkan jalur asetat malonat membentuk kerangka dasar cincin B pada struktur senyawa santon. Pembentukan jalur shikimat senyawa santon *Calophyllum* berasal dari asam amino fenilalanin atau tirosin yang kehilangan dua atom karbon dan mengalami oksidasi membentuk senyawa asam m-hidroksibenzoat. Kombinasi senyawa asam m-hidroksibenzoat dengan tiga asetil koenzim A menghasilkan senyawa tetraketida. Reaksi siklisasi tetraketida secara intramolekuler menghasilkan senyawa santon (Negi, *et al.*,2013). Jalur biosintesis senyawa santon dapat dilihat pada Gambar 2.7.



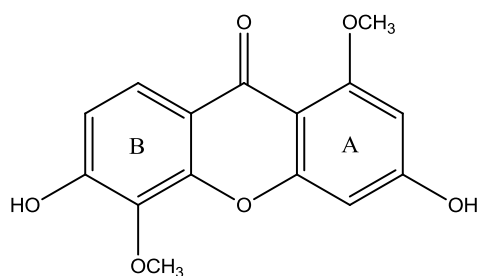
Gambar 2.7. Biosintesis senyawa santon

2.6 Analisis Spektroskopi

Analisis spektroskopi ultraviolet (UV), spektroskopi inframerah (IR), spektroskopi massa (MS), dan spektroskopi *nuclear magnetic resonance* (NMR) sangat penting dalam penentuan struktur senyawa santon.

Senyawa santon 3,6-dihidroksi-1,5-dimetoksisanton (**17**) berwujud padatan berwarna kuning berasal dari batang *Calophyllum austroindicum*. Spektrum UV senyawa dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} : 242, 287, 306, 315sh. Berdasarkan analisis spektrum massa memperlihatkan massa relatif m/z 288.0648 yang sesuai dengan rumus molekul $C_{15}H_{12}O_6$. Senyawa 3,6-dihidroksi-1,5-dimetoksisanton terdiri dari unsur karbon, hidrogen dan oksigen jika dilakukan pengukuran spektrometer massa maka akan memberikan massa relatif Mr genap.

Spektrum IR senyawa 3,6-dihidroksi-1,5-dimetoksisanton dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang maksimum ν_{maks} (cm^{-1}): 3520 (vibrasi ulur hidroksi -OH), 1645 (vibrasi ulur karbonil terkonjugasi C=O), 1575 (vibrasi ulur C=C aromatik), 1155-1130 (vibrasi C-O-C eter).



Gambar 2.8. Struktur senyawa 3,6-dihidroksi-1,5-dimetoksisanton

Analisis spektroskopi NMR senyawa 3,6-dihidroksi-1,5-dimetoksisanton (17) dalam DMSO (400 MHz) memperlihatkan adanya dua pasang proton aromatik di cincin A dan cincin B (Iinuma, *et al.*, 1996). Sepasang sinyal doublet ($J = 2,4$ Hz) pada pergeseran kimia δ_H 6,36 dan 6,44 ppm merupakan perjodohan proton aromatik di cincin A yang posisi satu sama lainnya *meta*. Sepasang sinyal doublet ($J = 8,8$ Hz) pada pergeseran kimia δ_H 6,87 dan 7,63 ppm merupakan perjodohan proton aromatik di cincin B dengan konstanta kopling *ortho*. Dua sinyal proton *broad* singlet pada pergeseran kimia δ_H 10,42 dan 10,80 ppm menunjukkan adanya dua substituen hidroksi dan dua substituen metoksi pada yang diperlihatkan oleh dua sinyal singlet pada δ_H 3,82 dan 3,87 ppm.

2.7 Tinjauan Tentang HIV

HIV (*human immunodeficiency virus*) adalah retrovirus yang menyerang sistem kekebalan tubuh manusia dan dapat menimbulkan AIDS (*acquired immunodeficiency syndrome*). HIV memiliki enzim *reverse transcriptase* yang dapat berfungsi mengubah RNA virus menjadi DNA yang menyerang sel limfosit (Pengsuparp, *et al.*, 1996). HIV mengkopi dirinya menjadi virus baru melalui sel limfosit. HIV menyerang sistem imun manusia yakni menyerang sel limfosit T helper yang memiliki reseptor CD4. Limfosit T helper berfungsi menghasilkan zat kimia yang berperan sebagai perangsang pertumbuhan dan pembentukan sel-sel lain dalam sistem imun dan antibodi. Oleh karena itu, ketika virus HIV menyerang sel limfosit T helper maka yang terganggu bukan hanya fungsi limfosit

T, akan tetapi sistem imunitas juga akan menjadi rusak dan menimbulkan kondisi yang disebut dengan AIDS (Jayanti, 2008).

Pengobatan yang selama ini dilakukan untuk pengidap virus HIV adalah dengan terapi antiretroviral (ARV). Terapi ini efektif untuk mencegah dan memperlambat pertumbuhan virus serta meningkatkan atau mempertahankan fungsi imun (Nagarajan, *et al.*,2015). Golongan obat ARV yang pertama adalah *nucleoside reverse transcriptase inhibitory* (NRTI) atau disebut juga analog nukleosida. Obat NRTI bekerja dengan cara menghambat kerja enzim *reverse transcriptase* yang dapat mengubah kode genetik HIV, yakni RNA virus menjadi DNA. Obat yang kedua adalah *non-nucleoside reverse transcriptase inhibitory* (NNRTI) yang spesifik dalam menghambat enzim *reverse transcriptase* HIV-1. Dan obat yang ketiga adalah *protease inhibitory* (PI) yang bekerja dengan cara menghambat pematangan virus baru oleh enzim protease, sehingga akan terbentuk partikel virus yang tidak dapat menginfeksi (Bakty, 2010). Sampai saat ini pengembangan obat anti-HIV dengan memanfaatkan senyawa hasil isolasi bahan alam mulai banyak dikembangkan.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2015-Mei 2016 di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya. Analisis spektroskopi UV dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Departemen Kimia. Analisis spektroskopi IR dilakukan di Laboratorium Instrumen, Departemen Kimia, FMIPA, UPI, Bandung. Analisis spektroskopi massa dilakukan di Laboratorium *Basic Science*, FMIPA, ITB, Bandung. Analisis spektroskopi NMR dan uji anti-HIV dilakukan di *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga, Surabaya.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *C.tetrapterum* Miq. Sampel tanaman diperoleh dari Kecamatan Samboja, Kabupaten Kutai Kartanegara, Provinsi Kalimantan Timur.

3.2.2 Bahan penelitian

Pelarut yang digunakan untuk keperluan ekstraksi, pemisahan, dan pemurnian adalah kualitas teknis yang terlebih dahulu didestilasi dan pro analisis. Pelarut organik yang digunakan antara lain metanol, n-heksana, etilasetat,

diisopropileter, kloroform, dan aseton. Fasa diam yang digunakan dalam pemisahan antara lain pelat KLT Kieselgel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm (Merck) untuk keperluan kromatografi lapis tipis (KLT), silika gel 60 GF₂₅₄ untuk keperluan kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom tekan, dan silika gel 60 PF₂₅₄ untuk keperluan kromatografi radial. Pelarut yang digunakan untuk pengukuran NMR menggunakan pelarut terdeuterasi antara lain CDCl₃. Pereaksi yang digunakan untuk penampak noda menggunakan pereaksi anisaldehyd, cerium sulfat dan lampu UV. Sel virus yang digunakan untuk uji aktivitas anti-HIV adalah HIV-1-*persistently infected* MT4 dan sel limfosit yang digunakan adalah sel T MOLT-4. Bahan yang digunakan untuk pembuatan kultur sel dan virus adalah media RPMI-1640, *fetal bovine serum*, dan natrium bikarbonat. Pereaksi yang digunakan untuk uji aktivitas anti-HIV adalah trypan biru.

3.2.3 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa destilasi sederhana, bejana maserasi, *rotary vacuum evaporator*, bejana kromatografi, kromatografi cair vakum, kromatografi kolom tekan, kromatografi radial, pipet mikro, lampu UV serta alat-alat gelas.

Peralatan yang digunakan untuk uji aktivitas anti-HIV adalah 96-*well plate*, tabung T75/T25, hemositometer, mikropipet, dan mikroskop. Peralatan yang digunakan dalam identifikasi struktur senyawa hasil isolasi antara lain spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800, spektrofotometer IR Perkin Elmer, spektrometer massa Waters LCT XE ESI-TOF (Electro Spray Ionization-Time of

Flight), serta spektrometer NMR JEOL JICA 400 yang beroperasi pada 400 MHz ($^1\text{H-NMR}$) dan 100 MHz ($^{13}\text{C-NMR}$).

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Ekstraksi, isolasi, dan pemurnian senyawa santon

Bahan penelitian berupa kulit batang *C. tetrapterum* Miq. sebanyak 2,0 kg berat kering, terlebih dahulu dipotong kecil-kecil dan digiling sampai berbentuk serbuk. Serbuk kulit batang dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi sebanyak dua kali dengan pelarut metanol dalam bejana maserasi sampai sampel terendam sempurna. Ekstrak yang diperoleh dari hasil maserasi diuapkan dengan alat *rotary vacuum evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental metanol.

Ekstrak kental metanol dipartisi dengan pelarut *n*-heksana menggunakan corong pisah untuk mengurangi senyawa non polar sehingga mempermudah pemisahan senyawa santon. Partisi tersebut menghasilkan dua lapisan, yakni lapisan atas berupa ekstrak *n*-heksana dan lapisan bawah berupa ekstrak metanol. Ekstrak metanol sebanyak 450 ml ditambahkan air sebanyak 50 ml kemudian dipartisi dengan pelarut etil asetat. Partisi ini menghasilkan dua lapisan, yakni lapisan atas berupa ekstrak etilasetat dan lapisan bawah berupa ekstrak metanol-air. Ekstrak etil asetat ditambahkan magnesium sulfat anhidrat selama 24 jam untuk menarik air yang terdapat dalam ekstrak etil asetat. Ekstrak etil asetat disaring dan pelarutnya diuapkan dengan *rotavapor vacuum* menghasilkan ekstrak etil asetat. Ekstrak etilasetat selanjutnya dianalisis menggunakan KLT untuk

mengetahui kompleksitas senyawa dalam ekstrak etil asetat serta mencari eluen yang sesuai dalam pemisahan KCV.

Pemisahan ekstrak etil asetat dengan KCV menggunakan campuran *n*-heksana : etil asetat dengan meningkatkan kepolaran secara gradient (9:1; 8:2; dan 7:3) menghasilkan fraksi utama. Fraksi utama hasil KCV selanjutnya dilakukan analisis KLT untuk menentukan eluen yang sesuai untuk pemisahan menggunakan kromatografi kolom tekan. Beberapa subfraksi hasil kromatografi kolom tekan dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi radial untuk memperoleh senyawa target santon. Untuk monitoring senyawa target santon digunakan penampak noda pada masing-masing kromatografi menggunakan lampu UV, pereaksi cerium sulfat dan pereaksi anisaldehyd. Uji kemurnian senyawa ditentukan dengan analisis KLT menggunakan minimal tiga sistem eluen yang berbeda. Senyawa dianggap murni ketika hasil KLT menunjukkan satu noda dalam berbagai eluen.

3.3.2 Penentuan struktur molekul senyawa santon

Penentuan struktur senyawa santon hasil isolasi dilakukan analisis spektroskopi dengan alat spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer IR, spektrometer HRESIMS, serta spektrometer NMR untuk menentukan struktur kimianya. Senyawa santon hasil isolasi dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum λ_{\max} , menghitung koefisiensi eksitensi molar ϵ_{\max} , dan penentuan efek batokromik dengan NaOH menggunakan spektrofotometer ultraviolet (UV) dalam pelarut metanol. Analisis dengan spektrofotometer IR

dilakukan untuk menentukan gugus fungsi senyawa santon hasil isolasi. Analisis dilakukan dengan cara membuat pellet KBr dan mengukur pita serapan pada bilangan gelombang (ν_{maks}) senyawa santon hasil isolasi. Penentuan massa molekul dan rumus molekul ditentukan dengan menggunakan analisis spektrometer massa HRESIMS. Analisis dilakukan dengan cara melarutkan sampel dengan air:asam formiat (1:1) untuk analisis massa kuasi molekul positif $[M+H]^+$ dan menambahkan beberapa tetes NH_4OH untuk analisis spektrum massa kuasi molekul negatif $[M-H]$. Pengukuran spektrum NMR dilakukan pada 400 MHz untuk pengukuran ^1H -NMR dengan memprogram pergeseran kimia proton 0-14 ppm sedangkan 100 MHz dengan memprogram pergeseran kimia karbon 0-220 ppm untuk pengukuran ^{13}C -NMR pada pengukuran 1D NMR. Pengukuran 2D NMR dilakukan setelah dibuat spektrum 1D NMR (^1H dan ^{13}C NMR). Pengukuran 2D NMR meliputi eksperimen HMQC dan HMBC.

3.3.3 Penentuan aktivitas anti-HIV-1

3.3.3.1 Penyiapan kultur

Kultur sel limfosit T MOLT-4 dan virus HIV-1 MT4 dibiakkan dalam media RPMI-1640 yang mengandung 10% *fetal bovine serum* dan 1% natrium bikarbonat. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm dalam tabung yang telah berisi 5 mL media RPMI. Pelet yang terbentuk dipisahkan dari supernatan dan ditransfer ke dalam tabung flask T75 yang telah berisi media RPMI sebanyak 15 mL. Sel limfosit dan virus lalu dihitung menggunakan metode hemositometer dengan pereaksi trypan biru.

3.3.3.2 Penentuan aktivitas anti-HIV

Uji aktivitas ekstrak etil asetat dan senyawa santon hasil isolasi terhadap sel HIV-1 dilakukan menggunakan uji *syncytia*. Uji aktivitas anti-HIV senyawa uji dilakukan dalam berbagai konsentrasi, yakni 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56; dan 0,78 ppm.

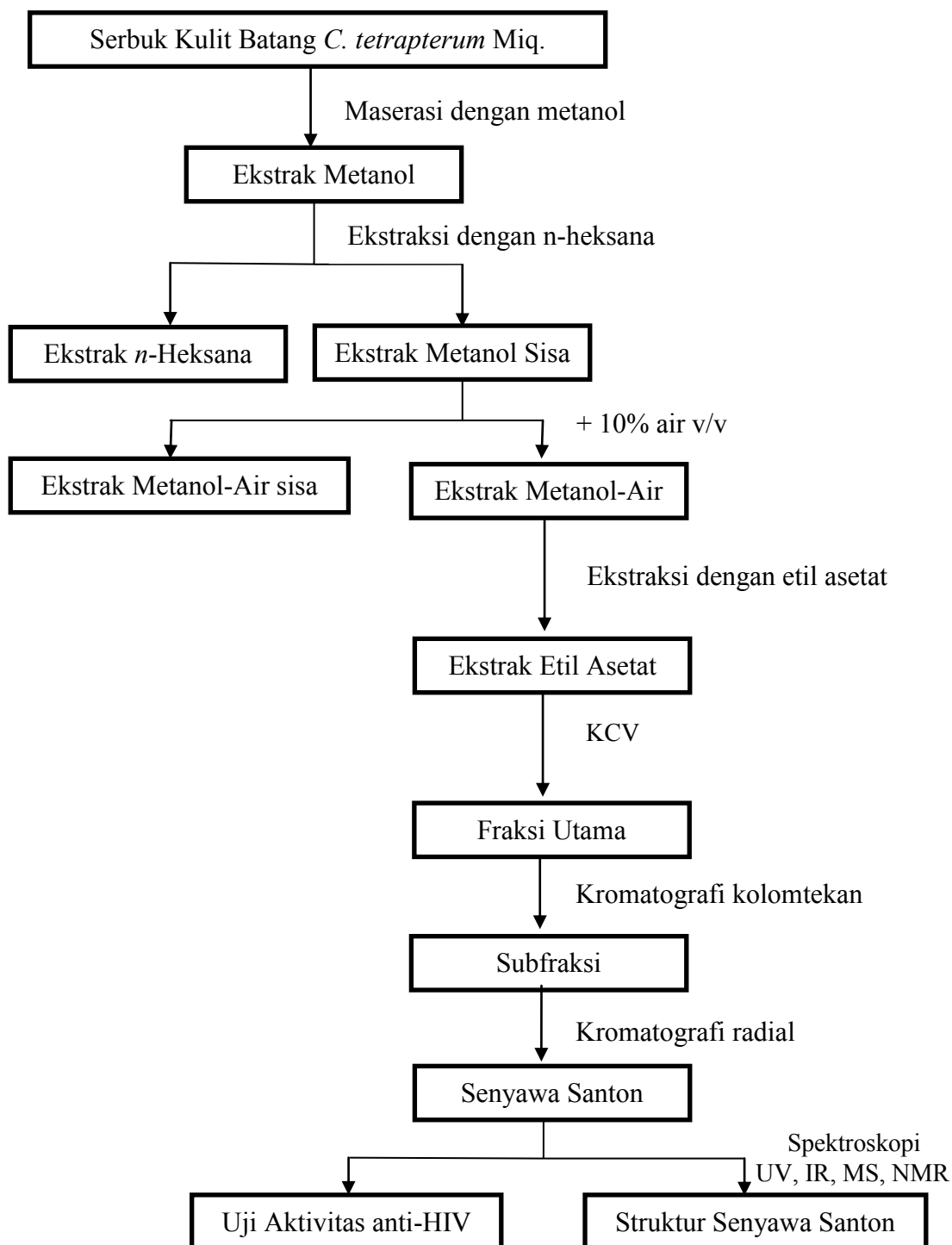
Sel HIV-1 MT4 sebanyak 50 μL yang mengandung 20.000 sel/well dalam *plate* 96-mikro *well* ditambahkan senyawa uji dalam berbagai konsentrasi dalam inkubator CO_2 selama dua jam pada suhu 37°C . Selanjutnya setelah dua jam diinkubasi, dilakukan penambahan sel limfosit T MOLT-4 sebanyak 50 μL yang mengandung 400.000 sel/well dan diinkubasi selama tujuh hari. Kontrol negatif yang digunakan dalam penentuan aktivitas anti-HIV ini adalah media RPMI-1640 yang telah mengandung sel virus HIV-1 dan sel limfosit. Observasi untuk menentukan aktivitas hambatan senyawa uji terhadap sel HIV-1 dilakukan dengan cara menghitung pembentukan *syncytia* menggunakan mikroskop.

Persentase daya hambat untuk menentukan aktivitas anti-HIV senyawa santon hasil isolasi ditentukan menurut persamaan :

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{100 - \text{Jumlah Syncytia Senyawa Uji}}{\text{Rata - rata Jumlah Syncytia Negatif Kontrol}} \times 100 \%$$

3.4 Diagram Alir Penelitian

Berikut adalah diagram alir penelitian:



Gambar 3.1. Diagram alir penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi dan Pemurnian Senyawa Santon

Ekstraksi senyawa santon dari kulit batang *Calophyllum tetrapterum* Miq. (2,0 kg) dilakukan dengan metode ekstraksi padat-cair dengan cara maserasi sebanyak dua kali dengan pelarut metanol pada suhu kamar. Ekstrak metanol yang diperoleh diuapkan pada tekanan rendah dengan alat *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak metanol selanjutnya dilakukan ekstraksi cair-cair menggunakan metode partisi dengan *n*-heksana. Hasil partisi tersebut menghasilkan dua lapisan, yakni lapisan atas berupa ekstrak *n*-heksana dan lapisan bawah berupa ekstrak metanol. Ekstrak metanol selanjutnya ditambahkan air dengan volume 10% v/v kemudian dipartisi dengan etil asetat. Proses partisi dengan etil asetat bertujuan untuk mendapatkan senyawa santon yang menjadi target penelitian. Partisi tersebut menghasilkan dua lapisan, yakni lapisan atas berupa ekstrak etil asetat dan lapisan bawah berupa ekstrak metanol-air. Ekstrak etil asetat diuapkan menggunakan alat penguap tekanan rendah menghasilkan ekstrak kental etil asetat berwarna coklat kehitaman sebanyak 36 gr.

Pemisahan ekstrak etil asetat (35 gr) dengan kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan silika gel sebagai fasa diam dan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat = 9:1, 8:2, dan 7:3 sebagai fasa gerak menghasilkan dua fraksi utama yakni fraksi A-B.

Pemisahan fraksi A (6,6 g) dengan kromatografi kolom tekan menggunakan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat = 9:1, 8:2, dan 7:3 menghasilkan dua subfraksi yakni subfraksi A₁ dan A₂. Pemurnian subfraksi A₁ (123,9 mg) dengan kromatografi radial menggunakan campuran eluen *n*-heksana:kloroform = 9:1, 1:1, dan 3:7 menghasilkan senyawa murni santon garciniafuran sebanyak 15 mg berwujud padatan berwarna kuning.

Pemisahan fraksi B (7,5 g) dengan metode yang sama dengan fraksi A menghasilkan tiga subfraksi B₁-B₃. Pemurnian subfraksi B₁ (215,5 mg) dengan kromatografi radial menggunakan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat = 9:1, 8:2, dan 3:7 menghasilkan senyawa piranojakareubin sebanyak 10 mg berwujud padatan berwarna putih.

Senyawa garciniafuran hasil isolasi memperlihatkan titik leleh sebesar 154-156° C dan senyawa piranojakareubin mempunyai titik leleh sebesar 188-190 °C. Uji kemurnian kedua senyawa santon hasil isolasi dilakukan dengan analisis KLT menggunakan sistem tiga eluen yang berbeda, yakni campuran *n*-heksana:aseton (8:2), *n*-heksana:diisopropileter (1:1), dan kloroform. Hasil uji KLT (Lampiran-1) kedua senyawa hasil isolasi memperlihatkan noda tunggal dengan nilai R_f senyawa garciniafuran sebesar 0,50; 0,47; 0,57 dan nilai R_f senyawa piranojakareubin sebesar 0,47; 0,40; dan 0,50.

Penentuan struktur molekul kedua senyawa santon hasil isolasi menggunakan analisis spektroskopi, meliputi spektroskopi UV, IR, HRESIMS, 1D (¹H-NMR dan ¹³C-NMR) dan 2D NMR (HMBC dan HMQC). Kedua senyawa santon hasil isolasi dan ekstraknya dilakukan uji aktivitas anti-HIV.

4.2 Penentuan Struktur Molekul Senyawa Santon Hasil Isolasi

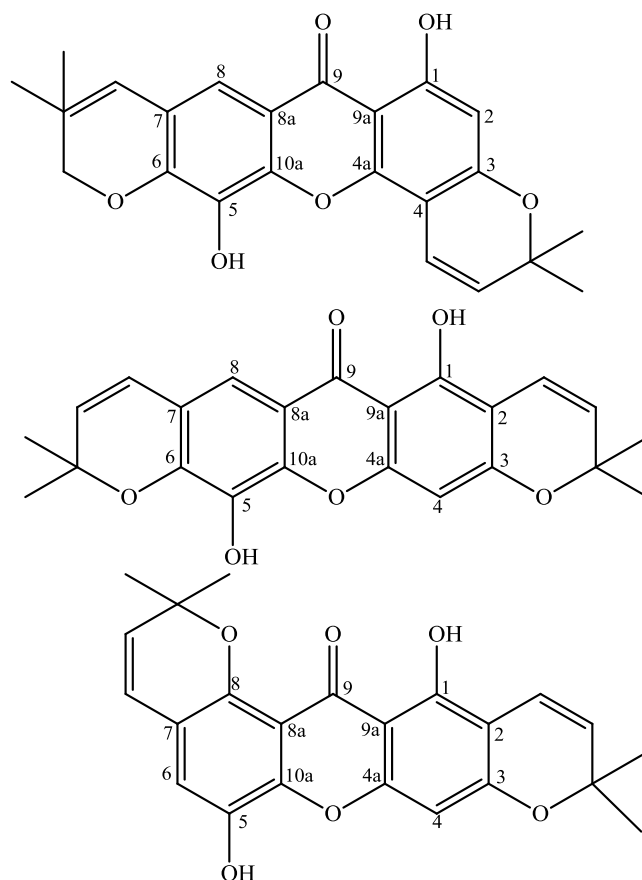
4.2.1. Senyawa piranojakareubin (Calt-10)

Senyawa santon piranojakareubin hasil isolasi berwujud padatan berwarna putih. Spektrum massa resolusi tinggi HRESIMS senyawa hasil isolasi (Lampiran-2) memperlihatkan massa ion kuasi molekul negatif $[M-H]^-$ pada m/z 391,1185 yang sesuai dengan rumus molekul $C_{23}H_{19}O_6$ (perhitungan $[M-H]^-$ 391,1182). Spektrum UV senyawa dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} ($\log \epsilon$): 237 (3,80), 288 (4,30), 297 (4,31) dan 340 (3,77) yang merupakan ciri khas puncak serapan senyawa turunan santon (Yimdjo, *et.al.*, 2004). Spektrum UV senyawa piranojakareubin dapat dilihat pada Lampiran-3.

Spektrum IR senyawa piranojakareubin hasil isolasi dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang maksimum ν_{maks} (cm^{-1}): 3423 (vibrasi ulur hidroksi $-OH$), 2925 dan 2852 (vibrasi ulur C-H), 1637 (vibrasi ulur karbonil terkonjugasi C=O), 1564 dan 1448 (vibrasi ulur C=C aromatik), 1155 dan 1130 (vibrasi C-O-C eter). Berdasarkan spektrum IR, senyawa piranojakareubin mempunyai gugus fungsi karbonil, aromatik, dan eter. Hasil pengukuran spektrum IR senyawa piranojakareubin hasil isolasi terlampir pada Lampiran-4.

Spektrum 1H -NMR senyawa santon hasil isolasi dalam $CDCl_3$ (400 MHz) memperlihatkan dua sinyal proton aromatik yakni pada pergeseran kimia δ_H (ppm) 7,48 dan 6,44 ppm yang merupakan ciri khas senyawa santon heksasubstitusi. Spektrum 1H -NMR juga memperlihatkan adanya dua pasang sinyal proton *cis* vinilik dari pirano yang masing-masing memperlihatkan multiplisitas *doublet* ($J =$

10,0 Hz) pada δ_H 6,73; 6,45; 5,74 dan 5,60 ppm. Adanya dua cincin pirano yang terikat pada inti aromatik didukung adanya dua sinyal singlet metil pada δ_H 1,55 dan 1,48 ppm yang masing-masing mewakili dua buah metil. Satu sinyal singlet *deshielding* pada δ_H 13,31 ppm merupakan ciri khas sinyal dari gugus hidroksi – OH yang berikatan hidrogen dengan karbonil. Sinyal tersebut menunjukkan gugus hidroksi tersebut terikat di C-1 (Yimdjo, *et.al.*, 2004). Sinyal singlet pada δ_H 5,58 ppm memperlihatkan bahwa senyawa hasil isolasi mempunyai substituen hidroksi selain pada δ_H 13,31 ppm. Berdasarkan penggabungan data analisis spektrum 1H NMR dan analisis HRESIMS (rumus molekul $C_{23}H_{19}O_6$) maka senyawa santon hasil isolasi disarankan mempunyai struktur seperti terlihat pada Gambar 4.1. Spektrum 1H NMR senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Lampiran-5.



Gambar 4.1. Kemungkinan struktur senyawa santon calt-10 hasil isolasi

Analisis spektrum ^{13}C -NMR dengan percobaan APT (100 MHz) senyawa hasil isolasi memperlihatkan 21 sinyal karbon yang mewakili 23 atom karbon. Berdasarkan data spektrum ^{13}C -NMR diketahui senyawa hasil isolasi terdiri dari 13 atom karbon kuartener, enam karbon metin CH dan empat karbon metil yang sesuai dengan rumus molekul $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{O}_6$ pada HRESIMS dan sesuai dengan struktur senyawa santon pada Gambar 4.1. Spektrum ^{13}C NMR senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Lampiran-6.

Justifikasi struktur santon hasil isolasi seperti yang disarankan pada Gambar 4.1 ditetapkan berdasarkan analisis 2D NMR dengan menggunakan

spektrum HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*) dan HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*).

Analisis spektrum HMQC senyawa santon hasil isolasi bertujuan untuk menentukan korelasi antara sinyal proton pada ^1H NMR dengan sinyal karbon ^{13}C NMR dalam satu ikatan. Berdasarkan hasil pengukuran spektrum HMQC senyawa santon hasil isolasi memperlihatkan delapan sinyal proton pada ^1H NMR yang berkorelasi dalam satu ikatan dengan delapan sinyal karbon pada ^{13}C NMR. Sebagai contoh, sinyal proton aromatik pada δ_{H} 7,48 (1H, *s*) diketahui mempunyai korelasi dengan sinyal karbon pada δ_{C} 113,5, sinyal proton *cis* vinilik pada δ_{H} 6,73 mempunyai korelasi dengan sinyal karbon pada δ_{C} 115,4 serta sinyal proton metil pada δ_{H} 1,48 mempunyai korelasi dengan sinyal karbon pada δ_{C} 28,3 ppm. Data korelasi satu ikatan pada spektrum HMQC senyawa santon hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.1. dan Lampiran-7.

Tabel-4.1. Data spektrum HMQC senyawa santon piranojakareubin hasil isolasi dalam CDCl_3 .

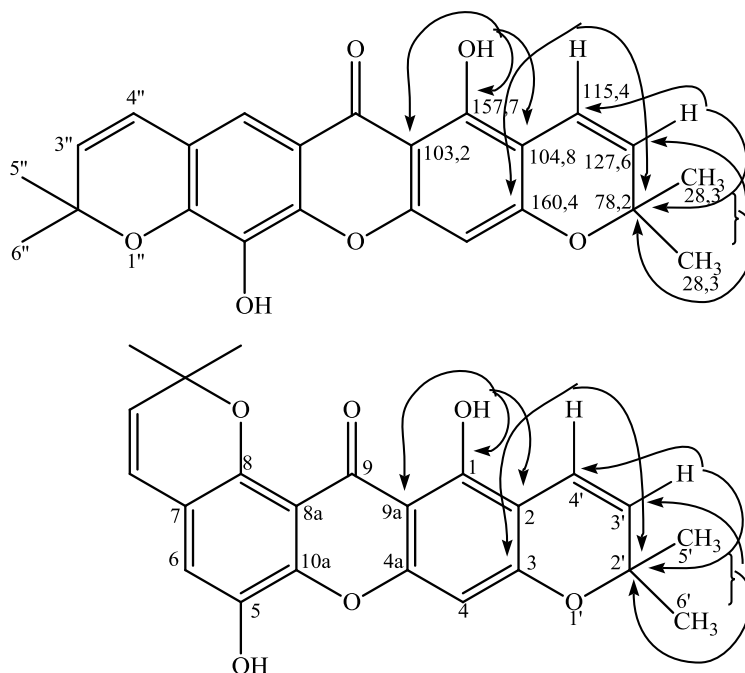
δ_{H} (mult, <i>J</i> Hz, integritas)	δ_{C}
7,48 (<i>s</i> , 1H)	113,5
6,73 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,0; 1H)	115,4
6,45 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,0; 1H)	121,3
6,44 (<i>s</i> , 1H)	95,3
5,74 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,0; 1H)	127,6
5,60 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,0; 1H)	131,0
1,55 (<i>s</i> , 6H)	28,5
1,48 (<i>s</i> , 6H)	28,3

Analisis spektrum HMQC hanya dapat menentukan korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dalam satu ikatan tetapi tidak dapat menentukan

sinyal karbon kuarterner serta menentukan kedudukan masing-masing sinyal proton dan sinyal karbon. Oleh karena itu, analisis spektrum HMBC sangat diperlukan untuk menentukan kedudukan sinyal proton dan sinyal karbon senyawa santon hasil isolasi. Analisis spektrum HMBC berguna untuk menentukan korelasi jarak jauh antara sinyal proton pada ^1H NMR dengan sinyal karbon ^{13}C NMR dalam dua dan tiga ikatan dan sekaligus menentukan struktur kimia senyawa santon hasil isolasi.

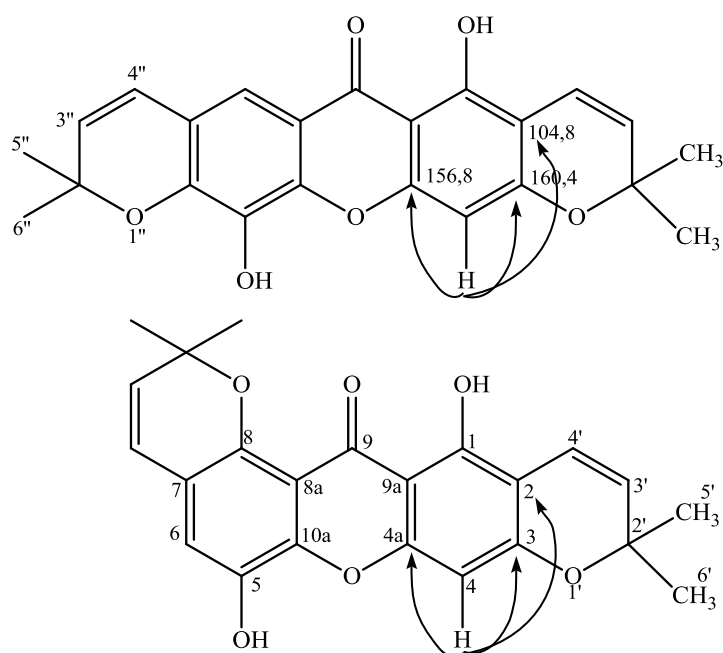
Korelasi jarak jauh ^1H dan ^{13}C NMR pada spektrum HMBC (Lampiran-8) yakni sinyal singlet proton pada δ_{H} 13,31 ppm (1-OH) memperlihatkan korelasi dengan tiga buah sinyal karbon kuarterner (δ_{C} 157,7; 104,8; 103,2). Hasil korelasi tersebut menunjukkan δ_{C} 157,7; 104,8; 103,2 terikat di C-1, C-2 dan C-9a serta sekaligus menunjukkan δ_{C} 157,7 ppm terikat di C-1. Berdasarkan Gambar 4.1. maka cincin pirano terhubungkan pada C-2/C3. Penempatan cincin pirano tersebut di C-2/C3 didukung oleh sinyal *cis* vinilik pada δ_{H} 6,73 dengan dua sinyal karbon kuarterner (δ_{C} 160,4 dan 78,9) dan sekaligus penempatan sinyal karbon δ_{C} 160,4 di C-3 dan δ_{C} 72,8 di C-2'. Penempatan δ_{C} 72,8 di C-2' didukung oleh korelasi antara sinyal proton δ_{H} 5,74 dengan satu sinyal karbon kuarterner δ_{C} 72,8 dan satu sinyal karbon metin pada δ_{C} 115,4. Berdasarkan data HMQC δ_{C} 115,4 mempunyai sinyal proton pada 6,73 ppm sedangkan δ_{C} 127,6 berkorelasi dengan 5,74 ppm. Dengan demikian sinyal δ_{C} 115,4 terikat pada C-4' dan 127,6 di C-3' Sinyal metil dari bagian pirano pada δ_{H} 1,48 memperlihatkan korelasi dengan tiga sinyal karbon δ_{C} 127,6 (C-3'), 72,8 (C-2'), dan 28,3 (C-5'/6')

Korelasi jarak jauh antara δ_H 13,31 (1-OH), 6,73 (H-4'), 5,74 (H-3') dan 1,48 ppm (H-5'/6') dengan sinyal-sinyal karbon dapat dilihat pada Gambar 4.2. Dengan demikian struktur senyawa yang disarankan pada Gambar 4.1. tinggal dua kemungkinan.



Gambar 4.2. Korelasi sinyal proton 1-OH dan pirano dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa piranojakareubin hasil isolasi

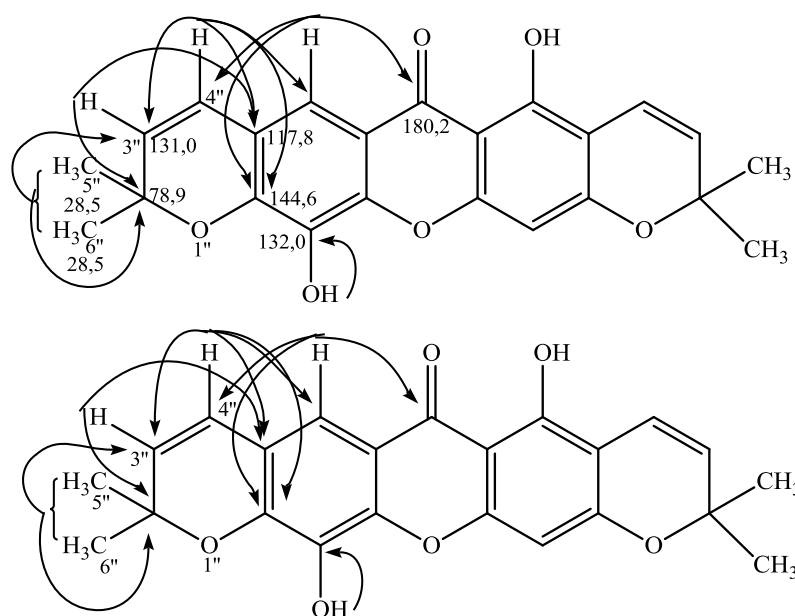
Spektrum HMQC memperlihatkan sinyal proton δ_H 6,44 mempunyai korelasi dengan sinyal karbon δ_H 95,3. Analisis spektrum HMBC dari sinyal proton δ_H 6,44 memperlihatkan korelasi dengan tiga sinyal karbon kuarternern yakni pada δ_C 160,4; 156,8 dan 104,8. Berdasarkan Gambar 4.2 maka sinyal proton δ_H 6,44 berkedudukan di H-4 dan sinyal karbon δ_C 156,8 berkedudukan di C-4a. Korelasi sinyal proton δ_H 6,44 (H-4) dengan sinyal karbon C-2; C-3; C-4a dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Korelasi sinyal proton H-4 dengan sinyal karbon di C-2, C-3 dan C-4a senyawa piranojakareubin hasil isolasi

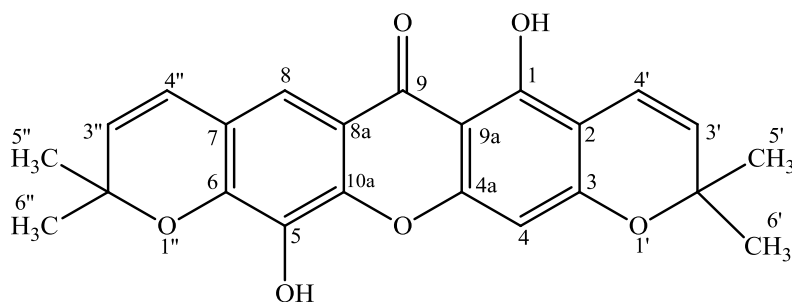
Analisis spektrum HMBC dari sinyal proton δ_H 7,48 memperlihatkan korelasi dengan sinyal karbon karbonil pada δ_C 180,2; oksiaril δ_C 144,6 dan metin δ_C 121,3. Berdasarkan Gambar 4.3 maka sinyal proton δ_H 7,48 terletak di H-8. Dari analisis spektrum HMQC δ_H 7,48 mempunyai sinyal karbon karbonil pada δ_C 113,5. Korelasi sinyal proton *cis* vinilik pada δ_H 6,45 dengan empat sinyal karbon yaitu tiga sinyal karbon kuarterner (δ_C 144,6; 117,8; 78,9) dan satu sinyal karbon metin δ_C 113,5 (C-8) menunjukkan pirano terikat pada C-6/C-7. Berdasarkan Gambar 4.3 maka sinyal karbon δ_C 144,6 terikat di C-6; 117,8 di C-7 dan 78,9 di C-2''. Data yang mendukung pirano terikat pada C-6/C-7 adanya korelasi sinyal proton 5,60 (*cis* vinilik) dengan dua sinyal karbon kuarterner yakni pada δ_C 117,8 (C-7) dan 78,9 (C-2''). Analisis spektrum HMQC menunjukkan bahwa dua proton *cis* vinilik pada δ_H 6,45 dan 5,60 masing-masing mempunyai sinyal karbon

pada δ_C 121,3 dan 131,0. Bukti yang mendukung pirano terikat di C/6/C-7 adanya korelasi pada HMBC antara sinyal singlet metil pada 1,55 dengan tiga sinyal karbon pada δ_C 131,0 (C-3''), 78,9 (C-2'') dan 28,5 (C-5''/C-6''). Korelasi sinyal singlet dari gugus hidroksi pada δ_H 5,58 dengan sinyal karbon oksiaril pada δ_C 132,0 mempertegas gugus hidroksi tersebut terikat di C-5. Korelasi sinyal proton δ_H 7,48 (H-8), sinyal proton pirano dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Korelasi sinyal proton H-8, sinyal proton pirano dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa piranojakareubin hasil isolasi.

Berdasarkan data spektrum HMBC maka senyawa santon hasil isolasi dikenal dengan nama piranojakareubin (Gambar 4.5). Data spektrum HMBC yang mendukung struktur piranojakareubin dapat dilihat pada Tabel 4.2.



Gambar 4.5. Struktur piranojakreubin hasil isolasi

Tabel-4.2. Data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa piranojakareubin dalam CDCl_3 .

No.C	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	HMBC
1	-	157,7	-
2	-	104,8	-
3	-	160,4	-
4	6,44 (s)	95,3	C-2; C-3; C-4a
5	-	132,0	-
6	-	144,6	-
7	-	117,8	-
8	7,48 (s)	113,5	C-6; C-9; C-4''
9	-	180,2	-
4a	-	156,8	-
8a	-	114,6	-
9a	-	103,2	-
10a		144,7	-
2'	-	78,2	-
3'	5,74 (d, J = 10,0)	127,6	C-2', C-4'
4'	6,73 (d, J = 10,0)	115,4	C-3; C-2''
5'	1,48 (s)	28,3	C-2'; C-3'; C-5'
6'	1,48 (s)	28,3	C-2'; C-3'; C-4'
2''	-	78,9	-
3''	5,60 (d, J = 10,0)	131,0	C-7, C-2''
4''	6,45 (d, J = 10,0)	121,3	C-6; C-7; C-8; C-2''
5''	1,55 (s)	28,5	C-2''; C-3''; C-5''
6''	1,55 (s)	28,5	C-2''; C-3''; C-4''
1-OH	13,31 (s)	-	C-1; C-2; C-9a
5-OH	5,58 (s)	-	C-5

Berdasarkan data perbandingan spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa piranojakreubin hasil isolasi memperlihatkan kesesuaian yang tinggi dengan data NMR senyawa piranojakreubin dari tumbuhan *C. inophyllum* (Cheng, *et.al.*, 2004) seperti terlihat Tabel 4.3.

Tabel-4.3. Perbandingan data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa piranojakreubin

No.C	Piranojakreubin Hasil Isolasi		Piranojakreubin (Cheng, 2004)	
	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}
1	-	157,7	-	157,8
2	-	104,8	-	104,8
3	-	160,4	-	159,4
4	6,44 (s)	95,3	6,43 (s)	95,4
5	-	132,0	-	132,1
6	-	144,6	-	144,8
7	-	117,8	-	117,9
8	7,48 (s)	113,5	7,47 (s)	113,6
9	-	180,2	-	178,8
4a	-	156,8	-	156,9
8a	-	114,6	-	114,7
9a	-	103,2	-	103,8
10a		144,7		145,0
2'	-	78,2	-	78,2
3'	5,74 (d, J = 10,0)	127,6	5,73 (d, J = 10,0)	127,6
4'	6,73 (d, J = 10,0)	115,4	6,73 (d, J = 10,0)	115,5
5'	1,48 (s)	28,3	1,48 (s)	28,4
6'	1,48 (s)	28,3	1,48 (s)	28,4
2''	-	78,9	-	79,0
3''	5,60 (d, J = 10,0)	131,0	5,59 (d, J = 10,0)	131,1
4''	6,45 (d, J = 10,0)	121,3	6,44 (d, J = 10,0)	121,5
5''	1,55 (s)	28,5	1,54 (s)	28,5
6''	1,55 (s)	28,5	1,54 (s)	28,5
1-OH	13,31 (s)	-	13,29 (s)	-
5-OH	5,58 (s)	-	5,50 (s)	-

4.2.2 Senyawa garciniafuran (Calt-7)

Senyawa santon garciniafuran hasil isolasi memperlihatkan massa ion kuasi molekul negatif $[M-H]^-$ pada m/z 407,1496 yang sesuai dengan rumus molekul $C_{24}H_{23}O_6$ (perhitungan $[M-H]^-$ 407,1495). Spektrum massa senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Lampiran-9. Spektrum UV senyawa dalam metanol memperlihatkan puncak serapan maksimum pada λ_{maks} ($\log \epsilon$): 277 (4,22), 289 (4,21), 335 (3,90) dan 363 (3,91) yang khas untuk puncak serapan senyawa turunan santon (Nilar, *et al.*, 2002). Spektrum UV senyawa garciniafuran dapat dilihat pada Lampiran-10.

Spektrum IR senyawa garciniafuran hasil isolasi dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang maksimum ν_{maks} (cm^{-1}): 3442 (vibrasi ulur hidroksi $-OH$), 2852 dan 2922 (vibrasi ulur C-H), 1639 (vibrasi ulur karbonil terkonjugasi C=O), 1462 dan 1429 (vibrasi ulur C=C aromatik), 1159 dan 1122 (vibrasi C-O-C eter). Berdasarkan spektrum IR, senyawa garciniafuran mempunyai gugus fungsi yang sama dengan piranojakareubin. Hasil pengukuran spektrum IR senyawa garciniafuran hasil isolasi terlampir pada Lampiran-11.

Analisis spektrum 1H -NMR (Lampiran-12) senyawa santon hasil isolasi memperlihatkan dua sinyal proton aromatik pada pergeseran kimia δ_H 6,84 dan 6,25 ppm yang khas untuk senyawa santon heksasubstitusi. Spektrum 1H -NMR senyawa santon hasil isolasi memperlihatkan substituen pirano yakni sepasang sinyal proton *cis* vinilik dengan multiplisitas *doublet* ($J = 10,0$ Hz) pada δ_H 6,73 dan 5,57 ppm. Spektrum 1H -NMR senyawa santon juga memperlihatkan adanya

substituen isoprenil yakni satu sinyal *triplet* ($J = 7,7$ Hz) dari proton ikatan rangkap dua pada δ_H 5,26, satu sinyal *doublet* ($J = 6,3$ Hz) metilen pada δ_H 4,08 dan dua sinyal singlet metil pada δ_H 1,83 dan 1,69 ppm. Selain substituen isoprenil dan pirano, senyawa hasil isolasi pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ memperlihatkan dua sinyal singlet gugus hidroksi $-\text{OH}$ (δ_H 13,70; 6,31) dan satu sinyal singlet gugus metoksi $-\text{OCH}_3$ pada δ_H 3,81 ppm. Sinyal singlet pada δ_H 13,70 ppm merupakan ciri khas sinyal dari gugus hidroksi yang terikat di C-1.

Analisis spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ (Lampiran-13) senyawa hasil isolasi memperlihatkan 24 sinyal karbon yang sesuai dengan rumus molekul $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{O}_6$ pada spektrum HRESIMS. Analisis spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ diketahui sinyal karbon senyawa hasil isolasi terdiri dari 13 atom kuartener, lima karbon metin, satu sinyal karbon metilen dan lima karbon metil.

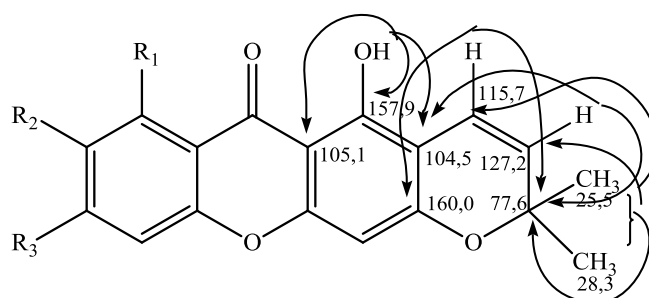
Penempatan dua substituen hidroksi $-\text{OH}$, satu metoksi $-\text{OCH}_3$, satu isoprenil dan satu pirano ditetapkan berdasarkan analisis spektrum HMQC dan HMBC.

Analisis spektrum HMQC (Lampiran-14) memperlihatkan 10 sinyal proton pada spektrum $^1\text{H NMR}$ yang berkorelasi dengan 11 sinyal karbon pada spektrum $^{13}\text{C NMR}$. Sinyal proton aromatik pada δ_H 6,84 diketahui mempunyai korelasi dengan sinyal karbon pada δ_C 101,6 sinyal proton *cis* vinilik pada δ_H 6,73 mempunyai korelasi dengan sinyal karbon pada δ_C 115,7, sinyal proton metilen pada δ_H 4,08 berkorelasi dengan δ_C 26,5 serta sinyal proton metoksi pada δ_H 3,81 berkorelasi dengan δ_C 62,1 ppm. Data spektrum HMQC senyawa santon hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel-4.4. Data spektrum HMQC senyawa santon garciniafuran hasil isolasi dalam CDCl₃.

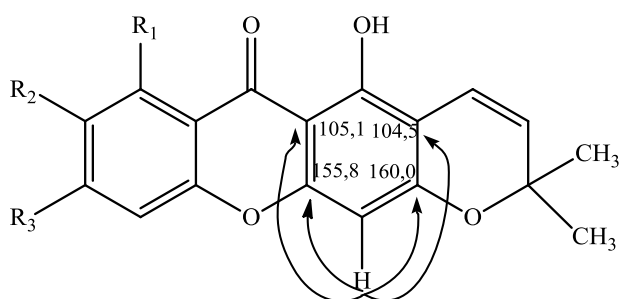
δ_H (mult, <i>J</i> Hz, integritas)	δ_C
6,84 (<i>s</i> , 1H)	101,6
6,73 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,0, 1H)	115,7
6,25 (<i>s</i> , 1H)	94,2
5,57 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,0, 1H)	127,2
5,26 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,7, 1H)	123,0
4,08 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,3, 2H)	26,5
3,81 (<i>s</i> , 3H)	62,1
1,83 (<i>s</i> , 3H)	18,2
1,69 (<i>s</i> , 3H)	25,8
1,46 (<i>s</i> , 6H)	28,3
	25,5

Analisis spektrum HMBC (Lampiran-15) menunjukkan adanya korelasi antara sinyal proton pada δ_H 13,70 (1-OH) memperlihatkan korelasi dengan tiga buah sinyal karbon kuarterner (δ_C 157,9; 105,1; 104,5). Hasil korelasi tersebut menunjukkan δ_C 157,9 berada di C-1; 105,1; 104,5 terikat di C-2 dan C-9a. Penempatan δ_C 104,5 terikat di C-2 didukung oleh korelasi sinyal proton *cis* vinilik pirano pada δ_H 5,57 dengan sinyal karbon kuarterner yakni δ_C 104,5 dan 77,6. Korelasi sinyal *cis* vinilik pada δ_H 6,73 dengan dua sinyal karbon kuarterner (δ_C 160,0 dan 77,6) menunjukkan sinyal karbon δ_C 160,4 di C-3. Sinyal metil dari bagian pirano menunjukkan korelasi yang sama dengan senyawa piranojakareubin yakni dengan tiga sinyal karbon. Korelasi jarak jauh antara δ_H 13,70 (1-OH), 6,73, 5,74 dan 1,46 ppm dengan sinyal-sinyal karbon dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Korelasi antara δ_H 13,70, 6,73, 5,74 dan 1,46 ppm dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa garciniafuran hasil isolasi

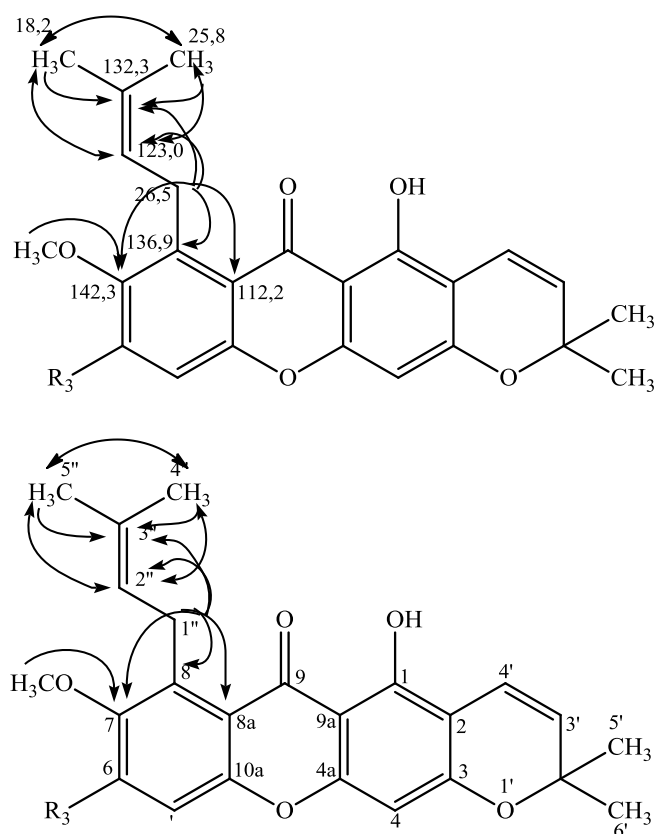
Analisis spektrum HMBC dari sinyal proton δ_H 6,25 memperlihatkan korelasi dengan empat sinyal karbon kuarterner yakni pada δ_C 160,0; 155,8; 105,1 dan 104,5 menunjukkan sinyal proton δ_H 6,25 di H-4. Berdasarkan Gambar 4.2 maka sinyal proton δ_H 6,25 berkedudukan di H-4 dan sinyal karbon δ_C 155,8 di C-4a. Korelasi sinyal proton δ_H 6,25 (H-4) dengan sinyal karbon C-2; C-3; C-4a dan C-9a dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7. Korelasi sinyal proton δ_H 6,25 dengan sinyal karbon di C-2, C-3, C-4a dan C-9a senyawa garciniafuran hasil isolasi

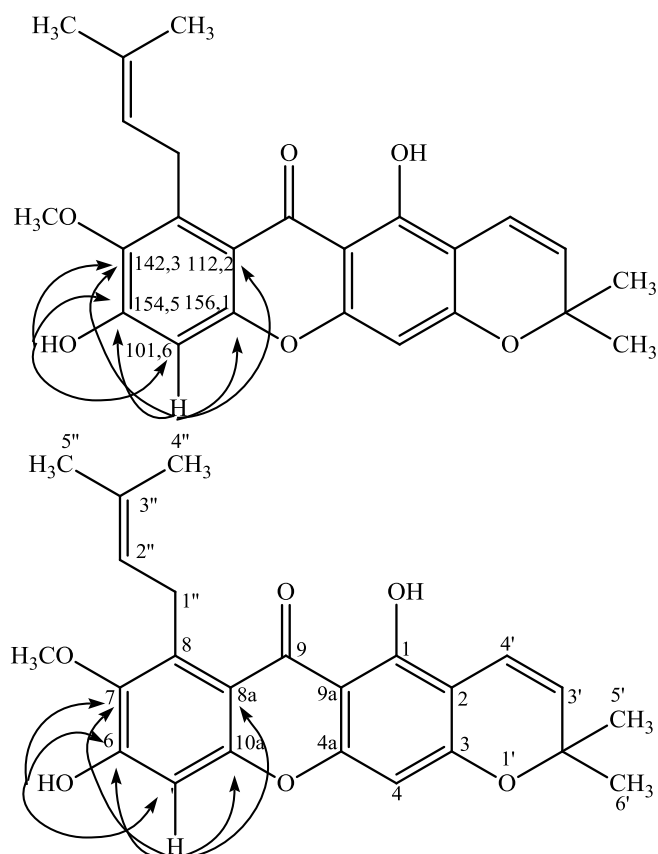
Korelasi antara sinyal proton metilen dari isoprenil pada δ_H 4,08 dengan lima sinyal karbon yakni empat karbon kuarterner (δ_C 142,3; 136,9; 132,3 dan 112,2) dan satu karbon metin (δ_C 123,0) menunjukkan isoprenil terikat di C-8. Jika isoprenil tidak terikat di C-8 maka sinyal proton metilen δ_H 4,08 berkorelasi dengan dua sinyal karbon oksiaril. Korelasi antara sinyal proton metoksi pada δ_H

3,81 dengan satu sinyal karbon kuarterner (δ_C 142,3) menunjukkan metoksi terikat di C-7. Sinyal olefin δ_H 5,26 dari isoprenil memperlihatkan korelasi dengan dua sinyal karbon metil (δ_C 25,8 dan 18,2) sedangkan dua sinyal proton metil dari isoprenil (δ_H 1,83 dan 1,69) memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon kuarterner (δ_C 132,3), satu sinyal karbon metin (δ_C 123,0), dan satu sinyal karbon metil (δ_C 25,8/18,2). Penempatan isoprenil di C-8 dan metoksi di C-7 serta korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan dapat dilihat pada Gambar 4.8.



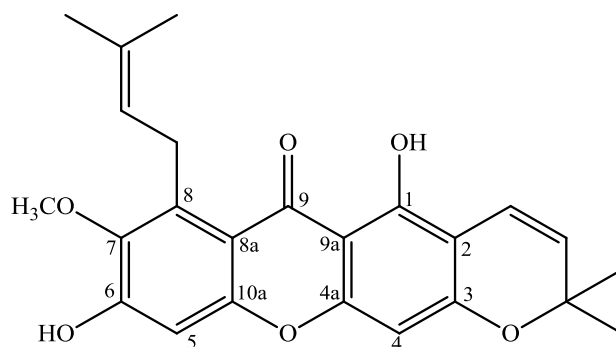
Gambar 4.8. Korelasi antara sinyal proton isoprenil dan metoksi dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa garciniafuran hasil isolasi

Korelasi sinyal hidroksi pada δ_H 6,31 dengan dua sinyal karbon oksiaril [δ_C 154,5; 142,3 (C-7)] dan satu sinyal karbon δ_C 101,6 mempertegas bahwa substituen hidroksi terikat di C-6 dan δ_C 101,6 terikat di C-5. Sinyal proton aromatik di H-5 (δ_C 101,6) memperlihatkan korelasi dengan tiga sinyal karbon oksiaril [δ_C 156,1; 154,5 (C-6); 142,3 (C-7)] dan satu sinyal karbon kuarterner δ_C 112,2 (C-8a). Korelasi antara sinyal proton 6-OH dan H-5 dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9. Korelasi antara sinyal proton H-5 dan 6-OH dengan sinyal karbon dua atau tiga ikatan senyawa garciniafuran hasil isolasi

Berdasarkan data analisis spektrum HMBC senyawa santon hasil isolasi dikenal dengan nama garciniafuran atau 3-isomangostin seperti terlihat pada Gambar 4.10. Data spektrum HMBC yang mendukung struktur garciniafuran dapat dilihat pada Tabel 4.5.



Gambar 4.10. Struktur garciniafuran senyawa santon hasil isolasi

Tabel-4.5. Data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa garciniafuran dalam CDCl_3

No.C	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	HMBC
1	-	157,9	-
2	-	104,5	-
3	-	160,0	-
4	6,25 (s)	94,2	C-2; C-3; C-4a; C-9a
5	6,84 (s)	101,6	C-6; C-7; C-8a, C-10a
6	-	154,5	-
7	-	142,3	-
8	-	136,9	-
9	-	183,6	-
4a	-	155,8	-
8a	-	112,2	-
9a	-	105,1	-
10a		156,1	-
2'	-	77,6	-
3'	5,57 (d, J = 10,0)	127,2	C-2, C-2'
4'	6,73 (d, J = 10,0)	115,7	C-3, C-2'
5'	1,46 (s)	28,3	C-2'; C-4'; C-6'
6'	1,46 (s)	25,5	C-2'; C-4'; C-5'
1''	4,08 (d, 6.3)	26,5	C-7; C-8; C-8a; C-2''; C-3''
2''	5,26 (t, 7.7)	123,0	C-4'', C-5''
3''	-	132,3	-
4''	1,83 (s)	18,2	C-2''; C-3''; C-5''
5''	1,69 (s)	25,8	C-2''; C-3''; C-4''
1-OH	13,70 (s)	-	C-1; C-2; C-9a
6-OH	6,31 (s)	-	C-5; C-6; C-7
7-OCH ₃	3,81 (s)	62,1	C-7

Perbandingan data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa garciniafuran hasil isolasi memperlihatkan kesesuaian yang tinggi dengan data sinyal proton dan sinyal karbon senyawa garciniafuran dari tumbuhan *Garcinia mangostana* (Ragasa, *et.al.*, 2010) seperti terlihat Tabel 4.6.

Tabel-4.6. Perbandingan data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa garciniafuran

No.C	Garciniafuran Hasil Isolasi		Garciniafuran (Ragasa, 2010)	
	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}
1	-	157,9	-	157,9
2	-	104,5	-	104,5
3	-	160,0	-	159,9
4	6,25 (s)	94,2	6,22 (s)	94,1
5	6,84 (s)	101,6	6,81 (s)	101,6
6	-	154,5	-	154,5
7	-	142,3	-	142,8
8	-	136,9	-	137,0
9	-	183,6	-	182,0
4a	-	155,8	-	156,2
8a	-	112,2	-	112,2
9a	-	105,1	-	103,7
10a		156,1		155,7
2'	-	77,6	-	77,9
3'	5,57 (d, J = 10,0)	127,2	5,55 (d, J = 10,0)	127,1
4'	6,73 (d, J = 10,0)	115,7	6,70 (d, J = 10,0)	115,7
5'	1,46 (s)	28,3	1,44 (s)	28,3
6'	1,46 (s)	25,5	1,44 (s)	28,3
1''	4,08 (d, 6,3)	26,5	4,06 (d, 5,0)	26,5
2''	5,26 (t, 7,7)	123,0	5,21 (t, 5,0)	123,1
3''	-	132,3	-	132,2
4''	1,83 (s)	18,2	1,84 (s)	18,2
5''	1,69 (s)	25,8	1,70 (s)	25,7
1-OH	13,70 (s)	-	12,34 (s)	-
6-OH	6,31 (s)	-	6,58 (s)	-
7-OCH ₃	3,81 (s)	62,1	3,81 (s)	62,1

4.3 Penentuan Aktivitas Anti-HIV Senyawa Hasil Isolasi

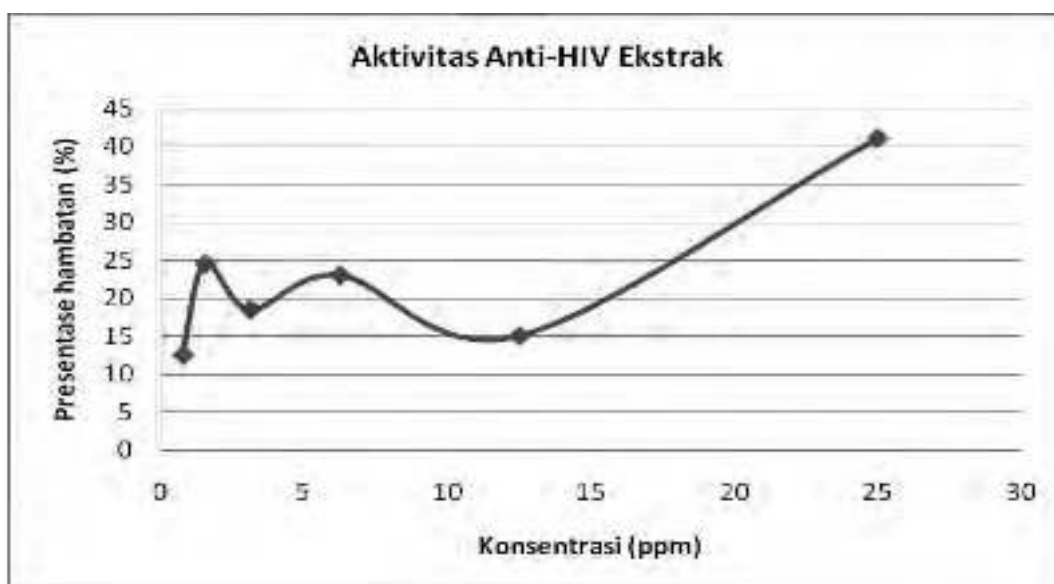
Senyawa piranojakareubin dan garciniafuran hasil isolasi serta ekstrak etil asetat *C. tetrapterum* Miq. ditentukan aktivitas anti-HIV terhadap sel HIV-1 *persistently infected* MT4 secara *in vitro* menggunakan metode pembentukan *syncytia*.

Dalam uji aktivitas anti-HIV diperlukan sel virus HIV-1 MT4 dan sel limfosit MOLT-4 yang dibiakkan dalam media RPMI-1640 mengandung 10% fetal bovine serum dan 1% natrium bikarbonat. Kontrol negatif yang digunakan dalam penentuan aktivitas anti-HIV ini adalah media RPMI-1640 yang mengandung sel virus HIV-1 dan sel limfosit T. Sel virus HIV-1 dan sel limfosit dalam *plate* 96-*well* yang berisi senyawa uji dalam berbagai konsentrasi (0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; dan 25 ppm) . Kemudian dilakukan inkubasi selama tujuh hari dalam inkubator CO₂ pada suhu 37° C untuk mengetahui aktivitas hambatan senyawa uji terhadap replikasi virus HIV-1 yang ditandai penghambatan pertumbuhan *syncytia*.

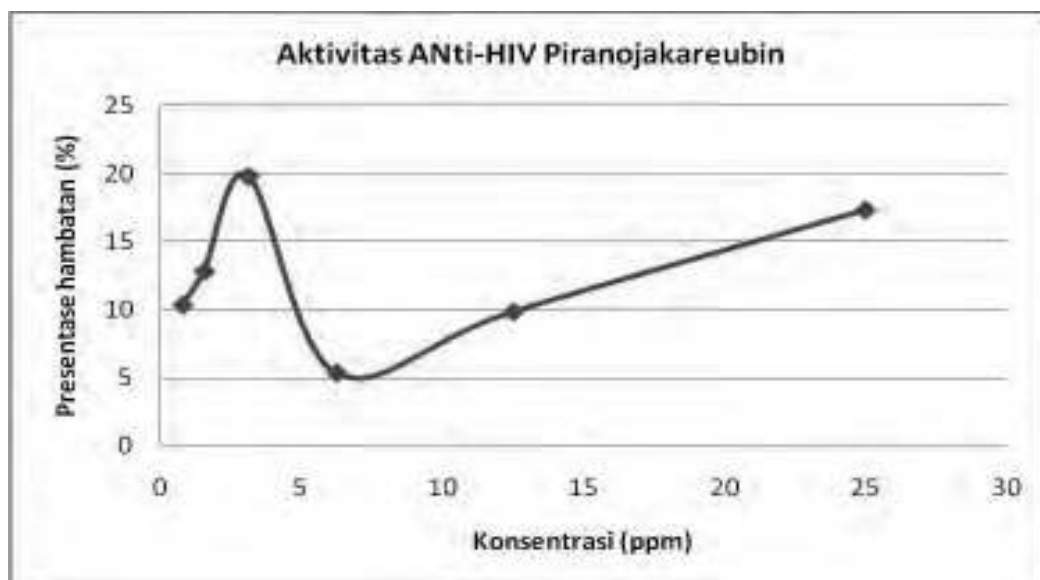
Aktivitas anti-HIV dinyatakan dalam daya hambat konsentrasi IC₅₀, yakni konsentrasi senyawa aktif yang diperlukan untuk menghambat 50% aktivitas sel HIV. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan analisis forecast. Suatu ekstrak tanaman dikategorikan berpotensi menghambat aktivitas virus HIV-1 apabila memiliki nilai IC₅₀ ≤ 50 ppm (Cesar, *et al.*,2011).

Berdasarkan hasil uji aktivitas anti-HIV ekstrak etil asetat *C.tetrapterum* Miq. memiliki nilai IC₅₀ sebesar 29,3 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut berpotensi menghambat virus HIV-1. Hal ini dikarenakan ekstrak tersebut memiliki nilai IC₅₀ ≤ 50 ppm. Data uji aktivitas senyawa piranojakareubin dan garciniafuran terhadap sel virus HIV-1 memperlihatkan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 79,5 ppm dan 111,5 ppm dan dikategorikan tidak aktif. Data uji aktivitas anti-HIV dapat dilihat pada Lampiran-16. Grafik aktivitas anti-HIV ekstrak dan

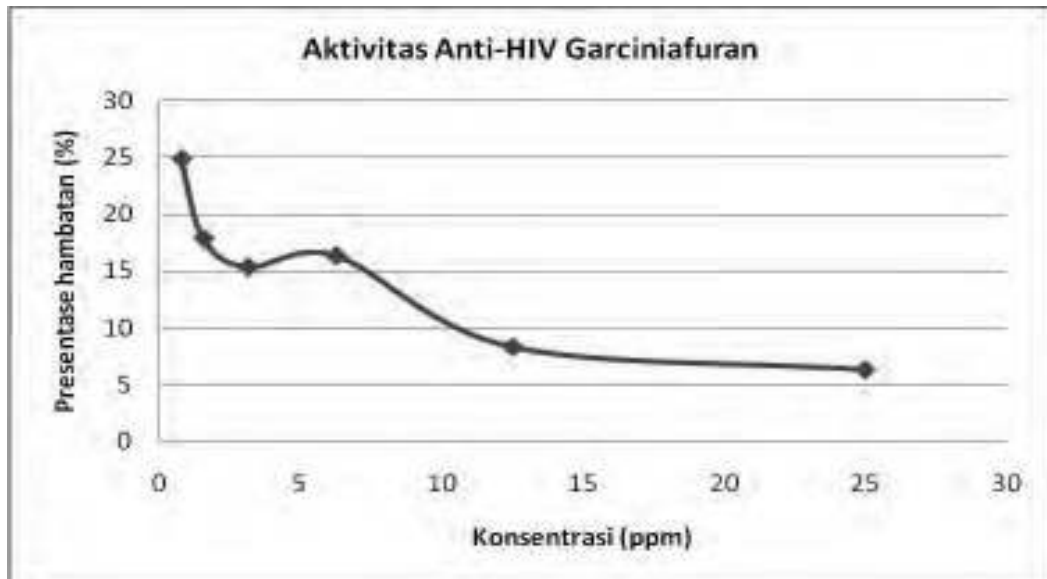
kedua senyawa santon hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 4.11, Gambar 4.12, dan Gambar 4.13.



Gambar 3.11. Grafik aktivitas anti-HIV ekstrak etil asetat *C.tetrapterum* Miq.



Gambar 4.12. Grafik aktivitas anti-HIV senyawa piranojakareubin



Grafik 4.13. Grafik aktivitas anti-HIV senyawa garciniafuran

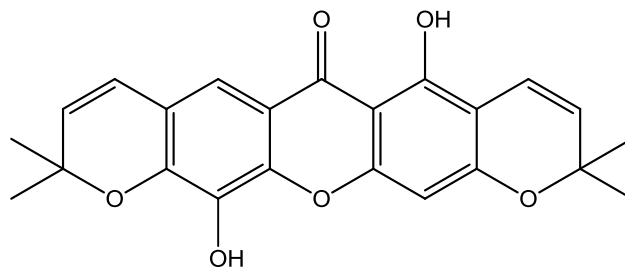
BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

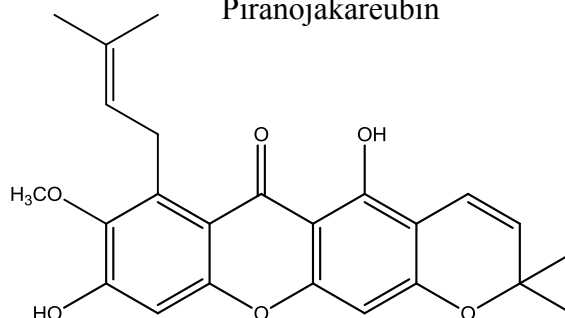
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dua senyawa santon berhasil dipisahkan dari kulit batang *Calophyllum tetrapaterum* Miq. yakni senyawa piranojakareubin dan garcinifuran. Struktur kedua senyawa santon hasil isolasi ditentukan berdasarkan analisis data pengukuran spektroskopi UV, IR, HRESIMS, 1D NMR ($^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$), dan 2D NMR (HMQC dan HBMC).



Piranojakareubin



Garciniafuran

2. Uji aktivitas anti-HIV ekstrak etilasetat dari tanaman *C. tetrapterum* Miq. memperlihatkan IC_{50} sebesar 29,3 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut berpotensi menghambat sel virus HIV-1, sedangkan senyawa piranojakareubin dan garciniafuran memperlihatkan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 79,5 ppm dan 111,5 ppm yang dikategorikan tidak aktif.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil uji aktivitas anti-HIV menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat dari tanaman *C. tetrapterum* Miq. dikategorikan aktif menghambat virus HIV-1. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam ekstrak terdapat senyawa yang aktif menghambat HIV, sehingga untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan isolasi senyawa lain dari subfraksi yang berbeda dan diuji aktivitas sebagai anti-HIV.

DAFTAR PUSTAKA

- Alarcon, A. B., Cuesta, O., Perez, J. C., Piccinelli, A. L., and Luca, R., 2008, Constituents of The Cuban Endemic Species *Calophyllum pinetorum*, *J. Nat. Prod.*, **71**, 1283–1286
- Bakty, Yuliangkara, 2010, Pengaruh Ekstrak Heksan, Metanol, dan Etanol Tanaman Obat *Justica gendarussa* Burm.f. Terhadap Virus HIV In Vitro, *Skripsi*, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Banerji, A., Desphande, A. D., Prabhu, B. R., and Padmanava, P., 1994, Tomentonone, A New Xanthonoid from The Stem Bark of *Calophyllum tomentosum*, *J. Nat. Prod.*, **57(3)**, 396-399.
- Cao, S. G., Lim, T. B., Sim, K. Y., and Goh, S.H., 1997, A Highly Prenylated Xanthone from The Bark of *Calophyllum Gracipiles* (Guttiferae), *Nat. Prod. Lett.*, **10**, 55-58.
- César, J.G., Alfonso, G. M., Marius, M., Elizabeth, E., Ángel, C. M., Maira, H., Guadalupe, C.M., Manuel, J., and Reyes, R., 2011, Inhibition of HIV-1 Reverse Transcriptase, Toxicological and Chemical Profile of *Calophyllum brasiliense* Extracts from Chiapas, Mexico, *Fito.*, **82**, 1027–1034.
- Chen, G. Y., Zhu, G. Y., Han, C., Zhao, J., Song, X. P., and Wang, F., 2008, A New Pyranoxanthone from The Stems of *Calophyllum membranaceum*, *Arc. Org. Chem. J.*, **8**, 249-254.
- Cheng, H., Wang, L., Khalil, A. T., Chang, Y., Lin, Y., and Shen, Y., 2004, Pyranoxanthones from *Calophyllum inophyllum*, *J. Chinese Chem. Soc.*, **51**, 431-435.
- Dai, H., Zeng, Y., Xiao, Q., Han, Z., Zhao, Y., and Wen, M., 2010, Caloxanthones O and P: Two New Prenylated Xanthonones from *Calophyllum inophyllum*, *Mol.*, **15**, 606-612.
- Daud, S. B, Ee, G. C. L., Malek, E. A., Teha, S. S., and Irene, S., 2014, A new Coumarin from *Calophyllum hosei*, *Nat. Prod. Res.*, **28(19)**, 1534-1538.
- Dharmaratne, H. R. W., And Nishanthi, W. M., 1997, A Trioxygenated Diprenylated Chromenxanthone from *Calophyllum Moonii*, *Phytochem.*, **46(7)**, 1293-1295.
- Dharmaratne, H. R. W., Napagoda, M. T., and Tennakoon, S. B., 2009, Xanthonones from Roots of *Calophyllum thwaitesii* and Their Bioactivity, *Nat. Prod. Res.*, **23(6)**, 539-545.

- Ee, G. C. L., Kua, A. S. M., Lim, C. K., Jong, V., and Lee, H. L., 2006, Inophyllin A, A New Pranoxanthone from *Calophyllum inophyllum* (Guttiferae), *Nat. Prod. Res.*, **20(5)**, 485–491.
- Ee, G. C. L., Jong, V. Y. M., Sukari, M. A., Rahmani, M., and Kua, A.S.M, 2009, Xanthones from *Calophyllum inophyllum*, *Petranika J. Sci. And Tech.*, **17(2)**, 307-312.
- Gottlieb, O. R., Magalhaes, M. T., Pereira, M. O. S., Mesquita, A. A. L., Correa, D. B., and Oliveira, G. G., 1968, The Chemistry of Brazilian Guttiferae-XII : Isopentenylated Xanthones from *Kielmeyera* and *Calophyllum* Species, *Tet.*, **24**, 1601-1610.
- Hay, A. E., Helesbeux, J. J., Duval, O., LabaRed, M., Grellier, P., and Pascal, R., Antimalarial Xanthones from *Calophyllum caledonicum* and *Garcinia vieillardii*, *Life Sci.*, **75**, 3077–3085.
- Hollinger, F. B., Bremer, J.W., Myers, L. E., Gold, J. W., and McQuay, L., 1992, Standardization of Sensitive Human Immunodeficiency Virus Coculture Procedures and Establishment of A Multicenter Quality Assurance Program For The AIDS Clinical Trial Group. The NIH/ NIAID/ DAIDS/ ACTG Virology Laboratories, *J. Clin. Microbiol.*, **30 (7)**, 1787-1794.
- Iinuma, M., Tosa, H., Toriyama, N., Tanaka, T., Ito, T., and Veliah, C., 1996, Six Xanthones from *Calophyllum austroindicum*, *Phytochem.*, **43(3)**, 681-685.
- Iinuma, M., Ito, T., Tosa, H., Tanaka, T., Miyake, T., and Veliah, C., 1997, Prenylated Xanthonoids from *Calophyllum apetalum*, *Phytochem.*, **46(8)**, 1423-1429.
- Ismail, A. A. F., Ee, G. C. L., Daud, S., Teh, S. S., Hashim, N. M., and Khalijah, A., 2015, Venuloxanthone, a New Pyranoxanthone from The Stem Bark of *Calophyllum venulosum*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **17(11)**, 1104-1108.
- Ito, C., Itoigawa, M., Mishina, Y., Filho, V. C., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H., and Hiroshi Furukawa., 2002, Chemical Constituents of *Calophyllum brasiliensis*: Structure Elucidation of Seven New Xanthones and Their Cancer Chemopreventive Activity, *J. Nat. Prod.*, **65**, 267-272.
- Jayanti, Evi, 2008, Deskripsi dan Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Status HIV Pada Pengguna Klinik-Klinik Layanan Tes HIV di DKI Jakarta dan Bali Tahun 2007, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Depok.
- Karunanayake, S., Sotheeswaran, S., Uvais, M., Sultanbawa, S., and Balasubramaniam, M., 1981, Xanthones and Triterpenes of *Calophyllum tomentosum*, *Phytochem.*, **20(6)**, 1303-1304.

- Kawamura, F., Muhamud, A., Hashim, R., Sulaiman, O., Seiji, O., 2012, Two Antifungal Xanthenes from The Heartwood of *Calophyllum symingtonianum*, *Japan Agric. Res. Quart.*, **46(2)**, 181-185.
- Kijjoa, A., Gonzales, M. J., Pinto, M. M. M., Silva, A. M. S., Anantachoke, C., and Werner, H., 2000, Xanthenes from *Calophyllum teysmannii* Var. *Inophylloide*, *Phytochem.*, **55**, 833-836.
- Kumar, V., Sotheswaaran, S., Surendrakumar, S., and Sinnathamby B., 1982, Calocalabaxanthone, The Putative Isoprenyl Precursor of Calabaxanthone from *Calophyllum calaba*, *Phytochem.*, **21(3)**, 807-809.
- Li, Z., Liu, D., Li, D., and Hua, H., 2011, A Novel Prenylated Xanthone from the Stems and Leaves of *Calophyllum inophyllum*, *Nat. Prod. Res.*, **25(9)**, 905-908.
- Mah, S. H., Ee, G. C. L., Teh, S. S., and Moh, A. S., 2015, *Calophyllum inophyllum* and *Calophyllum soulattri* Source of Antiproliferative Xanthenes and Their Structure–Activity Relationships, *Nat. Prod. Res.*, **29(1)**, 98–101.
- Morel, C., Seraphin, D., Oger, J., Litaudon, M., Sevenet, T., Richomme, P., and Jean, B., 2000, New Xanthenes from *Calophyllum caledonicum*, *J. Nat. Prod.*, **63**, 1471-1474.
- Morel, C., Hay, A., Litaudon, M., Sévenet, T., Séraphin, D., Bruneton, J., and Pascal, R., 2002, Thirteen New Xanthone Derivatives from *Calophyllum caledonicum* (Clusiaceae), *Mol.*, **7**, 38-50.
- Nagarajan, S., and Manikannan, M., 2015, Emerging Novel Anti HIV Biomolecules from Marine Algae: An Overview, *J. App. Pharm. Sci.*, **5(9)**, 153-158.
- Negi, J. S., Bisht, V. K., Singh, P., Rawat, M. S. M., and Joshi, G. P., 2013, Naturally Occurring Xanthenes: Chemistry and Biology, *J. App. Chem.*, **2013**, 1-9.
- Nguyen, L. T., Nguyen, D. M., and Lien, D. N., 2013, A New Xanthone from The Bark of *Calophyllum thorelii*, *Nat. Prod. Res.*, **27(6)**, 563-567.
- Oliveira, M. C., Lemos, L. M. S., Oliveira, R. G., Dall'Oglio, E. L., Junior, P. T. S., and Domingos, T. O. M., 2014, Evaluation of Toxicity of *Calophyllum brasiliense* Stem Bark Extract by In Vivo and In Vitro Assays, *J. Ethnopharm.*, **155**, 30–38.

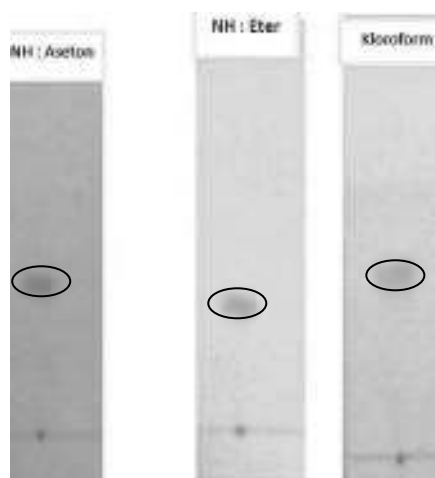
- Pawar, K. D., Joshi, S. P., Bhide, S.R., and Shubhada, R. T., 2007, Pattern of Anti-HIV Dipyrancoumarin Expression in Callus Cultures of *Calophyllum inophyllum* Linn., *J. Biotech.*, **130**, 346–353.
- Pengsuparp, T., Serit, M., Hughes, S. H., Soejarto, D. D., and John, M. P., 1996, Specific Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Mediated by Soulatrolide, a Coumarin Isolated from The Latex of *Calophyllum teysmannii*, *J. Nat. Prod.*, **59**, 839-842.
- Peres, V., Nagem, T. J., and Fernando, F. O., 2000, Tetraoxygenated Naturally Occurring Xanthenes, *Phytochem.*, **55**, 683-710.
- Prasad, J., Shrivastava, A., Khannab, A. K., Bhatiab,G., Awasthic, S. K., and Narender, T., 2012, Antidyslipidemic and Antioxidant Activity of the Constituents Isolated from The Leaves of *Calophyllum inophyllum*, *Phytomed.*, **19**, 1245– 1249.
- Ragasa, C.Y., Crisostomo, C. J. J., Garcia, K. D. C., and Chien, C. S., 2010, Antimicrobial Xanthone from *Garcinia Mangostana* L., *Philip. Sci.*, **47**, 63-75.
- Reutrakul, V., Anantachoke, N., Pohmakotr, M., Jaipetch, T., Shopasan, S., Yoosook, C., Kasisit, J., Napaswat, C., Santisuk, T., and Tuchinda, P., 2007, Cytotoxic and Anti-HIV Caged Xanthenes from The Resin and Fruits of *Garcinia hanburyi*, *Planta Med.*, **73(1)**, 33-40.
- Reyes, R., Jimenez, M., and Elizabeth, E., 1997, Antifungal Xanthenes from *Calophyllum brasiliensis* Heartwood, *J. Chem. Eco.*, **23(7)**, 1901-1911.
- Shen, Y., Wang, L., Khalil, A. T., And Kuo, Y., 2004, Chromanones And Dihydrocoumarins from *Calophyllum Blancoi*, *Chem. Pharm. Bull.* 52(4), 402-405.
- Shen, Y., Wang, T., Khalil, A. T., Chiang, L. C., And Cheng, P., 2005, Bioactive Pyranoxanthenes from the Roots of *Calophyllum blancoi*, *Chem. Pharm. Bull.*, **53(2)**, 244-247.
- Sholehah, D. N., 2013, Senyawa Fenolik dari Biji *Calophyllum inophyllum* L. Serta Uji Toksisitas dan Antifeedant Terhadap Ulat Kubis, *Tesis*, Univeritas Airlangga, Surabaya.
- Spino, C., Dodier, M., and Subramaniam, S., 1998, Anti-HIV Coumarins from *Calophyllum* Seed Oil, *Bioorg & Med. Chem. Lett.*, **8**, 3475-3478.
- Sultanbawa, M. U. S., 1980, Xanthonoids Of Tropical Plants , *Tet.*, **36**, 1465-1506.

- Wei, D., Mei, W., Zhong, H., Zeng, Y., Wua, X., and Hao-Fu, D., 2011, A New Prenylated Xanthone from The Branches of *Calophyllum inophyllum*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **13(3)**, 265–269.
- Xiao, Q., Zeng, Y., Mei, W., Zhao, Y., Deng, Y., and Hao-Fu, D., 2008, Cytotoxic Prenylated Xanthenes from *Calophyllum inophyllum*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **10(10)**, 993-997.
- Yimdjo, M. C., Azebaze, A. G., Nkengfack, A., Meyer, A. M., Bodo, B., Zacharias, T. F., 2004, Antimicrobial and Cytotoxic Agents from *Calophyllum inophyllum*, *Phytochem.*, **65**, 2789–2795.
- Zakaria, M. B., Vijayasekaran, Ilhama, Z., and Nur, A. M., 2012, Anti-Inflammatory Activity of *Calophyllum inophyllum* Fruits Extracts, *Proced. Chem.*, **13**, 218 – 220.
- Zou, J., Jin, D., Chen, W., Wang, J., Liu, Q., Zhu, X., and Weimin, Z., 2005, Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors from *Calophyllum membranaceum*, *J. Nat. Prod.*, **68**, 1514-1518.

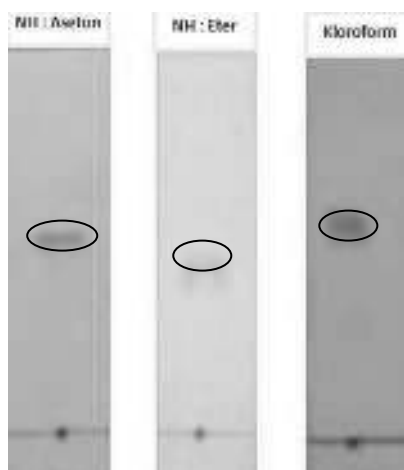
LAMPIRAN

Lampiran-1. Hasil Uji KLT Senyawa Piranojakareubin dan Garciniafuran

Piranojakareubin



Garciniafuran



Lampiran-2. Data analisis spektrum HR-ESI-MS senyawa piranojakareubin

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 mDa / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 5

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

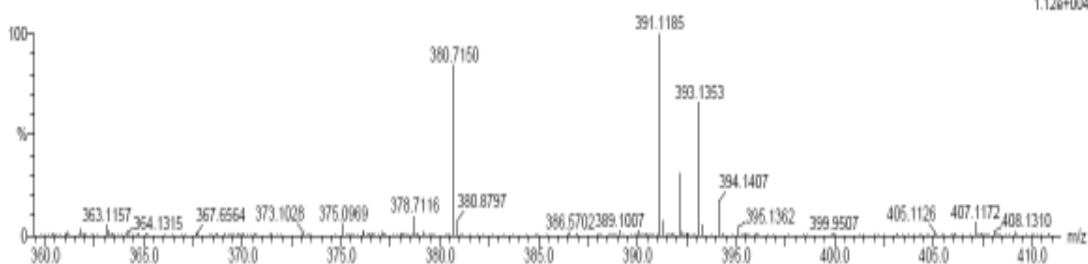
87 formula(e) evaluated with 4 results within limits (up to 25 closest results for each mass)

Elements Used:

C: 0-1000 H: 0-1000 O: 0-500

standar

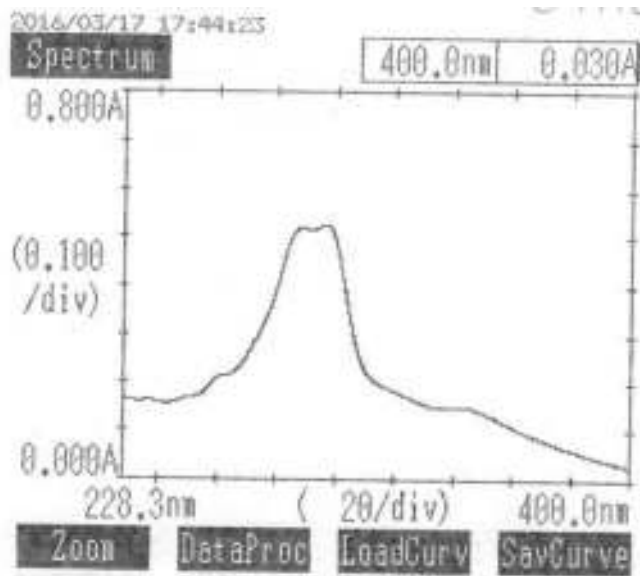
Ukok_Calt10_391-1182_std_393-1338_neg 4 (0.074) Cm (3.4)

TOF MS ES-
1.12e+04

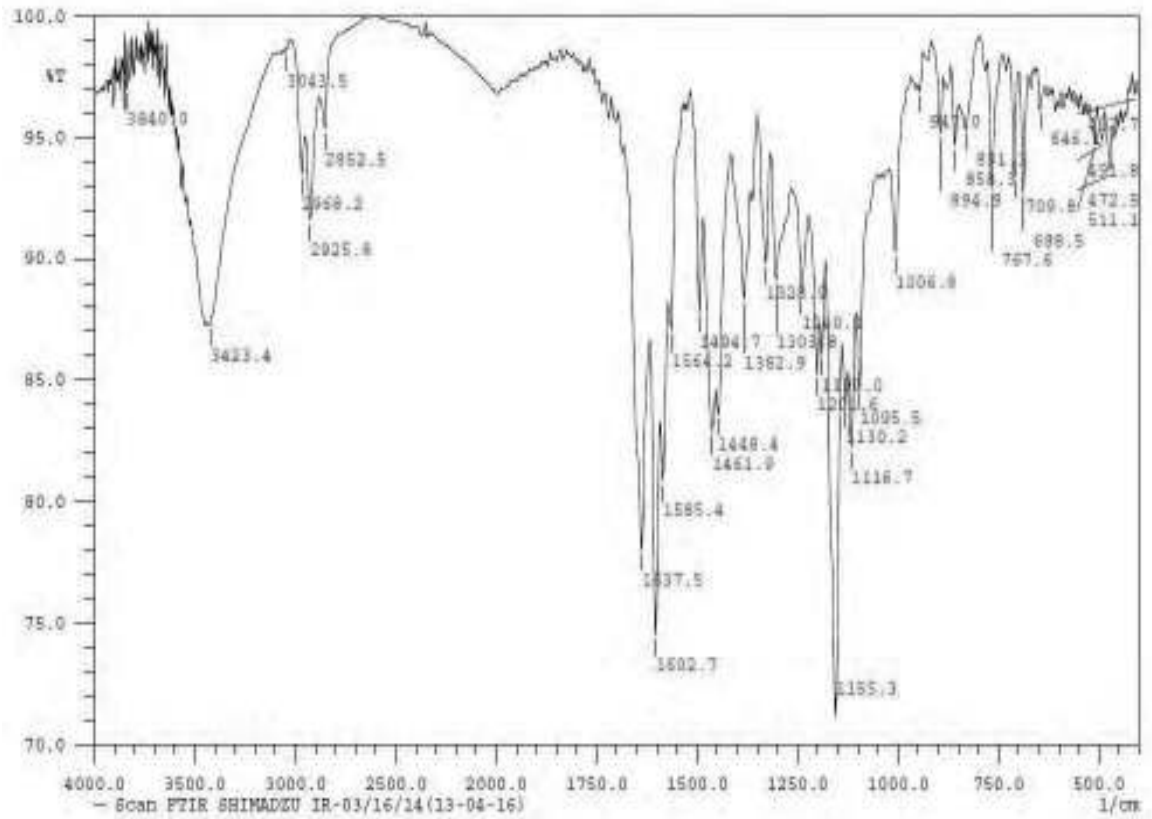
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
391.1185	391.1182	0.3	0.8	14.5	366.7	1.3	C23 H19 O6
	391.1240	-5.5	-14.1	5.5	367.3	1.8	C16 H23 O11
	391.1123	6.2	15.9	23.5	366.3	0.8	C30 H15 O
	391.1088	9.7	24.8	1.5	367.7	2.3	C12 H23 O14

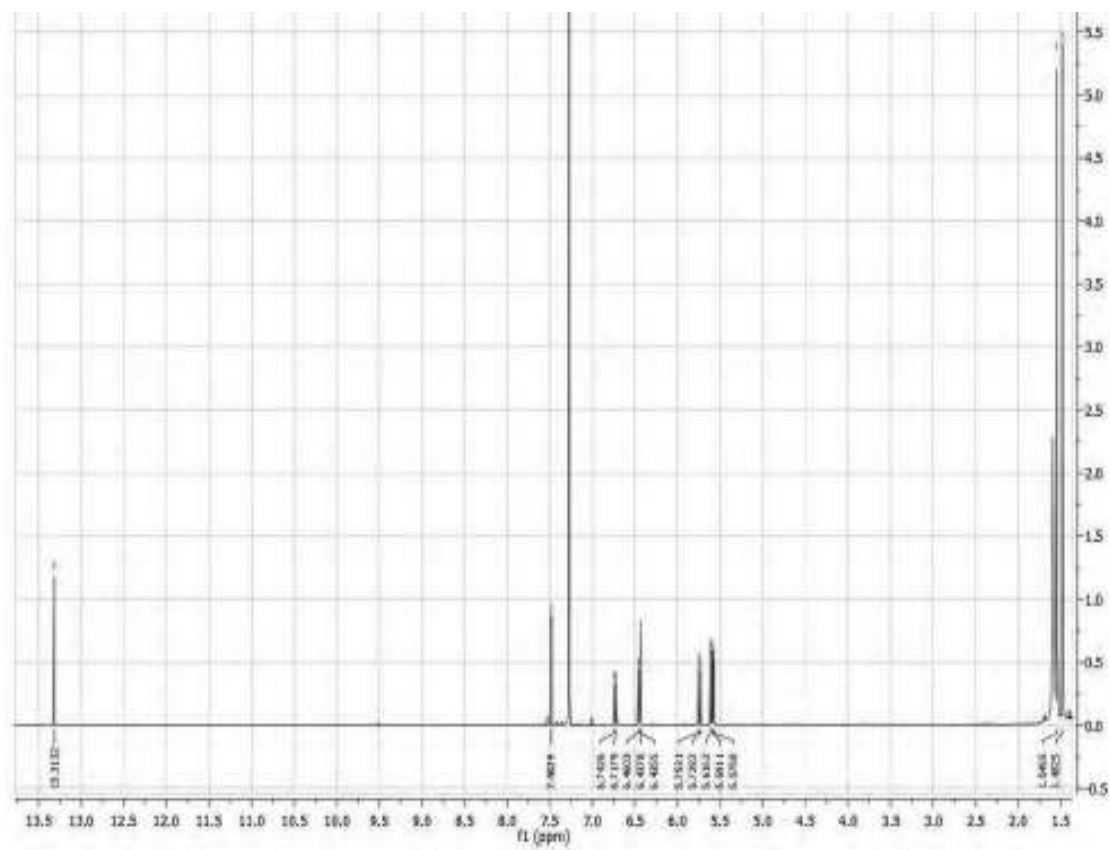
Lampiran-3. Data analisis spektrum UV senyawa piranojakareubin

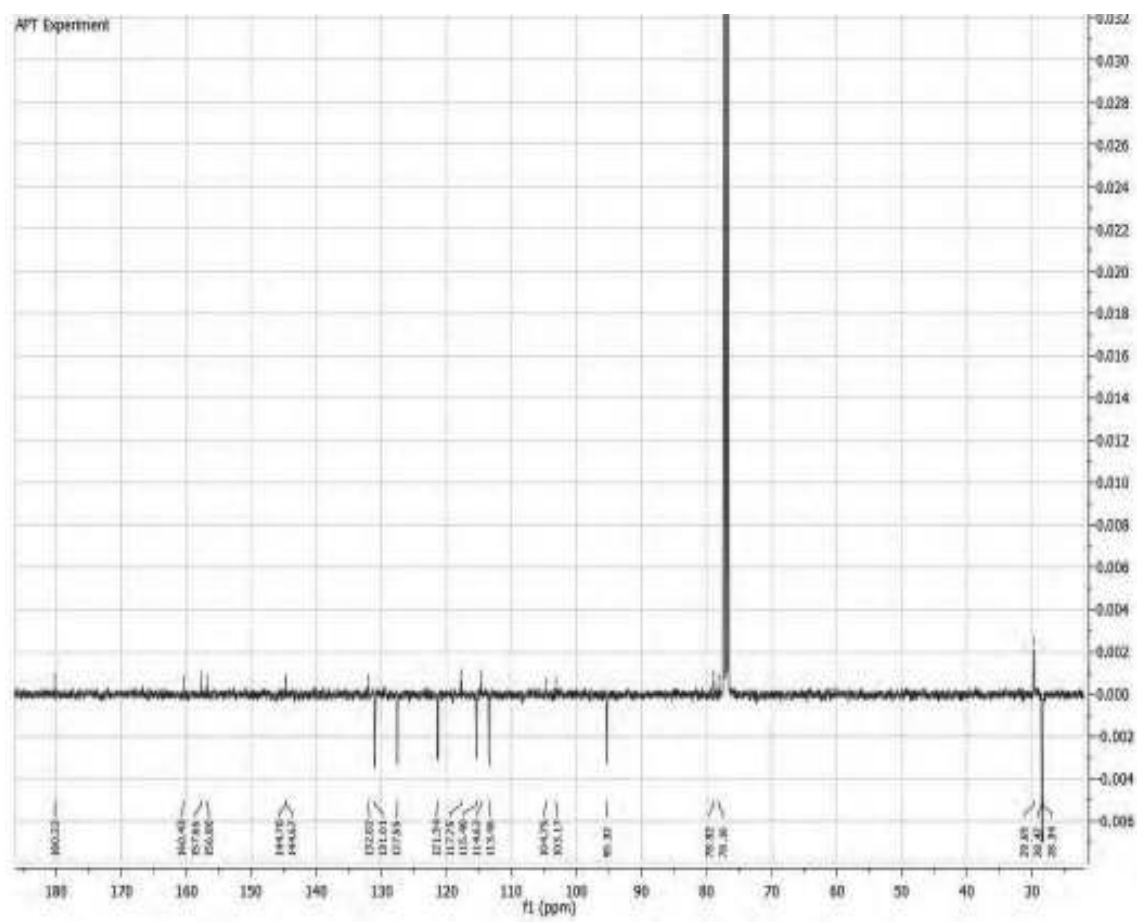
Spektrum UV senyawa piranojakareubin dalam metanol



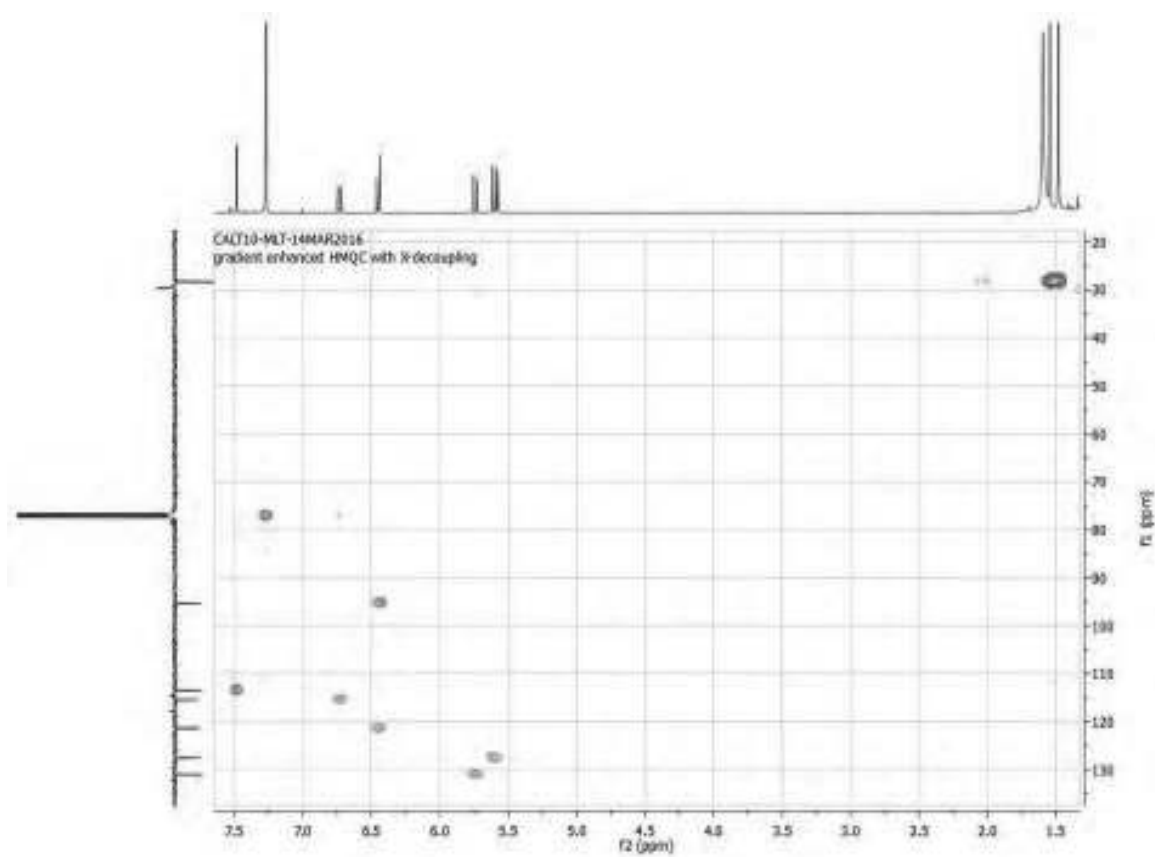
Lampiran-4. Data analisis FTIR senyawa piranojakareubin



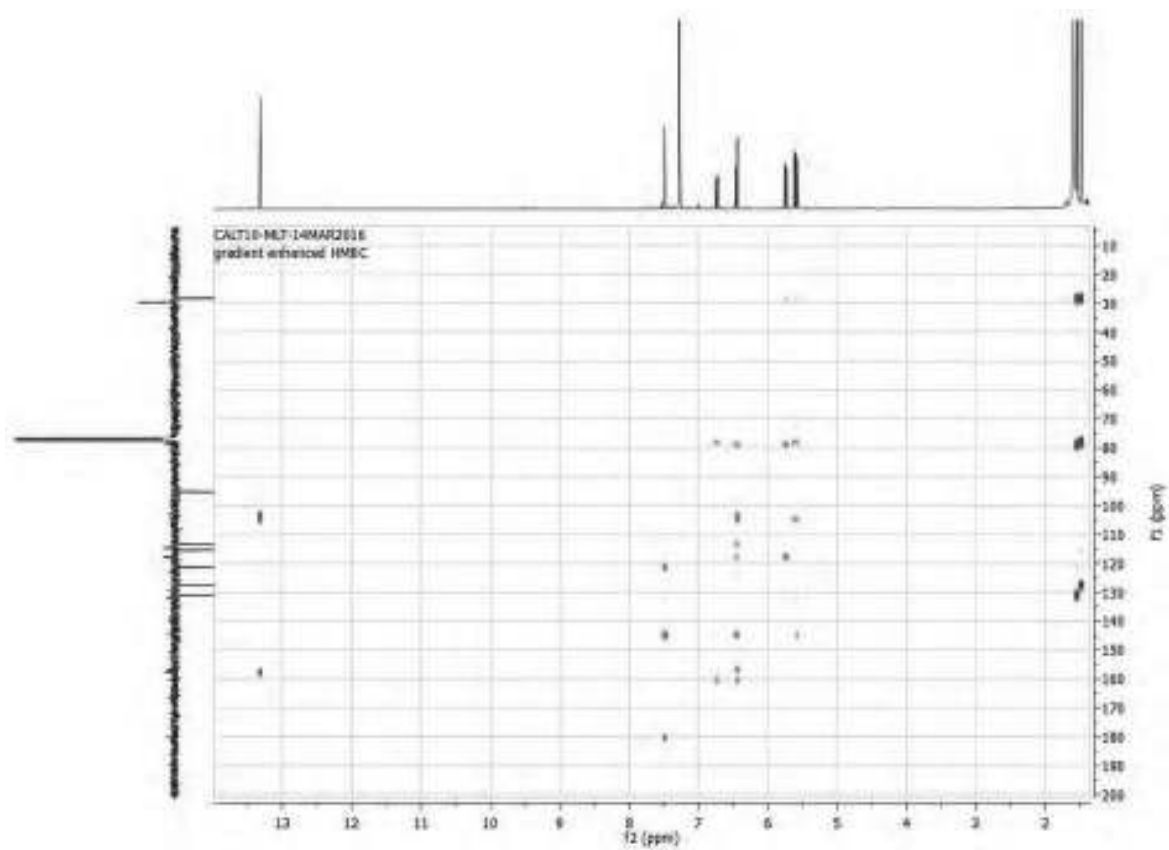
Lampiran-5. Data analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa piranojakareubin

Lampiran-6. Data analisis spektrum ^{13}C -NMR senyawa piranojakareubin

Lampiran-7. Data analisis spektrum HMQC senyawa piranojakareubin



Lampiran-8. Data analisis spektrum HMBC senyawa piranojakareubin



Lampiran-9. Data analisis spektrum HR-ESI-MS senyawa garciniafuran

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 mDa / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 5

Monoisotopic Mass: Even Electron Ions

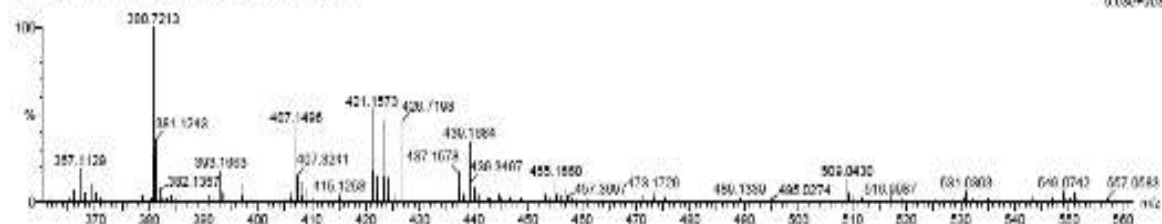
93 formulae evaluated with 4 results within limits (up to 25 closest results for each mass)

Elements Used:

C: 0-1000 H: 0-1000 O: 0-500

Standard:

User: Cui 7_407_1486_cui_401_1004_img 4 (3.000) Cui (8)

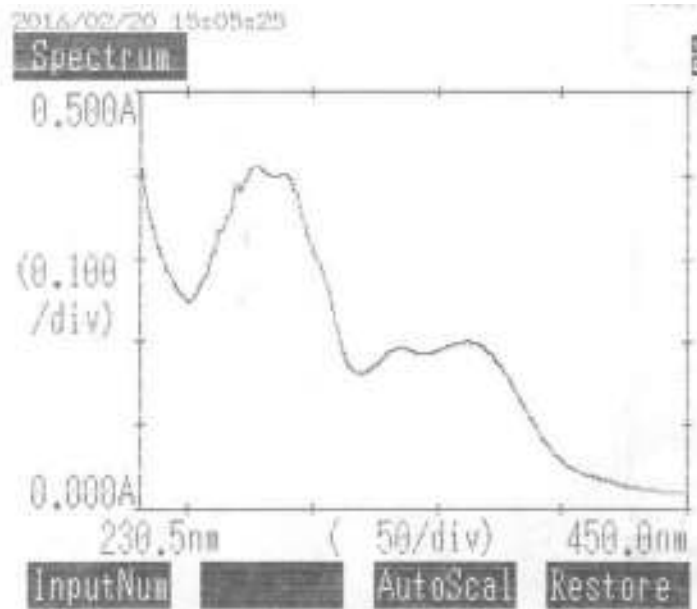
TOF MS ES
0.00e+00

Minimum: -1.5

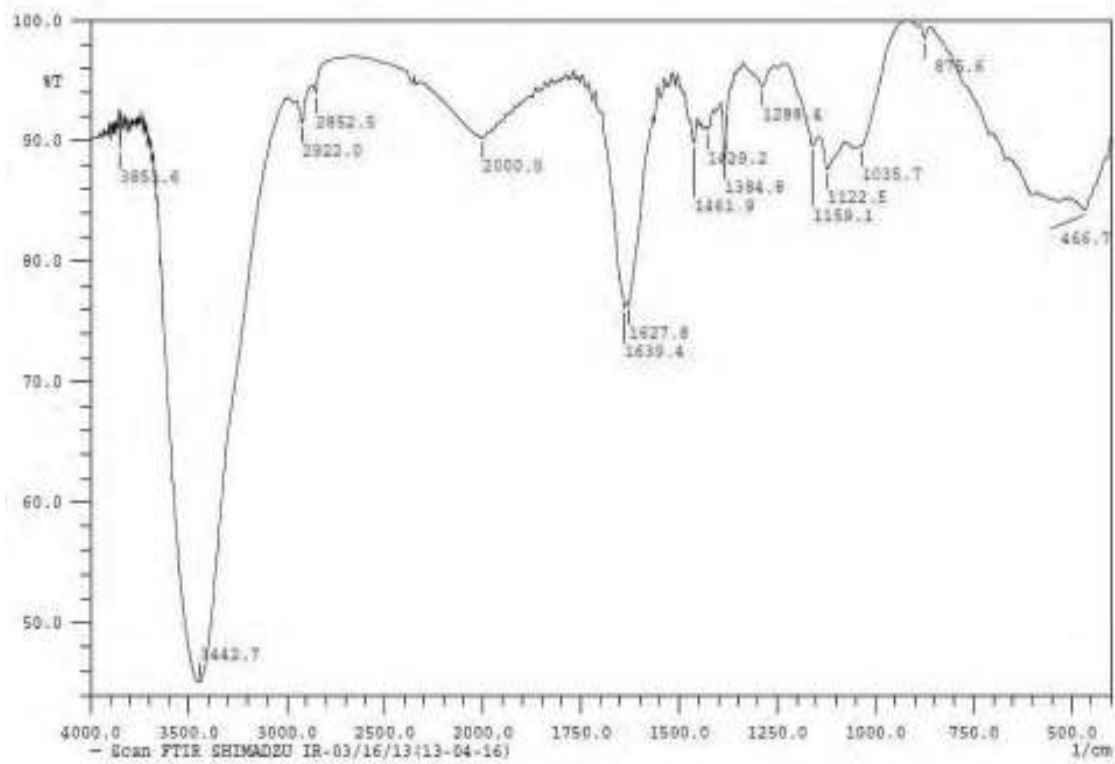
Maximum: 10.0 16.0 50.0

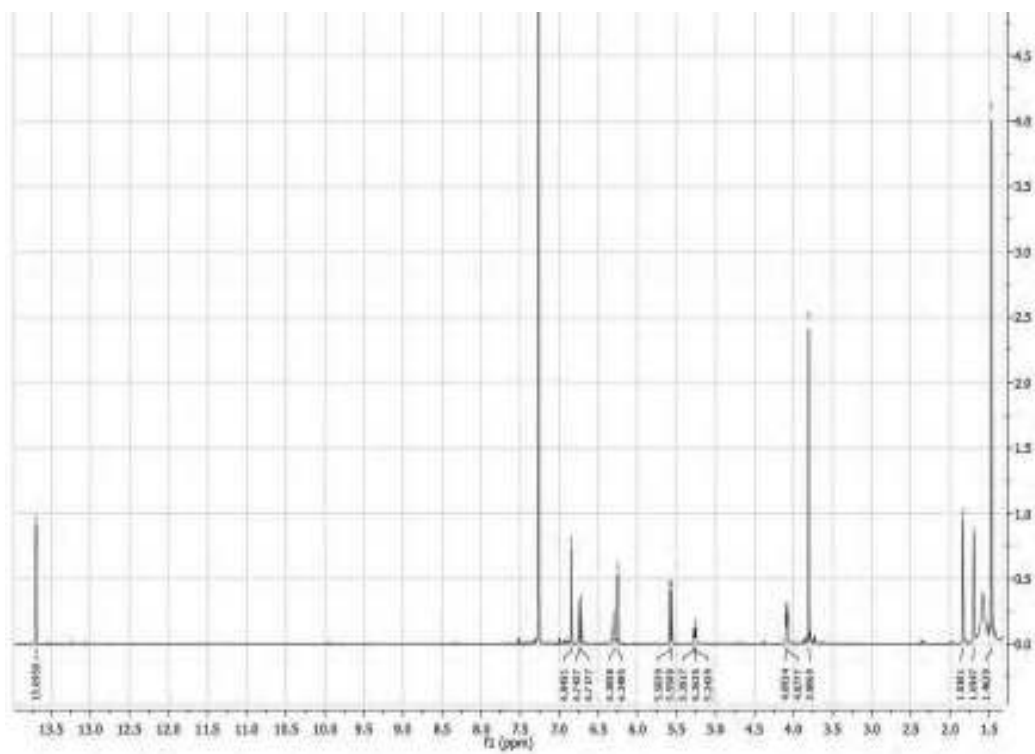
Mass	Calc	Mass	diff	PPM	DBE	i-FIT	i-FIT (Norm)	Formula
407.1486	407.1856	0.1	0.2	18.6	168.8	0.9	0.24	C24 H29 O6
	407.1882	-6.7	-14.0	4.5	164.1	1.6	0.17	C27 H27 O11
	407.1486	4.0	14.7	32.6	168.4	1.0	0.31	C24 H29 O6
	407.1401	0.2	23.2	0.5	155.2	2.0	0.13	C27 H27 O14

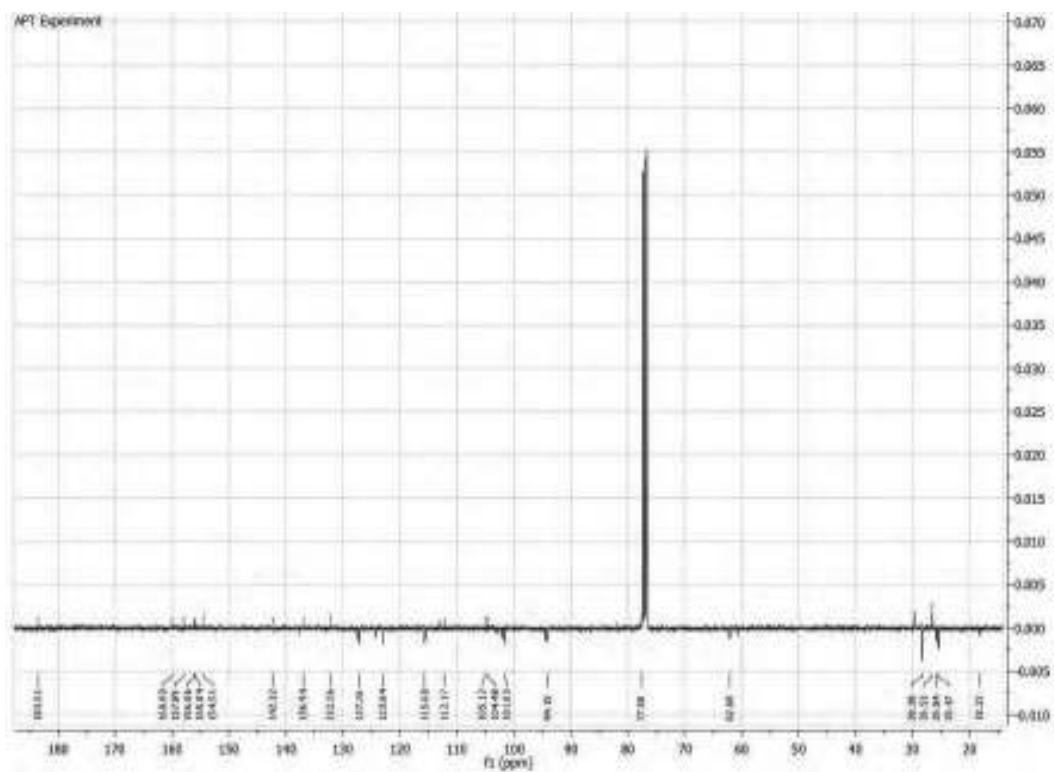
Lampiran-10. Hasil pengukuran spektrum UV senyawa garciniafuran



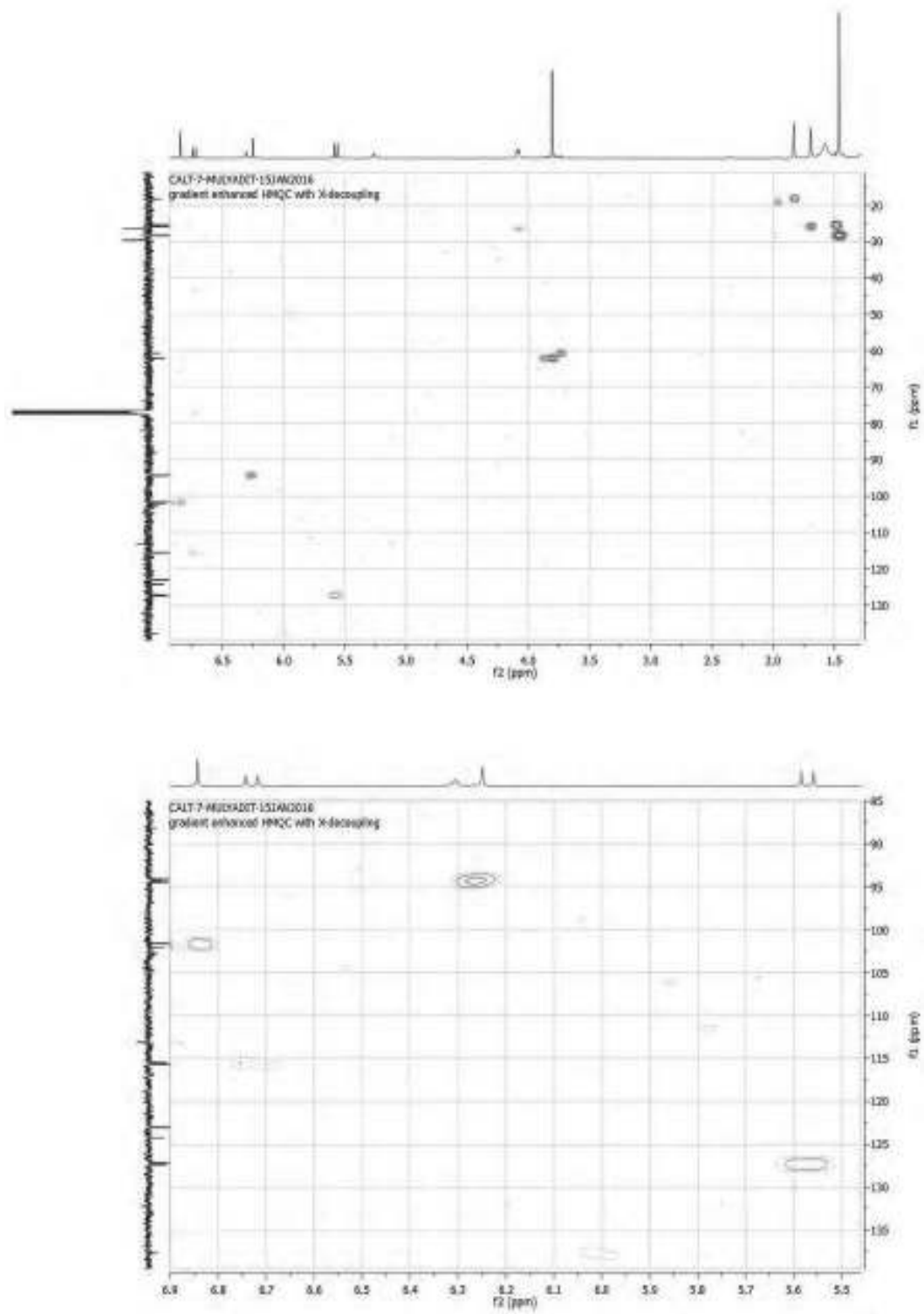
Lampiran-11. Data analisis FTIR senyawa garciniafuran



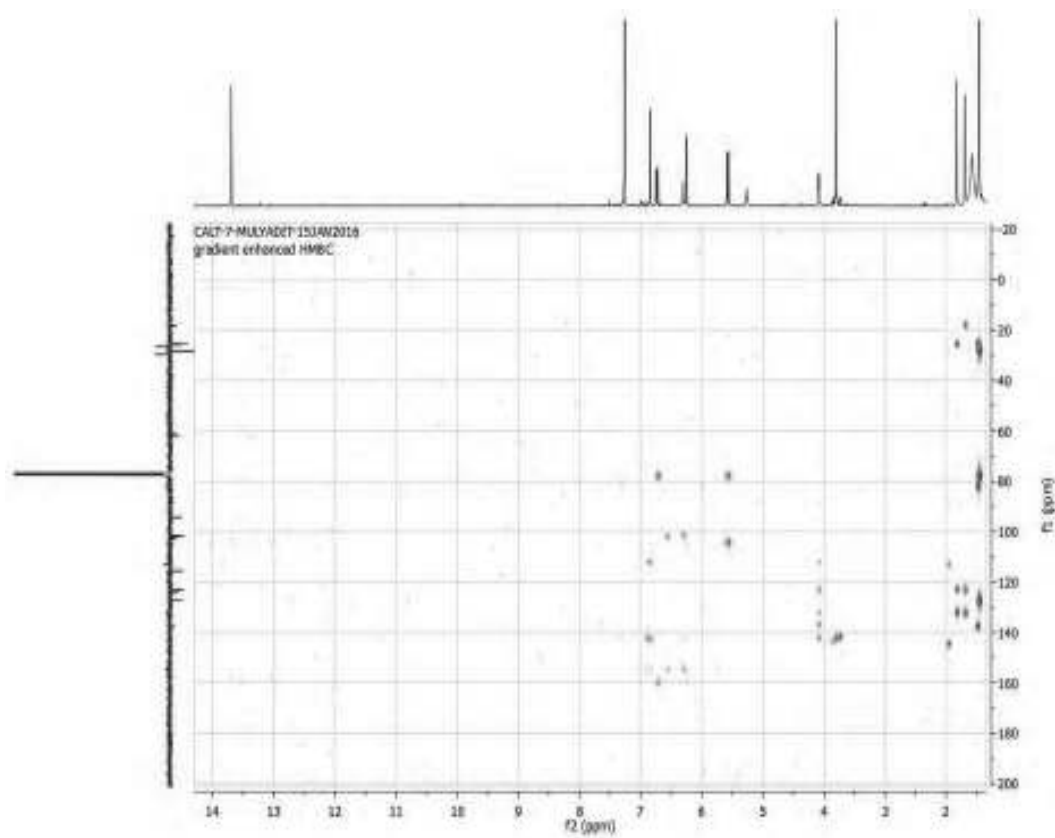
Lampiran -12. Data analisis spektrum ^1H NMR senyawa garciniafuran

Lampiran -13. Data analisis spektrum ^{13}C NMR senyawa garciniafuran

Lampiran -14. Data analisis HMQC senyawa garciniafuran



Lampiran -15. Data analisis HMBC senyawa garciniafuran



Lampiran-16. Data Uji Aktivitas Anti-HIV

Tabel hasil uji aktivitas anti-HIV

Konsentrasi	Senyawa Uji		
	Ekstrak	Piranojakareubin	Garciniafuran
25	41.08	17.33	6.33
12.5	15.08	9.83	8.33
6.25	23.08	5.33	16.33
3.125	18.58	19.83	15.33
1.56	24.58	12.83	17.83
0.78	12.58	10.33	24.83
IC50 (ppm)	29,3	79,5	111,5