

SKRIPSI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
TRITERPENOID PADA BIJI *Swietenia
mahagoni* (L.) Jacq.**



ARIS YULITA APRIANTO

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMAKOGNOSI DAN FITOKIMIA
SURABAYA
2016**

SKRIPSI
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
TRITERPENOID PADA BIJI *Swietenia*
***mahagoni* (L.) Jacq.**



ARIS YULITA APRIANTO

051211133038

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS
AIRLANGGA DEPARTEMEN FARMAKOGNOSI
DAN FITOKIMIA
SURABAYA
2016

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Aris Yulita Aprianto

NIM : 051211133038

Fakultas : Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi/tugas akhir yang saya susun dengan judul:

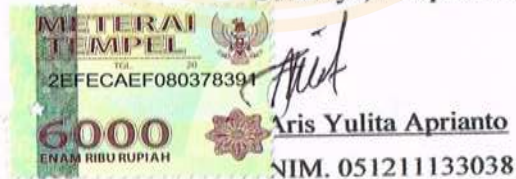
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA TRITERPENOID PADA BIJI *Swietenia mahagoni* (L)

Jacq.

merupakan karya saya sendiri. Apabila dikemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarism, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan/atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 1 September 2016





**UNIVERSITAS AIRLANGGA FAKULTAS FARMASI
DEPARTEMEN FARMAKOGNOSI DAN
FITOKIMIA**

Kampus B UNAIR Jl.Dharmawangsa Dalam Surabaya 60286
Telp.: 031-503710, Fax.: 031-5020514

Website : <http://www.ff.unair.ac.id> ; E-mail : farmasi@unair.ac.id

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini saya mahasiswa skripsi :

Nama : Aris Yulita Aprianto
NIM : 051211133038

Menjelaskan dengan sesungguhnya bahwa, skripsi Dengan Judul Utama: **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Pada Biji *Swietenia Mahagoni* (L.) Jacq.** merupakan penelitian yang ide dasar, serta pendanaan riset sepenuhnya dilakukan oleh dosen pembimbing skripsi yaitu: **Prof. Dr. Sukardiman, MS., Apt. (NIP: 196301091988101001)**; sehingga kewenangan publikasi dan HAKI dari hasil penelitian tersebut melekat dan menjadi hak yang sah dari dosen pembimbing.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan seksama untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya, sehingga kegiatan publikasi dan pengajuan HAKI yang dilakukan oleh dosen pembimbing atau ketua peneliti bukan merupakan kegiatan plagiatism, namun tetap menyertakan nama mahasiswa yang terlibat dan dosen lain dalam anggota grup riset.

Mengetahui:
Ketua Departemen Farmakognosi dan
Fitokimia

Dr. Aty Widayawaruyanti, Msi.
NIP: 19620426 199002 2 001

Surabaya, 1 September 2016
Yang Membuat Pernyataan,



Aris Yulita Aprianto
NIM : 051211133038

PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : “Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Pada Biji *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet, digital library Perpustakaan Universitas Airlangga atau media lain untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang - Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi skripsi/karya ilmiah saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 1 September 2016



Aris Yulita Aprianto

NIM. 051211133038

ambar Pengesahan

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
TRITERPENOID PADA BIJI *Swietenia
mahagoni* (L.) Jacq.**

SKRIPSI

buat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

2016

Oleh :

ARIS YULITA APRIANTO

NIM : 051211133038

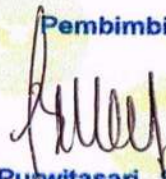
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Dra. Herra Studiawan, Apt.
NIP. 19570310 198601 1 001

Pembimbing Serta



Nenny Purwitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 19800419 200604 2 001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan pertolongan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Banyak pihak yang telah memberikan bantuan dalam penyelesaian skripsi yang berjudul “ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA TRITERPENOID PADA BIJI *Swietenia mahagoni* (L). **Jacq.**” ini, sehingga dalam kesempatan ini, tanpa mengurangi rasa hormat, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Sukardiman M.S., Apt sebagai ketua proyek antidiabetes ini yang senantiasa berkenan memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dengan tulus dan sabar hingga skripsi ini bisa diselesaikan dengan baik.
2. Drs.Herra Studiawan M.S., Apt. Sebagai pembimbing utama pada penelitian ini yang juga senantiasa berkenan memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dengan tulus dan sabar hingga skripsi ini bisa diselesaikan dengan baik.
3. Neny Purwitasari, S.Farm., MSc., Apt. selaku dosen pembimbing serta skripsi yang senantiasa memberikan dorongan dan motivasi dalam menempuh perkuliahan program sarjana serta menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.

4. Prof. Dr. Bambang Prayogo, MS. dan Drs. Abdul Rakhman, M.Si. selaku dosen penguji yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan saran dan masukan demi kesempurnaan skripsi ini
5. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Dr. Hj. Umi Athiyah, MS., Apt. atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama perjalanan menempuh program sarjana di Fakultas Farmasi.
6. Ketua Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Dr. Aty Widyawaruyanti, Msi. atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama penelitian..
7. Kedua orang tua saya, Ayahanda Hari Suranto dan Ibunda Mujinah, kakak Puji Widodo dan Riska Christi Hariyanti, Adik Kenzie Nathanael Harianto serta semua keluarga besar tercinta atas segala do'a, perhatian, dukungan, motivasi dan nasehat di sepanjang hidup saya.
8. Bapak dan Ibu petugas laboratorium Departemen Farmakognosi dan Fitokimia (Mbak Aini, Pak Iwan, Pak Parto, Pak Lismo, Mas Eko dan Pak Jarwo) atas bantuan selama penelitian.
9. Tim proyek penelitian Sambiloto Mahoni: Alvi, Amirul, Asita, Eva, Indra, Widya, Mas Ode, Rafida, Rani, Ricko, Mas Ruli, Novi dan Yoga yang selalu memberikan bantuan tanpa pamrih dan bekerja sama dengan baik dalam menyelesaikan skripsi ini

10. Teman-teman farmasi angkatan 2012, terutama kelas B atas kerjasama dan bantuan selama perkuliahan.
11. Gabriela Larasati S. terkasih, sahabat-sahabat terbaik (Cashin, Dimas, Firmansyah, Indah, Felita, Yoga, Sungging, Vennie, dan Yuliaty) atas dukungan dan motivasinya.
12. Serta seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah membantu hingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa tidak ada karya manusia yang sempurna, termasuk skripsi ini. Oleh karena itu, setiap masukan dan upaya demi kesempurnaan skripsi ini akan diterima dengan senang hati. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi umat manusia.

RINGKASAN
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
TRITERPENOID PADA BIJI *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.

ARIS YULITA APRIANTO

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai tanaman obat oleh masyarakat Indonesia adalah mahoni *Swietenia mahagoni* (L.) **Jacq** (Harianja, 2008). Bijinya dikenal dapat menurunkan kadar gula darah. (Harianja, 2008). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa Biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) **Jacq**) memiliki banyak sekali aktivitas farmakologik seperti antibakteri, antimikroba, sitotoksik, antiulcer, antifungi, anti-HIV, antiinflamasi, analgesik, antipiretik, hipoglikemik, dan penghambatan agregasi platelet (Bhurat et al., 2011).

Bahan baku simplisia biji *Swietenia Mahagoni* (L) **jacq** yang digunakan 710 gram, kemudian dilakukan penggilingan diperoleh serbuk halus sebanyak 640 gram. Serbuk kering 640 gram di maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan jumlah total 5 L. Hasil remaserasi sebanyak 4 kali didapatkan maserat berwarna coklat kemerahan dan setelah diuapkan dengan rotavapor diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kemerahan sejumlah 49 gram.

Sebanyak 49 gram Ekstrak etanol 96% kemudian dilakukan partisi cair-cair dengan air dan n-heksana. Fase air dilakukan partisi lagi menggunakan etil asetat kemudian hasil filtrat dari fase etil asetat dipekatan dan didapatkan ekstrak kental etil asetat 10,2 gram.

Ekstrak etil asetat sebanyak 7,0 gram dilakukan pemisahan dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) didapatkan sebelas fraksi (fraksi 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10, dan 11), pada fraksi 4-6 digabung dan diberi nama fraksi 5. Selanjutnya fraksi 5 dilakukan pemisahan dengan Kromatografi Kolom dengan fase gerak n-heksana: etil asetat (7:3) diperoleh lima macam subfraksi, yaitu subfraksi 5.1-5.5. Dipilihlah subfraksi 5.1 karena memberikan satu noda warna merah ungu dengan nilai R_f 0,69 pada penampak noda anisaldehida H_2SO_4 , kemudian dilakukan uji kromatografi lapis tipis dan bidimensional menunjukkan bahwa subfraksi 5.1 tersebut murni secara kromatografi, selanjutnya subfraksi 5.1 dinamakan isolat 5.1

Hasil analisis spektrometer terhadap isolat 5.1 menunjukkan serapan pada 3444,19 (OH); 1054,48 (getaran uluran C-OH); 2950,40 dan 2864,46 (CH pada CH_3); 1384,61 (getaran uluran CH pada CH_3); 1454,62 (getaran ulur CH pada CH_2); 1740,62 (C=O); 1644,49 (C=C non konjugasi) yang memiliki gugus yang sama pada Swietenine E, yaitu mengandung gugus hidroksi (OH), alkali (CH_2 dan CH_3), karbonil (C=O), dan alkenil (C=C).

Pada data 1H -RMI, isolat terdapat gugus OH menyebabkan munculnya peak pada δH 4,33 ppm. Sinyal tersebut diduga berasal dari gugus $-CH-OH$, dimana pergeseran kimia terjadi karena hidrogen pada gugus ini menjadi kurang terperisai (deshielded) akibat berikatan dengan atom O yang bersifat elektronegatif, sedangkan pada literatur juga terdapat gugus OH pada δH 4,55 (H-6). Pada peak $\delta 5,32$ dan $\delta 7,21$ ppm menunjukkan adanya gugus alkena yang berikatan dengan gugus C rangkap, yang memiliki

kemiripan pada literature di δH 5,38 (H-30) dan δH 7,54 (H-21). Selain itu, pada isolat muncul peak pada daerah δH 0,83 sampai 0,99 (m,15H) yang diduga berasal dari gugus metil, namun pada spektra RMI sinyal tampak menumpuk dengan sinyal-sinyal lain, sehingga terdapat 15 proton yang diduga terdapat 5 gugus metil, pada literatur terdapat 5 gugus metil δH 0,86 (H-29); δH 1,00 (H-18); δH 1,12 (H-28); δH 1,21 (H-19); δH 1,11 ($2''\text{-CH}_3$). Pada peak di daerah δH 5,29 sampai 5,36 (m,15H) diduga terdapat gugus alkena, namun dalam spektra sinyal tampak menumpuk dengan sinyal-sinyal lain, pada literatur terdapat sinyal pada δH 5,60 (H-17) dan δH 5,32 (H-30) yang memiliki kemiripan pada geseran kimia di hasil RMI isolat.

Pada spektrum ^{13}C -RMI memiliki gugus hidroksil $\delta 72,58$ (C-6); gugus keton $\delta 173,97$ (C-1); $\delta 174,27$ (C-7); $\delta 170,54$ (C-16); $\delta 174,27$ (C-1'); gugus metil $\delta 11,23$ ($3'\text{-CH}_3$); $\delta 13,13$ ($2'\text{-CH}_3$); $\delta 22,43$ (C-29); $\delta 24,69$ (C-28); $15,45$ (C-19); $\delta 21,75$ (C-18), gugus alkena $\delta 125,07$ (C-30); $\delta 109,24$ (C-22); $\delta 141,11$ (C-21), dari hasil elusidasi struktur tersebut diduga bahwa isolat 5.1 mempunyai kemiripan dengan swietenine E yang termasuk dalam golongan triterpenoid.

ABSTRACT

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF TRITERPENOID
COMPOUND FROM *Swietenia Mahagoni* (L.) Jacq. SEED**

ARIS YULITA APRIANTO

Isolation and identification of triterpenoid compound from ethyl acetate extract of *Swietenia Mahagoni* (L.) Jacq. had been done. Dried seed of the plant (640g) was extracted successively with ethanol 96% (49 g). The ethanol 96% was partitioned between water and *n*-hexane, next step water phase was partitioned with ethyl acetate (21,5 g). the ethyl acetate fraction was separated respectively by vacuum liquid chromatography and column chromatography to get compound. The X compound was identified using FTIR, ¹H-RMI and ¹³C-RMI spectroscopy. Based on the data spectra, we conclude that X compound is similar with Swietenine E.

Keywords: isolation, *Swietenia Mahagoni* (L.) Jacq, triterpenoid

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
KONTRAK PENELITIAN	iii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	ix
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
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 Tinjauan tentang <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.....	5
2.1.1 Klasifikasi.....	5
2.1.2 Nama Daerah.....	6
2.1.3 Habitat.....	6

2.1.4	Morfologi	6
2.1.5	Kandungan	8
2.1.6	Manfaat.....	9
2.2	Tinjauan Tentang Terpenoid.....	9
2.2.1	Biosintesis Senyawa Terpenoida.....	11
2.2.2	Tinjauan Tentang Triterpenoid	15
2.3	Tinjauan tentang Ekstrak	18
2.3.1.	Definisi Ekstrak	18
2.3.2.	Faktor yang Berpengaruh pada Mutu Ekstrak	18
2.3.3.	Macam Metode Ekstraksi.....	19
2.4.	Tinjauan tentang Metode Pemisahan dengan Kromatografi	20
2.4.1.	Definisi Kromatografi.....	20
2.4.2.	Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis	21
2.4.3.	Tinjauan tentang Kromatografi Kolom.....	22
2.4.4.	Tinjauan tentang Kromatografi Cair Vakum	25
2.5.	Tinjauan tentang Metode untuk Karakteristik isolat	26
2.5.1.	Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti.....	26
2.5.2.	Spektrofotometri Infra Merah	28

BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL

3.1.	Uraian Kerangka Konseptual	32
3.2.	Skema Kerangka Konseptual	34

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1.	Alat dan Bahan.....	35
4.1.1	Bahan Tanaman.	35
4.1.2	Bahan Kimia	35
4.1.3	Alat Penelitian.....	35

4.2. Cara Kerja.....	36
4.2.1. Penyiapan Bahan	36
4.2.2. Ekstraksi	36
4.2.3. Pemisahan dengan Kromatografi Cair Vakum	37
4.2.4. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom	39
4.2.5. Uji Kemurnian Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis	40
4.2.6. Uji Kemurnian Isolat dengan KLT Bidimensional	41
4.3. Identifikasi Isolat	41
4.3.1. Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	41
4.3.2. Identifikasi dengan Spektrofotometer Infra Merah.....	41
4.3.3. Identifikasi dengan Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti	42
BAB V. HASIL PENELITIAN	
5.1. Penyiapan Bahan penelitian.....	44
5.2. Pembuatan Ekstrak	45
5.3. Fraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum	47
5.4. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom.....	49
5.5. Uji kemurniaan	50
5.5.1. Kromatografi Lapis Tipis Satu Arah	50
5.5.2. Kromatografi Lapis Tipis Bidimensional	52
5.6. Spektrofotometri Infra Merah.....	54
5.7. Spektrofotometri Resonansi Magnetik Inti.....	55

BAB VI. PEMBAHASAN

6.1. Penyiapan Ekstraksi Bahan.....	61
6.2. Pemisahan.....	62
6.3. Elusidasi Struktur	63
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN.....	73



DAFTAR TABEL

Tabel	Hal.
2.1. Klasifikasi Terpenoid	10
2.2. Pembagian Daerah radiasi inframerah	29
2.3. Bilangan gelombang serapan beberapa gugus fungsi pada spekstroskopi inframerah	30
4.1. Fase gerak kromatografi cair vakum	38
5.1. Penyiapan bahan Biji <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.	44
5.2. Hasil KLT ekstrak etil asetat biji <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.	46
5.3. Kromatografi Lapis Tipis fraksi etil asetat hasil pemisahan Kromatografi Cair Vakum	48
5.4. Penimbangan hasil kromatografi kolom fraksi terpilih	49
5.5. Kromatogram subfraksi 5.1 dengan KLT satu arah menggunakan beberapa kombinasi pelarut	52
5.6. Puncak serapan inframerah isolat dalam pellet KBr	54
5.7. ¹ H-RMI dan ¹³ C-RMI swietenine E dan isolat 5.1	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal.
2.1. Biji <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.	5
2.2. Struktur kimia Swiemahagonis A, Swiemahagonis B, Swietenin.....	8
2.3. Struktur kimia Isoprena.....	10
2.4. Skema Pembentukan Asam Mevalonat.....	12
2.5. Skema penggabungan kepala dan ekor dua unit isopren.....	14
2.6. Skema penggabungan ekor dan ekor menghasilkan triterpenoid.....	15
2.7. Struktur utama triterpena pentasiklik.....	16
3.1. Skema Kerangka Konseptual.....	34
4.1 Skema rancangan penelitian.....	43
5.1. Biji <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.....	44
5.2. Profil kromatografi lapis tipis dari ekstrak etil asetat dengan fase gerak n-heksana:etil asetat (7:3), fase diam silika gel GF ₂₅₄ Merck, dengan penampakl noda anisaldehyda H ₂ SO ₄	46
5.3. Kromatografi lapis tipis 11 fraksi hasil KCV dengan fase gerak n- heksana : etil asetat (4:1), fase diam kieselgel GF 254 Merck, dengan penampak noda anisaldehyd H ₂ SO ₄	47
5.4. Kromatogram KLT hasil fraksinasi fraksi terpilih dengan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak n- heksana : etil asetat (7:3) dengan penampak noda Anisaldehyd-H ₂ SO ₄ , angka-angka menunjukkan subfraksi.	49

5.5. Kromatogram subfraksi 5.1 dengan KLT satu arah menggunakan beberapa kombinasi eluen.....	51
5.6. Kromatogram hasil KLT bidimensional subfraksi 1 dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3), fase diam silika gel GF254 Merck dengan penampak noda anisaldehyd H ₂ SO ₄	53
5.7. Isolat 5.1 dari biji <i>Swietenia Mahagoni</i> (L) Jacq. , warna: putih kekuning.....	54
5.8. Spektrum Inframerah isolat 5.1 dalam pellet KBr pada bilangan gelombang 4000 sampai 450 cm ⁻¹	55
5.9. Struktur dari senyawa swietenine E	55
5.10. Spektrum ¹ H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol pada pergeseran kimia 0-8 ppm	58
5.11. Spektrum ¹³ C-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol pada pergeseran kimia 0-220 ppm.	59
5.12. Skema hasil penelitian dari ekstrak etil asetat biji <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal.
Lampiran 1	Identifikasi tanaman <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq 73
Lampiran 2	Spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol dan standar internal TM 74
Lampiran 3	Perbesaran spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol D ₄ dan standar internal TMS 75
Lampiran 4	Perbesaran spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol D ₄ dan standar internal TMS 76
Lampiran 5	Perbesaran spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol D ₄ dan standar internal TMS 77
Lampiran 6	Perbesaran spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol D ₄ dan standar internal TMS 78
Lampiran 7	Spektrum 13C-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol D ₄ dan standar internal TMS 79
Lampiran 8	Spektrum 13C-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol D ₄ dan standar internal TMS 80
Lampiran 9	Spektrum 13C-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol D ₄ dan standar internal TMS 81

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Salah satu ciri budaya masyarakat di negara berkembang adalah masih di dominasinya unsur-unsur tradisional dalam kehidupan sehari-hari. Keadaan ini didukung oleh keanekaragaman hayati yang terhimpun dalam berbagai tipe ekosistem yang pemanfaatannya telah mengalami sejarah panjang sebagai bagian dari kebudayaan (Rahayu, 2006). Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasarkan pada pengalaman dan keterampilan secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya (Sari, 2006).

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai tanaman obat oleh masyarakat Indonesia adalah mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq). Ini merupakan salah satu tumbuhan tradisional Indonesia yang masih belum memiliki acuan informasi yang cukup lengkap, baik dari segi fitokimia maupun dari segi farmakologi (Harianja, 2008).

Di tengah masyarakat, buah mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.) di kenal dapat menurunkan tekanan darah tinggi, antijamur, demam, kurang nafsu makan, rematik, dan masuk angin. Kulit batangnya dikenal dapat mengobati demam, sebagai tonikum,

dan astringent. Bijinya dikenal dapat menurunkan kadar gula darah. (Harianja, 2008).

Secara empirik biji mahoni telah digunakan masyarakat dengan cara menumbuk biji mahoni sampai halus, ditambah dengan air hangat, dan diminum secara langsung sehingga komponen biji mahoni dapat masuk ke dalam tubuh. Namun jika tahan pahit, biji mahoni dapat dimakan mentah-mentah (Hamzari, 2008). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) memiliki banyak sekali aktivitas farmakologik seperti antibakteri, antimikroba, sitotoksik, antiulcer, antifungi, anti-HIV, antiinflamasi, analgesik, antipiretik, hipoglikemik, dan penghambatan agregasi platelet (Bhurat et al., 2011).

Menurut Saghal (2009), biji mahoni mengandung salah satu senyawa metabolit sekunder yaitu terpenoid. Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersusun atas molekul-molekul isoprena teroksigenasi. Senyawa ini banyak dihasilkan oleh tumbuhan pada getah dan vakuola selnya. Terdapat pula pada sejumlah hewan, terutama serangga dan beberapa hewan laut.

Terpenoid mempunyai peranan penting, baik dalam pertumbuhan, metabolisme serta ekologi dari makhluk hidup yang mengandungnya. Bagi tumbuhan sendiri, terpenoida berguna sebagai antifektan terhadap insekta, fitoaleksin, pertahanan tubuh dari herbivora, serta sebagai hormon tumbuh. Bagi beberapa hewan lain, seperti serangga, terpenoida berfungsi menstimulasi diri untuk bertelur. Apabila diisolasi dan dilakukan bioaktivitasnya terhadap tubuh manusia, dari beberapa penemuan mengatakan bahwa

terpenoida berguna sebagai antihipertensi, antikanker, antitumor, antimalarial (Robinson, 1995), antidiabetes (LI, et al., 2005), analgesik (Delporte, et al., 2007) dan sitotoksik (Atenza, dkk, 2009).

Salah satu golongan terpenoid adalah triterpenoid. Triterpenoid merupakan senyawa kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena (Harborne, 1987). Senyawa tersebut dapat dijumpai pada bagian akar, batang, buah maupun biji tanaman. Triterpenoid yang paling banyak adalah triterpenoid pentasiklik pada tanaman berbiji (Felicia, 2009). Menurut Robinson (1995), senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiolog tertentu, salah satunya dapat mengatasi penyakit diabetes.

Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai biji mahoni yang memiliki beberapa aktivitas farmakologik serta penelitian yang menyatakan bahwa senyawa triterpenoid terbanyak pada tanaman berbiji, maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa triterpenoid pada biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq).

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa triterpenoid pada biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq).

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa triterpenoid pada biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq).

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini selain mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa triterpenoid dari biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) juga dapat memberikan data-data ilmiah sehingga berguna dalam pengembangan tanaman (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) sebagai produk fitofarmaka.



BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Taksonomi *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.

2.1.1. Klasifikasi Tanaman

Divisi : Magnoliophyta
kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Meliaceae
Genus : *Swietenia*
Spesies : *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.
(Khare *et al*, 2012)



(b)

Gambar 2.1 (a) buah dan daun *swietenia mahagonia* (L.) jacq. (b) biji *swietenia mahagonia* (L.) jacq.

2.1.2. Nama Daerah

Swietenia mahagoni Jacq mempunyai nama daerah atau nama lain di setiap negara ,secara lokal dikenal sebagai „*Mahogany*“ di Bangladesh. Di Belanda dikenal sebagai mahok, di Perancis disebut degan acajou atau acajou pays, sementara di Malaysia disebut cheriamagany. Di Spanyol dikenal sebagai caoba/caoba de Santo/domingo. Di Indonesia sendiri tumbuhan berkayu keras ini mempunyai nama lokal lainnya yaitu mahagoni, maoni atau moni (Rahman *et al*, 2010).

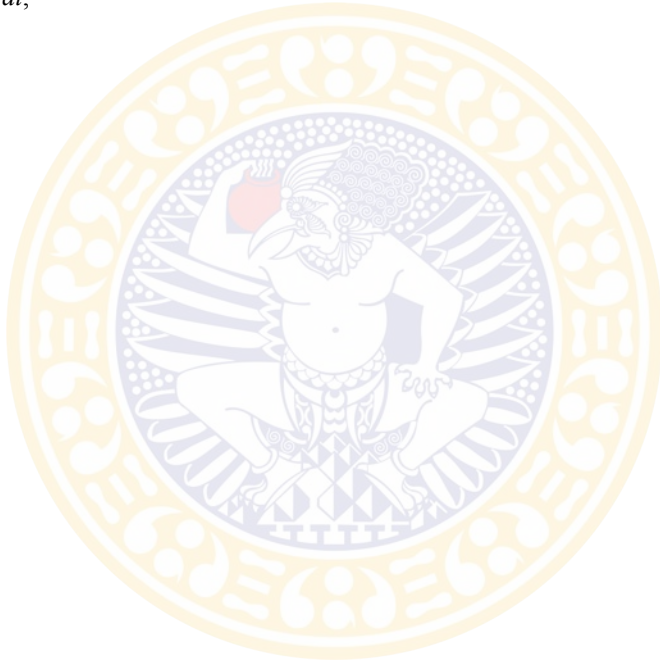
2.1.3. Habitat

Mahoni pada habitat aslinya tumbuh di hutan-hutan ataupun mana saja yang memiliki iklim tropis, dengan suhu berkisar 16-32°C. Curah hujan bervariasi dari 1250-2500 mm, sebagian besar di musim panas tapi menyebar hampir di sepanjang tahun. Perkembangan terbaik telah diamati di daerah yang menerima curah hujan lebih rendah dari 1000-1500 mm, di daerah tidak jauh dari laut, dan pada ketinggian permukaan dekat dengan laut (Orwa *et al*, 2009).

2.1.4. Morfologi Tanaman

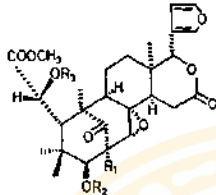
Mahoni merupakan pohon tahunan dengan tinggi mencapai 30 meter dan ketebalan 4,5 meter, tetapi di India ketinggian mencapai 18 - 24 meter. Batang bulat bercabang, kulit berkerut,

berwarna coklat abu-abu hitam atau gelap.. Perbungaan pada ketiak panjang 8-15 cm, ramping, lebih pendek dari daun. Buah berbentuk bulat telur panjang 5-10 cm berlekuk lima berwarna coklat, diameter 3-6 cm, katup tebal, kayu, permukaannya seperti kulit ketika dewasa. Di dalam buah terdapat biji berisi 35 - 45 untuk setiap kapsul, berwarna kecoklatan, panjangnya 4-5 cm, berbentuk pipih (Khare *et al*, 2012).



2.1.5. Kandungan kimia

Biji mahoni mengandung senyawa swietemahonin (A-G) dan swietenine (B,C,D,E,dan F) yang berfungsi sebagai agen



- 19 : $R_1 = H, R_2 = COCH_2CH_3, R_3 = H$ = Swietemahonin A
 20 : $R_1 = H, R_2 = COCH_2CH_3, R_3 = COCH_3$ = Swietemahonin B
 21 : $R_1 = H, R_2 = COCH(CH_3)_2, R_3 = COCH_3$ = Swietemahonin C
 22 : $R_1 = H, R_2 = COCH_3, R_3 = -H$ = Swietemahonin D
 23 : $R_1 = H, R_2 = CO-C=CH, R_3 = -H$ = Swietemahonin E
 24 : $R_1 = H, R_2 = CO-C=CH, R_3 = COCH_3$ = Swietemahonin F
 25 : $R_1 = -OH, R_2 = CO-C=CH, R_3 = H$ = Swietemahonin G

hipoglikemik (Kadota *et al*, 1990).

(1)

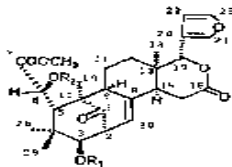
(2)

Gambar 2.2. Struktur kimia Swietemahonin (A-G) (1), Swietenin

(2)

2.1.6. Manfaat Tanaman

Biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) memiliki banyak sekali aktivitas farmakologik seperti antibakteri, antimikroba,



- 1 : $R_1 = COCH_2CH_3, R_2 = H$ = swietenine B
 2 : $R_1 = COCH(CH_3)_2, R_2 = H$ = swietenine C
 3 : $R_1 = CO-C=CH, R_2 = -H$ = swietenine D
 4 : $R_1 = CO-C=CH, R_2 = H$ = swietenine E
 5 : $R_1 = COCH_3, R_2 = H$ = swietenine F
 9 : $R_1 = CO-C=CH, R_2 = H$
 10 : $R_1 = CO-C=CH, R_2 = COCH_3$ = swietenine asetat

sitotoksik, antiulcer, antifungi, anti-HIV, antiinflamasi, analgesik, antipiretik, hipoglikemik, dan penghambatan agregasi platelet (Bhurat et al., 2011).

2.2. Tinjauan Tentang Terpenoid

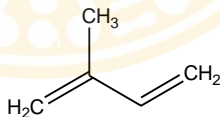
Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar bila dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, triterpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam kelompok terpenoid diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom penyusunnya, sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Klasifikasi terpenoid.

Kelompok	Jumlah atom C
-----------------	----------------------

Terpenoid	
Monoterpenoid	10
Seskuiterpenoid	15
Diterpenoid	20
Triterpenoid	30
Tetraterpenoid	40
Politerpenoid	>40

Pada Tabel 2.1. menunjukkan, bahwa senyawa terpenoid tersusun atas karbon-karbon dengan jumlah kelipatan lima dan sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C_5 yang disebut unit isoprena. Disebut isoprena karena kerangka karbon C_5 ini memiliki kesamaan seperti senyawa isoprena.



Gambar 2.3. Struktur kimia isoprena (Kristanti, 2008)

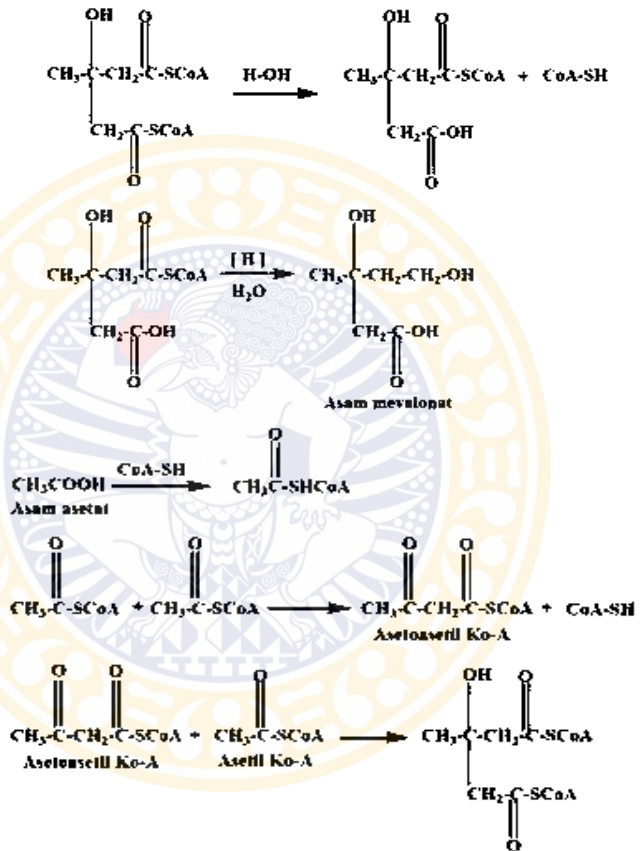
2.2.1. Biosintesis Senyawa Terpenoid

Secara umum biosintesis terpenoid dengan terjadinya 3 reaksi dasar yaitu:

1. Pembentukan isoprena aktif berasal dari asam asetat melalui asam mevalonat.



Asam asetat setelah diaktifkan oleh koenzim A (Ko-A) melakukan kondensasi jenis Claisen menghasilkan Asetoasetil Ko-A. Senyawa ini dengan Asetil Ko-A

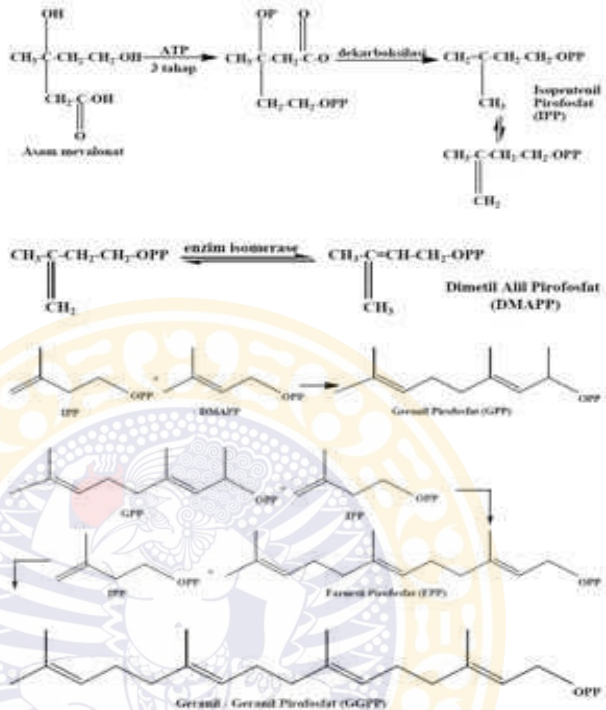


melakukan kondensasi jenis Aldol menghasilkan rantai karbon bercabang sebagaimana ditemukan pada asam mevalonat.

Gambar 2.4. Skema Pembentukan Asam Mevalonat.

2. Penggabungan kepala dan ekor dua unit isoprena akan membentuk mono-, seskui-, di-, sester-, dan poli-terpenoida.

Setelah asam mevalonat terbentuk, reaksi-reaksi berikutnya adalah fosforilasi, eliminasi asam posfat, dan dekarboksilasi menghasilkan Isopentenil Pirofosfat (IPP). Selanjutnya berisomerisasi menjadi Dimetil Alil Pirofosfat (DMAPP) oleh enzim isomerase. IPP inilah yang bergabung dari kepala ke ekor dengan DMAPP. Penggabungan ini terjadi karena serangan elektron dari ikatan rangkap IPP terhadap atom karbon dari DMAPP yang kekurangan elektron diikuti oleh penyingkiran ion pirofosfat menghasilkan Geranil Pirofosfat (GPP) yaitu senyawa antara bagi semua senyawa monoterpenoida. Penggabungan selanjutnya antara satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama menghasilkan Farnesil Pirofosfat (FPP) yang merupakan senyawa antara bagi semua senyawa seskuiterpenoid. Senyawa diterpenoid diturunkan dari Gerani – Geranil Pirofosfat (GGPP) yang berasal dari konsensasi satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama.

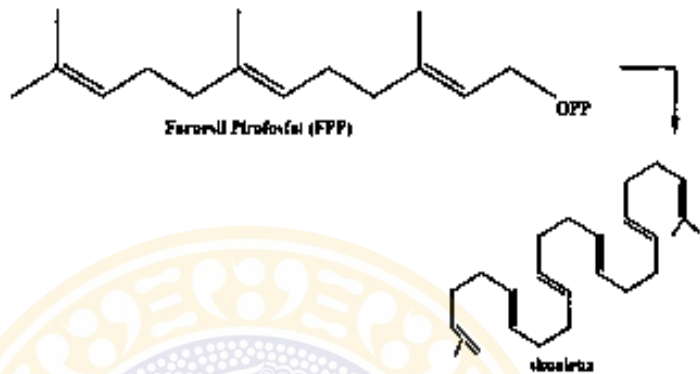


Gambar 2.5. Skema Penggabungan kepala dan ekor dua unit isoprena.

3. Penggabungan ekor dan ekor dari unit C-15 atau unit C-20 menghasilkan triterpenoid dan steroid.

Triterpenoid (C₃₀) dan tetraterpenoid (C₄₀) berasal dari dimerisasi C₁₅ atau C₂₀ dan bukan dari polimerisasi terus-menerus dari unit C-5. Yang banyak diketahui ialah dimerisasi FPP menjadi skualena yang

merupakan triterpenoid dasar dan sumber dari triterpenoid

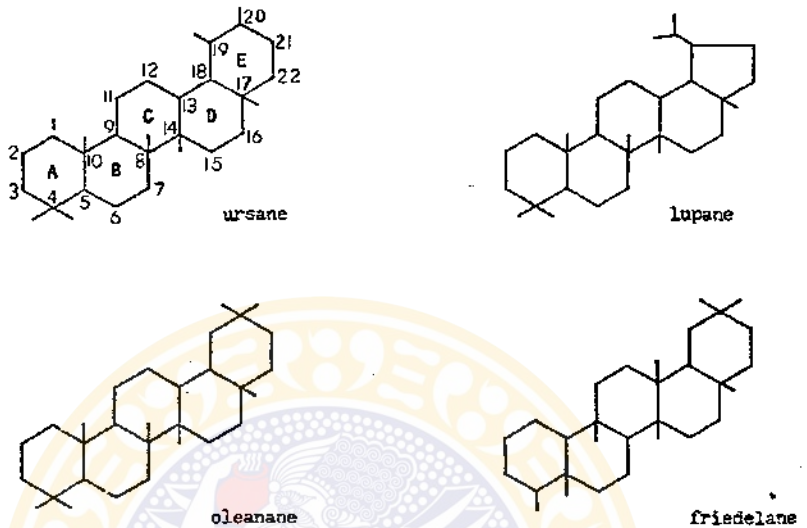


lainnya dan steroid. Siklisasi dari squalena menghasilkan tetrasiklis triterpenoid lanosterol. (Pinder, 1960).

Gambar 2.6. Skema Penggabungan ekor dan ekor menghasilkan triterpenoid.

2.2.2. Tinjauan tentang Triterpenoid

Triterpenoid memiliki kerangka karbon terdiri dari enam satuan isoprena yang secara biosintesis diturunkan dari squalena yaitu, hidrokarbon C_{30} asiklik. Secara umum triterpenoid dijumpai dalam bentuk siklik, pentasiklik dan tetrasiklik triterpen merupakan tipe yang utama (Sarker dan Nahar, 2007). Beberapa tipe struktur utama triterpenoid dapat dilihat dari Gambar 2.2.



Gambar 2.7. Struktur utama triterpena pentasiklik.

Triterpenoid berbentuk Kristal, tidak berwarna, terkadang titik leburnya tinggi dan sering kali bersifat optis aktif. Secara umum untuk mendeteksi ada atau tidaknya senyawa triterpenoid digunakan uji Liebermann-Burchard (anhidrida asetat- H_2SO_4 pekat) (Harborne, 1987).

Senyawa triterpenoid di alam terdapat pada tumbuhan dan hewan. Umumnya tersebar luas dalam damar, gabus, dan kutin pada tumbuhan. Mereka terutama terdapat dalam famili Rutaceae, Meliaceae, dan Simaroubaceae. Sedangkan pada hewan, misalnya terdapat pada minyak hati ikan hiu (hidrokarbon skualena diisolasi untuk pertama kalinya). Karena senyawa ini dianggap sebagai

senyawa-antara dalam biosintesis steroida, senyawa ini harus dibuat sekurang-kurangnya dalam jumlah kecil oleh semua makhluk yang mensintesis steroid (Manitto, 1992).

Menurut Harborne (1987) senyawa triterpenoid dapat dibagi menjadi empat golongan, yaitu: triterpen sebenarnya, saponin, steroid, dan glikosida jantung. Sterol merupakan triterpen dengan struktur dasar siklopentana perhidrofenantrena. Tiga senyawa sterol yang biasanya disebut sebagai fitosterol adalah sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol. Saponin merupakan glikosida triterpena dan sterol. Saponin bersifat seperti sabun, sehingga dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Glikosida jantung atau kardenolida telah banyak dikenal, berupa campuran senyawa rumit yang terdapat dalam satu tumbuhan yang sama. Salah satu ciri struktur kardenolida yaitu adanya penyulih gula khas, gula yang tidak terdapat dalam tumbuhan manapun.

Triterpenoid dipisahkan dengan cara kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi gas cair (KGC). Identitas dipastikan dengan penentuan spektroskopi infra merah dan spektroskopi resonansi magnet inti (RMI). Untuk reagen penampak noda yang populer dalam penentuan triterpenoid adalah pereaksi Liebermann-Burchard, campuran H_2SO_4 pekat 1 ml, anhidrida asetat 20 ml, dan $CHCl_3$ 50 ml dan dilakukan pemanasan pada $85-95^\circ C$ selama 15 menit akan terjadi berbagai warna yang disebabkan oleh triterpena yang berlainan dan kepekaannya sangat baik (Harborne, 1987).

2.3. Tinjauan tentang Ekstak

2.3.1. Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudiam semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dipandang sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi (DepKes RI, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan penyari simplisia menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (BPOM RI, 2010).

2.3.2. Faktor yang Berpengaruh pada Mutu Ekstrak

Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak terdiri atas faktor biologis dan faktor kimia. Faktor biologis yang mempengaruhi terdiri dari spesies yang berperan dalam informasi generik yang dibawa, lokasi asal tumbuhan terkait dengan faktor eksternal seperti tanah, temperatur, cuaca, air, dan faktor lain yang mempengaruhi. Sedangkan, faktor kimia yang mempengaruhi terdiri atas faktor internal seperti jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif dan kuantitatif senyawa aktif, dan kadar total rata-rata, serta faktor eksternal meliputi metode ekstraksi, ukuran alat, bahan ekstraksi

(ukuran, kekerasan, dan kekeringan), pelarut, kandungan logam berat dan kandungan pestisida (DepKes RI, 2000).

2.3.3. Macam Metode Ekstraksi

Metode yang dipergunakan untuk ekstraksi dapat mempengaruhi mutu ekstrak yang dihasilkan. Ada beberapa metode yang dapat dipergunakan, diantaranya adalah:

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature kamar. Metode ini termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperature kamar. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

b. Cara panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya

pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna.

2. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Cara lain

1. Ekstraksi Ultrasonik

Getaran ultrasonik (>20.000 Hz) memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan sebagai stress dinamik serta menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi.

2. Superkritikal karbondioksida

Penggunaan prinsip superkritik untuk ekstraksi serbuk simplisia, dan umumnya digunakan gas karbondioksida. Dengan variable tekanan dan temperatur akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan golongan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dengan mudah dilakukan karena karbondioksida mudah menguap (DepKes RI, 2000).

2.4. Tinjauan tentang Metode Pemisahan dengan Kromatografi

2.4.1. Definisi Kromatografi

Kromatografi merupakan metode pemisahan secara fisik yang utama dengan komponen yang akan dipisahkan terdistribusi antara dua fase, satu diantaranya tidak bergerak (fase diam) dan satu lagi bergerak melalui fase diam dengan arah tertentu (fase gerak) (Ahuja, 2003).

2.4.2. Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dan mengetahui kuantitasnya. Kromatografi juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya (Gholid & Rohman, 2013) dan KLT juga merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan absorpsi atau partisi oleh fase diam yang di bawah gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campuran (Mulja dan Suharman, 1995).

Pemilihan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campuran sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat-zat kimia yang dipisahkan. Fase diam yang umum dan banyak dipakai adalah silica gel yang dicampur dengan CaSO_4 untuk menambah daya lengket partikel silica gel pada pelat. Adsorben lain yang banyak digunakan adalah alumunium, kieselguhr, serbuk selulosa, serbuk poliamida, kanji dan sephadex (Mulja dan Suharman, 1995).

Kromatogram pada KLT merupakan noda-noda yang terpisah setelah melihat kromatogram yang mengadsorpsi radiasi ultraviolet atau visualisasi dengan cara fisika atau cara kimia. Visualisasi cara

fisika yaitu dengan cara berfluoresensi dengan radiasi ultraviolet pada $\lambda = 254$ nm atau $\lambda = 365$ nm. Sedangkan visualisasi dengan cara kimia adalah dengan mereaksikan kromatogram dengan pereaksi warna yang memberikan warna atau fluoresensi yang spesifik. Pada kromatogram KLT dipakai istilah Faktor Retardasi (R_f) untuk kromatogram yang didefinisikan:

$$R_f = \frac{\text{jarak migrasi komponen}}{\text{jarak migrasi fase mobil}}$$

Noda kromatogram tiap-tiap komponen yang terpisah dengan baik akan tampak sebagai noda yang bulat. Suatu zat yang memberi warna noda dan harga R_f yang sama pada KLT yang sama kemungkinan merupakan zat yang sama (Mulja dan Suharman, 1995).

2.4.3. Tinjauan tentang Kromatografi Kolom

Kromatografi merupakan metode analisis campuran atau larutan senyawa kimia dengan absorpsi memilih pada zat penyerap, zat cair dibiarkan mengalir melalui kolom zat penyerap, misalnya kapur, alumina dan semacamnya sehingga penyusunnya terpisah menurut bobot molekulnya, mula-mula memang fraksi-fraksi dicirikan oleh warna-warnanya (Puspasari, 2010).

Pemisahan kromatografi kolom adsorpsi didasarkan pada adsorpsi komponen-komponen campuran dengan afinitas berbeda-beda terhadap permukaan fase diam. Kromatografi kolom adsorpsi termasuk pada cara pemisahan cair-padat. Substrat padat (adsorben) bertindak sebagai fase diam yang sifatnya tidak larut dalam fase cair.

Fase Bergeraknya adalah cairan (pelarut) yang mengalir membawa komponen campuran sepanjang kolom. Pemisahan tergantung pada kesetimbangan yang terbentuk pada bidang antarmuka di antara butiran-butiran adsorben dan fase bergerak serta kelarutan relatif komponen pada fase Bergeraknya. Antara molekul-molekul komponen dan pelarut terjadi kompetisi untuk teradsorpsi pada permukaan adsorben sehingga menimbulkan proses dinamis. Keduanya secara bergantian tertahan beberapa saat di permukaan adsorben dan masuk kembali pada fase Bergerak. Pada saat teradsorpsi komponen dipaksa untuk berpindah oleh aliran fase Bergerak yang ditambahkan secara kontinyu. Akibatnya hanya komponen yang mempunyai afinitas lebih besar terhadap adsorben akan secara selektif tertahan. Komponen dengan afinitas paling kecil akan Bergerak lebih cepat mengikuti aliran pelarut (Yazid, 2005).

Teknik pemisahan kromatografi kolom dalam memisahkan campuran, kolom yang telah dipilih sesuai ukuran diisi dengan bahan penyerap (adsorben) seperti alumina dalam keadaan kering atau dibuat seperti bubur dengan pelarut. Pengisian dilakukan dengan bantuan batang pemanpat (pengaduk) untuk memanfaatkan adsorben dengan gelas wool pada dasar kolom. Pengisian harus dilakukan secara hati-hati dan sepadat mungkin agar rata sehingga terhindar dari gelembung-gelembung udara. Untuk membantu homogenitas pengepakan biasanya kolom setelah diisi divibrasi, diketok-ketok atau dijatuhkan lemah pada pelat kayu. Sejumlah cuplikan dilarutkan dalam sedikit pelarut, dituangkan melalui sebelah atas kolom dan dibiarkan mengalir ke dalam adsorben. Komponen-komponen dalam

campuran diadsorpsi dari larutan secara kuantitatif oleh bahan penyerap berupa pita sempit pada permukaan atas kolom, dengan penambahan pelarut (eluen) secara terus-menerus, masing-masing komponen akan bergerak turun melalui kolom dan pada bagian atas kolom akan terjadi kesetimbangan baru antara bahan penyerap, komponen campuran dan eluen. Kesetimbangan dikatakan tetap bila suatu komponen yang satu dengan lainnya bergerak ke bagian bawah kolom dengan waktu atau kecepatan berbeda-beda sehingga terjadi pemisahan. Jika kolom cukup panjang dan semua parameter pemisahan betul-betul terpilih seperti diameter kolom, adsorben, pelarut dan kecepatan alirannya, maka akan terbentuk pita-pita (zona-zona) yang setiap zona berisi satu macam komponen. Setiap zona yang keluar dari kolom dapat ditampung dengan sempurna sebelum zona yang lain keluar dari kolom. Komponen (eluat) yang diperoleh dapat diteruskan untuk ditetapkan kadarnya, misalnya dengan cara titrasi atau spektrofotometri (Yazid, 2005).

Teknik pemisahan kromatografi kolom partisi sangat mirip dengan kromatografi kolom adsorpsi. Perbedaan utamanya terletak pada sifat dari penyerap yang digunakan. Pada kromatografi kolom partisi penyerapnya berupa materi padat berpori seperti kieselguhr, selulosa atau silika gel yang permukaannya dilapisi zat cair (biasanya air). Dalam hal ini zat padat hanya berperan sebagai penyangga (penyokong) dan zat cair sebagai fase diamnya. Fase diam zat cair umumnya diadsorpsikan pada penyangga padat yang sejauh mungkin inert terhadap senyawa-senyawa yang akan dipisahkan. Zat padat yang penyokong harus penyerap dan menahan

fase diam serta harus membuat permukaannya seluas mungkin untuk mengalirnya fase bergerak. Penyangga pada umumnya bersifat polar dan fase diam lebih polar dari pada fase bergerak. Dalam kromatografi partisi fase Bergeraknya dapat berupa zat cair dan gas yang mengalir membawa komponen-komponen campuran sepanjang kolom. Jika fase Bergeraknya dari zat cair, akan diperoleh kromatografi partisi cair-cair. Teknik ini banyak digunakan untuk pemisahan senyawa-senyawa organik maupun anorganik (Yazid, 2005)

2.4.4. Tinjauan tentang Kromatografi Cair Vakum

Kromatografi cair vakum merupakan salah satu kromatografi vakum khusus yang biasanya menggunakan silika gel sebagai adsorben. Kelebihan KCV jika dibandingkan dengan kromatografi kolom biasa terletak pada kecepatan proses (efisiensi waktu) karena proses pengelusan dipercepat dengan memvakumkan kolom selain itu KCV juga dapat memisahkan sampel dalam jumlah banyak. Pemilihan jenis silika gel yang tepat merupakan faktor yang sangat penting untuk mendapatkan hasil pemisahan yang baik. Ukuran partikel silika gel yang terlalu kecil akan menyebabkan proses elusi berjalan sangat lambat (Septyaningsih, 2010).

Pemilihan sistem pelarut untuk kromatografi kolom vakum cair dapat dilakukan dengan 3 pendekatan yaitu penelusuran pustaka, mencoba menerapkan data KLT pada pemisahan dengan kolom dan pemakaian elusi dari pelarut non polar yang tidak menggerakkan zat terlarut sampai pelarut polar yang menggerakkan zat terlarut. Sistem elusi dapat dilakukan dengan metode gradien pelarut atau dengan

sistem isokratik. Elusi gradient (variasi kepolaran pelarut) dilakukan apabila campuran senyawa cukup kompleks sedangkan elusi isokratik dilakukan jika campuran senyawa yang akan dipisahkan sederhana. Sampel dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau sampel dibuat serbuk bersama adsorben (impregnasi) dan dimasukkan ke bagian atas kolom kemudian dihisap perlahan-lahan. Kolom dielus dengan pelarut yang sesuai, dimulai dengan yang paling non polar. Kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Kromatografi cair vakum, fraksi-fraksi yang ditampung biasanya bervolume jauh lebih besar dibandingkan dengan fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom biasa. Langkah pemisahan menggunakan kromatografi cair vakum biasanya dilakukan pada tahap awal pemisahan (pemisahan terhadap ekstrak kasar yang diperoleh langsung dari proses ekstraksi). Jenis pompa vakum yang paling banyak dipakai sekarang yaitu pompa jenis reciprocating. Pompa ini terdiri dari ruangan kecil tempat pelarut yang dipompa dengan cara gerakan piston maju-mundur yang dijalankan oleh motor. Piston berupa batang gelas dan berkontak langsung dengan larutan (Septyaningsih, 2010).

2.5. Tinjauan tentang Metode untuk Karakterisasi Isolat

2.5.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI)

Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI) memegang peranan penting dalam hal identifikasi dan elucidasi struktur. Analisis rutin senyawa bahan alam biasanya menggunakan teknik satu dimensi (^1H , ^{13}C , ^{15}N) dan dua dimensi (COSY, TOSCY, NOESY, HSQC, HMBC, dan HNMBC). Teknik ini telah

berkembang sehingga sensitivitas dan kecepatan analisisnya menjadi semakin baik. Saat ini RMI bisa digunakan untuk menganalisis senyawa bahan alam yang jumlahnya hanya beberapa mikrogram saja (Halabalaki et al., 2014).

Spektroskopi RMI didasarkan pada sifat magnetik inti atom. Atom dengan nomor massa dan/atau nomor atom ganjil seperti ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , dan ^{19}F mempunyai spin inti yang menghasilkan medan magnet bila atom tersebut diletakkan pada suatu medan magnet luar. Apabila molekul yang mengandung atom H diletakkan pada suatu medan magnet luar, maka momen magnetik dari tiap proton akan berada pada salah satu dari kedua orientasi, yaitu paralel dan antiparalel. Keadaan paralel membutuhkan energi yang lebih kecil dibandingkan antiparalel, sehingga lebih disukai. Inti-inti yang dikenai radiasi elektromagnetik akan menyerap energi dan mengalami resonansi, yaitu perpindahan suatu proton dari keadaan paralel ke antiparalel. Setiap atom H akan menghasilkan spektrum berbeda, tergantung pada lokasi dan lingkungan kimia dalam molekul.

Spektra ^1H RMI memberikan informasi tentang jumlah dan jenis atom hidrogen dalam suatu molekul. Banyaknya atom ditunjukkan oleh puncak integrasi, sedangkan jenis atom yang berhubungan dengan gugus fungsi ditunjukkan oleh geseran kimia (chemical shift = δ). Informasi jenis korelasi antara satu atom H dengan atom yang lain ditunjukkan oleh tetapan kopling (coupling constant = J) dan banyaknya atom H tetangga ditunjukkan oleh pola pemisahan puncak (splitting pattern).

Spektrum ^{13}C memberikan informasi tentang jumlah dan jenis atom, seperti halnya pada ^1H RMI. Perbedaannya dengan ^1H RMI terletak pada banyaknya puncak integrasi yang tidak selalu menunjukkan jumlah atom C dan tidak ada pemisahan spin $^{13}\text{C} - ^{13}\text{C}$ (Silverstein et al., 2005).

Spektrum RMI dari amina sangat beragam, sama seperti RMI yang ditunjukkan pada alkohol. Serapan N-H dari sebuah amina alifatik berada pada δ 0,5 sampai 3 ppm, sedangkan serapan amina aromatik berada pada δ 3,0 sampai 5,0 ppm. Sebagai hasil dari adanya ikatan hidrogen pada amina sekunder ataupun amina primer maka pergeseran kimia dari proton N-H bervariasi, dimana pergeseran kimia ini tergantung pada pelarut, konsentrasi

dan temperaturnya. Hal ini hampir serupa dengan alkohol. Sama juga dengan alkohol, amina juga mungkin dapat dibedakan proton dari N-H dengan menggunakan deuterium yaitu D_2O . Serapan proton dari N-H juga dapat dengan mudah diketahui dengan mencocokkan dengan pertukaran isotopnya dengan kontaminan yang mendekati peak dari HOD dengan pertukarannya menggunakan air (Wingrove, 1981).

2.5.2. Spektrofotometri Infra Merah

Penggunaan spektroskopi infra merah ditujukan untuk menentukan gugus-gugus fungsi molekul pada analisis kualitatif, disamping juga untuk tujuan analisis kuantitatif. Pada spektroskopi infra merah dipelajari karakter getaran gugus-gugus molekul yang berinteraksi dengan radiasi infra merah. Pembagian daerah radiasi infra merah dapat dilihat pada Tabel 2.2 di bawah ini.

Tabel 2.2 Pembagian daerah radiasi infra merah (Mulja dan

No.	Daerah Infra Merah	Rentang Panjang Gelombang (λ) dalam μm	Rentang Bilangan Gelombang (Cm^{-1})	Rentang Frekuensi (ν) (Hz)
1.	Dekat	0,78-2,5	13.000-4.000	$3,8-1,2 (10^{14})$
2.	Pertengahan	2,5-50	4000-200	$1,2-0,06 (10^{14})$
3.	Jauh	50-1000	200-10	$6,0-0,3 (10^{12})$
4.	Untuk analisis instrumental	2,5-15	4000-670	$1,2-0,2 (10^{14})$

Suharman, 1995).

Radiasi infra merah yang dipakai untuk analisis instrumental adalah radiasi infra merah yang rentang bilangan gelombangnya antara $4000-670 \text{ cm}^{-1}$. Radiasi infra merah tersebut terbagi lagi atas dua daerah yaitu:

1. Daerah gugus fungsi pada rentang antara 4000 hingga 1600 cm^{-1}
2. Daerah sidik jari pada rentang antara 1600 hingga 670 cm^{-1}

1

Adapun daerah frekuensi absorpsi infra merah untuk beberapa gugus fungsi dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Bilangan gelombang serapan beberapa gugus fungsi pada spektroskopi infra merah (Fessenden dan Fessenden, 1995).

Macam gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm^{-1})
C=C	1600-1700 (5,9-6,2 μm)
C=O	1700-1725 (5,8-5,88 μm)
C-O	900-1300 (8-11 μm)
C-H (sp^3)	2800-3000 (3,3-3,6 μm)
C-H (sp^2)	3000-3300 (3,0-3,3 μm)
C-H (sp)	\sim 3000 (3,0 μm)
O-H	3000-3700 (2,7-3,3 μm)

Vibrasi spektrum Infra merah dari amina primer dan sekunder yang sangat khas dapat dihubungkan dengan adanya ikatan N-H. Keduanya dalam bentuk alkil dan aril amina primer dapat ditunjukkan dengan adanya dua buah vibrasi N-H yang merupakan sebuah ikatan stretching yang asimetrik ditunjukkan pada panjang gelombang 3490 cm^{-1} dan juga sebuah ikatan stretching simetrik pada panjang gelombang mendekati 3400 cm^{-1} . Serapan pada bagian ini dapat terjadi karena adanya ikatan hidrogen, akan tetapi pengaruh dari ikatan hidrogen ini pada N-H tidak sama dengan

pengaruh ikatan hidrogen O-H pada vibrasi molekulnya. Dimana ketika ikatan hidrogen intra molekul terjadi, maka akan membentuk sebuah kompleks yang menyebabkan serapan panjang gelombang pada 3300-3000 cm^{-1} (Silverstain, 1986).

Amina sekunder memberikan satu vibrasi molekul N-H pada panjang gelombang 3450-3300 cm^{-1} . Sebuah frekuensi serapan yang tinggi biasanya menunjukkan sebuah aril dan alkil sekunder, ketika sebuah serapan terjadi pada panjang gelombang 3350-3300 cm^{-1} menunjukkan sebuah alkil amina sekunder, akan tetapi Amina tersier tidak menunjukkan adanya vibrasi molekul N-H.

Vibrasi C-N dari amina akan terjadi dengan vibrasi molekul sama dengan yang dimiliki oleh ikatan C-C dan C-O (biasanya mendekati panjang gelombang 1350-1200 cm^{-1}) dan data ini tidak cocok dalam penentuan strukturnya. N-metil amina hadir dengan vibrasi molekul mendekati 2750 ± 50 cm^{-1} (Ternau, 1979).

Hanya getaran yang menghasilkan perubahan momen dwikutub secara berirama saja yang teramati di dalam infra-merah. Medan listrik yang berganti-ganti, yang dihasilkan oleh perubahan penyebaran muatan yang menyertai getaran menjodohkan getaran molekul dengan medan listrik pancaran elektromagnet yang berayun (Silverstain, 1986).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Landasan Teoritik

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai tanaman obat oleh masyarakat Indonesia adalah mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.). Ini merupakan salah satu tumbuhan tradisional Indonesia yang masih belum memiliki acuan informasi yang cukup lengkap, baik dari segi fitokimia maupun dari segi farmakologi (Harianja, 2008). Buah mahoni (*S. mahagoni* (L.) Jacq.) dikenal dapat menurunkan tekanan darah tinggi, antijamur, demam, kurang nafsu makan, rematik, dan masuk angin. Kulit batangnya dikenal dapat mengobati demam, sebagai tonikum, dan astringent. Bijinya dikenal dapat menurunkan kadar gula darah (Harianja, 2008).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa Biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) memiliki banyak sekali aktivitas farmakologik seperti antibakteri, antimikroba, sitotoksik, antiulcer, antifungal, anti-HIV, antiinflamasi, analgesik, antipiretik, hipoglikemik, dan penghambatan agregasi platelet (Bhurat et al., 2011).

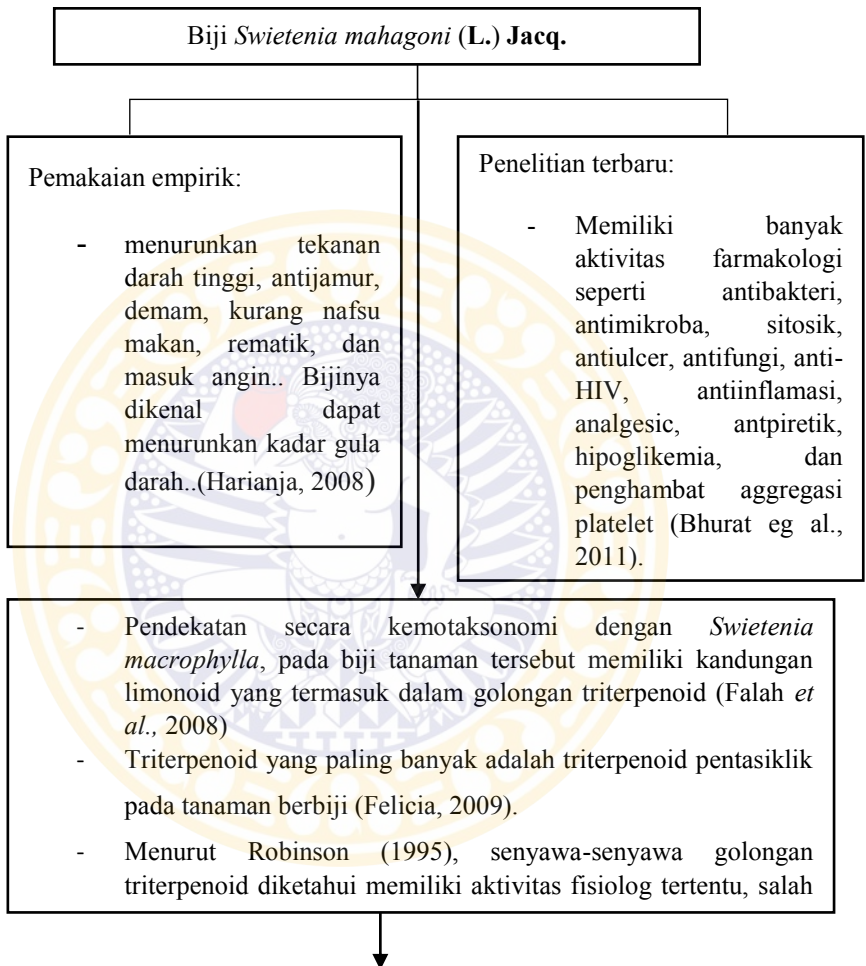
Menurut Saghal (2009), biji mahoni mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, Saponin, antrakuinon, dan Terpenoid. Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersusun atas molekul-molekul isoprena teroksigenasi. Senyawa ini banyak dihasilkan oleh tumbuhan pada getah dan vakuola selnya.

Terdapat pula pada sejumlah hewan, terutama serangga dan beberapa hewan laut.

Salah satu golongan terpenoid adalah triterpenoid. Triterpenoid merupakan senyawa kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena (Harborne, 1987). Senyawa tersebut dapat dijumpai pada bagian akar, batang, buah maupun biji tanaman. Triterpenoid yang paling banyak adalah triterpenoid pentasiklik pada tanaman berbiji (Felicia, 2009). Menurut Robinson (1995), senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiolog tertentu, salah satunya dapat mengatasi penyakit diabetes. Pendekatan secara kemotaksonomi dengan *Swietenia macrophylla*, pada biji tanaman tersebut memiliki kandungan limonoid yang termasuk dalam golongan triterpenoid (Falah *et al.*, 2008)

Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai biji mahoni yang memiliki beberapa aktivitas farmakologik serta penelitian yang menyatakan bahwa senyawa triterpenoid terbanyak pada tanaman berbiji, maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa triterpenoid pada biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.).

3.2. Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Skema Kerangka Konseptual.



Identifikasi dan isolasi senyawa triterpenoid biji *Swietenia mahagoni* (L.)
Jacq.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Alat dan Bahan

4.1.1. Bahan Tanaman

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji tumbuhan mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) yang diperoleh dari Batu, Jawa Timur

4.1.2. Bahan Kimia

1. *n*-heksana
2. Etil asetat
3. Etanol 96%
4. Serbuk silika gel 60 GF₂₅₄ Merck
5. Serbuk silika gel 60 Merck (0,063-0,200 mm)
6. Pelat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ Merck
7. Pelat kaca KLT silika gel 60 GF₂₅₄ Merck

4.1.3. Alat-alat

1. Neraca analitik
2. Mesin penggiling
3. Seperangkat alat maserasi
4. Alat-alat gelas (beker gelas, Erlenmeyer, gelas ukur, engaduk, dll)
5. Thermstatic Waer Bath RRC
6. Pendingin Lebach
7. Rotary Evaporator Buchi R-200
8. Lampu UV Camag 254 nm dan 365 nm

9. Seperangkat alat kromatografi cair vakum
10. Seperangkat alat kromatografi kolom
11. Vial
12. Perkin Elmer Spectrum One FT-IR Spectrometer

4.2. Cara Kerja

4.2.1. Penyiapan Bahan

Bahan yang digunakan adalah biji dari tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.). Biji digiling dengan alat penggilingan sehingga diperoleh serbuk kering.

4.2.2. Ekstraksi

Sebanyak 640 gram serbuk halus di maserasi dengan pelarut etanol 96% (1,5 L). Didiamkan selama 24 jam. Setelah didiamkan rendaman disaring dengan corong Buchner dengan dibantu oleh pompa vakum untuk mendapatkan filtratnya, kemudian filtrat diuapkan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental. Kemudian sisa pelarut yang tersisa pada ekstrak kental diuapkan, dengan cara diuapkan dalam oven 1x24 jam.

Ekstrak kental etanol 96 % di partisi cair-cair dengan air dan n-heksana sampai pelarut n-heksana tidak berwarna (jernih). Tahap selanjutnya ekstrak mahoni fase air tersebut di partisi lagi dengan etil asetat hingga pelarut etil asetat jernih hingga didapatkan filtrat mahoni dari etil asetat. Filtrat dari etil asetat diuapkan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental.

4.2.3. Pemisahan dengan Kromatografi Cair Vakum

Fase diam : Silika gel 60 G Merck

Fase gerak : Eluen dengan pembeding terpilih sesuai Tabel

4.1.

Cara kerja:

1. Penyiapan kolom

Ditimbang serbuk silika gel 60 G Merck, dimasukkan ke dalam kolom sedikit demi sedikit sampai dua pertiga tinggi kolom sambil pompa vakum dijalankan. Kemudian permukaan ditekan sampai terbentuk lapisan yang cukup padat. Selanjutnya pelarut dengan kepolaran rendah dituangkan pada permukaan dan pompa vakum dijalankan setelah pelarut terhisap sampai kering maka kolom telah siap untuk dipakai.

2. Penyiapan ekstrak kering

Ditimbang ekstrak sebanyak 10% dari Silika gel 60 G Merck yang digunakan untuk membuat kolom. Kemudian ditimbang silika gel 60 Merck (0,063-0,200 mm) sama banyak dengan jumlah ekstrak. Campurkan ekstrak dengan silika gel 60 sedikit demi sedikit kemudian di aduk sampai didapat ekstrak kering yang mudah mengalir. Selanjutnya dituangkan diatas

silika yang berada pada kolom dengan merata, kemudian ditutup dengan aluminium foil.

3. Eluasi

Dilakukan eluasi dengan kombinasi eluen, mulai dari perbandingan pelarut dengan sifat kepolaran yang rendah dan bertahap kepolaran ditingkatkan dengan cara mengubah perbandingan kombinasi pelarut. Fase gerak yang digunakan adalah *n*-heksana dan etil asetat dalam tabel 4.1

Tabel 4.1. Fase Gerak Kromatografi Cair Vakum.

Fraksi	Fase Gerak	Jumlah Perbandingan
1	<i>n</i> -heksana : etil asetat	100 : 0
2	<i>n</i> -heksana : etil asetat	90 : 10
3	<i>n</i> -heksana : etil asetat	80 : 20
4	<i>n</i> -heksana : etil asetat	70 : 30
5	<i>n</i> -heksana : etil asetat	60 : 40
6	<i>n</i> -heksana : etil asetat	50 : 50
7	<i>n</i> -heksana : etil asetat	40 : 60
8	<i>n</i> -heksana : etil asetat	30 : 70
9	<i>n</i> -heksana : etil asetat	20 : 80

10	<i>n</i> -heksana : etil asetat	10 : 90
11	<i>n</i> -heksana : etil asetat	0 : 100

4. Pengelompokan berdasarkan fraksi berdasarkan uji KLT

Pada tahap ini, fraksi dilakukan skrining terhadap senyawa triterpenoid dengan KLT, menggunakan fase gerak terpilih *n*-heksana : etil asetat = 4 : 1 dan penampakan noda Anisaldehyd H₂SO₄. Kemudian fraksi yang dihasilkan di gabung menjadi satu sesuai dengan pola noda yang sama (Adiwijaya, 2011).

4.2.4. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Fase diam : Serbuk silika gel 60 Merck (0,063-0,200 mm)

Fase gerak : Eluen dengan perbandingan terpilih (didapatkan melalui optimasi dengan KLT)

Cara kerja :

1. Ditimbang serbuk silika gel 60 Merck (0,063-0,200 mm) kering sebanyak 50 g. Disiapkan eluen terpilih sebanyak 3 kali dari jumlah silika

2. Fase diam dimasukkan dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan eluen kemudian dikocok selama 15 menit
3. Campuran silika gel dan eluen dituangkan ke dalam kolom. Eluen dituangkan kedalam kolom sampai penuh, kemudian kolom ditutup dengan aluminium, dibiarkan semalam.
4. Fraksi terpilih ditimbang, lalu dikeringkan dengan silika gel 60 (0,063-0,200 mm) dalam jumlah yang sama, aduk sampai kering dan homogen.
5. Eluen dialirkan sampai permukaannya 0,5 cm di atas permukaan silika gel. Fraksi yang telah dikeringkan dengan silika dituangkan di atas permukaan silika gel 60 Merk pada kolom. Lalu ditambahkan eluen kira-kira setinggi 3 cm. ditambahkan juga gel 60 (0,063-0,200 mm) kira-kira setinggi 2 cm.
6. Dituangkan fase gerak secara terus-menerus. Cairan ditampung dalam vial-vial, untuk penampungan pertama sebanyak 30 ml, kemudian selanjutnya ditampung sebanyak 1 ml tiap vial.
7. Dilakukan identifikasi terhadap subfraksi yang dihasilkan dengan menggunakan uji KLT dengan menggunakan penampakan noda Anisaldehyd H_2SO_4 . Kemudian dipilih subfraksi yang dikehendaki untuk kemudian diuapkan dan dilakukan pemisahan dengan KLT preparatif (Adiwijaya, 2011).

4.2.5. Uji Kemurnian Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis

Isolate dilarutkan dalam etil asetat. Disiapkan beberapa pelat KLT silika gel GF₂₅₄ Merck. Kemudian larutan isolat ditotolkan pada masing-masing pelat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ Merck. Masing-masing pelat KLT dieluasi dengan fase gerak yang berbeda, kemudian hasil eluasi di amati dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm, kemudian di semprot dengan penampak noda Anisaldehyd H₂SO₄. Kemurnian ditunjukkan apabila pada plat dihasilkan satu noda saja (Adiwijaya, 2011).

4.2.6. Uji Kemurnian Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis Bidimensional

Sedikit isolat dilarutkan dengan etil asetat, kemudian ditotol melalui pipa kapiler pada plat KLT silika gel GF₂₅₄ Merck dengan ukuran 10x10 cm sebagai fase diam. Plat dieluasi dengan fase gerak *n*-heksana : etil asetat = 7 : 3 hingga garis tanda, diangkat dan dikeringkan. Setelah itu, dilakukan eluasi dengan memutar arah plat KLT 90° dari posisi semula. Apabila setelah di semprot Anisaldehyd H₂SO₄ didapatkan satu noda, maka hasil isolasi dikatakan murni secara kromatografi lapis tipis (Adiwijaya, 2011).

4.3. Identifikasi Isolat

4.3.1. Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis

Hasil isolat yang didapat, kemudian dibandingkan dengan ekstrak pada pelat KLT. Keduanya ditotolkan pada satu pelat KLT silika gel GF₂₅₄ Merck sebagai fase diam dan fase gerak yang digunakan adalah *n*-heksana dan etil asetat = 4 : 1 dan penampakan

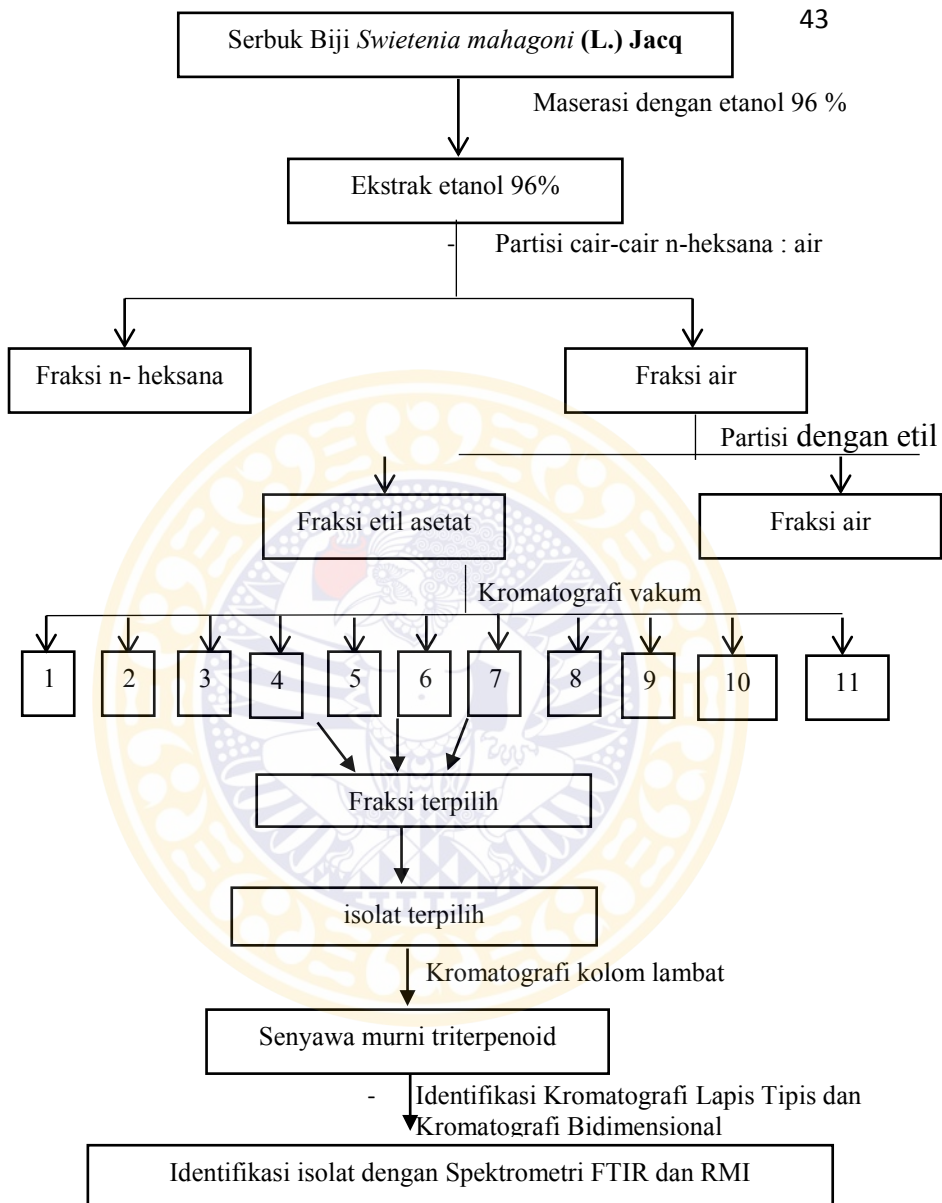
noda Liebermann Burchard. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kedudukan isolat dalam fraksi (Adiwijaya, 2011).

4.3.2. Identifikasi dengan Spektroskopi Infra Merah

. Sebanyak 1 mg zat isolat dicampur dengan KBr bebas air, kemudian digerus dalam lumping agate sampai homogen. Bila hasil pemisahan berupa cairan, maka digerus bersama minyak nuyol. Kemudian dibuat pellet dengan dicetak menggunakan tekanan tinggi dalam keadaan hampa udara. Kemudian dilihat serapan infra merah pada daerah $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dengan alat *infrared spectrophotometer* 735 B Perkin Elmer. Adanya puncak-puncak pada spektrogram dengan bilangan gelombang tertentu menunjukkan adanya gugus-gugus fungsi tertentu (Kusmulyati, 1990).

4.3.3. Identifikasi dengan Spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti (RMI)

Isolate terpilih yang akan diidentifikasi dilarutkan kedalam solven metanol D₄. Kemudian dibuat spektrum ¹H-RMI pada daerah geseran kimia (δ) = 0-8 ppm dan spektrum ¹³C-RMI pada daerah geseran kimia (δ) = 0-200 ppm lalu diamati letak maupun kedudukan pita yang terjadi



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1. Penyiapan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji tumbuhan mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) yang diperoleh dari Batu, Jawa Timur. Determinasi tanaman dilakukan oleh Lembaga Determinasi Tanaman di Kebun Raya Purwodadi. Penyiapan bahan dimulai dari pembelian biji sortasi dan penggilingan sampai dihasilkan serbuk kering. Hasil bahan tercantum pada Tabel 5.1



Gambar 5.1. Biji *Swietenia mahagonia* (L.) Jacq.

Tabel 5.1. Penyiapan Bahan Biji *Swietenia Mahagoni* (L) jacq.

Biji <i>Swietenia Mahagoni</i>	Berat
Biji kering	710 gram

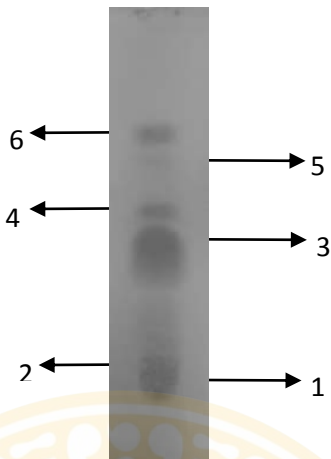
Serbuk biji	640 gram
-------------	----------

5.2. Pembuatan Ekstrak

Bahan baku simplisia biji *Swietenia Mahagoni* (L) jacq. yang digunakan 710 gram, kemudian dilakukan penggilingan diperoleh serbuk halus sebanyak 640 gram. Serbuk kering 640 gram di maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan jumlah total 5 L. Hasil remaserasi sebanyak 4 kali didapatkan maserat berwarna coklat kemerahan dan setelah diuapkan dengan rotavapor diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kemerahan sejumlah 49 gram.

Ekstrak kental etanol 96 % di partisi cair-cair dengan air dan *n*-heksana sampai pelarut *n*-heksana tidak berwarna (jernih). Tahap selanjutnya ekstrak mahoni pada fase air tersebut di partisi lagi dengan etil asetat hingga pelarut etil asetat jernih hingga didapatkan filtrat mahoni dari etil asetat. Filtrat dari etil asetat diuapkan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental etil asetat seberat 10,2 gram.

Ekstrak etil asetat yang telah didapatkan kemudian dilakukan pemeriksaan fitokimia untuk golongan tepenoid dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam pelat KLT silika gel 60 GF254 Merck dengan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (7:3) dengan menggunakan penampak noda anisaldehyda H₂SO₄, profil kromatografi dapat dilihat pada Gambar 5.2.



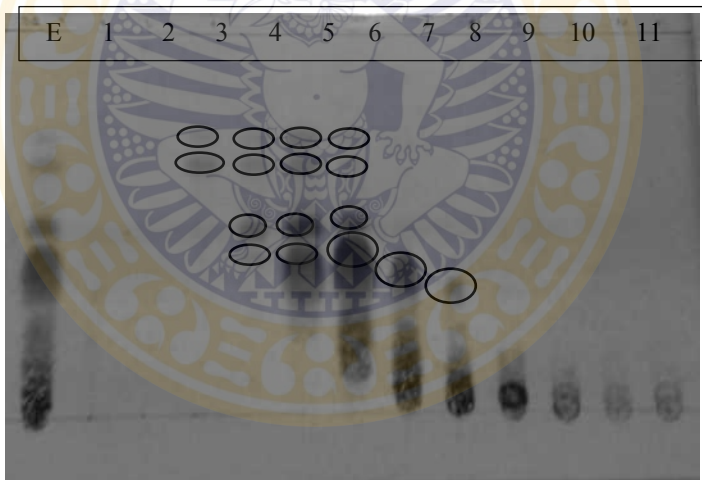
Gambar 5.2. Profil kromatografi lapis tipis dari ekstrak etil asetat dengan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (7:3), fase diam silika gel GF₂₅₄ Merck, dengan penampak noda anisaldehida H₂SO₄.

Tabel 5.2. Hasil KLT ekstrak etil asetat biji *Swietenia mahagoni* (L) Jacq.

No.	Rf noda	Warna
1.	0,08	Ungu
2.	0,15	Ungu
3.	0,43	Merah Ungu
4.	0,51	Merah Ungu
5.	0,63	Merah Ungu
6.	0,71	Merah Ungu

5.3. Fraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum

Sejumlah 7 gram ekstrak etil asetat dilakukan fraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan menggunakan eluasi gradient (*n*- heksana 100% sampai etil asetat 100%) dan fase diam serbuk silika gel 60 G Merck. Pada proses eluasi dilakukan dua kali dengan berat masing-masing 3,5 gram, dari hasil KCV tersebut didapatkan 11 fraksi yang selanjutnya dianalisis dengan KLT untuk melihat profil kromatografinya. Dari hasil kromatografi fraksi 4-6 mempunyai jumlah noda yang sama sehingga fraksi 4-6 digabung dan dinamakan fraksi 5 Kromatografi hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 5.4 dan 5.5. sedangkan analisis



jumlah noda dan perhitungan harga R_f hasil KLT tertera pada Tabel 5.3.

Gambar 5.3. Kromatografi lapis tipis 11 fraksi hasil KCV dengan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (7:3), fase diam kieselgel GF₂₅₄ Merck, dengan penampak noda anisaldehyd H₂SO₄.



Tabel 5.3. Kromatografi Lapis Tipis fraksi etil asetat hasil pemisahan Kromatografi Cair Vakum

No.	Fraksi	Berat (g)	Jumlah noda	Rf	Warna noda
1	<i>n</i> -heksana 100%	0,0095	-	-	-
2	<i>n</i> -heksana :etil asetat (90:10)	0.0297	-	-	-
3	<i>n</i> -heksana :etil asetat (80:20)	0.0560	2	0,71 0,69	Merah ungu Merah ungu
4	<i>n</i> -heksana :etil asetat (70:30)	1,2151	4	0,71 0,69	Merah ungu Merah ungu Ungu Ungu
5	<i>n</i> -heksana :etil asetat (60:40)			0,56 0,50	
6	<i>n</i> -heksana :etil asetat (50:50)				
7	<i>n</i> -heksana :etil asetat (40:60)	0,9981	3	0,34 0,19 0,17	Merah ungu Ungu Ungu
8	<i>n</i> -heksana :etil asetat (30:70)	1.2886	2	0,19 0,17	Ungu Ungu
9	<i>n</i> -heksana :etil asetat (20:80)	0.4723	1	0,17	Ungu
10	<i>n</i> -heksana :etil asetat (10:90)	0.1316	0	-	-
11	etil asetat (0:100)	0.5846	0	-	-

5.4. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

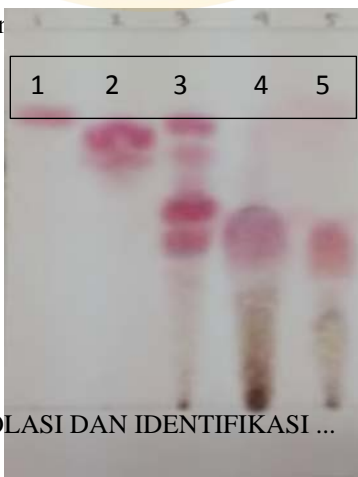
Fraksi 5 dari hasil KCV dipisahkan dengan kromatografi kolom berkapasitas 50 gram silika dimana berat fraksi 5 yang digunakan 500 mg. Fase gerak yang dipakai adalah n-heksana : etil asetat (4:1) dengan kecepatan penetasan 20 tetes permenit, ditampung sebanyak 20 tetes pada setiap vial dan dihasilkan 570 vial yang terbagi dalam lima fraksi seperti yang tertera pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4. Penimbangan hasil kromatografi kolom fraksi terpilih

Fraksi	Nomor vial	Berat (mg)
Sub Fraksi 5.1	5-40	6,8
Sub Fraksi 5.2	41- 70	7,2
Sub Fraksi 5.3	70- 248	29,0
Sub Fraksi 5.4	249- 369	101,7
Sub Fraksi 5.5	370-570	116,5

Untuk mer

ada ketujuh subfraksi maka dil



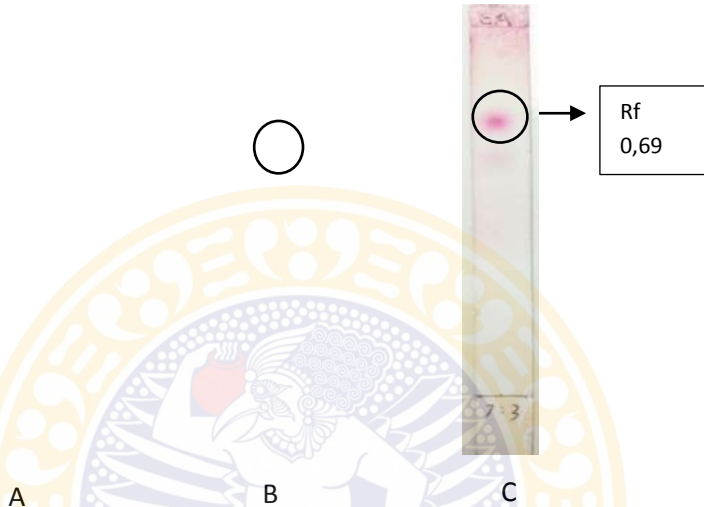
Gambar 5.4. Kromatogram KLT hasil fraksinasi fraksi terpilih dengan fase diam silika gel F254 dan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3) dengan penampak noda Anisaldehyd-H₂SO₄, angka-angka menunjukkan subfraksi.

Subfraksi 5.1 yang di peroleh sejumlah 6,8 mg dipilih untuk dilakukan uji selanjutnya dikarenakan menghasilkan noda tunggal.

5.5. Uji kemurniaan

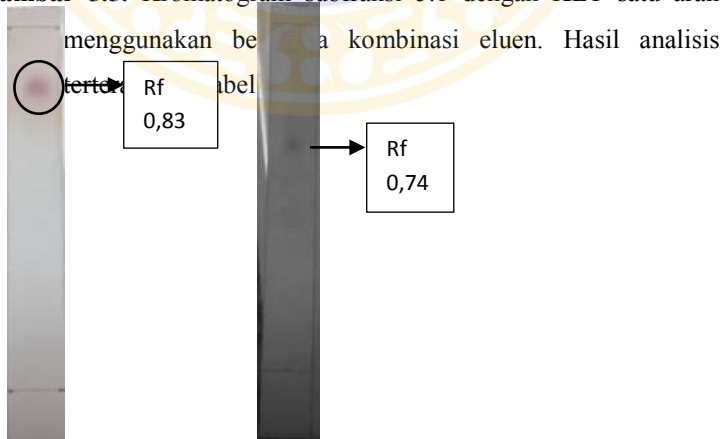
5.5.1. Kromatografi Lapis Tipis Satu Arah

Subfraksi 5.1 dilarutkan dalam metanol, kemudian ditotolkan pada tiga plat KLT silika gel 60 GF254 yang berbeda. Masing-



masing plat kemudian dieluasi dengan tiga eluen dengan polaritas yang berbeda, lalu plat disemprot dengan penampak noda Anisaldehyd-H₂SO₄ menghasilkan satu noda berwarna ungu kemerahan.

Gambar 5.5. Kromatogram subfraksi 5.1 dengan KLT satu arah



Tabel 5.5. Kromatogram subfraksi 5.1 dengan KLT satu arah menggunakan beberapa kombinasi pelarut

Kode	Fase Gerak	Jumlah Noda	Rf	Warna Noda
A	metanol : etil asetat (6:4)	1	0,83	Ungu Kemerahan
B	n-heksana: etil asetat (6:4)	1	0,74	Ungu Kemerahan
C	n-heksana : etil asetat (7:3)	1	0,69	Ungu Kemerahan

5.5.2. Kromatografi Lapis Tipis Bidimensional

KLT bidimensional dilakukan dengan menggunakan plat berukuran 10x10 cm dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3) dan eluasi dilakukan dua kali, setelah eluasi pertama selesai plat KLT diputar 90° kemudian dieluasi kembali dengan fase gerak yang sama. Setelah itu plat KLT diamati dengan penampak noda anisaldehyd H₂SO₄. Hasil yang dari identifikasi ini diperoleh satu noda tunggal berwarna merah keunguan sehingga dapat dikatakan



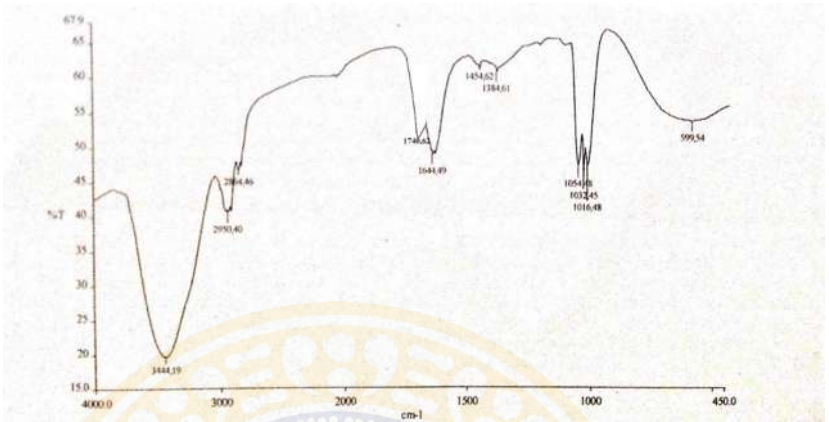
Gambar 5.7. Isolat 5.1 dari biji *Swietenia Mahagoni* (L) Jacq. , warna: putih kekuning, larut dalam metanol.

5.6. Spektrofotometri Infra Merah

Pada hasil Serapan terhadap spektrum infra merah isolat 5.1 dibandingkan dengan literatur senyawa swietenine E (Kadota *et al*, 1990). Sehingga didapat data seperti yang terlihat pada Tabel 5.6. spektrogram inframerah dari isolat dapat dilihat pada Gambar 5.8.

Tabel 5.6. Puncak serapan inframerah isolat dalam pellet KBr

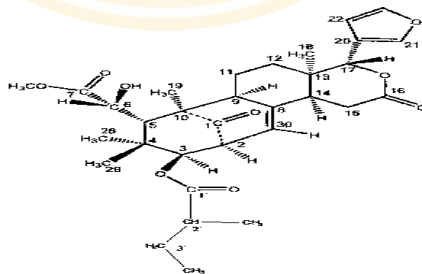
Bilangan Gelombang (cm^{-1}) isolate 5.1	Jenis Vibrasi
3444,19	Vibrasi ulur untuk gugus O-H
2950,40	Vibrasi ulur -C-H pada CH_3
2864,46	Vibrasi ulur -C-H pada CH_3
1740,62	Vibrasi ulur dari C=O
1644,49	Vibrasi ulur dari C=C non konjugasi
1454,62	Vibrasi ulur dari CH pada CH_2
1384,61	Vibrasi ulur CH pada CH_3
1054,48	Vibrasi ulur C-OH



Gambar 5.8. Spektrum Inframerah isolat 5.1 dalam pellet KBr pada bilangan gelombang 4000 sampai 450 cm^{-1}

5.7. Spektrofotometri Resonansi Magnetik Inti (RMI)

Pada hasil identifikasi isolat 5.1 dengan spektrofotometri RMI ^1H -RMI dan ^{13}C -RMI dilakukan perbandingan terhadap data literature ^1H -RMI dan ^{13}C -RMI senyawa swietenine E (Kadota *et al*, 1990) gambar 5.9, sehingga didapatkan data seperti pada tabel 5.9. Spektrum ^1H -RMI dapat dilihat pada gambar 5.10 sedangkan spektrum ^{13}C -RMI dapat dilihat pada gambar 5.11.



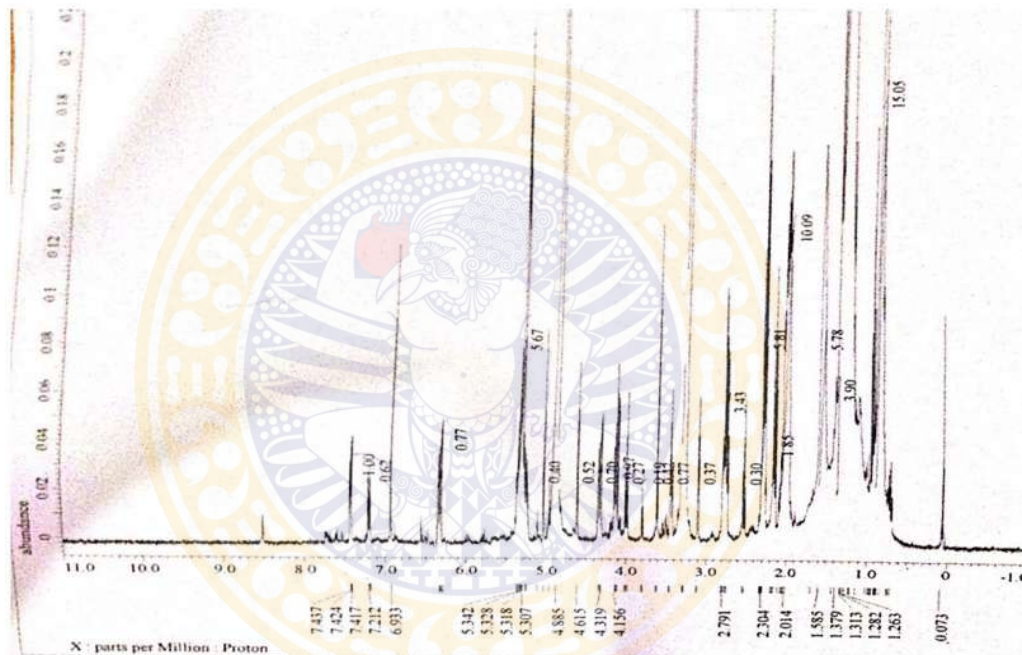
Gambar 5.9 Struktur dari senyawa swietenine E

Tabel 5.7. ^1H -RMI dan ^{13}C -RMI swietenine E dan isolat 5.1

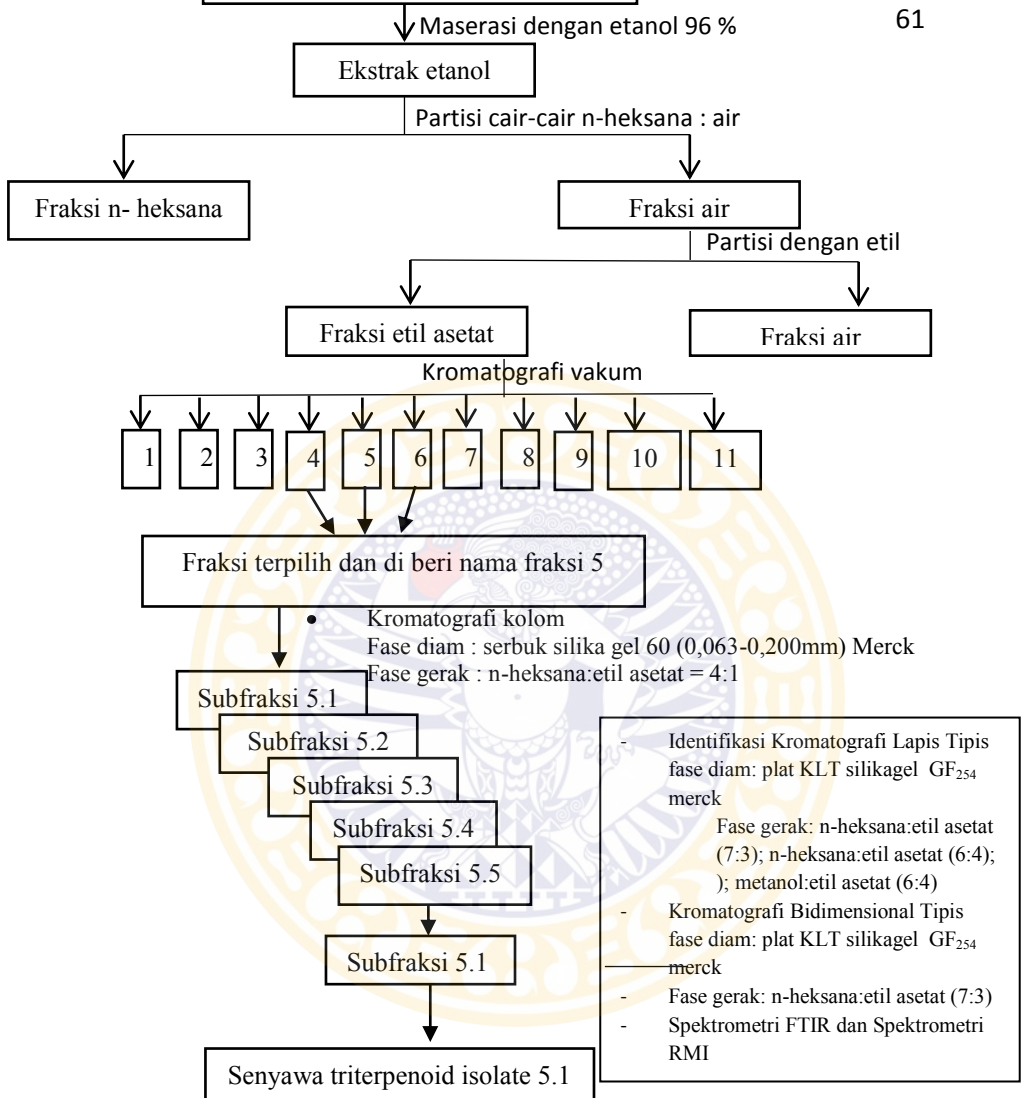
Swietenine E (Jeol,400MHz)			Isolat 5.1 (Jeol, 400MHz)	
Posisi	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	216,24		213,97	
2	48,93	3.49 (ddd, 9.5,7.5,2.5 Hz)	48,29	3.46 (m,1H)
3	78,23	4.63 (d, 9.5 Hz)	78,15	4.62 (s,1H)
4	39,14		39,12	
5	45,53	3.44 (br s)	47,02	3,62 (s)
6	72,77	4,55 (br s)	72,58	4.33 (dd, 1H, $J = 8.4,3.2$ Hz)
7	176,00		174,27	
8	138,52		134,02	
9	57,51	2.31 dd (13. 5,5,5)	58,12	2.30 (m,5H)
10	50,41		50,72	
11	21,23	1,79 (m)	21,12	1.59 (s,1H)
12	34,62	1.48 (m)	33,54	1.272 (d,3.9H, $J = 7.6$ Hz)
13	36,67		36,22	

14	45,12	2.27 (ddd,6,2, 1.5 Hz)	47,02	2.17 (t,2H)
15	29,66	2.88 dd (18 ,6 Hz)	29,01	2.79 (m,3H)
16	169,09		170,54	
17	77,17	5,60 (s)	77,01	5,29 -5,36 (m,5H)
20	121,22		123,10	
21	140,54	7.54 (dd, 1. 8, 1 Hz)	141,11	7.42 (m,1H)
22	109,24		109,24	
23	143,17	6.38 (dd, 1.8, 1 Hz)	143,92	6,41 (dd, 1H)
18	21,40	1.00 (s)	21,75	0.83- 0,99 (m,15H)
19	16,45	1.21 (s)	15,45	
28	23,08	1.12 d (6 Hz)	24,69	
29	22,77	0.86 (s)	22,43	
30	123,46	5,38 (dt, 7.5 ,1.5 Hz)	125,07	5,29 -5,36 (m,5H)
1`	175,65		174,27	
2`	40,69	2,45 sextet	39,98	
3`	26,21	1.79 (m)	26,80	1.79 (m, 2H)
2`-CH ₃	15,98	1.11 (s)	13,13	0.83- 0,99 (m,15H)

3°CH_3	11,40	1.47 ddd (12.5,6.5,6)	11,23	1,37 s
COOMe		3.74 s		3.80 (d,0.19H, $J= 4.8$ Hz)



Gambar 5.10. Spektrum ^1H -RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol pada pergeseran kimia 0-8 ppm



Gambar 5.12. Skema hasil penelitian dari biji *Swietenia mahagoni*

(L.) Jacq.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1. Penyiapan dan Ekstraksi Bahan

Biji mahoni yang telah dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung bertujuan agar senyawa yang terkandung di dalam biji mahoni tidak mudah rusak, kemudian ekstraksi senyawa kandungan dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode Maserasi menggunakan 640 gram serbuk halus biji *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol 96% dipilih karena dapat menarik seluruh senyawa yang ada di biji mahoni selain itu, ekstrak yang didapatkan lebih kental sehingga mempermudah untuk diidentifikasi. Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut etanol 96% selama tiga hari pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya, pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian pelarut etanol 96% setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Cara maserasi dipilih karena menggunakan alat-alat yang sederhana serta menggunakan suhu kamar atau dengan kata lain tidak

menggunakan suhu panas sehingga menghindari senyawa-senyawa didalamnya terdegradasi oleh panas. Dari proses ekstraksi maserasi ini, didapatkan berat ekstrak kental 49 gram.

Sebanyak 49 gram Ekstrak etanol 96% kemudian dilakukan partisi cair-cair dengan air dan n-heksana. pelarut n-heksana dipilih bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa non-polar atau lemak yang berada pada ekstrak etanol karena sifat dari pelarut n-heksana adalah non polar sehingga senyawa-senyawa yang memiliki afinitas yang sama dengan n-heksana akan mudah tertarik. Fase air dilakukan partisi lagi menggunakan etil asetat kemudian hasil filtrat dari fase etil asetat dipekatkan dan didapatkan ekstrak kental etil asetat 10,2 gram. Hasil ekstrak etil asetat di uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk melihat profil dari ekstrak kental etil asetat. Fase diam digunakan kieselgel GF₂₅₄ Merck dengan fase gerak n-heksana:etil asetat (7:3) dan sebagai penampak noda anisaldehyd H₂SO₄, hasil dari plat KLT dapat dilihat gambar 5.2. Pada identifikasi senyawa triterpenoid dengan Plat KLT menunjukkan bahwa dalam ekstrak etil asetat biji mahoni terkandung senyawa triterpenoid.

6.2. Pemisahan

Ekstrak etil asetat sebanyak 7,0 gram dilakukan pemisahan dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV), fase diam menggunakan serbuk silika gel 60 G Merck dengan eluasi gradien dari pelarut yang kepolarannya rendah (n-heksana) sampai lebih tinggi (etil asetat) dengan penurunan konsentrasi n-heksana masing-masing 10% didapatkan sebelas fraksi (fraksi 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10, dan 11). KCV dipilih karena memerlukan waktu yang relatif singkat pada proses

pemisahan dan membutuhkan biaya yang lebih murah. Semua fraksi yang diperoleh kemudian diuji dengan KLT dengan fase diam plat silika gel 60 GF₂₅₄ Merck, fase gerak n-heksana : etil asetat (4:1) serta penampak noda anisaldehyd H₂SO₄. Hasil yang didapatkan pada fraksi 1 dan 2 tidak terdapat noda, pada fraksi 3 memberikan dua noda berwarna merah keunguan yang menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, fraksi 4,5, dan 6 terdapat 4 noda berwarna merah ungu yang seragam yang menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, fraksi 7,8,9 memberikan noda dengan warna beragam, sedangkan pada fraksi 10 dan 11 tidak terdapat noda. Dari sebelas fraksi yang ada, dipilih fraksi 4,5, dan 6 (fraksi n-heksana : etil asetat = 70% : 30% sampai n-heksana : etil asetat = 50% : 50%) karena mengandung cukup banyak senyawa (terdapat 4 noda yang terpisah baik dan menunjukkan senyawa triterpenoid) yang dapat digunakan sebagai pilihan pada proses isolasi selanjutnya dan juga memiliki jumlah fraksi yang cukup banyak 1,2151 gram (gambar 5.4,5.5 dan tabel 5.4). Fraksi terpilih kemudian dinamakan fraksi 5.

Selanjutnya fraksi 5 sebanyak 500 mg dilakukan pemisahan dengan Kromatografi Kolom dengan menggunakan fase diam serbuk silika gel 60 Merck (0,063-0,200 mm) seberat 50,0 gram dan fase gerak yang terpilih n-heksana : etil asetat (4:1), dengan penampak noda anisaldehyd H₂SO₄. Fase gerak tersebut berdasarkan hasil optimasi dengan KLT, yang memberikan pemisahan yang baik. Eluen awal ditampung 30 ml dengan kecepatan 1 tetes/detik, kemudian selanjutnya di tampung sebanyak 1 mL. tujuan penampungan subfraksi dengan kecepatan 1 tetes/detik adalah

memberikan senyawa terabsorpsi pada fase diam berdasarkan polaritasnya serta dilepaskan kembali, sehingga pemisahan di fraksi 5 memisah secara maksimal. Subfraksi yang di peroleh kemudian di kelompokkan berdasarkan profil kromatogramnya, sehingga diperoleh lima macam subfraksi, yaitu subfraksi 5-40 (5.1), 41- 70 (5.2), 70- 248 (5.3), 249- 369 (5.4), 370-570 (5.5).

Profil kromatografi dari kelima subfraksi, terlihat bahwa subfraksi 5.1 memberikan satu noda berwarna ungu kemerahan yang menunjukkan kemungkinan senyawa pada subfraksi 5.1 menghasilkan senyawa tunggal. Selanjutnya subfraksi 5.1 dilakukan uji KLT dengan berbagai polaritas dan KLT bidimensional. Untuk uji KLT fase gerak yang digunakan antara lain n-heksana : etil asetat (7:3); n-heksana : etil asetat (6:4); metanol : etil asetat (6:4), dan hasilnya adalah 1 noda berwarna ungu kemerahan dengan harga Rf berturut-turut 0,69 ; 0,74 ; 0,83 dengan penampak noda anisaldehyd H_2SO_4 . Sementara itu untuk KLT bidimensional dengan penampak noda anisaldehyd H_2SO_4 , fase gerak yang digunakan n-heksana : etil asetat (7:3) menghasilkan 1 noda berwarna merah keunguan dengan nilai Rf 0,69. Penggunaan metode tersebut untuk memastikan kemurnian isolat dan dari Uji KLT dan KLT bidimensional diatas menunjukkan hasil yang cukup bagus yang menghasilkan satu noda berwarna ungu kemerahan yang mengindikasikan bahwa subfraksi 5.1 tersebut murni secara kromatografi lapis tipis, selanjutnya subfraksi 5.1 dinamakan isolat 5.1.

6.3. Elusidasi Struktur

Hasil analisis spektrometer inframerah terhadap isolat 5.1 (tabel 5.8) menunjukkan serapan yang melebar pada daerah bilangan gelombang 3444,19 cm^{-1} yang diduga adalah serapan dari gugus OH (3200-3500 cm^{-1}). Dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 1054,48 cm^{-1} yang menunjukkan adanya uluran C-OH (990-1060 cm^{-1}) memiliki kemiripan dengan swietenine E. Pada bilangan gelombang 2950,40 dan 2864,46 cm^{-1} menunjukkan adanya getaran ulur pada CH pada CH_3 . Hal ini juga diperkuat dengan bilangan gelombang 1384,61 cm^{-1} yang menunjukkan adanya getaran ulur dari C-H pada CH_3 (1150-1400 cm^{-1}). Pita serapan pada bilangan gelombang 1454,62 cm^{-1} menunjukkan getaran ulur CH pada CH_2 (1445-1485 cm^{-1}). Pita serapan pada bilangan gelombang 1740,62 cm^{-1} menunjukkan getaran ulur dari gugus C=O (karbonil) dugaan ini diperkuat dengan adanya gugus C=O pada swietenine E. Pita serapan pada bilangan 1644,49 cm^{-1} menunjukkan getaran ulur dari C=C non konjugasi (1620-1680 cm^{-1}). Hal ini menunjukkan bahwa pada isolat terdapat ikatan rangkap. Pada swietenine E juga terdapat ikatan tangkap C=C, dari hasil interpretasi data diatas diduga bahwa isolat 5.1 mempunyai gugus yang sama dengan swietenine E, yaitu mengandung gugus hidroksi (OH), alkali (CH_2 dan CH_3), karbonil (C=O), dan alkenil (C=C).

Pada analisis spektrum ^1H -RMI dari isolat 5.1 menunjukkan bahwa isolat belum murni dikarenakan terdapat sinyal-sinyal dari senyawa lain dengan intensitas yang lebih rendah, namun ada beberapa data ^1H -RMI yang dapat diinterpretasikan dengan literatur

swietenin E. Pada data $^1\text{H-RMI}$, isolat terdapat gugus OH menyebabkan munculnya peak pada δH 4,33 ppm. Sinyal tersebut diduga berasal dari gugus $-\text{CH}-\text{OH}$, dimana pergeseran kimia terjadi karena hidrogen pada gugus ini menjadi kurang terperisai (deshielded) akibat berikatan dengan atom O yang bersifat elektronegatif, sedangkan pada literatur juga terdapat gugus OH pada δH 4,55 (H-6). Pada peak δH 5,32 dan δH 7,21 ppm menunjukkan adanya gugus alkena yang berikatan dengan gugus C rangkap, yang memiliki kemiripan pada literature di δH 5,38 (H-30) dan δH 7,54 (H-21). Selain itu, pada isolat muncul peak pada daerah δH 0,83 sampai 0,99 (m,15H) yang diduga berasal dari gugus metil, namun pada spektra RMI sinyal tampak menumpuk dengan sinyal-sinyal lain, sehingga terdapat 15 proton yang diduga terdapat 5 gugus metil, pada literatur terdapat 5 gugus metil δH 0,86 (H-29); δH 1,00 (H-18); δH 1,12 (H-28); δH 1,21 (H-19); δH 1,11 (2°-CH_3). Pada peak di daerah δH 5,29 sampai 5,36 (m,15H) diduga terdapat gugus alkena, namun dalam spektra sinyal tampak menumpuk dengan sinyal-sinyal lain, pada literatur terdapat sinyal pada δH 5,60 (H-17) dan δH 5,32 (H-30) yang memiliki kemiripan pada geseran kimia di hasil RMI isolat.

Analisi spektrum $^{13}\text{C-RMI}$ dari isolat 5.1 menunjukkan adanya 34 atom karbon (Gambar 5.10) penyusun isolat 5.1 dan nilai dari pergeseran kimia adanya kemiripan dengan spektrum $^{13}\text{C-RMI}$ pada swietenine E. Pada spektrum $^{13}\text{C-RMI}$ dari literature swietenine menunjukkan bahwa adanya metil bisa dilihat δH 11,40 (3°CH_3); δH 15,98 (2°CH_3); δH 22,77 (C-29); δH 23,08 (C-28); 1,45 (C-19); δH 21,40

(C-18) sedangkan pada isolat memiliki kemiripan pada pergeseran kimia yang hampir sama δ 11,23 ; δ 13,13 ; δ 22,43 ; δ 24,69; 15,45; δ 21,75. Pada swietenine E terdapat gugus alkena δ 123,46 (C-30); δ 109,24 (C-22); δ 140,54 (C-21) sedangkan memiliki kemiripan pada isolat 5.1 δ 125,07 ; δ 109,24; δ 141,11. Pada swietenine E menunjukkan adanya gugus hidroksil pada δ 72,77 (C-6), sedangkan pada isolat terdapat pergeseran yang hampir sama pada δ 72,58. Selain itu, swietenine E juga terdapat gugus keton pada δ 216,24 (C-1); δ 176,00 (C-7); δ 169,09 (C-16); δ 175,65 (C-1') sedangkan pada isolat menunjukkan adanya kemiripan yakni δ 213,97; δ 174,27; δ 170,54; δ 174,27. Pada spektrum ^{13}C -RMI perlu dilakukan dept 45,90,135 untuk mengetahui posisi dari CH , CH_2 , CH_3 , dan karbon yang tidak berikatan dengan atom H, namun dikarenakan keterbatasan sampel isolat, tidak dapat dilakukan dept dan dua dimensi dalam RMI sehingga hanya membandingkan dengan hasil ^{13}C -RMI literatur swietenine E. Dari hasil elusidasi struktur tersebut diduga bahwa pada isolat 5.1 mempunyai kemiripan dengan swietenine yang merupakan salah satu dari golongan triterpenoid.

BAB VII

SARAN DAN KESIMPULAN

7.1. Kesimpulan

1. Penentuan struktur kimia dengan menggunakan spektrometer FTIR, ^1H -RMI, dan ^{13}C -RMI menunjukkan bahwa diduga isolat 5.1 memiliki kemiripan dengan senyawa golongan triterpenoid yakni swietenine E.

7.2. Saran

1. Perlu dilakukan penentuan berat molekul isolate 5.1 menggunakan spektrometer massa.
2. Perlu dilakukan dua dimensi Resonansi magnetik inti (RMI) untuk mengetahui kolerasi antara proton dan karbon.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiwijaya, Mohammad., 2011. Isolasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak n-heksana Umbi Bidara Upas (Pemisahan Noda Rf 0,26 Hasil KLT n-Heksana : Etil Asetat = 80:20). Skripsi. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Akter, M., Easmin, H. T., Yeunus, M. M., Iftekhar, A., Mahfuzur, R. M., & Ashikur, R. S. (2011). *Cytotoxic, Thrombolytic and Membrane Stabilizing Activities of Swietenia mahagoni (L.) Jacq. Bark Extract*.
- Ahuja, S., 2003. *Chromatography and Separation Science*. California : Academic Press, p.4
- Bhurat *et al.*, 2011 . *Swietenia mahagoni Linn. – A Phytopharmacological Review*. *Asian J. Pharm. Res.* 1: 1-4.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Ekstrak*. Jakarta: Departemen Kesehatan, p.1-12
- Falah, Suzuki, & Katayama. (2008). *Chemical Constituents from Swietenia macrophylla Bark and Their Antioxidant Activity*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11.
- Fassenden, R. J., & Fassenden, J. S. (1968). *Kimia Organik Jilid 3*. (P. Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Penerj.) jakarta: Penerbit Erlangga.
- Feliciana. 2009. *Efek Neuroterapi Ekstrak Tnamanan Anting-anting (Acalypha indica L.) Terhadap Syaraf M. Gastroknemius Katak*. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gholid, I., & Rohman, A. (2013). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R. J. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Bandung: Penerbit ITB
- Halabalaki, M., Vougiannopoulou, K., Mikros, E., & Skaltsounis, A. L. (2014). *Recent advances and new strategies in the RMI-based*.
- Hamzari. 2008. *Identifikasi tanaman obat-obatan yang dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar hutan tabo-tabo*. *Jurnal Hutan Dan Masyarakat*. Tadulako. 3(2) 111-234 p
- Harborne, J.B. 1987. *Metoda Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Terjemahan

- Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harianja, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Cetakan Kelima. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M. dan Marston, A. (1995). *Cara Kromatografi Preparatif*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Bandung : Penerbit ITB. Halaman 9-11, 33
- Khare, D., Pradeep, H.R., Kumar, K.K., Hari Venkatesh, K.R., Jyothi, T. 2012. Herbal Drug *Swietenia mahagoni* Jacq: A Review. *Global J.Res.Med. Plants & Indigen. Med. Ayurvedic Medicinal College. Vol. 1. No.10*, p.557-567.
- Kusmuliyati. 1990. *Skrining Fitokimia dan Isolasi Triterpen dari Herbal Euphoria prosata* . Atit. **Skripsi**. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Kadota, S., Marpaung, L., Kikuchi, T., & Ekimoto, H. (1990). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin. Constituents of the Seeds of Swietenia mahagoni JACQ. I. : Isolation, Structures, and 1H- and 13C-Nuclear Magnetic Resonance Signal Assignments of New Tetranortriterpenoids Related to Swietenine and Swietenolide*, **639-651**.
- LI, D. D., CHEN, J.-h., CHEN, Q., LI, G.-w., CHEN, J., YUE, J.-m., . . . JIANG, H.-l.(2005).Swietenia mahagony extract shows agonistic activity to PPAR γ and gives ameliorative effects on diabetic db/db miceSwietenia mahagony extract shows agonistic activity to PPAR γ and gives ameliorative effects on diabetic db/db mice, 220-222.
- Martawijaya, A., Kartasujana, I., Kadir, K., dan Prawira, S.A., 1981, *Atlas Kayu Indonesia*, Jilid 1, Balai Penelitian Hasil Hutan, Bogor.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Cetakan Pertama. Tejemahan Koensoemardiyah dan Sudarto. New York: Ellis Horwood Limited.
- Mulja M., and Suharman., 1995. *Analisis Instrumental*, Surabaya Airlangga University Press,p.24-30;224
- Nurmaasari, Martina Dian, 2007. Isolat Kandungan Senyawa Daun *Sauropus androgynous* (L.) Merr. (Isolat Fraksi n-heksana : Etil Asetat = 80:20). *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

- Orwa C, A Mutua, Kindt R , Jamnadass R, S Anthony. 2009 **Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0** (<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.es.asp>)
- Pinder, A.R. 1960. *The Chemistry of Terpenes*. London: Chapman and Hall Ltd.
- Puspasari, Dian. *Kamus Lengkap Kimia*. Jakarta: Dwi Media Press, 2010
- Preed, V.R., Watson, R.R., and Patel, V.B., 2011. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. United Kingdom: Academic Press. P. 205-211.
- Robinon, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Keenam. Bandung: Penerbit ITB.
- Rahmn Md Atiqur., Pollobi Akther., Debasis R. *Antinociceptive And Neuropharmacological Activities Of Swietenia Mahagoni Jacq. J Pharm Pharmacology*. 2010; **(3) : 225-234**.
- Sari, LO.R.K., 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, **Vol. III (1) p. 1-7**
- Septyangsih, Dyah. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*
- Shagal *et al.*, 2009. *Phytochemical and antimicrobial activity of Swietenia mahagoni crude methanolic seed extract*. *Jurnal*. Penang: Universiti Sains Malaysia
- Silalahi R. 2001. *Isolasi Senyawa Steroid dari Daun Mahoni (Swietenia mahogani (L.) Jacq.) dengan Menggunakan Pelarut n-Heksana*. **Skripsi**. Medan: Jurusan Kimia FMIPA USU.
- Silverstein, R.M., and Webster, F.X., 1998, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6th ed. New York: John Willey and Sons Inc
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., and Kiemle, D.J. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7th Edition. John Wiley & Sons. New York. Page 72-108
- Wibowo, H., 2013, Sintesis Tetrahidroksigamavunon-5 dari Starting Material Heksagamavunon 5 dengan Katalis Paladium


Karbon Melalui Reaksi Hidrogenasi, **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Wingrove, A. (1981). *Organic Chemistry*. New York: Harper & Row Publisher.


Yazid, Estien. *Kimia Fisika untuk Paramedis*. Yogyakarta: Andi, 2005.



LAMPIRAN



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
 Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
 Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
 website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
 No. 07 U3/IPH.06/HM/VI/2016

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Aris Yulita Aprianto, NIM : 051211133038

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 23 Mei 2016, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II, tahun 1965, halaman 118 nama ilmiahnya adalah :


Genus : *Swietenia*
 Species : *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVI adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnolopsida*
 Subclass : *Rosidae*
 Ordo : *Sapindales*
 Family : *Meliaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

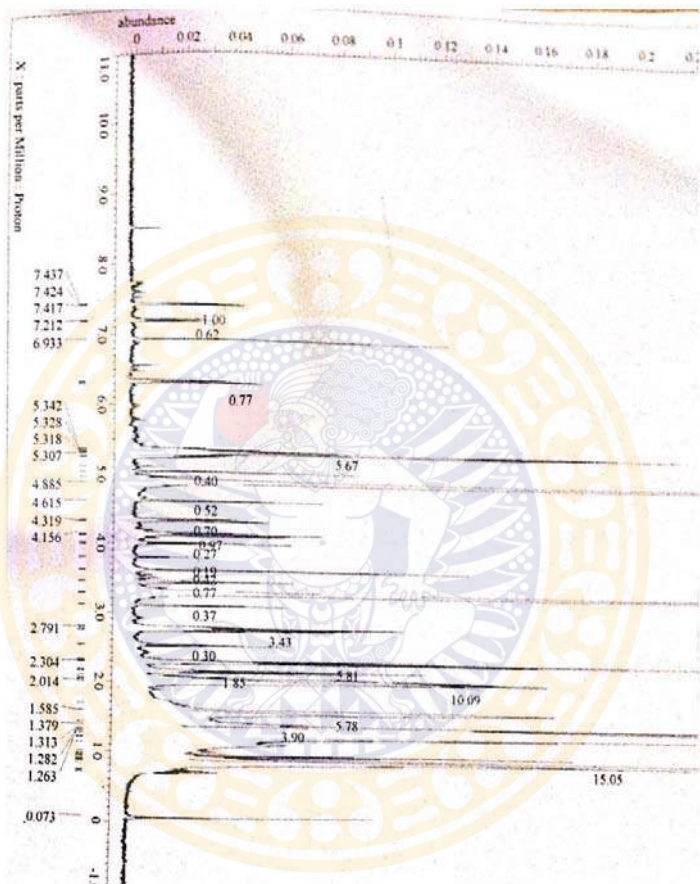
Purwodadi, 30 Mei 2016
 An. Kepala
 Kepala Seksi Explorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deben Madana, S.Hut, M.Si

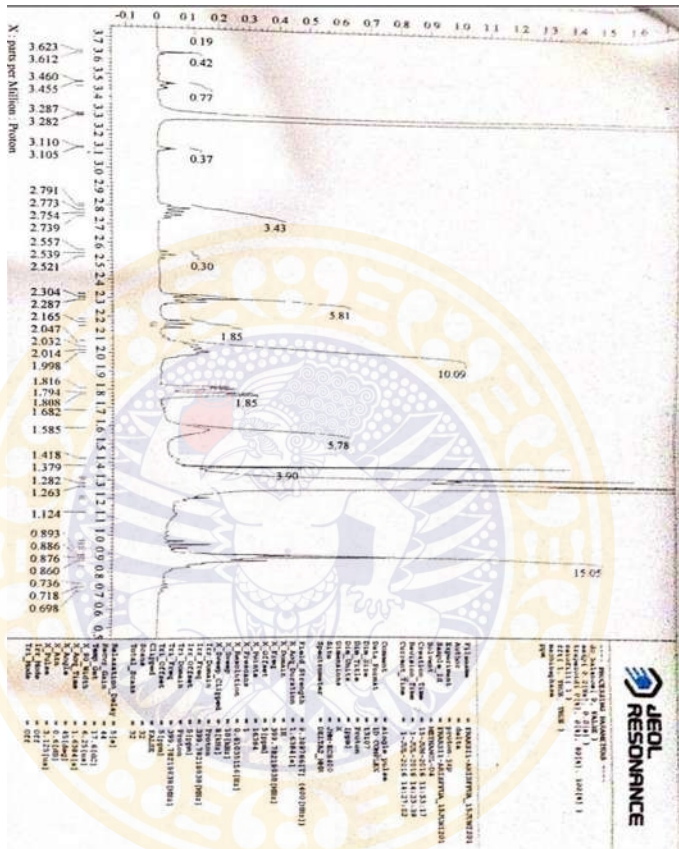
Lampiran 1: identifikasi tanaman *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.



Lampiran 2: Spektrum ¹H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut metanol dan

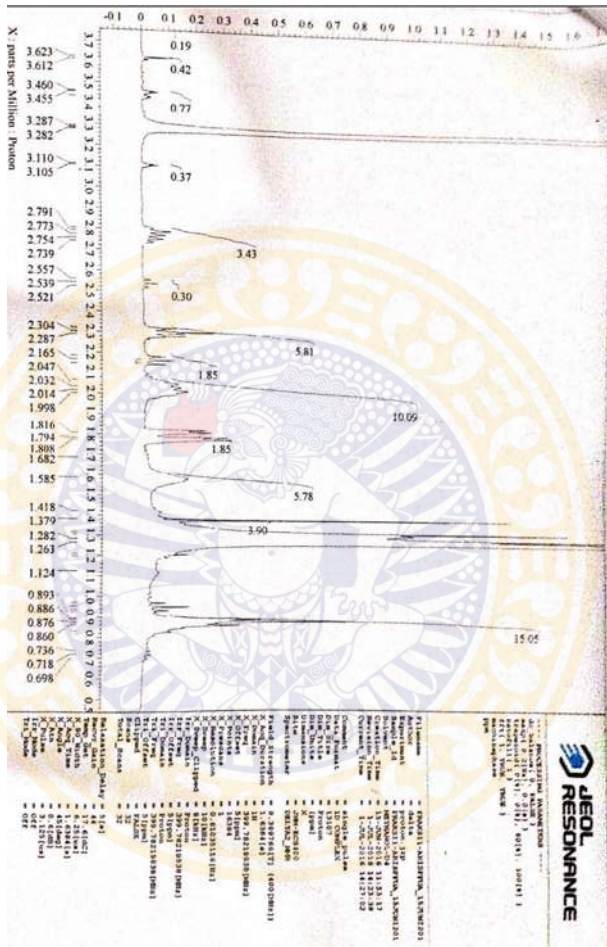
standar internal TMS

Lampiran 3: Perbesaran spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut



metanol dan standar internal TMS

Lampiran 4: Perbesaran spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut



metanol dan standar internal TMS

Lampiran 5: Perbesaran spektrum 1H-RMI isolat 5.1 dalam pelarut

