

ISOLASI SENYAWA AKTIF “BRINE SHRIMPS” AKAR *Garciniacowa* Roxb FRAKSI ETIL ASETAT

Afdhil Arel¹⁾, Junuarty Jubahar²⁾, Dachriyanus^{2*)}

¹⁾Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang, 25217

²⁾Universitas Andalas Padang, 25000

¹⁾Afdhil.arel@yahoo.com, ²⁾junuartyjubahar@yahoo.com, ²⁾dachriyanus@yahoo.com

15-07-2016, Reviewed: 19-07- 2016, Accepted 23-07-2016

<https://doi.org/10.22216/jit.2017.v11i1.525>

Abstract

Flavonoid compound has been isolated as yellow crystalline which has melting point at 218-220°C from root of GarciniacowaRoxb. The compound was isolated by using column chromatography and characteristic with ultra violet spectroscopy, infrared spectroscopy, mass, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR. The indicated this compound was hegoflavon (B). Anticancer activities of aethylacetat fraction and hegoflavon (B) using “Brine Shrimps” gave LC₅₀ 37,325 µg/ml and 1,95 µg/ml.

Keyword : Brine shrimps, Flavonoid, Garcinia cowa, hegoflavone, isolasi

Abstrak

Telah diisolasi senyawa flavonoid berupa kristal berwarna kuning muda dengan jarak leleh 218-220°C dari akar Garcinia cowa Roxb. Senyawa flavonoid yang diisolasi menggunakan kromatografi kolom dan dikarakterisasi dengan spektroskopi ultra violet, inframerah, massa, ¹H-RMI dan ¹³C-RMI, diketahui senyawa yang didapat adalah hegoflavon (B). Pengujian aktifitas antikanker fraksi etil asetat dan senyawa hegoflavon (B) dengan metode “Brine Shrimps” memberikan LC₅₀ sebesar 37,325 µg/ml dan 1,95 µg/ml.

Kata kunci : Brine shrimps, Flavonoid, Garcinia cowa, hegoflavone, isolasi

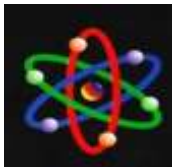
PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan obat tradisional yang mengandung metabolit sekunder yang telah digunakan oleh masyarakat adalah *Garcinia cowa* Roxb family Guttiferae, selain untuk obat tumbuhan ini digunakan juga sebagai rempah–rempah dan kosmetik. Penelitian tentang *Garciniacowa* terutama ditujukan pada aktifitas biologi diantaranya aktifitas antimikroba, anti kanker, antioksidan dan antiinflamasi (Wahyuni, 2003; Dianita, 2003; Dachriyanus, 2005). Di Sumatera Barat tumbuhan ini dikenal dengan nama kandis juga ditemukan tumbuh di daerah

tropis seperti India, Thailand, Malaysia dan Burma (Dachriyanus, 2005).

Dari spesies ini telah diisolasi senyawa turunan xanthon, yaitu cowanin, cowanol, cowaxanthone, 1,3,6-trihidroxy-7-metoxo-2-5-bis(3-methyl-2-butenyl) Xanthone, rubraxanthon (Patallung, 1994; Wahyuni, 2004). Senyawa-senyawa turunan xanthon dapat menghambat pertumbuhan mikro organisme dan menghambat pertumbuhan sel kanker yang terdapat pada manusia (F. Lohezic-Le Devehat, 2002).

Hasil isolasi yang telah dilakukan pada daun *G. cowa* didapatkan senyawa 3β-friedelinol (golongan triterpenoid). Secara tradisional daun tumbuhan ini



digunakan sebagai sayuran dan tonikum, sedangkan pada kulit batang *G. cowa* didapatkan senyawa rubraxanthon yang berkhasiat sebagai anti piretik dalam bentuk infusa dan buah kering digunakan untuk mengobati disentri. Batang tumbuhan ini juga digunakan sebagai pestisida dan larvasida nyamuk (Wahyuni, 2004, Maikhuri, 1997, Husni, 2006).

Berdasarkan informasi di atas, maka dicoba untuk mengisolasi dari ekstrak akar *G. cowa* dan dilanjutkan dengan uji toksisitas menggunakan metoda "Brine Shrimps". Pengujian ini berupa skrining awal terhadap pencarian senyawa anti kanker, hasil uji toksisitas merupakan korelasi positif dengan potensi sebagai anti kanker. Sifat sitotoksik dari senyawa dilihat terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach. Diantara senyawa yang telah berhasil diisolasi yang dinyatakan aktif dengan metoda "Brine shrimps" adalah mangostin dan rubraxanton.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan untuk pengerjaan isolasi berupa peralatan destilasi, peralatan rotary evaporator, erlenmeyer dengan berbagai ukuran, gelas kimia dengan berbagai ukuran, plat tetes, corong, penangas air, lemari pengering, lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm (*Betrachter Camag*[®]), kolom kromatografi dengan berbagai ukuran, bejana kromatografi (chamber), spatel, pipet kapiler, botol, vial, spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*[®]), spektrofotometer IR Biorad/Digilab FTS-45, spektrometer massa Fison VG Autospee (70 Ev), spektrometer Varian Inova ¹³C RMI pada 125 Mhz, spektrometer Varian Inova ¹H

RMI pada 500 Mhz, dan Melting Point Apparatus SMP 1 (*StuartScientific*).

Alat yang digunakan pada pengerjaan uji aktifitas "Brine Shrimps" antara lain : Wadah pembiakan larva, aerasi, pipet mikro, pipet tetes dan vial yang telah dikalibrasi.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk pengerjaan isolasi adalah ekstrak kental akar tanaman *Garcinia cowa*, *n*-heksan, diklorometan (DCM), metanol, etil asetat, silika gel BDH ukuran 40-63 µm dan plat silika 60 GF 254 (*Merck*[®]).

Bahan-bahan yang digunakan untuk pengerjaan uji aktifitas "Brine Shrimps" antara lain : Metanol, Dimetil sulfoksida (DMSO), air laut, Kista udang *Artemia salina*.

Prosedur Penelitian

Pengujian toksisitas fraksi etil asetat dengan metoda "Brine Shrimps" terhadap larva udang *Artemia salina* Leach (Sam, 1993, Mayer, 1982)

a. Perencanaan dosis

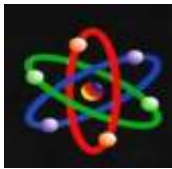
Dosis dari ekstrak *Garcinia cowa* adalah 10 µg/ml, 100 µg/ml dan 1000 µg/ml.

b. Pembenihan hewan

Hewan yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Larva ini diperoleh dengan cara menetas telur *Artemia salina* selama 48 jam pada wadah pembiakan sebelum dilakukan uji penetasan. Pembiakan dilakukan dengan cara merendam telur dengan air laut secukupnya pada wadah gelap. Setelah menetas larva akan berenang ke sisi yang terang.

c. Persiapan vial

Siapkan satu seri vial yang terdiri dari 9 vial uji dan 3 vial kontrol yang telah dikalibrasi 5 ml. Vial uji ditandai dengan konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml



dan 1000 $\mu\text{g/ml}$ masing-masing sebanyak 3 vial.

d. Persiapan Fraksi Uji

Persiapan larutan induk dilakukan dengan menimbang 40 mg fraksi yang telah dikentalkan dengan menguapkan pelarutnya. Kemudian dilarutkan dalam 4 ml metanol. Larutan induk ini dimasukkan ke dalam vial uji masing-masing sebanyak 500 μL , 50 μL , dan 5 μL untuk konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ dan 10 $\mu\text{g/ml}$. Sebagai kontrol disiapkan 3 vial yang tidak diisi larutan uji. Selanjutnya vial berisi larutan uji dibiarkan sampai pelarut menguap, lalu tambahkan 50 μL DMSO ke dalam vial uji dan vial kontrol. Setelah semua sampel larut tambahkan air laut sedikit. Jangan sampai batas kalibrasi. Kemudian dimasukkan larva udang *A. salina*.

e. Uji toksisitas dengan menghitung LC_{50}

Pengujian dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva udang yang baru menetas ke dalam vial uji dan vial kontrol. Kemudian volumenya dicukupkan dengan air laut sampai 5 ml. Letakkan ditempat yang cukup cahaya. Setelah 24 jam hitung jumlah larva yang hidup, sehingga jumlah larva yang mati dapat dihitung. Tentukan nilai LC_{50} dari *G. cowa* dengan menggunakan analisa probit.

Selanjutnya ekstrak akar *G. cowa* tersebut diisolasi. Sebelum dilakukan isolasi terlebih dahulu ditentukan fase gerak yang cocok untuk pemisahan akar *G.cowa*. Kemudian dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan noda dilihat dengan panjang gelombang 254 nm.

Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Aktif “Brine Shrimps”

Fraksi aktif “Brine Shrimps” yaitu fraksi etil asetat dimonitor dengan kromatografi lapis tipis menggunakan

fasa diam silika gel 60 Gf 254 dengan fasa gerak *n*-heksana-etil asetat (8:2), lalu dilihat dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm sebagai penampak noda sehingga didapatkan pemisahan yang jelas.

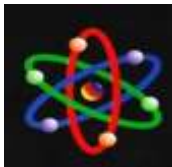
Fraksi etil asetat sebanyak 10 gram dikromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel BDH (40-63 μm) (merck[®]) sebanyak 200 gram (20 x dari berat sampel). Silika gel BDH (40-63 μm) disuspensikan dengan menggunakan pelarut *n*-heksana diaduk homogen kemudian dimasukkan ke dalam kromatografi kolom yang ujungnya telah diberi kapas. Sampel disiapkan secara preadsorpsi dengan melarutkannya dalam metanol dan ditambah silika gel BDH (40-63 μm) sebanyak 10 gram, pelarut diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sampai kering lalu dikerok dengan spatel. Hasil preadsorpsi dimasukkan kedalam kromatografi kolom lalu dilusi dengan menggunakan fasa gerak yang kepolarannya ditingkatkan secara bertahap.

Pengujian Toksisitas Senyawa Hasil Isolasi Dengan Metoda “Brine Shrimps”

Senyawa murni hasil isolasi yang didapatkan dari fraksi etil asetat yaitu senyawa A dilakukan uji toksisitasnya dengan menggunakan metoda “Brine Shrimps”. Caranya sama dengan pengujian toksisitas fraksi dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$.

Karakteristik dan Penentuan Struktur Senyawa hasil isolasi

Karakteristik senyawa meliputi pemeriksaan organoleptis, sifat fisika dan



kimia senyawa hasil isolasi. Penentuan struktur senyawa hasil isolasi menggunakan alat spektrofotometer UV-Visibel, spektrofotometer Infra merah, spektrometer ^{13}C RMI, spektrometer ^1H RMI, spektrometer Massa

a. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan Organoleptis meliputi pemeriksaan warna, bentuk dan bau.

b. Pemeriksaan Sifat Fisika

Pemeriksaan Sifat Fisika meliputi kelarutan dan jarak leleh. Senyawa A larut dalam etil asetat, metanol dan tidak larut dalam n-heksana. Penentuan jarak leleh dilakukan dengan menggunakan alat "Melting Point Apparatus SMP 1" (Stuart Scientific) dengan cara : beberapa butir senyawa dimasukkan kedalam pipa kapiler kemudian masukkan kedalam alat. Atur kenaikan suhunya, kemudian suhu dicatat saat senyawa mulai meleleh sampai semua senyawa meleleh.

c. Pemeriksaan Sifat Kimia

Pemeriksaan sifat kimia menggunakan beberapa pereaksi kimia berupa larutan besi (III) klorida 1%, NaOH 5% dan logam Mg dalam suasana asam klorida (sianidin test). Senyawa A dilarutkan dalam methanol lalu ditambahkan pereaksi kimia kemudian diamati perubahan warna yang terjadi.

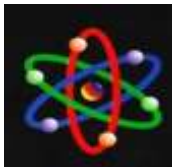
d. Penentuan Struktur Senyawa A (Field, 1996, Dachriyanus, 2004, Silverstein, 1991)

Dilakukan dengan menggunakan spektrometer Infra Merah (IR), Massa (MS), ^1H -RMI, ^{13}C -RMI.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil fraksi etil asetat dari akar *Garcinia cowa* didapatkan sebanyak 153,5028 gram.

2. Pemeriksaan toksisitas "Brine Shrimps" fraksi etil asetat didapatkan toksisitas LC_{50} nya 37,325 $\mu\text{g/ml}$
3. Hasil isolasi fraksi etil asetat (10 gram) diperoleh senyawa murni A berbentuk kristal yang berwarna kuning sebanyak 0,031 gram, jarak leleh 218-220 $^{\circ}\text{C}$ yang larut dalam etil asetat dan metanol. Tidak larut dalam n-heksana.
4. Pemeriksaan toksisitas "Brine Shrimps" senyawa A didapatkan toksisitas LC_{50} 1,95 $\mu\text{g/ml}$
5. Pemeriksaan senyawa A dengan berbagai pereaksi warna menunjukkan warna hijau dengan besi (III) klorida 1%, warna kuning intensif dengan natrium hidroksida 5% dan warna merah dengan logam Mg dalam suasana asam klorida (sianidin test)
6. Hasil Kromatografi kertas (Kkt) dua arah senyawa A menggunakan pengembang I Butanol : Asam asetat : Air (4:1:5) memberikan Rf 0,94 dan pengembang II Asam asetat 15% memberikan harga Rf 0,44.
7. Dari data spektrum UV senyawa A memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 333 nm dan 282 nm.
8. Pemeriksaan spektrum Infra merah senyawa A memperlihatkan adanya serapan kuat pada bilangan gelombang 3369 cm^{-1} , 2922 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} , 1599 cm^{-1} , 1367 cm^{-1} , 1257 cm^{-1} .
9. Pemeriksaan spektrum ^{13}C -RMI senyawa A dengan pelarut CD_3OD menunjukkan adanya 30 atom C yang terdiri dari 11 buah atom C tertier yaitu pada pergeseran kimia 50,9127 ppm; 82,7993 ppm; 96,5775 ppm; 97,5694 ppm; 99,3483; 114,2587 ppm; 115,6631 ppm; 116,4124 ppm; 116,9657 ppm; 120,0465 ppm; 120,6093 ppm; 129,3655 ppm dan



129,9187 ppm, 1 buah atom C sekunder yaitu pada pergeseran kimia 54,8997 ppm dan 18 buah atom C kuartener yaitu pada pergeseran kimia 102,1244 ppm; 103,4784 ppm; 105,0431 ppm; 116,4124 ppm; 116,9657 ppm; 123,4902 ppm; 130,5868 ppm; 146,9927 ppm; 151,1133 ppm; 157,4944 ppm; 158,6963 ppm; 162,6738 ppm; 163,4845 ppm; 164,9439 ppm; 165,9072 ppm; 168,3586 ppm; 183,9824 ppm; 197,9465 ppm.

10. Pemeriksaan spektrum ^1H -RMI senyawa A dalam pelarut CD_3OD menunjukkan adanya 13 pergeseran atom H. Pada pergeseran 7,3065 ppm; 7,2906 ppm; 7,3542 ppm; 6,5236 ppm; 5,6204 ppm; 7,2888 ppm; 7,1030 ppm; 6,4209 ppm; 6,0531 ppm; 6,6299 ppm; 6,9190 ppm; 5,7493 ppm, 4,6254 ppm.
11. Pemeriksaan spektrum massa senyawa A dalam pelarut CD_3OD menunjukkan m/z 558,5 dengan rumus molekul $\text{C}_{30}\text{H}_{19}\text{O}_{11}$.

Pembahasan

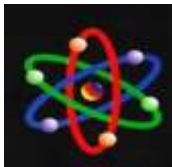
Isolasi senyawa aktif "Brine Shrimps" dari fraksi etil asetat akar *Garcinia cowa* dilakukan dengan memekatkan fraksi dengan Rotary Evaporator sehingga didapat ekstrak dari fraksi etil asetat. Kemudian dilakukan uji toksisitas dengan metoda "Brine Shrimps".

Hewan percobaan yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach karena harganya murah, mudah didapat dan tidak memerlukan lingkungan aseptis (Sam, 1993, Mayer, 1982). Larva diperoleh dengan menetasakan telur selama 48 jam. Untuk melarutkan fraksi ekstrak dan senyawa murni digunakan pelarut metanol karena melarutkan hampir semua senyawa dan

mudah menguap. Pelarut harus menguap sempurna agar tidak mengganggu pengujian toksisitas. Penambahan DMSO kedalam vial uji bertujuan untuk melarutkan fraksi ekstrak dan senyawa murni yang sukar larut dalam air laut dan sampel dapat berdistribusi merata. DMSO yang ditambahkan adalah sebanyak 50 μl karena jika lebih dari 50 μl , DMSO dapat menyebabkan kematian pada larva udang. Penambahan DMSO pada vial kontrol adalah untuk menyamakan perlakuan oleh kontrol dengan vial uji terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Toksisitas suatu ekstrak tumbuhan terhadap larva udang dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} - nya. Apabila harga $\text{LC}_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ maka ekstrak dikatakan aktif (Mayer, 1982). Maka dalam percobaan ini konsentrasi ekstrak yang digunakan mulai 1000 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ dan 10 $\mu\text{g/ml}$. Hasil pengujian didapatkan LC_{50} dari fraksi etil asetat adalah 37,325 $\mu\text{g/ml}$, yang kecil dari LC_{50} teori, yang arti kata ekstrak etil asetat merupakan ekstrak yang aktif terhadap "Brine Shrimps".

Fraksi aktif etil asetat selanjutnya dikromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel BDH (40-63 μm) (Merck[®]) dan fase gerak *n*-heksana, etil asetat dan metanol dengan sistem SGP (Step Gradient Polarity) yaitu dengan menggunakan kombinasi pelarut yang kepolarannya ditingkatkan secara bertahap sehingga didapatkan pemisahan yang baik lalu dimonitor dengan kromatografi lapis tipis dan noda dilihat dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm. Fraksi aktif etil asetat dikromatografi kolom hingga didapat satu noda pada kromatografi lapis tipis.



Selanjutnya direkristalisasi dengan menggunakan campuran pelarut *n*-heksana dan etil asetat sehingga diperoleh senyawa murni yang telah menunjukkan satu noda pada kromatografi lapis tipis. Dari fraksi etil asetat ini didapatkan senyawa murni yaitu senyawa A berupa kristal kuning yang dimurnikan dengan cara rekristalisasi menggunakan *n*-heksana dan etil asetat.

Senyawa A tersebut dilakukan uji toksisitas dengan metoda "Brine Shrimps". Konsentrasi yang digunakan 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml, sebab untuk senyawa murni $LC_{50} < 200$ µg/ml. Sehingga didapatkan LC_{50} nya 1,95 µg/ml. Maka senyawa A merupakan senyawa yang aktif terhadap "Brine Shrimps".

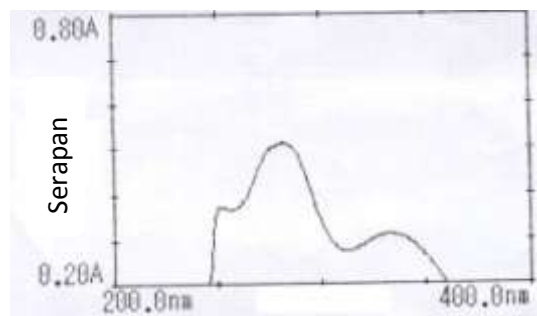
Kemudian dilakukan karakterisasi senyawa A. Pada pemeriksaan jarak leleh senyawa A menggunakan "Melting Point Apparatus SMP 1" (Stuart scientific) diketahui bahwa senyawa ini memiliki jarak leleh 218-220°C. Nilai ini menunjukkan bahwa senyawa A telah murni karena range jarak lelehnya yang sempit. Pemeriksaan senyawa A menggunakan reaksi kimia memberikan warna hijau dengan larutan besi (III) klorida 1% yang menunjukkan bahwa senyawa A merupakan senyawa golongan fenolik, dengan pereaksi larutan natrium hidoksida 5% memberikan warna kuning yang menyala dan dengan logam Mg dalam HCl memberikan warna merah menunjukkan senyawa A adalah senyawa flavonoid.

Untuk penentuan senyawa tersebut golongan flavonoid digunakan metoda kromatografi kertas dua arah (Harbourne, 1987, Harborne, 1994). Kromatografi kertas dua arah menggunakan dua kali pengembangan. Pengembang pertama butanol:asam asetat:air (BAA) (4:1:5) memberikan Rf

0,94 dan pengembang kedua asam asetat 15% memberikan Rf 0,44. Dari pola kromatogram yang terbentuk diduga senyawa A adalah suatu aglikon flavanon.

Penentuan struktur senyawa aktif "Brine Shrimps" dari hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan kromatografi kertas, spektrometer infra merah (IR), resonansi magnetik inti (RMI), spektrum massa (MS) dan spektrofotometer UV-Vis.

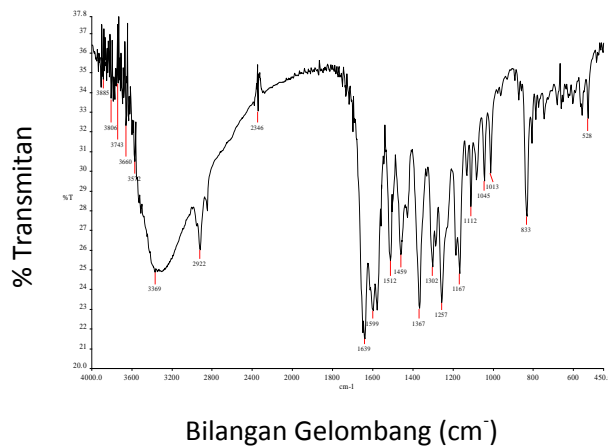
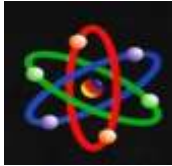
Pemeriksaan spektroskopi Ultraviolet-Visibel digunakan untuk menunjukkan panjang gelombang maksimum dari senyawa, juga bisa untuk menunjukkan kerangka dasar flavonoid dari suatu senyawa dimana suatu flavonoid mempunyai dua puncak maksimum yaitu pita II (240-285 nm) dan pita I (350-550 nm). Senyawa A dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 333 nm dan 282 nm



Panjang Gelombang (nm)

Tabel. Data spektrum Ultraviolet Senyawa A

Pelarut	λ maks (nm)	Abs
Metanol	333	0.3115
	282	0.5139



Pemeriksaan spektrum Inframerah bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang dikandung senyawa tersebut. Senyawa A menunjukkan adanya gugus OH pada bilangan gelombang 3369 cm^{-1} , gugus C-H aromatis pada panjang gelombang 2922 cm^{-1} , gugus C=O pada bilangan gelombang 1639 cm^{-1} , gugus C=C pada panjang gelombang 1599 cm^{-1} , gugus lentur C-H aromatis pada panjang gelombang 1367 cm^{-1} dan gugus C-O-C pada panjang gelombang 1257 cm^{-1}

Tabel. Hasil pemeriksaan spektrum Inframerah senyawa A

Bilangan gelombang (cm^{-1})		Keterangan
Senyawa	Teori	
3369	3750-3000	OH Bebas
2922	3300-2900	C-H aromatis
1639	1900-1650	C=C
1599	1675-1500	Lentur C-H aromatis
1367	1475-1300	C-O-C
1257	1300-1000	

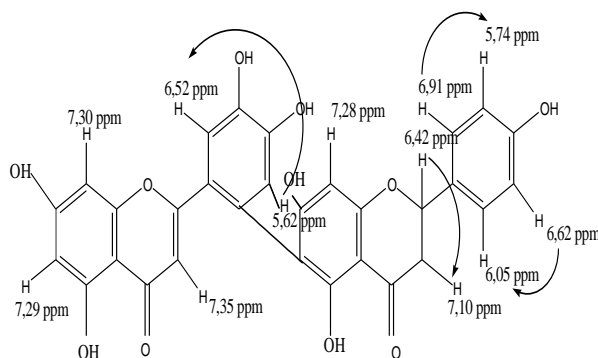
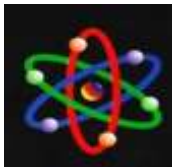
Untuk memastikan berapa banyak proton yang dimiliki senyawa, maka dilihat spektrum ^1H -RMI senyawa A didalam pelarut CD_3OD terlihat adanya 13 buah sinyal muncul pada pergeseran kimia 7,305 ppm (s), 7,2906 ppm (s), 7,3542 (s), 6,9190 ppm (d), 6,6299 ppm (d), 6,5407 ppm (d), 6,4209 ppm (t), 6,0531 ppm (d), 5,9779 ppm (d), 5,7493 ppm (d), 5,6204 ppm (d), 7,1030 ppm (d), dan 4,6254 ppm (s) (Lampiran 7 dan 8).

Sinyal singlet pada pergeseran kimia 4,6254 ppm diduga berasal dari gugus OH fenol. Sinyal doublet muncul pada pergeseran kimia 5,7493 ppm yang berarti proton ini bertetangga dengan satu proton pada pergeseran kimia 6,9190 ppm. Pada pergeseran kimia 6,6299 ppm juga terdapat sinyal doublet yang bertetangga dengan satu proton pada pergeseran kimia 6,0531 ppm.

Pada pergeseran kimia 5,6204 ppm terdapat sinyal doublet yang menunjukkan bahwa proton ini diduga terkopling dengan proton pada pergeseran kimia 6,5236 ppm secara para yang masih dalam lingkungan kimia yang sama.

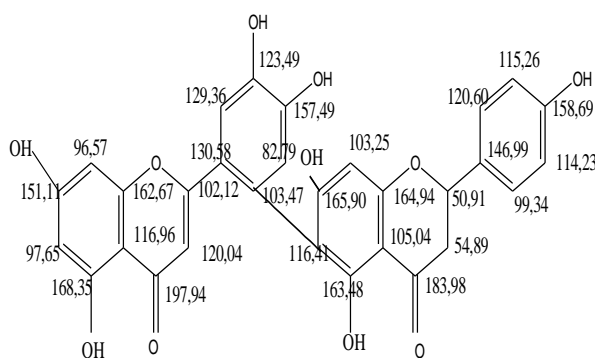
Sinyal triplet muncul pada pergeseran kimia 6,4209 ppm diduga proton ini bertetangga dengan dua buah proton pada pergeseran kimia 7,1030 ppm.

Sinyal singlet muncul pada pergeseran kimiA 7,3065 ppm, 7,2906 ppm, 7,3542 ppm, 6,5236 ppm dan 7,2888 ppm.



Gambar. Kopling antara atom H dengan atom H

Dari spektrum ^{13}C -RMI senyawa A didalam pelarut CD_3OD memperlihatkan adanya 30 buah atom karbon, 18 diantaranya adalah atom C kuartener, 11 buah atom C tertier dan 1 buah atom C sekunder. Dengan adanya gugus karbonil yang terletak pada pergeseran kimia 183,9824 ppm dan 197,9465 ppm.



GambarPosisi atom C berdasarkan pergeseran kimianya

Setelah menganalisa data spektrum diatas dan dibandingkan dengan literatur, senyawa A mempunyai pergeseran kimia yang hampir sama dengan pergeseran kimia Hegoflavone (B) yang merupakan golongan biflavonoid (Harborne, 1994) bukan golongan xanthone.

Untuk membedakan antara flavonoid dengan xanthone, dapat dilihat dari spektrum ultraviolet yang memberikan dua puncak (pita). Dari senyawa A terdapat pita I pada panjang gelombang 330 nm dan pita II pada panjang gelombang 282 nm. Sedangkan golongan xanthone hanya memberikan satu puncak (pita).

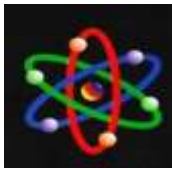
Kerangka dasar dari senyawa A adalah flavon dan flavanon. Pita I dari flavon terdapat antara panjang gelombang 310–350 nm dan pita II antara panjang gelombang 250–280 nm. Pada flavanon pita I terdapat antara panjang gelombang 300–330 nm dan pita II antara panjang gelombang 275–295 nm (Markham, 1988).

KESIMPULAN

1. Fraksi etil asetat merupakan fraksi yang aktif terhadap toksisitas "Brine Shrimps" dengan nilai LC_{50} 37,325 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
2. Dari fraksi aktif etil asetat diperoleh senyawa A seberat 0,031 gram berupa kristal berwarna kuning dengan jarak leleh 218-220°C dan harga LC_{50} 1,95 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
3. Senyawa A merupakan senyawa yang aktif terhadap toksisitas "Brine Shrimps"
4. Berdasarkan data spektrometer diduga bahwa senyawa A adalah Hegoflavone (B) dengan rumus molekul $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$

DAFTAR PUSTAKA

- Dachriyanus, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Edisi I, Andalas University Press, 2004.



- Dachriyanus, Oktima, W., Stanlas, J., 1-7-
dihidroksi xanton, Senyawa Sitotoksik dari Kulit Batang Garcinia griffitti T. Anders. Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam, 14 (1), 2005, 17-21.
- Dianita, R., *Isolasi Senyawa Aktif Antimikroba dari Kulit Batang Garcinia cowa Roxb*, Skripsi Sarjana Farmasi Universitas Andalas, Padang, 2003.
- F. Lohezic-Le Devehat., A. Bakhtiar., C. Bezivin., M. Amoros., J. Boutee., *Antiviral and cytotoxic Activities of some Indonesia Plant, Fitoterapia*, 73 (2002), 400-405.
- Field, L. D., S. Sternhell, and J. R. Kalman,
“Organic Structure from Spectra”, 2nd ed., John Willey and Sons, England, 1996.
- Harborne, J. B., *The Flavonoid Advances in Research Since 1986*, Chapman and Hall, London, New York, 1994.
- Harbourne, J. B., *Metoda Fitokimia*, Ed. II., diterjemahkan oleh Kosasih Padmanatan dan Iwang Soedino, ITB, Bandung, 1987.
- Husni, E., Dachriyanus, Fitriani, I., *Isolasi Senyawa Utama Fraksi Aktif Brine Shrimps dari daun Garcinia cowa Roxb*, Jurnal Farmasi FMIPA Universitas Andalas dan STIFI YP, vol 9 no 1, Padang.
- Maikhuri, R. K. and A. K. Gangwar,
Ethnobiological Notes on The Khasi and Garo Tribes of Meghalaya, North East India, Phitochemystery, 45 (6), 1997, 1299-1301.
- Markham, K. R., *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh K. Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 1988
- Mayer, B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols, and J. L. Mclaughlin, *Brine Shrimps : “A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent”*, J. of Medical Plant Research Planta Medica, 45, 1982, 31-34.
- Patallung, P., Thongtheeraparp, W., Wiriyaichitra P., Taylor W.C., *Xanthone of Garcinia cowa*, Planta Med., (4), 1994.
- Sam, T. W., *Toxicity Testing Using The Brine Shrimps : Artemia Salina* In S. M. Cllgate and R. J. Molyneux., *Bioactive Natural Product : Detection Isolation and Structural*, CRC Press, Florida, 1993, 441-456.
- Silverstein, R. M., G. C. Bassler and T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5th Ed, John Willey and Sons, New York, 1991.



Wahyuni, F., S., *Chemical and Biological Activity Studies of Garcinia Spp*, Internasional Seminar on Natural Products, Toward a Concert Efford in The Development of Bioaktif Compounds, Malaysia, 2003.

Wahyuni F.S., Lindsay T.B, Dachriyanus, Roza D, Junuarty J, Noerdin H.L, Melvin V.S, *A New Ring – Reduced Tetraprenyltoluquinone and A Prenylated Xanthone from Garciniacowa*, Aust.J.Chem, 2004.

Whitmore, T. C., *Tree Flora of Malaya*, A *Manual for Foresters* , Vol. 2, Longman Group Limited, London, 1973.