

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

1. Pemeriksaan kandungan kimia kulit batang asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, dan fenolik. (Lampiran 1, Hal. 38)
2. Dari 2 kg sampel kulit batang kering asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) didapatkan ekstrak kental heksana sebanyak 20,3 gram.
3. Dari isolasi terhadap 20 gram ekstrak heksana diperoleh senyawa AK1.
  - a. Hasil pengamatan organoleptis senyawa berbentuk kristal, berwarna kuning muda, memiliki bau khas. (Lampiran 1, Hal. 39)
  - b. Senyawa AK1 diperoleh sebanyak 100,3 mg dan memiliki jarak leleh 136 – 138°C. (Lampiran 1, Hal. 39)
  - c. Ekstrak heksana 20,3 gram yang diperoleh dari 2000 gram serbuk kulit batang asam kandis dengan rendemen 1,015 %. (Lampiran 2, Hal. 45)
  - d. Senyawa AK1 100,3 mg yang diperoleh dari 20 gram ekstrak heksana kulit batang asam kandis dengan rendemen 0,501 %. (Lampiran 2, Hal. 45)
  - e. Senyawa AK1 larut dalam pelarut heksana, etil asetat, diklorometana, dan metanol. (Lampiran 1, Hal. 39)
  - f. Hasil pemeriksaan profil KLT menggunakan plat silika gel 60, dengan eluen heksana:etil asetat (4:1) menunjukkan bahwa senyawa AK1 memiliki satu noda dengan  $R_f = 0,56$  (Lampiran 1, Hal. 40)

- g. Pemeriksaan spektrum UV senyawa AK1 dalam pelarut metanol memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 241,40 nm (Abs=0,159). (Lampiran 1, Hal. 42)
- h. Pemeriksaan data spektrum IR senyawa AK1 menunjukkan serapan yang kuat pada daerah bilangan  $3353,96\text{ cm}^{-1}$ ,  $2928,24\text{ cm}^{-1}$ ,  $1645,49\text{ cm}^{-1}$ ,  $1576,57\text{ cm}^{-1}$ ,  $1427,99\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1294,22\text{ cm}^{-1}$ . (Lampiran 1, Hal. 43)
- i. Pemeriksaan data spectrum  $^1\text{H-NMR}$  dengan pelarut aseton. (Lampiran 1, Gambar 7)

#### 4.2 Pembahasan

Penelitian dimulai dengan mengambil sampel di daerah Batu Busuk, Limau Manis, Padang. Sampel yang diambil berupa kulit batang asam kandis sebanyak 5 kg. Kemudian identifikasi tanaman di Herbarium Universitas Andalas jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.).

Kulit batang yang telah dikumpulkan tersebut dibersihkan dari pengotor seperti tanah dan kontaminan lainnya. Lalu dipotong-potong dadu yang bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan. Selanjutnya dikeringkan dibawah sinar matahari agar kadar airnya berkurang dan mempermudah proses penyarian. Kemudian kulit batang yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan grinder. Proses ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan dari simplisia sehingga proses maserasi dapat dilakukan dengan optimal. Dan diperoleh simplisia kering sebanyak 2,3 kg.

Metoda ekstraksi dilakukan secara perkolasi dengan menggunakan pelarut heksana. Cara perkolasi dipilih karena pengerjaan yang mudah, peralatan yang dibutuhkan juga sederhana, ekonomis dan tidak adanya penggunaan panas selama proses ekstraksi.

Sebanyak 2 kg serbuk halus kulit batang asam kandis dimaserasi selama 2x24 jam menggunakan pelarut non polar yaitu heksana yang telah didestilasi. Perendaman sampel kulit batang asam kandis dilakukan didalam 4 buah labu perkolator, setiap labu perkolator berisi 500 gram serbuk simplisia dengan menggunakan 750 mL heksana sambil melakukan beberapa pengadukan. Proses ini dilakukan ditempat yang terlindung dari cahaya agar terhindar dari kemungkinan terjadinya degradasi stuktur terutama untuk golongan senyawa nonpolar. Setelah 2 hari perendaman dilakukan penyaringan untuk memisahkan antara ampas dan maserat. Ampas kulit batang asam kandis dimaserasi kembali dengan menggunakan heksana. Proses ini dilakukan secara berulang sampai tujuh kali pengulangan agar sampel kulit batang asam kandis dapat terekstraksi optimal.

Ekstrak heksana yang diperoleh dari hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan destilasi. Proses ini bertujuan untuk menguapkan pelarut lebih cepat, dimana tekanan uap pelarut menjadi lebih rendah sehingga pelarut dapat menguap pada titik didih yang lebih rendah daripada titik didihnya semula. Hal ini berguna untuk meminimalkan kerusakan senyawa termolabil yang terkandung di dalam sampel. Kemudian dilakukan proses pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental heksana sebanyak 20,3 gram.

Pemurnian senyawa pada ekstrak heksana diawali dengan menggunakan metode kolom kromatografi dengan menggunakan silika gel 60 sebagai fasa diamnya. Prinsip elusi yang digunakan pada metoda ini adalah elusi dengan kepolaran yang dinaikkan secara bertingkat (*SGP/Step Gradient Polarity*). Prinsip ini digunakan karena untuk dapat memisahkan senyawa yang ada pada ekstrak menurut kepolaran, karena belum diketahui pelarut untuk pemisahan yang baik.

Kolom disiapkan dengan cara membuat bubur silika (silika gel 60) dengan menggunakan pelarut heksana. Sampel ekstrak disiapkan sebanyak 20 gram dengan cara preabsorpsi dimana sampel dilarutkan dalam pelarut yang melarutkan dan dicampurkan dengan silika gel 60 dalam jumlah perbandingan sampel dan silika 1:1, kemudian pelarutnya diuapkan sampai kering sehingga berbentuk serbuk. Bubur silika yang telah dibuat dimasukkan ke kolom hingga padat. Sampel yang telah disiapkan dituangkan ke dalam kolom, kemudian dielusi dengan fasa gerak heksana, yang kepolarannya dinaikkan bertingkat.

Hasil kolom ditampung dalam vial 100 mL dan masing-masing subfraksi dimonitoring pola KLT dengan menggunakan plat silika gel 60 F<sub>254</sub> dibawah lampu UV<sub>254</sub>. Subfraksi dengan noda yang sama digabung. Subfraksi yang didapatkan yaitu subfraksi I (1,99 g), subfraksi II (5,78 g), subfraksi III (9,23 g), subfraksi IV (1,03 g), subfraksi V (0,68 g), dan subfraksi VI (0,78 g). Kemudian dimonitoring juga pola KLT dari masing-masing subfraksi tersebut. (Lampiran 1, Hal. 40)

Kemudian dilanjutkan dengan kromatografi kolom pada subfraksi II (5,78 g), karena dari monitoring KLT, subfraksi ini menunjukkan senyawa target yang diinginkan. Kromatografi kolom dilakukan dengan cara yang sama pada saat

sebelumnya, dengan fasa elusi SGP. Hasil kolom ditampung pada vial 100 mL dan masing-masing subfraksi dimonitoring KLT dibawah lampu UV<sub>254</sub>. Subfraksi dengan noda yang sama digabung. Didapatkan 6 buah subfraksi yaitu subfraksi II-1 (0,150 g), subfraksi II-2 (3,41 g), subfraksi II-3 (0,95 g), subfraksi II-4 (0,317 g), subfraksi II-5 (0,1629 g) dan subfraksi II-6 (0,2564 g).

Setelah dilakukan monitoring KLT maka subfraksi II-4, II-5, dan II-6 digabungkan, kemudian dilakukan metode pemisahan dengan memakai alat kromatografi radial/ kromatotron. Pemisahan menggunakan kromatotron dipilih karena pada hasil KLT menunjukkan pola yang rapat. Pemisahan dengan cara ini lebih cepat dan pelarut yang digunakan lebih sedikit dari kromatografi kolom. Fasa diamnya berupa silika gel yang dilapisi pada plat kaca kuarsa dan untuk fasa gerak berupa pelarut yang sesuai dengan pola noda KLT.

Hal yang dilakukan terlebih dahulu dilakukan adalah menyiapkan plat kromatotron yang telah dipanaskan didalam oven selama 1 jam dengan suhu 60°C. Lalu plat kromatotron tadi diletakkan didalam alat kromatotron dan dialiri fasa gerak yang sesuai. Selanjutnya penyiapan sampel, sampel dilarutkan dengan eluen yang digunakan sebagai fase gerak yang diteteskan dengan menggunakan pipet tetes secara perlahan ke dalam lubang pengaliran fase gerak, kemudian baru eluen dialirkan pada lubang tersebut. Selama jalannya proses elusi ini, plat kromatotron dimonitoring dengan menggunakan lampu UV<sub>254</sub>.

Hasil kromatotron ditampung dalam vial 10 mL dan masing-masing subfraksi dimonitoring pola KLT nya di bawah lampu UV, hasil KLT dengan noda yang sama digabung.

Pada kromatotron kali ini digunakan fasa gerak berupa heksan dan etil (8:2). Tetapi setelah dimonitoring pola KLT di bawah lampu UV, ternyata tidak pemisahan senyawa yang diinginkan. Maka fraksi tersebut dilakukan kromatotron kembali dengan menggunakan fasa gerak diklorometana. Kemudian hasil kromatotron dimonitoring KLT dibawah lampu UV<sub>254</sub>, didapatkan 6 buah subfraksi yaitu, II,4,a (0,1506 g); II,4,b (0,1607 g); II,4,c (0,1349 g); II,4,d (0,034 g); II,4,e (0,1239 g); dan II,4,f (0,0192 g). Dari hasil monitoring KLT dilihat bahwa subfraksi II,4,a dan II,4,b sudah memiliki 1 noda dengan panjang rf yang sama, maka dilakukan proses kromatotron dengan menggunakan pelarut diklorometana untuk memurnikan subfraksi II,4,a dan II,4,b.

Sehingga dari hasil kromatografi radial senyawa II,4,a dan II,4,b didapatkan senyawa murni CR-1' dan CR-2' dengan menunjukkan pola 1 noda dengan panjang rf yang sama dengan jumlah 0,0712 gram.

Kemudian dilakukan kromatografi kolom pada subfraksi III dan IV karena memiliki pola KLT dari senyawa target yang diinginkan. Kromatografi kolom dilakukan dengan cara yang sama pada saat sebelumnya, dengan fasa elusi SGP. Hasil kolom ditampung pada vial 100 mL dan masing-masing subfraksi dimonitoring KLT dibawah lampu UV<sub>254</sub>. Subfraksi dengan noda yang sama digabung. Didapatkan 6 buah subfraksi yaitu subfraksi III,1, III,2, III,3, III,4, III,5, dan III,6.

Kemudian subfraksi III,1 sampai III,4 digabung untuk dipisahkan kembali dengan metoda kromatografi kolom dilakukan dengan cara yang sama pada saat sebelumnya, dengan fasa elusi SGP. Hasil kolom dimonitoring dengan KLT

dibawah lampu UV<sub>254</sub> dan diperoleh 7 buah subfraksi III,1,a; III,1,b; III,1,c; III,1,d; III,1,e; III,1,f; III,1,g; dan III,1,h.

Kemudian dari hasil monitoring KLT, pada subfraksi III,1,c dan III,1,d memiliki pola noda KLT yang diinginkan, maka kedua subfraksi ini digabung dan dilakukan pemurnian dengan menggunakan metoda kromatotron menggunakan pelarut diklorometana. Kemudian dilakukan monitoring KLT dibawah lampu UV<sub>254</sub> maka diperoleh senyawa CR-3' murni yang menunjukkan pola satu noda dengan berat 0,0296 gram.

Lalu dilakukan monitoring KLT terhadap senyawa murni CR-1' ; CR-2' dan CR-3'. Diperoleh hasil bahwa ketiga senyawa murni memiliki pola KLT yang sama, sehingga ketiga senyawa murni tersebut digabung dan selanjutnya disebut senyawa AK1 dengan berat 0,1003 gram . Kemudian dilakukan perhitungan R<sub>f</sub> yang dielusi dengan fasa gerak yang sesuai yaitu heksana : etil asetat (8:2) memberikan R<sub>f</sub> 0,56 .

Senyawa murni AK1 didapatkan berupa kristal jarum berwarna kuning dengan berat 100,3 mg. Hasil pemeriksaan jarak leleh menunjukkan bahwa senyawa ini meleleh pada suhu 136-138 °C. Pemeriksaan spektrum UV dalam pelarut metanol memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 241,40 nm (Abs=0,159). Berdasarkan pita serapan maksimum yang diperoleh terindikasi adanya ikatan rangkap terkonyugasi, karena sistem konjugasi menyerap cahaya pada panjang gelombang diatas 200 nm dan menandakan adanya kromofor yang memberikan transisi dari ke \*.

Pemeriksaan spektrum inframerah menunjukkan senyawa AK1 memiliki serapan yang kuat pada daerah bilangan gelombang  $3353,96\text{ cm}^{-1}$  merupakan serapan dari O-H; bilangan gelombang  $2928,24\text{ cm}^{-1}$  merupakan serapan dari C-H aromatik, bilangan gelombang  $1645,49\text{ cm}^{-1}$  merupakan regang C=O;  $1576,57\text{ cm}^{-1}$  merupakan regang C=C;  $1427,99\text{ cm}^{-1}$  merupakan tekuk dari C-H, dan bilangan gelombang  $1294,22\text{ cm}^{-1}$  merupakan serapan dari C-O (Lampiran 1, Gambar 6, Hal. 43). Kemudian spektrum inframerah tersebut dibandingkan dengan literatur, memiliki kesamaan terutama di daerah sidik jari dengan literature spectrum inframerah kowanin (Wahyuni, 2010).

Pemeriksaan pada spektrum  $^1\text{H-RMI}$  (Lampiran 1, Gambar 7, Hal. 44) menunjukkan adanya sinyal untuk gugus hidroksil pada  $\delta_{\text{H}} 13,41$  (1-OH, s). Dua sinyal proton aromatik terlihat pada  $\delta_{\text{H}} 6,91$  (1H, s) dan  $\delta_{\text{H}} 6,27$  (1H, s). Dan satu gugus metoksi pada  $\delta_{\text{H}} 3,80$  (3H, s). Dari table perbandingan pergeseran kimia  $^1\text{H-RMI}$  senyawa hasil isolasi AK1 dengan senyawa literatur kowanin (Lampiran 1, Gambar 8, Hal. 44). Didapatkan kesimpulan bahwa stuktur senyawa hasil isolasi hampir menyerupai stuktur senyawa literatur kowanin.

Berdasarkan data jarak leleh, spektrum UV, spektrum IR, spektrum  $^1\text{H-RMI}$  dan perbandingan pergeseran dengan senyawa standar, maka diperkirakan senyawa AK1 adalah suatu kowanin.