



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

ISOLASI DAN KARAKTERISASI TERPENOID SERTA UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK KULIT BATANG Shorea singkawang

SKRIPSI



**Dian Kumala Sari
07 132 044**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2011**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI TERPENOID SERTA UJI
ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK KULIT BATANG *Shorea singkawang***

Oleh :

Dian Kumala Sari

07 132 044

**Skripsi diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Andalas**

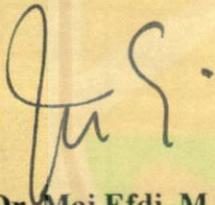
**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

LEMBARAN PENGESAHAN

Isolasi dan Karakterisasi Terpenoid serta Uji Antioksidan dari Ekstrak Kulit Batang *Shorea singkawang*, Skripsi oleh Dian Kumala Sari (07132044) sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, yang telah diuji pada tanggal 26 Juli 2011.

Disetujui oleh :

Pembimbing I



Dr. Mai Efdi, M.Si

NIP. 197205301999031003

Pembimbing II

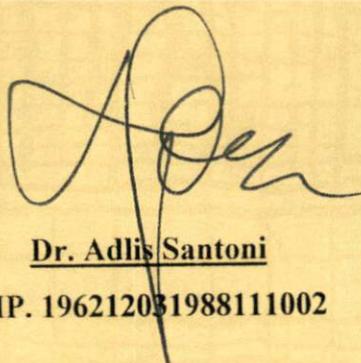


Dr. Afrizal, MS

NIP. 196002091987031004

Mengetahui

Ketua Jurusan Kimia



Dr. Adlis Santoni

NIP. 196212031988111002

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI TERPENOID SERTA UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK KULIT BATANG *Shorea singkawang*

Oleh:

Dian Kumala Sari (07132044)

Dibimbing oleh: Dr. Mai Efdi, M.Si dan Dr. Afrizal, MS

Isolasi dan karakterisasi terpenoid dari fraksi etil asetat ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* telah dilakukan. Senyawa ini diisolasi dengan metode maserasi, kromatografi kolom, dan rekristalisasi serta dikarakterisasi dengan metode spektroskopi. Terpenoid tersebut berupa padatan putih dengan titik leleh 140-142°C dan berdasarkan data GC menunjukkan adanya 1 puncak. Berdasarkan data spektroskopi UV dan IR, senyawa hasil isolasi dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 201 nm dan memiliki gugus -OH, -CH₂, -CH₃, dan geminal dimetil namun belum diketahui posisi dari gugus-gugus tersebut. Hasil uji antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki potensi sebagai antioksidan dengan EC₅₀ sebesar 0,075%.



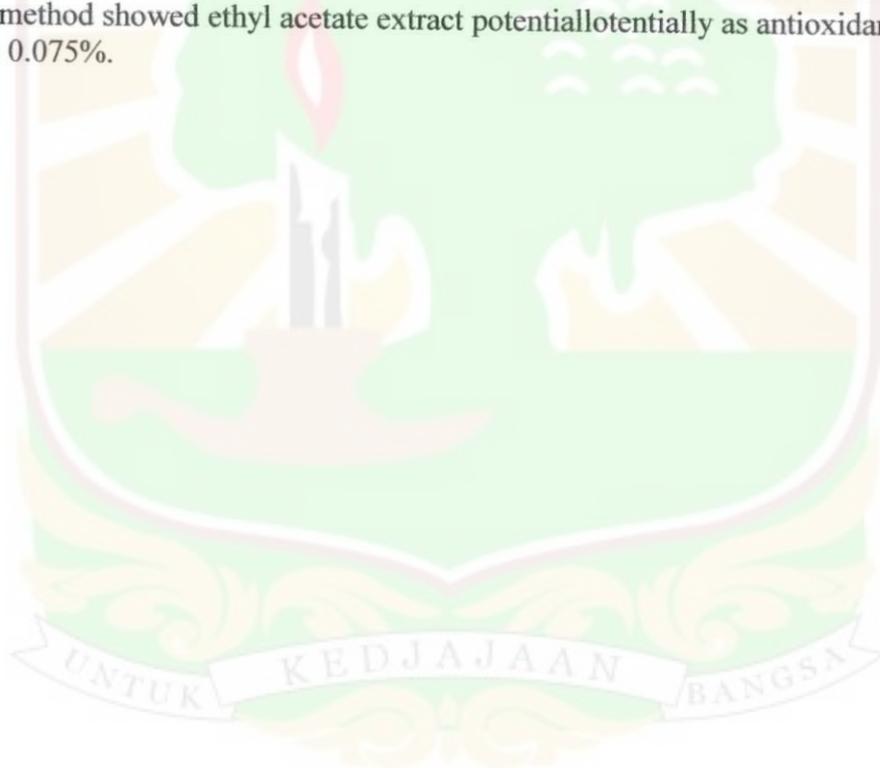
ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF TERPENOID AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES SCREENING FROM *Shorea singkawang* STEM BARK EXTRACT

By Dian Kumala Sari (07132044)

Advised by Dr. Mai Efdi, M.Si and Dr. Afrizal, MS

Isolation and characterization of terpenoid from ethyl acetate fraction of *Shorea singkawang* stem bark extract has been done. The compound was isolated by maceration, column chromatography, and recrystallization methods and characterized by spectroscopic methods. The terpenoid is white solid with melting point 140-142 ° C and GC data showed a peak. Based on UV and IR spectroscopic data, the compound showed the maximum absorption at wavelength of 201 nm and revealed -OH, -CH₂, -CH₃, and geminal dimethyl, but the position of that functional group still can not be determined. Antioxidant activity by DPPH method showed ethyl acetate extract potentiallotionally as antioxidant with EC₅₀ is 0.075%.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi Terpenoid serta Uji Antioksidan dari Ekstrak Kulit Batang *Shorea singkawang*”**. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mengikuti ujian sarjana di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.

Penyelesaian skripsi ini tidak lepas berkat dorongan dan bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua serta seluruh keluarga penulis atas bantuan moril maupun materil yang telah diberikan.
2. Bapak Dr. Mai Efdi, M.Si dan Bapak Dr. Afrizal, MS selaku Dosen Pembimbing yang telah bersedia memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan bantuan pada penulis.
3. Bapak Dr. Adlis Santoni selaku ketua Jurusan Kimia.
4. Staf pengajar di Jurusan Kimia, pegawai Jurusan Kimia, serta analis laboratorium kimia atas petunjuk dan bimbingannya.
5. Rekan mahasiswa kimia yang sama-sama melakukan penelitian dan saling memberi dukungan.

Tentunya penulisan skripsi ini jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan. Akhir kata penulis mohon maaf bila ada kesalahan dan kekurangan dalam penulisan skripsi ini.

Padang, Juli 2011

Hormat Penulis,

Dian Kumala Sari

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Shorea.....	4
2.2. <i>Shorea singkawang</i>	7
2.3. Terpenoid.....	8
2.4. Proses Isolasi Senyawa Kimia Bahan Alam.....	12
2.5. Karakterisasi Senyawa Organik.....	15
2.6. Aktivitas Antioksidan.....	17
III. METODE PENELITIAN	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2. Alat dan Bahan.....	19
3.3. Pengambilan dan Persiapan Sampel.....	19
3.4. Pengujian Profil Fitokimia Kulit Batang <i>Shorea singkawang</i>	20
3.5. Isolasi Terpenoid dari Ekstrak Kulit Batang <i>Shorea singkawang</i>	21
3.6. Uji Antioksidan Ekstrak Kulit Batang <i>Shorea singkawang</i>	23

IV. HASIL DAN DISKUSI

4.1. Pengujian Profil Fitokimia Kulit Batang Shorea singkawang	25
4.2. Isolasi Terpenoid dari Ekstrak Kulit Batang <i>Shorea</i> <i>singkawang</i>	25
4.3. Uji Antioksidan Ekstrak Kulit Batang <i>Shorea singkawang</i>	33

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan.....	35
5.2. Saran.....	35

DAFTAR PUSTAKA	36
----------------------	----

LAMPIRAN	38
----------------	----



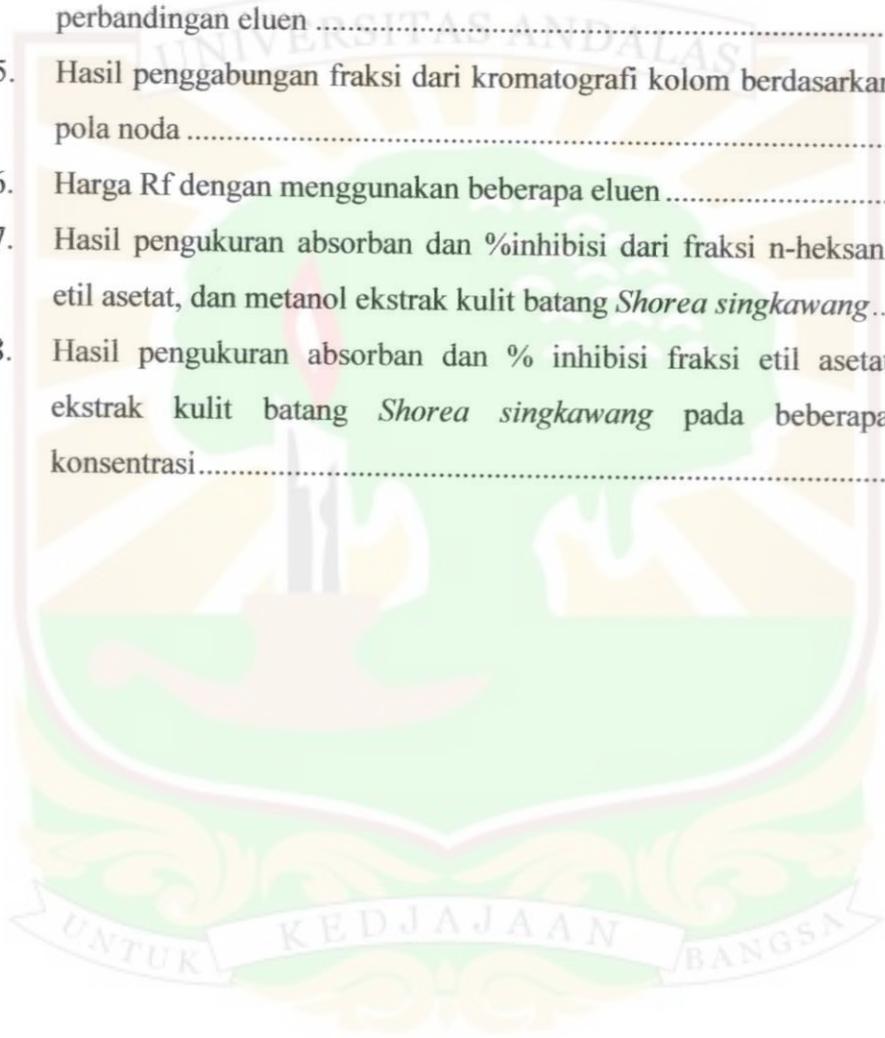
DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Kandungan kimia dari genus Shorea	6
Gambar 2.	Pohon, daun, dan buah <i>Shorea singkawang</i>	7
Gambar 3.	Jalur mekanisme biosintesis terpenoid.....	9
Gambar 4.	Kromatogram karakterisasi dengan GC senyawa hasil isolasi ...	30
Gambar 5.	Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi.....	31
Gambar 6.	Spektrum IR senyawa hasil isolasi.....	32



DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Beberapa spesies dari genus <i>Shorea</i>	5
Tabel 2.	Pengujian profil fitokimia kulit batang <i>Shorea singkawang</i>	25
Tabel 3.	Fraksi-fraksi yang diperoleh dari hasil ekstraksi kulit batang <i>Shorea singkawang</i>	26
Tabel 4.	Hasil kromatografi lapis tipis fraksi etil asetat dengan berbagai perbandingan eluen	27
Tabel 5.	Hasil penggabungan fraksi dari kromatografi kolom berdasarkan pola noda	28
Tabel 6.	Harga Rf dengan menggunakan beberapa eluen	29
Tabel 7.	Hasil pengukuran absorban dan %inhibisi dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol ekstrak kulit batang <i>Shorea singkawang</i> ..	33
Tabel 8.	Hasil pengukuran absorban dan % inhibisi fraksi etil asetat ekstrak kulit batang <i>Shorea singkawang</i> pada beberapa konsentrasi.....	34



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Skema kerja isolasi senyawa terpenoid dari fraksi etil asetat ekstrak kulit batang *Shorea singkawang*..... 38
- Lampiran 2. Skema kerja uji antioksidan terhadap ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol kulit batang *Shorea singkawang* ... 40
- Lampiran 3. Perhitungan % inhibisi aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* grafiknya..... 41



I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dipterocarpaceae merupakan salah satu kelompok tumbuhan tropis yang banyak terdapat di Indonesia. Famili tumbuhan ini terdiri dari 16 genus dan sekitar 600 spesies, 9 genus diantaranya terdapat di Indonesia, yaitu *Anisoptera*, *Cotylelobium*, *Dipterocarpus*, *Dryobalanops*, *Hopea*, *Parashorea*, *Shorea*, *Upuna*, dan *Vatica*. Kesembilan genus tersebut tersebar mulai dari Aceh sampai Papua, dengan populasi terbesar di Indonesia.¹

Dipterocarpaceae merupakan salah satu famili dari keanekaragaman hayati hutan tropika Indonesia yang sangat berpotensi untuk dikembangkan, karena selain memiliki nilai ekonomi yang tinggi, tumbuhan ini juga menghasilkan berbagai jenis senyawa kimia, sebagian diantaranya memiliki aktivitas biologi yang menarik. Salah satu genus terbesar dalam famili ini adalah *Shorea* yang juga dikenal sebagai Meranti. Daerah tropis merupakan tempat penyebaran tumbuhan genus *Shorea* dan pusat distribusinya adalah Semenanjung Malaysia, Sumatera, dan Kalimantan. Di Indonesia sebagian besar tumbuhan ini terdapat di Kalimantan, 140 spesies dan Sumatera, 53 spesies.

Buah dari beberapa spesies yang termasuk genus ini merupakan komoditas ekspor. Buah dari genus *Shorea* ini menghasilkan minyak lemak yang berharga tinggi. Minyak ini dihasilkan dari biji yang telah dijemur hingga kering kemudian ditumbuk dan diperas hingga keluar minyaknya. Secara tradisional, minyak ini digunakan untuk memasak, penyedap masakan dan untuk ramuan obat-obatan. Dalam dunia industri, minyak tersebut digunakan sebagai bahan pengganti lemak coklat, bahan farmasi, dan kosmetika. Pada masa lalu tumbuhan ini juga dipakai dalam pembuatan lilin, sabun, margarin, pelumas, dan sebagainya. Minyak *Shorea* juga dikenal sebagai green butter.

Genus *Shorea* ini juga menghasilkan getah damar yang digunakan untuk berbagai keperluan, seperti industri makanan, sabun, obat-obatan, dan kosmetika. Selain itu kayunya juga dikenal bermutu tinggi, sehingga sering digunakan sebagai bahan bangunan untuk pembuatan perahu.²

Dari beberapa penelitian fitokimia yang telah dilakukan terhadap genus *Shorea*, dilaporkan adanya senyawa-senyawa golongan flavonoid, fenilpropanoid, asam fenolik,³ dan terpenoid.⁴ Beberapa senyawa turunan fenol telah ditemukan sebelumnya pada tumbuhan *Shorea multiflora*, seperti leukosianidin, kaemferol, dan asam alegat.⁵ Selain itu, telah juga ditemukan senyawa oligoresveratrol, yaitu balanokarpol, ampelopsin A, dan hopeafenol dari spesies yang sama.² Nicolaus, et. al. juga telah memisahkan dan mengisolasi terpenoid dari serbuk gergaji dan kulit *Shorea leprosula* Miq sebagai antirayap.⁶ Amina et.al., melakukan penelitian terhadap kulit batang *Shorea seminis* yang juga merupakan genus *Shorea* dan berhasil mengisolasi senyawa Laevifonol, Diptoindonesin A, dan Ampelopepsin A.⁷

Famili Dipterocarpaceae, yang salah satunya genus *Shorea* selain menarik dari segi ilmu kima, juga dari aktivitas biologinya. Salah satu aktivitas biologinya sebagai antioksidan. Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang baik untuk makanan maupun pengobatan seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas.⁸ Telah dilaporkan, dari *Shorea assamica* dan *Shorea seminis* telah di isolasi beberapa senyawa kimia terutama turunan resveratol dan memperlihatkan aktivitas antioksidan yang tinggi.⁹

Tumbuhan *Shorea singkawang* merupakan famili Dipterocarpaceae dari genus *Shorea* yang tersebar di sebagian wilayah Indonesia, yaitu di Sumatera dan Kalimantan. Kayu dari tumbuhan ini banyak digunakan sebagai bahan bangunan sehingga menghasilkan limbah berupa kulit batang. Kulit batang tumbuhan ini dapat memberikan nilai yang baik jika digunakan dengan semestinya. Dari penelusuran literatur terhadap tumbuhan *Shorea singkawang* diketahui belum banyak penelitian yang mengungkap kandungan senyawa metabolit sekunder dari kulit batang genus *Shorea* ini serta aktivitas biologinya..

Dengan pertimbangan diatas, diketahui bahwa penelitian tentang *Shorea singkawang* masih sangat sedikit, maka perlu dilakukan penelitian terhadap kandungan metabolit sekunder dari *Shorea singkawang* dan aktivitas biologinya sebagai antioksidan.

1.2. Rumusan Masalah

Permasalahan yang melatarbelakangi penelitian ini adalah usaha pemanfaatan tumbuhan *Shorea singkawang* di Indonesia secara umum, baru sebatas pemanfaatan langsung seperti bahan bangunan, dan merupakan salah satu bahan industri kayu lapis, sebagai komoditi ekspor sehingga merupakan kayu perdagangan yang penting dengan nilai ekonomi tinggi dari tumbuhan ini. Untuk itu perlu dilakukan kajian lebih lanjut tentang kandungan dan potensi kimia dari tumbuhan *Shorea singkawang* ini.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi terpenoid dari ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* dan uji aktivitas antioksidan dari beberapa ekstraknya.

1.4. Manfaat Penelitian

Diharapkan dengan adanya penelitian ini akan bermanfaat terhadap perkembangan ilmu kimia organik bahan alam dalam hal mengungkapkan kandungan metabolit sekunder pada tanaman *Shorea singkawang*. Selain itu, dapat juga diketahui potensinya sebagai antioksidan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Shorea

Shorea yang juga dikenal sebagai meranti merupakan salah satu genus terbesar dari famili Dipterocarpaceae. Daerah tropis merupakan tempat penyebaran tumbuhan genus Shorea dan pusat distribusinya adalah Semenanjung Malaysia, Sumatera dan Kalimantan. Di Indonesia sebagian besar dari tumbuhan ini terdapat di Kalimantan, 140 spesies, dan Sumatera, 53 spesies.²

Buah dari beberapa spesies yang termasuk genus Shorea merupakan komoditas ekspor, sedangkan getah damar yang dihasilkan digunakan untuk berbagai keperluan seperti dalam industri makanan, sabun, obat-obatan, dan kosmetika. Selain itu kayunya juga dikenal bermutu tinggi, sehingga sering digunakan sebagai bahan bangunan dan bahan untuk pembuatan perahu.²

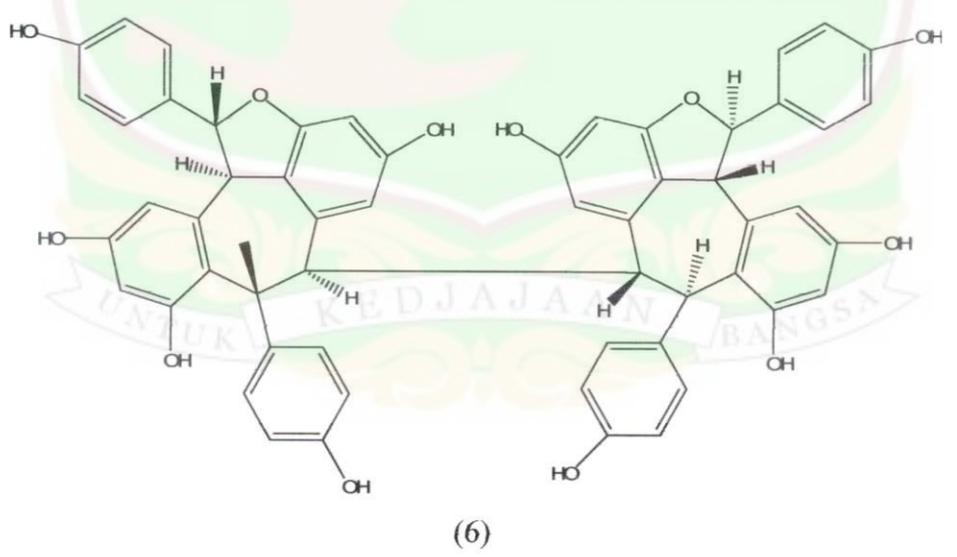
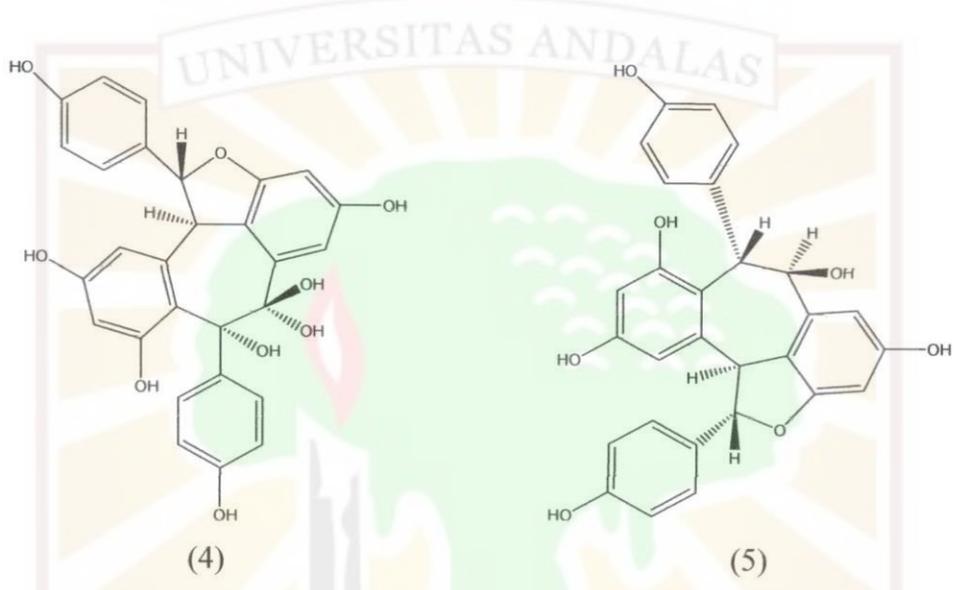
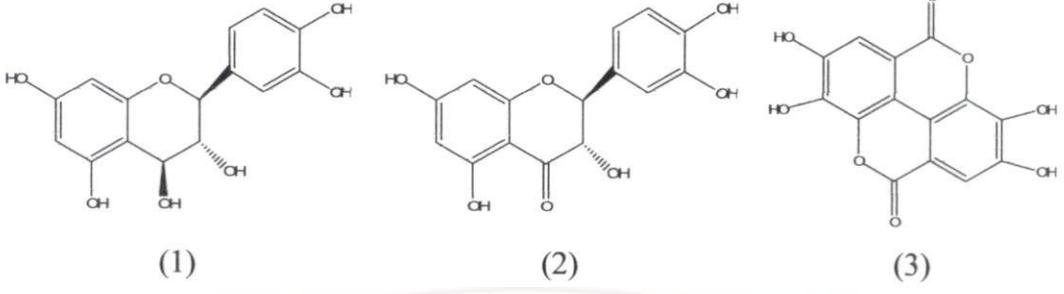
Di Indonesia terdapat beberapa spesies dari genus Shorea, dimana 13 diantaranya dilindungi dari kepunahan berdasarkan PP Nomor 7 Tahun 1999. Beberapa spesies tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan beberapa penelitian fitokimia yang telah dilakukan terhadap genus Shorea, dilaporkan adanya senyawa-senyawa flavonoid, fenilpropanoid, asam fenolik³ serta terpenoid⁴. Beberapa senyawa turunan fenol telah ditemukan sebelumnya pada tumbuhan *Shorea multiflora* Burck, seperti leukosianidin (1), kaemferol (2) dan asam elagat (3)⁵. Noviany et.al., telah berhasil mengisolasi beberapa oligomer stilbenoid dari tumbuhan *Shorea multiflora* Burck yaitu, balanokarpol (4), ampelopsin A (5), dan hopeafenol (6).² Selain itu, Nicolaus et.al., juga telah berhasil mengisolasi terpenoid dari serbuk gergaji dan kulit *Shorea leprosula* Miq sebagai antirayap.⁶ Struktur dari senyawa-senyawa tersebut ditunjukkan pada Gambar 1.

Tabel 1. Beberapa spesies dari Genus Shorea

No	Nama Latin	Nama Daerah
1	<i>Shorea stenoptera</i> *	Tengkawang Tungkul
2	<i>Shorea mecystopteryx</i> *	Tengkawang Layar
3	<i>Shorea pinanga</i> *	Tengkawang Rambai
4	<i>Shorea semiris</i> *	Tengkawang Terendak
5	<i>Shorea beccariana</i> *	Tengkawang Tengkal
6	<i>Shorea micrantha</i> *	Tengkawang Bungkus
7	<i>Shorea palembanica</i> *	Tengkawang Majau
8	<i>Shorea lepidota</i> *	Tengkawang Gunung
9	<i>Shorea singkawang</i> *	Sengkawang Pinang
10	<i>Shorea stenopten</i> *	-
11	<i>Shorea compressa</i> *	-
12	<i>Shorea gysberstiana</i> *	-
13	<i>Shorea martiana</i> *	-
14	<i>Shorea amplexicaulis</i>	Tengkawang Mege
15	<i>Shorea fallax</i>	Tengkawang Layar
16	<i>Shorea havilandii</i>	Selangan Batu Pinang, Tengkawang Ayer
17	<i>Shorea macrophylla</i>	Tengkawang Hantelok
18	<i>Shorea scaberrima</i>	Tengkawang Kijang
19	<i>Shorea splendid</i>	Tengkawang Bani
20	<i>Shorea sumatrana</i>	Kedawang, Tengkawang Batu

*spesies yang dilindungi berdasarkan PP Nomor 7 Tahun 1999



Gambar 1. Kandungan kimia dari genus Shorea

2.2. *Shorea singkawang*

Shorea singkawang termasuk jenis meranti merah. Tinggi pohonnya mencapai 30 m dengan diameter batang 1 m. Kulit luar berwarna kelabu atau coklat dengan tebal sekitar 5 mm. Pohon jenis meranti merah ini banyak ditemukan di Sumatera, Kalimantan, dan Maluku. Meranti merah tidak memerlukan tempat tumbuh yang khusus, hidup baik pada berbagai jenis tanah, kecuali tanah liat yang berat. Tumbuh terpencair, bercampur dengan jenis yang lain pada ketinggian 0-800 m di atas permukaan laut. Berbuah sepanjang tahun. Buah masak antara bulan Mei-Desember.

Meranti merah tergolong kayu keras berbobot ringan sampai berat-sedang. Berat jenisnya berkisar antara 0,3-0,86 pada kandungan air 15%. Kayunya berwarna merah muda pucat, merah muda kecoklatan, hingga merah tua atau bahkan merah tua kecoklatan. Berdasarkan berat jenisnya, kayu ini dibedakan lebih lanjut atas meranti merah muda yang lebih ringan dan meranti merah tua yang lebih berat. Namun tumpang tindih diantara kedua kelompok ini, sementara jenis-jenis *Shorea* tertentu terkadang menghasilkan kedua macam kayu itu.

Shorea singkawang di Indonesia pada umumnya dikenal dengan nama sengkawang pinang sedangkan di Thailand dikenal dengan nama maak on, di Malaysia dikenal dengan nama meranti bahru atau meranti sengkawang merah, dan di Sumatera juga dikenal dengan nama singkawang daun halus.¹⁰



Gambar 2. Pohon, daun dan buah *Shorea singkawang*

Secara Taksonomi tanaman *Shorea singkawang* dapat diuraikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Theales
Famili	: Dipterocarpaceae
Genus	: Shorea
Spesies	: <i>Shorea singkawang</i>

2.3. Terpenoid

Terpenoid merupakan golongan senyawa organik bahan alam dengan unit penyusunnya berasal dari molekul isoprena $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5 . Unit-unit isoprena tersebut saling berkaitan teratur. Terpenoid dipilah-pilah menjadi beberapa golongan berdasarkan jumlah satuan yang terdapat dalam senyawa tersebut, yaitu monoterpena (C_{10}), seskuiterpena (C_{15}), diterpena (C_{20}), triterpena (C_{30}), tetraterpena (C_{40}), dan politerpena ($\text{C}>40$).⁶

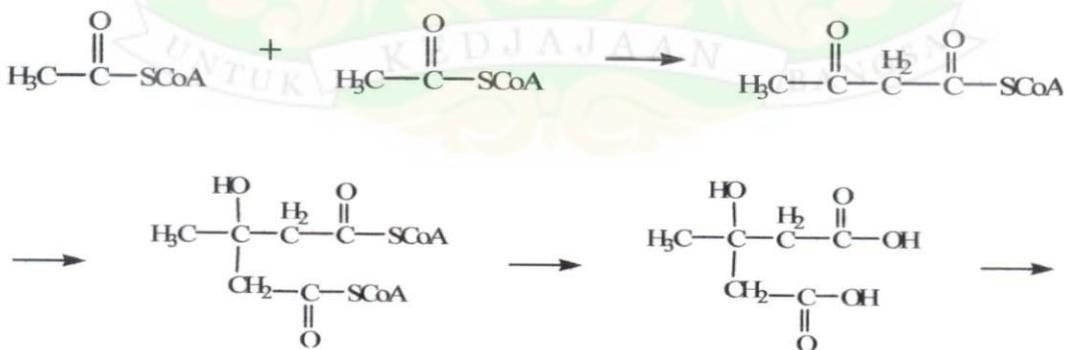
2.3.1. Biosintesis Terpenoid

Secara biosintesis terpenoid diperoleh dari molekul isoprena, namun senyawa tersebut bukanlah prazat *in vivo*. Senyawa yang sebenarnya terlibat adalah isopentenil pirofosfat (OPP) dan isomernya dimetil pirofosfat (DMAPP). Pada biosintesis, satu molekul IPP bergabung dengan satu molekul DMAPP membentuk geranil pirofosfat (GPP) (C_{10}), yaitu senyawa antara bagi semua senyawa monoterpena. Penggabungan selanjutnya antara satu unit IPP dan GPP membentuk farnesil pirofosfat (FPP) (C_{15}), yaitu senyawa antara pada sintesis seskuiterpena. Selanjutnya sistesis terpenoid tinggi terjadi dari berbagai

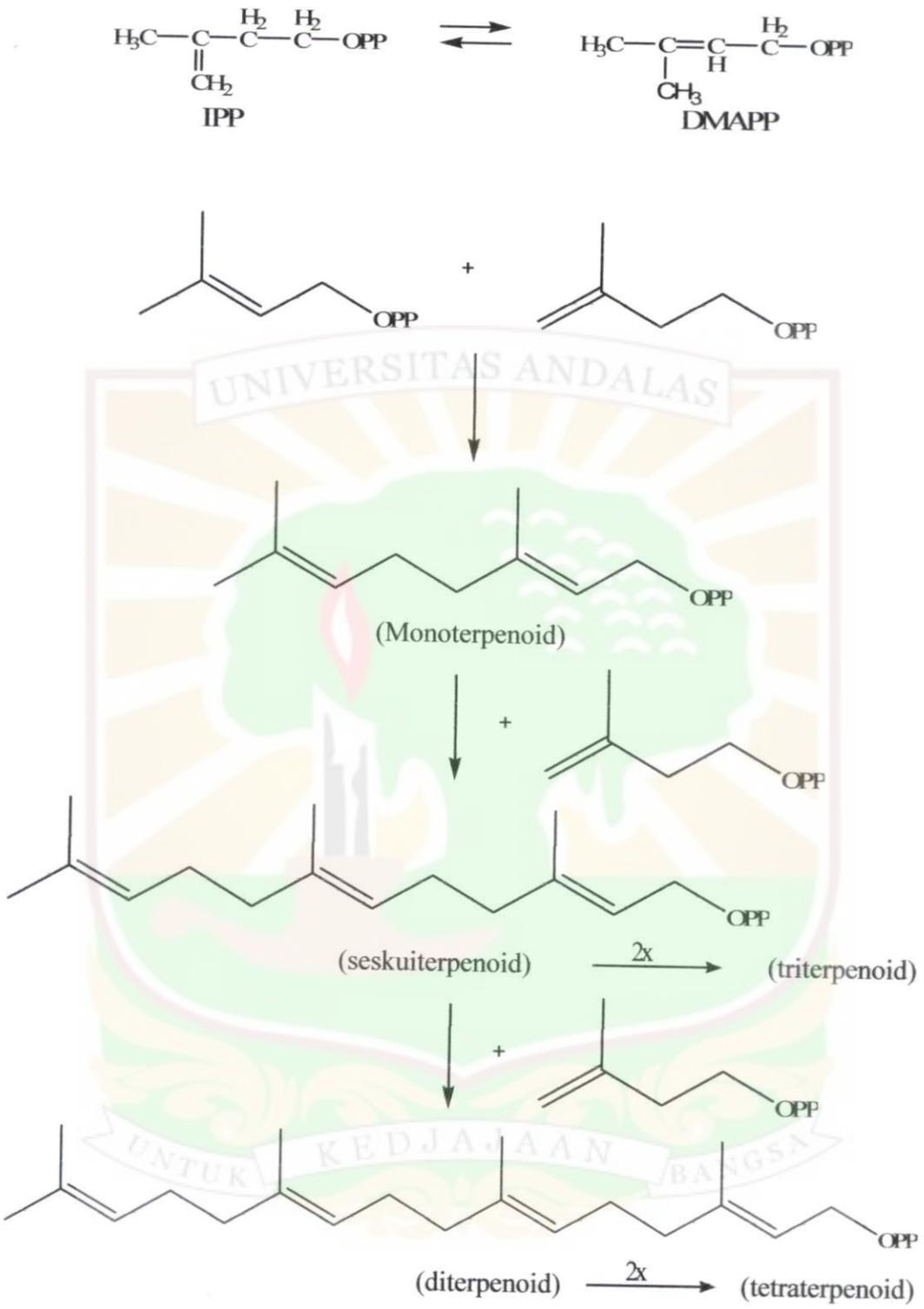
kombinasi satuan C₅, C₁₀, dan C₁₅, misalnya triterpena terbentuk dari dua satuan FPP dan tetraterpen terbentuk dari dua satuan geranil-geranil pirofosfat.

Mekanisme dari tahap-tahap reaksi biosintesis terpenoid adalah asam asetat setelah diaktifkan oleh koenzim A melakukan kondensasi jenis Claisen menghasilkan asam asetoasetat. Senyawa yang dihasilkan ini dengan asetil koenzim A melakukan kondensasi jenis aldol menghasilkan rantai karbon bercabang sebagaimana ditemukan pada asam mevalinat. reaksi-reaksi berikutnya adalah fosforilasi, eliminasi asam fosfat dan dekarboksilasi menghasilkan Isopentenil pirofosfat (IPP) yang selanjutnya berisomerisasi menjadi Dimetil alil pirofosfat (DMAPP) oleh enzim isomerase. IPP sebagai unit isopren aktif bergabung secara kepala ke ekor dengan DMAPP dan penggabungan ini merupakan langkah pertama dari polimerisasi isopren untuk menghasilkan terpenoid. Penggabungan ini terjadi karena serangan elektron dari ikatan rangkap IPP terhadap atom karbon dari DMAPP yang kekurangan elektron diikuti oleh penyingkiran ion pirofosfat yang menghasilkan Geranil pirofosfat (GPP) yaitu senyawa antara bagi semua senyawa monoterpenoid.

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 Geranil-Geranil Pirofosfat (GGPP) yang berasal dari kondensasi antara satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama. Mekanisme biosintesis senyawa terpenoid seperti ditunjukkan pada Gambar 3.¹¹



Gambar 3. Jalur mekanisme biosintesis terpenoid



Gambar 3. Lanjutan

2.3.2. Monoterpenoid

Monoterpenoid terbentuk dari dua satuan isoprena dan biasanya mempunyai sepuluh atom karbon, meskipun ada contoh langka senyawa yang rupanya terbentuk berdasarkan prinsip umum ini tetapi senyawa tersebut kehilangan satu atom karbon atau lebih. Monoterpenoid merupakan komponen utama banyak minyak atsiri dan mempunyai nilai ekonomi yang besar sebagai wewangian, dan pelarut. Monoterpenoid khas berupa cairan tak berwarna, tidak larut dalam air, dan berbau harum. Beberapa senyawa bersifat aktif optik.¹¹

2.3.3. Seskuiterpenoid

Seskuiterpenoid adalah senyawa C_{15} , biasanya dianggap berasal dari tiga satuan isoprena. Seperti monoterpenoid seskuiterpenoid terdapat sebagai komponen minyak atsiri dan berperan penting dalam memberi aroma kepada buah dan bunga. Dari segi fisiologi, salah satu seskuiterpenoid monosiklik terpenting ialah asam absisat hormon yang melawan efek giberalin dan menghambat pertumbuhan kuncup.¹¹

2.3.4. Diterpenoid

Senyawa diterpenoid merupakan senyawa yang mempunyai 20 atom karbon dan dibangun oleh 4 unit isoprena. Senyawa ini mempunyai bioaktivitas yang cukup luas yaitu sebagai hormon pertumbuhan tanaman, podolakton inhibitor pertumbuhan tanaman, antifeedant serangga, inhibitor tumor, senyawa pemanis, anti fouling dan anti karsinogen. Senyawa diterpenoid dapat berbentuk asiklik, bisiklik, trisiklik dan tetrasiklik dan tatanama yang digunakan lebih banyak adalah nama trivial.¹¹

2.3.5. Triterpenoid

Lebih dari 4000 jenis triterpenoid telah diisolasi dengan lebih dari 40 jenis kerangka dasar yang sudah dikenal dan pada prinsipnya merupakan proses siklisasi dari skualen. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupaka 4 siklik 6 yang mempunyai gugus fungsi pada siklik tertentu.

Penamaan lebih disederhanakan dengan memberikan penomoran pada tiap atom karbon, sehingga memudahkan dalam penentuan substituen pada masing-masing atom karbon. Struktur terpenoid yang bermacam ragam itu timbul sebagai akibat dari reaksi-reaksi sekunder berikutnya seperti hidrolisa, isomerisasi, oksidasi, reduksi dan siklisasi atas geranil-, farnesil- dan geranil-geranil pirofosfat.¹¹

2.4. Proses Isolasi Senyawa Kimia Bahan Alam

2.4.1. Metode Ekstraksi

Senyawa organik yang terdapat di dalam larutan, tumbuh-tumbuhan, dan hewan, dapat diekstraksi dengan menggunakan berbagai teknik ekstraksi dengan bantuan pelarut seperti heksan, petroleum eter, ligroin, eter, kloroform, metilen klorida, metanol, dan lain-lain.

Teknik ekstraksi yang digunakan dalam menarik senyawa organik diantaranya :

1. Ekstraksi Pelarut

Ekstraksi pelarut digunakan untuk mengekstraksi senyawa organik yang terlarut dalam suatu pelarut lainnya dan antara kedua pelarut tidak saling melarutkan dengan menggunakan corong pisah, sehingga akan membentuk dua lapisan, dan senyawa organik yang diinginkan akan tertarik kepada pelarut yang ditambahkan.

Dalam proses pengekstraksian, jumlah volume yang sama dari suatu pelarut lebih baik dilakukan banyak kali daripada satu kali saja. Dengan pengekstraksian banyak kali akan terjadi pengekstraksian lebih sempurna.

2. Pemasaran

Teknik pemasaran dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa organik yang berbentuk cairan atau padat dari suatu bahan yang berbentuk padat. Artinya bila senyawa organik yang akan diambil berbentuk cairan atau kalau ia berbentuk padat dapat dilarutkan dengan suatu pelarut dan tempat senyawa organik dalam bentuk padat, maka teknik pemasaran bisa digunakan. Contohnya pengekstraksian gula dari tebu atau penarikan gambir dari daun gambir.

3. Distilasi

Distilasi digunakan untuk menarik senyawa organik yang titik didihnya dibawah 250°C . Pendistilasian senyawa-senyawa yang titik didihnya terlalu tinggi, dikuatirkan akan rusak oleh pemanasan sehingga tidak cocok untuk ditarik dengan teknik distilasi.

Dalam proses distilasi senyawa yang akan ditarik dididihkan dan uap yang terjadi diembunkan dalam sebuah pendingin, sehingga mencair kembali. Proses pendidihan erat hubungannya dengan kehadiran udara dipermukaan. Bila suatu cairan dipanaskan, pendidihan akan terjadi pada suhu dimana tekanan uap dari larutan sama dengan tekanan udara di permukaan cairan. Tekanan udara permukaan terjadi oleh adanya udara di atmosfer.

4. Sublimasi

Beberapa zat padat ada yang jika dipanaskan dapat langsung berubah menjadi uap, tanpa harus lewat fase cair, dan ini disebut menyublin. Pemakaian sifat menyublin untuk menarik senyawa organik disebut sublimasi.

Teknik sublimasi dapat digunakan untuk mengekstrak zat padat. Zat padat dapat menyublin bila dipanaskan, dimana uapnya akan naik. Uap yang terjadi ini didinginkan dan akan terbentuk zat pada dipermukaan alat yang telah didinginkan.

5. Maserasi

Maserasi atau perendaman merupakan teknik pengekstraksian yang paling klasik. Sampel yang telah dihaluskan, direndam dalam pelarut organik selama beberapa waktu. Kemudian disaring, dan hasilnya didapat berupa filtrat. Proses maserasi dapat dilakukan tanpa pemanasan atau dengan pemanasan, atau dengan menggunakan ultrasonik.

6. Perkolasi

Perkolasi merupakan pengembangan dari maserasi. Sampel disiram dengan pelarut dan sekaligus hasil akan didapat sebagai filtrat. Pelarut yang digunakan bisa dalam keadaan dingin atau dalam keadaan panas.

7. Sokletasi

Sokletasi adalah teknik pengekstraksian yang kontiniu. Sokletasi ditujukan untuk menarik zat padat atau cair yang terdapat dalam zat padat dan dapat ditarik dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan untuk sokletasi adalah

pelarut-pelarut yang titik didihnya rendah seperti eter, aseton, metilen klorida, dan petroleum eter. Alat sokletasi terdiri dari tiga bagian, yaitu labu, soklet, dan pendingin tegak.¹²

2.4.2. Pemisahan dan Pemurnian

Untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran dapat dilakukan dengan metoda kromatografi. Semua metoda kromatografi didasarkan atas pemisahan komponen di antara dua fasa yang tidak bercampur yaitu fasa diam dan fasa gerak. Mekanisme terdistribusinya komponen-komponen yang ada pada kedua fasa itu dapat disebabkan oleh peristiwa adsorpsi, partisi, reaksi penukar ion, dan difusi dari komponen ke dalam pori-pori fasa diam. Komponen campuran akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda-beda akibat hambatan selektif dari fasa diam sehingga terjadi pemisahan.¹³

Dalam semua teknik kromatografi, zat-zat terlarut yang dipisahkan bermigrasi sepanjang kolom (atau seperti dalam kromatografi kertas atau lapis tipis, ekuivalen fisik kolom), dan tentu saja dasar pemisahan terletak dalam laju perpindahan yang berbeda untuk larutan yang berbeda. Kita boleh menganggap laju perpindahan sebuah zat terlarut sebagai hasil dari dua faktor, yang satu cenderung menggerakkan zat terlarut itu, dan yang lain menahannya. Dalam proses asli Tswett, kecenderungan zat-zat terlarut untuk menyerap pada fasa padat menahan pergerakannya, sementara kelarutannya dalam fasa cair bergerak cenderung menggerakkannya. Perbedaan yang kecil antara dua zat terlarut dalam kekuatan adsorpsi dan dalam interaksinya dengan pelarut yang bergerak menjadi dasar pemisahan bila molekul-molekul zat terlarut itu berulang kali menyebar di antara dua fasa itu ke seluruh panjang kolom.¹³

Untuk memisahkan senyawa dalam jumlah besar (lebih dari 1 gram) dapat digunakan kromatografi kolom. Fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel, sedangkan fasa geraknya dapat dimulai dari pelarut yang kepolaran ditingkatkan secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal atau kombinasi dua pelarut berbeda yang kepolarannya sesuai dengan tingkat kepolaran yang dibutuhkan. Eluat yang keluar dari kolom kromatografi ditampung dan dimonitor

dengan kromatografi lapis tipis (KLT), fraksi-fraksi yang nilai Rf sama digabung.¹⁴

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik yang praktis dan cepat serta sangat penting untuk penelitian dalam bidang kimia organik. Kromatografi lapis tipis dalam bidang kimia organik bisa ditujukan penggunaannya untuk beberapa kepentingan, seperti untuk menentukan dua senyawa identik atau tidak, menentukan jumlah komponen dalam suatu campuran, menentukan pelarut yang baik dalam pemisahan pada kromatografi kolom, memonitor hasil pemisahan dengan kromatografi kolom, memeriksa hasil pemurnian, pemurnian dalam jumlah kecil, dan memonitor kemajuan reaksi.

Senyawa organik yang didapat dari bahan alam ataupun hasil sintesis sangat jarang yang berada dalam keadaan murni. Tetapi ia berada dalam bentuk campuran. Untuk itu senyawa organik yang didapat perlu dipisah-pisahkan dan dimurnikan. Rekristalisasi merupakan teknik yang klasik dalam pemurnian senyawa organik. Jika suatu campuran senyawa organik terlalu banyak, tidaklah mudah untuk dimurnikan dengan teknik rekristalisasi, bisa diuji dengan cara menguapkan pelarutnya. Jika terbentuk zat padat berarti bisa direkristalisasi tetapi bila residunya cair, tidak bisa direkristalisasi. Proses rekristalisasi meliputi pemilihan pelarut, pembentukan kristal, dan penyaringan.¹²

2.5. Karakterisasi Senyawa Organik

2.5.1. Spektroskopi Inframerah

Spektroskopi inframerah merupakan metoda yang digunakan untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa berdasarkan serapan radiasi inframerah oleh atom yang mengalami vibrasi. Setiap gugus fungsi akan memberikan puncak serapan yang khas pada angka gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$. Daerah ini terbagi menjadi 2 bagian, diatas 1500 cm^{-1} memperlihatkan puncak-puncak spesifik yang disebabkan oleh vibrasi gugus fungsi molekul dan daerah dibawah 1500 cm^{-1} memperlihatkan beberapa puncak serapan yang tidak dapat dinyatakan sebagai suatu gugus fungsi, daerah ini dinamakan daerah sidik jari. Daerah sidik jari mempunyai perbedaan untuk setiap senyawa, sehingga sulit menentukan puncak serapan yang dianalisa.

Spektrum inframerah suatu molekul merupakan hasil transisi antara tingkat energi getaran yang berlainan. Bila molekul menyerap radiasi inframerah, maka dalam molekul dapat dibagi atas dua vibrasi, yaitu vibrasi ulur dan vibrasi tekuk.

Identifikasi pita absorpsi khas yang disebabkan oleh berbagai gugus fungsi merupakan dasar penafsiran spektrum inframerah. Vibrasi ulur O-H menimbulkan pita absorpsi kuat di daerah 3350 cm^{-1} . Adanya vibrasi ulur O-H bebas terjadi dalam daerah $3700\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$. Absorpsi OH terikat hidrogen tampak pada daerah $3450\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ sebagai pita yang agak lebar dan kuat.

Berbagai jenis ikatan C-H menunjukkan absorpsi dibagian tertentu dari daerah vibrasi ulur C-H ($3300\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$). Daerah ulur C-H ($1000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$) menghasilkan informasi yang berguna dalam mencari sifat khas alkena dan posisi substitusi pada cincin aromatik.¹⁵

2.5.2. Spektroskopi Ultraviolet-Tampak (Spektroskopi UV-Vis)

Identifikasi dengan spektroskopi ultraviolet pada senyawa organik bertujuan untuk mengetahui jenis ikatan rangkap yang terdapat dalam molekul. Daerah panjang gelombang dari spektroskopi ultraviolet ini adalah berkisar antara 200-400 nm. Serapan cahaya pada spektrum ini bergantung pada struktur elektronik dari molekul yang berkaitan dengan transisi-transisi antara tingkat energi elektronik.

Pada umumnya senyawa yang hanya mempunyai transisi $\sigma \rightarrow \sigma^*$ yang mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 150 nm, sedangkan senyawa yang mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (disebabkan oleh kromofor tidak berkonyugasi) mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang sekitar 170-190 nm. Senyawa yang mempunyai transisi $n \rightarrow \pi^*$ mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 280 nm.

Pada sistem berkonyugasi, orbital π dari masing-masing ikatan rangkap berinteraksi membentuk suatu perangkat baru orbital ikatan dan anti ikatan. Untuk transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, bila sistim berkonyugasi dalam molekul makin panjang, perbedaan energi antara keadaan dasar dan keadaan tereksitasi makin kecil.¹⁵

2.5.3. Kromatografi Gas (*Gas Chromatography* – GC)

Kromatografi gas menggunakan fasa stasioner berupa cairan dan fasa gerak berupa gas. Berbagai gas telah digunakan dalam kromatografi gas, misalnya hidrogen, helium, nitrogen, argon, karbon dioksida, dan bahkan uap air. Gas yang lebih ringan, hidrogen dan helium memungkinkan lebih banyak difusi longitudinal zat terlarut, yang cenderung menurunkan efisiensi kolom, terutama pada laju alir yang rendah. Jadi nitrogen bisa menjadi pilihan gas pembawa yang lebih baik untuk melakukan pemisahan yang sangat sulit. Disamping itu, nitrogen ini lebih murah daripada helium dan lebih aman didalam laboratorium dibandingkan hidrogen.

Sampel-sampel cair, umumnya berkisar dari fraksi yang kecil 1 μ L sampai 25 μ L atau lebih, biasanya diinjeksikan melalui suatu karet septum dengan memakai suntikan syringe. Syringe-syringe khusus dengan berbagai volume dalam kisaran mikroliter tersedia di pasaran, kadang-kadang dilengkapi dengan alat mekanis yang membantu dalam menentukan ukuran sampel. Sampel-sampel bisa juga diinjeksikan atau dimasukkan dengan memakai berbagai macam alat pengambilan sampel gas yang dirancang untuk kromatografi komersial.

Temperatur pada lubang injeksi sangat penting. Jika suatu sampel cair menguap dengan lambat, hasilnya akan mirip dengan hasil yang disebabkan oleh penginjeksian yang terlalu lambat. Lubang injeksi tersebut biasanya dipanaskan tersendiri tanpa alat pemanas disekitar kolom, dan umumnya lubang injeksi tersebut harus dijaga pada suatu temperatur diatas titik didih komponen-komponen sampel. Namun, temperatur tersebut harus dibawah temperatur dimana senyawa-senyawa tersebut bisa terurai.¹³

2.6. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun memadukan efek spesies oksigen reaktif . Penggunaan senyawa antioksidan juga anti radikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker, serta gejala penuaan. Masalah-masalah ini berkaitan

dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu pencetus penyakit-penyakit di atas.

Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi. Lipid peroksidasi merupakan salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan. Antioksidan tidak hanya digunakan dalam industri farmasi, tetapi juga digunakan secara luas dalam industri makanan, industri petroleum, industri karet dan sebagainya.

Antioksidan dalam bahan makanan dapat berasal dari kelompok yang terdiri atas satu atau lebih komponen pangan, substansi yang dibentuk dari reaksi selama pengolahan atau dari bahan tambahan pangan yang khusus diisolasi dari sumber-sumber alami dan ditambahkan ke dalam bahan makanan. Adanya antioksidan alami maupun sintetis dapat menghambat oksidasi lipid, mencegah kerusakan, perubahan dan degradasi komponen organik dalam bahan makanan sehingga dapat memperpanjang umur simpan.

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Sebagai contoh, tubuh manusia dapat menghasilkan *Glutathione*, salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 1.000 mg untuk memicu tubuh menghasilkan *glutathione* ini. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar. Bila mulai menerapkan pola hidup sebagai vegetarian akan sangat membantu dalam mengurangi resiko keracunan akibat radikal bebas. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan stress oksidatif dan penyakit-penyakit kronis yang dihasilkan.¹⁶

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang. Penelitian dilakukan dari bulan Februari sampai Juni 2011.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, rotari evaporator Heidolp WB 2000, spektrofotometer UV-Vis pharmaspec 1700 shimadzu, spektroskopi inframerah FTIR Perkin Elmer 1600 series, kromatografi gas agilent 7890A/5975C, lampu UV model UV GL – 58 UV 254 dan 365 nm, melting point apparatus (fisher Jhon), kertas saring, plat tetes, alumunium foil, kolom kromatografi, oven, pipa kapiler dan peralatan gelas lainnya yang umum digunakan di laboratoruium.

3.2.2. Bahan

n-heksana, diklorometana, etilasetat, metanol, plat KLT silica gel 60 F₂₅₄, silika gel 60 Art,77733 Merck, pereaksi Meyer , pereaksi Lieberman Burchad, Sianidin test, dan FeCl₃.

3.3. Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang diperlukan untuk penelitian diperoleh didaerah Seling, Kab. Merangin, Prop. Jambi. Tumbuhan tersebut dideterminasi di herbarium jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas dengan mempelajari karakteristik batang, daun, dan ranting. Bagian tumbuhan yang diteliti adalah kulit batang *Shorea singkawang* yang telah dikeringanginkan pada udara terbuka yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung, dirajang, dihaluskan kemudian ditimbang.

3.4. Pengujian Profil Fitokimia Kulit Batang *Shorea singkawang*

3.4.1. Pemeriksaan flavonoid, triterpenoid, steroid dan senyawa fenolik

Metode pemeriksaan kandungan flavonoid, triterpenoid, steroid, dan senyawa fenolik diadopsi dari Simenss, yaitu:

Sebanyak 2 gram sampel *Shorea singkawang* kering dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan metanol yang telah dipanaskan (di atas penangas air) selama 15 menit. Kemudian disaring panas-panas ke dalam tabung reaksi lain dan biarkan seluruh metanol menguap. Lalu ditambahkan kloroform dan air suling dengan perbandingan 1:1 masing-masingnya sebanyak 5 mL, kocok dengan baik, biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan air digunakan untuk pemeriksaan flavonoid, fenolik, dan saponin. Lapisan kloroform digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid.

1. Pemeriksaan Flavonoid (Sianidin Tes)

1 mL dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan adanya flavonoid (kecuali untuk flavon).

2. Pemeriksaan Fenolik

1 mL dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian tambahkan pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna biru/ungu menandakan adanya kandungan senyawa fenolik.

3. Pemeriksaan Saponin

1 mL dari lapisan air diambil, kocok kuat-kuat dalam sebuah tabung reaksi, terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa tetes HCl pekat menunjukkan adanya saponin.

4. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid (Lieberman Buchard)

1 mL dari lapisan kloroform diambil dan dimasukkan ke dalam tiga lubang plat tetes, biarkan hingga kering. Ke dalam satu lubang plat tetes ditambahkan H_2SO_4 pekat, ke dalam satu lubang plat tetes ditambahkan anhidrida asetat, ke dalam lubang plat tetes lainnya ditambahkan setetes anhidrida asetat dan setetes H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna hijau atau

hijau biru menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuknya warna merah atau merah ungu menandakan adanya triterpenoid.

3.4.2. Pemeriksaan alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan menurut metode Culvenor-Fitzgerald. Empat gram sampel dipotong kecil-kecil, digerus dalam lumpang dengan bantuan pasir bersih, dibasahi dengan 10 mL kloroform amoniak 0,05 M, kemudian di saring dan ditambahkan asam sulfat 2 N, dikocok perlahan dan biarkan sehingga terbentuk pemisahan lapisan asam dan kloroform. Ambil lapisan asam sulfat dan pindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer. Reaksi positif ditandai dengan kabut putih hingga gumpalan putih/endapan.

3.4.3. Pemeriksaan Kumarin

Sampel sebanyak 2 – 5 gram dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering pada udara terbuka. Kemudian dielusi dalam bejana yang berisi 10 mL eluen etil asetat 100%. Noda yang dihasilkan dimonitor di bawah lampu UV 365 nm. Hasil KLT kemudian disemprot dengan larutan NaOH 1% dalam etanol : air (1 : 1), dan selanjutnya dilihat dibawah lampu UV 365 nm. Adanya fluoresensi yang bertambah terang setelah disemprot dengan NaOH 1% menandakan adanya senyawa kumarin.

3.5. Isolasi Terpenoid dari Ekstrak Kulit Batang *Shorea singkawang*

3.5.1. Ekstraksi Kulit Batang *Shorea singkawang*

Sebanyak 2,5 kg sampel kering kulit batang *Shorea singkawang* yang telah dihaluskan dimaserasi menggunakan n-heksana, diaduk dan dibiarkan selama 3 hari pada suhu kamar. Selanjutnya disaring dan ditampung dengan erlenmeyer. Hasil saringan disimpan didalam botol. Pekerjaan ini dilakukan beberapa kali sampai didapatkan tidak ada lagi noda yang naik ketika dimonitor dengan kromatografi lapis tipis.

Proses maserasi ampas dilanjutkan dengan dimaserasi menggunakan etil asetat dan dilakukan pengerjaan seperti maserasi dengan menggunakan n-heksan. Setelah itu proses maserasi dilanjutkan dengan menggunakan metanol dan juga dilakukan pengerjaan seperti maserasi dengan menggunakan n-heksan.

Masing-masing hasil ekstrak yang didapatkan, dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol. Masing-masing fraksi di uji kandungan terpenoidnya dengan pereaksi Lieberman-burchard.

3.5.2. Pemurnian Fraksi Etil Asetat Ekstrak Kulit Batang *Shorea singkawang*

Fraksi etil asetat dipisahkan komponen-komponennya dengan menggunakan metoda kromatografi kolom. Berdasarkan pola KLT, maka dipilih sistem elusi dengan metoda elusi bergradien untuk pemisahan dengan kromatografi kolom.

Kolom silika gel dibuat dengan mensuspensikan silika gel dengan pelarut n-heksana. Kemudian bubuk silika ini dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang bagian dasarnya telah dilapisi kapas sebagai penyaring.

Sebanyak 10 gram fraksi etil asetat yang akan di kromatografi kolom di preadsorpsi dengan mencampurkannya dengan silika gel dengan perbandingan 1:1. Setelah itu sampel yang telah dipreadsorpsi dimasukkan ke dalam kolom yang telah disiapkan. Diameter kolom yang digunakan 2,5 cm dengan tinggi silika gel 45 cm dan tinggi sampel yang telah di preadsorpsi 5 cm.

Selanjutnya dilakukan elusi berdasarkan perbandingan eluen yang diperoleh dari KLT. Fraksi-fraksi yang keluar dari kolom ditampung dengan vial, kemudian dianalisa pola pemisahan nodanya dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola noda dan Rf yang sama digabung sehingga didapatkan fraksi yang lebih besar. Fraksi aktif dimurnikan dengan rekristalisasi berulang-ulang sampai didapatkan noda yang tunggal dengan berbagai perbandingan eluen.

3.5.3. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pemeriksaan kimia dan fisika, yaitu dengan pengujian fitokimia, titik leleh, Kromatografi gas (GC), pengukuran dengan spektroskopi ultraviolet (UV-Vis), dan Inframerah.

Pereaksi Lieberman-burchard digunakan untuk mengidentifikasi terpenoid yang ditandai dengan terbentuknya warna ungu.

Penentuan titik leleh menggunakan melting point apparatus (fisher Jhon) dengan memasukkan sedikit kristal senyawa hasil isolasi kedalam pipa kapiler dan ditempatkan pada alat. Alat dihidupkan dan diatur kenaikan suhu sedikit demi sedikit. Catat suhu saat kristal mulai meleleh dan saat meleleh sempurna.

Spektrum UV dari senyawa isolasi diperoleh dari pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis pharماسpec 1700 shimadzu. 1mg senyawa hasil isolasi di larutkan dalam 100mL metanol. Alat spektrofotometer diatur daerah serapannya antara 200 – 400 nm. Larutan senyawa hasil isolasi dimasukkan kedalam cuvet dan diukur serapannya dan tentukan serapan maksimumnya.

Larutan hasil pengukuran spektroskopi UV-Vis digunakan untuk pengukuran GC.

Spektrum inframerah dari senyawa hasil isolasi diperoleh dari pengukuran menggunakan spektroskopi inframerah FTIR Perkin Elmer 1600 series. 1 mg sampel dengan 100 mg KBr sampai homogen. Kemudian dijadikan pelet dengan memberikan tekanan tinggi. Letakkan pelet pada alat spektrofotometri inframerah dan ukur spektranya.

Skema kerja dari isolasi terpenoid dari ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* ini terdapat pada Lampiran 1.

3.6. Uji Antioksidan Ekstrak Kulit Batang *Shorea singkawang*

Untuk pembuatan larutan DPPH, ditimbang 1,97 mg DPPH yang dilarutkan dalam 100 mL metanol sehingga didapatkan larutan DPPH 50 μ M. 50mg fraksi dilarutkan di dalam 50 mL metanol sehingga didapatkan larutan sampel masing-masing fraksi dengan konsentrasi 0,1%.

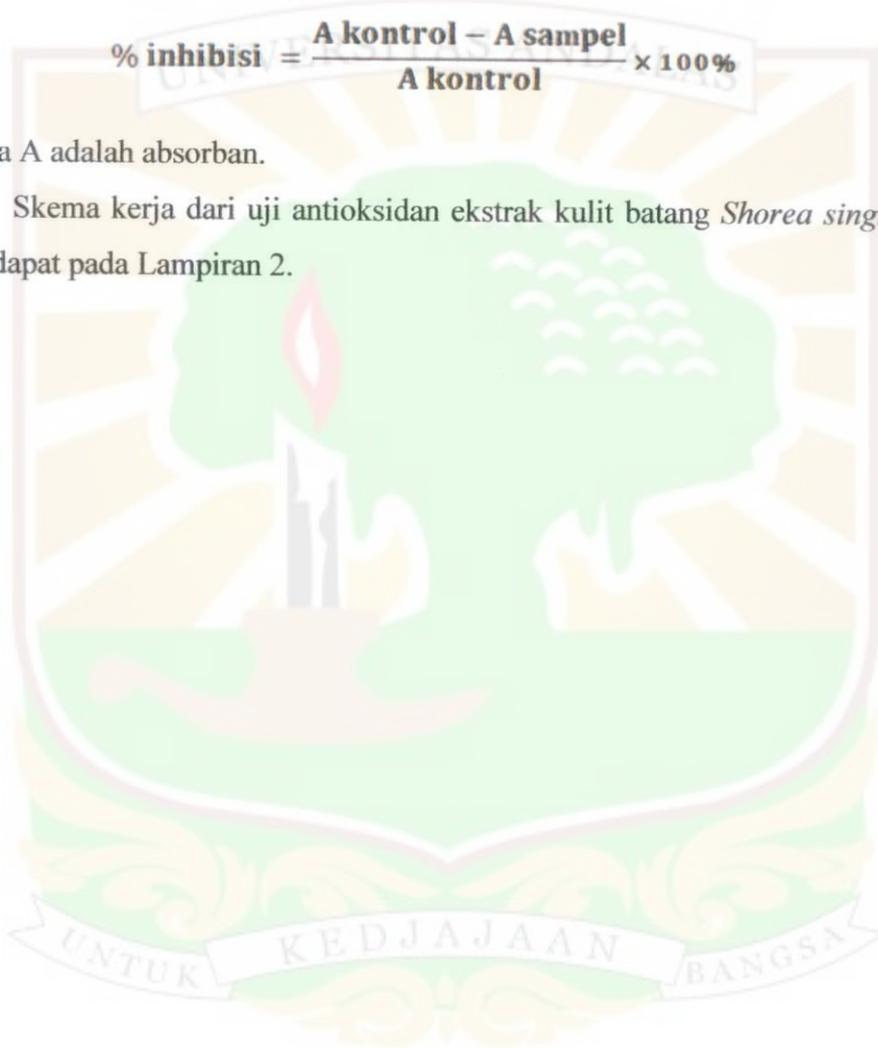
Sebanyak 0,2 mL larutan sampel ditambahkan dengan 3,8 mL DPPH 50 μ M. Setelah itu, sampel diletakkan ditempat gelap selama 30 menit dan diukur absorbannya pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai kontrol digunakan 3,8mL larutan DPPH 50 μ M yang ditambahkan 0,2 mL metanol.

Larutan uji fraksi etil asetat dibuat dengan beberapa konsentrasi, yaitu 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5%. Kemudian dilakukan pengujian antioksidannya. % inhibisi dihitung dengan rumus,

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

dimana A adalah absorban.

Skema kerja dari uji antioksidan ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* ini terdapat pada Lampiran 2.



IV. HASIL DAN DISKUSI

4.1. Pengujian Profil Fitokimia Kulit Batang *Shorea singkawang*

Hasil pengujian kandungan metabolit sekunder (alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, fenolik, dan kumarin) dari kulit batang *Shorea singkawang*, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengujian profil fitokimia kulit batang *Shorea singkawang*

No.	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
1	Alkaloid	Meyer	Tidak terbentuk endapan putih	(-)
2	Flavonoid	Sianidin test	Larutan orange-merah	(+)
3	Steroid	Lieberman-burchad	Tidak terbentuk larutan biru	(-)
4	Triterpenoid	Lieberman-burchad	Larutan merah ungu	(+)
5	Fenolik	FeCl ₃	Larutan biru/ungu	(+)
6	Saponin	H ₂ O	Tidak terbentuk busa	(-)
7	Kumarin	NaOH 2%	Fluorisensi semakin terang/KLT	(-)

(+) : memiliki kandungan metabolit sekunder

(-) : tidak memiliki kandungan metabolit sekunder

Dari data tersebut dapat diketahui bahwa *Shorea singkawang* mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, triterpenoid, dan fenolik. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian fitokimia yang telah dilakukan terhadap genus *Shorea*, dilaporkan adanya senyawa-senyawa golongan flavonoid, fenilpropanoid, asam fenolik,³ dan terpenoid.⁴

4.2. Isolasi Terpenoid dari Ekstrak Kulit Batang *Shorea singkawang*

4.2.1. Ekstraksi Kulit Batang *Shorea singkawang*

Sebanyak 2,5 kg sampel kering kulit batang *Shorea singkawang* di haluskan untuk memperluas permukaan sampel sehingga kontak antara sampel dan pelarut semakin luas serta mempermudah penetrasi pelarut ke dalam membran sel. Ekstraksi sampel dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan metode ampas. Proses maserasi dimulai

dengan menggunakan pelarut yang bersifat non polar sampai pelarut yang bersifat polar.

Pada tahap awal, maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 4 kali dan masing-masing dilakukan selama 3 hari. Pada ekstraksi bahan kering ini digunakan n-heksan karena dapat menarik semua jenis senyawa yang bersifat non polar, seperti klorofil, lemak, dan lignin serta senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel. Tahap maserasi selanjutnya dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 4 kali dan masing-masing dilakukan selama 3 hari. Tahap maserasi terakhir dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 5 kali dan masing-masing dilakukan selama 3 hari.

Filtrat masing-masing hasil maserasi dipekatkan dengan rotari evaporator. Hasil maserasi dengan n-heksan, etil asetat, dan metanol diperoleh tiga fraksi seperti tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari hasil ekstraksi kulit batang *Shorea singkawang*

No.	Fraksi	Berat	Warna
1	n-heksan	8 gram	kuning
2	Etil asetat	20 gram	coklat
3	Metanol	31 gram	merah

4.2.2. Pemurnian Fraksi Etil asetat Kulit Batang *Shorea singkawang*

Pemurnian fraksi etil asetat dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom dengan menggunakan silika gel. Sebanyak 10 gram fraksi etil asetat di preadsorpsi dengan silika gel(1:1). Penentuan pelarut untuk kromatografi kolom dilakukan dengan mengelusi ekstrak etil asetat dengan berbagai perbandingan eluen agar mendapatkan noda yang terpisah lebih baik. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil kromatografi lapis tipis fraksi etil asetat dengan berbagai perbandingan eluen

No.	Eluen	Rasio volume	Pola noda
1	n-heksan	100%	tidak naik
2	n-heksan : diklorometan	(8 : 2)	1 noda <i>tailing</i>
3	n-heksan : diklorometan	(6 : 4)	3 noda <i>tailing</i>
4	n-heksan : diklorometan	(4 : 6)	3 noda <i>tailing</i>
5	n-heksan : diklorometan	(2 : 8)	3 noda <i>tailing</i>
6	diklorometan	100%	3 noda <i>tailing</i>
7	diklorometan : etil asetat	(8 : 2)	4 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
8	diklorometan : etil asetat	(6 : 4)	4 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
9	diklorometan : etil asetat	(4 : 6)	3 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
10	diklorometan : etil asetat	(2 : 8)	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
11	etil asetat	100%	2 noda naik
12	etil asetat : metanol	(8 : 2)	1 noda <i>tailing</i>
13	etil asetat : metanol	(6 : 4)	1 noda <i>tailing</i>
14	etil asetat : metanol	(4 : 6)	1 noda <i>tailing</i>
15	etil asetat : metanol	(2 : 8)	1 noda <i>tailing</i>
16	metanol	100%	1 noda <i>tailing</i>

Berdasarkan uji kromatografi lapis tipis yang dilakukan tidak diperoleh pemisahan noda yang baik pada berbagai perbandingan pelarut. Untuk itu maka dilakukan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel dan menggunakan sistem pelarut elusi bergradien atau *step gradient polarity* (SGP). Perbandingan eluen dimulai dari pelarut yang non polar (n-heksan) hingga pelarut yang polar (metanol) dengan volume tiap perbandingan adalah 200 mL.

Hasil kromatografi kolom ditampung dalam vial dan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Berdasarkan hasil kromatografi lapis tipis, fraksi-fraksi yang memiliki pola noda yang sama digabung menjadi fraksi yang lebih besar, sehingga didapatkan 13 fraksi, dan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penggabunan fraksi dari kromatografi kolom berdasarkan pola noda

Fraksi	No. Vial	Pola Noda
I	6-20	2 noda naik
II	21-35	3 noda naik
III	36-40	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
IV	41-65	1 noda naik
V	66-80	2 noda naik
VI	81-101	3 noda naik
VII	102-115	2 noda naik
VIII	116-140	2 noda naik
IX	141-156	1 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
X	166-196	1 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
XI	197-215	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
XII	216-217	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
XIII	218-234	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>

Berdasarkan hasil kromatografi lapis tipis di ketahui fraksi IV memberikan pola noda yang sederhana. Ketika dilakukan KLT dan dimonitor dengan menggunakan lampu UV diketahui terdapat satu noda tunggal. Setelah itu dilakukan pengujian dengan penampak noda menggunakan pereaksi Lieberman-burchad diketahui lagi terdapat satu noda yang berwarna ungu. Hal ini menandakan senyawa tersebut mengandung terpenoid.

Proses pemurnian dilakukan dengan pencucian menggunakan n-heksan. Padatan yang didapatkan pada fraksi IV ditambahkan dengan pelarut heksan. Setelah dilakukan pengocokan terdapat sebagian komponen yang larut dan sebagian komponen lainnya tidak larut. Campuran ini dipisahkan. Komponen yang tidak larut tersebut ditambahkan pelarut diklorometan sehingga semua komponen tersebut larut. Dari hasil KLT dan dimonitor dengan lampu UV tidak memberikan noda sedangkan dengan penampak noda Lieberman-burchad diketahui terdapat noda tunggal. Komponen yang larut dalam diklorometan tersebut diuapkan pelarutnya dan didapatkan padatan putih dan diukur titik lelehnya.

4.2.3. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dan Pemurnian Dari Fraksi Etil asetat Kulit Batang *Shorea singkawang*

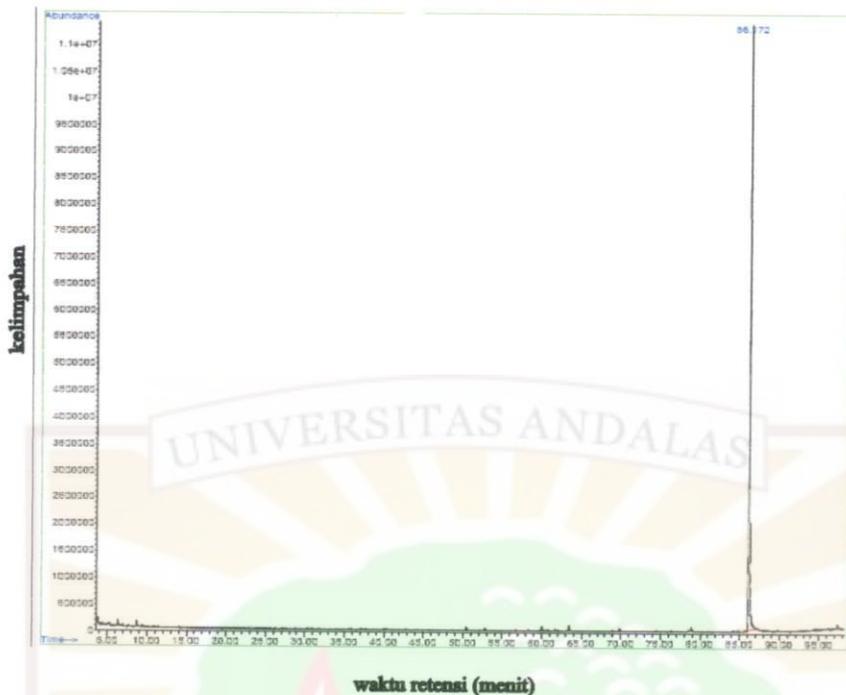
Senyawa hasil isolasi ini berupa padatan berwarna putih dengan titik leleh 140-142°C. Hasil pengujian dengan pereaksi Lieberman-burchad memberikan warna ungu yang menunjukkan senyawa ini golongan terpenoid. Berdasarkan jarak titik leleh, kristal ini dapat dikatakan murni karena memberikan jarak titik leleh yang cukup pendek.

Padatan putih tersebut juga diuji kemurniannya dengan kromatografi lapisan tipis dengan berbagai komposisi eluen dan juga dilakukan pengelusian berulang-ulang memperlihatkan noda tunggal. Berdasarkan percobaan tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi relatif murni dan siap dilakukan pengukuran spektroskopi. Nilai Rf senyawa hasil isolasi dengan berbagai komposisi eluen seperti tercantum pada Tabel 6.

Tabel 6. Harga Rf dengan menggunakan beberapa eluen

No	Eluen	Rf
1	n-heksan : diklorometan (4 : 6)	0,10
2	n-heksan : diklorometan (2 : 8)	0,32
3	diklorometan 100%	0,43
4	diklorometan : etil asetat (8 : 2)	0,71
5	diklorometan : etil asetat (6 : 4)	0,80

Selain itu, pengujian kemurnian juga dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas. Persentase kemurnian senyawa dinyatakan dengan persentase luas area puncak. Kromatogram dari pengukuran dengan kromatografi gas dapat dilihat pada Gambar 4.



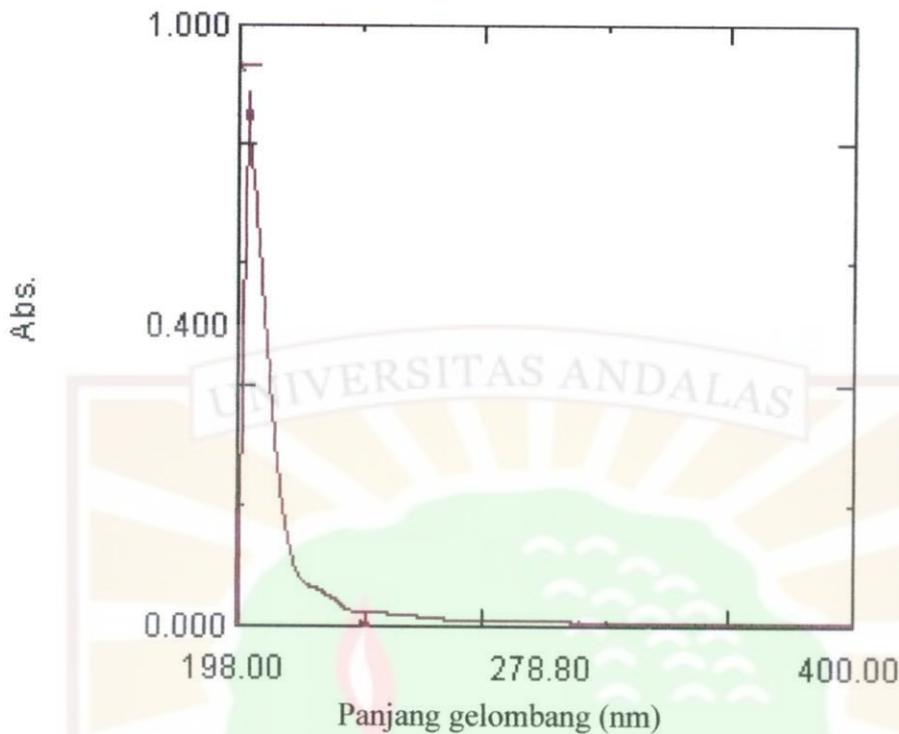
Gambar 4. Kromatogram karakterisasi dengan GC senyawa hasil isolasi

Berdasarkan kromatogram diketahui didapat 1 puncak pada waktu retensi 86.172 menit . Hal ini menunjukkan senyawa hasil isolasi sudah relatif murni.

Karakterisasi senyawa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pharmaspec 1700 shimadzu . Spektrum UV biasanya diperoleh dengan melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu melalui larutan encer senyawa tersebut dalam pelarut yang tidak menyerap cahaya pada panjang gelombang tersebut (misalnya air, Metanol, Etanol, dan n-heksan).

Penggunaan MeOH sebagai pelarut dalam pengukuran spektrum UV ini dikarenakan senyawa hasil isolasi larut baik dalam MeOH, di samping itu merupakan pelarut polar dan lebih berikatan hidrogen dibandingkan pelarut non polar. Energi yang diperlukan untuk transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ pada molekul dalam pelarut polar lebih kecil dari pada energy yang diperlukan untuk transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ pada molekul dalam pelarut non polar. Oleh karena itu keadaan tereksitasi akan lebih dimantapkan oleh MeOH daripada keadaan dasar dan absorpsi akan terjadi pada panjang gelombang yang lebih stabil dan optimum.

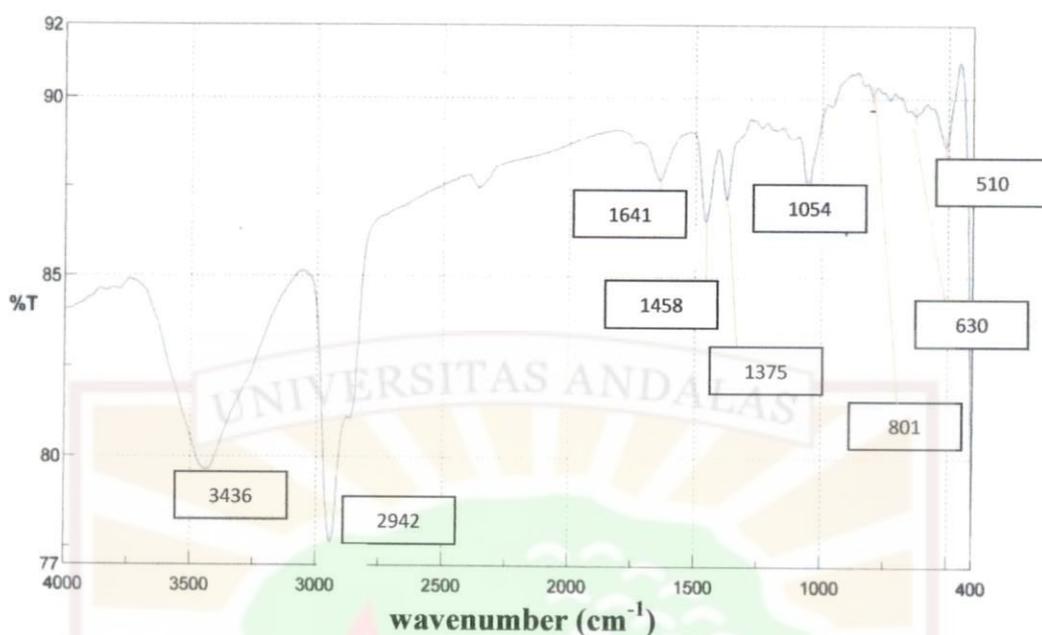
Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang λ_{maks} 201 nm



Gambar 5. Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi

Umumnya senyawa yang mempunyai transisi $\sigma \rightarrow \sigma^*$ mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 150 nm, senyawa yang mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (tidak berkonyugasi) mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 190 nm, sedangkan senyawa yang mempunyai transisi $n \rightarrow \pi^*$ mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 300 nm. Berdasarkan pita serapan maksimum yang diperoleh dari spektrum UV, yaitu pada λ_{maks} 201 nm, ini mengindikasikan tidak adanya ikatan rangkap berkonyugasi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi.¹⁷

Hasil karakterisasi menggunakan FT-IR memperlihatkan beberapa pita serapan penting pada panjang gelombang 3436, 2942, 1641, 1458, 1375, 1054, 801, 630, dan 510 cm^{-1} , seperti yang ditunjukkan pada gambar 6.



Gambar 6. Spektrum IR senyawa hasil isolasi

Spektrum inframerah senyawa hasil isolasi memberikan interpretasi data yaitu beberapa serapan penting pada daerah bilangan gelombang 3436 cm^{-1} yang menunjukkan adanya regangan OH. Regangan C-O eter ditunjukkan pada daerah gelombang 1054 cm^{-1} . Adanya $-\text{CH}_2$ dan $-\text{CH}_3$ ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 2942 cm^{-1} , yang didukung dengan adanya tekukan $-\text{CH}_3$ pada bilangan gelombang 1458 cm^{-1} . Geminal dimetil (dua gugus metil pada karbon yang sama) yang merupakan serapan khas senyawa golongan terpenoid ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1375 cm^{-1} ($1360\text{-}1385\text{ cm}^{-1}$), dimana serapan geminal dimetil biasanya pecah menjadi dua puncak dengan intensitas yang sama, tapi kedua puncak ini tidak selalu tampak pada semua spektra, kadang-kadang hanya satu puncak tunggal.¹⁸

Dari uraian data UV, IR, dan GC diatas dapat diperkirakan bahwa senyawa terpenoid hasil isolasi merupakan senyawa terpenoid yang memiliki substituen $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ dan geminal dimetil serta memiliki kemurnian sebesar 96%.

4.3. Uji Antioksidan Ekstrak Kulit Batang *Shorea singkawang*

Pada pengujian awal uji antioksidan ini ditentukan terlebih dulu panjang gelombang maksimum DPPH. Dari hasil pengukuran didapatkan panjang gelombang DPPH λ_{maks} adalah 515,10 nm. Panjang gelombang ini digunakan untuk pengukuran absorban larutan sampel.

Dari 3,8 mL larutan DPPH 50 μ M yang ditambahkan dalam 0,2 mL metanol digunakan sebagai kontrol didapatkan absorban sebesar 0,396. Dari hasil pengukuran absorban fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol diperoleh absorban dari masing-masing sampel yang dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil pengukuran absorban dan % inhibisi dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol ekstrak kulit batang *Shorea singkawang*

No	Fraksi (konsentrasi 0,1%)	Absorban	% Inhibisi
1	n-heksan	0,456	-
2	etil asetat	0,171	56,8
3	metanol	0,0295	92,6

Berdasarkan Tabel 6. diketahui bahwa fraksi n-heksan memiliki absorban yang lebih besar dari pada kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi n-heksan tidak memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Sedangkan fraksi etil asetat dan metanol menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik.

Terhadap fraksi etil asetat dilanjutkan pengujian aktivitas antioksidan dari beberapa konsentrasi, yaitu 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5 %. Berdasarkan hasil pengukuran absorban didapat % inhibisi seperti yang terlihat pada Tabel 8. Cara perhitungan dan regresi (antara konsentrasi sampel dengan % inhibisi) dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 8. Hasil pengukuran absorban dan % inhibisi fraksi etil asetat ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* pada beberapa konsentrasi

No	Konsentrasi (%)	Absorban	% Inhibisi
1	0,05	0,223	43,7
2	0,1	0,171	56,8
3	0,2	0,152	61,6
4	0,3	0,108	72,7
5	0,4	0,077	80,5
6	0,5	0,029	92,6

Berdasarkan % inhibisi yang didapat dihitung EC_{50} dari fraksi etil asetat ini, yaitu konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Didapatkan EC_{50} sebesar 0.075%. Hal ini berarti dengan konsentrasi 0.075% fraksi etil asetat ekstrak *Shorea singkawang* dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa terpenoid diperoleh dari fraksi etil asetat ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* berupa padatan berwarna putih dengan titik leleh 140-142°C. Berdasarkan data GC diketahui terdapat 1 puncak yang menandakan senyawa tersebut murni. Senyawa ini diperkirakan memiliki gugus -OH, -CH₂, -CH₃, dan geminal dimetil namun belum diketahui posisi dari gugus-gugus tersebut. Fraksi etil asetat dari ekstrak kulit batang *Shorea singkawang* memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik, dengan nilai EC₅₀ sebesar 0,075%.

5.2. Saran

Untuk menentukan struktur dari senyawa terpenoid hasil isolasi ini disarankan untuk melengkapi data ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Selain itu perlu juga dilakukan pengujian aktivitas biologi yang lain terhadap ekstrak kulit batang *Shorea singkawang*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sri Atun, Hopeafenol-O-glukosida, Senyawa Hasil Isolasi dari Kulit Batang *Anisoptera marginata* (Dipterocarpaceae), *Indo. J. Chem.*, 9 (1), (2009), 151-157.
2. Noviany, et.al., Beberapa Oligomer Stilbenoid dari Tumbuhan *Shorea multiflora* Burck, *Jurnal Matematika dan Sains*, Vol.8 No.2, (2003), 125-132.
3. Saha, P.K and Ganguly, S.N., Shorbic Acid, A New Phenolic from Seeds of *Shorea Robusta*, *Fitoterapia*, 50 (1), (1979), 7-9.
4. Zheng, Zhebin, Zhao, S. Deng, J. Zhao, H. Ye, W, and Wang, M., Triterpenes from Root Bark of *Shorea Wangianshuea*, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 25 (5), (1994), 262-264.
5. Hegnaeur, R, Chemataxonomic Der Planzen II, *Birkaiser Band 4. Verlag Basel und Stuttgart*, (1967), 31-39.
6. Nicolaus, N. A., L. K. Darusman, dan E. A. Husaeni, Pemisahan dan Isolasi Terpenoid dari Serbuk Gergaji dan Kulit *Shorea leprosula* Miq sebagai Antirayap, *Karya Ilmiah*, FMIPA IPB Bogor, (1994).
7. Aminah, N.S., Achmad, S.A., Hakim, E.H.,Syah, Y.M., Julyawati, L.D., dan Ghisalberty, E.L., Laevifonol, Diptoindonesin A, dan Ampelopesin A, Tiga dimer Stilbenoid dari Kulit Batang *Shorea seminis* V. SI. (Dipterocarpaceae), *Jurnal Matematika dan Sains*, 8 (1), (2003), 31-34.
8. Muhtadi, Fitokimia Beberapa Spesies Dipterocarpaceae Indonesia, *Thesis*, (2007).
9. Euis Holiston Hakim, et.al., Aktivitas Antioksidan dan Inhibitor Tirosinase Beberapa Stilbenoid dari Tumbuhan Moraceae dan Dipterocarpaceae yang Potensial untuk Bahan Kosmetik, *Jurnal Matematika dan Sains*, vol.13 no.2, (2008).
10. Soerianegara, I. dan RHMJ. Lemmens (eds.), *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 5 (I) Pohon Penghasil Kayu Perdagangan yang Utama*, Jakarta: PROSEA- Balai Pustaka, 2002, 415-438.

11. Robinson, T., *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 1995, 139-178.
12. Ibrahim, S., *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Padang:Pasca Sarjana Universitas Andalas, 1998, 9-21.
13. Day, R. A dan Underwood, A. L. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Terjemahan Dr. Ir. Iis Sopyan, M. Eng. Penerbit Erlangga, Jakarta, 2001, 570-571.
14. Gritter, R. J., M. Boobit, and A. E. Schwarting, *Pengantar Kromatografi*, Penerbit ITB, Bandung, 1991.
15. Creswell, C. J. et.al., *Analisis Spektrum Senyawa Organik*, Terjemahan K. Padmawita dan Iwang, ITB, Bandung, 1982, 26-72.
16. Ilham Kuncahyo, Sunardi, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) terhadap 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH), *Seminar Nasional Teknologi*, (2007).
17. Fessenden, R. J and Fessenden, J. S., *Kimia Organik Jilid II*, Terjemahan Aloysius Handyana Pudjaatmaka Ph.D., Penerbit Erlangga, Jakarta, 1982, 436-439.
18. Fessenden, R. J and Fessenden, J. S., *Kimia Organik Jilid I*, Terjemahan Aloysius Handyana Pudjaatmaka Ph.D., Penerbit Erlangga, Jakarta, 1982, 310-327.