

ISOLATION AND IDENTIFICATION COMPOUND FROM CYTOTOXIC ACTIVE FRACTION OF STEM BARK KEMEYAN (*Styrax benzoin* Dryander)

Muharni, Elfita, Feriska
Departement of Chemistry FMIPA Sriwijaya University

*The isolation of cytotoxic active of stem bark kemeyan (*Styrax benzoin* Dryander) on ethyl acetic fraction has been done by extraction methode using solution with increasing polarity; n-heksana, ethyl acetic, and methanol. Cytotoxic test of fraction given result LC_{50} 1,6194 ppm. The separation and purification of active compound from ethyl acetic fraction has been done by chromatography technics. The separation and purification result gained the white crystal with melting point 118-119°C with LC_{50} 92 ppm showed cytotoxicid activite. The analysis ultraviolet spectrum gave maximum absorption at 314,2 nm that showed that congugated C=C. Infra red spectrum showed peaks of absorbance for OH, C-H aromatic, C-H alifatic, C=C conjugated and C=O. GC chromatogram showed one peak with retention time 6,87 minutes. Mass spectrum showed base peak at m/z 282 and molekuler ion peak at m/z 342. From data spectroscopies suggested that the isolated result compound is derivated of phenolat with 342 an molecule formula. Which it have groups function OH, conjugated C=C, C=O, and also have aromatic function at disubstituen of meta position.*

Keywords: *Isolation, Fraction, Cytooxict test, purification*

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIA DARI FRAKSI AKTIDF SITOTOKSIK KULIT BATANG KEMENYAN (*Styrax benzoin* Dryander)

Muharni, Elfita, Feriska
Jurusan Kimia FMIPA Univewrsitas Sriwijaya

ABSTRAK

*Telah diisolasi senyawa aktif sitotoksik dari fraksi etil asetat kulit batang kemenyan (*Styrax benzoin* Dryander) dengan metoda ekstraksi menggunakan pelarut dengan kepolaran meningkat yaitu n-heksana, eti lasetat dan metanol. Uji sitotoksik fraksi-fraksi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memberikan nilai LC_{50} 1,6194 ppm. Isolasi senyawa aktif sitotoksik dari fraksi etil asetat dilakukan dengan teknik-teknik kromatografi. Hasil pemisahan dan pemurnian didapat kristal berwarna putih dengan titik leleh 118-119°C dengan LC_{50} 92 ppm,*

yang menunjukkan aktif sitotoksik. Uji fitokimia pada plat KLT positif dengan H_2SO_4 10%. Analisa dari spektrum UV memberikan puncak pada panjang gelombang 314,2 nm yang menunjukkan adanya ikatan $C=C$ terkonyugasi. Spektrum IR memberikan serapan untuk gugus OH, C-H aromatik, C-H alifatik, $C=C$ terkonyugasi dan $C=O$. Kromatogram GC menunjukkan 1 puncak dengan waktu retensi 6,87 menit. Spektrum massa memberikan puncak dasar pada m/z 282 dan puncak ion molekul pada m/z 342. Berdasarkan hasil uji fitokimia dan data spektroskopi diatas diusulkan senyawa hasil isolasi adalah turunan fenolat dengan BM 342 yang memiliki gugus OH, ikatan rangkap $C=C$ terkonyugasi, $C=O$, serta gugus aromatik disubstitusi pada posisi meta

Kata kunci: Isolasi, fraksi, uji sitotoksik, purifikasi

PENDAHULUAN

Tumbuhan kemenyan (*Styrax benzoin* Dryander) merupakan famili *Styracaceae* yang banyak ditemukan di hutan desa Raksa Jiwa, kabupaten Ogan Komering Ulu (OKU), Sumatera Selatan. Tumbuhan ini telah digunakan oleh masyarakat setempat untuk berbagai macam produk yang bermanfaat, diantaranya untuk obat setinggi (dibakar), obat batuk, obat luka koreng, desinfektan dan bahan pengawet (mencegah tengik). Damar (cairan) yang keluar dari batang kemenyan mempunyai bau yang khas (enak), yang banyak digunakan sebagai setinggi, bahan dasar kosmetik, untuk pengolahan salep yang wangi dan sebagai bahan pengawet sehingga tidak menjadi tengik. (Heyne, 1987).

Studi literatur yang dilakukan telah dilaporkan bahwa tumbuhan *Styrax benzoin* Dryander mengandung senyawa turunan fenil propanoid yaitu; asam sinamat, sinamal dehid, fenil propil sinamat, benzil sinamat, kelompok senyawa phenol antara lain; 4-hidroksi benzal dehid, 4-hidroksi-3-metoksi asam benzoat, vanilin, koniferil alkohol, koniferil benzoat, kumaril alkohol, kelompok senyawa triterfenoid yaitu; sumaresinol, senyawa steroid yaitu; stirol, selain itu juga mengandung asam benzoat, benzal dehid (Heyne, 1987). Disamping itu, *Styrax benzoin* Dryander juga mengandung senyawa lignan tipe podofillotoksin yang memiliki aktifitas bioaktif (Bonor, 1998).

Komponen lainnya yang terdapat pada tumbuhan *Styrax benzoin* Dryander dapat diketahui dan dapat ditingkatkan potensinya, oleh karena itu peneliti tertarik

untuk menguji aktivitas sitotoksik dari ekstrak kulit batangnya dan mengisolasi komponen kimia yang terdapat pada fraksi yang aktif sitotoksik tersebut. Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metoda BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) larva udang *Artemia Salina* Linn merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menguji senyawa yang bersifat sitotoksik (Mayer, 1982).

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas sitotoksik dari ekstrak kulit batang kemenyan (*Styrax benzoin* Dryander) dan mengisolasi komponen kimia yang terdapat pada fraksi yang aktif tersebut. Terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan identifikasi dengan uji fitokimia, spektroskopi ultraviolet, inframerah dan paduan kromatografi gas-spektroskopi massa serta pengukuran titik leleh.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Penelitian Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam , Universitas Sriwijaya dari bulan Maret 2003 sampai dengan bulan September 2003. Analisa menggunakan alat

Spektroskopi yaitu UV visibel dan GC-MS di P3TIR BATAN Pasar Jumat Jakarta, serta IR di Institut Teknologi Bandung.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi, maserator, rotary evaporator R-114 Buchi dengan sistem vakum Buchi B-169, corong pisah, kertas saring, chamber, pipet kapiler (untuk penotolan), neraca analitis, kolom kromatografi gravitasi, mikroplat, mikropipet, Fisher John Melting Point Apparatus, lampu UV, dan peralatan gelas lainnya yang lazim digunakan di laboratorium kimia. Spektrofotometer IR Perkin Elmer 1600, Spektrofotometer UV Visibel Hewlett Packard dan spektrometer GC-MS.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang tumbuhan kemenyan (*Styrax benzoin* Dryander), metanol teknis dan p.a, etil asetat teknis dan p.a, n-heksana teknis dan p.a, aseton, DMSO (dimetil sulfoksida), plat KLT silika gel GF 254, silika gel G 60 70-230 mesh, pereaksi fitokimia, NaCl, serium sulfat 1,5%, uap iodium, H₂SO₄ 10 %, FeCl₃ 1 %, media uji hayati dan larva udang *Artemia salina*.

Sampel kulit batang *Styrax benzoin* Dryander sebanyak 1 kg diambil dari hutan desa Raksa Jiwa, Kecamatan Semidang Aji, Kabupaten Ogan Komering Ulu (OKU), sampel dibersihkan, dipotong-potong dan dikering anginkan pada temperatur kamar kemudian digiling halus. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Padang. Sebanyak 500 gram bubuk kulit batang *Styrax benzoin* Dryander yang telah digiling halus diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut dengan kepolaran meningkat yaitu n-heksana, etil asetat dan metanol. Maserasi dilakukan sampai pelarut terakhir terlihat bening dan selanjutnya disaring. Masing-masing filtrat yang diperoleh dipisahkan, ditimbang dan dilakukan uji aktivitas sitotoksik untuk mengetahui fraksi yang menunjukkan aktivitas paling tinggi.

Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metoda "Brine Shrimp Lethality Test" dilakukan dengan cara Telur *Artemia salina* (± 15 mg) ditetaskan didalam air garam (± 500 ml) yang ditempatkan dalam wadah yang terdiri dari 2 bagian yang berhubungan, bagian terang dan bagian gelap.

Telur *Artemia salina* dimasukkan dalam bagian gelap dan dibiarkan menetas. Setelah 48 jam baru digunakan sebagai hewan uji.

Uji sitotoksik dilakukan terhadap ekstrak hasil maserasi. Konsentrasi larutan uji adalah konsentrasi mulai dari 1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,2 ; 15,6 ; dan 7,8 ppm dengan pengukuran triplo. Setiap kelompok konsentrasi larutan uji disertai dengan blanko sebagai pembanding. Blanko hanya berisi pelarut yang digunakan dalam membuat larutan uji. Pengisian blanko dengan pelarut sama jumlahnya dengan pengisian pada larutan uji yang hendak dibandingkan. Sampel sebanyak 2 mg dilarutkan dengan 100 μ l DMSO, kemudian diencerkan dengan 400 μ l aquadest, sehingga volume total menjadi 500 μ l. Diambil 400 μ l lalu diencerkan dengan 400 μ l aquadest, volume total menjadi 800 μ l.

$$\text{Konsentrasi sampel menjadi} = \frac{(400/500) \times 2 \text{mg}}{800 \mu\text{l}} = \frac{1,6 \text{mg}}{800 \mu\text{l}} = 2 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{l}}$$

Pengenceran selanjutnya dilakukan dalam mikroplate, yaitu mikroplate baris A dan B diisi sampel masing-masing 100 μ l. Sedangkan pada baris C sampai H

ditambahkan 100 µl aquadest. Kemudian dari baris B dipipet 100 µl dan dimasukkan kebaris C dan dari baris C dipipet lagi 100 µl dimasukkan ke baris D dan seterusnya sampai baris H, dan terakhir dari baris H ini masing-masing dibuang 100 µl. Kemudian kedalam masing-masing lubang dalam mikroplate baris A-H (sampel uji dan blanko) dipipetkan 100 µl media udang yang sudah menetas (berisi ± 7-15 ekor udang). Pengamatan efek toksik dilakukan dengan cara menghitung jumlah *Artemia salina* yang mati dalam selang 24 jam perlakuan, dan data yang diperoleh dihitung menggunakan program BLISS.

Pemisahan dan pemurnian komponen dalam fraksi aktif dilakukan dengan kolom kromatografi, dan fasa gerak yang dipakai dari pelarut yang non polar sampai pelarut polar secara bergradien. Ekstrak kental fraksi etil asetat sebanyak 2 g dikromatografi kolom grafitasi menggunakan fasa diam silika gel G 60 70-230 mesh, diameter kolom 2 cm dengan cara preabsorpsi, menggunakan perbandingan silika 1 : 25 dan kecepatan alir 25 tetes/menit dan setiap 10 ml eluat ditampung dalam vial-vial. Setiap vial dilakukan KLT dengan

penmpak noda uap iod, vial-vial dengan pola noda yang sama dikelompokkan dalam satu fraksi kolom, diuapkan dan ditimbang, didapat 10 fraksi. Fraksi kolom 6 yang menunjukkan terbentuknya kristal, setelah di KLT menunjukkan ada 3 noda, terhadap fraksi ini dilakukan kromatografi kolom kedua, dan Terhadap fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom dilakukan uji aktivitas sitotoksik.

Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan KLT menggunakan berbagai eluen, dan pengukuran titik leleh. Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan uji fitokimia, spektroskopi IR, UV dan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel kering kulit batang *Styrax benzoin* Dryander (500 g) telah dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana, etil-asetat dan metanol. Cara maserasi yang dipakai guna menghindari kemungkinan rusaknya senyawa aktif yang dicari oleh pengaruh suhu. Hasil tiap fraksi tersebut dipekatkan dengan rotary evaporator, didapat fraksi n-heksana 5,21 g, fraksi etil asetat 6,75 g dan fraksi metanol 8,15 g. Masing-masing fraksi

diuji aktivitas sitotoksik dan hasil yang diperoleh tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas sitotoksik masing-masing fraksi kulit batang *Styrax benzoin* Dryander

Fraksi	n-heksana	Etil asetat	Metanol
LC ₅₀	2 ppm	1,6194 ppm	22 ppm

Pada tabel diatas terlihat bahwa fraksi yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi adalah fraksi etil asetat diikuti fraksi n-heksana dan fraksi metanol. Semua fraksi menunjukkan aktif sitotoksik karena menurut Meyer dkk (1982), ekstrak tanaman mempunyai aktivitas sitotoksik jika memiliki LC₅₀ < 1000 ppm dan senyawa murni dikatakan aktif sitotoksik jika nilai LC₅₀ nya < 100 ppm. Fraksi etil asetat mempunyai nilai LC₅₀ 1,6194 ppm, berarti

fraksi etil asetat bersifat sangat aktif sitotoksik, dimana dengan konsentrasi senyawa 1,6194 ppm sudah dapat mematikan 50 % larva udang *Artemia Salina*. Hasil pengkoloman dari 2 g ekstrak etil asetat setelah dilakukan uji KLT dengan penampak noda uap iodine didapatkan 10 fraksi. Tiap fraksi kolom telah dilakukan uji aktivitas sitotoksik untuk mengetahui fraksi kolom aktif. Hasilnya tertera pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik fraksi kolom etil asetat

Fraksi kolom	No.vial	Berat (mg)	LC ₅₀ (ppm)
F1	1-17	103,5	3
F2	18	235,6	1,0423
F3	19-37	159	1,5237
F4	38-52	102	16

F5	53-70	75,2	22
F6	71-96	567,9	11
F7	97-103	82,5	15
F8	104-117	127	45
F9	118	72,6	48
F10	119-175	377,2	36

Fraksi kolom yang memiliki aktivitas sitotoksik paling tinggi adalah fraksi kolom 2 diikuti oleh fraksi kolom 3, dan dari hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi kolom ternyata semua fraksi memiliki aktivitas sitotoksik. Pengerjaan selanjutnya dilakukan terhadap F6 karena pada fraksi 6 terbentuk kristal putih

kekuningan yang belum murni. Hasil pengoloman kembali terhadap F6, setelah dilakukan uji KLT dengan penampakan noda uap iodium juga didapatkan 3 fraksi dan setelah dilakukan uji aktivitas sitotoksik memberikan nilai LC_{50} seperti tertulis pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil kolom kedua dan hasil uji aktivitas sitotoksik kolom kedua fraksi 6

No vial	Fraksi	Berat (mg)	Keterangan	LC_{50} (ppm)
1-8	F6.1	71,9	Gum Kuning	42
9-19	F6.2	423,2	Kristal bubuk putih	15
20-42	F6.3	47,7	Cairan agak kuning	26

Hasil uji sitotoksik kolom kedua fraksi 6, ternyata semua fraksi menunjukkan aktif sitotoksik, dan yang paling aktif sitotoksik adalah fraksi 6.2 yaitu memberikan nilai LC_{50} 15 ppm. Uji KLT yang dideteksi

dengan lampu UV 366 nm dari ketiga fraksi diatas ternyata F6.2 menunjukkan 1 noda yang tidak bulat. Selanjutnya untuk F6.2 dilakukan pemurnian dengan cara dicuci dengan etil asetat dan diperoleh 97,9 mg

kristal bubuk berwarna putih. Uji kemurnian senyawa hasil isolasi menggunakan KLT dengan berbagai variasi eluen menunjukkan 1 noda dengan penampak noda serium sulfat

1,5 % yang berarti senyawa hasil isolasi sudah murni. Hasil KLT dengan menggunakan variasi eluen tertera pada tabel 4.

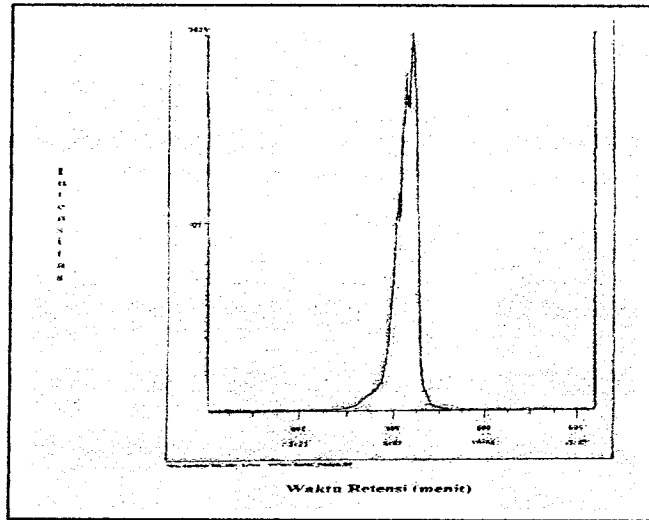
Tabel 4. Hasil KLT kristal hasil isolasi dengan berbagai variasi eluen

No	Fase gerak Perbandingan 3:7	Rf
1.	n-heksana : etil asetat	0,4875
2	n-heksana : dikloro metana)	0,15
3	n-heksana : metanol	0,825
4	n-heksana : aseton	0,725
5	dikloro metana : metanol	0,9125
6	etil asetat 100 %	0,675

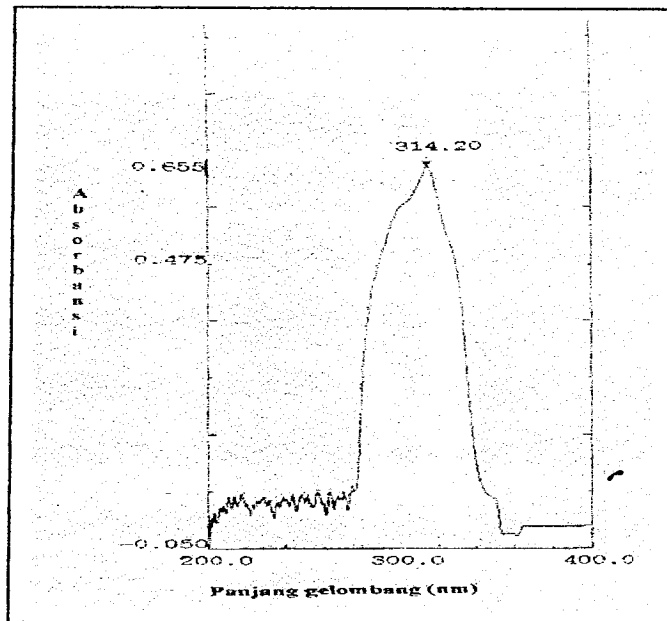
Hasil uji titik leleh memberikan 118-119^oC, hal ini memperkuat dugaan bahwa senyawa hasil isolasi sudah murni karena berada dalam range titik leleh $\leq 2^{\circ}\text{C}$. Kemurnian senyawa hasil isolasi didukung juga oleh data kromatogram GC yang memberikan 1 puncak dengan waktu retensi 6,87 menit seperti terlihat pada gambar berikut:

Uji aktivitas sitotoksik senyawa murni hasil isolasi memberikan LC₅₀ 92 ppm yang berarti aktif sitotoksik.

Identifikasi senyawa hasil isolasi selanjutnya dilakukan dengan cara spektroskopi menggunakan UV, IR dan GC-MS. Analisis dengan spektroskopi ultraviolet memberikan spektrum sebagai berikut:



Gambar1. Kromatogram senyawa hasil isolasi

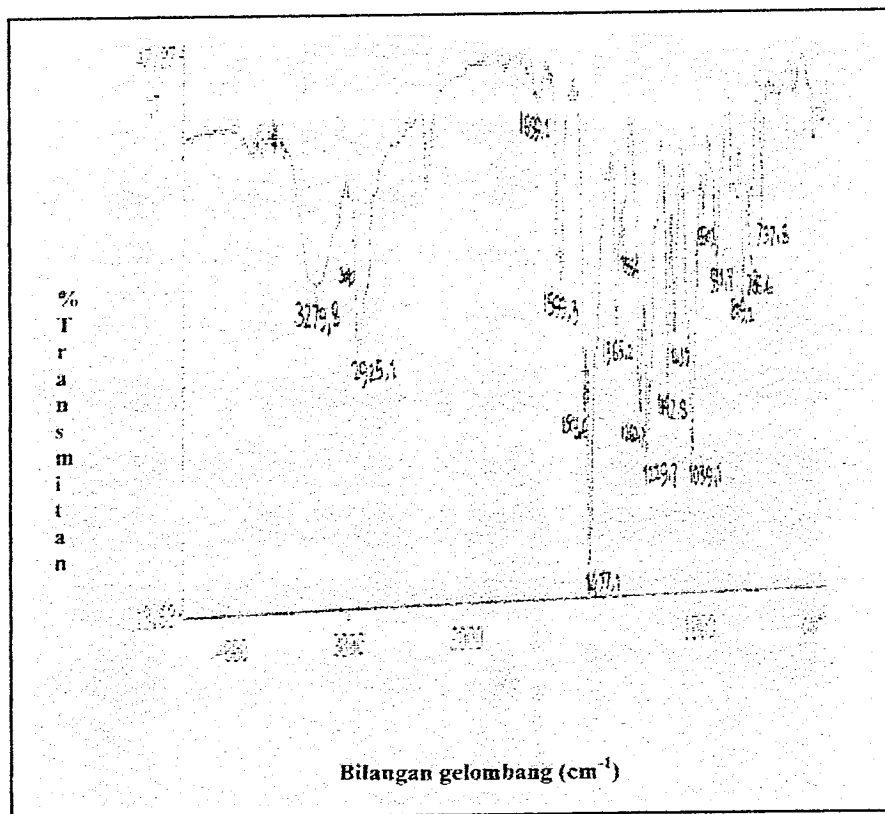


Gambar 2. Spektrum UV senyawa hasil isolasi

Pada spektrum diatas terlihat puncak serapan maksimum, yaitu pada panjang gelombang 314,20 nm yang merupakan serapan untuk C=C yang terkonjugasi panjang. Menurut literatur, serapan untuk C=C terkonjugasi akan memberikan puncak serapan pada panjang gelombang diatas 250 nm. Bila terjadi

perpanjangan konjugasi maka serapan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ bergeser kearah panjang gelombang yang lebih panjang (Creswell,1982).

Analisis dengan spektroskopi inframerah memberikan spektrum seperti gambar berikut: dan serapan maksimumnya dapat dilihat pada tabel 5.



Gambar 3. Spektrum IR senyawa hasil isolasi

Tabel 5. Taksiran spektrum inframerah senyawa hasil isolasi

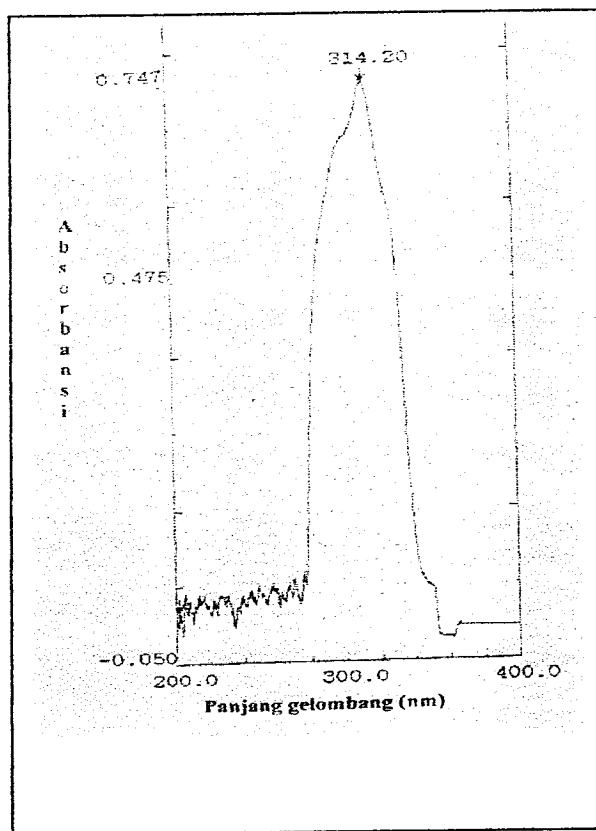
Bilangan gelombang	Bentuk pita	Intensitas	Gugus terkait
3279,8 cm ⁻¹	Lebar	Sedang	Ulur O-H
3010 cm ⁻¹	Tajam	Sedang	Ulur C-H aromatik
2925,1 cm ⁻¹	Agak Lebar	Sedang	Ulur C-H alifatik
1699,1 cm ⁻¹	Agak lebar	Lemah	Ulur C=O
1599,3-1503,6 cm ⁻¹	Tajam	Sedang	C=C terkonjugasi
1477,1 cm ⁻¹	Tajam	Kuat	Tekuk tak simetris CH ₃
1365,2-1333,6 cm ⁻¹	Tajam	Sedang	Tekuk O-H
1142,8-1039,1 cm ⁻¹	Tajam	Sedang	Ulur C-O
990,1- 931,4 cm ⁻¹	Tajam	Sedang	Tekuk C-H aromatik
819,2 – 786,6 cm ⁻¹	Tajam	Sedang	Gugus aromatik di sub stitusi (posisi meta)

Pada spektrum inframerah terlihat adanya serapan ulur C=O karboksilat yang terlihat pada bilangan gelombang 1699,1 cm⁻¹ serta ulur C-O yang ditunjukkan pada bilangan gelombang 1142,8-1039,1 cm⁻¹. Serapan pada bilangan gelombang 2925,1 cm⁻¹ menunjukkan adanya ulur C-H alifatik, yang didukung juga oleh pengaruh tekuk tak simetris CH₃ pada bilangan gelombang 1477,1 cm⁻¹. Pada bilangan gelombang (ν) 3279,8 cm⁻¹ terdapat serapan ulur O-H dengan intensitas kuat dan pita melebar dan diperkuat dengan adanya tekuk O-H pada bilangan gelombang (ν) 1365,2-1333,6 cm⁻¹. Dugaan adanya cincin aromatik didasarkan pada munculnya serapan ulur C-H aromatik pada bilangan gelombang 3010 cm⁻¹, dan

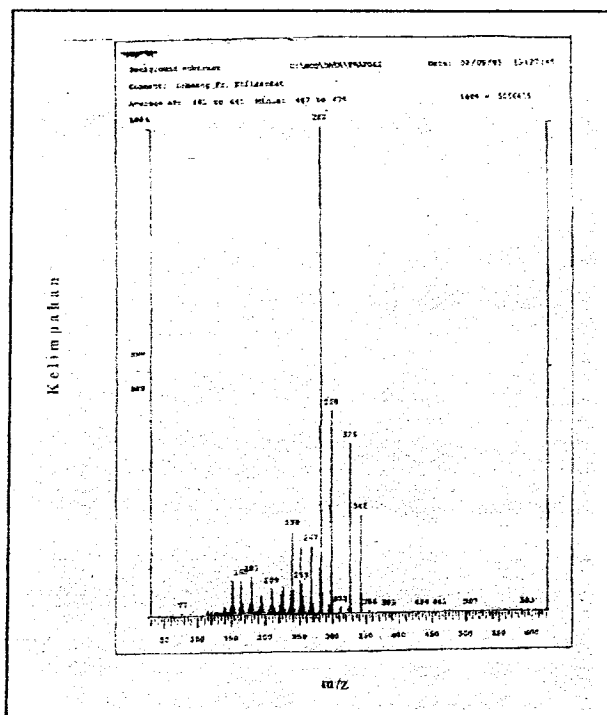
tekuk C-H aromatik pada 990,1-931,4 cm⁻¹. Berdasarkan bentuk pita serapan daerah OH pada spektrum IR diduga OH yang terdapat pada senyawa hasil isolasi tidak terikat pada cincin aromatik, untuk memperkuat dugaan ini maka dilakukan kembali pengukuran spektrum UV dengan menggunakan pereaksi geser (NaOH 2 M). Hasil pengukuran, tidak terlihat terjadinya pergeseran panjang gelombang maksimum. Berdasarkan hal ini dapat dipastikan bahwa OH yang terdapat pada senyawa hasil isolasi tidak terikat pada cincin aromatik. Pada bilangan gelombang 1599,3-1503,6 cm⁻¹ menunjukkan adanya C=C terkonjugasi, hal ini juga memperkuat dugaan yang didukung oleh data UV tadi, yaitu adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. Pada

bilangan gelombang 819,2 – 786,6 cm^{-1} yang mempunyai puncak yang berdekatan

menunjukkan adanya gugus aromatik disubstitusi (posisi meta).



Gambar 4. Spektrum UV dengan menggunakan pereaksi geser



Gambar5. Spektrum Massa senyawa hasil isolasi

Hasil analisis dengan spektroskopi massa menunjukkan ion molekul (M^+) pada m/z 342 yang sekaligus menyatakan berat molekul (BM) dengan puncak dasar m/z 282. Ion fragmen pada m/z 267 terbentuk dengan keluarnya radikal CH_3 (M 15) dari puncak dasar m/z 282 yang diperkuat data IR yaitu adanya ulur C-H alifatik. Adanya fragmen pada m/z 77 (gugus benzena) adalah khas untuk aromatik yang didukung oleh IR yaitu adanya C-H aromatik dan C=C terkonjugasi

yang didukung oleh adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ pada spektrum UV.

Berdasarkan analisa spektroskopi dari data UV, IR dan GC-MS, maka diusulkan senyawa hasil isolasi merupakan kelompok senyawa turunan fenolat yang memiliki gugus-gugus fungsi OH, ikatan rangkap C=C yang terkonjugasi, C=O karboksilat dan gugus aromatik disubstitusi pada posisi meta, dengan titik leleh 118-119^o C.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap kulit batang tumbuhan *Styrax benzoin* Dryander memberikan kesimpulan :

Ekstrak etil asetat kulit batang kemenyan (*Styrax benzoin* Dryander) memiliki aktivitas sitotoksik paling aktif dengan nilai $LC_{50} = 1,6194$ ppm, dilanjutkan dengan ekstrak n-heksana dengan nilai $LC_{50} 2$ ppm dan metanol dengan nilai $LC_{50} 22$ ppm, dan uji aktivitas sitotoksik terhadap kristal hasil isolasi memberikan $LC_{50} = 92$ ppm, yang berarti senyawa hasil isolasi aktif sitotoksik.

Senyawa hasil isolasi dari fraksi etil asetat berupa kristal bubuk berwarna putih sebanyak 97,9 mg dengan titik leleh 118-119°C. Dari analisa struktur dengan menggunakan spektroskopi GC-MS, UV dan IR diduga senyawa hasil isolasi merupakan kelompok senyawa fenolat dengan BM 342 yang memiliki gugus-gugus fungsi OH dan ikatan rangkap C=C yang terkonjugasi, serta C=O, dimana gugus aromatik disubstitusi pada posisi meta.

Saran

Disarankan untuk melakukan elusidasi struktur yang lebih lengkap dengan menggunakan ^{13}C NMR dan 1H NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Bonor, S., 1998, *Isolasi bahan bioaktif lignan tipe podofillotoksin dari kemenyan Sumatera (Styrax benzoin Dryander)*, Fakultas Pendidikan MIPA Institute Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Medan.
- Creswell, J. Clifford, Runquist, A.Olaf., 1982, *Analisis Spektrum Senyawa Organik*, Edisi ke-2, Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne, J.B., Smith, T.A., 1992, *Phytochemistry, The International Journal of Plant Biochemistry*, Oxford, New York, Vol. 10, No.2, Hal ; 207-209.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia III*, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nicholas, D.E., and McLaughlin, J.L., 1982, *Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*, Journal of Medicinal,

Planta Medica, Vol.19, No.3, Hal ;
107-109.

Napralert., 2003, *Phytochemical Database*,
The Board of Trustees of University
of Illinois, Chicago.

Silverstein, Bassler and Morrill, 1986,
*Penyidikan Spektrometrik Senyawa
Organik*, Edisi Keempat, Penerbit
Erlangga, Jakarta.