

**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN SENYAWA TRITERPENOID DAN
STEROID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI KOLOM BASAH**

SKRIPSI

Oleh:
YUNITA DWI RAHMAWATI
NIM. 13630036



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN SENYAWA TRITERPENOID DAN
STEROID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI KOLOM BASAH**

SKRIPSI

Oleh:

YUNITA DWI RAHMAWATI

NIM. 13630036

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN SENYAWA TRITERPENOID DAN
STEROID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* DENGAN
KROMATOGRAFI KOLOM BASAH**

SKRIPSI

Oleh:
YUNITA DWI RAHMAWATI
NIM. 13630036

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 28 September 2017

Pembimbing I


Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811200801 2 010

Pembimbing II


Ach. Nashichuddin, M.A
NIP. 19730705 2000031 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia




Elok Kapuliah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

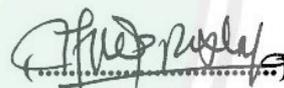
**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN SENYAWA TRITERPENOID DAN
STEROID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* DENGAN
KROMATOGRAFI KOLOM BASAH**

SKRIPSI

Oleh:
YUNITA DWI RAHMAWATI
NIM. 13630036

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 28 September 2017

Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M.Si
NIP. 19770925 200604 1 003



Ketua Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069



Sekretaris Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010



Anggota Penguji : Ach. Nashichuddin, M.A
NIP. 19730705 2000031 1 002



Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yunita Dwi Rahmawati
NIM : 13630036
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Variasi Eluen Pada Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Alga Merah *Eucheuma spinosum* dengan Kromatografi Kolom Basah

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 9 September 2017
Yang membuat pernyataan,



Yunita Dwi Rahmawati
NIM. 13630036

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. Wb

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat taufik hidayah serta inayah-Nya. Berkat rahmat dan petunjuknya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul Variasi Eluen pada Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Alga Merah *Eucheuma Spinosum* dengan Kromatografi Kolom Basah.

Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan petunjuk kebenaran seluruh umat manusia yaitu Agama Islam yang kita harapkan syafa'atnya di dunia dan di akhirat. Aamiin.

Penelitian ini dilakukan dengan harapan bisa memberikan suatu wawasan baru dan menambah khasanah keilmuan dalam bidang ilmu pengetahuan serta untuk memenuhi tugas akhir dalam menyelesaikan program Strata Satu (S1) Sarjana Sains jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari peran dan dukungan serta bimbingan dan arahan dari segenap pihak terkait. Dengan ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada:.

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen pembimbing I; Bapak Ach. Nashichuddin, M.A selaku dosen pembimbing II; Ahmad Hanapi, M. Sc selaku konsultan dan Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si selaku penguji yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan kami.

3. Kedua orang tua (bapak Suradi dan ibu Umi Salamah) yang telah memberikan dukungan moril dan materiil sehingga penulis dapat menuntut ilmu dan dapat menyelesaikan penelitian ini
4. Teman-teman angkatan 2013, khususnya tim makro alga Madura yang telah memberi semangat dan berbagai bantuan
5. Serta pihak-pihak yang telah membantu kami yang tidak mungkin disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan proposal ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga penelitian ini memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi.

Malang, 4 September 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
الملخص	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat	7
BAB II KAJIAN PUSTAKA	8
2.1 Keanekaragaman Tumbuhan dalam Al-Quran	8
2.2 Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	10
2.3 Triterpenoid.....	11
2.4 Steroid	13
2.5 Ekstraksi Maserasi	15
2.6 Hidrolisis dan Partisi Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol	16
2.7 Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid	18
2.8 Kromatografi Kolom.....	19
2.9 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	21
2.10 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR	24
BAB III METODOLOGI	28
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan.....	28
3.2.1 Alat.....	28
3.2.2 Bahan	28
3.3 Rancangan Penelitian.....	29
3.4 Tahapan Penelitian	29
3.5 Cara Kerja	30
3.5.1 Preparasi Sampel.....	30
3.5.2 Analisis Kadar Air.....	30
3.5.3 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi.....	31
3.5.4 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol	31
3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid	32

3.5.6	Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Menggunakan Kromatografi Kolom.....	32
3.5.7	Monitoring Noda dengan KLTA, Penggabungan dan Pemekatan Fraksi	33
3.5.8	Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	34
3.5.9	Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer FTIR	34

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Preparasi Sampel.....	35
4.2	Analisis Kadar Air	35
4.3	Ekstraksi Sampel.....	36
4.4	Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Metanol	38
4.5	Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid	39
4.6	Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Menggunakan Kromatografi Kolom.....	40
4.7	Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	45
4.8	Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer FTIR.....	48
4.9	Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Menurut Perspektif Islam.....	52

BAB V PENUTUP

5.1	Kesimpulan	55
5.5	Saran	55

DAFTAR PUSTAKA LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Alga merah <i>Eucheuma spinosum</i>	11
Gambar 2.2	Struktur dasar golongan triterpenoid (skualena)	12
Gambar 2.3	Struktur senyawa triterpenoid asam karboksilat.....	12
Gambar 2.4	(a) Struktur senyawa 3-epicyclomusalenol dan (b) struktur senyawa cyclosadol.....	13
Gambar 2.5	Struktur dasar steroid 1,2-siklopentenoperhidrofenantren	13
Gambar 2.6	Struktur kolesta-4,6-diene-3 β -ol	14
Gambar 2.7	(a) Struktur kolest-5-ane-3 β -ol dan (b) struktur kolest-4-en-3-one	15
Gambar 2.8	Dugaan reaksi hidrolisis glikosida	17
Gambar 2.9	Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat	17
Gambar 2.10	Struktur silika gel	19
Gambar 2.11	Spektrum UV-Vis senyawa lupeol dari kulit batang bakau merah <i>Rhizophora stylosa</i>	22
Gambar 2.12	Spektrum UV-Vis senyawa steroid dari tumbuhan paku <i>Christella arida</i>	23
Gambar 2.13	Spektrum UV-Vis senyawa steroid dari daun palem gula <i>Caryota urens</i>	24
Gambar 2.14	Spektra FTIR senyawa triterpenoid dari tumbuhan kasturi <i>Mangifera casturi</i>	25
Gambar 2.15	Spektra FTIR Senyawa lupeol dari daun manggis hutan <i>Garcinia bancana Miq</i>	26
Gambar 2.16	Spektra FTIR senyawa steroid dari alga merah <i>Euchemia spinosum</i>	27
Gambar 4.1	Sampel sesudah dihaluskan	35
Gambar 4.2	Proses maserasi (a) hari ke-1, (b) hari ke-2 dan (c) hari ke-3	37
Gambar 4.3	Ekstrak metanol pekat	37
Gambar 4.4	(a) Penambahan NaHCO ₃ dan (b) pengukuran pH.....	38
Gambar 4.5	Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat	38
Gambar 4.6	Proses partisi	39
Gambar 4.7	Hasil partisi	39
Gambar 4.8	Hasil uji Liebermann-Burchard.....	40
Gambar 4.9	(a) Hasil monitoring eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4 dan (b) ilustrasi hasil monitoring.....	41
Gambar 4.10	(a) Hasil monitoring eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat dengan perbandingan 17:3 dan (b) ilustrasi hasil monitoring.....	42
Gambar 4.11	(a) Hasil monitoring eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat dengan perbandingan 18:2 dan (b) ilustrasi hasil monitoring.....	42
Gambar 4.12	Spektrum UV-Vis senyawa isolat 1 (vial ke-28-66).....	45
Gambar 4.10	Spektrum UV-Vis senyawa isolat 2 (vial ke-78-107).....	45
Gambar 4.11	Spektrum UV-Vis senyawa isolat 3 (vial ke-108-140)	46
Gambar 4.12	Spektrum UV-Vis senyawa isolat 4 (vial ke-141-187)	46
Gambar 4.13	Spektra FTIR isolat (a) 1, (b) 2, (c) 3 dan (d) 4.....	48
Gambar L.6.1	Hasil monitoring vial 5-95	72
Gambar L.6.2	Hasil monitoring vial 100-190.....	72

Gambar L.6.3	Hasil monitoring vial 195, 200, 26, 27, 28, 29, 36, 37, 38, 39, 46, 47, 48, 49, 81, 82, 83, 84, 136.....	72
Gambar L.6.4	Hasil monitoring vial 137, 138, 139, 191, 192. 193 dan 194....	72
Gambar L.6.5	Hasil monitoring vial 5-95	73
Gambar L.6.6	Hasil monitoring vial 100-190	73
Gambar L.6.7	Hasil monitoring vial 195, 200, 11, 12, 13, 14, 21, 22, 23, 24, 31, 32, 33, 34, 41, 42, 43, 44 dan 44.....	73
Gambar L.6.8	Hasil monitoring vial 62, 63, 64, 71. 72, 73, 74, 161, 162, 163, 164. 181, 182, 183 dan 184.....	73
Gambar L.6.9	Hasil monitoring vial 5-100	74
Gambar L.6.10	Hasil monitoring vial 105-200	74
Gambar L.6.11	Hasil monitoring vial 26, 27, 28, 29, 30, 66 dan 67.....	74
Gambar L.6.12	Hasil monitoring vial 68, 69, 71, 72, 73, 74 dan 75.....	74
Gambar L.6.13	Hasil monitoring vial 76, 77, 78, 79, 106, 107 dan 108.....	74
Gambar L.6.14	Hasil monitoring vial 109, 141, 142, 143, 144, 181 dan 182....	74



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	62
Lampiran 2. Diagram Alir.....	63
Lampiran 3. Pembuatan Larutan	68
Lampiran 4. Uji Kadar Air Kering.....	70
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen.....	71
Lampiran 6. Hasil Monitoring Isolat menggunakan KLTA.....	72
Lampiran 7. Contoh Perhitungan R_f	75
Lampiran 8. Spektrum UV-Vis Pelarut.....	76



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan beberapa pelarut.....	16
Tabel 4.1	Hasil analisis kadar air	36
Tabel 4.2	Hasil monitoring pemisahan steroid dan triterpenoid menggunakan komposisi eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4.....	43
Tabel 4.3	Hasil monitoring pemisahan steroid dan triterpenoid menggunakan komposisi eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat dengan perbandingan 17:3.....	43
Tabel 4.4	Hasil monitoring pemisahan steroid dan triterpenoid menggunakan komposisi eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat dengan perbandingan 18:2.....	44
Tabel 4.5	Hasil identifikasi spektrum FTIR isolat 1	49
Tabel 4.6	Hasil identifikasi spektra FTIR isolat 2, 3 dan 4	49
Tabel L.4.1	Berat cawan kosong	70
Tabel L.4.2	Berat cawan dan sampel	70
Tabel L.5.1	Hasil perhitungan rendemen sampel.....	71

ABSTRAK

Rahmawati, Y. D. 2017. **Variasi Eluen pada Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Alga Merah *Eucheuma spinosum* dengan Kromatografi Kolom Basah.** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si ; Pembimbing II: Ach. Nashichuddin, M.A ; Konsultan: Ahmad Hanapi, M. Sc.

Kata Kunci: *Eucheuma spinosum*, Kromatografi Kolom, Steroid, Triterpenoid, Variasi Eluen

Isolasi senyawa steroid dan triterpenoid pada alga merah *Eucheuma spinosum* telah dilakukan menggunakan kromatografi kolom basah dengan menggunakan variasi eluen. Ekstraksi senyawa aktif pada *Eucheuma spinosum* menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak kasar dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan difraksinasi dengan pelarut petroleum eter. Fraksi petroleum eter diuji dengan reagen Liebermann-Burchard. Kemudian dilakukan pemisahan dengan metode kromatografi kolom basah dengan variasi eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan komposisi 16:4, 17:3 dan 18:2. Hasil pemisahan dimonitoring menggunakan KLTA dan hasil terbaik diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

Hasil penelitian menunjukkan kadar air kering dalam sampel sebesar 9,41%, rendemen ekstrak metanol sebesar 5,0713% dan rendemen fraksi petroleum eter 23,07%. Pemisahan kolom dengan eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan komposisi 18:2 menghasilkan 1 fraksi tunggal berwarna hijau diduga steroid dengan nilai *R_f* 0,3125 dan 3 fraksi tunggal berwarna merah diduga triterpenoid dengan nilai *R_f* 0,187; 0,1125 dan 0,0625. Hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis diketahui isolat memiliki panjang gelombang maksimum 205, 207, 203 dan 204,9 nm serta identifikasi spektrofotometer FTIR isolat 1 memiliki gugus fungsi OH, Csp³-H, -CH₂-, C=O, C=C, C(CH₃)₂, C-OH alkohol sekunder, CH-H dan =C-H siklik. Sedangkan isolat 2, 3 dan 4 memiliki gugus fungsi OH, Csp³-H, -CH₂-, C=O, C=C, C(CH₃)₂, C-OH alkohol sekunder dan =C-H siklik.

ABSTRACT

Rahmawati, Y. D. 2017. **A Variety of Eluen on Isolation Triterpenoid and Steroid Compound Red Algae *Eucheuma spinosum* by Slurry Chromatography Column**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervisor II: Ach. Nashichuddin, M.A; Consultant: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Keywords: *Eucheuma spinosum*, Column Chromatography, Steroid, Triterpenoid, Variety of Eluen

Isolation of steroid and triterpenoid compounds in red algae *Eucheuma spinosum* was done using slurry column chromatography by variety eluen. Extraction of active compounds on *Eucheuma spinosum* was done by maceration method using methanol solvent. The crude extract was hydrolysis using HCl 2 N and fractionated with petroleum ether solvent. The petroleum ether fraction was tested with Liebermann-Burchard reagents. Then it separated by slurry column chromatography method used variation of eluen *n*-hexane and ethyl acetate, the composition of 16:4, 17:3 and 18:2. Separation results were monitored using TLC and the best results was identified using UV-Vis and FTIR.

The results showed dry water content in samples of 9.41%, rendemen methanol extract of 5.0713% and rendemen fraction of petroleum ether 23.07%. Separation of the columns with eluent *n*-hexane and ethyl acetate by 18:2 composition was yield 1 fraction green color indicated as steroid wit *R_f* value of 0,3125 and 3 fraction red color indicated as triterpenoid with *R_f* value of 0,187; 0,1125 and 0,0625. The result of identification using UV-Vis known isolate were maximum wavelength 205, 207, 203 and 204,9 nm and identification using FTIR isolate 1 was functional group OH, Csp³-H, -CH₂-, C=O, C=C, C(CH₃)₂, C-OH secondary alcohols, CH-H and =C-H cyclic.. And isolates 2, 3 and 4 was functional group OH, Csp³-H, -CH₂-, C=O, C=C, C(CH₃)₂, C-OH secondary alcohols and =C-H cyclic.

الملخص

رحموتى ، ي. د. ٢٠١٧. ١. اختلافات شاطف على فصل المركبات ستيرويد والتريترفينويد فى الطحالب الحمراء (*Eucheuma spinosum*) بطريقة اللوني العمود الرطب. بحث العلم. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: رحموتى نغسيه الماجستير، المشرفة الثانية: احمد نسخ الدين الماجستير، لمستشار: أحمد حنفي الماجستير.

الكلمات المفتاحية: *Eucheuma spinosum* ، اللوني العمود ، ستيرويد ، تريترفينويد ، الاختلافات شاطف

وقدمت عازلة المركبات الستيرويد والتريترفينويد فى الطحالب الحمراء *Eucheuma spinosum* بطريقة اللوني العمود الرطب باستخدام الاختلاف من اللوزن. استخراج المركبات النشطة فى الطحالب الحمراء بالتبجيل مع مذيب الميثانول. وقدم التحليل المائي على الاستخراج الخشن بـ ٢N HCl و فصل بيترول الايثير. ثم يختبر كسر بيترول الايثير بكاشف. *Liebermann-Burchard* وفصل دلالكسر اللوني العمود الرطب باختلاف الرطب باختلاف المذيبان - الهكسان و خللات الايثيل بتكوين ٤:١٦ ؛ ٣:١٧ و ٢:١٨ . وتم نتيجة الفصل برصد المركبات باستخدام تحليل اللوني الطبقي الرقيق. وحدد افضل النتائج مع مقياس الطيف الضوئي للاشعة فوق البنفسجية. و الاشعة تحت الحمراء.

وأظهرت النتائج أن محتوى الماء فى العينات المجففة المجففة ٩٠،٢٦٣٪، العائد من استخراج الميثانول هو ٥٠،٧١٣٪ والعائد من كسر بيترول الايثير هو ٢٣،٠٧٪. الفصل مع مذيب الهكسان و خللات الايثيل فى تكوين ٢:١٨ يولد كسرواحد الخضراء المزعومة الستيرويد مع Rf ٠،٣١٢٥ كسرواحد الاحمر المزعومة بللتريترفينويد مع Rf ٠،١٨٧ ؛ ٠،١٢٥ و ٠،٠٧٢٥ . و كان تحديد المركبات فوق البنفسجية يعرف بالطول الموجي من العزل هم ٢٠٥، ٢٠٧، ٢٠٣ و ٢٠٤،٩ نانومتر. اما تحديد المركبات بالاشعة تحت الحمراء يعرف ان العزل عنده المجموعات الوظيفية OH ، Csp³-H ، -CH₂- ، C=O ، C(CH₃)₂ و C-OH الكحول الثانوي.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah berfirman dalam surat An Nahl ayat 14:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا
وَتَرَى الْفَلَكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ۝ ١٤

Artinya: “Dan Dialah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan) dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur“

Quran surat An Nahl ayat 14 menjelaskan bahwa laut merupakan karunia Allah SWT. Tafsir Al-Maraghi (1992) pada kata *وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ* Allah SWT memerintahkan kepada kita untuk mencari rezeki dan keuntungan dari karuniaNya yaitu sumber daya hayati laut. Salah satu sumber daya hayati laut yang berpotensi untuk dimanfaatkan secara maksimal adalah alga merah. Jenis Alga merah yang banyak dibudidayakan di Indonesia yaitu jenis *Eucheuma spinosum* (Diharmi, dkk., 2011).

Alga merah *Eucheuma spinosum* mengandung senyawa bioaktif. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *E.coli* (Miftahurrahman, 2012) dan *M. tuberculosis* (Ahmad dan Massi, 2013), antioksidan (Mardiyah, dkk., 2014 dan Laili, 2016) dan mengandung senyawa toksik (Kholidiyah, 2013 dan Azizah, 2016). Senyawa bioaktif yang terdapat dalam Alga merah *Eucheuma spinosum* disebabkan karena adanya senyawa

metabolit sekunder, yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, asam askorbat (Mardiyah, 2012) dan steroid (Sholikah, 2016).

Diantara senyawa aktif yang terdapat dalam alga merah *Eucheuma spinosum* adalah triterpenoid (Ahmad dan Massi, 2013). Senyawa triterpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder kelompok terpenoid. Alga coklat jenis *Kjellmaniella crassifolia* mengandung senyawa triterpenoid 3-epicyclomusalenol dan cyclosadol (Li, dkk., 2013). Menurut Ahmad dan Massi (2013) identifikasi menggunakan *infrared* (IR) dan *2D-nuclear magnetic resonance* (NMR) senyawa triterpenoid fraksi kloroform ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* adalah triterpenoid asam karboksilat. Berdasarkan uji aktivitasnya senyawa ini dapat menghambat aktivitas bakteri *M. tuberculosis* secara signifikan pada konsentrasi 4 ppm (Ahmad dan Massi, 2013). Hingkau, dkk. (2013) mengisolasi senyawa triterpenoid dari fraksi *n*-heksana dan etil asetat ekstrak metanol tumbuhan mangrove *Avicennia marina* dan identifikasi menggunakan IR dan NMR menunjukkan senyawa yang berhasil dilakukan isolasi adalah senyawa lupeol. Hasil uji aktivitas, menunjukkan bahwa senyawa lupeol dapat menghambat aktivitas bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dengan nilai zona hambat masing-masing sebesar 16 dan 12 mm.

Selain triterpenoid, alga merah *Eucheuma spinosum* juga mengandung senyawa steroid. Senyawa steroid merupakan senyawa bioaktif yang termasuk dalam golongan triterpenoid. Alga jenis *Exophylum wenti* mengandung senyawa steroid kolesta-4,6-diene-3 β -ol dan kolest-5-ene-3 β -ol. Alga jenis *Gracilaria coronopifolia* mengandung senyawa steroid kolest-4,6-dien-3-ol, kolest-5-en-3 β -ol dan kolest-4-en-3-one (Swantara dan Parwata, 2011). Beberapa penelitian uji

aktivitas senyawa steroid telah dilakukan. Uji toksisitas senyawa steroid dapat dilakukan dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). Novadiana dan Pasaribu (2014) melakukan uji toksisitas senyawa steroid dari daun kerehau *Callicarpa longifolia* dan diperoleh nilai LC_{50} sebesar 96,4096 ppm, sedangkan Azizah (2016) melakukan uji toksistas senyawa steroid dari alga merah *Eucheuma spinosum* dan diperoleh nilai LC_{50} sebesar 18,879 ppm. Laili (2016) melakukan uji antioksidan senyawa steroid dari alga merah *Eucheuma spinosum* dan didapatkan nilai EC_{50} sebesar 94,98 ppm.

Isolasi senyawa triterpenoid dan steroid dapat dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom. Prinsip dari alat ini adalah pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi suatu senyawa pada adsorben yang digunakan. Penelitian Handoko (2016) isolasi senyawa steroid menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) didapatkan 0,001 mg, sedangkan isolasi senyawa steroid menggunakan kromatografi kolom kering menghasilkan 7 mg dan cara basah yaitu 7,7 mg. Penelitian Septiandari (2016) dengan menggunakan kromatografi kolom kering didapatkan kelompok triterpenoid sebanyak 3 dan kelompok steroid sebanyak 2. Sholikhah (2016) melakukan isolasi dengan menggunakan kromatografi kolom basah dan didapatkan 5 kelompok senyawa steroid dan 4 kelompok senyawa triterpenoid. Berdasarkan hal tersebut, menunjukkan bahwa isolasi senyawa triterpenoid dan steroid lebih baik menggunakan kromatografi kolom basah.

Faktor-faktor yang berperan pada keberhasilan pemisahan dengan kromatografi kolom adalah pemilihan adsorben, pemilihan pelarut, dan pengemasan kolom (Kristanti, dkk., 2008). Pemilihan eluen yang sesuai untuk

isolasi senyawa steroid dan triterpenoid merupakan faktor yang penting. Pramana dan Chairul Saleh (2013) mengisolasi senyawa steroid dari daun kokang *Lepisanthes amoena (Hassk.) Leenh* dengan kromatografi kolom menggunakan eluen *n*-heksana dan etil asetat perbandingan 16:4. Pemilihan eluen 16:4 berdasarkan hasil KLT terbaik dan sesuai dengan sistem yang disarankan oleh Harborne (1987) untuk pemisahan steroid yaitu *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4. Septianti (2015) menggunakan eluen *n*-heksana dan etil asetat perbandingan 17:3 untuk mengisolasi senyawa triterpenoid dan steroid dari alga merah *Eucheuma spinosum*. Pemilihan campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat 17:3 berdasarkan hasil eluen terbaik saat pemisahan di kromatografi lapis tipis analitik (KLTA).

Tahap isolasi diawali dengan proses maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Isolasi senyawa bahan alam dapat menggunakan pelarut golongan alkohol, karena dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder. Pelarut metanol dipilih karena memiliki titik didih yang rendah dibandingkan etanol. Kholidyah (2013) melakukan uji toksisitas fraksi petroleum eter terhadap larva udang *A. salina leach* didapatkan nilai LC_{50} 176,06 ppm dan Mardiyah dkk. (2014) melakukan uji aktivitas antioksidan dengan nilai EC_{50} sebesar 12,65 ppm. Selain itu, pelarut petroleum eter bersifat non polar dan akan mengikat senyawa yang memiliki kepolaran sama (Kamboj dan Saluja, 2011). Proses hidrolisis dibantu oleh HCl 2 N sebagai katalis (Wahyudi, dkk., 2011). Hasil partisi fraksi petroleum eter dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Senyawa triterpenoid dan steroid dalam fraksi petroleum eter memiliki sifat cenderung non polar. Berdasarkan hal tersebut, maka digunakan eluen campuran *n*-heksana dan

etil asetat dengan variasi 16:4, 17:3 dan 18:2. Variasi eluen digunakan untuk mengetahui eluen terbaik untuk isolasi senyawa triterpenoid dan steroid.

Isolasi menggunakan kromatografi kolom akan menghasilkan isolat yang kemudian dimonitoring menggunakan KLTA. Hasil penelitian Setiyawan (2015) eluen terbaik KLTA adalah *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 17:3 (Setiyawan, 2015). Eluat disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard, diamati dibawah lampu UV. Warna merah menunjukkan positif mengandung senyawa triterpenoid (Setiyawan, 2015) dan warna hijau positif mengandung senyawa steroid (Aprelia dan Suyatno, 2013). Identifikasi senyawa dilakukan menggunakan spektrofotometer *ultraviolet-visible* (UV-Vis) dan *fourier transform infrared* (FTIR). Hal ini berfungsi untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dan mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada isolat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil isolasi senyawa triterpenoid dan steroid pada alga merah *Eucheuma spinosum* dengan kromatografi kolom basah menggunakan variasi eluen?
2. Bagaimana hasil identifikasi isolat triterpenoid dan steroid menggunakan spektrofotometer UV-Vis?
3. Bagaimana hasil identifikasi isolat triterpenoid dan steroid menggunakan spektrofotometer FTIR?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui eluen terbaik isolasi senyawa triterpenoid dan steroid pada alga merah *Eucheuma spinosum* dengan kromatografi kolom basah.
2. Untuk mengetahui hasil identifikasi isolat triterpenoid dan steroid menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
3. Untuk mengetahui hasil identifikasi isolat triterpenoid dan steroid menggunakan spektrofotometer FTIR.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah fraksi petroleum eter dari ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* yang berasal dari pantai Jumiang Pamekasan Madura.
2. Isolasi senyawa triterpenoid dan steroid dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom basah.
3. Kolom yang digunakan berdiameter 1,5 cm.
4. Rasio sampel dan silika yang digunakan adalah 1:100.
5. Eluen *n*-heksana dan etil asetat yang digunakan adalah perbandingan 16:4, 17:3 dan 18:2.
6. Identifikasi isolat triterpenoid dan steroid menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.5 Manfaat

1. Dapat memberikan informasi mengenai cara isolasi triterpenoid dan steroid menggunakan kromatografi kolom basah dengan variasi eluen *n*-heksana dan etil asetat.
2. Dapat memberikan informasi mengenai hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis dan FTIR pada senyawa triterpenoid dan steroid hasil isolasi kromatografi kolom basah fraksi petroleum eter dari alga merah *Eucheuma spinosum*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keanekaragaman Tumbuhan dalam Al-Quran

Firman Allah AWT dalam surat Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَوَّلَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا
بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ٥٣

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”

Maksud dari Quran surat Thaha ayat 53 menurut tafsir Al-Maragi adalah Allah SWT menciptakan berbagai macam jenis tumbuhan dengan berbagai manfaat, warna, aroma dan bentuk. Sebagian cocok untuk manusia dan sebagian cocok untuk hewan (Al-Maragi, 1993). Hal serupa juga dijelaskan oleh Ash Shiddiqieqy (2000) dalam tafsir Al-Qur’anul Masjid An-Nuur bahwa Allah SWT menumbuhkan beberapa pasangan tanaman dari berbagai macam jenis dengan berlainan rasa buah dan berlainan manfaat. Ada yang bermanfaat bagi manusia dan ada yang bermanfaat bagi hewan. Tafsir Al-Mishbah juga menjelaskan bahwa setiap macam tumbuhan yang diciptakan oleh Allah dengan berbagai jenis bentuk dan rasa semata-mata hanya untuk kemaslahatan manusia, salah satunya dapat dimanfaatkan oleh manusia untuk memenuhi kebutuhan manusia (Shihab, 2002). Lafaz *nabatin syatta* dalam tafsir Ibnu Katsir adalah berbagai macam tumbuhan berupa tanam-tanaman dan buah-buahan baik yang asam, manis maupun pahit dan berbagai macam lainnya (Abdullah, 2007). Sedangkan menurut Asy Syanqithi

(2007) dalam tafsir Adhwa'ul Bayan, lafaz *nabatin syatta* adalah jenis yang bermacam-macam bentuk, ukuran, manfaat, warna, bau dan rasanya.

Selain itu, firman Allah yang menjelaskan tentang keanekaragaman tumbuhan adalah surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوْسِيًّا أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۖ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝ ١٠

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”

Maksud Quran surat Luqman ayat 10 adalah Allah telah menurunkan hujan dari langit, lalu ditumbuhkanlah berbagai macam tumbuhan dari berbagai jenis dan berlainan rasa buahnya serta berlainan manfaatnya. Ada yang bermanfaat bagi manusia dan ada pula yang bermanfaat bagi hewan (Al-Qarni, 2007). Lafaz *مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* dalam tafsir Al-Maragi menjelaskan bahwa berbagai macam tumbuh-tumbuhan memiliki banyak manfaat (Al-Maragi, 1993). Hal ini kembali dijelaskan dalam tafsir Al-Aisar bahwa lafaz *مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* menjelaskan setiap jenis dari tumbuh-tumbuhan yang indah, bermanfaat dan tidak membahayakan (Al Jazaizi, 2008). Lafaz *زَوْجٍ كَرِيمٍ* memiliki arti jenis tumbuhan bermanfaat dan indah (Ar Rifa'i, 2008) yang beraneka ragam warna yang indah dan memiliki banyak manfaat (DEPAG, 2010). Lafaz *كَرِيمٍ* menurut Shihab (2002) dalam tafsir Al Mishbah digunakan untuk menunjukkan sifat segala sesuatu yang baik sesuai objeknya.

Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuhan yang tersebar di muka bumi semata-mata hanya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Allah SWT menciptakan keanekaragaman tumbuhan dengan berbagai bentuk, warna, ukuran, bau, rasa dengan penuh hikmah agar dapat dimanfaatkan. Banyak tumbuhan yang bisa dikaji manfaatnya. Semakin kita mengkaji ilmu Allah SWT semakin kita dapat meningkatkan keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.

2.2 Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Setiyawan (2015) telah melakukan uji taksonomi alga merah *Eucheuma spinosum* yang diperoleh dari Pantai Jumiang, Pamekasan, Madura. Alga merah merupakan salah satu tanaman yang mempunyai warna merah disebabkan oleh pigmen fikoeritrin (Diharmi, dkk., 2011). Alga merah tergolong tumbuhan tingkat rendah karena seluruh bagian tubuhnya tidak dapat dibedakan yaitu antara akar, daun dan batang yang disebut talus. Tumbuhan alga merah *Eucheuma spinosum* ditunjukkan oleh Gambar 2.1. Hasil uji taksonomi berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi, alga merah *Eucheuma spinosum* mempunyai taksonomi sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Solieriaceae
Genus	: <i>Eucheuma</i>
Spesies	: <i>Eucheuma spinosum</i>

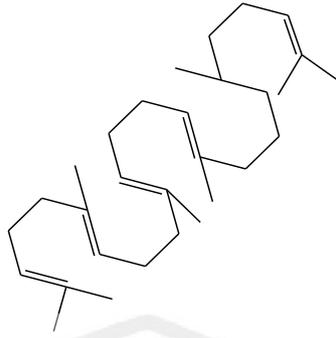


Gambar 2.1 Alga merah *Eucheuma spinosum* (Anggadiredja, dkk., 2006)

Alga merah merupakan salah satu jenis tumbuhan tingkat rendah. Genus ini mempunyai talus berwarna kuning kecoklat-coklatan sampai keungu-unguan, berbentuk agak pipih dan bercabang tidak beraturan (Setiyawan, 2015). Senyawa bioaktif yang terdapat dalam alga merah *Eucheuma spinosum* disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, asam askorbat (Mardiyah, 2012) dan steroid (Sholikhah, 2016).

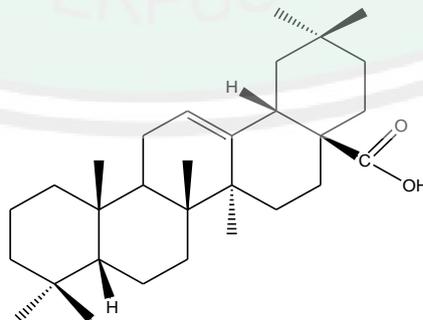
2.3 Triterpenoid

Senyawa triterpenoid merupakan golongan terpenoid yang memiliki kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualena, senyawa ini tidak berwarna dan berbentuk kristal. Senyawa ini banyak ditemukan dalam jaringan tanaman sebagai glikosida. Triterpenoid siklik banyak ditemukan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995). Struktur dari skualena ditunjukkan pada Gambar 2.2.

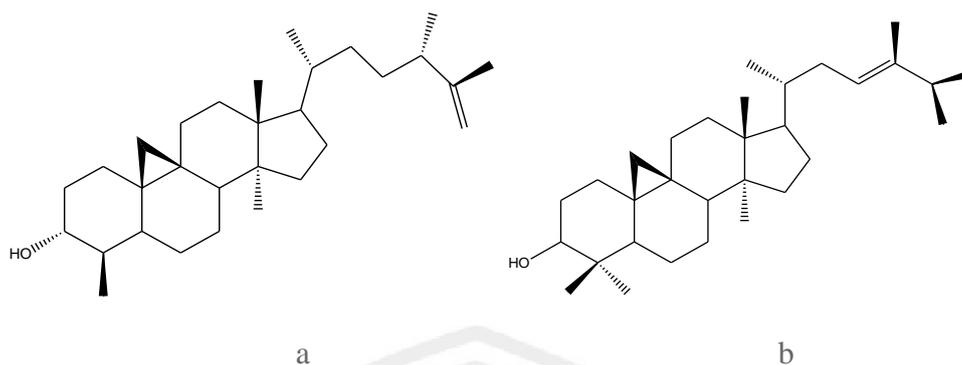


Gambar 2.2 Struktur dasar golongan senyawa triterpenoid (skuelena) (Robinson, 1995)

Ahmad dan Massi (2013) mengisolasi senyawa triterpenoid pada fraksi kloroform ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* dengan menggunakan kromatografi kolom. Identifikasi menggunakan IR dan D-NMR menunjukkan senyawa triterpenoid yang berhasil dilakukan isolasi adalah triterpenoid asam karboksilat, ditunjukkan pada Gambar 2.3. Li, dkk. (2013) melakukan identifikasi senyawa triterpenoid pada alga cokelat *Kjellmaniella crassifolia* adalah 3-epicyclomusalenol dan cyclosadol. Struktur senyawa triterpenoid tersebut ditunjukkan pada Gambar 2.4.



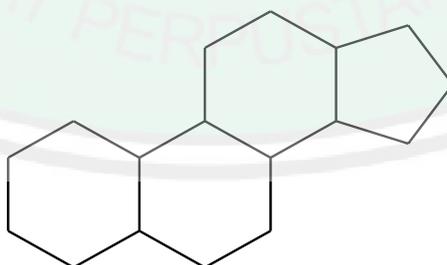
Gambar 2.3 Struktur senyawa triterpenoid asam karboksilat (Ahmad, 2013)



Gambar 2.4 (a) Struktur senyawa 3-epicyclomusalenol dan (b) struktur senyawa cyclosadol (Li, dkk., 2013)

2.4 Steroid

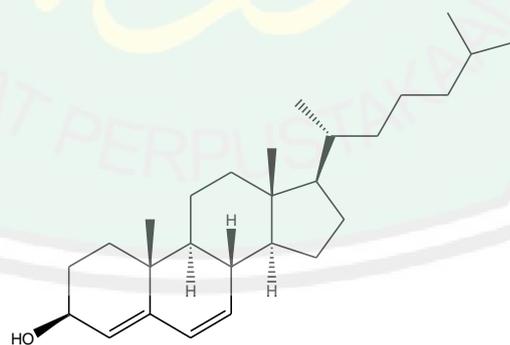
Steroid merupakan salah satu senyawa bioaktif dalam alga merah *Euclima spinosum*. Keberadaan senyawa steroid di alam secara biogenetik berasal dari senyawa triterpenoid dan termasuk kelompok senyawa bahan alam yang sebagian besar strukturnya terdiri atas 17 atom karbon dengan membentuk struktur dasar 1,2-siklopentenoperhidrofenantren. Pengelompokan senyawanya berdasarkan pada gugus yang terikat pada kerangka dasar rantai karbon (Kristanti, dkk., 2008). Struktur dasar 1,2-siklopentenoperhidrofenantren ditunjukkan pada Gambar 2.5.



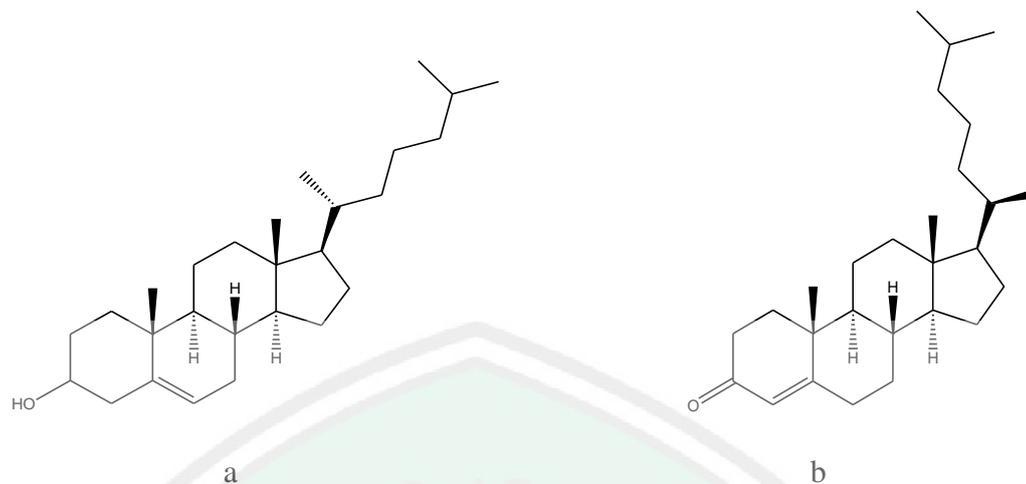
Gambar 2.5 Struktur dasar steroid 1,2-siklopentenoperhidrofenantren (Kristanti, dkk., 2008)

Sumber steroid dapat digolongkan menjadi 4, yaitu dari tumbuhan (fitosterol), dari hewan (zoosterol), dari fungi (mikosterol) dan dari organisme laut (marinesterol). Fitosterol misalnya β -sitosterol yang biasanya terdapat pada serum lemak, stigmasterol dan kompesterol yang umumnya terdapat dalam minyak kedelai. Sedangkan zoosterol misalnya kolesterol yang umumnya terdapat dalam otak, sumsum tulang belakang dan hati, progesteron yang terdapat dalam indung telur dan sekitar kelenjar susu. Mikosterol misalnya ergosterol yang terdapat di khamir dan membran jamur, dan marinesterol misalnya spongesterol, fukosterol pada alga coklat dan desmosterol pada alga merah (Vembriarto, 2013).

Swantara dan Parwata (2011) mengisolasi senyawa steroid pada rumput laut dari pantai sekitar Bali menggunakan kromatografi kolom. Identifikasi senyawa menggunakan GC-MS, senyawa steroid hasil isolasi adalah kolesta-4,6-diene-3 β -ol, kolest-5-ene-3 β -ol (kolesterol) dan kolest-4-en-3-one yang ditunjukkan pada Gambar 2.6 dan Gambar 2.7.



Gambar 2.6 Struktur senyawa kolesta-4,6-diene-3 β -ol (Swantara dan Parwata, 2011)



Gambar 2.7 (a) Struktur senyawa kolest-5-ene-3 β -ol (kolesterol) dan (c) struktur senyawa kolest-4-en-3-one (Swantara dan Parwata, 2011)

2.5 Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruang. Pada proses perendaman, dinding serta membran sel analit tumbuhan akan terpecah akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan diluar sel, yang mengakibatkan metabolit sekunder dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik. Lama perendaman yang diatur akan menghasilkan ekstraksi yang sempurna. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut (Indrayani, dkk., 2006). Pemilihan pelarut organik untuk ekstraksi merupakan faktor penting agar tercapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Konstanta dielektrik beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrik	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Heksana	1,9	Tidak larut	68,7
Petroleum eter	2,28	Tidak larut	60
Etil asetat	6,02	Sedikit larut	77,1
Metanol	33,60	Larut	64

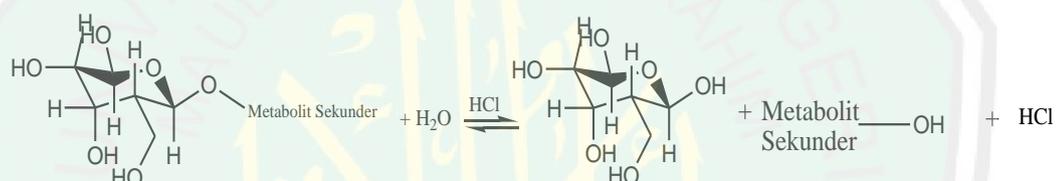
Sumber: Fesenden dan Fesenden (1997) dan Mulyono (2006)

Ekstraksi maserasi pada penelitian ini menggunakan metanol, karena menurut penelitian Sharo, dkk. (2013) ekstraksi alga merah *Eucheuma cottoni* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan diperoleh rendemen 0,78%, sedangkan menggunakan pelarut etanol diperoleh rendemen 1,33% dan Anam (2015) menggunakan pelarut metanol didapatkan rendemen 12,37%. Selain itu, pelarut metanol memiliki titik didih yang lebih rendah dibandingkan *n*-heksana dan etanol. Semakin rendah titik didih pelarut maka akan lebih mudah untuk diuapkan.

2.6 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol

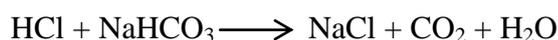
Hidrolisis merupakan reaksi antara air dengan suatu senyawa hingga membentuk reaksi kesetimbangan (Mulyono, 2006). Hidrolisis berfungsi untuk memutuskan ikatan glikosida pada senyawa organik. Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang bersifat polar, semipolar maupun non polar (senyawa metabolit sekunder) (Gunawan, dkk., 2008)

Reaksi hidrolisis dengan menggunakan air berjalan lambat, sehingga perlu katalisator untuk mempercepat reaksi. Katalisator yang sering digunakan adalah HCl. Pemilihan HCl sebagai katalisator karena HCl memiliki sifat yang lebih asam dibandingkan H_2SO_4 , hal ini bisa dilihat dari nilai pKa HCl (-8,00) yang lebih kecil dibandingkan H_2SO_4 (-3,00). Selain itu, HCl dipilih karena akan membentuk garam NaCl yang tidak berbahaya (Setiyawan, 2015). Laju reaksi HCl 2 N ($0,052 \text{ min}^{-1}$) lebih cepat dibandingkan 1 N ($0,036 \text{ min}^{-1}$) (Tasic, dkk., 2009). Dugaan reaksi yang terjadi pada saat proses hidrolisis pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Dugaan reaksi hidrolisis glikosida (Mardiyah, 2012)

Setelah proses pemecahan ikatan glikon dan aglikon perlu dilakukan penetralan dengan menggunakan natrium bikarbonat. Penetralan dilakukan karena glikosida bersifat stabil pada kondisi netral (Fessenden dan Fessenden, 1986). Berikut adalah reaksi penetralan antara HCl dan natrium bikarbonat yang ditunjukkan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat (Mardiyah, 2012)

Setelah proses hidrolisis selanjutnya adalah proses partisi dengan menggunakan petroleum eter. Berdasarkan penelitian Setiyawan (2015) hidrolisis ekstrak kasar metanol *Eucheuma spinosum* yang dipartisi menggunakan pelarut petroleum eter, diperoleh rendemen sebesar 4,9%. Sedangkan Susetyo (2015) menghidrolisis dengan menggunakan partisi menggunakan pelarut etil asetat dan diperoleh rendemen sebesar 4,78%.

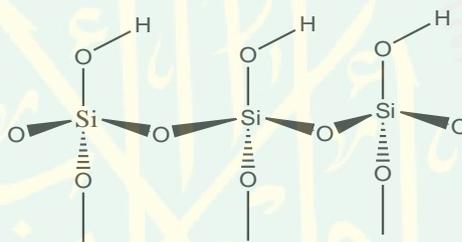
2.7 Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif golongan senyawa aktif pada suatu sampel baik pada tumbuhan maupun pada hewan. Uji ini membantu memberikan gambaran tentang golongan senyawa aktif berupa metabolit sekunder di dalam sampel. Metode yang digunakan secara umum merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi dan pemisahannya (Kristanti, dkk., 2008).

Uji fitokimia senyawa triterpenoid dan steroid dilakukan dengan penambahan kloroform, asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pada dinding tabung reaksi. Uji fitokimia dari fraksi petroleum eter hasil ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dan steroid (Septiandari, 2016). Adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan atau violet pada perbatasan (Ciulei, 1984). Sedangkan adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan (Zamroni, 2011).

2.8 Kromatografi Kolom

Isolasi senyawa triterpenoid dan steroid dapat dilakukan menggunakan kromatografi kolom. Prinsip dasar dari kromatografi kolom adalah suatu pemisahan yang didasarkan pada prinsip adsorpsi. Kromatografi kolom dilakukan dengan membuat bubur antara eluen dengan fase diam (Kristanti, dkk., 2008). Fase diam yang digunakan pada proses pemisahan kromatografi kolom adalah silika gel G-60 (0,063–0,200 mm). Silika gel memberikan luas permukaan yang besar dikarenakan ukuran partikel silika gel yang kecil. Adapun struktur dasar silika gel ditunjukkan pada Gambar 2.10 (Noviyanti, 2010).



Gambar 2.10 Struktur silika gel (Noviyanti, 2010)

Permukaan silika gel memiliki gugus silanol, hidroksil yang terdapat pada gugus silanol ini merupakan pusat aktif dan berpotensi mampu membentuk ikatan hidrogen yang kuat dengan senyawa yang akan dipisahkan. Silika gel membentuk ikatan hidrogen terutama dengan donor H seperti alkohol, fenol, amina, amida dan asam karboksilat. Semakin kuat kemampuan ikatan hidrogen suatu senyawa maka semakin kuat akan tertahan pada silika gel (Noviyanti, 2010).

Pemilihan fasa gerak atau eluen juga merupakan hal penting untuk keberhasilan isolasi senyawa. Eluen yang digunakan dalam isolasi senyawa dalam kromatografi kolom bervariasi, sesuai dengan kebutuhan. Pramana dan Saleh (2013) mengisolasi senyawa steroid dari daun kukang *Lepisanthes amoena* (hassk.) Leenh menggunakan kromatografi kolom. Isolasi dilakukan dengan melakukan ekstraksi menggunakan metanol dan difraksinasi dengan *n*-heksana. Eluen yang digunakan untuk isolasi adalah campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4. Hasil isolasi diperoleh 9 kelompok fraksi gabungan, kelompok fraksi ke 6 merupakan kelompok fraksi yang paling murni karena telah membentuk Kristal, sehingga dilakukan rekristalisasi untuk memurnikan dan diperoleh kristal jarum berwarna putih seberat 10,2 mg. Solikah (2016) mengisolasi senyawa triterpenoid dan steroid fraksi petroleum eter ekstrak metanol dari alga merah *Eucheuma spinosum* dengan perbandingan eluen *n*-heksana dan etil asetat 17:3. Hasil isolasi diperoleh 9 kelompok fraksi gabungan yang terdiri dari 4 kelompok triterpenoid dan 5 kelompok steroid. Hasil isolasi diperoleh rendemen senyawa triterpenoid sebesar 0,41 mg dan senyawa steroid 0,55 mg.

Campuran eluen yang digunakan untuk isolasi senyawa steroid dan triterpenoid terdiri dari senyawa *n*-heksana dan etil asetat. Larutan *n*-heksana merupakan larutan yang bersifat non polar sedangkan larutan etil asetat merupakan larutan yang bersifat semi polar, sehingga campuran *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4, 17:3 dan 18:2 memiliki sifat cenderung non polar, karena *n*-heksana memberikan kontribusi yang lebih besar dibandingkan etil asetat. Variasi eluen yang cenderung bersifat non polar dikarenakan senyawa

triterpenoid dan steroid yang akan diisolasi bersifat cenderung non polar. Senyawa yang bersifat non polar akan ikut bersama dengan laju eluen sedangkan senyawa yang bersifat polar akan tertahan dalam kolom, karena silika yang digunakan bersifat polar.

Monitoring hasil isolasi menggunakan kromatografi kolom dapat dilakukan dengan menggunakan KLTA dengan menggunakan plat KLT silika gel F₂₅₄. Berdasarkan penelitian Setiyawan (2015) eluen terbaik pada proses KLTA untuk memisahkan senyawa triterpenoid dan steroid dari alga merah *Eucheuma spinosum* adalah *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 17:3. Monitoring dilakukan dengan menyemprot pereaksi Liebermann-Burchard, lalu dilihat di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm. Warna merah menunjukkan positif mengandung senyawa triterpenoid (Setiyawan, 2015) dan warna hijau positif mengandung senyawa steroid (Aprelia dan Suyatno, 2013). Hasil identifikasi dikelompokkan berdasarkan warna dan nilai *R_f* yang hampir sama. Nilai *R_f* dapat ditentukan berdasarkan perbandingan antara jarak senyawa yang terelusi dengan jarak pelarut yang mengelusi, ditunjukkan pada Persamaan 2.1.

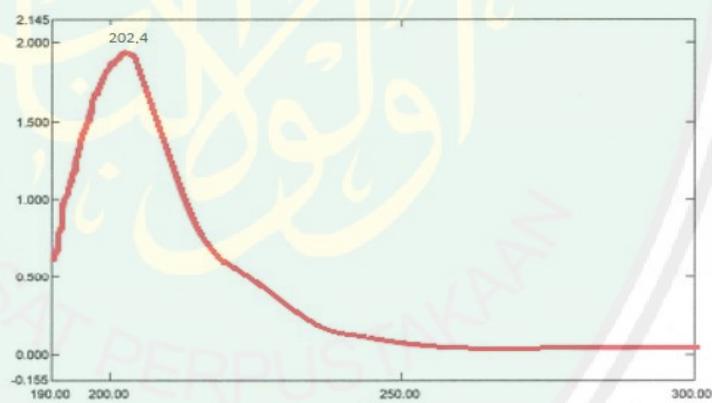
$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{jarak tempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh pelarut}} \dots\dots\dots (2.1)$$

2.9 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Prinsip dari spektrofotometer UV-Vis adalah adanya transisi elektronik suatu molekul yang disebabkan oleh peristiwa absorpsi energi berupa radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai oleh molekul tersebut (Gandjar dan Rohman, 2007). Absorpsi radiasi oleh sampel diukur oleh detektor pada berbagai panjang gelombang dan diinformasikan ke perekam untuk menghasilkan

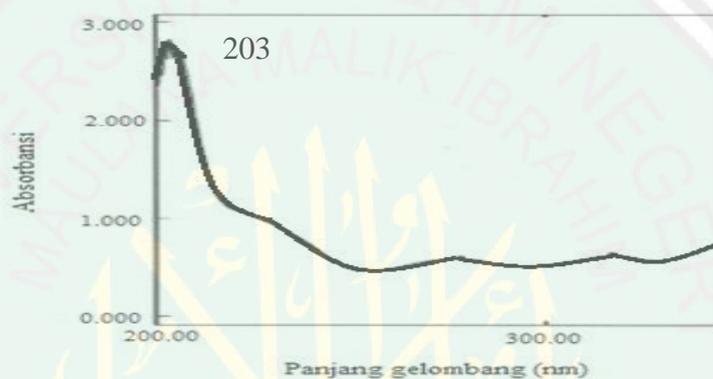
spektrum. Spektrum ini akan memberikan informasi penting untuk identifikasi adanya gugus kromofor (Hendayana, 2006). Penerapan spektrofotometer UV-Vis kebanyakan diterapkan pada senyawa organik yang didasarkan pada transisi $n-\pi^*$ ataupun $\pi-\pi^*$ dan kehadiran gugus kromofor dalam molekul. Transisi ini terjadi dalam daerah UV-Vis, sehingga pada identifikasi ini menggunakan panjang gelombang 200-800 nm (Day dan Underwood, 1999).

Kiranawati dan Suyatno (2014) melakukan isolasi senyawa triterpenoid dari kulit batang bakau merah *Rhizophora stylosa*. Senyawa hasil isolasi dilakukan identifikasi menggunakan UV-Vis, FTIR dan GC-MS. Identifikasi menunjukkan senyawa yang diisolasi adalah senyawa lupeol yang memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 202,4 nm. Spektrum ditunjukkan pada Gambar 2.11.



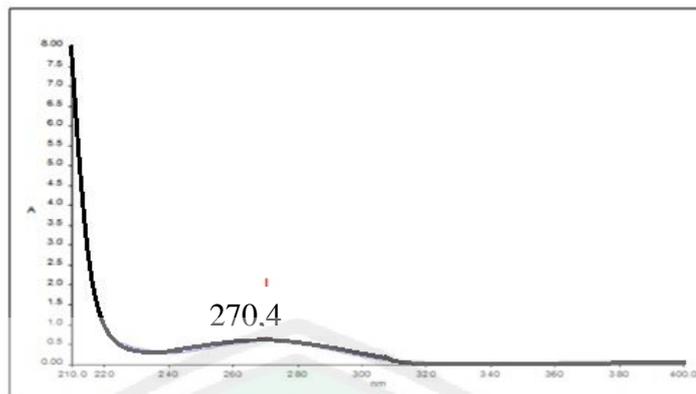
Gambar 2.11 Spektrum UV-Vis senyawa lupeol dari kulit batang bakau merah *Rhizophora stylosa* (Kiranawati dan Suyatno, 2014)

Aprelia dan Suyatno (2013) melakukan penelitian tentang senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan paku *Christella arida*. Senyawa hasil isolasi dilakukan identifikasi menggunakan UV-Vis, FTIR dan GC-MS. Identifikasi menunjukkan senyawa yang berhasil diisolasi adalah senyawa steroid yang memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 203 nm. Spektrum ditunjukkan pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Spektrum UV-Vis senyawa steroid dari tumbuhan paku *Christella arida* (Aprelia dan Suyatno, 2013)

Patel, dkk. (2016) melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari daun palem gula *Caryota urens* dengan menggunakan kromatografi kolom. Hasil isolasi dilakukan identifikasi menggunakan UV-Vis, FTIR dan GC-MS. Berdasarkan hasil identifikasi menunjukkan senyawa yang berhasil diisolasi adalah senyawa steroid. Hasil identifikasi menggunakan UV-Vis didapatkan panjang gelombang maksimum adalah 270,4 nm yang ditunjukkan pada Gambar 2.13.



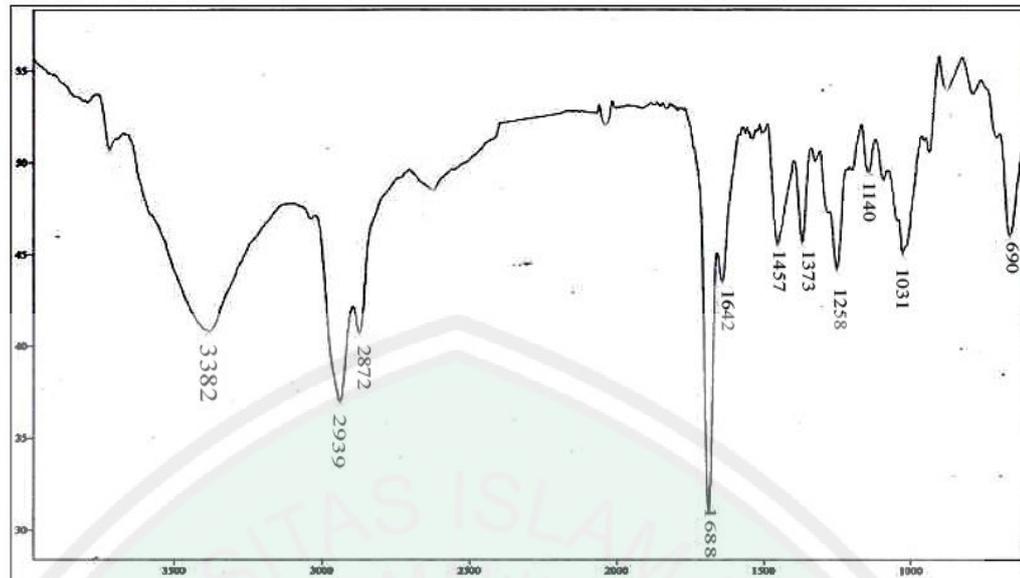
Gambar 2.13 Spektrum UV-Vis senyawa steroid dari daun palem gula *Caryota urens* (Patel dkk., 2016)

2.10 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer FTIR biasa digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa. Daerah spektrum Spektrofotometer IR dibagi menjadi 3, yaitu IR dekat (antara 0,8-2,5 μm atau $12.500\text{-}4.000\text{ cm}^{-1}$), IR tengah (antara 2,5-25 μm atau $4.000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) dan IR jauh (antara 25-1.000 μm atau $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Senyawa yang berinteraksi dengan radiasi IR akan menyebabkan terjadi vibrasi ikatan-ikatan kovalen pada molekul senyawa tersebut. Hal ini yang dijadikan dasar untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa. Identifikasi menggunakan FTIR hanya akan memberikan informasi mengenai gugus fungsi yang terdapat pada struktur triterpenoid dan steroid.

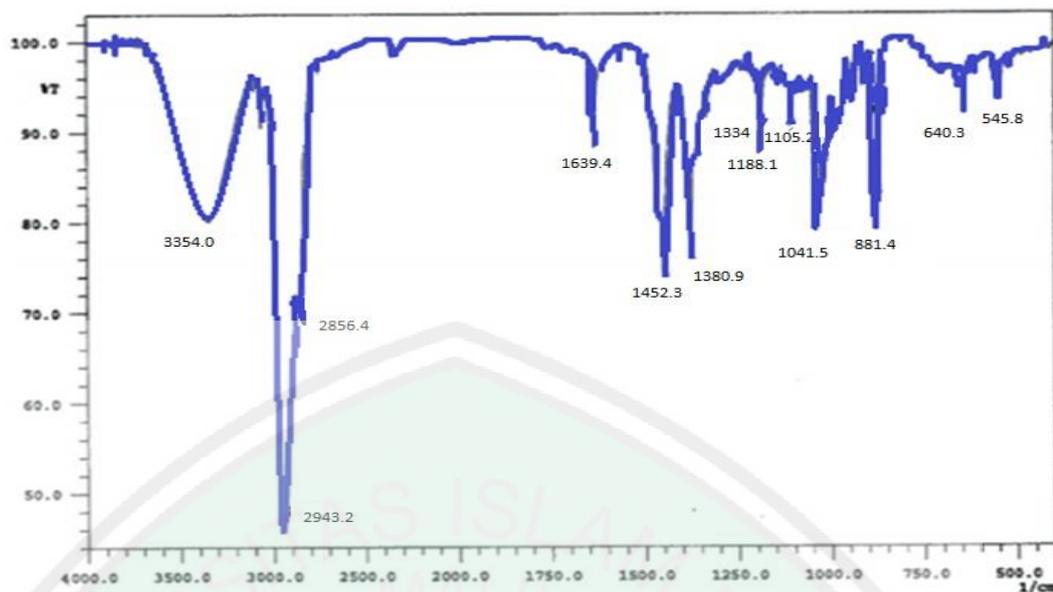
Prayitno, dkk. (2015) melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari kulit batang tumbuhan katsuuri *Mangifera casturi*. Hasil isolasi dilakukan identifikasi menggunakan UV-Vis, FTIR dan H-NMR. Identifikasi menunjukkan senyawa yang berhasil diisolasi adalah senyawa triterpenoid. Spektrum FTIR ditunjukkan pada Gambar 2.14.



Gambar 2.14 Spektrum FTIR senyawa triterpenoid dari tumbuhan kasturi *Mangifera casturi* (Prayitno, dkk., 2015)

Berdasarkan hasil spektrum FTIR senyawa adanya serapan pada bilangan gelombang 3382 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus OH. Bilangan gelombang 2939 dan 2872 cm^{-1} menunjukkan serapan C-H alifatik. Diperkuat oleh adanya serapan gem dimetil pada bilangan gelombang 1373 cm^{-1} dan vibrasi tekuk C-H pada bilangan gelombang 1457 cm^{-1} (Prayitno dkk., 2015).

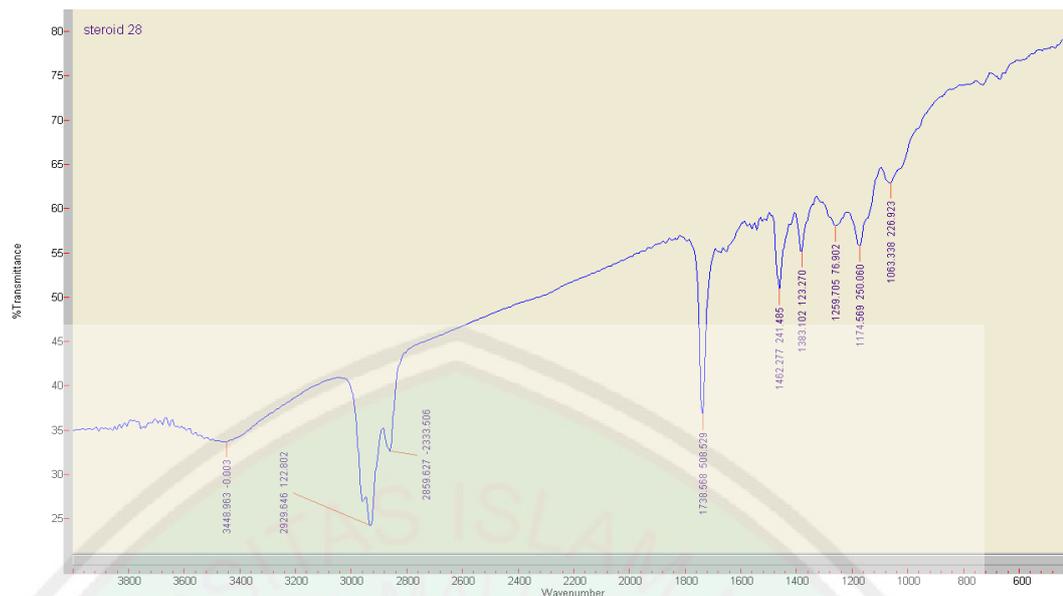
Muharni (2010) melakukan isolasi senyawa triterpenoid dari daun manggis hutan *Garcinia bancana* Miq. Isolasi dilakukan dengan menggunakan kromatografi vakum cair dan dilakukan identifikasi menggunakan UV-Vis, FTIR dan NMR. Hasil identifikasi menunjukkan senyawa triterpenoid yang berhasil diisolasi adalah senyawa lupeol. Gambar 2.15 menunjukkan spektrum senyawa lupeol.



Gambar 2.15 Spektrum FTIR senyawa lupeol dari daun manggis hutan *Garcinia bancana* Miq (Muharni, 2010)

Berdasarkan spektrum dapat diketahui bahwa isolat tersebut memiliki gugus beberapa serapan, antara lain pada bilangan gelombang untuk gugus hidroksil pada bilangan gelombang 3354 cm^{-1} , gugus C-H alifatik pada bilangan gelombang 2943 dan 2856 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1639 cm^{-1} menunjukkan serapan C=C, bilangan gelombang 1380 dan 1334 cm^{-1} menunjukkan serapan gem dimetil dan pada bilangan gelombang 1188 cm^{-1} menunjukkan serapan C=O.

Solikhah (2016) melakukan isolasi senyawa steroid pada alga merah *Eucheuma spinosum* dengan metode kromatografi kolom. Hasil isolasi dilakukan identifikasi menggunakan FTIR. Gambar 2.16 menunjukkan spektrum dari senyawa steroid.



Gambar 2.16 Spektrum FTIR senyawa steroid dari alga merah *Euचेuma spinosum* (Solikah, 2016)

Berdasarkan hasil spektrum dapat diketahui bahwa isolat tersebut memiliki gugus OH pada bilangan gelombang 3438 cm^{-1} , terdapat gugus C-H pada bilangan gelombang 2929 cm^{-1} dan bilangan gelombang 2859 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus $-\text{CH}_2-$. Pada bilangan gelombang 1738 cm^{-1} menunjukkan serapan C=O, pada bilangan gelombang 1462 cm^{-1} menunjukkan serapan C-C serta pada bilangan gelombang 1383 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$. Serapan gugus alkohol sekunder ditunjukkan pada bilangan gelombang 1259 cm^{-1} , pada bilangan gelombang 1174 cm^{-1} menunjukkan serapan C-O-C dan bilangan gelombang 1063 cm^{-1} menunjukkan adanya C-O alkohol sekunder.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari-Mei 2017 di Laboratorium Organik Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis (Varian Cary 50), spektrofotometer FTIR merk (Varian tipe FT-100), ayakan 60-90 mesh, *hotplate*, pisau, desikator, *shaker*, corong pisah, kolom kromatografi, statif dan seperangkat alat gelas laboratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini sampel kering alga merah *Eucheuma spinosum* yang berasal dari pantai Jumiang, Pamekasan Madura, metanol *p.a* 99,9%, petroleum eter *p.a*, akuades, HCl *p.a* 37%, H₂SO₄ *p.a* 98%, etanol *p.a* 96%, *glass woll*, kloroform *p.a*, *n*-heksana *p.a* 99%, etil asetat *p.a*, silika gel G-60 (0,063–0,200 mm), plat silika gel G F₂₅₄, dan NaHCO₃ *p.a*.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif. Diawali dengan preparasi sampel. Sampel kering alga merah *Eucheuma spinosum* dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 60-90 mesh. Lalu melakukan uji kadar air pada sampel yang berbentuk serbuk. Serbuk sampel dimaserasi menggunakan pelarut metanol 99,9%. Selanjutnya ekstrak kasar dihidrolisis menggunakan HCl 2 N. Setelah itu, difraksinasi dengan pelarut petroleum eter *p.a*, diambil fase organik, dipekatkan dan dilakukan uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui senyawa aktif pada fraksi petroleum eter. Kemudian ekstrak dipisahkan dengan metode kromatografi kolom basah menggunakan eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4, 17:3 dan 18:2 secara isokratik. Hasil pemisahan lalu dimonitoring menggunakan KLTA. Monitoring pertama dilakukan dengan diambil tiap 5 vial eluat hasil elusi (vial ke 5, 10, 15, 20 sampai vial terakhir). Kemudian hasil monitoring pertama dimonitoring kembali dengan diambil tiap 1 vial hingga diperoleh batas antara vial murni dan campuran dengan memperhatikan kenampakan noda dan nilai *R_f*. Noda yang positif senyawa triterpenoid dan steroid kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu:

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air
3. Ekstraksi sampel dengan maserasi

4. Hidrolisis dan ekstraksi cair-cair (partisi) ekstrak pekat metanol
5. Uji fitokimia senyawa triterpenoid dan steroid
6. Pemisahan senyawa triterpenoid dan steroid dengan kromatografi kolom basah
7. Monitoring noda dengan KLTA, penggabungan dan pemekatan fraksi
8. Identifikasi isolat menggunakan spektrofotometer UV-Vis
9. Identifikasi isolat menggunakan spektrofotometer FTIR

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan merupakan sampel kering alga merah *Eucheuma spinosum*. Sampel dihaluskan menggunakan blender dan disaring menggunakan ayakan 60-90 mesh.

3.5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan pada semua bagian *Eucheuma spinosum*. Cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-150 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Serbuk *Eucheuma spinosum* dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui berat konstannya sebanyak 2,5 gram dan dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100–105 °C selama 15 menit, kemudian sampel disimpan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven selama 15 menit, disimpan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat

konstan. Kadar air dalam serbuk alga merah dihitung menggunakan Persamaan 3.1.

$$\text{Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Dengan: a adalah berat cawan kosong, b adalah berat cawan dan sampel sebelum dikeringkan dan c adalah berat cawan dan sampel setelah dikeringkan

3.5.3 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi

Ekstraksi komponen aktif pada *Eucheuma spinosum* dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman dengan pelarut metanol. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan agar kandungan senyawa pada tanaman terekstrak secara maksimal. Serbuk *Eucheuma spinosum* ditimbang sebanyak 300 gram dan diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol 1500 mL di dalam erlenmeyer dan diaduk dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 3 jam. Kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama dilakukan sampai 3 kali pengulangan atau sampai diperoleh filtrat yang cukup bening. Selanjutnya ketiga filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (Anam, 2015). Ekstrak pekat ditimbang dan dihitung rendemennya dengan menggunakan Persamaan 3.2.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak metanol}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.5.4 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol

Ekstrak pekat metanol diambil sebanyak 6,5 gram dimasukkan ke dalam gelas kimia, kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 13 mL HCl 2 N ke

dalam ekstrak pekat. Hidrolisis dilakukan selama 1 jam pada suhu ruang. Hasil hidrolisis yang diperoleh ditambahkan dengan natrium bikarbonat sampai pHnya netral, lalu hasil hidrolisis dipartisi menggunakan 32,5 mL pelarut petroleum eter. Proses partisi dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Ekstrak hasil partisi dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Setiyawan, 2015). Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan menggunakan Persamaan 3.3.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat fraksi petroleum eter}}{\text{Berat ekstrak metanol}} \times 100 \% \dots \dots \dots (3.3)$$

3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak petroleum eter sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah 1–2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan 2 pelarut menunjukkan adanya triterpenoid dan jika diperoleh hasil berupa cincin berwarna biru sampai hijau pada perbatasan 2 pelarut menunjukkan adanya senyawa steroid (Mardiyah, dkk., 2014).

3.5.6 Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Menggunakan Kromatografi Kolom Basah

Silika gel G-60 sebanyak 10 gram diaktivasi menggunakan oven pada suhu 110 °C selama 2 jam lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Kolom bagian bawah diisi *glass wool* dan eluen (*n*-heksana:etil asetat). Dibuat bubuk silika gel dengan dimasukkan silika gel dalam gelas kimia lalu ditambahkan campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat 16:4, diaduk hingga homogen dan tidak

ada gelembung udara. Bubur silika gel dimasukkan ke dalam kolom dan didiamkan selama 24 jam. Sampel diambil 0,1 gram dicampur dengan 1 mL campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat 16:4. Selanjutnya kran sedikit dibuka dan dikeluarkan eluen hingga tersisa di atas fase diam namun tidak melebihi fase diam. Setelah itu, kran ditutup dan dimasukkan campuran sampel dan eluen menggunakan pipet. Selanjutnya ditambahkan campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat 16:4. Kran dibuka, dilakukan elusi kemudian hasil elusi ditampung setiap 2 mL dalam botol vial. Selain itu, elusi dilakukan untuk menjaga agar silika gel dalam kolom selalu terendam eluen (Septiandari, 2016). Diulangi perlakuan dengan menggunakan campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat perbandingan 17:3 dan 18:2.

3.5.7 Monitoring Noda dengan KLTA, Penggabungan dan Pemekatan Fraksi

Fraksi-fraksi yang didapat dari pemisahan kromatografi kolom kemudian dimonitoring dengan KLTA. Monitoring pertama dilakukan dengan cara diambil tiap 5 vial yaitu vial ke 5, 10, 15, 20 sampai vial terakhir. Hasil monitoring kemudian dikelompokkan berdasarkan noda dan nilai *R_f* yang muncul. Kelompok fraksi dari monitoring pertama dimonitoring kembali dengan cara diambil tiap 1 vial. Sehingga dapat dilakukan penyederhanaan fraksi dengan cara penggabungan fraksi berdasarkan pola noda dan *R_f* yang sama dari hasil KLTA.

Eluen yang digunakan sebagai fase gerak untuk monitoring adalah *n*-heksana:etil asetat perbandingan 17:3 dan fase diam yang digunakan adalah plat silika gel F₂₅₄ dengan ukuran 10x10 cm. Eluen dijenuhkan dalam bejana pengembang selama 1 jam. Plat silika gel ditandai 1 cm pada batas atas dan

bawah, lalu diaktivasi dengan dioven selama 30 menit. Kelompok tiap fraksi ditotolkan pada plat KLTA yang telah diaktivasi menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1 cm dari batas bawah plat. Setelah selesai penotolan, dimasukkan plat tersebut ke dalam eluen yang telah dijenuhkan dan dielusi sampai tanda batas atas. Kemudian diamati noda yang terbentuk menggunakan lampu UV, disemprot dengan reagen Liebermann-Burchard lalu diamati dibawah lampu UV 366 nm dan dihitung R_f tiap noda.

3.5.8 Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Isolat hasil isolasi dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pembuatan blanko dilakukan dengan memasukkan 5 ml etanol dalam kuvet. Isolat dimasukkan ke dalam kuvet dan ditambahkan etanol. Analisis dilakukan pada panjang gelombang 200–800 nm, sehingga akan diperoleh spektrum dan panjang gelombang maksimum.

3.5.9 Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Isolat triterpenoid dan steroid yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR. Spektra yang dihasilkan dilakukan analisis untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam isolat.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah alga merah jenis *Eucheuma spinosum* yang sudah kering berbentuk butiran, diperoleh dari pantai Jumiang, Pamekasan, Madura. Preparasi sampel diawali dengan proses penghalusan untuk memperbesar luas permukaan sampel. Sampel dalam bentuk serbuk dengan tingkat kehalusan yang tinggi, kemungkinan terjadinya pemecahan sel-sel akan semakin besar sehingga memudahkan pelarut mengambil kandungan yang terdapat dalam sampel dan proses ekstraksi akan semakin cepat (Voight, 1995). Sampel sesudah dihaluskan ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Sampel sesudah dihaluskan

4.2 Analisis kadar air

Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui kadar air dalam sampel alga merah *Eucheuma spinosum*, tinggi rendahnya kadar air akan mempengaruhi proses maserasi. Semakin tinggi kadar air akan menyebabkan adanya kompetisi

antara air dan zat aktif untuk diikat oleh pelarut, misalnya metanol dan semakin rendah kadar air dapat mempermudah proses penarikan zat aktif dalam sampel karena pelarut mudah menembus dinding sel sampel tanpa adanya gangguan dari molekul air. Menurut Septyaningsih (2010) jika kadar air dalam sampel lebih dari 11% maka akan tumbuh mikroorganisme dan mempengaruhi reaksi enzimatik sehingga mempercepat pembusukan sampel. Analisis kadar air dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali hingga berat konstan dengan menggunakan 3 cawan yang berbeda. Hasil analisis kadar air ditunjukkan pada Tabel 4.1. Rata-rata kadar air alga merah *Eucheuma spinosum* sebesar 9,41%.

Tabel 4.1 Hasil analisis kadar air

Pengulangan	Berat (gram)			Kadar air (%)
	Cawan kosong	Cawan kosong + sampel sebelum dioven	Cawan kosong + sampel setelah dioven	
Cawan 1	56,3142	58,8194	58,5854	9,34
Cawan 2	55,2157	57,7172	57,4851	9,28
Cawan 3	51,2933	53,7985	53,5578	9,60
	Rata-rata			9,41

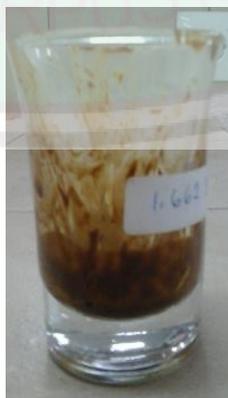
4.3 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel menggunakan metode maserasi bertujuan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Pada saat perendaman menggunakan pelarut metanol terjadi proses difusi karena adanya perbedaan konsentrasi larutan. Pelarut metanol yang memiliki konsentrasi lebih tinggi masuk ke dalam sel alga merah *Eucheuma spinosum* melewati dinding sel, sehingga isi sel keluar dari dinding sel dan larut dalam metanol.

Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dan terjadi penurunan intensitas warna pada filtrat yang diasumsikan bahwa senyawa aktif dalam sampel telah terekstrak dengan maksimal dalam pelarut metanol. Penurunan intensitas warna ditunjukkan pada Gambar 4.3. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, untuk menguapkan pelarut dan diperoleh ekstrak pekat yang ditunjukkan pada Gambar 4.3. Rendemen ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* yang diperoleh sebesar 5,0713%.



Gambar 4.2 Proses maserasi (a) hari ke-1, (b) hari ke-2 dan (c) hari ke-3



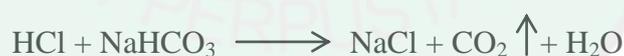
Gambar 4.3 Ekstrak metanol pekat

4.4 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Peekat Metanol

Ekstrak metanol dihidrolisis dengan HCl 2 N untuk memutus ikatan glikosida sehingga diperoleh senyawa metabolit sekunder. Reaksi hidrolisis merupakan reaksi *reversible* (dapat balik), sehingga apabila tidak dihentikan maka akan terbentuk kembali ikatan glikosida (Fessenden dan Fessenden, 1986). Hasil reaksi hidrolisis bersifat asam sehingga reaksi dapat dihentikan dengan menambahkan basa natrium bikarbonat hingga pH 7 yang ditunjukkan pada Gambar 4.4 dan reaksi penetralan ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.4 (a) Penambahan NaHCO_3 dan (b) pengukuran pH



Gambar 4.5 Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat (Mardiyah, 2012)

Hasil hidrolisis dipartisi menggunakan petroleum eter yang memiliki kecenderungan sifat non polar dengan konstanta dielektrik 2,28. Senyawa triterpenoid dan steroid memiliki sifat yang cenderung non polar, sehingga senyawa triterpenoid dan steroid dapat terekstrak dalam petroleum eter. Pada

proses ini terdapat dua lapisan yang tidak saling bercampur yaitu fase air (bersifat polar) dan fase petroleum eter (bersifat non polar), fase petroleum eter hasil partisi dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, untuk menguapkan sisa pelarut. Rendemen ekstrak pekat yang diperoleh sebesar 23,07%. Proses partisi ditunjukkan Gambar 4.6 dan hasil partisi ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.6 Proses partisi

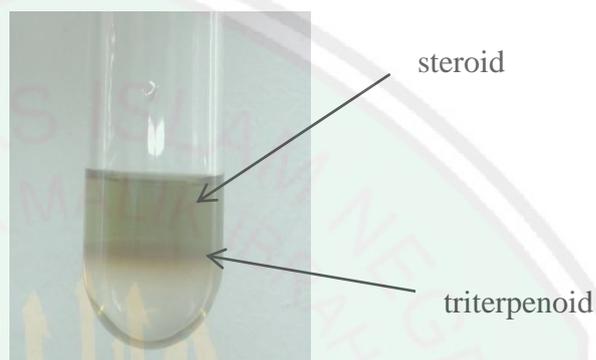


Gambar 4.7 Hasil partisi

4.5 Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid

Langkah awal untuk identifikasi adanya kandungan senyawa triterpenoid dan steroid dilakukan uji fitokimia menggunakan reagen Liebermann-Burchard. Hasil pengujian menunjukkan bahwa alga merah *Eucheuma spinosum*

mengandung senyawa steroid dan triterpenoid. Terbentuknya cincin berwarna kecoklatan yang menandakan adanya kandungan triterpeoid dan warna hijau yang menunjukkan adanya kandungan steroid (Setyowati, dkk., 2014). Hasil identifikasi kandungan ditunjukkan pada Gambar 4.8.

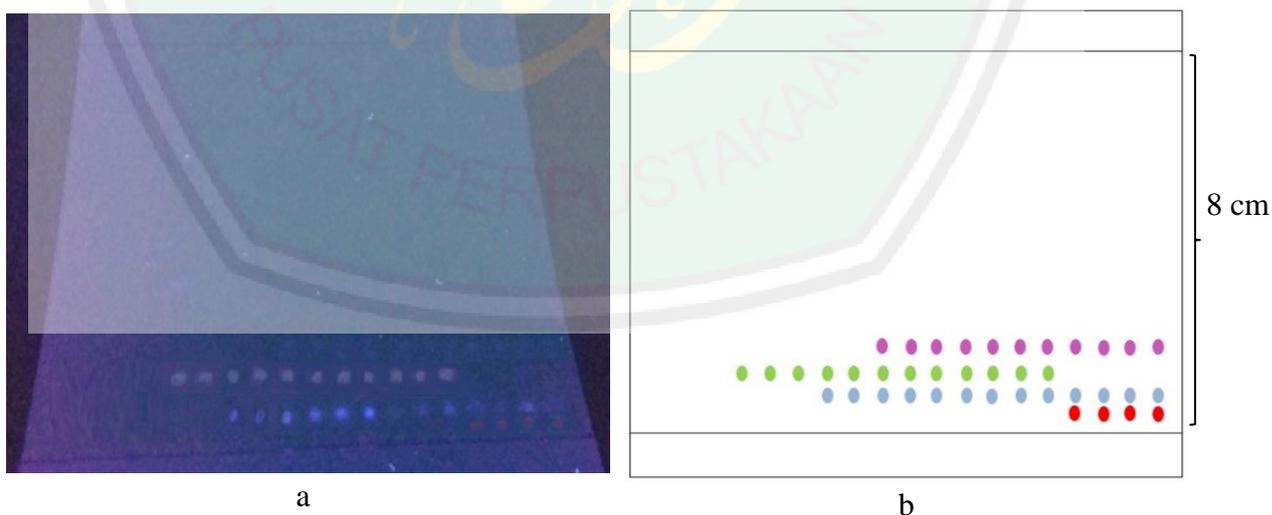


Gambar 4.8 Hasil uji Liebermann-Burchard

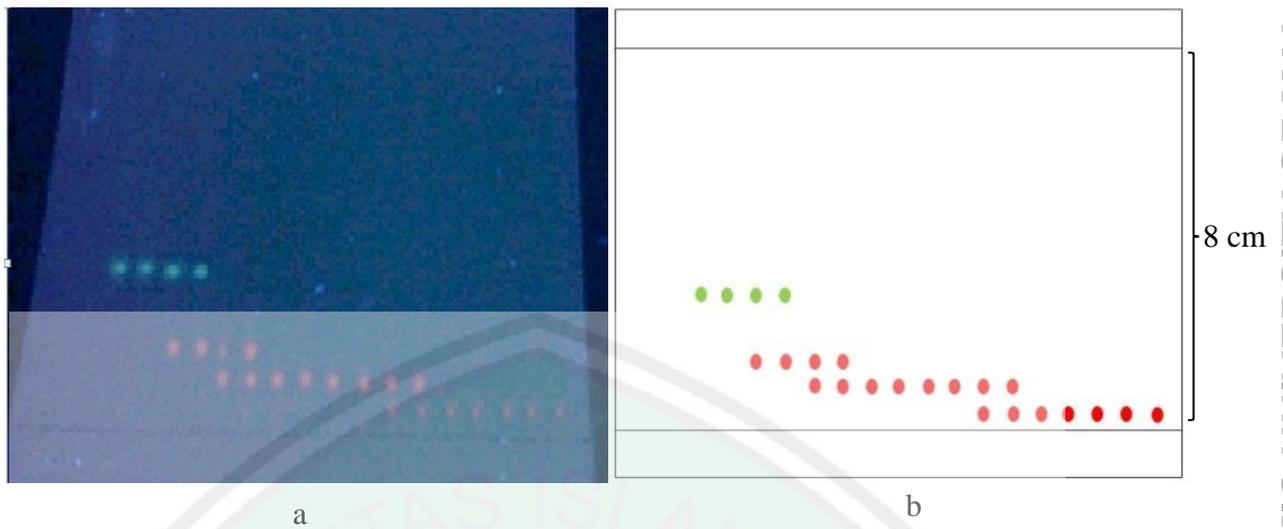
4.6 Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Menggunakan Kromatografi Kolom

Pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid dalam sampel alga merah *Eucheuma spinosum* menggunakan kromatografi kolom basah. Sampel yang masuk dalam kolom akan dibawa oleh fase gerak, sehingga terjadi interaksi senyawa sampel dengan fase diam. Menurut Wonorahardjo (2013) interaksi yang terjadi dimungkinkan karena adanya gaya-gaya van der Waals seperti gaya London, dipol-dipol, dipol induksian bahkan ikatan hidrogen untuk beberapa sampel. Fase diam yang digunakan adalah silika gel dan fase gerak yang digunakan adalah campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan komposisi 16:4, 17:3 dan 18:2.

Eluat hasil elusi dilakukan monitoring menggunakan KLTA untuk mengetahui dugaan senyawa yang terkandung dalam eluat. Noda hasil KLTA direaksikan dengan reagen Liebermann-Burchard dan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, karena pada panjang gelombang 366 nm noda hasil pemisahan dapat berfluoresensi sehingga dapat diamati. Senyawa steroid dan triterpenoid pada plat KLT akan menghasilkan berbagai warna. Triterpenoid akan memberikan warna merah (Ridhia, dkk., 2013) dan ungu (Kiranawati dan Suyatno, 2014). Sedangkan steroid akan memberikan warna hijau (Saleh, 2007) dan biru (Astuti, 2014). Noda tunggal dengan nilai R_f dan warna yang sama dikumpulkan menjadi satu fraksi. Hasil monitoring ditunjukkan pada Gambar 4.9, 4.10 dan 4.11. Tabel hasil monitoring menggunakan komposisi eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4 ditunjukkan pada Tabel 4.2, perbandingan 17:3 ditunjukkan pada Tabel 4.3 dan perbandingan 18:2 ditunjukkan pada Tabel 4.4.



Gambar 4.9 (a) Hasil monitoring eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4 dan (b) ilustrasi hasil monitoring



Gambar 4.10 (a) Hasil monitoring eluen *n*-heksana dan etil^aasetat dengan perbandingan 17:3 dan (b) ilustrasi hasil monitoring



Gambar 4.11 (a) Hasil monitoring eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 18:2 dan (b) ilustrasi hasil monitoring

Tabel 4.2 Hasil monitoring pemisahan steroid dan triterpenoid menggunakan komposisi eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 16:4

No.	Fraksi	Warna noda (UV 366 nm)	Jarak senyawa (cm)	Jarak elusi (cm)	<i>R_f</i>	Dugaan senyawa
1.	1 – 26	-	-	8	-	-
2.	27-35	Hijau	1,25	8	0,1562	Steroid
3.	36-46	Hijau	1,25	8	0,1562	Campuran
		Biru	0,8	8	0,1	
4.	47-80	Ungu	1,75	8	0,2187	Campuran
		Hijau	1,25	8	0,156	
		Biru	0,8	8	0,1	
5.	81-135	Ungu	1,75	8	0,2187	Campuran
		Biru	0,8	8	0,1	
		Merah	0,5	8	0,0625	
6.	136-192	Ungu	1,75	8	0,2187	Campuran
		Biru	0,8	8	0,1	
7.	193-200	-	-	8	-	-

Tabel 4.3 Hasil monitoring pemisahan steroid dan triterpenoid menggunakan komposisi eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 17:3

No.	Fraksi	Warna noda (UV 366 nm)	Jarak senyawa (cm)	Jarak elusi (cm)	<i>R_f</i>	Dugaan senyawa
1.	1 – 14	-	-	8	-	-
2.	15-22	Hijau	3	8	0,375	Steroid
3.	23-33	Hijau	3	8	0,375	Campuran
		Merah	1,5	8	0,1875	
4.	34-44	Merah	1,5	8	0,1875	Campuran
		Merah	0,9	8	0,1125	
5.	45-60	Merah	0,9	8	0,1125	Triterpenoid
6.	61-72	Merah	0,9	8	0,1125	Campuran
		Merah	0,3	8	0,0375	
7.	73-180	Merah	0,3	8	0,0375	Triterpenoid
8.	181-200	-	-	8	-	-

Tabel 4.4 Hasil monitoring pemisahan steroid dan triterpenoid menggunakan komposisi eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 18:2

No.	Fraksi	Warna (UV 366 nm)	Jarak senyawa (cm)	Jarak elusi (cm)	<i>R_f</i>	Dugaan senyawa
1.	1 – 27	-	-	8	-	-
2.	28-66	Hijau	2,5	8	0,3125	Steroid
3.	67-77	-	-	8	-	-
4.	78-107	Merah	1,5	8	0,187	Triterpenoid
5.	108-140	Merah	0,9	8	0,1125	Triterpenoid
6.	141-181	Merah	0,5	8	0,0625	Triterpenoid
7.	182-200	-	-	8	-	-

Berdasarkan Tabel 4.1, 4.2 dan 4.3 hasil isolasi terbaik menggunakan komposisi eluen dengan perbandingan 18:2 menghasilkan 4 fraksi tunggal, yaitu 1 fraksi tunggal berwarna hijau dan 3 fraksi tunggal berwarna merah. Vial ke 67-77 tidak muncul warna saat dimonitoring, hal ini disebabkan senyawa triterpenoid masih tertahan dalam silika. Penggunaan komposisi eluen 16:4 dan 17:3 masih menghasilkan senyawa campuran.

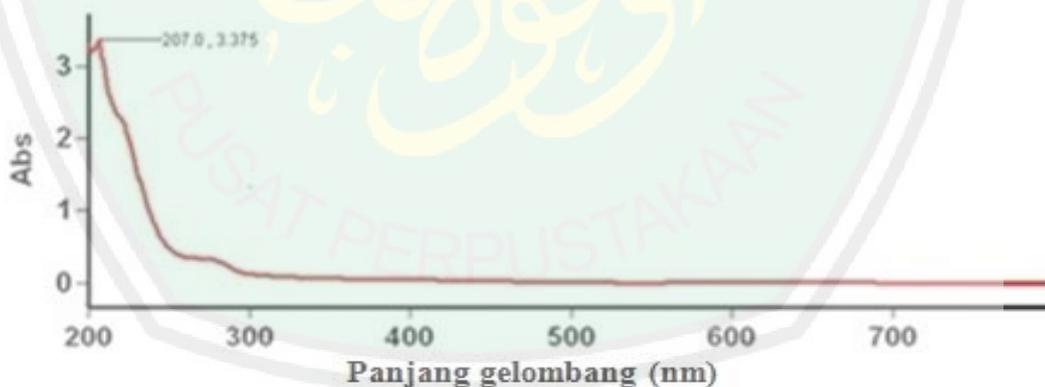
Silika sebagai fase diam memiliki gugus aktif bersifat polar yaitu gugus silanol (Si-OH), sehingga senyawa-senyawa yang bersifat lebih polar akan tertahan pada silika. Senyawa steroid memiliki sifat lebih non polar akan keluar terlebih dahulu dibandingkan senyawa triterpenoid, karena senyawa triterpenoid akan terikat lebih lama di dalam fase diam (Wonorahardjo, 2013). Pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid hasil terbaik dengan menggunakan perbandingan 18:2. Pelarut *n*-heksana memiliki konstanta dielektrik 1,9 dan etil asetat memiliki konstanta dielektrik 6,02, sehingga urutan sifat polar dari pelarut adalah 16:4 > 17:3 > 18:2. Penggunaan eluen yang lebih polar menyebabkan senyawa triterpenoid dan steroid berikatan lebih lama dengan silika.

4.7 Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

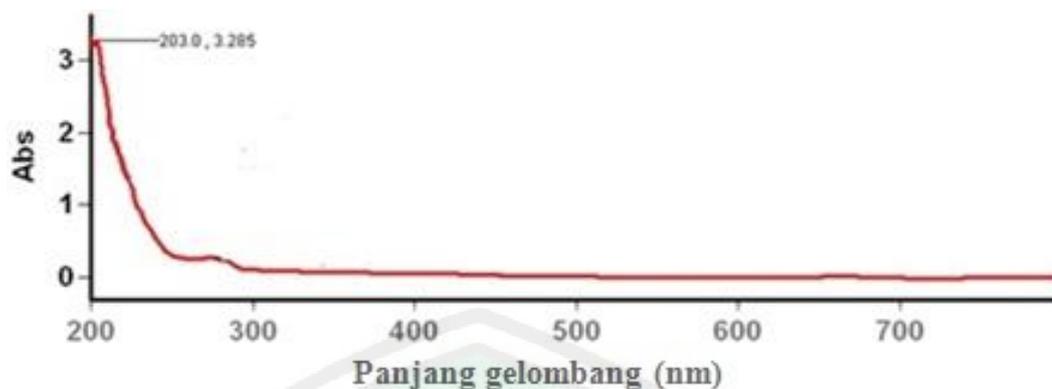
Isolat hasil pemisahan dengan menggunakan variasi eluen *n*-heksana dan etil asetat perbandingan 18:2 dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimum. Spektrum isolat ditunjukkan pada Gambar 4.12, 4.13, 4.14 dan 4.15.



Gambar 4.12 Spektrum UV-Vis isolat 1 (vial ke-28-66)



Gambar 4.13 Spektrum UV-Vis isolat 2 (vial ke-78-107)



Gambar 4.14 Spektrum UV-Vis isolat 3 (vial ke-108-140)



Gambar 4.15 Spektrum UV-Vis isolat 4 (vial ke-141-187)

Berdasarkan Gambar 4.12 isolat 1 memiliki panjang gelombang maksimum 205 nm, hasil penelitian Patra, dkk. (2010) senyawa steroid dari daun tumbuhan *Hygrophila spinosa* memiliki panjang gelombang maksimum 206 nm. Selain itu muncul puncak pada panjang gelombang 214 nm yang menunjukkan panjang gelombang dari pelarut etil asetat dan pada panjang gelombang 275 nm yang menunjukkan panjang gelombang pelarut *n*-heksana.

Spektrum isolat 2 pada Gambar 4.13 memiliki panjang gelombang maksimum 207, 217 dan 275 nm, berdasarkan hasil penelitian Awang, dkk. (2012) daun pacar cina *Aglaiia exima* mengandung senyawa triterpenoid dengan panjang gelombang maksimum 208 nm. Panjang gelombang 218 nm merupakan panjang gelombang dari pelarut etil asetat dan panjang gelombang 275 nm merupakan panjang gelombang dari pelarut *n*-heksana.

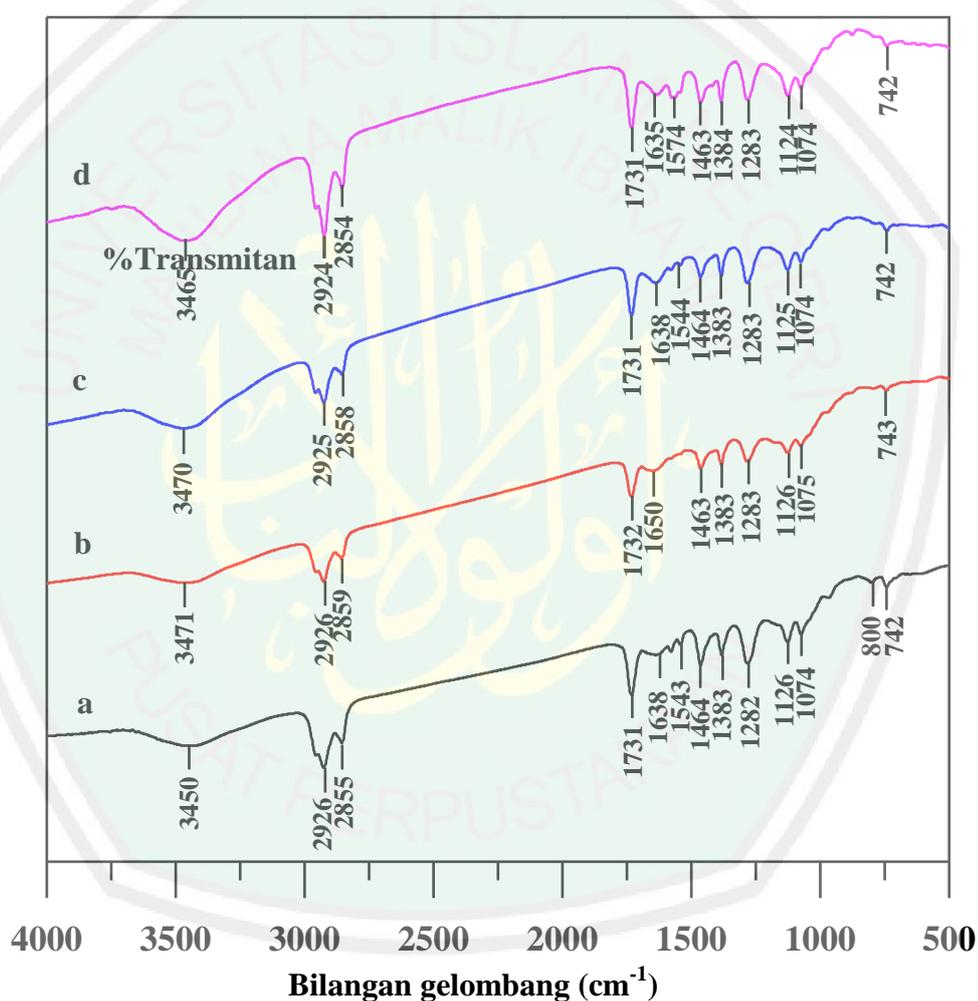
Berdasarkan Gambar 4.14 isolat 3 menunjukkan memiliki panjang gelombang 203 nm, penelitian Kiranawati dan Suyatno (2014) kulit bakau batang merah *Rhizophora stylosa* mengandung senyawa triterpenoid dengan panjang gelombang maksimum 202,4 nm. Selain itu, juga muncul puncak pada panjang gelombang 275 nm yang merupakan panjang gelombang dari pelarut *n*-heksana.

Berdasarkan Gambar 4.15 isolat 4 memiliki panjang gelombang maksimum 204,9; 217 dan 275 nm, hasil penelitian Praveena, dkk. (2013) senyawa triterpenoid dari daun nyamplung *Calophyllum inophyllum* memiliki panjang gelombang maksimum 204 nm. Panjang gelombang 217 nm merupakan panjang gelombang dari pelarut etil asetat dan 275 nm merupakan panjang gelombang dari pelarut *n*-heksana.

Menurut Rohman dan Gandjar (2007) munculnya puncak pada panjang gelombang 200–700 nm disebabkan adanya transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$. Adanya absorpsi kromosom karbonil yang menyebabkan transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan adanya absorpsi kromosom karboksil menyebabkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$.

4.8 Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Langkah lanjut untuk identifikasi isolat hasil pemisahan dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR, untuk mengetahui gugus fungsi dari suatu senyawa. Spektra FTIR isolat ditunjukkan pada Gambar 4.14 dan identifikasi yang ditunjukkan pada Tabel 4.5 dan 4.6.



Gambar 4.16 Spektra FTIR isolat (a) 1, (b) 2, (c) 3 dan (d) 4

Tabel 4.5 Hasil identifikasi spektrum FTIR isolat 1

No.	Hasil penelitian (cm ⁻¹)	Referensi (Socrates, 1994)	
		Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Jenis vibrasi
1.	3450	3550-3230	O-H <i>stretch</i>
2.	2926	3000-2800	Csp ³ -H <i>stretch</i>
3.	2855	2870-2840	-CH ₂ - <i>sym stretch</i>
4.	1731	1780-1730	C=O <i>stretch</i>
5.	1638	1680-1620	C=C <i>stretch</i> tidak terkonjugasi
6.	1543	1600-1450	C-C <i>stretch</i>
7.	1464	1480-1440	-CH ₂ <i>bend</i>
8.	1383	1395-1365	-C(CH ₃) ₂ <i>stretch</i>
9.	1282	1300-1000	-C-O <i>stretch</i>
	1126	1300-1000	-C-O <i>stretch</i>
1	1074	1125-1000	C-OH Alkohol sekunder
12.	800	850-790	C=CH- <i>stretch</i>
13.	742	995-650	=C-H siklik

Tabel 4.6 Hasil identifikasi spektra FTIR isolat 2, 3 dan 4

No.	Hasil penelitian (cm ⁻¹)			Referensi (Socrates, 1994)	
	Isolat vial ke-	Isolat vial ke-	Isolat vial ke-	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Jenis vibrasi
1.	3471	3470	3465	3550-3230	O-H <i>stretch</i>
2.	2926	2925	2924	3000-2800	Csp ³ -H <i>stretch</i>
3.	2859	2858	2854	2870-2840	-CH ₂ - <i>sym stretch</i>
4.	1732	1731	1731	1780-1730	C=O <i>stretch</i>
5.	1650	1638	1635	1680-1620	C=C <i>stretch</i> tidak terkonjugasi
6.		1544	1574	1600-1450	C-C <i>stretch</i>
7.	1463	1464	1463	1480 – 1440	-CH ₂ <i>bend</i>
8.	1383	1383	1384	1395-1365	-C(CH ₃) ₂ <i>stretch</i>
9.	1283	1283	1283	1300-1000	-C-O <i>stretch</i>
10.	1126	1125	1124	1300-1000	-C-O <i>stretch</i>
11.	1075	1074	1074	1125-1000	C-OH Alkohol sekunder
12.	743	742	742	995-650	=C-H siklik

Berdasarkan Gambar 4.16a isolat 1 memiliki gugus fungsi OH pada bilangan gelombang 3450 cm^{-1} , $\text{Csp}^3\text{-H}$ pada bilangan gelombang 2926 cm^{-1} dan gugus $\text{-CH}_2\text{-}$ pada bilangan gelombang 2855 cm^{-1} . Adanya serapan gugus C=O pada bilangan gelombang 1731 cm^{-1} serta C=C tidak terkonjugasi pada bilangan gelombang 1638 cm^{-1} . Serapan dari gugus $\text{-C(CH}_3)_2$ pada bilangan gelombang 1383 cm^{-1} dan gugus fungsi C-OH alkohol sekunder pada bilangan gelombang 1126 dan 1074 cm^{-1} . Selain itu, juga muncul serapan pada bilangan gelombang 800 cm^{-1} yang menunjukkan serapan dari C=CH serta pada bilangan gelombang 742 cm^{-1} muncul serapan dari gugus fungsi dari =C-H siklik. Spektrum yang dihasilkan mirip dengan spektrum senyawa steroid hasil isolasi dari akar tumbuhan *Caylusea abyssinic* yang dilakukan oleh Edilu, dkk. (2015). Isolat akar tumbuhan *Caylusea abyssinic* dilakukan identifikasi menggunakan FTIR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan DEPT-135 senyawa yang berhasil diisolasi adalah senyawa β -sitosterol.

Berdasarkan Gambar 4.16b isolat 2 memiliki gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang 3471 cm^{-1} , gugus $\text{Csp}^3\text{-H}$ pada bilangan gelombang 2926 cm^{-1} dan $\text{-CH}_2\text{-}$ pada bilangan gelombang 2859 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1732 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan dari gugus fungsi C=O , serapan pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C tidak terkonjugasi, bilangan gelombang 1075 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi dari senyawa alkohol sekunder. Serta serapan pada bilangan gelombang 1383 cm^{-1} yang merupakan gugus $\text{-C(CH}_3)_2$ dan bilangan gelombang 743 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi dari =C-H . Spektrum yang dihasilkan mirip dengan spektrum senyawa triterpenoid dari daun *Gymnema sylvestre* (Khanna, dkk., 2011).

Identifikasi menggunakan FTIR, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ diketahui senyawa triterpenoid hasil isolasi dari daun *Gymnema sylvestre* adalah gymnemagenol.

Berdasarkan Gambar 4.16c isolat 3 menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3470 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus fungsi OH, pada bilangan gelombang 2925 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $\text{Csp}^3\text{-H}$ dan bilangan gelombang 2858 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_2-$. Pada bilangan gelombang 1731 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi C=O dan serapan pada bilangan gelombang 1638 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C tidak terkonjugasi. Serapan bilangan gelombang 1464 cm^{-1} terdapat gugus C-C dan gugus $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ pada bilangan gelombang 1383 cm^{-1} , serta gugus alkohol sekunder pada bilangan gelombang 1074 cm^{-1} . Selain itu, muncul serapan pada bilangan gelombang 742 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi dari $=\text{C-H}$.

Berdasarkan Gambar 4.16d isolat 4 memiliki serapan pada bilangan gelombang 3465 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus fungsi OH, serapan dari gugus $\text{Csp}^3\text{-H}$ pada bilangan gelombang 2924 cm^{-1} dan serapan gugus $-\text{CH}_2-$ pada bilangan gelombang 2854 cm^{-1} , gugus C=O pada bilangan gelombang 1731 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1635 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan C=C tidak terkonjugasi, pada bilangan gelombang 1463 cm^{-1} terdapat gugus C-C dan serapan gugus $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ pada bilangan gelombang 1384 cm^{-1} , serta gugus alkohol sekunder pada bilangan gelombang 1074 cm^{-1} . Selain itu, pada bilangan gelombang 742 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $=\text{C-H}$ siklik.

Spektra FTIR senyawa triterpenoid 3 dan 4 memiliki gugus fungsi yang sama, yaitu O-H, $\text{Csp}^3\text{-H}$, $-\text{CH}_2-$, C=O , C=C tidak terkonjugasi, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$, C-OH alkohol sekunder dan $=\text{C-H}$ siklik. Spektra yang dihasilkan mirip dengan

spektrum senyawa lupeol dari daun *Helicanthus elasticus* (Kalyani dan Rambhau, 2012). Selain itu, serapan pada spektra isolat 3 dan 4 juga memiliki kemiripan dengan serapan senyawa lupeol dan α -amyirin dari daun *Bauhinia variegata* (Saha, dkk., 2012). Identifikasi senyawa yang dilakukan oleh Saha, dkk. (2012) menggunakan FTIR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan MS. Senyawa lupeol dan senyawa α -amyirin merupakan senyawa triterpenoid yang memiliki gugus fungsi OH.

4.9 Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Menurut Perspektif Islam

Alga merah *Euclima spinosum* merupakan salah satu jenis tumbuhan yang telah Allah SWT ciptakan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Penelitian mengenai isolasi senyawa triterpenoid dan steroid pada alga merah *Euclima spinosum* merupakan salah satu wujud syukur atas nikmat yang telah Allah SWT berikan. Mempelajari mengenai fenomena alam adalah perintah kepada manusia agar dapat menyadari kekuasaan dan kebesaran Allah SWT sehingga menambah keimanan manusia kepada Allah SWT. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Quran surat Al Imran: 190-191 yaitu:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۝ ١٩٠
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
 وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۝ ١٩١

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa api neraka.” (QS. Ali Imran 190-191).*

Quran surat Ali Imran ayat 191 menjelaskan bahwa kata *ulul albab* adalah orang-orang selalu mengingat Allah di setiap kondisi baik ketika berdiri, duduk, maupun berbaring. Setiap waktu digunakan untuk memikirkan penciptaan semesta alam tentang kejadian-kejadian di alam yang menggambarkan kesempurnaan alam dan keagungan Allah SWT. Hal ini akan semakin meningkatkan keimanan, rasa syukur, serta ketakwaan manusia kepada Allah sebagai Tuhan seluruh alam (Shihab, 2002). Dijelaskan juga dalam tafsir *Adhawa'ul Bayan* Allah menyebutkan bahwa di antara perkataan yang diucapkan oleh orang-orang yang berakal itu adalah perkataan mereka yang mensucikan Tuhan mereka. Dijelaskan bahwa tidak mungkin Allah menciptakan langit dan bumi ini dengan sia-sia atau tanpa hikmah satu pun (Asy-Syaqinhi, 2006). Ayat tersebut menjelaskan bahwa sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu tidaklah sia-sia bagi orang yang mau berfikir.

Petunjuk bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu penuh hikmah untuk dimanfaatkan oleh manusia juga dijelaskan dalam Quran surat Luqman ayat 10 bahwa Allah menumbuhkan tumbuhan yang baik tanpa terkecuali alga merah *Eucheuma spinosum*. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan alga merah *Eucheuma spinosum* memiliki manfaat antara lain sebagai antioksidan (Mardiyah, dkk., 2014), mengandung senyawa toksik (Kholidiyah, 2013) serta memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *E.coli* (Miftahurrahman, 2012) dan *M. tuberculosis* (Ahmad dan Massi, 2013). Hal ini karena adanya senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa triterpenoid dan steroid. Isolasi dengan menggunakan kromatografi kolom baik dengan cara kering atau basah telah dilakukan dan hasilnya menunjukkan isolasi dengan kromatografi

kolom basah menghasilkan senyawa tunggal yang lebih banyak (Septiandari, 2016), sehingga dilakukan langkah selanjutnya sebagai optimisasi isolasi dengan menggunakan berbagai kombinasi campuran eluan.

Hasil penelitian menunjukkan kombinasi eluen terbaik untuk isolasi senyawa triterpenoid dan steroid adalah *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 18:2, dengan perbandingan 18:2 didapatkan 1 fraksi tunggal berwarna hijau dengan nilai R_f 0,375 dan 3 fraksi tunggal berwarna merah dengan nilai R_f 0,187; 0,1625 dan 0,1. Identifikasi spektrofotometer UV-Vis isolat hasil pemisahan memiliki panjang gelombang maksimum 205, 207, 203 dan 204,9 nm. Serta identifikasi spektrofotometer FTIR isolat isolat 1 memiliki gugus fungsi OH, C_{sp^3} -H, $-CH_2-$, C=O, C=C, $C(CH_3)_2$, C-OH alkohol sekunder, C-CH dan =C-H siklik. Sedangkan isolat 2, 3 dan 4 memiliki gugus fungsi OH, C_{sp^3} -H, $-CH_2-$, C=O, C=C, $C(CH_3)_2$, C-OH alkohol sekunder dan =C-H siklik.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil pemisahan senyawa triterpenoid dan steroid menggunakan variasi eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 18:2 didapatkan 1 fraksi tunggal berwarna hijau dengan nilai *R_f* 0,375 dan 3 fraksi tunggal berwarna merah dengan nilai *R_f* 0,187; 0,1625 dan 0,1.
2. Hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis isolat hasil pemisahan memiliki panjang gelombang maksimum 205, 207, 203 dan 204,9 nm.
3. Hasil identifikasi spektrofotometer FTIR isolat isolat 1 memiliki gugus fungsi OH, Csp³-H, -CH₂-, C=O, C=C, C(CH₃)₂, C-OH alkohol sekunder, C-CH dan =C-H siklik. Sedangkan isolat 2, 3 dan 4 memiliki gugus fungsi OH, Csp₃-H, -CH₂-, C=O, C=C, C(CH₃)₂, C-OH alkohol sekunder dan =C-H siklik.

5.2 Saran

Pemisahan senyawa triterpenoid dan steroid pada alga merah *Eucheuma spinosum* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Penggunaan eluen gradien perlu dilakukan untuk mengetahui hasil pemisahan, selain itu perlu digunakan ukuran kolom terbaik, perbandingan silika dan sampel terbaik. Identifikasi isolat lebih lanjut juga perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Pustaka Imam Asy Syafi'i.
- Ahmad, A dan Massi, M.N. 2013. Inhibitive Enhancement of Isoniasid Inhibitive Enhancement of Isoniasid Treatment on *Mycobacterium tuberculosis* Through Triterpenoid Carbocyclic Acid from Red Algae *Eucheuma Spinosum*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2): 231–237.
- Al Jazaizi, S. A. B. J. 2008. *Tafsir Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunah Press.
- Al-Maragi, A.M. 1993. *Tafsir Al-Maraghi* 7. Semarang: CV Toha Putra.
- Al-Qarni, A. 2007. *Tafsir Muyassar Jilid 4 Juz 18-23*. Jakarta: Qisthi Press.
- Anam, K. 2015. Isolasi senyawa triterpenoid dari alga merah (*Eucheuma cottonii*) menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan analisisnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Aprelia, F dan Suyatno. 2013. Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Tumbuhan Paku *Christella Arida* dan Uji Pendahuluan Sebagai Antikanker. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(3): 94–99.
- Ar Rifa'i, U. A. K. 2008. *Tafsir Wajiz*. Jakarta: Gema Isnani.
- Ash Shiddiqieqy, T. M. H. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Semarang: Pustaka Rizki Putra.
- Astuti, M. D, Maulana, A, dan Kuntowati, E. M. 2014. Isolasi Steroid dari Fraksi *n*-Heksana Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus Littoralis Hassk*). Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Kimia*; Surabaya, 20 September 2014. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya. Halaman 9-13.
- Asy Syanqithi, S. 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Awang. K., dkk. 2012. Triterpenes and Steroids from the Leaves of *Aglaia exima* (Meliaceae). *Fitoterapia*, 1391-1395.
- Azizah, N. L. 2016. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil KLTP Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosum*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ciulei, J. 1984. *Methodology for Analysis of Vegetable and Drugs*. Rumania: Faculty of Pharmacy.

- Day, R.A dan Underwood, A.L. 1999. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- DEPAG. 2010. *Al-Qur'an dan Tafsirnya*. Jakarta: Bumi Restu.
- Diharmi, A, Fardiaz, D, Andarwulan, N dan Heruwati, E. S. 2011. Karakteristik Komposisi Kimia Rumpun Laut Merah (Rhodophyceae) *Euचेuma spinosum* yang Dibudidayakan dari Perairan Nusa Penida, Takalar, dan Sumenep. *Berkala Perikanan Terubuk*, 39(2): 62–66.
- Edilu, A, Adane, L dan Woyessa, D. 2015. In Vitro Antibacterial Activities of Compounds Isolated from roots of *Caylusea abyssinica*. *Annels of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 1-8.
- Fessenden dan Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka belajar.
- Gunawan, I. W. G, Bawa, I. G. A. G dan Sutrisnayanti, N. L. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Kimia*, 2(1): 31–39.
- Handoko, S. 2016. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter (PE) Mikroalga *Chlorella sp.* dengan Metode Kromatografi Kolom Pembuatan Fasa Diam Cara Basah dan Kering. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Hingkau, S. S, Julaeha, E dan Kurnia, D. 2013. Senyawa Triterpenoid dari Batang Tumbuhan Mangrove *Avicennia Marina* yang Beraktivitas Anti Bakteri. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir*; Bandung, 4 Juli 2013. Bandung: Universitas Padjajaran. Halaman 226–230
- Indrayani, L, Soetjipto, H dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Berk. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas*, 57–61.
- Kalyani, K dan Rambhau, J. Isolation and Characterization of Triterpenoids in Cuticular Wax of Leaves of *Helicanthus Elasticsus* Linn. (Loranthaceae) Parasitic on *Memecylon Umbellatum* Burm. *International Journal of Drug*

Development and Research, 4(4): 243-251.

- Kanna, V. G, Kannabiran, K, Rajakumar, G dan Rahuman, A. A. Biolarvicidal Compound Gymnemenol Isolated from Leaf Extract of Miracle Fruit Plant, *Gymnema sylvestre* (Retz) Schult Against Malaria and Filariasis Vectors. *Parasitol Res*, 109: 1373-1386.
- Kamboj, A dan Saluja, A. K. 2011. Isolation of Srigmasterol and β -Sitosterol from Petroleum Ether Extract of Aerial Parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(1): 94-96.
- Kholidiyah, M. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Rumpun Laut Jenis *Eucheuma spinosum* Perairan Madura Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lathality Test*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kiranawati, D dan Suyatno. 2014. Senyawa Non Fenolik dari Ekstrak *n*-Heksana Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*). *UNESA Journal of Chemistry*, 3(3): 55-59.
- Kristanti, A. N, Nanik, S. A, Mulyadi, T dan Bambang, K. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kusmiyati, Aznam, N dan Handayani, S. 2011. Isolasi dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val) Fraksi Etil Asetat. *Jurnal Imiah Kefarmasian*, 1(2): 1-10.
- Laili, R. 2016. Uji Aktifitas Antioksidan dan Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Senyawa Steroid Fraksi PE Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosum*). *Skripsi*. Malang: Universitas Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mardiyah, U; Fasya, A. G; Fauziyah, B dan Amalia, S. 2014. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dari Perairan Banyuwangi. *Alchemy*, 3(1): 39-46.
- Miftahurrahmah. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Pesisir Laut Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Muharni. 2010. Triterpenoid Lupeol dari Manggis Hutan (*Garcinia bancana* Miq.). *Jurnal Penelitian Sains*, 13(3): 40-45.
- Mulyani, M, Arifin, B dan Nurdin, H. 2013. Uji Antioksidan dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.). *Jurnal*

Kimia Unand, 2(1): 6–12.

Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: Bumi Aksara.

Novadiana, A, Erwin dan Pasaribu, S. P. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Kloroform dari Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia Lam.*). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(1): 8–13.

Noviyanti, L. 2010. Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom untuk Pemisahan Trigliserida dari Estrak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk.*). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Patel, M. R, Panchal, H. S dan Saluja, A. K. 2016. Identification of Triterpenoids and Steroidal Compounds in Caryota *Urens Leaves* by Column Chromatography and Various Spectroscopic Techniques. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5): 1610–1622.

Patra, A, Jha, S, Murthy, P. N, Manik dan Sharone, A. 2010. Isolation and Characterization of Stigmast-5-en-3 β -ol (β -Sitosterol) from the Leaves of *Hygrophila spinosa* T. Anders. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(2): 95-100.

Pramana, M. R. A dan Chairul Saleh. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid pada Fraksi n-Heksana dari Daun Kukang (*Lepisanthes amoena (Hassk.) Leenh.*). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 10(2): 85–89.

Prayitno, B, Rosyidah, K dan Astuti, M. D. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid dari Fraksi M 17 Ekstrak Metilena Klorida Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). Di dalam: *Seminar Nasional dan Workshop Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik 5*; Padang, 6-7 November 2015. Banjarmasin: Universitas Lambung Mangkurat. Halaman 6–7.

Praveena, C; Rani, S dan Veeresham. 2013. Phytochemical Investigation of *Calophyllum inophyllum*. *Natural Products Chemistry & Research*, 1(4): 1-4.

Ridhia, Ibrahim, S dan Efdi, M. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Triterpenoid dari Fraksi n-Heksan pada Kulit Batang Srikaya (*Annona Squamosa L.*). *Jurnal Kimia Unand*, 2(1): 83-86.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.

Rohman, A dan Gandjar, I. G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Saha, S, Subrahmanyam, E. V. S, Kodangala, C dan Shastry S. C. Isolation and Characterization of Triterpenoid and Fatty Acid Ester of Triterpenoid

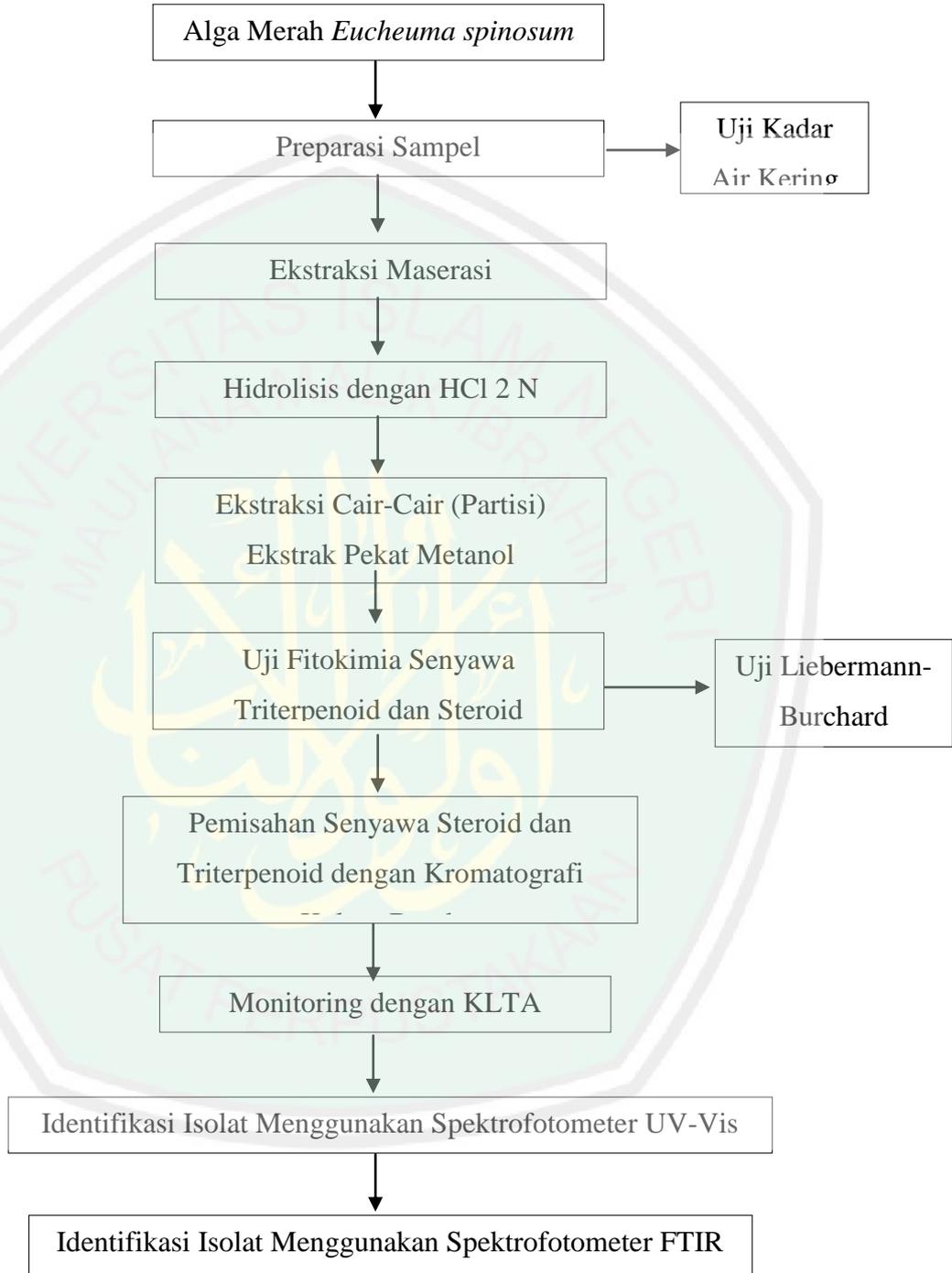
- From Leaves of *Bauhinia variegata*. 2011. *Der Pharma Chemica*, 3(4): 28-37.
- Saleh, C. 2007. Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Steroid dari Akar Tumbuhan Cendana (*Santalum album Linn*). *Tesis*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Septiandari, N. 2016. Isolasi Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) Menggunakan Kromatografi Kolom Cara Kering dan Basah. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Septyaningsih, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk.*). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Setiyawan, M. I. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dan Identifikasi Menggunakan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Socrotes. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Table and Charts Second Editions*. UK: The University of West London.
- Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashandi, Mulyani, B., dan Rahmawati, C. P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr*) Varietas Petruk. Di dalam: *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia IV*; Surakarta, 21 Juni 2014. Surakarta: Universitas Negeri Surakarta. Halaman 43-49 .
- Sharo, N. M., Ningsih, R., Nasichuddin, A., dan Hanapi, A. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottoni*) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Alchemy*, 2(3): 170–177.
- Shihab, Q. 2002. Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholikah, A.N. L. 2016. Isolasi Senyawa Steroid dari Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma Spinosum*) Menggunakan Metode Kromatografi Kolom. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Swantara, I. M. D dan Parwata I. M. O. A. 2011. Kajian Senyawa Antioksidan pada Rumput Laut dari Pantai Sekitar Bali. *Jurnal Kimia Unud*, 2(1): 89-96.
- Tasic, M. B, Konstantinovic, B. V, Lazic, M. L dan Veljkovic, V. B. 2009. The Acid Hydrolysis of Potato Tuber Mash in Bioethanol Production.

Biochemical Engineering Journal, 43: 208–211.

- Utama, W. A, Mai, E dan Adlis, S. 2013. Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Aktif Kulit Batang Kecapi (*Sandoricum Koetjape Merr*) dan Uji Bioaktivitas “Brineshrimps Lethality Biossay”. *Jurnal Kimia Unand*, 2(1): 4-9.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- Wahyudi, J, Wibowo, W. A., Rais, Y. A dan Kusumawardani, A. 2011. Pengaruh Suhu Terhadap Kadar Glukosa Terbentuk dan Konstanta Kecepatan Reaksi pada Hidrolisa Kulit Pisang. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, Yogyakarta, 22 Februari 2011. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Wonorahardjo, Surjani. 2013. *Metode-Metode Pemisahan Kimia*. Jakarta: Akademia Permata.
- Zamroni, M. 2011. Uji Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibakteri Tanaman Anting-Anting (*Achalifa indica L*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

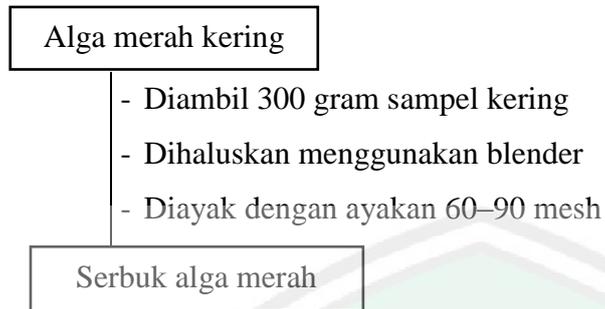
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

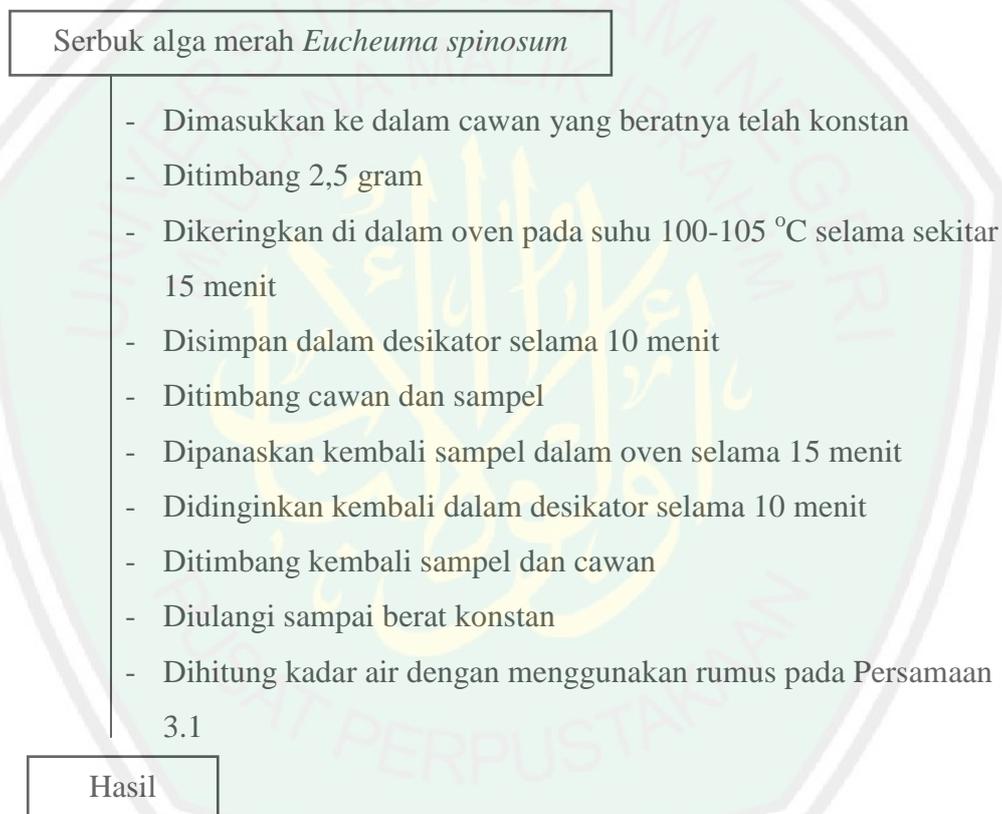


Lampiran 2. Diagram Alir

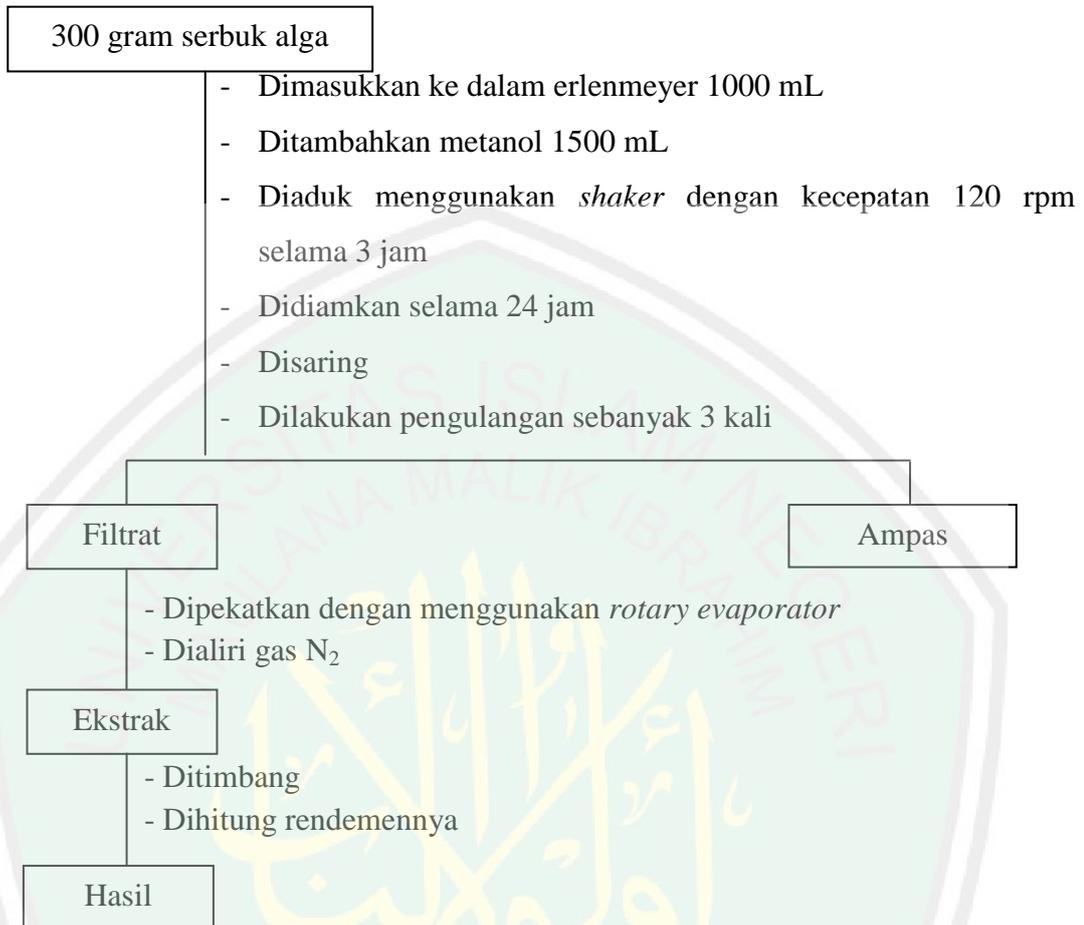
1. Preparasi Sampel



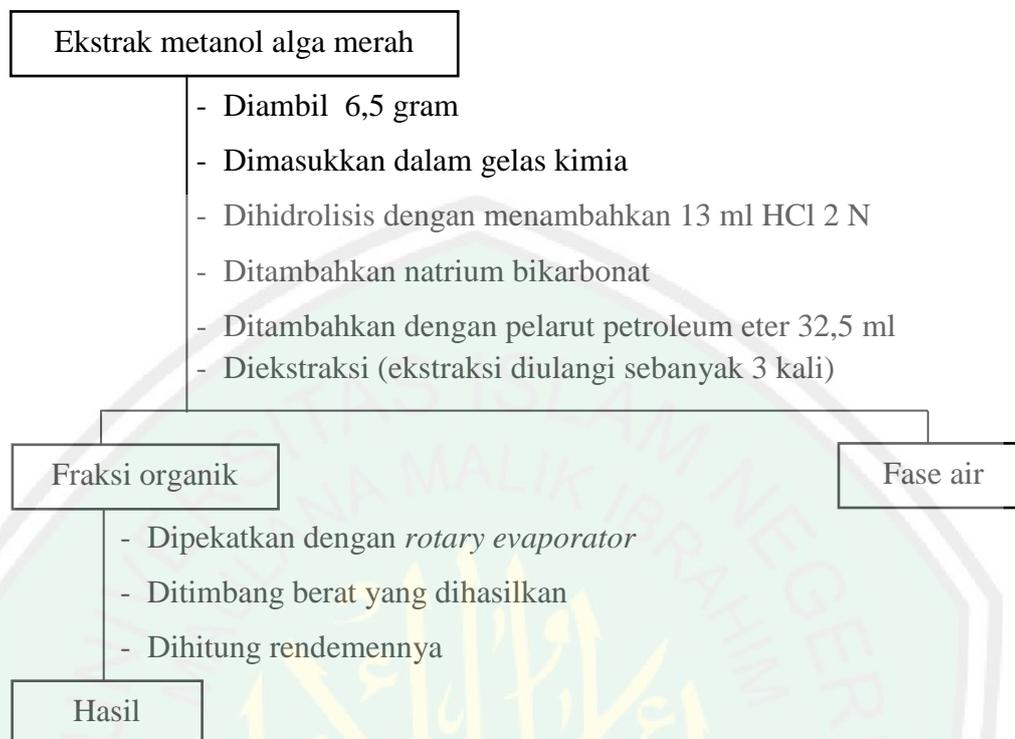
2. Analisis Kadar Air



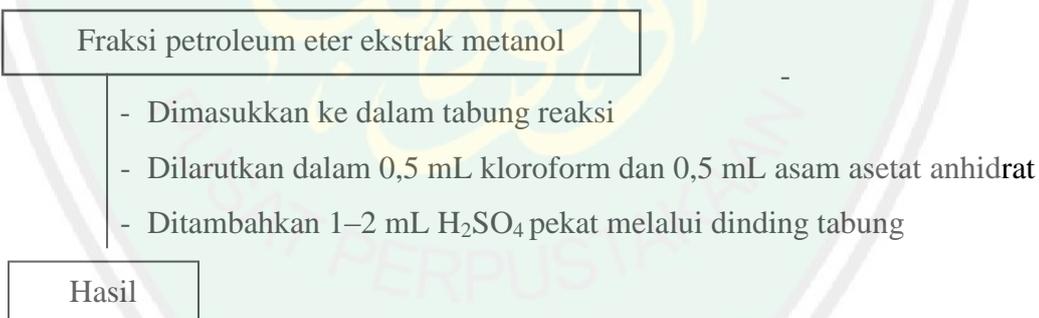
3. Ekstraksi Maserasi



4. Hidrolisis dan Partisi



5. Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid



6. Kromatografi Kolom

0,1 gram ekstrak pekat Petroleum

- Diaktivasi 10 gram silika gel G-60 pada suhu 110°C selama 2 jam
- Didinginkan dalam desikator selama 15 menit
- Diisi kolom dengan *glass wool* pada bagian bawah dan ditambahkan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (16:4)
- Dimasukkan silika gel dalam gelas kimia
- Ditambahkan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (16:4), diaduk hingga homogen dan tidak ada gelembung udara
- Dimasukkan bubuk silika dalam kolom sambil diketok-ketok dan didiamkan selama 24 jam
- Ditambahkan eluen *n*-heksana:etil asetat (16:4) 1 mL lalu dipipet ke dalam kolom
- Dilakukan proses elusi dan ditampung setiap 2 mL dalam botol vial (diulangi perlakuan di atas menggunakan campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat perbandingan 17:3 dan 18:2)

Hasil

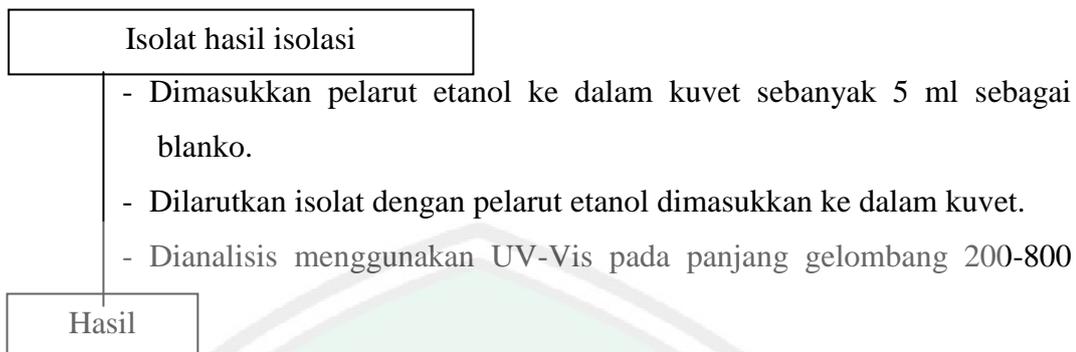
7. Monitoring Senyawa Menggunakan KLTA

Ekstrak metanol

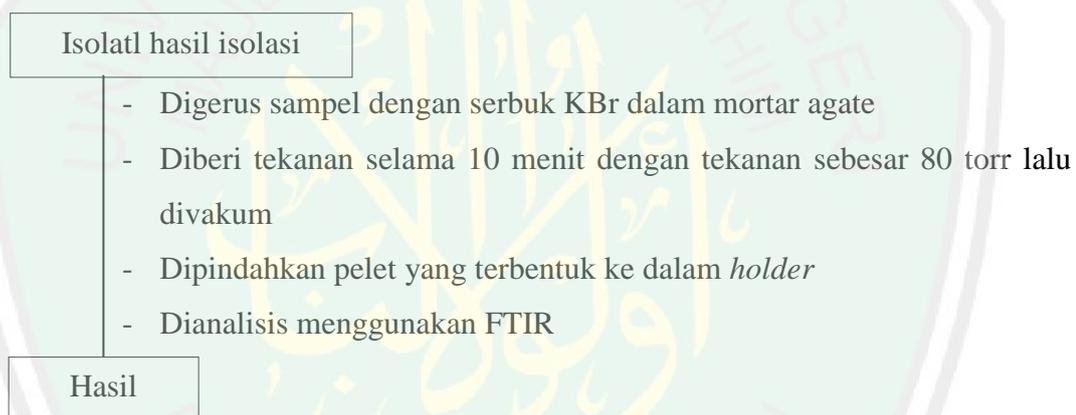
- Ditotolkan pada jarak 1 cm pada pelat yang telah diaktivasi
- Dielusi dengan menggunakan *n*-heksana:etil asetat (17:3) yang telah Dijenuhkan sampai tanda batas
- Dihitung nilai *R_f*nya
- Disemprot dengan reagen Lieberman-Buchard
- Dilihat noda di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm

Hasil

8. Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



9. Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometer FTIR



Lampiran 3. Pembuatan Larutan

1. Larutan HCl 2 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,267 \text{ g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37\%$$

$$\text{BM HCl} = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{37\% \times \text{BJ HCl} \times 10}{\text{BM HCl pekat}}$$

$$= \frac{37\% \times 12,67 \text{ g/mL}}{36,5 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,84 \text{ N}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,84 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 15,6 \text{ mL}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah diambil larutan HCl 37% sebanyak 15,6 mL, dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL yang telah terisi akuades 15 mL. Kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

2. Larutan NaHCO₃ jenuh

Kelarutan NaHCO₃ sebesar 9,99 gr dalam 100 mL akuades. Sehingga untuk membuat larutan NaHCO₃ jenuh digunakan NaHCO₃ dengan berat >9,99 gr (sampai terdapat endapan padatan yang tidak larut). Lalu disaring larutan tersebut untuk memisahkan residu dan filtrat sehingga didapatkan larutan NaHCO₃ jenuh.

3. Reagen Liberman Burchard

Reagen Liberman-Burchard dibuat dengan cara dipipet sebanyak 5 mL asam asetat anhidrat dan 5 mL asam sulfat, kemudian ditambahkan secara hati-hati melalui dindingnya ke dalam 50 mL etanol *p.a* dalam keadaan dingin.



Lampian 4. Uji Kadar Air Kering

Tabel L.4.1 Berat cawan kosong

Ulangan	Berat cawan kosong		
	Cawan 1 (gram)	Cawan 2 (gram)	Cawan 3 (gram)
Ulangan 1	56,3165	55,2171	51,2941
Ulangan 2	56,3156	55,2166	51,2935
Ulangan 3	56,3142	55,2157	51,2933
Ulangan 4	56,3142	55,2157	51,2933

Tabel L.4.2 Berat cawan dan sampel

Ulangan	Berat cawan dan sampel		
	Cawan 1 (gram)	Cawan 2 (gram)	Cawan 3 (gram)
Sebelum dioven	58,8194	57,7172	53,7985
Ulangan 1	58,6205	57,5082	53,5972
Ulangan 2	58,5953	57,4926	53,5972
Ulangan 3	58,5954	57,4851	53,5578
Ulangan 4	58,5954	57,4851	53,5578

Contoh perhitungan kadar air berdasarkan Persamaan 3.1

$$1. \text{ Kadar air} = \frac{58,8194 - 58,5854}{58,8194 - 56,3142} \times 100\%$$

$$= \frac{0,234}{2,5052} \times 100\%$$

$$= 9,34\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{9,34\% + 9,28\% + 9,60\%}{3} \times 100\%$$

$$=$$

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen

Tabel L.5.1 Hasil perhitungan rendemen sampel

Ekstrak	Berat sampel (gram)	Berat ekstrak pekat (gram)	rendemen (%)
Metanol	300	15,214	5,0713
Fraksi petroleum eter	6,5	1,5014	23,07

Contoh perhitungan rendemen

1. Ekstrak metanol alga merah

$$\text{Berat sampel} = 300 \text{ gram}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat metanol} = 15,214 \text{ gram}$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat metanol}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{15,214 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\%$$

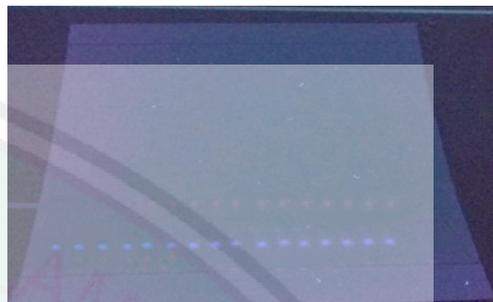
$$= 5,0713\%$$

Lampiran 6. Hasil Monitoring Isolat menggunakan KLTA

1. Eluen *n*-heksana:Etil Asetat (16:4)



Gambar L.6.1 Hasil monitoring vial 5-95



Gambar L.6.2 Hasil monitoring vial 100-190



Gambar L.6.3 Hasil monitoring vial 195, 200, 26, 27, 28, 29, 36, 37, 38, 39, 46, 47, 48, 49, 81, 82, 83, 84, dan 136



Gambar L.6.4 Hasil monitoring vial 137, 138, 139, 191, 192, 193 dan 194

2. Eluen *n*-heksana:Etil Asetat (17:3)



Gambar L.6.5 Hasil monitoring vial 5-95



Gambar L.6.6 Hasil monitoring vial 100-190



Gambar L.6.7 Hasil monitoring vial 195, 200, 11, 12, 13, 14, 21, 22, 23, 24, 31, 32, 33, 34, 41, 42, 43, 44 dan 61

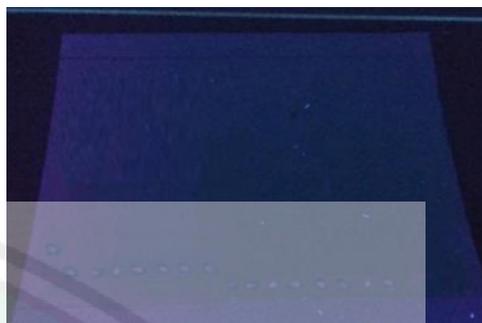


Gambar L.6.8 Hasil monitoring vial 62, 63, 64, 71, 72, 73, 74, 161, 162, 163, 164, 181, 182, 183, dan 184

3. Eluen *n*-heksana:Etil Asetat (18:2)



Gambar L.6.9 Hasil monitoring vial
5-100



Gambar L.6.10 Hasil monitoring vial
105-200



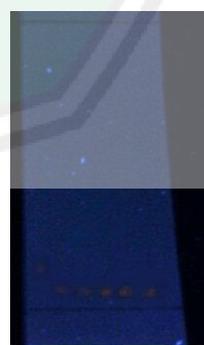
Gambar L.6.11 Hasil monitoring vial
26, 27, 28, 29, 30,
66, dan 67



Gambar L.6.12 Hasil monitoring vial
68, 69, 71, 72, 73, 74
dan 75



Gambar L.6.13 Hasil monitoring vial
76, 76, 78, 79, 106,
107 dan 108



Gambar L.6.14 Hasil monitoring vial
109, 141, 142, 143,
143, 144, 181 dan
182

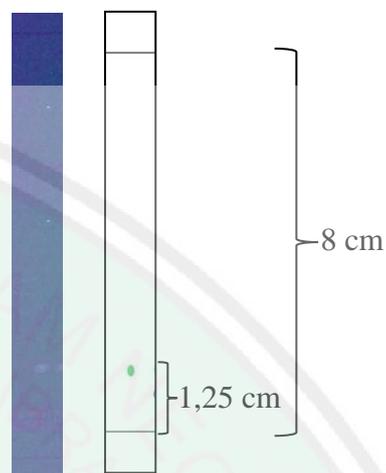
Lampiran 7. Contoh Perhitungan R_f

Contoh perhitungan nilai R_f berdasarkan persamaan 2.1

1. Nilai R_f hasil monitoring kromatografi kolom variasi eluan n -heksana dan etil asetat 16:4

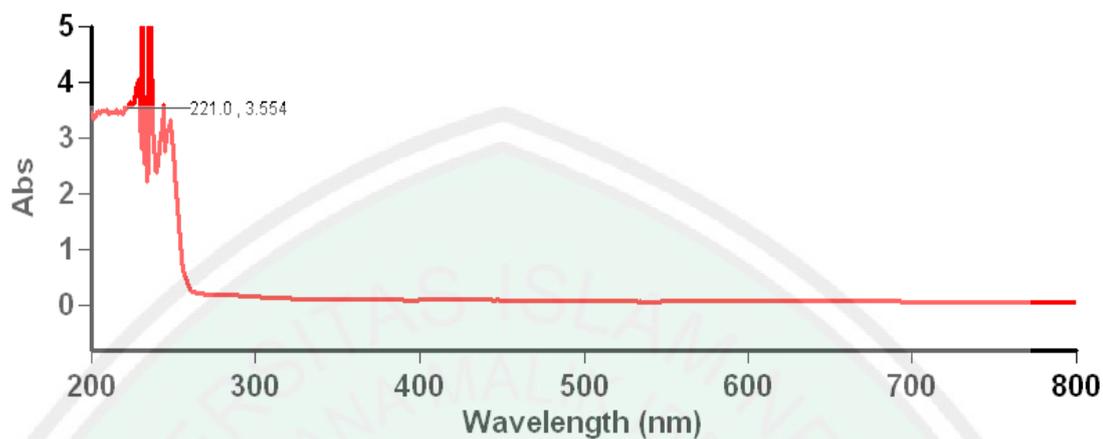
- a. Fraksi 27-35

$$\begin{aligned} R_f \text{ noda 1 (hijau)} &= \frac{1,25 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} \\ &= 0,1562 \end{aligned}$$



Lampiran. 8 Spektrum UV-Vis Pelarut

1. Spektrum UV-Vis Etil Asetat



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 19 Feb 05:40:56 AM 2008
 Method:
 Batch: D:\Yunita\Lamdha Maks Etil Asetat (15-03-2017).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

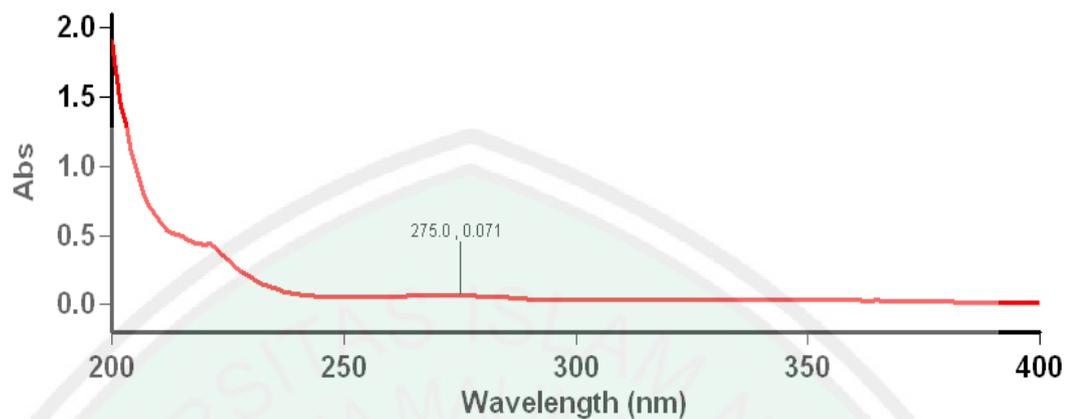
Sample Name: Etil Asetat

Collection Time 2/19/2008 5:41:03 AM

Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
623.1	0.086
248.0	3.333
243.9	3.603
235.9	10.000
233.0	3.171
230.9	10.000
229.0	4.059
224.0	3.641
221.0	3.554
218.1	3.488
214.9	3.519
209.0	3.511
203.9	3.476

2. Spektrum Uv-vis *n*-Heksana



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 07 Mar 10:06:53 AM 2017
 Method:
 Batch: D:\Yunita\Lamdha Maks n-Heksana (07-03-2017).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

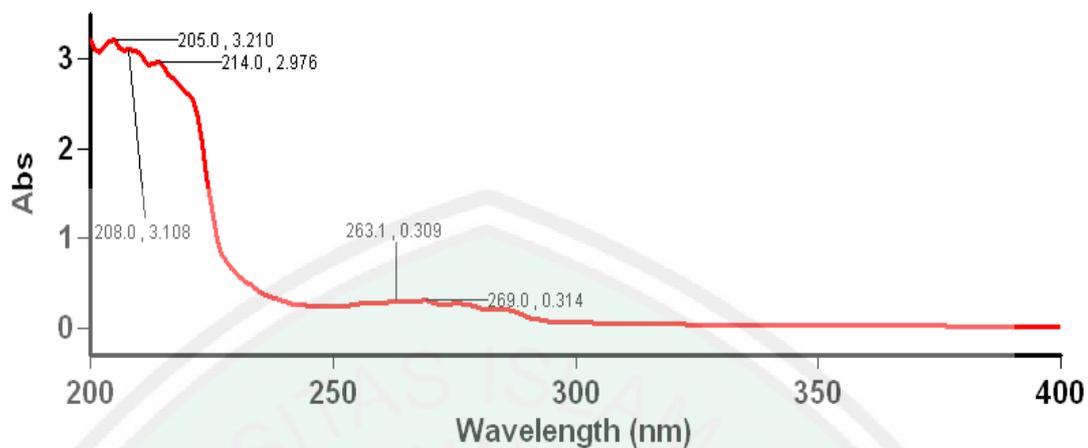
Sample Name: n-Heksana

Collection Time 3/7/2017 10:07:17 AM

Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
635.0	0.001
275.0	0.071

3. Spektrum UV-Vis Etanol



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 07 Mar 10:04:39 AM 2017
 Method:
 Batch: D:\Yunita\Lamdha Maks Etanol (07-03-2017).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

Sample Name: Etanol

Collection Time 3/7/2017 10:04:42 AM

Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
623.0	0.005
269.0	0.314
263.1	0.309
214.0	2.976
208.0	3.108
205.0	3.210