VARIASI RASIO SAMPEL DAN SILIKA GEL DALAM ISOLASI STEROID DAN TRITERPENOID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM BASAH

SKRIPSI

Oleh:
PERMANA UTAMA
NIM. 13630020

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2018

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

VARIASI RASIO SAMPEL DAN SILIKA GEL DALAM ISOLASI STEROID DAN TRITERPENOID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM BASAH

SKRIPSI

Oleh:
PERMANA UTAMA
NIM. 13630020

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
2018

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

VARIASI RASIO SAMPEL DAN SILIKA GEL DALAM ISOLASI STEROID DAN TRITERPENOID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM BASAH

SKRIPSI

Oleh:
PERMANA UTAMA
NIM. 13630020

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 08 Januari 2018

Pembimbing I	Pembimbing II
Rachmawati Ningsih, M.Si	Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19810811 200801 2 010	NIP. 19761003 200312 1 004

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

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

ii

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

VARIASI RASIO SAMPEL DAN SILIKA GEL DALAM ISOLASI STEROID DAN TRITERPENOID ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM BASAH

SKRIPSI

Oleh:
PERMANA UTAMA
NIM. 13630020

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 08 Januari 2018

Penguji Utama	**: Elok Kamilah Hayati, M.Si** **NIP. 19790620 200604 2 002**	(.....)
Ketua Penguji	**: Ahmad Hanapi, M.Sc** **NIDT. 19851225 20160801 1 069**	(.....)
Sekretaris Penguji	**: Rachmawati Ningsih, M.Si** **NIP. 19810811 200801 2 010**	(.....)
Anggota Penguji	**: Ahmad Abtokhi, M. Pd** **NIP. 19761003 200312 1 004**	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia

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

iii

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	: Permana Utama
Nim	: 13630020
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Sains dan Teknologi
Judul Penelitian	:"Variasi Rasio Sampel dan Silika Gel dalam Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucheuma spinosum* dengan Kromatografi Kolom Basah"

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar 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, 09 Januari 2018

Yang membuat pernyataan,

METERAI TEMPEL

BC724AEF856131856

6000

ENAM RIBU RUPIAH

Permana Utama

NIM. 13630020

iv

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat taufik hidayah serta inayah-Nya. Berkat rahmat dan petunjuknya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul variasi rasio sampel dan silika gel dalam isolasi steroid dan triterpenoid alga merah *Eucheuma spinosum* dengan kromatografi kolom basah ini.

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.

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. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M. Si., selaku ketua jurusan Kimia.
4. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, Ahmad Hanapi, M.Sc, Ahmad Abtokhi, M.Pd, sebagai dosen pembimbing yang senantiasa memberikan arahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi.
5. Kedua orang tua yang senantiasa penulis hormati dan sayangi, karena kelimpahan kasih sayang dan doanya, penulis dapat menuntut ilmu dan dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya selama kuliah.
7. Seluruh teman-teman Jurusan Kimia angkatan 2013 khususnya Kimia A yang banyak membantu selama kuliah dari awal sampai akhir perjuangan.
8. Semua pihak yang berpartisipasi membantu penulis baik dalam hal moral, maupun spiritual, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi ini.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Akhirnya dengan memohon ridho Allah SWT, semoga Allah SWT melimpahkan Rahmat dan balasan kepada semua pihak yang telah membantu hingga selesainya skripsi ini. Terlepas dari segala kekurangan, semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Amiin.

Malang, 12 Oktober 2017

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGAJUAN i
HALAMAN PERSETUJUAN ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
HALAMAN PERNYATAAN iv
KATA PENGANTAR v
DAFTAR ISI vii
DAFTAR GAMBAR ix
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR LAMPIRAN xii
ABSTRAK xiii

BAB I PENDAHULUAN 1
1.1.Latar Belakang 1
1.2.Rumusan Masalah 6
1.3.Tujuan 6
1.4.Batasan Masalah 6
1.5.Manfaat Penelitian 7

BAB II KAJIAN PUSTAKA 8
2.1. Alga Merah *Eucheuma spinosum* 8
2.2. Senyawa Steroid 10
2.3. Senyawa Triterpenoid 12
2.4.Isolasi senyawa Steoid dan Senyawa Triterpenoid 13
2.4.1 Ekstraksi Senyawa Steroid dan Senyawa Triterpenoid 13
2.4.2.Hidrolisis dan partisi 14
2.4.3.Isolasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid dengan Kromatografi Kolom 15
2.5 Identifikasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid dengan Uji Reagen 18
2.6 Identifikasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid 19
2.6.1 Analisa Spektroskopis FTIR 19
2.6.2 Analisa Spektroskopis UV-Vis 21

BAB III METODOLOGI 24
3.1.Lokasi dan Waktu Penelitian 24
3.2. Alat dan Bahan 24
3.2.1. Alat 24
3.2.2. Bahan 24
3.3. Rancangan Penelitian 25
3.4. Tahapan Penelitian 25
3.5. Cara Kerja 26
3.5.1. Preparasi Sampel 26
3.5.2. Penentuan Kadar Air 26
3.5.3. Ekstraksi Sampel dengan Maserasi 27
3.5.4. Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol 27
3.5.5. Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Steroid dan Triterpenoid dengan Uji Reagen 28

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.6. Pemisahan Senyawa Steroid dan Trterpenoid Fraksi Petroleum Eter Ekstrak Metanol *Eucheuma spinosum* Menggunakan Kromatografi Kolom 28
3.5.7 Monitorong Spot dengan KLT Analitik, Penggabungan dan Pemekatan Fraksi..... 29
3.5.8 Identifikasi Isolat Menggunakan UV-Vis dan FT-IR 30

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 31
4.1 Preparasi Sampel 31
4.2 Analisa Kadar Air..... 31
4.3 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi 32
4.4 Hidrolisis dan Partisi 33
4.5 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Steroid dan Triterpenoid dengan Uji Reagen 35
4.6 Pemisahan Senyawa Steroid dan Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter..... 36
4.7 Identifikasi Senyawa menggunakan Spektroskopi UV-Vis 41
4.8 Identifikasi Senyawa menggunakan Spektroskopi FT-IR..... 45
4.9 Pemanfaatan Senyawa Steroid dan Triterpenoid dalam Prespektif Islam 49

BAB V PENUTUP..... 51
5.1 Kesimpulan..... 51
5,2 Saran..... 51

DAFTAR PUSTAKA..... 52
LAMPIRAN 59

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Alga merah (*Eucheuma spinosum)* 9
Gambar 2.2. Struktur inti senyawa steroid..... 10
Gambar 2.3. Struktur β-sitosterol, stigmasterol 11
Gambar 2.4. Struktur lupeol..... 11
Gambar 2.5. Struktur isoprena 12
Gambar 2.6. Senyawa Triterpenoid dari akar *Hyptis suaveolens* 12
Gambar 2.7. Senyawa Triterpenoid Asam Karboksilat dari *E. Spinosum* 13
Gambar 2.8. Dugaan Reaksi pemutusan ikatan glikosida..... 14
Gambar 2.9. Struktur dasar silika gel..... 17
Gambar 2.10. Spektra IR senyawa triterpenoid hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*) 20
Gambar 2.11. Spektrum IR senyawa steroid hasil isolasi dari akar tumbuhan cendana..... 21
Gambar 2.12. Spektrum UV-Vis senyawa triterpenoid hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*) 23
Gambar 2.13. Senyawa steroid pada *Caryota urens leaves* 23
Gambar 4.1. Serbuk alga merah *Eucheuma spinosum* hasil penghalusan 31
Gambar 4.2. Hasil kadar air sampel alga merah *Eucheuma spinosum* 32
Gambar 4.3. a. Proses maserasi 1 b. Proses maserasi 2 c. Proses masersi 3....33
Gambar 4.4. Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida pada ekstrak metanol *Eucheuma spinosum*.....34
Gambar 4.5. Reaksi antara HCl dan $NaCHO_3$ 34
Gambar 4.6. Ekstraksi cair-cair menggunakan petroleum eter.....35
Gambar 4.7. Hasil uji Lieberman-Burchard 36
Gambar 4.8. Kromatografi kolom basah 37
Gambar 4.9. a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 105 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 105 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200.....38
Gambar 4.10. a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 180 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 180.....39
Gambar 4.11. a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 27 – 187 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 27 – 187 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 110 – 200.....39
Gambar 4.12. Hasil spektrum UV-Vis fraksi 38 – 70 41
Gambar 4.13. Hasil spektrum UV-Vis fraksi 80 – 102 42
Gambar 4.14. Hasil spektrum UV-Vis fraksi 157 – 166 42
Gambar 4.15. Hasil spektrum UV-Vis fraksi 188 – 195 42
Gambar 4.16. Beberapa Struktur senyawa steroid 43
Gambar 4.17. Beberapa Struktur senyawa triterpenoid 44

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 4.18. Spektrum FTIR Fraksi B.3, D.3, dan H.3 45
Gambar L.6.1. a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 135 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 135 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200 69
Gambar L.6.2. a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 200 69
Gambar L.6.3. a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:1250 vial 27 – 187 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 27–187 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 110 – 200 70

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Fraksi hasil kromatografi kolom perbandingan rasio 1:75.....39
Tabel 4.2. Fraksi hasil kromatografi kolom perbandingan rasio 1:100.....40
Tabel 4.3. Fraksi hasil kromatografi kolom perbandingan rasio 1:125.....40
Tabel 4.4. Spektrum FT-IR fraksi 38 – 70 46
Tabel 4.5. Spektrum FT-IR fraksi 80 – 102 46
Tabel 4.6. Spektrum FT-IR fraksi 188 – 195 47
Tabel L.4.1. Berat cawan kosong.....67
Tabel L.4.2. Berat cawan + sampel 67
Tabel L.4.3. Berat cawan + sampel setelah dioven.....67
Tabel L.5.1. Hasil perhitungan remdemen sampel 68
Tabel L.7.1. Hasil kromatografi kolom perbandingan rasio sampel dan siliki gel 1:75 71
Tabel L.7.2. Hasil kromatografi kolom perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:100 72
Tabel L.7.3. Hasil kromatografi kolom perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:125 72
Tabel L.8.1. Resolusi kolom perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:75.....73
Tabel L.8.2. Resolusi kolom perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:100...73
Tabel L.8.3. Resolusi kolom perbandingan rasio sample dan silika gel 1:125...73
Tabel L.9.1. Panjang gelombang pelarut 77

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian 59
Lampiran 2 Skema Kerja 60
Lampiran 3 Pembuatan Larutan 65
Lampiran 4 Uji Kadar Air 67
Lampiran 5 Perhitungan Rendemen 68
Lampiran 6 Hasil Monitoring 69
Lampiran 7 Perhitungan *Rf* 71
Lampiran 8 Perhitungan Resolusi 73
Lampiran 9 Panjang Gelombang Maksimal Pelarut 74

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Utama, P., 2017. Variasi Rasio Sampel dan Silika Gel dalam Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Euchema spinosum* dengan Kromatografi Kolom Basah Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Konsultan: Ahmad Hanapi, M. Sc

Kata Kunci: *Eucheuma spinosum, Steroid, Triterpenoid, Kromatografi kolom*

Alga merah *Eucheuma spinosum* mengandung senyawa aktif, salah satunya adalah steroid dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan kromatografi kolom dengan variasi rasio sampel dan silika gel. Senyawa aktif alga merah diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan metanol. Kemudian dihidrolisis dengan HCl 2N dan dipartisi menggunakan ekstraksi cair-cair dengan petroleum eter. Uji kualitatif dilakukan menggunakan reagen Lieberman-Burchard, kemudian senyawa steroid dan triterpenoid diisolasi menggunakan metode kromatografi kolom dengan variasi rasio sampel dan silika gel perbandingan 1:75, 1:100, 1:125. Selanjutnya monitoring isolat menggunakan KLTA dengan eluen campuran *n*-heksana:etil asetat perbandingan 17:3 dan diidentifikasi senyawa menggunakan UV-Vis dan FT-IR. Hasil maserasi dan partisi diperoleh sebesar 5,0713% dan 23,07%. Kromatografi kolom perbandingan variasi rasio sampel dan silika 1:125 menunjukkan adanya 4 fraksi tunggal yang mengandung senyawa steroid dan triterpenoid. Hasil identifikasi menggunakan spetrofotometer UV-Vis menghasilkan panjang gelombang 207, 205, 204, dan 206 nm. Analisa menggunakan FT-IR fraksi senyawa steroid menunjukkan gugus fungsi O-H, alkohol primer, Csp^3-H *stretch*, C=C, C=O, dan geminal dimetil. Sedangkan fraksi senyawa triterpenoid menunjukkan gugus fungsi O-H, C=C, C=O, dan geminal dimetil.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Utama, P., 2017. Variations in ratio of sample and Silica Gel in the isolation of Steroid and Triterpenoid red algae *Euchema spinosum* with Chromatography Column Wet. Supervision I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervision II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Consultant: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Key word: *Eucheuma spinosum, Steroid, Triterpenoid, Chromatography column*

The Red alga Eucheuma spinosum contain active compounds, one of which is a steroid and triterpenoid. This research aims to isolate the compound steroid and triterpenoid using column chromatography with ratio silica gel and sample. The active compound in red algae extracted using the method of maceration with methanol. Then hydrolyzed with HCl 2N and is partitioned using a extraction liquid with petroleum ether. Qualitative test performed using reagents Lieberman-Burchard, steroid and triterpenoid compounds then was isolated using methods of chromatography columns with silica gel and sample ratio comparison 1:75, 1:100, 1:125. Monitoring further isolates using KLTA with eluen mixture of *n*-hexane: ethyl acetate and 17:3 comparison of identified compounds using UV-Vis and FT-IR. The results of the maceration and partition acquired for 5.0713% and 23.07%. Column chromatography comparative ratios silica samples and variations 1:125 showed a 4 single faction contains a steroid and triterpenoid. The results of the identification using spetrofotometer UV-Vis wavelength produces 207, 204, 205, and 206 nm. Analysis using FT-IR steroid compound fraction shows the functional group O-H, alcohols, Csp^3-H stretch, C = C, C = O, and geminal dimethyl. While the fraction of triterpenoid compounds shows functional group O-H, C = C, C = O, and the geminal dimethyl.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ملخص

أوتما، ف. 2017. الاختلافات النسبة العينة و هلامية السيليكا في عزل الستيرويد و تريتيروبينويد لطحالب الحمراء *Euchema spinosum* بواسطة اللوني العمود الرطب. المشرف: رحمواتى نينغسيه، الماجستيرة، احمد أبطخى، الماجستير، والمستشار: احمد حنفى، الماجستير

الكلمات الرئيسية: *Euchema spinosum*، الستيرويد ، تريتيروبينويد ، اللوني العمود الرطب

الطحالب الحمراء *Euchema spinosum* يحتوي على مركبات نشطة، واحدة منها هي الستيرويد و تريتيروبينويد. يهدف هذا البحث لان يعزل مركب الستيرويد و التريتيروبينويد باستخدام عمود اللوني مع اختلافات النسبة العينة وهلامية السيليكا. استخرج مركب نشط من الطحالب الحمراء باستخدام طريقة نقاعة الميثانول. ثم تحلل مع HCl 2N وتقسمها باستخدام الاستخراج مع البتروليوم الأثير. أجرت اختبارات النوعية باستخدام الكاشف ليبرمان-بورشارد ، ثم الستيرويد و تريتيروبينويد يعزل باستخدام طريقة اللوني العمود مع اختلافات النسبة العينة و هلامية السليكا المقارنة من 1:75، 1: 100، 1:125. مراقبة العزلات تستخدم KLTA مع شاطف خليط ن الهكسان: الإيثيل خلات مع المقارنة 3:17 والمركبات تحدد باستخدام أشعة فوق البنفسجية البصرية و FT-IR. أما نتائج التكرار والتقسيم قد بلغت إلى 5.0713٪ و 23.07٪. اللوني العمود المقارنة للنسبة العينة والهلامية 1:125 يدل على اربعة جزئيات الموحدة التى تحتوى مركب الستيرويد و التريتيروبينويد. نتائج التحديد تستخدم مطياف الأشعة فوق البنفسجية البصرية حصلت الطول الموجي 207، 205، 204، و 206 نانومتر. وأظهر التحليل باستخدام FT-IR جزء لمركبات الستيرويد المجموعات الوظيفية O-H والكحول الابتدائي، Csp^3-H *stretch*، C=C ، C=O ، وثنائي ميثيل. وجزئية المركبات نسبة تريتيروبينويد تدل المجموعات الوظيفية C=C -O، C=O، وثنائي غيمينل ميثيل.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut merupakan bagian terbesar dari tumbuhan laut. Rumput laut dalam bahasa ilmiah dikenal dengan istilah alga. Menurut Diharmi dkk. (2011), terdapat 555 jenis rumput laut yang tumbuh di perairan Indonesia. Berdasarkan pigmen yang dikandungnya rumput laut terdiri atas tiga kelas yaitu *Chlorophyceae* (ganggang hijau), *Phaeophyceae* (ganggang coklat), dan *Rhodophyceae* (ganggang merah). Al-Qur'an surat An-Nahl ayat 14:

وَهُوَ ٱلَّذِي سَخَّرَ ٱلۡبَحۡرَ لِتَأۡكُلُواْ مِنۡهُ لَحۡمٗا طَرِيّٗا وَتَسۡتَخۡرِجُواْ مِنۡهُ حِلۡيَةٗ
تَلۡبَسُونَهَاۖ وَتَرَى ٱلۡفُلۡكَ مَوَاخِرَ فِيهِ وَلِتَبۡتَغُواْ مِن فَضۡلِهِۦ وَلَعَلَّكُمۡ تَشۡكُرُونَ ١٤

"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" (Q.S An-Nahl:14).

Firman diatas Allah SWT juga memerintahkan untuk memakan لِتَأۡكُلُواْ, mengeluarkan وَتَسۡتَخۡرِجُواْ , melihat وَتَرَى, dan mencari لِتَبۡتَغُواْ, agar manusia dapat mengambil manfaat dari sumberdaya yang ada dilaut (Al-Qurtubi, 2008). Dalam ayat ini dijelaskan bahwa Allah S.W.T telah memberikan karunia-Nya kepada manusia lewat adanya laut. Salah satu sumber daya yang ada dilaut yaitu alga.

Alga merah *Eucheuma spinosum* merupakan salah satu organisme laut yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif dari *Eucheuma spinosum* ini telah ditemukan penggunaannya seperti antibakteri (Haniffa dkk, 2012), antivirus, antijamur, dan lainnya (Vallinayagam dkk., 2009). Beberapa penelitian tentang uji

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

aktivitas senyawa aktif dari *Eucheuma spinosum* telah dilakukan. *Eucheuma spinosum* mempunyai kandungan senyawa aktif dengan potensi toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina Leach* dengan nilai LC_{50} 176,06 ppm (Kholidiyah dkk., 2013). Ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* memiliki zona hambat terhadap *Bacillus cereus* pada konsentrasi 1600 ppm sebesar 6,99 mm (Rarasari dkk, 2016). Menurut Miftahurrahmah (2012), fraksi petroleum eter dari ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* mempunyai daya zona hambat terhadap bakteri *E. Coli* dan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 80 ppm sebesar 6 mm pada bakteri *E. Coli* dan 5,5 mm pada bakteri *S. aureus*. Fraksi kloroform dari ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* juga mempunyai aktivitas *anti mycobacterial* yang signifikan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* pada konsentrasi 4 ppm (Ahmad, 2013). Hasil pengujian antioksidan menunjukkan senyawa aktif *Eucheuma spinosum* mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Nilai EC_{50} fraksi petroleum eter dari ekstrak metanol yaitu 12,65 ppm. Hasil uji fitokimia menunjukkan beberapa senyawa aktif seperti flavonoid, steroid, triterpenoid, alkaloid, dan asam askorbat (Mardiyah dkk., 2013).

Salah satu senyawa aktif yang terkandung dalam *Eucheuma spinosum* yaitu steroid. Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cinicin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana (Robinson, 1995). Penelitian Rahelivao dkk. (2015) menyebutkan alga merah *Gracilariaceae* mengandung beberapa senyawa steroid di antaranya adalah kolesterol, *cholest-5-ene-3β,7β-diol*, dan *3β-hydroxycholest-5-en-7-one*. Azizah (2016) telah mengisolasi senyawa steroid pada fraksi petroleum eter ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diidentifikasi mempunyai sifat toksik yang sangat tinggi terhadap larva udang *Artemia salina L.* dengan nilai LC_{50} 18,879 ppm.

Selain steroid *Eucheuma spinosum* juga mengandung senyawa aktif lainnya yaitu triterpenoid. Triterpenoid adalah senyawa golongan terpenoid yang memiliki rantai karbon 30 (Harborne, 1987). Saha (2011) berhasil mengisolasi senyawa triterpenoid dari daun *Bauhinia veriegata.* Hasil isolasi fraksi petroleum eter ekstrak etanol daun *Bauhinia veriegata* menghasilkan senyawa triterpenoid dan senyawa asam lemak ester dari triterpenoid yaitu *α- amyrin caprylate, Lupeol, nor-α-amyrin and 3β, 28-di hydroxyl olean-12-enyl-palmitate*. Santhanam dkk (2014) berhasil mengisolasi senyawa triterpenoid *Taraxerone* dari pohon mangrove (*Excoecaria agallocha L.*). Hasil isolasi fraksi petroleum eter:etil asetat dari ekstrak *hexane Excoecaria agallocha L.* mampu menghambat pertumbuhan larva *Helicoverpa armigera* dengan nilai IC_{50} 11,33 ppm. Metode yang sering digunakan untuk pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid ini biasanya memakai metode maserasi.

Metode maserasi umumnya menggunakan pelarut organik dan biasanya metanol. Menurut Pramana (2013) Maserasi menggunakan pelarut organik bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder. Metanol digunakan sebagai pelarut awal karena dapat melisiskan membran sel pada tanaman dan memiliki partikel yang kecil sehingga mampu menembus semua jaringan tumbuhan untuk menarik semua senyawa aktif. Metanol adalah salah satu pelarut yang memiliki *extracting power* (daya ekstraksi) yang luas sehingga semua metabolit sekunder tersari dalam tiga kali maserasi (Saifudin, 2014). Kholidiyah (2013) mengekstrak metabolit sekunder dengan ekstrak metanol.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Metode yang digunakan untuk mengekstrak yaitu dengan metode maserasi. Hasil maserasi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan mendapatkan rendemen sebesar 7,45 %.

Metabolit sekunder dapat dipisahkan bedasarkan tingkat kepolarannya dengan metode ekstraksi cair-cair (pastisi). Partisi dapat dilakukan menggunakan pelarut nonpolar, sehingga diharapkan senyawa steroid akan lebih terdistribusi pada fase non-polar dan terpisah dengan senyawa polar (Kristanti dkk,. 2008). Fraksi non-polar yang diperoleh dari hasil partisi biasanya masih berupa senyawa campuran, sehingga perlu dilakukan isolasi lebih lanjut, misalnya menggunakan kromatografi kolom.

Pemisahan kromatografi kolom didasarkan pada adsorpsi senyawa analit dengan fasa diam (silika gel) dan fase gerak. Menurut Saifudin (2014), silika gel memiliki gugus silanol dan siloksan. Interaksi antara absorben dengan analit adalah interaksi hidrofobik. Maka senyawa yang bersifat polar akan berinteraksi/terjerab lebih lama dengan fase diam sedangkan senyawa yang bersifat non polar akan larut terbawa fase gerak yang bersifat non polar. Menurut Chaudhari dkk (2012) dan Swathi dkk (2015), perbandingan sampel dan silika gel yang digunakan dalam kromatografi kolom memakai perbandingan 1:30 sampai 1:100.

Hasil pemisahan kromatografi kolom basah Septiandari (2016) dengan perbandingan sampel dan silika gel 1:50 menghasilkan hanya 1 fraksi steroid dan 1 fraksi triterpenoid. Sedangkan Sholikhah (2016) dengan memakai perbandingan sampel dan silika gel 1:100 menghasilkan 5 fraksi steroid dan 4 fraksi triterpenoid. Dari hasil penelitian tersebut rasio sampel dan silika gel mempunyai

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pengaruh terhadap pemisahan pada senyawa steroid dan triterpenoid, bahwa semakin banyak silika yang digunakan maka semakin banyak gugus silanol dan siloksan yang dapat memisahkan senyawa steroid dan triterpenoid yang bersifat non polar. Menurut Chaudhari dkk (2012) absorben (silika gel) pada metode kromatografi kolom mempengaruhi bagaimana fase gerak mengalir dalam kolom sehingga mempengaruhi pemisahan yang terjadi. Dimana semakin banyak silika gel yang digunakan maka akan memperluas waktu pemisahan yang terjadi pada kromatografi kolom.

Hasil identifikasi Setiyawan (2015) dengan KLT golongan senyawa triterpenoid dari ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (17:3) yang disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan terbentuknya 9 noda yang terpisah. Golongan senyawa triterpenoid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan. Hasil tersebut diketahui dapat diasumsikan sebagai senyawa triterpenoid.

Berdasarkan uraian tersebut akan dilakukan identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid dari fraksi petroleum eter ekstrak metanol *Eucheuma spinosum*. Isolat senyawa steroid dan triterpenoid dari *Eucheuma spinosum* akan dilakukan identifikasi dengan menggunakan spektroskopis UV-Vis dan FT-IR.

1.2 Rumusan Masalah

Bardasarkan latar belakang tersebut, dapat dihasilkan rumusan masalah sebaga berikut:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1. Bagaimana pengaruh rasio sampel dan silika gel terhadap hasil kromatografi kolom?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid hasil isolasi dengan kromatografi kolom menggunakan spektroskopis UV-Vis dan FT-IR?

1.3. Tujuan

Dari rumusan masalah dapat dituliskan beberapa tujuan, diantaranya adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh rasio sampel dan silika gel terhadap hasil kromatografi kolom.
2. Untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid hasil isolasi dengan kromatografi kolom menggunakan spektroskopis UV-Vis dan FT-IR.

1.4. Batasan Masalah

Penelitian ini mempunyai beberapa batasan masalah, diantaranya adalah:

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan makro alga jenis Alga merah (*Euchema spinosum*) yang berasal dari pantai Jumiang Pamekasan Madura.
2. Variasi rasio sampel dan silika gel 1:75, 1:100, 1:125.
3. Perbandingan eluen n-heksana:etil asetat 17:3.
4. Diameter kolom 1,5 cm.
5. Alga merah diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut metanol, dan difraksinasi menggunakan petroleum eter.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6. Isolasi senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom basah.
7. Identifikasi isolat senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan spektrokopis UV-Vis dan spektrokopis FTIR.

1.5. Manfaat penelitian

Penilitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pembaca mengenai cara isolasi, cara identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid yang terkandung dalam alga merah *Eucheuma spinosum* yang dapat dikembangkan untuk meningkatkan ilmu pengetahuan sehingga dapa diaplikasikan penggunaannya dalam masyarakat.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Alga merah *Eucheuma spinosum*

وَهُوَ ٱلَّذِيٓ أَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءً فَأَخۡرَجۡنَا بِهِۦ نَبَاتَ كُلِّ شَيۡءٖ فَأَخۡرَجۡنَا مِنۡهُ خَضِرٗا نُّخۡرِجُ مِنۡهُ حَبّٗا مُّتَرَاكِبٗا وَمِنَ ٱلنَّخۡلِ مِن طَلۡعِهَا قِنۡوَانٞ دَانِيَةٞ وَجَنَّٰتٖ مِّنۡ أَعۡنَابٖ وَٱلزَّيۡتُونَ وَٱلرُّمَّانَ مُشۡتَبِهٗا وَغَيۡرَ مُتَشَٰبِهٍۗ ٱنظُرُوٓاْ إِلَىٰ ثَمَرِهِۦٓ إِذَآ أَثۡمَرَ وَيَنۡعِهِۦٓۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمۡ لَأٓيَٰتٖ لِّقَوۡمٖ يُؤۡمِنُونَ ٩٩

"Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman" (QS Al An'am: 99)

Lafadz نَبَاتَ كُلِّ (Bermacam-macam tumbuhan) ayat ini menjelaskan bahwa Dia (Allah SWT) menurunkan air hujan, dan dengan air Allah SWT mengeluarkan setiap jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam bentuk, ciri-ciri dan juga mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing (Maraghi, 1992). Salah satunya tumbuhan yang hidup dilaut seperti alga.

Alga merah *(Euchema spinosum)* mempunyai taksonomi sebagai berikut (Anggadiredja, dkk., 2006)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Solieriaceae
Genus	: Eucheuma
Spesies	: *Eucheuma spinosum*

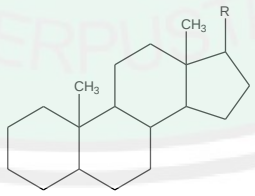
Ciri khusus dari tumbuhan makroalga jenis *Eucheuma spinosum* adalah memiliki duri-duri yang tumbuh berderet melingkari *thalllus* dengan interval yang bervariasi sehingga tebentuk ruas-ruas *thallus* di antara lingkaran duri. Percabangan berselang-selang dan timbul teratur pada deretan duri antar ruas dan merupakan ruas perpanjangan dari duri tersebut dan ujung percabangan yang mudah melekat pada substrat (Anggadireja, dkk., 2006).

Eucheuma spinosum tumbuh melekat pada rataan terumbu karang, batu karang, batuan, benda keras dan cangkang kerang (*epilitic*). *Eucheuma spinosum* memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis sehingga hanya hidup pada lapisan *fotik* (permukaan atas laut) dan arena pertumbuhannya membutuhkan salinitas 28-23 per mil (Anggadireja, dkk., 2006).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.2 Senyawa Steroid

Steroid merupakan senyawa yang tergolong dalam senyawa lemak yang terdiri dari rantai karbon dengan 4 cincin, 3 cincin utama sikloheksana dan 1 cincin siklopentana. Pengelompokan senyawanya berdasarkan pada gugus yang terikat pada kerangka dasar rantai karbon (Kristanti, 2008). Steroid merupakan senyawa kimia yang tergolong bahan alam. Sebagian besar struktur senyawa steroid terdiri dari 17 atom karbon dan mempunyai struktur dasar 1,2-siklopentenoperhidrofenantren (Gambar 2.2). Pengelompokan senyawa steroid dapat didasarkan berdasarkan efek fisiologis yang dapat ditimbulkan. Berdasarkan struktur, perbedaan antar kelompok ditentukan dengan substituen yang terikat pada kerangka dasar (R1, R2, dan R3). Sedangkan perbedaan antar senyawa dari satu kelompok dapat dibedakan berdasarkan panjangnya rantai karbon substituen, gugus fungsi, jumlah dan posisi gugus fungsi oksigen, ikatan rangkap pada kerangka dasar, serta konfigurasi pudat asimetris pada kerangka dasar (Kristanti, dkk., 2008).

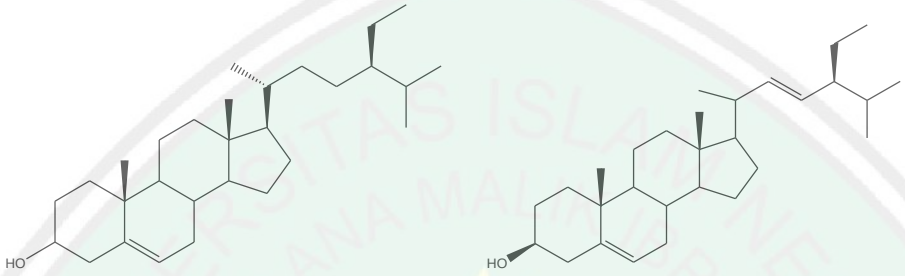


Gambar 2.2 Struktur inti senyawa steroid (Lenny, 2006).

Hasil isolasi (Miftahurrahmah, 2013), (Kholidiyah, dkk. 2014), (Setiyawan, dkk.,2015), (Ningsih, dkk., 2015) menunjukkan *Euchuema spinosum* mengandung senyawa steroid. Kamboj (2010), melakukan isolasi senyawa steroid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

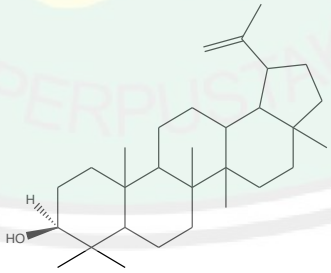
dari ekstrak petrolium eter *aerial part of Ageratum conyzoides.* Berdasarkan spektroskopi (IR, H-NMR, C-NMR, MS) menunjukan dua senyawa steroid yaitu Stigmasterol dan β-sitosterol. Rumus strukturnya dapat dilihat pada Gambar 2.3.



a.) b.)

Gambar 2.3 (a) β-sitosterol, (b) Stigmasterol (Kamboj, 2010)

Senyawa steroid jenis lupeol dan stigmasterol berhasil diisolasi dari fraksi petroleum eter hasil ekstrak metanol *ixora lutea Hutch* (Sultana dkk., 2009). Rumus struktur dari lupeol dapat dilihat pada Gambar 2.4.

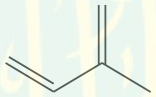


Gambar 2.4 Struktur lupeol (Sultana dkk., 2009).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

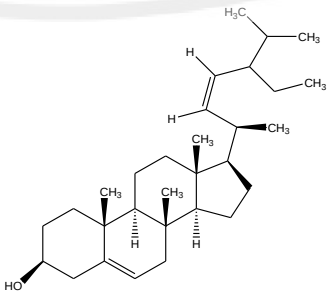
2.3 Senyawa Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa metabolid sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C 30 asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Widiyati, 2006). Sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C-5 yang disebut isopren. Unit C-5 ini dinamakan demikian karena kerangka karbonnya sama seperti senyawa isopren (Lenny, 2006).



Gambar 2.5 Struktur isoprena (Lenny, 2006)

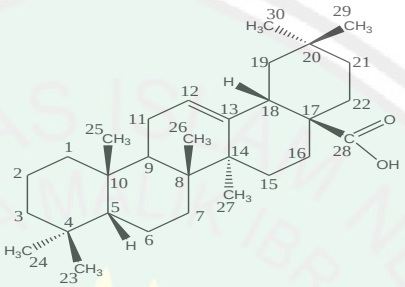
Beberapa contoh senyawa golongan triterpenoid yang berhasil diisolasi antara lain senyawa triterpenoid dari *Hyptis suaveolens* menggunakan kromatografi kolom oleh Jasani, dkk (2012) dan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV, FT-IR dan NMR. Dan diperoleh isolat triterpenoid tersebut memiliki struktur sebagai berikut:



Gambar 2.6 Senyawa triterpenoid dari akar *Hyptis suaveolens* (Jasani, dkk2012)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ahmad (2013) telah mengisolasi senyawa triterpenoid asam karboksilat dari alga merah *Eucheuma spinosum.* Struktur triterpenoid asam karboksilat dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.7 Senyawa triterpenoid asam karboksilat dari *E. Spinosum* (Ahmad, 2013).

2.4 Isolasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Isolasi senyawa steroid dan triterpenoid dari alga merah *Eucheuma spinosum* dapat dilakukan dengan beberapa tahapan. Menurut Setiyawan (2015) isolasi senyawa steroid dapat dilakukan dengan metode ekstraksi, Hidrolisis dan partisi, dan kromatografi kolom. Sedangkan menurut Sulastry (2010), isolasi senyawa seroid dapat dilakukan tanpa fraksinasi hanya melakukan ekstraksi dan kromatografi.

2.4.1 Ekstraksi Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Perlu dilakukan preparasi terlebih dahulu terhadap sampel yang digunakan sebelum dilakukan proses ekstraksi. Preparasi yang dilakukan adalah dengan mencuci alga hingga bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada alga. Kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 38°C atau dengan dikering anginkan tanpa sinar matahari. Pengeringan yang dilakukan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

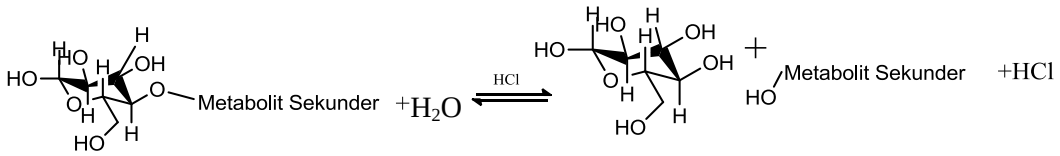
digunakan untuk meminimalisir keberadaan mikroorganisme yang akan tumbuh bila kadar air tinggi. Sehingga, alga merah kering dapat disimpan dalam waktu yang lama sebelum dilakukan maserasi (Mardiyah dkk., 2013).

Ekstraksi maserasi dari *Eucheuma spinosum* dilakukan dengan pelarut metanol dan n-heksana. Hasil rendemen ekstraksi dari kedua pelarut tersebut secara berurutan adalah 16,25% dan 0,88% (Kutsiyah dkk., 2012). Hasil tersebut dapat diartikan bahwa untuk maserasi *Eucheuma spinosum* baik dilakukan dengan pelarut metanol.

2.4.2 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis merupakan suatu reaksi untuk memecah suatu senyawa menggunakan air berlebih. Namun, karena reaksi antara air dengan selulosa lambat sehingga perlu katalisator untuk mempercepat reaksi (Saifudin, 2006). Katalis yang digunakan untuk hidrolisis adalah menggunakan katalis asam. Katalisator asam yang sering digunakan dalam industri yaitu asam klorida (HCl) karena garam yang terbentuk tidak berbahaya (NaCl).

Hasil ekstraksi maserasi kemudian dihidrolisis dengan menggunakan HCl 2 M (Setiyawan dkk., 2015). Hal tersebut dikarenakan senyawa metabolit sekunder di alam umumnya berikatan glikosida dengan komponen gula (Mardiyah, 20133). Berikut adalah reaksi pemutusan ikatan O-glikosida dari senyawa metabolit sekunder dengan HCl:



Gambar 2.8 Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida (Mardiyah, 2013)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Setelah dilakukan proses hidrolisis pada ekstrak kemudian dilanjutkan dengan proses partisi. Hal tersebut dikarenakan senyawa steroid dan triterpenoid dalam bentuuk aglikon merupakan senyawa nonpolar, sehingga perlu dilakukan partisi dengan pelarut nonpolar. Salah satu pelarut yang dapat digunakan dalam partisi ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* yaitu pelarut petroleum eter (Kholidyah, 2013), (Setiyawan, 2015).

Proses partisi dilakukan menggunakan pelarut petroleum eter, penggunaan fraksi P.E berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Setiyawan, dkk (2015) telah menghidrolisis ekstrak kasar metanol *E.spinosum* kemudian dipartisi menggunakan pelarut P.E dan diperoleh rendemen sebesar 4,9 %. Sedangkan Susetyo, dkk (2015) juga menghidrolisis ekstrak kasar metanol *E.spinosum* kemudian dipartisi menggunakan pelarut etil asetat dan diperoleh rendemen sebesar 4,78 % maka dalam penelitian ini digunakan pelarut P.E dalam proses partisi.

2.4.3 Isolasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid dengan Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah kromatografi serapan yang dilakukan di dalam kolom, merupakan metode kromatografi terbaik untuk pemisahan campuran dalam jumlah besar. Campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita diatas bagian penyerap yang berada pada tabung kaca. Fasa gerak dibiarkan mengalir melalui kolom yang disebabkan oleh gaya berat. Pita senyawa yang terlarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah dan dikumpulkan berupa fraksi-fraksi pada saat keluar dari bawah kolom (Gritter, 1991).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

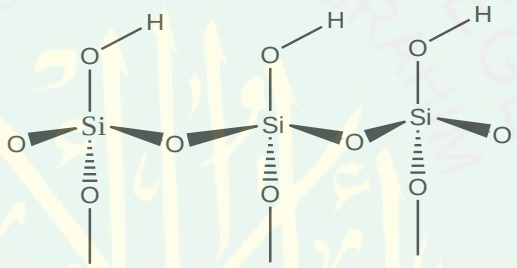
Pemisahan komponen campuran melalui kromatografi adsorpsi tergantung pada kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang teradsorb pada permukaan dari fase diam padatan dan pelarut dalam fase cair. Tingkat adsorpsi komponen tergantung pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak cair. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar akan teradsorb lebih kuat pada permukaan fase padatan. Aktivitas adsorben tergantung komposisi kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Braithwaite and Smith, 1995). Menurut Orlando, dkk (2009) kemampuan suatu kolom untuk mengadsorpsi dapat dilihat dari nilai HETP (*Height Equivalent to a Theoretical Plate*). *Plate Theory* mengasumsikan bahwa pada kromatografi kolom terdapat sejumlah lapisan-lapisan pemisah yang dikenal sebagai *theoretical plates*. Pemisahan sampel antara fasa diam dan gerak terjadi pada "*plates*" tersebut. Analit bergerak sepanjang kolom melalui transfer keseimbangan fasa gerak dari satu plate ke plate selanjutnya.

Pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid ini menggunakan fase gerak n-heksana:etil asetat dengan perbandingan 17:3. Pemakaian fase gerak tersebut berdasarkan pada penelitian sebelumnya. Setiyawan, dkk (2015) menggunakan fase gerak n-heksan dan etil asetat dengan metode KLT untuk mengisolasi senyawa triterpenoid pada *E.spinosum*. Hasil KLT dari ekstrak metanol *E.spinosum* disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan terbentuknya 9 noda yang terpisah. Golongan senyawa triterpenoid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan. Hasil tersebut diketahui dapat diasumsikan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sebagai senyawa triterpenoid. Selain itu, sifat kepolaran dari triterpenoid yang semi polar hampir sama dengan sifat fase gerak tersebut.

Silika gel adalah fasa diam yang paling sering digunakan untuk pemisahan produk alam. Silika gel memberikan area permukaan yang sangat luas. Rata-rata ukuran partikel silika gel yang digunakan dalam kolom kromatografi adalah 40 – 200 μm dengan ukuran pori sebesar 40 hingga 300 Å (Cannel, 1998). Struktur dasar silika gel dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Struktur dasar silika gel (Cannel, 1998).

Permukaan silika gel ini mengandung 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. Sehingga semakin kuat kemampuan ikatan hidrogen suatu senyawa maka semakin kuat akan tertahan pada silika gel (Noviyanti, 2010).

Fase diam dalam kolom harus memiliki kerapatan yang maksimal. Fase diam juga harus dijaga agar tidak kering dan selalu terendam eluen sehingga tidak terjadi retakan. Jika fase diam retak maka harus dikeluarkan karena tidak dapat digunakan untuk proses elusi. Kusmiyati (2011) mengisolasi zat aktif dari rimpang kunyit putih dengan metode kromatografi kolom menggunakan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pembuatan fase diam cara basah. Pada pembuatan fase diam cara basah ini, silika gel yang telah diaktivasi kemudian dicampur dengan eluen yang akan digunakan hingga homogen dan tidak terbentuk gelembung udara. Campuran silika dan eluen ini dikenal dengan istilah bubur silika. Bubur inilah yang kemudian dimasukkan kedalam kolom, dimampatkan dengan cara diketok-ketok hingga diperoleh fase diam yang rapat.

2.5 Identifikasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid dengan Uji Reagen

Uji fitokimia senyawa triterpenoid dilakukan dengan uji Lieberman Burchard. Prinsip dasar dari uji Liberman Burchard adalah senyawa triterpenoid/steroid dapat mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat yang akan membentuk garam dengan memberikan sejumlah reaksi warna (Robinson, 1995). Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru (Harborne, 1987).

Rumondang, dkk., (2013) telah melakukan uji fitokimia pada ekstrak kasar n-heksana daun tempuyung menggunakan pereaksi Liberman Burchard. Diperoleh sampel positif senyawa triterpenoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya cincin merah kecoklatan. Kemudian Novadiana (2014) melakukan uji fitokimia pada fraksi kloroform dari ekstrak metanol daun kerehau menggunakan pereaksi Lieberman Burchard. Terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukan sampel positif senyawa steroid.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6 Identifikasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid

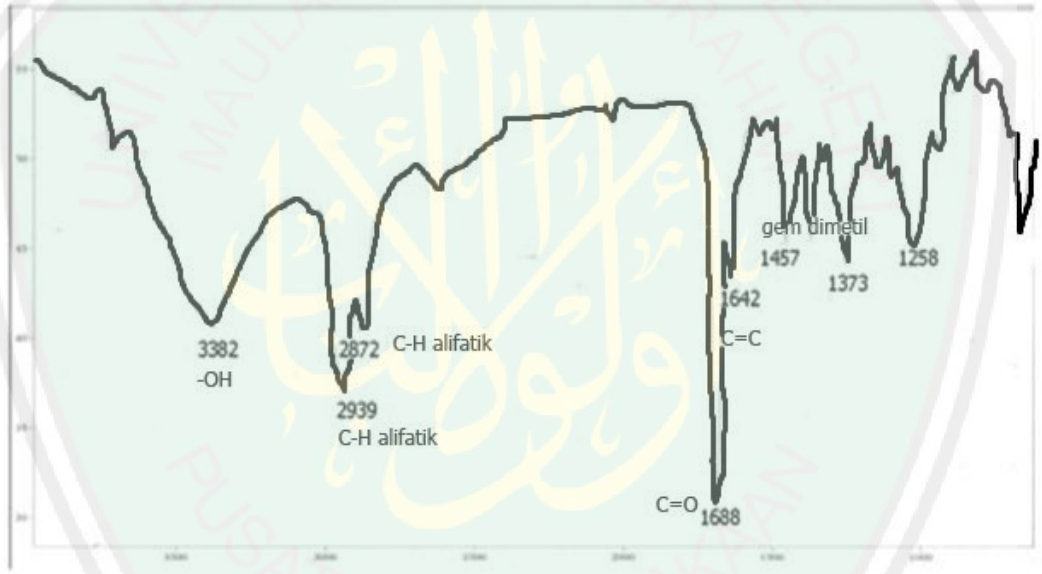
2.6.1 Identifikasi dengan FTIR

Spektroskopi IR biasa digunakan untuk mengidetifikasi gugus fungsi suatu senyawa. Daerah spektra spektroskopi IR dibagi menjadi 3, yaitu IR dekat (antara 0,8-2,5µm atau 12.500-4.00 cm^{-1}), IR tengah (antara 2,5-25 µm atau 4.000-400 cm^{-1}), dan IR jauh (antara 25-1.000 µm atau 400-10 cm^{-1}) (Rohman dan Gandjar, 2012). Spetroskopi FTIR dapat mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sankari, 2010). Adsorpsi radiasi IR bersesuaian dengan perubahan energi yang berkiasar antara 2-10 kkal/mol. Radiasi pada kisaran energi ekuivalen dengan frekuensi vibrasi ulur tekuk ikatan dalam kebanyakan ikatan kovalen molekul (Rohman dan Gandjar, 2012).

Prayitno (2015) mengisolasi senyawa triterpenoid dari ekstrak metilena klorida kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). Hasil IR dari isolasi senyawa triterpenoid ini, munculnya vibrasi ulur C-H alifatik pada 2939 cm^{-1} dan 2872 cm^{-1} memberi petunjuk kemungkinan adanya gugus metil (CH_3) dan metilena (CH_2). Data ini diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk C-H pada bilangan gelombang 1457 cm^{-1} dan 1373 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus gem dimetil sebagai ciri khas senyawa triterpenoid. Adanya karbon ikatan rangkap (C=C) seperti ditunjukkan oleh spektrum UV diperkuat oleh data spektrum IR dengan adanya vibrasi ulur (C=C) pada bilangan gelombang 1642 cm^{-1} dan vibrasi ulur karbonil (C=O) pada 1688 cm^{-1}. Spektrum IR adanya vibrasi ulur (C=C) dan vibrasi ulur karbonil (C=O) ini mirip seperti senyawa (22-E)-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

25,26,27-trinor-3β-hidroksisikloart-22-en-24-al yang memiliki vibrasi ulur (C=C) pada bilangan gelombang 1635 cm^{-1} dan vibrasi ulur karbonil (C=O) pada 1695 cm^{-1} yang berdekatan (Chiang, et al., 2001). Data IR menunjukkan Senyawa 1 memiliki gugus hidroksil, karbon ikatan rangkap (C=C), karbonil (C=O), gugus metilena (CH_2), gugus metil (CH_3) dan tidak memiliki bilangan gelombang untuk (=C-H) aromatik pada 3000-3100 cm^{-1}. Berikut spektra IR senyawa triterpenoid hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*) pada Gambar 2.10.

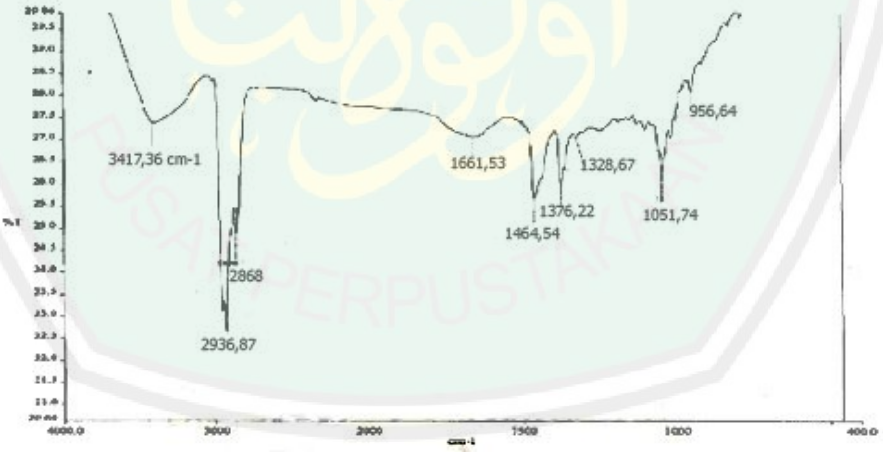


Gambar 2.10 Spektra IR senyawa triterpenoid hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*) (Prayitno, 2015).

Saleh (2007) melakukan identifikasi steroid menggunakan FT-IR memberikan serapan khas uluran gugus OH dengan serapan melebar pada bilangan gelombang 3417,36 cm^{-1}. Penguatan dugaan tersebut ditunjukkan pada bilangan gelombang 1328,67 cm^{-1} yang khas untuk tekukan dari gugus OH serta adanya uluran C-OH siklik pada daerah bilangan gelombang 1051,74 cm^{-1}.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Serapan dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang 2936,87 cm^{-1} yang menunjukkan uluran C-H dari CH_3 serta bilangan gelombang 2868 menunjukkan uluran dari C-H pada C-H_2. Serapan tersebut diperkuat dengan adanya pita pada bilangan gelombang 1376,22 cm^{-1} yang menunjukkan tekukan C-H dari C-H_3 dan serapan yang khas untuk C-H dari C-H_2 juga terbentuk pada bilangan gelombang 1464,54 cm^{-1}. Pita serapan juga menghasilkan uluran dari C=C non konjugasi pada bilangan gelombang 1661,53 cm^{-1}. Pita serapan lain yang memperkuat hasil tersebut adalah C=H pada bilangan gelombang 956,64 cm^{-1}. Hasil interpretasi tersebut menunjukkan steroid akan memberikan serapan yang khas untuk gugus OH, siklik, hidroksi, alkil dan ena non konjugasi. Berikut hasil Spektrum IR senyawa steroid hasil isolasi dari akar tumbuhan cendana pada Gambar 2.11.



Gambar 2.11 Spektrum IR senyawa steroid hasil isolasi dari akar tumbuhan cendana (Saleh, 2007)

2.6.2 Identifikasi dengan UV-Vis

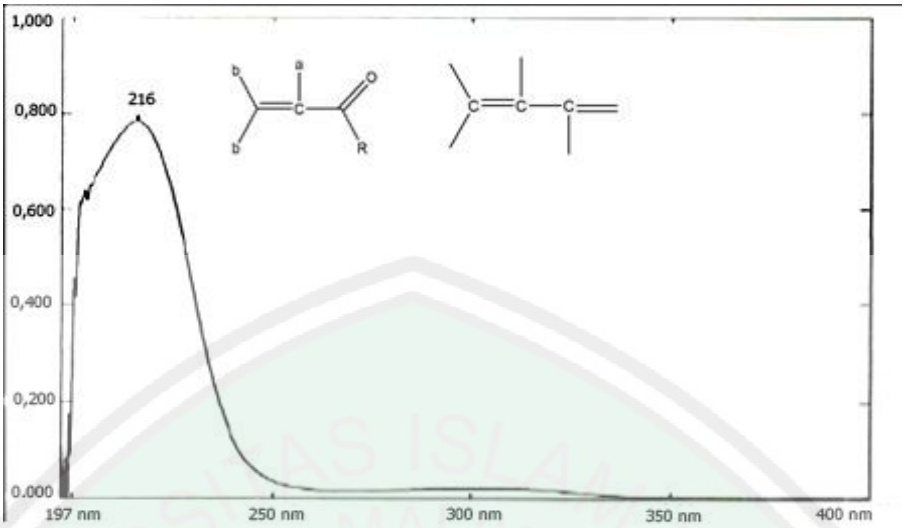
Spektrofotometri serap merupakan pengukuran interaksi antara radiasi elekfomagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit dan mendekati

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

monokromatik, dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa molekul selalu mengabsorbsi cahaya elektromagnetik jika frekuensi cahaya tersebut sama dengan frekuensi getaran dari molelnil tersebut. Elektron yang terikat dan elektron yang tidak terikat akan tereksitasi pada suatu daerah frekuensi, yang sesuai dengan cahaya ultraviolet dan cahaya tampak (UV-Vis). Spektrum absorbsi daerah ini adalah sekitar 220 nm sampai 800 nm dan dinyatakan sebagai spektrum elektron. Suatu spektrum ultraviolet meliputi daerah bagian ultraviolet (190-380 nm), spektrum Vis (Vis = Visibel) bagian sinar tampak (380-780 nm) (Henry dkk,. 2002).

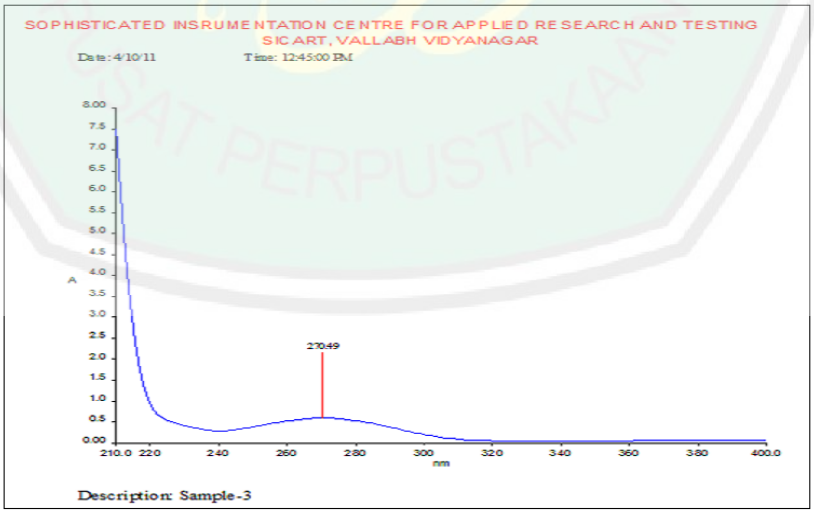
Prayitno (2015) mengisolasi senyawa triterpenoid dari ekstrak metilena klorida kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). Hasil spektrum UV isolasi senyawa steroid menunjukkan adanya puncak maksimum pada panjang gelombang (λ) 216 nm dalam pelarut metanol. Puncak maksimum (λmax) pada 216 nm merupakan puncak khas untuk karbonil-α,β- tak jenuh (- C=C-C=O) dan diena terkonjugasi (-C=C-C=C-) dengan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ (Silverstein, 1991). Puncak serapan pada spektrum UV ini menunjukkan bahwa Senyawa 1 terdapat gugus karbonil-α,β-tak jenuh (-C=C-C=O) atau diena terkonjugasi (-C=C-C=C-) dan gugus karbonil (-C=O) (Sastrohamidjojo, 2001). Puncak-puncak spektrum UV dapat dilihat pada Gambar 2.12.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.12 Spektrum UV-Vis senyawa triterpenoid hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*) (Prayitno, 2015).

Patel dkk (2016) berhasil mengisolasi senyawa steroid pada *Caryota urens leaves* dengan menggunakan kromatografi kolom. Berikut hasil spektra UV-Vis senyawa steroid pada *Caryota urens leaves* pada Gambar 2.13.



Gambar 2.13. Senyawa steroid pada *Caryota urens leaves* (Patel, dkk. 2016)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Desember 2016 – Maret 2017.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelian ini adalah seperangkat alat gelas (Iwaki), neraca analitik, mortar, pisau, kertas saring, corong buchner (Iwaki), *rotary evaporator*, shaker, corong pisah (Iwaki), oven, desikator, seperangkat pipet volume (Iwaki), seperangkat pipet ukur (Iwaki), pipet tetes, bejana kromatografi, plat KLT (Variant), seperangkat alat UV-Vis (Variant) dan seperangkat alat FT-IR (Variant).

3.2.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini alga merah (*Eucheuma spinosum*) yang berasal dari pantai Pamekasan Madura, metanol p. a 99,9%, petroleum eter p. a, akuades, HCl p. a 37 %, H_2SO_4 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 $F_{254,}$ dan $NaHCO_3$ p. a (Semua bahan kimia dan plat KLT yang digunakan dari Merck).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel yang telah dikeringkan ditentukan nilai kadar air, kemudian dimaserasi menggunakan metanol sampai semua senyawa di dalamnya terambil oleh pelarut. Hasil maserasi dipekatkan menggunakan *rotary vacum evaporator* kemudian dihidrolisis menggunakan HCl dan difraksinasi menggunakan petroleum eter. Sebagian fraksi peteroleum eter siap dipisahkan senyawanya menggunakan kromatografi kolom dengan rasio sampel dan silika gel yang berbeda. Hasil kromatografi kolom terbaik dari pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid di analisis dengan menggunakan UV-Vis dan FT-IR.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan langkah langkah sebagai berikut:

1. Preparasi sampel.
2. Penentuan kadar air secara thermogravimetri.
3. Ekstraksi sampel.
4. Hidrolisis dan ekstraksi cair-cair (partisi) ekstrak pekat metanol.
5. Identifikasi golongan senyawa aktif dengan uji reagen.
6. Pemisahan senyawa steroid dari ekstrak kasar dengan kromatografi kolom.
7. Monitoring spot dengan KLTA, penggabungan dan pemekatan fraksi,
8. Identifikasi isolat menggunakan UV-Vis dan FT-IR.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel (Andriani, 2015)

Sampel yang digunakan merupakan sampel kering alga merah *Eucheuma spinosum*. Sampel alga merah dihaluskan dengan menggunakan blender dan menggunakan ayakan 60 – 250 mesh.

3.5.2 Penentuan Kadar Air (Andriani, 2015)

Pada penentuan kadar air, disiapkan cawan porselen terlebih dahulu, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 105 ^{o}C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, sebanyak 5 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan dalam oven dan dikeringkan pada suhu 105 ^{o}C selama ±15, kemudian sampel disimpan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang, sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan.

Kadar air dapat dihitung menggunakan persamaan:

Kadar air = $\frac{(b-c)}{(b-a)}$x 100% .....(3.1)

Dimana:

a =Bobot caawan kosong

b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = bobot cawan + sampel setelah dikeringakan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.3 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi (Andriani, 2015)

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman. Alga merah yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 50 g dan diekstraksi secara maserasi menggunakan 250 mL pelarut metanol. Perendaman dilakukan selama 24 jam dan dilakukan pengocokan menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan corong buchner. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembai menggunakan pelarut yang sama sebanyak 3 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama, setelah itu dilakukan penyaringan. Ketiga fitrat yang diperoleh digabung menjadi sau. Lalu dipekatkan menggunakan rotary vacum evaporator. Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya.

Rendemen = $\frac{berat\ ekstrak}{berat\ sampel}$ x 100%.....(3.2)

3.5.4 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol (Andriani, 2015)

Diambil ekstrak pekat metanol alga merah *Eucheuma spinosum* sebanyak 2,5 gram, dimasukkan ke dalam *beaker glass*, kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 5 mL asam klorida (HCl) 2N ke dalam ekstrak pekat dengan perbandingan (1:2). Hidrolisis dilakukan selama 1 jam menggunakan *magnetik stirer hot plate* pada suhu ruang. Hidrolisis yang diperoleh ditambahkan dengan Natrium bikarbonat ($NaHCO_3$) sampai pH-nya netral, lalu hasil hidrolisat dipartisi dengan 25 mL metanol dan 25mL pelarut petroleum eter. Dipartisi kembali sampai 3 kali pengulangan dengan pelarut petroleum eter (3 x 25 mL). Ekstrak

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

hasil partisi dipekatkan dengan *rotary evaporator*, ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya.

3.5.5 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Steroid dan Triterpenoid dengan Uji Reagen (Mardiyah dkk., 2013)

Fraksi P.E *E.spinosum* diambil 1 mg dan dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah 1 – 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan 2 pelarut menunjukkan adanya triterpenoid.

3.5.6 Pemisahan Senyawa Steroid dan Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Merah Kasar menggunakan Kromatografi Kolom (Kusmiyati dkk., 2011)

Pemisahan dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Eluen yang dipakai adalah n-heksana:etil asetat dengan perbandingan 17:3. Fase diam yang digunakan adalah silika gel G-60 (0,063-0,200 mm). Kolom yang digunakan berdiameter 1,5 cm, dan kecepatan alir saat proses elusi adalah 2 mL/menit. Kemudian ada tiga variasi sampel dan silika yang digunakan yaitu, 1:75, 1:100, dan 1:125. Silika gel G-60 diaktivasi menggunakan oven pada suhu 110 ^{o}C selama 2 jam lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Kolom bagian bawah diisi *glasswool* dan eluen (n-heksana : etil asetat). Dibuat bubur silika gel dengan dimasukkan silika gel dalam *beaker glass* lalu ditambahkan eluen, diaduk hingga homogen, tidak ada gelembung udara, dimasukkan bubur silika gel kedalam kolom dan didiamkan selama 24 jam. Sampel diambil 0,1 gram dicampur dengan 1 mL eluen. Selanjutnya kran sedikit dibuka dan dikeluarkan eluen hingga tersisa diatas fase diam namun tidak melebihi fase diam. Setelah itu,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kran ditutup dan dimasukkan campuran sampel dan eluen menggunakan pipet dan ditunggu hingga sampel turun. Selanjutnya ditambahkan eluen, kran dibuka, dilakukan elusi kemudian eluat ditampung setiap 2 mL dalam botol vial. Selain itu, elusi dilakukan dengan menjaga agar silika gel dalam kolom selalu terendam eluen.

3.5.7 Monitoring Spot dengan KLTA, Penggabungan dan Pemekatan Fraksi (Asih, 2010).

Fraksi-fraksi yang didapat dari pemisahan kromatografi kolom kemudian dimonitoring dengan KLTA. Monitoring awal dilakukan dengan cara me-range tiap 10 vial yang didapat pada pemisahan kromatografi kolom. Hasil monitoring kemudian dikelompokkan berdasarkan noda dan nilai Rf yang muncul. Kelompok fraksi dari monitoring I dimonitoring kembali dengan cara me-range tiap 2 vial. Sehingga dapat dilakukan penyederhanaan fraksi dengan cara penggabungan fraksi berdasarkan pola noda dan Rf yang sama dari hasil KLT.

Eluen yang digunakan sebagai fase gerak adalah eleun pada kromatografi kolom dan digunakan plat silika gel F_{254} 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 KLT 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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menggunakan lampu UV, disemprot dengan reagen LB lalu diamati dibawah lampu UV dan dihitung Rf tiap noda.

3.5.8 Identifikasi Isolat menggunakan UV-Vis dan FT-IR (Sari, 2015)

Identifikasi senyawa aktif hasil kromatografi kolom dilakukan dengan dengan menggunakan isolat yang menunjukkan positif mengandung steroid dan triterpenoid yang diperoleh dari hasil kromatografi kolom, selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR. Masing-masing isolat dimasukkan dalam kuvet dan diamati spektrum yang dihasilkan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 - 800 nm. KBr ditambahkan dengan isolat yang diduga senyawa steroid dan triterpenoid diidentifikasi dengan spektrofotometer FT-IR dengan panjang gelombang 4000 - 400 cm^{-1}, spektrum yang terbentuk diamati.

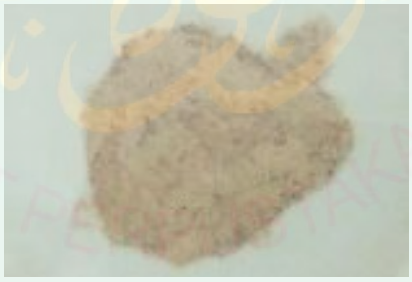
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alga merah *Eucheuma spinosum* yang diambil dari pantai Jumiang Pamekasan, Madura. Hasil sampel kering alga merah didapatkan serbuk berwarna coklat dengan berat 300 gram. Penghalusan dilakukan pada sampel kering alga merah *Eucheuma spinosum* untuk memperluas permukaan sampel, jika semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaanya. Sampel yang mempunyai ukuran kecil akan mengakibatkan terjadinya kerusakan pada sel-sel, sehingga senyawa yang terkandung dalam alga merah *Eucheuma spinosum* dapat terlarut pada metanol.



Gambar 4.1 Serbuk Alga merah *Eucheuma spinosum* hasil pengahalusan

4.2 Analisis Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam suatu sampel dalam satuan persen. Sampel alga merah *Eucheuma spinosum* yang mengandung air dapat mempengaruhi kandungan senyawa selama proses penyimpanan sampel karena, kadar air yang tinggi mengakibatkan mudahnya bakteri dan jamur untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada sampel *Eucheuma spinosum.* Pada saat proses ekstraksi air akan ikut terekstrak pada pelarut, sehingga jika semakin tinggi kadar air pada sampel hasil ekstraksi kurang maksimal. Penentuan kadar air pada sampel *Eucheuma spinosum* dilakukan menggunakan metode *thermogravimetry* dan diperoleh kadar air sebesar 9,32%. Kadar air tersebut telah memenuhi standar untuk ekstraksi maserasi yakni < 11% (Puspita, 2009).

Gambar 4.2 Hasil kadar air sampel Alga merah *Eucheuma spinosum*

4.3 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi bertujuan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam *Eucheuma spinosum.* Hasil ekstrak pekat yang didapatkan pada penelitian ini sebesar 15,214 gram dengan rendemen 5,0713%. Pada saat maserasi terjadi proses difusi, hal ini terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi larutan. Metanol yang memiliki konsentrasi yang lebih tinggi akan masuk ke dalam sel *Eucheuma spinosum* melalui dinding sel. Kemudian, sel akan larut dalam metanol, sehingga konsentrasi larutan dalam sel lebih tinggi dari pada

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

larutan diluar sel. Proses maserasi membuat filtrat berwarna hijau, remaserasi dilakukan sampai warna filtratnya memudar dan lebih pucat (Kristanti, dkk., 2008). Warna yang memudar diasumsikan komponen senyawa yang terdapat pada sampel sudah banyak terlarut pada pelarutnya. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator,* sebelum dipekatkan awalnya ekstrak metanol berwarna kuning kehijauan, setelah dipekatkan menjadi kecoklatan yang diakibatkan pelarut telah menguap. Proses maserasi dapat dilihat pada Gambar 4.3.

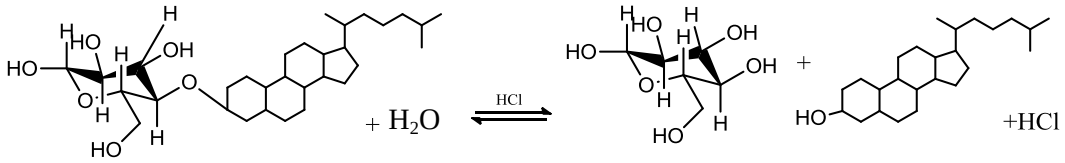
a b c

Gambar 4.3 a. Proses maserasi 1 b. Proses maserasi 2 c. Proses maserasi 3

4.4 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis merupakan suatu reaksi kimia yang dapat memutuskan ikatan glikosida dengan memecah molekul menjadi dua bagian (glikon dan aglikon) dengan penambahan molekul air (H_2O). Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida ditunjukkan pada Gambar 4.4.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.4 Dugaan Reaksi pemutusan ikatan glikosida pada ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* (Mardiyah, 2012)

Reaksi hidrolisis membutuhkan katalisator karena hidrolisis dengan air akan berlangsung lambat (Nihlati, dkk., 2008). Katalis yang digunakan adalah katalis asam yaitu HCl. Konsentrasi HCl yang baik digunakan untuk hidrolisis adalah 2N (Artati, dkk., 2012). Reaksi hidrolisis berlangsung secara reversibel, untuk menghentikannya dinetralkan dengan natrium bikarbonat sampai pH 7. Reaksi saat penambahan natrium bikarbonat ditunjukkan pada Gambar 4.5.

$$HCl + NaHCO_3 \longrightarrow NaCl + CO_2 + H_2O$$

Gambar 4.5 Reaksi antara HCl dan $NaHCO_3$ (Ningsih, dkk., 2015)

Hasil dari hidrolisis kemudian dipartisi dengan pelarut petroleum eter. Senyawa steroid dan triterpenoid dalam bentuk aglikon merupakan senyawa yang cenderung bersifat nonpolar, sehingga perlu dilakukan partisi dengan pelarut nonpolar. Petroleum eter merupakan pelarut yang paling nonpolar jika dibandingkan dengan pelarut organik lainnya (Atun, 2014). Senyawa yang bersifat nonpolar akan terdistribusi pada fasa organik dari pada ke fasa air, hal ini sesuai dengan prinsip *like dissolve like* dan senyawa yang bersifat nonpolar akan larut dalam petroleum eter. Fasa organik yang didapat berwarna coklat. Proses partisi dilakukan sampai fasa air terlihat bening yang dapat diasumsikan telah banyak senyawa yang terdistribusi ke dalam fasa organik. Lapisan organik yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

mengandung aglikon diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacum evaporator*. Rendemen hasil partisi didapatkan sebesar 23,07 % dari berat ekstrak awal 15,214 gram dan didapatkan berat fraksi petroleum eter sebesar 1,5014 gram.

Gambar 4.6 Ekstraksi cair-cair menggunakan petroleum eter

4.5 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Steroid dan Triterpenoid dengan Uji Reagen

Fraksi petroleum eter dari ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* mengandung beberapa senyawa. Uji Fitokimia merupakan langkah awal untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa steroid dan triterpenoid pada fraksi petroleum eter *Eucheuma spinosum*. Uji kualitatif senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan dengan reagen Liebermann Burchard yang merupakan reagen spesifik untuk uji senyawa triterpenoid dan steroid (Kristanti, 2008). Proses identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid dilarutkan dengan kloroform dan ditambahkan dengan asam asetat anhidrida kemudian ditambahkan H_2SO_4 pekat (Mardiyah, dkk., 2014). Reaksi Liebermann Burchard diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi (Siadi, 2012).

Gambar 4.7 Hasil Uji Liberman Burchard

Hasil uji fitokimia fraksi petroleum eter ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* terdapat warna hijau dan cincin kecoklatan. Rumondang, dkk., (2013) telah melakukan uji fitokimia pada suatu ekstrak kasar menggunakan pereaksi Liberman Burchard senyawa triterpenoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya cincin merah kecoklatan dan terbentuknya warna hijau menunjukkan sampel positif senyawa steroid Novadiana (2014).

4.6 Pemisahan Senyawa Steroid dan Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter

Pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan dengan metode kromatografi kolom basah. Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat pada bahan alam. Variasi rasio sampel dan silika

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

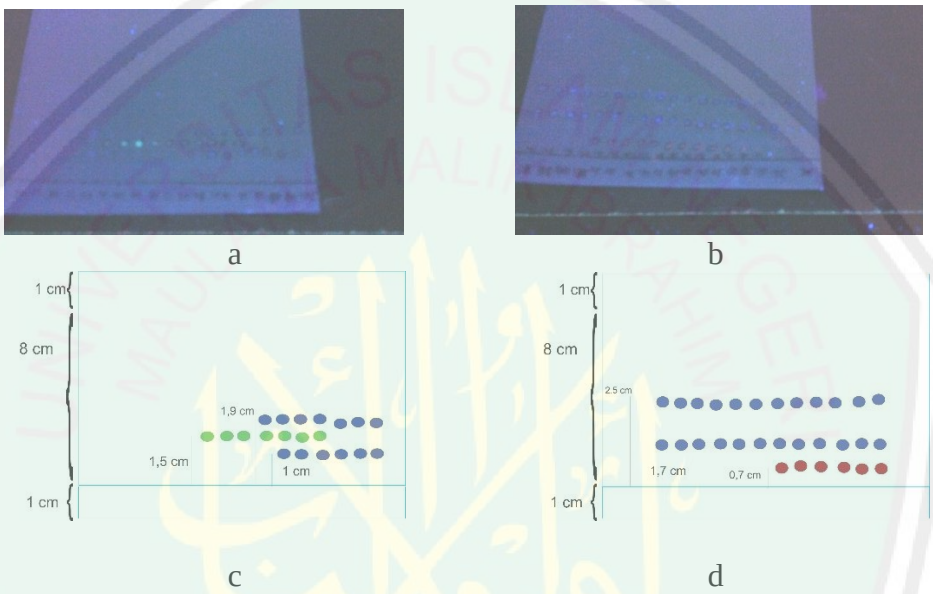
gel ini akan menghasilkan panjang lintasan kolom yang berbeda-beda. Panjang lintasan dalam kolom dapat menentukan efektifitas pemisahan. Panjang lintasan kolom untuk rasio sampel dan silika gel 1:75, 1:100, dan 1:125 yaitu 6,1 cm, 9,1 cm, dan 10,2 cm. Adsorben yang dimasukkan kedalam kolom biasanya memiliki bentuk dan ukuran yang berbeda-beda. Perbedaan ini mengakibatkan solut akan mengambil jalan yang berbeda untuk melalui kolom sehingga terjadi perbedaan waktu keluarnya molekul-molekul dari kolom. Untuk memperkecil efek difusi eddy fase diam dalam kolom harus memiliki kerapatan yang maksimal. Fase diam juga harus dijaga agar tidak kering dan selalu terendam eluen sehingga tidak terjadi retakan. Hasil kromatografi kolom ini mendapatkan 200 vial pada masing-masing variasi perbandingan rasio sampel dan silika gel.

Gambar 4.8 Kromatografi kolom basah

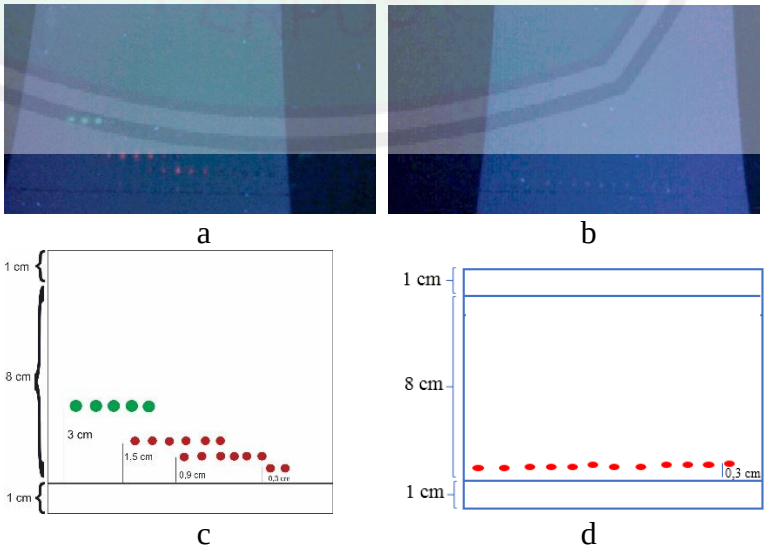
Isolat hasil kromatografi kolom dari masing-masing variasi kemudian dimonitoring dengan KLTA. Hal ini bertujuan untuk menyederhanakan fraksi yang dihasilkan sehingga fraksi-fraksi yang memiliki noda dengan *Rf* yang sama

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dapat digabung sehingga diperoleh fraksi gabungan yang lebih besar. Hasil noda selanjutnya dapat dilihat dengan lampu UV 366 nm. Noda berwarna hijau sampai biru terindikasi sebagai senyawa steroid. Senyawa dengan warna merah sampai ungu tergolong triterpenoid.

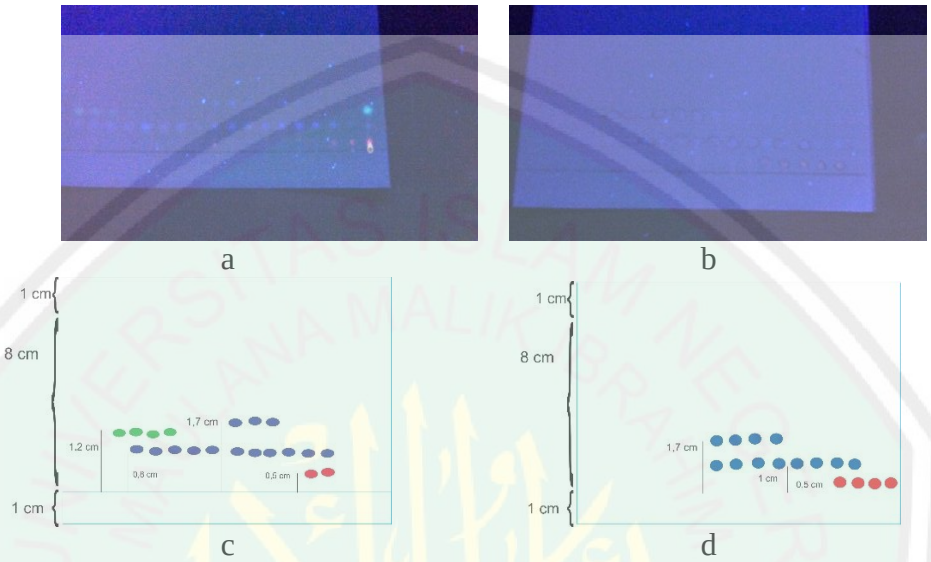


Gambar 4.9 a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 105 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 105 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 4.10 a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 180 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 180



Gambar 4.11 a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 27 – 187 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 27 – 187 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:125 vial 110 – 200

Tabel 4.1 Fraksi hasil kromatografi kolom perbandingan rasio 1:75

No	Fraksi	*Rf*	Resolusi	Warna	Dugaan Senyawa
1	A.1 (1 – 34)	-	-	-	
2	B.1 (35 – 61)	0,1875	0,89	Hijau	Steroid
3	C.1 (62 – 69)	0,2375	-	Biru	Campuran
		0,1875	-	Hijau	
4	D.1 (70 – 80)	0,125	-	Biru	
		0,2375	-	Biru	Campuran
		0,1875	-	Hijau	
5	E.1 (81 – 135)	0,15	-	Biru	Campuran
		0,2375	-	Biru	
6	F.1 (136 – 185)	0,2125	-	Biru	
		0,3125	-	Biru	Campuran
		0,0875	-	Merah	
7	G.1 (186 – 200)	0,2125	-	Merah	Campuran
		0,25	-	Merah	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.2 Fraksi hasil kromatografi kolom perbandingan rasio 1:100

No	Fraksi	*Rf*	Resolusi	Warna	Dugaan Senyawa
1	A.2 (1 – 14)	-	-	-	-
2	B.2 (15 – 22)	0,3625	1,5	Hijau	Steroid
3	C.2 (23 – 44)	0,2875	-	Hijau	
		0,175	-	Merah	Campuran
		0,1125	-	Merah	
4	D.2 (45 – 60)	0,1125	0,81	Merah	Triterpenoid
5	E.2 (61 – 72)	0,1125	-	Merah	Campuran
		0,0375	-	Merah	
6	F.2 (73 – 180)	0,0375	0,71	Merah	Triterpenoid

Tabel 4.3 Fraksi hasil kromatografi kolom perbandingan rasio 1:125

No	Fraksi	*Rf*	Resolusi	Warna	Dugaan Senyawa
1	A.3 (1 – 37)	-	-	-	-
2	B.3 (38 – 70)	0,35	1	Hijau	Steroid
3	C.3 (71 – 79)	0,15	-	Hijau	Campuran
		0,1	-	Biru	
4	D.3 (80 – 102)	0,1	1,25	Biru	Steroid
5	E.3 (103 – 156)	0,125	-	Biru	Campuran
		0,2125	-	Biru	
6	F.3 (157 – 166)	0,125	1,07	Biru	Steroid
7	G.3 (167 – 187)	0,125	-	Biru	Campuran
		0,0625	-	Merah	
8	H.3 (188 – 195)	0,0625	1,14	Merah	Triterpenoid

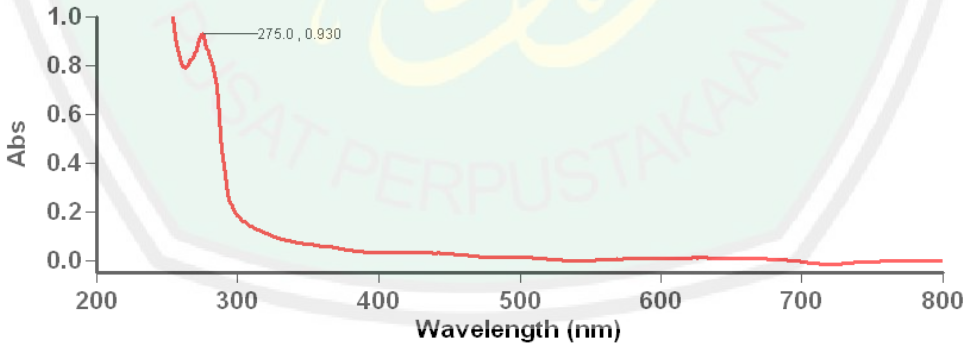
Fraksi yang telah digabung kemudian diuapkan pelarutnya dan terbentuk kristal berwarna kuning. Hasil isolat pada vial awal mengindikasikan senyawa yang bersifat non polar yang keluar terlebih dahulu dari kolom. Sedangkan, senyawa yang bersifat polar akan terindikasikan pada vial akhir. Hal ini disebabkan senyawa yang bersifat polar akan tertahan lebih lama pada silika gel sedangkan, senyawa yang bersifat non polar lebih mudah terdistribusi pada fase geraknya. Dalam kolom kromatografi senyawa campuran pada sampel akan bergerak dengan laju yang berbeda karena perbedaan daya tahan dalam fase diamnya dan kelarutan dalam fase geraknya. Pemisahan yang baik dapat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diasumsikan jika memiliki *Rs* atau daya pemisahan antar komponen dalam campuran tersebut mendekati atau lebih dari 1,5. Pada perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:125 mendapatkan 4 fraksi tunggal yaitu fraksi B.3, D.3, F.3, dan H.3 yang memiliki nilai resolusi berturut-turut 1; 1,25; 1,07; 1,14 yang ditampilkan pada Tabel 4.3.

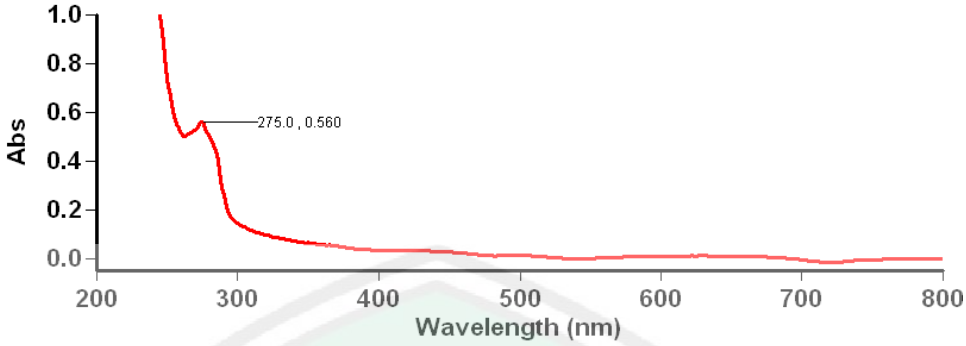
4.7 Identifikasi Senyawa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Fraksi tunggal B.3, D.3, F.3 dan H.3 yang mengandung senyawa steroid dan triterpenoid kemudian diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Dalam spektrofotometer UV-Vis interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul menyebabkan transisi elektronik. Spektrum hasil kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 4.12, 4.13, 4.14, dan 4.15.

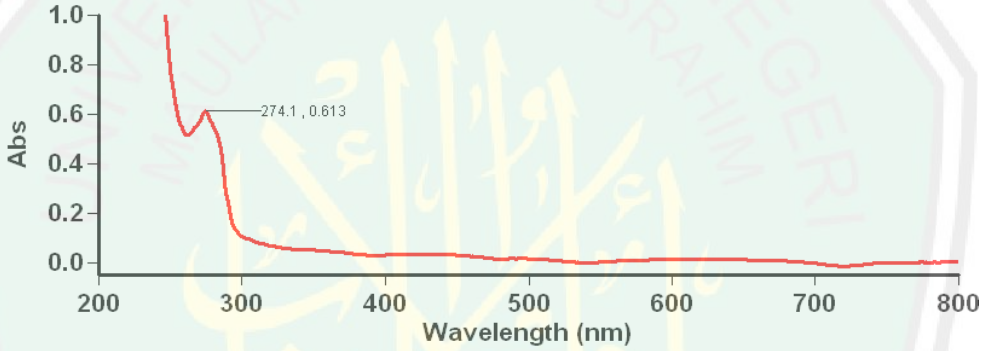


Gambar 4.12 Hasil Spektrum UV-Vis Steroid Fraksi B.3 (38-70)

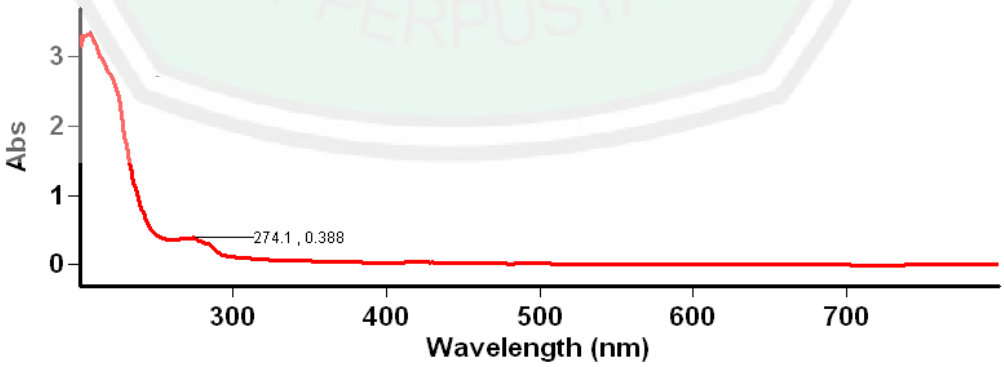
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.13 Hasil Spektrum UV-Vis Fraksi Steroid D.3 (80-102)



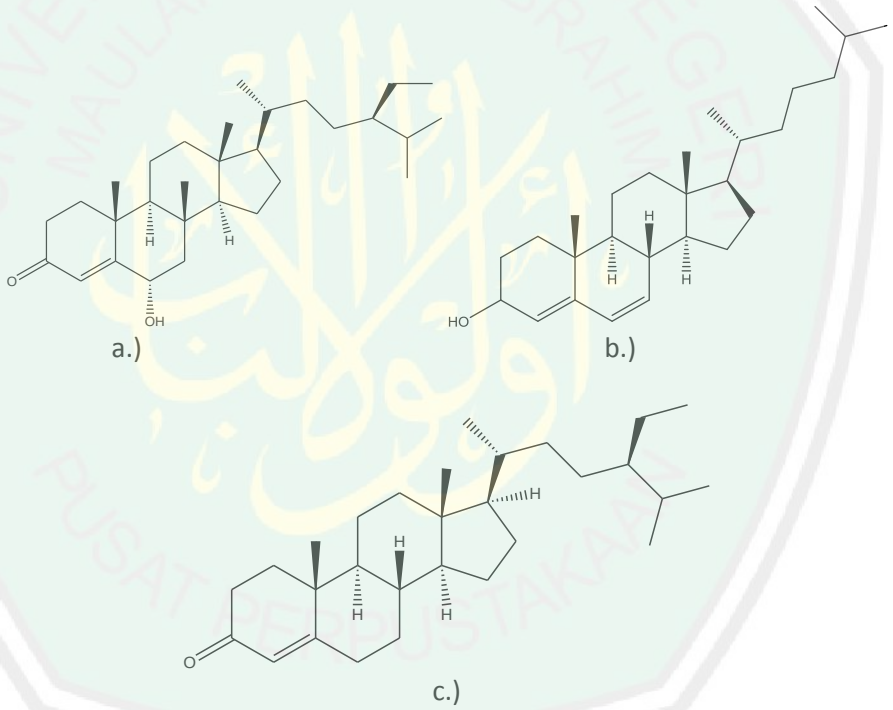
Gambar 4.14 Hasil Spektrum UV-Vis Steroid Fraksi F.3 (157-166)



Gambar 4.15 Hasil Spektrum UV-Vis Triterpenoid Fraksi H.3 (188-195)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan hasil spektrum UV-Vis fraksi B.3, D.3, dan F.3 berturut-turut terdapat serapan maksimum pada panjang gelombang 275, 275, dan 274 nm ini menunjukkan adanya transisi elektronik yang disebabkan oleh ikatan rangkap terkonjugasi dalam senyawa hasil isolasi. Pola spektrum UV-Vis yang dihasilkan mempunyai kemiripan dengan penelitian Patel (2016) yang melakukan identifikasi senyawa steroid dari *Caryota urens L.* menghasilkan spektrum UV-Vis pada panjang gelombang 270 nm yang menunjukkan adanya senyawa steroid.

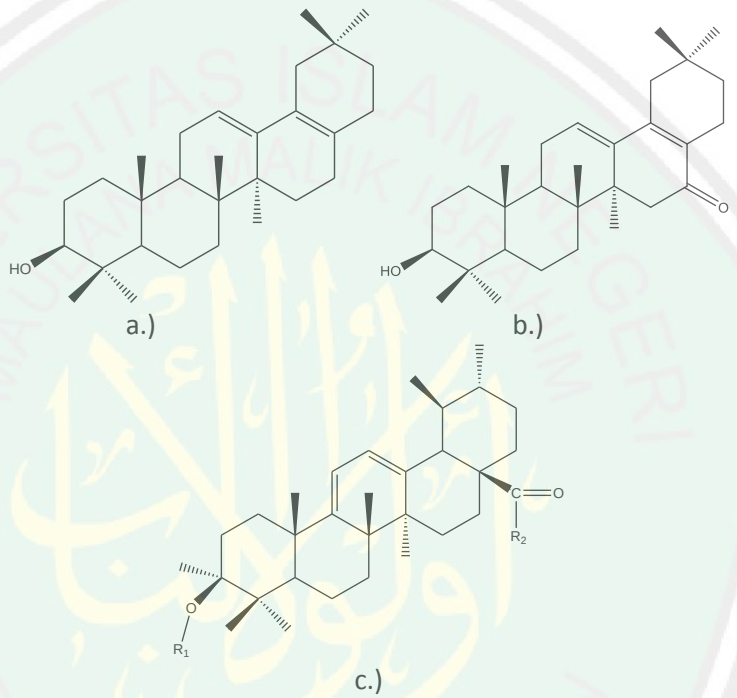


Gambar 4.16 (a) 6α-hidrokisistigmas-4-en-3-on (b) Kolesta-4,6-diene-3β-ol (c) Stigma-4, 22-dien-3-one

Kemudian hasil spektrum UV-Vis fraksi H.3 (188 – 195) menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 274,1 nm. Pada panjang gelombang tersebut terjadi transisi elektron yang disebabkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi atau ikatan rangkap dengan atom yang mempunyai pasangan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

elektron bebas. Data spektrum UV-Vis fraksi 188 – 195 dapat dikaitkan dengan hasil penelitian Ali (2013) yang melakukan isolasi dan elusidasi struktur senyawa triterpenoid dari *Prunus cerasoides* D. Don mendapati panjang gelombang 276 nm. Data spektrum UV- Vis tersebut menunjukkan adanya transisi C=C dan C=O karbonil.



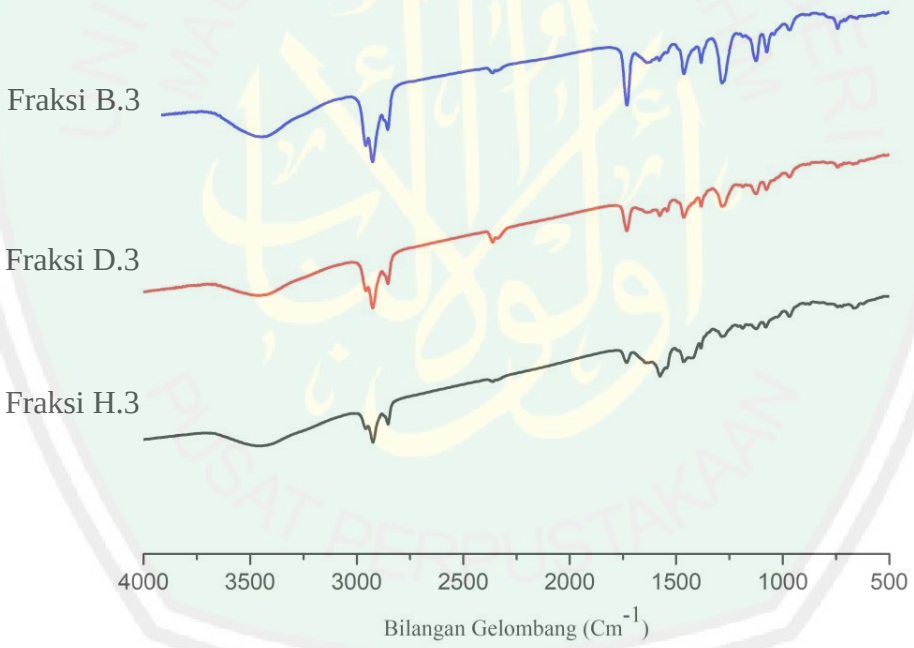
Gambar 4.17 (a) 28-*noroleana*-12,17-*dien*-3β-ol (b) 3β-*Hidroxy*-28-*noroleana*-12,17-*dien*-16-*one* (c) 12-*dien*-28-*oic acid* β-D-*glocopyranosyl ester*

Hasil spektrum UV-Vis pada fraksi yang didapat menunjukkan adanya puncak lain, dari hasil analisa dengan UV-Vis dimungkinkan puncak yang tersebut merupakan puncak dari pelarut. Puncak pelarut ini diduga dari metanol atau etanol yang ditunjukkan pada lampiran Tabel L.9.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.8 Identifikasi Senyawa menggunakan Spektroskopi FTIR

Fraksi tunggal B.3, F.3, dan H.3 yang mengandung senyawa steroid dan triterpenoid pada KLTA kemudian dilanjutkan dengan mengidentifikasi fraksi tersebut dengan instrumen FTIR. Dalam FTIR terjadi interaksi antara energi dengan molekul yang menyebabkan terjadinya transisi akibat adanya vibrasi molekul. Identifikasi dengan menggunakan FTIR ini dapat memperkuat dugaan senyawa yang terkandung dalam sampel *Eucheuma spinosum*. Hasil spektrum FTIR ditunjukkan pada Gambar 4.19.



Gambar 4.18 Spektrum FTIR Fraksi B.3, D.3, dan H.3

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.4 Spektrum FT-IR Fraksi B.3 (38-70)

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Range (cm^{-1})	Jenis Vibrasi	Intensitas
1	3449	3350-3230	O-H *stretch*	w-m
2	2925	3000-2800	Csp^3 –H *stretch asy*	m-s
3	2854	2870-2800	$-CH_3$ *stretch sym*	m
4	1731	1780-1730	C=O *stretch*	m
5	1636	1680-1600	C=C *stretch*	w-m
6	1463	1480-1440	$-CH_2$ *bend* (*scissoring*)	w-m
7	1382	1385-1365	$-CH_2$ *bend* (*wagging*)	w-m
8	1285	1300-1200	$-CH_3$ *bend* (*twisting*)	m
9	1125	1125-1080	C-O alkohol sekunder	w-m
10	1075	1080-1050	C-O alkohol primer	w-m
11	742	720-750	$-CH_2$ *rocking*	w-m

Keterangan : s = *strong*, m = *medium*, w = *weak*

Tabel 4.5 Spektrum FT-IR Fraksi D.3 (80-102)

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Range (cm^{-1})	Jenis Vibrasi	Intensitas
1	3462	3350-3230	O-H *stretch*	w-m
2	2924	3000-2800	Csp^3 –H *stretch asy*	m-s
3	2853	2870-2800	$-CH_2$ – *sym*	m
4	1731	1780-1730	C=O *stretch*	m
5	1636	1680-1600	C=C *stretch*	w
5	1464	1480-1440	$-CH_2$ *bend* (*scissoring*)	w-m
6	1383	1385-1365	$-CH_2$ *bend* (*wagging*)	w-m
7	1285	1300-1200	$-CH_3$ *bend* (*twisting*)	w-m
8	1125	1125-1080	C-O alkohol sekunder	w-m
9	1076	1080-1050	C-O alkohol primer	w-m

Keterangan : s = *strong*, m = *medium*, w = *weak*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.6 Spektrum FTIR Fraksi H.3 (188-195)

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Range (cm^{-1})	Jenis Vibrasi	Intensitas
1	3453	3350-3230	O-H *stretch*	w-m
2	2923	3000-2800	Csp^3 –H *stretch asy*	m-s
3	2853	2870-2800	$-CH_2$ – *sym*	m
4	1733	1780-1730	C=O *stretch*	m
5	1643	1680-1600	C=C *stretch*	w
6	1465	1480-1440	$-CH_2$ *bend* (*scissoring*)	w-m
7	1385	1385-1365	$-CH_2$ *bend* (*wagging*)	w-m
8	1285	1300-1200	$-CH_3$ *bend* (*twisting*)	w-m
9	1124	1125-1080	C-O alkohol sekunder	w
10	1079	1080-1050	C-O alkohol primer	w

Keterangan : s = *strong*, m = *medium*, w = *weak*

Hasil identifikasi dengan FTIR pada fraksi B.3 (38-70) menunjukkan adanya serapan gugus hidroksil pada bilangan gelombang 3449 cm^{-1} hal ini diperkuat dengan adanya serapan gugus alkohol yang muncul pada pada bilangan gelombang 1125 cm^{-1}. Selain itu terdapat serapan geminal dimetil pada bilangan gelombang 1463 cm^{-1} dan 1382 cm^{-1}. Serapan geminal dimetil ini adalah serapan khas dari senyawa steroid dan triterpenoid (Astuti, dkk., 2014). Hasil serapan yang muncul dapat diduga mengandung senyawa steroid hal ini dapat dikaitkan dengan penelitian Halilu, dkk., (2013) yang mengidentifikasi senyawa steroid dari batang kayu dai *Parinari curatellifolia* planch ex.benth menunjukkan serapan gugus O-H pada bilangan gelombang 3431 cm^{-1} kemudian serapan dari gugus CH_3 *stretching* 2928 cm^{-1} dan juga gugus geminal dimetil pada bilangan gelombang 1452 cm^{-1} dan 1374 cm^{-1} hasil tersebut menunjukkan adanya senyawa β-sitosterol dengan diperkuat data MS, ^1H dan ^{13}C-NMR.

Kemudian hasil spektrum IR fraksi D.3 (80-102) menunjukan serapan O-H pada bilangan gelombang 3462 cm^{-1}, adanya gugus O-H ini juga diperkuat dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

munculnya serapan gugus alkohol pada bilangan gelombang 1125 cm^{-1}. Adanya gugus CH_3 *stretching* juga ditunjukan pada bilangan gelombang 2924 cm^{-1}, dan serapan khas dari senyawa steroid yaitu geminal dimetil ditunjukan pada bilangan gelombang 1464 cm^{-1} dan 1383 cm^{-1}. Mukharromah (2014), menganalisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak diklorometana kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) yang menunjukan serapan gugus O-H, CH_3 *streching*, dan geminal dimetil pada bilangan gelombang 3432 cm^{-1}, 2943 cm^{-1}, 1457 cm^{-1} dan 1374 cm^{-1} hasil analisis ini diperkuat dengan data GC-MS yang mendapati adanya senyawa kampesterol, stigmasterol, dan juga β-sitosterol.

Selanjutnya pada fraksi H.3 (188-195) menunjukkan adanya serapan khas dari senyawa triterpenoid geminal dimetil pada bilangan gelombang 1465 cm^{-1} dan 1385 cm^{-1}. Gugus hidroksil juga dapat terlihat pada bilangan gelombang 3453 cm^{-1}, selain itu terdapat gugus alkohol primer pada bilangan gelombang 1079 cm^{-1}. Pada fraksi ini juga terdapat gugus C=C dan C=O yang terlihat pada bilangan gelombang 1643 cm^{-1} dan 1733 cm^{-1}. Dari hasil serapan fraksi 188-195 dapat diduga mengandung senyawa triterpenoid. Hal ini mengacu pada penelitian akhtar (2009) yang menganalisis senyawa pentasiklik triterpenoid dari batang kayu *Mimusops elengi L.* hasil identifikasi FTIR terdapat serapan gugus hidroksil, CH_3 *streching*, C=C, C=O dan juga serapan khas senyawa triterpenoid geminal dimetil yang terdapat bilangan gelombang 3450 cm^{-1}, 2929 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1470 cm^{-1}, 1388 cm^{-1}, 1080 cm^{-1}.

Hasil penelitian ini menunjukkan perbandingan 1:125 menghasilkan 4 noda fraksi tunggal. Fraksi B.3 (38 – 70) memiliki noda berwarna hijau dengan nilai *Rf* 0,15. Sedangkan fraksi D.3 (80 – 102) dan F.3 (157 – 166) memiliki noda

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

berwarna biru dengan nilai *Rf* 0,1 dan 0,125. Dan fraksi H.3 (188 – 195) memiliki noda berwarna merah dengan nilai *Rf* 0,0625. Hasil identifikasi fraksi B.3 (38 – 70), D.3 (80 – 102), dan F.3 (157 – 166) memiliki panjang gelombang 207, 205, dan 204 nm dengan gugus fungsi hidroksil, alkohol, dan geminal dimetil. Sedangkan hasil identifikasi fraksi H.3 (188 – 195) memiliki panjang gelombang 206 nm dengan gugus fungsi hidroksil, alkohol, keton dan geminal dimetil.

4.9 Pemanfaatan Senyawa Steroid dan Tritepenoid dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan alam semesta dan segala isinya agar dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya oleh manusia. Salah satunya adalah tumbuhan alga. Penelitian isolasi senyawa steroid dan triterpenoid ini kita mendapatkan ilmu tentang bagaimana cara isolasi senyawa steroid dan triterpenoid, kandungan-kandungan yang terdapat pada senyawa steroid dan triterpenoid serta juga dapat mengetahui manfaat kandungan yang ada dalam senyawa steroid dan triterpenoid. Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat (QS. Al- Furqaan: 2):

ٱلَّذِي لَهُۥ مُلۡكُ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلۡأَرۡضِ وَلَمۡ يَتَّخِذۡ وَلَدٗا وَلَمۡ يَكُن لَّهُۥ شَرِيكٞ فِي ٱلۡمُلۡكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيۡءٖ فَقَدَّرَهُۥ تَقۡدِيرٗا ٢

"yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya"(QS. Al-Furqaan:2).

فقدره تقديرا *"Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya"* yang maksudnya adalah menetapkan segala sesuatu dari apa yang diciptakanNya sesuai dengan hikmah yang diinginkanNya (Qurtubi, 2009). Ekstraksi alga merah *Eucheuma spinosum* menghasilkan rendemen sebesar 5,0713%. Kandungan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

metabolit sekunder seperti steroid digunakan sebagai pertahanan dari tumbuhan untuk melindungi tubuhnya dari gangguan luar. Karena fungsinya yang digunakan saat dibutuhkan sehingga Allah SWT menciptakannya dengan komposisi yang yang kecil. Pernyataan tersebut menyatakan bahwasannya Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai ukuran. Senyawa-senyawa tersebut diciptakan oleh Allah SWT dan tidak mungkin Allah SWT menciptakan segala sesuatu tanpa ada tujuannya.

وَمَا خَلَقۡنَا ٱلسَّمَآءَ وَٱلۡأَرۡضَ وَمَا بَيۡنَهُمَا بَٰطِلٗاۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ ٱلَّذِينَ كَفَرُواْۚ فَوَيۡلٞ لِّلَّذِينَ كَفَرُواْ مِنَ ٱلنَّارِ ٢٧

"Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka" (QS. Shaad: 27).

Firman Allah SWT وما بينهما بطلا "*Dan apa yang ada di antara keduanya tanpa hikmah,"* yakni tidaklah sia-sia atau hanya senda gurau belaka. Allah SWT menciptakan semua itu untuk menjadi bukti atas kekuasaanNya (*Qudratullah*) (Qurthubi, 2009). Senyawa steroid dan triterpenoid yang berasal dari alga merah merupakan bagian dari ciptaan Allah SWT yang berada di antara langit dan bumi. Allah SWT menciptakannya agar dapat diambil hikmahnya seperti pemanfaatannya dalam berbagai uji aktivitas. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai penghambat kanker prostat (Zhang dkk., 2012), sebagai toksisitas (Diastuti dan Winarsih, 2010), dan senyawa triterpenoid juga dapat digunakan sebagai antimikroba (Ahmad, 2013) dan sebagai anti bakteri (Rumondang, 2013). Pemanfaatan senyawa steroid dan triterpenoid tersebut merupakan bukti kekuasaan Allah SWT.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolasi senyawa steroid dan triterpenoid alga merah *Eucheuma spinosum* menggunakan kromatografi kolom pada perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:75 menghasilkan 1 fraksi steroid, sedangkan perbandingan 1:100 menghasilkan 1 fraksi steroid dan 3 fraksi triterpenoid dan pada perbandingan 1:125 menghasilkan 3 fraksi steroid dan 1 fraksi triterpenoid.
2. Identifikasi menggunakan UV-Vis menunjukkan fraksi 38 – 70, 80 – 102, 157-166 dan 188 – 195 mempunyai panjang gelombang berturut-turut 275, 275, 274, 274 nm. FTIR menunjukkan fraksi 38 – 70 dan 80 – 102 diduga mengandung senyawa steroid karena memiliki serapan gugus hidroksil, CH_3 *stretching*, C=C, dan gugus gem dimetil. Sedangkan fraksi 188 – 195 diduga mengandung senyawa triterpenoid karena memiliki serapan gugus hidroksil, CH_3 *stretching*, C=C, C=O dan gugus gem dimetil.

5.2 Saran

Perlu adanya pemisahan lanjut untuk senyawa steroid dan triterpenoid fraksi petroleum eter alga merah *Eucheuma spinosum* dengan menggunakan variasi perbandingan diameter kolom dan perbandingan komposisi eluen. Pemurnian fraksi tunggal dilakukan dengan rekolom atau KLTP.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, A., Muh. Nasrum M. 2013. Inhibitive Enhancement of Isoniasid Treatment on Mycobacterium Tuberculosis Through Triterpenoid Carbocylic Acid From Red Algae Eucheuma Spinosum. *International Journal of Pharma and Bio Sciences (ISSN 0975-6299.* Vol. 4. No. 2: hal 231-237.

Akhtar, N., Ali, M., dan Alam, M.S. 2009. Pentacyclic Triterpenes from the Stem Bark of *Mimusops Elengi L. Acta Poloniae. Pharmaceutica.* Vol. 66. No. 5: 549-552.

Andriani, Z., Fasya, A. G., Hanapi, A.. 2015. Antibacterial Activity of the Red Algae *Eucheuma cottonii* Extract from Tanjung Coast, Sumenep Madura. Alchemy: Journal of Chemistry. Vol. 4. No. 2: hal 93-100.

Anggadiredja, J., Irawati, S., dan Kusmiyati. 2006. Rumput Laut. Jakarta: Penerbit Swadaya.

Artati, E.K., Irviana, W.H.F., dan Fatimah. 2012. Pengaruh Jenis Konsentrasi Asam terhadap Kinetika Reaksi Hidrolisis Pelepah Pisang (*Musa paradisicia L.*) *Ekuilibrium* Vol.11. No. 2. hal: 73-77.

Asih, I. A. R. A., I W. G. Gunawan, N. M. Desi Ariani. 2010. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Ekstrak N-Heksana Daun Kepuh (*Sterculia Foetida* L.) Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas. *JURNAL KIMIA (ISSN 1907-9850.* Vol.4. No. 2. JULI 2010 : 135-140.

Astuti, M. D., Abdi m. Evi M. K. 2014. Isolasi Steroid dari Fraksi n-Heksana Batang Bajakah Tampala(*Spatholobus littoralis* Hassk.) Prosiding Seminar Nasioal Kimia ISBN: 978-602-0951-00-3.

Atun, S. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konversi Cagar Budaya Borobudur.* Vol.8. No. 2. hal: 53-61.

Azizah, L., 2016. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil KLTP Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosum*). Skripsi tidak diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.

Braithwaite, A., dan Smith, F. J. 1995. Chromatographic Methods. London: Kluwer Academic Publishers.

Cannell, R.J.P. 1998. Natural Produk Isolation. Totowa: Humana Press.

Chaudari, H., Chaudari, F., Patel, M., Pradhan, K. P., dan Upadhyay, M. U,. 2012. A Review on a Flash Chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Development and Technology.* Vol. 2: Hal 80-84.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Diastuti dan Winarsih. 2010. Identifikasi Senyawa Antikanker dari Ekstrak Kloroform Kulit Batang *Rhizopora mucronata*. *Majalah Farmasi Indonesia* 21 (4): 266 – 271

Diharmi, A., Dedi, F., Nuri, A., Dan Endang, S. H.. 2011. Karakteristik Komposisi Kimia Rumput Laut Merah *Eucheuma spinosum* yang Di Budidayakan dari Perairan Nusa Penida, Takalar, dan Sumenep. *Jurnal Berkala Perikanan Terburuk*. ISSN 0126-4265. Vol. 39. No. 2

Etika, B. S., dan Suryelita. 2014. Isolasi Steroid dari Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). Eksakta. Vol. 1. Hal: 61-65.

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

Gritter, R. J. 1991. Pengantar Kromatografi Edisi Kedua. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB

Halilu, M.E., October, N., Balogun, M., Agunu, A., Abubakar, A., Abubakar, M.S. 2013. Isolation and Characterization of Steroid from Petroleum Ether Extract of Stem Bark of *Parinari curatellifolia* Planch ex. Benth. *Journal of Natural Sciences Research.* ISSN 2225-0921. Vol. 3. No. 6: 53-61.

Hanapi, A. A., Fasya, G., Mardiyah, U., Miftahurrahmah. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Antibakteri Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheum spinosum* dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *Jurnal Alchemy*. Vol. 2. No. 2: 126 – 137.

Haniffa. M. A., Kavitha, K. 2012. Antibacterial activity of medicinal herbs against the fish pathogen Aeromonas hydrophila. *Journal of Agricultural Technology.*Vol. 8. No. 1: 205-211.

Harbone, J.B. 1987. Metoda Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terbitan ke-2. Terjemahan Padmawinata, K dan I, Soediro. Bandung: ITB.

Henry, A., Suryadi, Yannuar, A.. 2002. Analisis Spektrofotometri UV-Vis pada Obat Influenza dengan Menggunakan Aplikasi Sistem Persamaan Linier. Proceedings, Komputer dan Sistem Intelejen.

Jasani, P. K., Bhimani, M. K., Dave, M. P. and Ushir, V. Y. 2012. Isolation and Determination of Triterpenoid from Roots of *Hyptis suaveolens*. *PhTechMed*: vol 1/ issue 2/2012. ISSN: 2278-1099.

Kamboj, A., Saluja, K. A.. 2010. Isolation of Stigmasterol and β-Sitosterol from Petroleum Ether Extract of Aerial Parts of Ageratum Conyzoides (Asteraceae). *International Journal of Pharamachy and Pharmaceutical Sciances.* Vol. 3. Issue 1. 94-96.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kholidiyah, M. Fasya, A.G., Nashichuddin, A., Rachmawati, A.. 2010. Uji Toksisitas Ekstrak Rumput Laut Jenis *Euchema spinosum* Perairan Madura Terhadap Larva Udang (*Artemia salina*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test). Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.

Kholidiyah, M.2013. Uji Toksisitas Ekstrak Rumput Laut Jenis *Euchema spinosum* Perairan Madura Terhadap Larva Udang (Artemia salina) Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). skripsi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Kristanti, A. N., Nanik, S. A., Mulyadi, T., Bambang, K.. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga

Kusmiyati, Nurfina, A. Sri, H.. 2011. Isolasi dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Putih Fraksi Etil Asetat. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol. 1. No. 2.

Kutsiyah. 2012. Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik Total dan Kapasitas Antioksidan Alga Merah Eucheuma spinosum dari Pantai Lobak Madura. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: UIN Malang.

Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Flavonoida, dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. Medan: Universitas Sumatera Utara

Mardiyah, U., Fasya, A.G., Fauziyah, B., Amalia, S.. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan terhadap *1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil* (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma Spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.

Miftahurrahmah. 2012. Ekstraksi, Uji aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Pesisir Laut Banyuwangi. *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.

Mukharromah, R. R., dan Suyatno. 2014. Senyawa Metttabolit Sekunder dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*). UNESA *Journal of Chemistry*. Vol. 3. No. 3: 154-158.

Nihlati, I., Abdul, R., Triana, H. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata (roxb) Schlecth*) dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi* diterbitkan. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ningsih, E. M.. Fasya, A. G.. Adi, T. K.. Hanapi, A.. 2015. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid pada Fraksi n-heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*. *Skripsi* tidak diterbitkan UIN maulana Malik Ibrahim Malang.

Novadiana, A., Erwin, Pasaribu, P. S.. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Kloroform dari Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Karehau *Callicarp longifolia Lam.* Jurnal Kimia Mulawarman. Vol. 12. No. 1: 8-13.

Noviyanti, L., Wibowo, F. R., Wartono, M. W., Suharty, N. S., Patiha. 2010. Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom Untuk Pemisahan Trigliserida dari Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk*.). *Skripsi* diterbitkan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

Orlando, A. E., Medina, L. C., Mendes, M. F., dan Nicolaiewsky. M. A. 2009. HETP Evaluation of Structured Packing Distillation Colomn. *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* Vol: 26. No. 03: Hal 619 – 633.

Patel, R. M., Panchal, S. H., Saluja, K. A.. 2016. Identifications of Terpenoids and Steroidal Compounds in *Caryota Urens* Leaves by Colomn Chromatography and Various Spectroscopic Techniques. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* Vol.5. Issue 5: 1610-1622.

Puspita, M.D.A. 2009. Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran UNtuk Pemisahan Komponen Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*). Skripsi. Bogor: Fakultas MIPA IPB.

Pramana, A. R. M., dan Saleh, C., 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid pada Fraksi n-Heksana dari daun kukang (*Lepisanthes amoena* (HASSK.)LEENH.) *Leaves*. *Jurnal Kimia Mulawarman.* Vol. 10. No. 2: 85 – 89.

Prayitno, B., Rosyidah, K., Astuti, D. M.. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid dari Fraksi M 17 Ekstrak Metilena Klorida Kulit Batang Tumbuhan Katsuri *Mangifera casturi.* Prosiding Seminar Nasional & Workshop Perkembangan Terkini Sains Farmasi & Klinik: 390-400.

Qurthubi, S. I.. 2009. *Tafsir al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.

Rahelivao, P. M., Gruner , M., Andriamanantoanina, H., Andriamihaja, B., Bauer, I., Knolker, J. H. 2015. Red Algae (Rhodophyta) from the Coast of Madagascar: Preliminary Bioactivity Studies and Isolation of Natural Products. *Marine Drugs*. Vol 13: Hal 4197- 4216.

Rarasari, A. M., Darius., Kartikaningsih, H. 2016. Daya Hambat Ekstrak *Eucheuma spinosum* dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap *Bacillus careus.* Jurnal Ilmu Perikanan. Vol 7. No. 1: Hal 5-11.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

Rumondang, M., Kusrini, D., Fachriyah, E. 2013. Isolasi, Identifikasi Dan UJi Antibakteri Senyawa Triterpenoid Dari Ekstrak n-Heksana Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*). *Chemistry Info.*Vol. 1. No. 1: Hal 156.

Saeidnia, S. Manayi, A., Gohari, R. A., Abdollahi, M. 2014. The Story of Beta-sitosterol A Review. *European Journal of Medcinal Plants.* Vol. 4. No. 5: 590-609.

Saleh. C.. 2007. Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Steroid dari Akar Tumbuhan Cendana (*Santalum album* Linn). *Disertasi* diterbitkan. Sumatera: Program Doktor Ilmu Kimia Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara

Saha, S., Subrahamanyam, S. V. A., Kodangala, C., dan Shastry, C. S,. 2011. Isolation and Characterization of Triterpenoids and Fatty Acid Ester of Triterpenoid from *Leaves og Bauhinia Variegata. Der Pharma Chemica*. Vol 3. No 4: Hal 28-37.

Saifudin, A,. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori Konsep dan Teknik Pemurnian. Yogyakarta. CV Budi Utama.

Saifudin, A., Suparti, Fuad, A., Dai, M.. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus roseus (L) G.* Don Berbunga Merah. Jurnal Sains dan Teknologi. Vol. 7. No. 2: hal 92-100.

Santhanam, R. S., Subramanian, M., Egigu, C. M., dan Paride, A,. 2014. Pentacyclic Triterpenoids and a Linier Alkane From the Milky Mangrove Tree (*Exoecaria Agallocha L.*) are Toxic to The Larva of Hall\icoverpa Amigera Hubner. (*Lepidoptera : Noctuidae*). *International Journal of Advanced Research.* Vol 2. Issue 6: Hal 1-12.

Sari, P. P., Rita, S. W., Puspawati, M. N.. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi *Samanea saman (Jacq)(Merr)* Sebagai Antibakteri *Eschericia coli.* Jurnal Kimia. Vol 9. N0. 1: hal 27-34.

Sastrohamidjojo, H. 2007. Spektroskopi. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.

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* tidak diterbitkan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Setiyawan, M. I.. Ningsih, R.. Syarifah, U.. Adi, T. K.. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dan Identifikasi menggunakan FT-IR. *Skripsi* tidak diterbitkan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA* Vol. 35. No. 1. hal: 77-83.

Shihab, Q.M.. 2002. Tafsir Al-Mishbah. Jakarta: Lentera Hati.

Silverstein , R.M. 1986. Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik. Edisi ke-4. Terjemahan A.J. Hartomo dan Amy Victor Purba. Jakarta: Erlangga.

Sholikhah, L. N. A.. 2016. Isolasi Senyawa Steroid dari Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma spinosum* Menggunakan Metode Kromatografi Kolom. *Skripsi* tidak diterbitkan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Sulastry, T., dan Kurniawati, N.. 2010. Isolasi Steroid dari Ekstrak Metanol Daun Bluntas (*Plucea Indica L*). *Jurnal Chemica*. Vol. 11. No. 1: 52-56.

Sultana, S., Rahman, S. M., Hossain, A. Md., Hossain, K. Md., Rasyid, A. M.. 2009. Phitochemical and Biological Investigations of *Ixora lutea Hutch. Journal Pharmachy Science.* Vol. 8. No. 1: 17-21.

Susetyo, E. 2015. Isolasi Golongan Senyawa Triterpenoid Fraksi Etil Asetat Alga Merah *Eucheuma spinosum* Hasil Ekstrak Metanol dan Identifikasinya Menggunakan FTIR. Skripsi tidak diterbitkan. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Swathi, G., Srividya, A., Ajitha, A., Rao M. U. V,. 2015. Review on : Flash Chromatography. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* Vol 4: Hal 281-296.

Vallinayagam, K., Arumugam, R., Kannan, R., Thirumaran, G., Anantharaman, P.. 2009. Antibacterial Activity of Some Selected Seaweeds from *Pudumadam Coastal Regions.*Global Journal of Pharmacology. Vol. 3. No. 1:50-52.

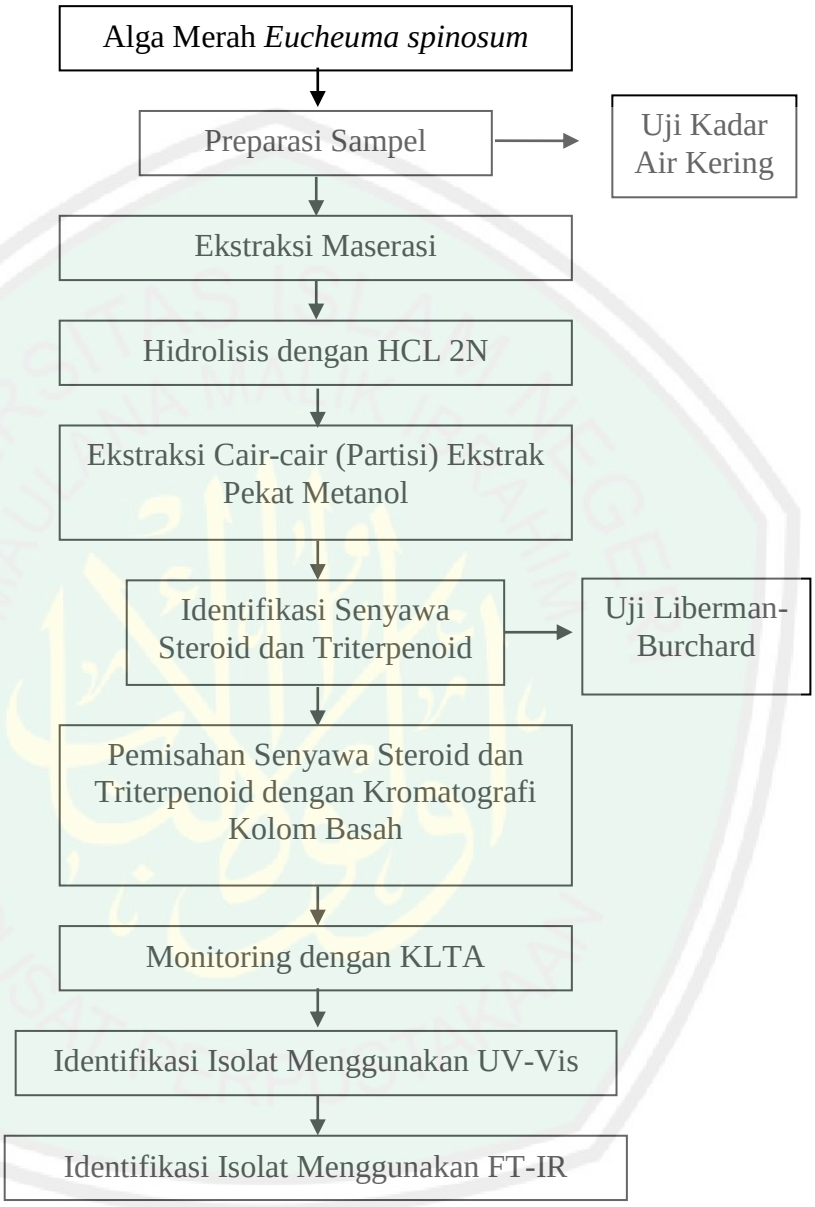
Widyawati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. Jurnal Gradien. Vol. 2. No. 1: hal 116-122.

Zhang, J. L, dkk., 2012. Steroids with Inhibitory activity diversity of marine alga *Tydemania expeditions*. *Fitoterapia* 83: 973 – 978

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 2 Skema Kerja

1. **Preparasi sampel**

Alga merah kering

- diambil 300 gram sampel kering
- dihaluskan menggunakan blender
- diayakdenganayakan 60 – 250 mesh

Serbuk alga merah

2. **Analisa kadar air**

Alga merah (*Eucheuma spinosum*)

- dimasukkan kedalam cawaan yang beratnya telah konstan
- ditimbang 5 gram
- dikeringkan di dalam oven pada suhu 100-105 ^{o}C selama sekitar 15 menit
- disimpan dalam desikator selama 10 menit
- ditimbang cawan dan sampel
- dipanaskan kembali sampel dalam oven selama 15 menit
- didiginkan kembali dalam desikator selama 10 menit
- ditimbang kembali sampel dan cawan
- diulangi sampai berat konstan
- dihitung kadar air dengan menggunakan rumus berikut

  kadar air = $\frac{(b-c)}{(b-a)}$ x 100 %

  keterangan:

  a = beratkonstancawankosong

  b = beratcawan + sampelsebelumdikeringkan

  c = beratkonstancawan + sampelsetelahkering

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Ekstrasi maserasi

300 gram Serbuk Alga Merah

- dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 1000 mL
- ditambahkan metanol 1500 mL
- diaduk menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 3 jam
- didiamkan selama 24 jam
- disaring menggunakan corong *buchner*
- dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali

Filtrat

- dipekatkan dengan menggunkan *rotary evaporator*
- dialiri gas N_2

Ekstrak metanol

- ditimbang
- dihitung randemennya

Hasil

Ampas

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Hidrolisis dan Partisi

Ekstrak metanol alga merah

- diambil 2,5 gram
- dimasukkan dalam beaker glass
- dihidrolisis dengan menambahkan 5 ml asam klorida
- ditambahkan natrium bikarbonat
- ditambahkan dengan pelarutmetanol:petroleum eter (1:1)
- diekstraksi
- dilakukanbertahap (3x25 mL)

Fraksi organik | Fraksi air

- dipekatkan dengan *rotary evaporator*
- ditimbang massa yang dihasilkan
- di hitung rendemennya

Hasil

5. Uji fitokimia

Fraksi petroleum eter ekstrak metanol alga merah

- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat
- ditambahkan 1 – 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6. Kromatografi kolom

0,1 gr ekstrak pekat Petroleum eter

- diaktivasi 10 gr silika gel G-60 pada suhu 110°C selama 2 jam
- didinginkan dalam desikator selama 15 menit
- kolom diisi dengan glass wool pada bagian bawah dan ditambahkan campuran eluen n-heksana : etil asetat (17:3)
- dimasukkan silika gel dalam beaker glass
- ditambahkan campuran eluen n-heksana : etil asetat (17:3), diaduk hingga homogen dan tidak ada gelembung udara
- dimasukkan bubur silika dalam kolom sambil diketok-ketok dan didiamkan selama 24 jam
- sampel ditambahkan eluen n-heksana : etil asetat (17:3) 1 mL lalu dipipet ke dalam kolom
- dilakukan proses elusi dan ditampung setiap 2 mL dalam botol vial (diulangi perlakuan di atas menggunakan rasio sampel dan silika gel dengan perbandingan 1:75 dan 1:125)

Hasil

7. Monitoring senyawa dengan menggunakan KLTA

Isolat

- ditotolkan pada jarak 1 cm pada pelat yang telah diaktifasi
- dielusi dengan menggunakan n-heksana:etilasetat (17:3) yang telah dijenuhkan sampai tanda batas
- dihitung nilai Rf nya
- disemprot dengan reagen liebermann-buchard
- diperiksa noda menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

8. Identifikasi menggunakan UV-Vis

Isolat hasil isolasi

- dimasukkan pelarut n-heksana ke dalam kuvet (setengahnya) sebagai blanko
- dilarutkan isolat sebanyak 2 mg dengan pelarut n-heksana, dimasukkan ke dalam kuvet
- dianalisis menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 200 – 800 nm

Hasil

9. Identifikasi menggunakan FT-IR

Isolat hasil isolasi

- digerus sampel dengan serbuk KBr dalam mortar agate
- dipres campuran selama 10 menit dengan tekanan 80 torr lalu divakum
- dipindahkan pelet yang terbentuk ke dalam holder
- dianalisis menggunakan FT-IR

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 3. Pembuatan Larutan

1. **Larutan HCl 2 N**

$\boldsymbol{\rho}$ HCl	= 1,19 g/mL
Konsentrasi	= 37%
BM HCl	= 36,5 g/mol
n	= 1 (jumlahmol ion H^+)

Pembuatan HCl 2 N dari HCl 37%

Dimisalkan terdapat 1000 mL larutan HCl 37% maka dapat dicari massa HCl dari densitas HCl sebesar 1,19 g/cm^3

$$\rho = \frac{massa}{volume}$$

massa = 1,19 *g/cm*^{3} *x* 1000 mL

massa = 1190 gram

penentuan jumlah gram HCl

jumlah gram HCl = *massa HCl x konsentrasi*

=1190 gram x 37%

= 440,3 gram

Penentuan mol dari larutan stok HCl 37%

$$n = \frac{massa}{Mr}$$

$$n = \frac{440{,}3\ gram}{36{,}5\ g/mol}$$

n = 12, 063 mol

penentuan konsentrasi larutan stok 37%

$$M\ HCl\ 37\% = \frac{12{,}063\ mol}{1L}$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

M HCl 37% = 12,063 M

1M HCl = 1 N HCl

12,063 M = 12,063 M

$N_1 . V_1 = N_2 . V_2$

12,063 N . V_1 = 2N . 100 mL

V_1 = 16,58 mL

Adapun prosedur pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 16,58 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang berisi 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

2. Larutan $NaHCO_3$ jenuh

Kelarutan $NaHCO_3$ sebesar 9,99 gr dalam 100 mL akuades. Sehingga untuk membuat larutan $NaHCO_3$ jenuh digunakan $NaHCO_3$ dengan berat >9,99 gr (sampai terdapat endapan padatan yang tidak larut). Lalu disaring larutan tersebut untuk memisahkan residu dan filtrate sehingga didapatkan larutan $NaHCO_3$ jenuh.

3. Reagen Liberman Burchard

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 4.Ujian Kadar Air

Contoh penentuan kadar air alga merah *Eucheuma spinosum* dilakukan dengan perhitungan sebagai berikut.

% kadar air = $\frac{58,8194-58,57,87}{58,8194-56,3146}$ x 100% = 9,6095%

∑ kadar air = $\frac{9,6095+9,0639+9,2772}{3}$ = 9,3168 %

Penentuan kadar air dilakukan dengan cara yang sama sesuai contoh. Hasil perhitungan dirangkum dalam Tabel L.4.1, L.4.2, dan L.4.3.

Tabel L.4.1 Berat cawan kosong

Ulangan	Berat Cawan Kosong (gram)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	56,3156	53,7831	62,3958
Ulangan 2	56,3142	53,7807	62,3951
Ulangan 3	56,3142	53,7807	62,3951
Berat Rata-rata (gram)	56,3146	53,7815	62,3953

Tabel L.4.2 Berat Cawan + Sampel (2,5 gram)

Ulangan Cawan	Berat Cawan + Sampel (gram)
Cawan 1	58,8194
Cawan 2	56,2804
Cawan 3	64,8982

Tabel L.4.3 Cawan + Sampel setelah dioven

Ulangan	Berat Cawan + Sampel		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	58,5853	56,0985	64,6806
Ulangan 2	58,5754	56,0539	64,6587
Ulangan 3	58,5754	56,0539	64,6587
Berat Rata-rata (gram)	58,5758	56,0687	64,6666

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 5 Perhitungan Rendemen

Contoh perhitungan rendemen pada sampel

Berat ekstrak pekat = 15,214 gram

Berat sampel = 300 gram

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

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

$$= 5{,}0713\%$$

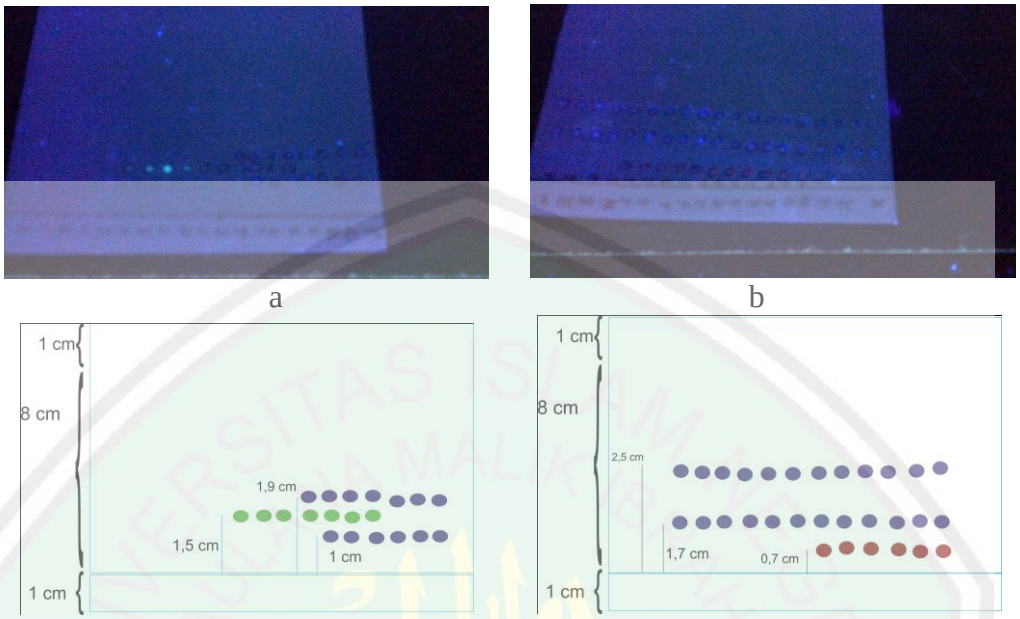
Perhitungan rendemen fraksi petroleum eter dilakukan dengan cara yang sama sesuai contoh. Hasil perhitungan rendemen dirangkum dalam Tabel L.5.1.

Tabel L.5.1 Hasil Perhitungan Rendemen Sampel

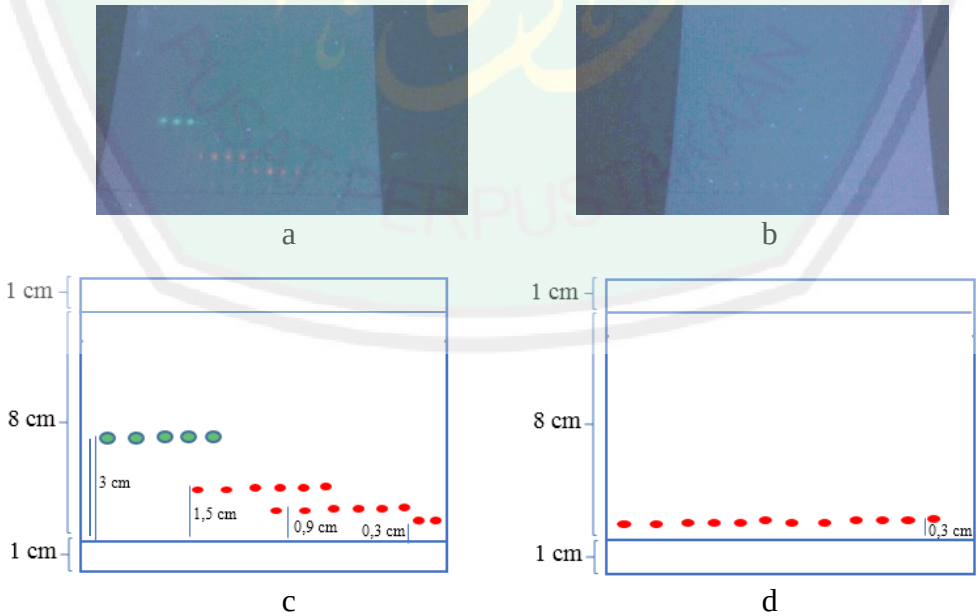
Ekstrak	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)	Rendemen (%)
Metanol	300	15,214	5,0713
Fraksi petroleum eter	6,5072	1,5014	23,07

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 6 Hasil Monitoring dengan KLTA

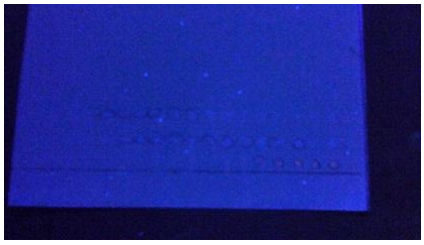


Gambar L.6.1 a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 135 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 1 – 135 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:75 vial 110 – 200

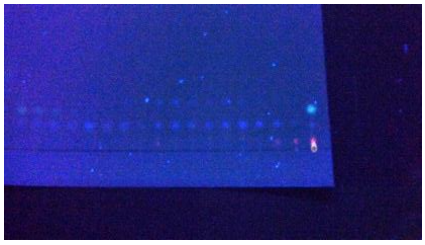


Gambar L.6.2 a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 1 – 90 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 95 – 200

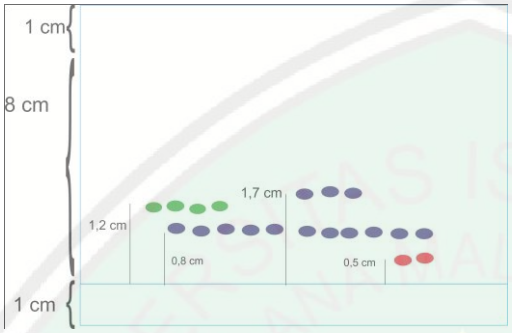
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



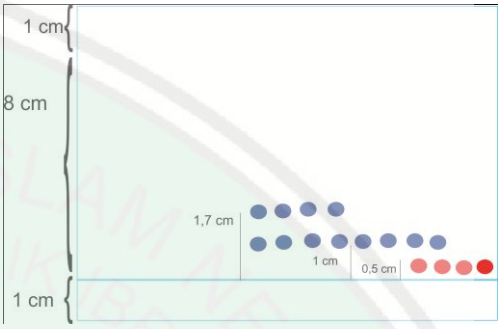
a



b



c



d

Gambar L.6.3 a. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:120 vial 27 – 187 b. Hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 110 – 200 c. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 27 – 187 d. Visualisasi hasil KLTA kromatografi kolom 1:100 vial 110 – 200

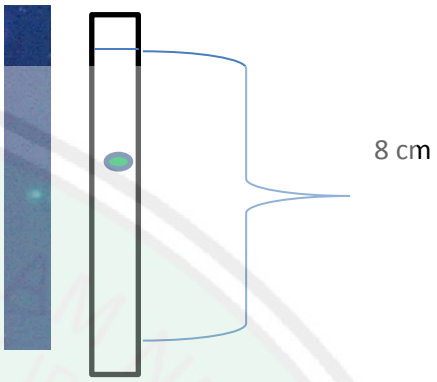
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 7 Perhitungan *Rf*

Contoh perhitungan nilai *Rf* hasil monitoring kromatografi kolom variasi perbandingan rasio sampel dan silika gel

Fraksi 38 – 70

Rf noda 1 = $\frac{1{,}2\,cm}{8\,cm}$ = 0,15



Penentuan *Rf* dilakukan dengan cara yang sama sesuai contoh. Hasil perhitungan dirangkum dalam Tabel L.7.1, L.7.2, dan L.7.3.

Tabel L.7.1 Hasil kromatografi kolom perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:75

No	Fraksi	Warna	Jarak noda (cm)	Jarak eluen (cm)	*Rf*
1	A.1 (1 – 34)	-	-	-	-
2	B.1 (35 – 61)	Hijau	1,5	8	0,1875
3	C.1 (62 – 69)	Hijau	1,9	8	0,2375
		Biru	1,5	8	0,1875
4	D.1 (70 – 80)	Biru	1	8	0,125
		Biru	1,9	8	0,2375
		Hijau	1,5	8	0,1875
5	E.1 (81 – 135)	Biru	1,2	8	0,15
		Biru	1,9	8	0,2375
6	F.1 (140 – 185)	Biru	1,7	8	0,2125
		Biru	2,5	8	0,3125
		Merah	0,7	8	0,0875
7	G.1 (186 – 200)	Merah	1,7	8	0,2125
		Merah	2	8	0,25

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel L.7.2 Hasil kromatografi kolom perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:100

No	Fraksi	Warna	Jarak noda (cm)	Jarak eluen (cm)	*Rf*
1	A.2 (1 – 14)	-	-	-	-
2	B.2 (15 – 22)	Hijau	2,9	8	0,3625
3	C.2 (23 – 44)	Hijau	2,3	8	0,2875
		Merah	1,4	8	0,175
		Merah	0,9	8	0,1125
4	D.2 (45 – 60)	Merah	0,9	8	0,1125
5	E.2 (61 – 72)	Merah	0,9	8	0,1125
		Merah	0,3	8	0,0375
6	F.2 (73 – 164)	Merah	0,3	8	0,0375
7	G.2 (165 – 188)	Merah	0,25	8	0,035

Tabel L.7.3 Hasil kromatografi kolom perbandingan rasio sampel dan silika gel 1:125

No	Fraksi	Warna	Jarak noda (cm)	Jarak eluen (cm)	*Rf*
1	A.3 (1 – 37)	-	-	-	-
2	B.3 (38 – 70)	Hijau	1,2	8	0,15
3	C.3 (71 – 79)	Hijau	1,2	8	0.15
		Biru	0,8	8	0,1
4	D.3 (80 – 102)	Biru	0,8	8	0,1
5	E.3 (103 – 156)	Biru	1	8	0,125
		Biru	1,7	8	0,2125
6	F.3 (157 – 166)	Biru	1	8	0,125
7	G.3 (167 – 187)	Biru	1	8	0,125
		Merah	0,5	8	0,0625
8	H.3 (188 – 195)	Merah	0,5	8	0,0625

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 8 Perhitungan Resolusi

Contoh perhitungan nilai resolusi hasil KLTA dilakukan berdasarkan persamaan berikut

Nilai resolusi hasil monitoring kromatografi kolom variasi sampel dan silika gel 1:125

Fraksi 38 – 70

$$Rs = \frac{0,7}{(0,2+0,3)\sqrt{2}} = 1$$

Penentuan resolusi yang lain dilakukan dengan cara yang sama sesuai contoh. Hasil perhitungan dirangkum dalam Tabel L.8.1, L.8.2, dan L.8.3.

Tabel L.8.1. Resolusi kolom variasi sampel dan silika gel 1:75

No	Jarak antar noda (cm)	Lebar noda 1 (cm)	Lebar noda 2 (cm)	Resolusi
1	0,5	0,2	0,2	0,89

Tabel L.8.2 Resolusi kolom variasi sampel dan silika gel 1:100

No	Jarak antar noda (cm)	Lebar noda 1 (cm)	Lebar noda 2 (cm)	Resolusi
1	1,7	0,4	0,4	1,5
2	0,8	0,3	0,3	0,81
3	0,7	0,3	0,3	0,71

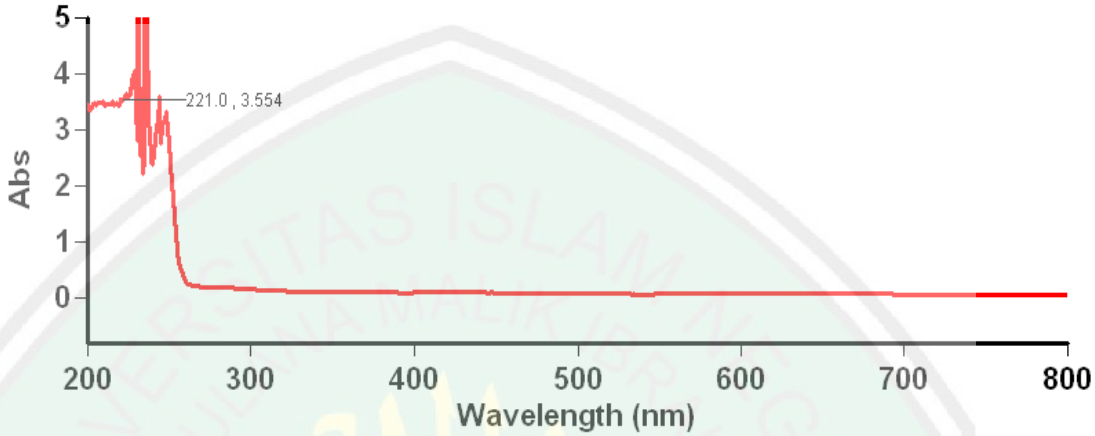
Tabel L.8.3 Resolusi kolom perbandingan sampel dan silika gel 1:125

No	Jarak antar noda (cm)	Lebar noda 1 (cm)	Lebar noda 2 (cm)	Resolusi
1	0,7	0,2	0,3	1
2	0,7	0,2	0,2	1,25
3	0,9	0,3	0,3	1,07
4	0,8	0,3	0,2	1,14

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 9 Panjang Gelombang Maksimum Pelarut

1. Panjang gelombang maksimum etil asetat



Scan Analysis Report

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

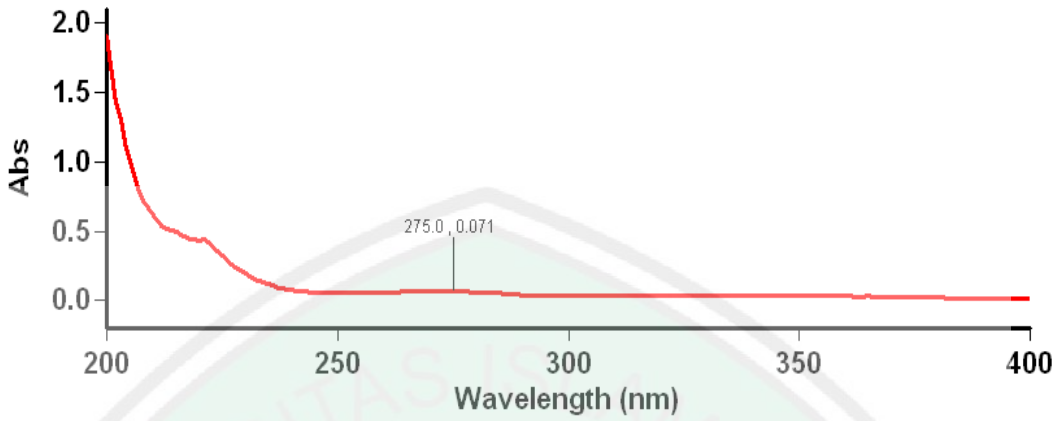
Sample Name: Etil Asetat

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Panjang gelombang maksimum *n*-Heksana



Scan Analysis Report

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

Sample Name: n-Heksana

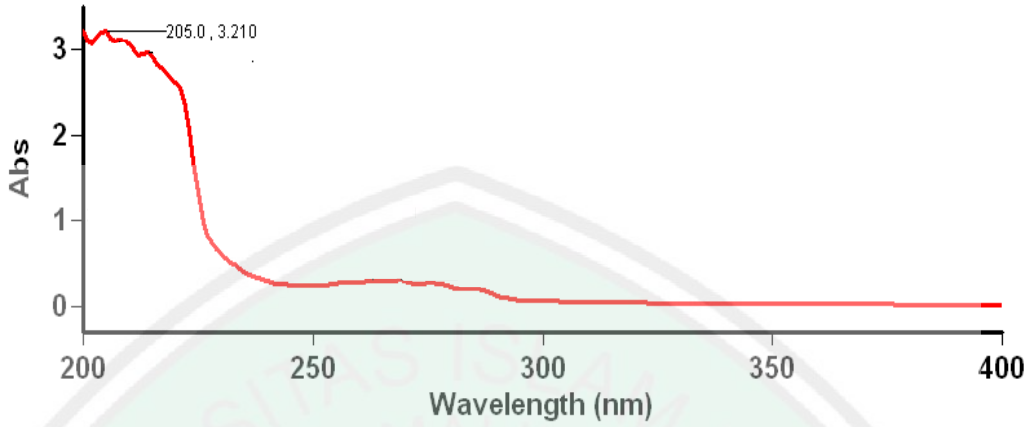
```
Collection Time                    3/7/2017 10:07:17 AM


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
```

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Panjang gelombang maksimum etanol



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 07 Mar 10:04:39 AM 2017
Method:
Batch: D:\permana\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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel L.9.1 Panjang gelombang maksimum pelarut

Pelarut	λ (nm)	Pelarut	λ (nm)
Asetonitril, water	190	kloroform	240
Isooktana, sikloheksana	195	Etilasetat	260
Heksana	201	Dimetilformamide	270
Metanol, etanol	205	Asam asetat	270
1,4-dioksan	215	Benzene	280
dietil eter	220	Toluene	285
Gliserol	230	Piridin	300
diklorometana	233	Aseton	330

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG