

**OPTIMASI LAJU ALIR DAN FASE GERAK PADA PEMISAHAN  
SENYAWA BERBERIN DALAM TANAMAN ANTING-ANTING  
(*Acalypha Indica* Linn) DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR  
KINERJA TINGGI (KCKT)**

SKRIPSI

Oleh:  
**ACHMAD ZAKY FARID RAHMAWAN**  
NIM. 13630018



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

**OPTIMASI LAJU ALIR DAN FASE GERAK PADA PEMISAHAN  
SENYAWA BERBERIN DALAM TANAMAN ANTING-ANTING  
(*Acalypha Indica* Linn) DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR  
KINERJA TINGGI (KCKT)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ACHMAD ZAKY FARID RAHMAWAN**  
NIM. 13630018

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**

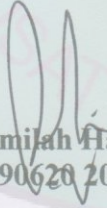
**OPTIMASI LAJU ALIR DAN FASE GERAK PADA PEMISAHAN  
SENYAWA BERBERIN DALAM TANAMAN ANTING-ANTING  
(*Acalypha Indica* Linn) DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR  
KINERJA TINGGI (KCKT)**

**SKRIPSI**

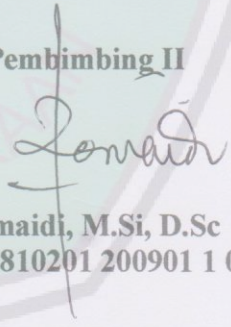
Oleh:  
**ACHMAD ZAKY FARID RAHMAWAN**  
NIM. 13630018

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 16 Maret 2018


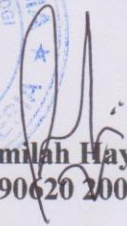
Pembimbing I

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

Pembimbing II

  
**Romaidi, M.Si, D.Sc**  
NIP. 19810201 200901 1 019

Mengetahui,  
**Ketua Jurusan Kimia**

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



**OPTIMASI LAJU ALIR DAN FASE GERAK PADA PEMISAHAN  
SENYAWA BERBERIN DALAM TANAMAN ANTING-ANTING  
(*Acalypha Indica* Linn) DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR  
KINERJA TINGGI (KCKT)**

SKRIPSI

Oleh:  
**ACHMAD ZAKY FARID RAHMAWAN**  
NIM. 13630018

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si.)  
Tanggal: 16 Maret 2018

<b>Penguji Utama</b>	<b>: Rachmawati Ningsih, M.Si.</b> NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
<b>Ketua Penguji</b>	<b>: Armeida Dwi Ridhowati M., M.Si</b> NIDT. 19890527 20160801 2 071	(.....)
<b>Sekretaris Penguji</b>	<b>: Elok Kamillah Hayati, M.Si</b> NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
<b>Anggota Penguji</b>	<b>: Romaidi, M.Si, D.Sc</b> NIP. 19810201 200901 1 019	(.....)

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Kimia



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



## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Achmad Zaky Farid Rahmawan

NIM : 13630018

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Optimasi Laju Alir dan Fase Gerak pada Pemisahan Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

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, 20 Maret 2018

Yang membuat pernyataan,



Achmad Zaky Farid R.  
NIM. 13630018

**MOTTO**

**“IKHLAS, SABAR, DAN DO’A”**

**Tetap semangat dalam menjalani hidup.**

**Jalani semua ujian dan cobaan dengan rasa ikhlas dan sabar.**

**Inshaallah hidup akan selalu terasa bahagia.**



## KATA PENGANTAR



Alhamdulillahirobbil ‘Alamin, segala puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, dimana dengan limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul **“Optimasi Laju Alir dan Fase Gerak pada Pemisahan Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L) dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) dengan semaksimal mungkin, walaupun masih jauh dari kesempurnaan. Semoga dari apa yang penulis upayakan ini dapat bermanfaat bagi orang di sekitar, menjadikan ilmu yang bermanfaat dan berkah. Aamiin.

Selama proses penulisan tugas akhir skripsi ini penulis mendapat banyak bimbingan, nasihat, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang tua dan keluarga tercinta yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa dan dukungan baik moril maupun material sehingga penyusunan tugas akhir ini dapat terselesaikan.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, bantuan moril serta material kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir.
3. Ibu Armeida Dwi Ridhowati, M.Si, selaku dosen konsultan yang selalu memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

4. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si dan Bapak Romaidi, M.Si, D.Sc atas masukan dan sarannya skripsi ini bisa menjadi lebih baik.
5. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
6. Teman-teman tim riset Kimia Analisis Fitofarma 2017 dan Kimia 2013.
7. Mbak Susilowati, S.Si., Mbak Isnaeni, S.Si, dan Mas Chalid Al Ayyubi selaku laboran Kimia UIN Malang.
8. Rekan-rekan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Surabaya untuk analisis dan optimasi metode KCKT.
9. Ibu Elok Kamilah Hayati, M,Si, selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Prof H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Bersama doa dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penulis, mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Amiin.

Malang, 20 Maret 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Batasan Masalah .....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kandungan Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-anting .....	8
2.2 Isolasi Senyawa Berberin .....	11
2.3 Identifikasi Senyawa Berberin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	14
2.3.1 Kriteria Optimasi KCKT .....	20
2.4 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam .....	21
<b>BAB III METODOLOGI</b>	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	23
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	23
3.2.1 Alat.....	23
3.2.2 Bahan.....	23
3.3 Rancangan Penelitian .....	23
3.4 Tahapan Penelitian .....	24
3.5 Cara Kerja .....	24
3.5.1 Preparasi Sampel .....	24
3.5.2 Ekstraksi Sampel .....	25
3.5.3 Fraksinasi Ekstrak Kasar Etanol menggunakan Etil Asetat .....	25
3.5.4 Uji Reagen Senyawa Alkaloid .....	26
3.5.5 Identifikasi senyawa berberin menggunakan KLTA.....	26
3.5.6 Identifikasi Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-Anting ( <i>Acalypha Idica</i> Linn) menggunakan KCKT .....	27
3.5.6.1 Preparasi Larutan Stok Standard Berberin Klorida .....	27
3.5.6.2 Pembuatan Fase Gerak.....	27

3.5.6.3 Optimasi Pemisahan Menggunakan KCKT.....	27
3.5.6.4 Uji Identifikasi .....	28
3.5.6.5 Penentuan Kuantitatif.....	28
3.5.6.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standard Berberin Klorida .....	28
3.5.6.5.2 Penentuan Kadar Berberin dalam Tanaman Anting-Anting .....	28
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Preparasi Sampel.....	29
4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif .....	30
4.2.1 Fraksinasi dengan Pelarut Etil Asetat.....	31
4.3 Uji Fitokimia Hasil Fraksi Etil Asetat.....	32
4.4 Identifikasi Senyawa Berberin menggunakan KLTP.....	34
4.5 Optimasi Laju Alir dan Fase Gerak pada Pemisahan Senyawa Berberin	36
4.6 Penentuan Kadar Senyawa Berberin dalam Sampel .....	43
4.7 Relevansi Hasil Temuan dengan Perspektif Islam.....	46
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	49
5.2 Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Anting-Anting ( <i>Acalypha indica</i> L.) .....	8
Gambar 2.2	Struktur kimia senyawa Berberin .....	10
Gambar 2.3	Kromatogram berberin dari ekstrak metanol.....	16
Gambar 2.4	Kromatogram Berberin dari Ekstrak <i>Berberis Vulgaris</i> L.....	17
Gambar 2.5	Kromatogram berberin dari obat herbal .....	18
Gambar 2.6	Kromatogram Berberin dari <i>B. Aquifolium</i> .....	18
Gambar 4.1	Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat dengan Reagen Dragendof	32
Gambar 4.2	Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat dengan Reagen Meyer.....	33
Gambar 4.3	Hasil KLTA Standar Berberin dan Fraksi Etil Asetat dengan Eluen Sikloheksana:Toluena:Dietilamin (75:15:10).....	35
Gambar 4.4	kromatogram Standar Berberin pada Kondisi Eluen Asetonitril : Buffer TFA (0,1%) (60:40 v/v) dengan Laju Alir 0,6 mL/min .....	37
Gambar 4.5	kromatogram Standar Berberin pada Kondisi Eluen Asetonitril : Buffer TFA (0,1%) (60:40 v/v) dengan Laju Alir 0,8 mL/min .....	38
Gambar 4.6	kromatogram Standar Berberin pada Kondisi Eluen Asetonitril : Buffer TFA (0,1%) (60:40 v/v) dengan Laju Alir 1,0 mL/min .....	38
Gambar 4.7	kromatogram Standar Berberin pada Kondisi Eluen Metanol : Buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan Laju Alir 0,6 mL/min.....	39
Gambar 4.8	kromatogram Standar Berberin pada Kondisi Eluen Metanol : Buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan Laju Alir 0,8 mL/min.....	39
Gambar 4.9	kromatogram Standar Berberin pada Kondisi Eluen Metanol : Buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan Laju Alir 1,0 mL/min.....	40
Gambar 4.10	Kromatogram fraksi etil asetat pada Kondisi Eluen Metanol : Buffer TFA (0,1%) (50 v/v) dengan Laju Alir 1,0 mL/min pada Panjang gelombang 345 nm.....	44



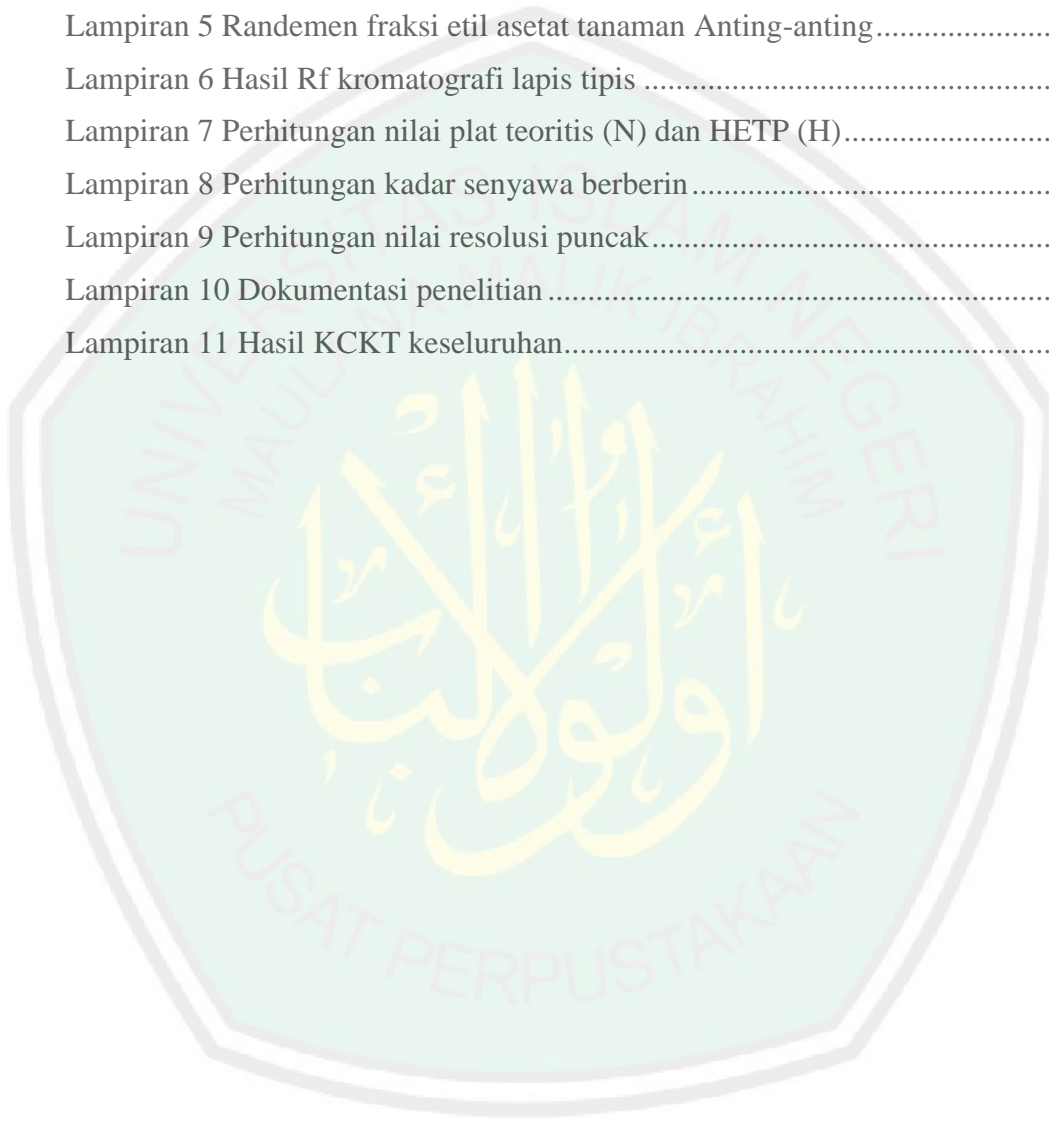
## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil penelitian pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT ....	15
Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia masing-masing fraksi etil asetat dan ekstrak kasar alkaloid .....	32
Tabel 4.2 Hasil optimasi laju alir dan fase gerak .....	37
Tabel 4.3 Hasil Persamaan Kurva Standar .....	43



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja .....	52
Lampiran 2 Digram alir.....	53
Lampiran 3 Pembuatan Larutan dan Reagen .....	58
Lampiran 4 Randemen ekstrak etanol 80% tanaman Anting-anting .....	62
Lampiran 5 Randemen fraksi etil asetat tanaman Anting-anting.....	63
Lampiran 6 Hasil Rf kromatografi lapis tipis .....	64
Lampiran 7 Perhitungan nilai plat teoritis (N) dan HETP (H).....	65
Lampiran 8 Perhitungan kadar senyawa berberin.....	68
Lampiran 9 Perhitungan nilai resolusi puncak.....	69
Lampiran 10 Dokumentasi penelitian .....	70
Lampiran 11 Hasil KCKT keseluruhan.....	72



## ABSTRAK

Rahmawan, A. Z. F. 2018. **Optimasi Laju Alir dan Fase Gerak pada Pemisahan Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si ; Pembimbing II: Romaidi, M.Si, D.Sc ; Konsultan: Armeida Dwi Ridhowati, M.Si

---

**Kata kunci:** Tanaman Anting-anting (*Acalypha Indica* Linn), Berberin, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Tanaman Anting-anting (*Acalypha Indica* Linn) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Tanaman ini berpotensi sebagai obat antimalaria, antidiabetes, dan antitoksik. *Acalypha Indica* Linn diketahui mengandung senyawa golongan alkaloid isokuinolin berberin. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi optimal pemisahan dan menentukan kadar berberin yang ada dalam tanaman anting-anting menggunakan KCKT. Sampel dalam penelitian ini di ekstraksi menggunakan metode maserasi dan partisi. Optimasi parameter sistem KCKT yang dilakukan yakni pada laju alir eluen (0,6 mL/min, 0,8 mL/min, 1,0 mL/min) dan jenis fase gerak (metanol: TFA 0,1% (50:50 v/v) dan asetonitril: TFA (0,1%) (60:40 v/v). Tipe kolom yang digunakan C18 (ODS) 4,6 x 250 mm, 5 µm dengan metode isokratik pada panjang gelombang 290 nm, 315 nm, dan 345 nm. Kondisi optimal yang diperoleh yakni pada laju alir 1 mL/min, eluen metanol: TFA 0,1% (50:50 v/v) pada panjang gelombang 345 nm. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar senyawa berberin dalam tanaman anting-anting sebesar 11,82030 µg/mL pada fraksi etil asetat.



## ABSTRACT

Rahmawan, A. Z. F. 2018. **Optimization of Flow Rate and Mobile Phase on the Separation of Berberine Compounds in Anting-Anting Plants (*Acalypha Indica* Linn) Plants use High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method.** Thesis. Chemistry Department of Science and Technology Faculty of Maulana Malik Ibrahim Malang State Islamic University of Malang. Supervisor I : Elok Kamilah Hayati, M.Si. Supervisor II : Romaidi, M.Si, D.Sc. Consultant : Armeida Dwi Ridhowati, M.Si

---

**Keynotes:** Anting-Anting Plants (*Acalypha Indica* Linn), Berberine, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Anting-Anting Plants (*Acalypha Indica* Linn) is a plant widely found in Indonesia. This plant has potential as an antimalarial, antidiabetic, and antitoxic drug. *Acalypha Indica* Linn contains the group of isokuinoline berberine alkaloids. This study was conducted to determine the optimum conditions of separation and determination the berberine level existed on Anting-Anting plants using the HPLC's method. Sample on this research was extracted by maceration and partition method. The optimization of HPLC system parameters was performed at different flow rate of eluent (0.6 mL/min, 0.8 mL/min, 1.0 mL/min) and mobile phase (methanol: TFA 0.1% (50:50 v/v) and Acetonitrile: TFA 0.1% (60:40 v/v)). The HPLC used C18 (ODS) 4.6 x 250 mm, 5  $\mu$ m column with isocratic method at various wavelengths (290 nm, 315 nm, and 345 nm). The optimum condition was obtained with flow rate 1 mL/min, mobile phase methanol: TFA 0.1% (50:50 v/v) at wavelength 345 nm. The result showed that the berberine compound level on Anting-anting plants was 11,82030  $\mu$ g/mL at ethyl acetate fraction.

### الملخص

رحماوان.ا.ز.ف. ٢٠١٨. تحسين معدل تدفق المرحلة على فصل مركب البربرين في النباتات القرط (*Acalypha Indica Linn*) باستخدام طريقة العالية الأداء اللوني السائل (KCKT). المشرفة ١: ايلوك كاملة هاياتي، الماجستير، المشرف ٢: رامائيدي، الماجستير، D.Sc. المنتشرة: ارمائيد دوي ريبضاواي، الماجستير.

الكلمات المفتاحية: النباتات القرط (*Acalypha Indica Linn*)، البربارين، العالية الأداء اللوني السائل (KCKT)

كان النباتات القرط (*Acalypha Indica Linn*) ينبت كثيرا في الأرض إندونيسيا. والنباتات القرط تستطيع أن تكون دواء للمقاوم الملاريا وللمقاوم السكري وللمقاوم السام. والنباتات القرط (*Acalypha Indica Linn*) تحتوي على مركبات الدرجة الكالويد إسوكوبولين بربرين. والهدف من هذا البحث هو للتعريف الظروف المثلى من الانفصال وتحديد مستويات بربرين الموجودة في النبات اقرأ باستخدام KCKT. العينة في هذه الدراسة في استخراج باستخدام طريقة النق أقسام و مفصولة طريقة طبقة. التحسين من العلامات النظام KCKT والتي تتم في معدل تدفق إوينت (0.6 مل / دقيقة، 0.8 مل / دقيقة، 1.0 مل / دقيقة) والمرحلة المتنقلة (الميثانول: TFA 0.1% (50:50) وأسيتونتريل: TFA 0.1% (60:40)). تم استخدام العمود C18 (أودس) 4.6 × 250 مم، 5 ميكرون مع أساليب إيسوكراتيكية في أطوال موجية 290 نانومتر، 315 نانومتر، و 345 نانومتر. تم الحصول على الحالة المثلى مع معدل تدفق 1 مل / دقيقة، المرحلة المتنقلة الميثانول: TFA 0.1% (50:50) (v / v) في الطول الموجي 345 نانومتر. وأظهرت النتائج أن مستوى مركب البربارين على نباتات أنتينغ-أنتينغ كان 11,82030 µg/مل و في جزء أسيتات الإيثيل.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan sebagai salah satu makhluk Allah SWT memiliki banyak sekali peran dalam kehidupan manusia, diantaranya sebagai sumber penghasil oksigen, makanan, serta obat-obatan. Obat-obatan yang berasal dari tumbuhan atau obat herbal mulai banyak digunakan sebagai obat alternatif karena harganya yang terjangkau dan ketersediaannya di alam yang masih melimpah serta efek samping yang tidak terlalu berbahaya. Allah SWT berfirman dalam QS An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

*Artinya; Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.*

Berdasarkan ayat tersebut, tersirat perintah untuk memikirkan ciptaan Allah SWT yang berupa tumbuh-tumbuhan yang ditumbuhkan dari tanah dengan bantuan air hujan. Sehingga tumbuhan tersebut dapat membawa banyak manfaat bagi kehidupan manusia. Salah satu tumbuhan tersebut adalah tanaman anting-anting yang dapat berfungsi sebagai obat herbal.

Tanaman anting-anting (*Acalypha australis* L.) merupakan tanaman gulma yang belum banyak dimanfaatkan oleh manusia dan melimpah jumlahnya di Indonesia. Tanaman liar yang sering dijumpai di pinggir jalan, halaman rumah yang tidak terawat bahkan sebagai hama di lahan pertanian. Keberadaannya yang melimpah dan mudah diperoleh inilah yang memberikan peluang tanaman ini dapat ditingkatkan nilai gunanya. Komponen yang terkandung dalam tanaman ini adalah



*β-sitosterol* dan *daucosterol* (Wei-Fang, 1994), steroid, triterpenoid, flavonoid (Hayati dan Halimah, 2010) tannin, dan alkaloid (Hayati, dkk., 2012). Tanaman Anting-anting oleh masyarakat digunakan untuk menyembuhkan penyakit enzema, pendaharahan pada rahim, radang kulit (Wei-Fang, 1994), antibiotik, diuretik, pencakar dalam bentuk segar atau yang telah dikeringkan (Dalimartha, 1999). Selain digunakan sebagai obat, ekstrak tanaman anting-anting juga berpotensi sebagai senyawa antitoksik (Hayati dan Halimah, 2010), antidiabetes (Fera, dkk., 2014), dan antimalaria (Hayati, dkk., 2012).

Senyawa golongan alkaloid merupakan salah satu senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting. Pada tahun 2012, Hayati dkk melakukan ekstraksi senyawa alkaloid dengan menggunakan pelarut etil asetat dan menghasilkan ekstrak pekat sebanyak 4,47 gram dari 30 gram sampel. Setelah itu dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan KLT analitik dengan eluen kloroform : methanol (9,5:0,5) dan menunjukkan adanya spot yang berwarna jingga kecoklatan setelah disemprot dengan reagen Dragendorff yang menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid di dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting. Penggunaan etil asetat sebagai pelarut senyawa alkaloid menggunakan metode maserasi juga dilakukan oleh Putri dkk (2012) yang mengekstrak senyawa alkaloid dari kulit manggis. Hasil yang didapat menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada uji fitokimia yang dilakukan. Selain itu, Amelia dan Suyatno (2014) juga melakukan ekstraksi senyawa alkaloid dari kulit batang bakau merah menggunakan pelarut etil asetat, hasil menunjukkan uji kualitatif dengan reagen dragendorff, Mayer, dan Wagner menunjukkan hasil yang positif. Berdasarkan hal tersebut golongan senyawa alkaloid dapat diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etil asetat.

Salah satu jenis dari golongan senyawa alkaloid yang terdapat dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting adalah berberin (Husna, 2011). Berberin merupakan salah satu jenis alkaloid isokuinolin yang banyak diisolasi dari tumbuh-tumbuhan (Praadhan, dkk., 2013; Pfoze, dkk., 2014). Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Husna (2011) yang melakukan identifikasi senyawa menggunakan LC-MS dari ekstrak etil asetat tanaman anting-anting, menunjukkan adanya serapan m/z sebesar 321,2 yang menunjukkan adanya senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting. Hal yang sama juga dilakukan oleh Lisiyana (2016) dan Rosyidah (2016) yang mengidentifikasi ekstrak tanaman anting-anting menggunakan LC-MS dan hasil menunjukkan adanya serapan senyawa berberin dalam ekstrak tersebut.

Senyawa berberin banyak dianalisis dengan berbagai macam jenis metode, salah satunya adalah menggunakan instrumen KCKT untuk menganalisis kadar berberin dari suatu bahan alam (Srinivasan, dkk., 2008). Pemisahan senyawa berberin dari bahan alam menggunakan KLT diperlukan sebelum senyawa tersebut dianalisis menggunakan KCKT untuk meminimalisir puncak yang muncul saat analisis. Srinivasan dkk (2008) melakukan pemurnian isolat hasil ekstraksi menggunakan KLTP sebelum dianalisis menggunakan instrumen KCKT, hal yang sama juga telah dilakukan oleh Pfoze, dkk., (2014). Fadhilah (2016) melakukan identifikasi ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan KLTA. Hasil identifikasi, menunjukkan bahwa eluen sikloheksana : toluena : dietil amin (75 : 15 : 10) memiliki profil KLTA terbaik dalam memisahkan senyawa alkaloid dalam ekstrak tanaman anting-anting.

Pemisahan senyawa menggunakan instrumen KCKT memiliki kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif. Kromatografi cair jenis ini mampu menghasilkan hasil pemisahan yang cepat dengan keunggulan zat yang tidak mudah menguap atau tidak dapat bertahan pada suhu tinggi dapat dikromatografi tanpa diuraikan terlebih dahulu (Depkes RI, 1995). KCKT banyak digunakan dalam analisis obat-obatan, biomolekul, polimer-polimer, komponen organik (Dong, 2006). Prinsip kerja dari KCKT yakni teknik pemisahan dimana zat terlarut dapat terpisah oleh perbedaan elusi, dan pemisahan zat terlarut ini dipengaruhi oleh perbedaan distribusi zat terlarut dalam fase gerak dan fase diam (Rohman, 2007). Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil analisa menggunakan KCKT diantaranya pemilihan jenis kolom, panjang dan diameter kolom; fase gerak, kecepatan alir fase gerak; suhu kolom; dan ukuran dari sampel (Rohman, 2007).

Pemisahan senyawa berberin menggunakan metode KCKT dari kulit batang tanaman *Mahonia manipurensis* telah dilakukan oleh Srinivasan dkk (2008). Pemisahan yang dilakukan menggunakan fase gerak asetonitril : air (10;90 v/v) dan tipe kolom C-18 (250 x 4.6 mm i.d, 5  $\mu$ m). Laju alir yang digunakan yakni 0.6 mL/min dan tipe fase gerak yang digunakan menggunakan tipe isokratik dan dideteksi pada panjang gelombang 266 nm, dari kondisi tersebut didapatkan waktu retensi dari senyawa berberin yakni 8,6 menit. Disamping itu, dapat juga menggunakan fase gerak ammonium klorida dan asetonitril dengan laju alir 0.8 mL/min dan menggunakan tipe kolom C-18 (250 x 4.6 mm ID, 5  $\mu$ m) yang dideteksi pada panjang gelombang 254 nm dengan waktu retensi dari senyawa berberin yakni 30,754 menit (Praadhan, dkk., 2013). Literatur lain juga menyatakan berberin dapat



dipisahkan menggunakan KCKT dengan kondisi fase gerak metanol : buffer TFA (0.1% v/v) dengan laju alir 1 mL/min menggunakan tipe fase gerak gradien dan menggunakan tipe kolom C-18 (5  $\mu$ m, 10 mm x 4.6 mm), dari kondisi tersebut waktu retensi dari senyawa berberin yakni 7,890 menit (Gondaliya, dkk., 2014). Hasil seluruh pemisahan tersebut menunjukkan bahwa kondisi tersebut optimum dalam memisahkan serta menentukan kadar senyawa berberin secara kuantitatif. Hal tersebut ditandai dengan munculnya puncak kromatogram senyawa berberin yang lancip dan simetris. Penjelasan tersebut menunjukkan bahwa perlu adanya optimasi metode pemisahan menggunakan KCKT, diantaranya untuk mengoptimasi fase gerak dan laju alir yang digunakan agar mendapatkan hasil analisa yang maksimal.

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, maka dalam penelitian ini akan dilakukan optimasi laju alir dan fase gerak pada pemisahan senyawa berberin dalam tanaman anting-anting menggunakan KCKT untuk menentukan kadar senyawa berberin dalam sampel tersebut. Variasi laju alir yang digunakan 0,6 mL/min; 0,8 mL/min; dan 1,0 mL/min serta menggunakan fase gerak metanol : buffer TFA (0.1% v/v) (50:50 v/v) dan asetone nitril : buffer TFA (0,1% v/v) (40:60 v/v) dengan tipe isokratik. Sebelum dilakukan optimasi metode pemisahan senyawa berberin dari tanaman anting-anting menggunakan KCKT, sampel terlebih dahulu diekstraksi maserasi menggunakan etanol 80% dan difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Hasil fraksi etil asetat kemudian dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dengan eluen sikloheksana : toluena : dietil amin (75 : 15 : 10) untuk mendapatkan isolat berberin dalam tanaman anting-anting.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian kali ini adalah:

1. Berapa laju alir dan jenis fase gerak yang diperlukan agar diperoleh kondisi yang optimal pada analisis senyawa berberin dalam tanaman anting-anting menggunakan KCKT?
2. Berapakah kadar senyawa berberin dalam tanaman anting-anting yang dianalisis menggunakan KCKT dengan laju alir dan fase gerak sesuai hasil optimasi?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui laju alir dan jenis fase gerak yang diperlukan agar diperoleh kondisi yang optimal pada analisis senyawa berberin dalam tanaman anting-anting menggunakan KCKT.
2. Untuk mengetahui kadar senyawa berberin dalam tanaman anting-anting yang dianalisis menggunakan KCKT dengan laju alir dan fase gerak sesuai hasil optimasi.

## 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan berasal dari daerah Malang.
2. Standar berberin didapatkan dari Wako *Pure Chemical Industries, LTD.* (Nomor Kode. 025-17181).
3. Tanaman anting-anting di ekstrak dengan ekstraksi maserasi menggunakan etanol 80% dan difraksinasi menggunakan etil asetat.

4. Eluen yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis analitik adalah sikloheksana : toluena : dietil amin (75 : 15 : 10).
5. Variasi laju alir yang digunakan adalah 0,6 mL/min; 0,8 mL/min; 1,0 mL/min.
6. Fase gerak yang digunakan adalah metanol : buffer TFA (0.1% v/v) (50:50 v/v) dan asetonitril : buffer TFA (0.1%v/v) (40:60 v/v) dengan tipe isokratik.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pembaca mengenai kadar senyawa berberin dalam tanaman anting-anting, sehingga dapat meningkatkan nilai guna dan memperluas pemanfaatan tanaman anting-anting sebagai sumber obat herbal alami.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Kandungan Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-Anting

*Acalypha indica* Linn atau tanaman anting-anting merupakan tanaman yang dapat ditemukan di beberapa negara di Asia Tenggara. Beberapa negara tersebut adalah Indonesia, Malaysia, Filipina, Thailand (Nurhaman, 2010).



Gambar 2.1 Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) (Prota Base Record display, 2010)

Data taksonomi tanaman anting-anting sebagai berikut (Hutapea, 1993):

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (berpembuluh)
Superdivisio	: <i>Spermatophyta</i> (menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> / <i>Dicotyledoneae</i> (berkeping dua / dikotil)
Sub-kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Familia	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Acalypha indica</i> Linn
Sinonim	: <i>A. spicata</i> Forsk., <i>A. Canescens</i> Wall., <i>A. australis</i> Linn.

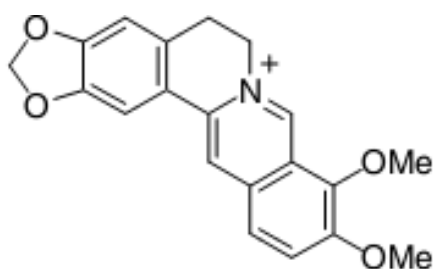
Berdasarkan penelitian secara kualitatif yang sudah dilakukan terhadap ekstrak kasar tanaman anting-anting. Ditemukan bahwa ekstrak tersebut mengandung beberapa senyawa diantaranya golongan senyawa fenol, flavonoid,



minyak atsiri, senyawa golongan steroid, triterpenoid, dan alkaloid (Yuniarti, 2008; Hayati, dkk., 2012). Pada akar tanaman tersebut juga ditemukan senyawa saponin dan tannin (Dalimartha, 1999).

Berberin adalah senyawa golongan alkaloid isokuinolin yang terdapat dalam tanaman anting-anting. Senyawa ini memiliki warna kuning terang yang dapat dengan mudah dilihat pada kebanyakan material tumbuhan, yang mengandung jumlah yang signifikan. Berberin digunakan dalam pengobatan tradisional Ayurveda dan *traditional chinese medicine*. Berberin mempunyai rentang farmakologi yang luas, antara lain antihipertensi, antiinflamasi, antioksidan, antidepresan, antikanker, anti diare, kolagoga, hepatoprotektif, dan hipolipidemia (Singh dkk., 2010). Isokuinolin adalah golongan alkaloid terbesar. Kerangka isokuinolin adalah kerangka dasar dari beberapa tipe alkaloid termasuk benzilquinolin, protopin, benzo[c]fenantridin, dan protoberberin (Grycova dkk., 2007).

Berberin memberikan bercak berwarna kuning di kromatogram pada deteksi sinar tampak sedangkan pada deteksi sinar UV 366 berfluoresensi kuning terang. Pereaksi semprot yang digunakan untuk deteksi berberin bisa menggunakan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Iodoplatinat. Bercak berberin akan berwarna coklat kemerahan jika dideteksi dengan pereaksi Dragendorff, sedangkan pada pereaksi Iodoplatinat bercak berberin akan berwarna biru keunguan. Pereaksi Dragendorff dan Iodoplatinat akan bereaksi dengan atom N pada senyawa alkaloid (Wagner dan Bladt, 1996). Struktur senyawa berberin adalah sebagai berikut:



Gambar 2.2 Struktur kimia senyawa Berberin (Grycova dkk., 2007)

Berberin klorida [1, 8, 13 $\alpha$ - tetra-hidro-9, 10-demetoksi-2, 3-(metil-en-dioksi)-berberium klorida], adalah alkaloid isokuinolin kuartener yang penting secara medis dapat menginduksi produksi IL-2, mengaktivasi p38 MAPK (Saha dkk., 2011). Berberin klorida juga berguna dalam pengobatan penyakit Alzheimer dengan cara memperbaiki kerusakan memori spasial, meningkatkan ekspresi faktor inflamasi, dan aktivasi mikroglia (Zhu dan Qian, 2006).

Senyawa berberin telah teridentifikasi dari ekstrak tanaman anting-anting menggunakan LC-MS. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Husna (2011) yang mengidentifikasi ekstrak etil asetat dari tanaman anting-anting menggunakan LC-MS menunjukkan adanya serapan m/z dengan nilai 321,2 yang hal tersebut menjadi dugaan awal adanya senyawa berberin dalam tanaman anting-anting. Hasil analisis dari Lisiyana (2016) memperkuat bukti adanya senyawa berberin dalam tanaman anting-anting. Lisiyana mengidentifikasi isolat hasil kromatografi kolom ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan LC-MS, dugaan puncak senyawa berberin muncul sebanyak 5 kali dengan nilai m/z 323.

Penelitian terbaru oleh Rosyidah (2016) yang mengidentifikasi dan menentukan kadar senyawa berberin menggunakan UPLC-MS semakin menunjukkan bahwa senyawa berberin terdapat dalam tanaman anting-anting. Hasil identifikasi menunjukkan adanya puncak senyawa berberin dengan waktu

retensi sekitar 15,76 menit dengan nilai  $m/z$  321. Kadar senyawa marker berberin yang teridentifikasi dari penelitian tersebut yakni sebesar 30,17%.

## 2.2 Isolasi Senyawa Berberin

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak tanaman anting-anting adalah menggunakan metode ekstraksi maserasi. Metode maserasi berdasar pada perbedaan tekanan antara pelarut dan sel tumbuhan atau hewan saat perendaman dengan menggunakan pelarut. Tekanan tersebut menyebabkan pemecahan dinding dan membran sel dan senyawa metabolit yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut yang digunakan (Sa'adah, 2010).

Hayati, dkk., pada tahun 2012 telah melakukan ekstraksi senyawa aktif golongan alkaloid dari tanaman anting-anting menggunakan pelarut etil asetat. Dari sebanyak 50 gr sampel yang diekstrak, menghasilkan ekstrak kasar tanaman anting-anting sebanyak 4,47 gr ekstrak atau nilai randemen sebesar 14,49%. Hasil ekstraksi juga dilakukan uji secara kualitatif menggunakan reagen Dragendroft dan menghasilkan hasil positif terhadap adanya golongan senyawa alkaloid dalam ekstrak tanaman anting-anting.

Ekstraksi senyawa golongan alkaloid dari tanaman anting-anting juga dilakukan oleh Fahilah (2016). Jenis pelarut yang digunakan yakni menggunakan etanol 80%, dengan menghasilkan randemen ekstrak sebesar 12,72% dan kemudian ekstrak tersebut difraksinasi dengan menggunakan etil asetat, dan mendapatkan randemen fraksi sebesar 33,813%. Selain itu penggunaan etanol 80% dalam ekstraksi maserasi tanaman anting-anting telah dilakukan oleh Ngibad (2013) dengan menghasilkan randemen ekstrak sebesar 23%. Dari hasil tersebut, ekstraksi menggunakan etanol 80% memiliki nilai randemen yang lebih besar dan berarti

semakin banyak senyawa aktif yang terekstrak kedalam pelarut. Etanol 80% juga terbukti dapat mengekstrak senyawa berberin dengan jumlah lebih banyak daripada etanol 50% (Rosjanga, dkk., 2006), selain itu etanol memiliki daya ekstrak yang luas dan memiliki toksisitas lebih rendah disbanding pelarut organik lain (Pine, dkk., 2005).

Proses fraksinasi atau ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat dapat mengambil senyawa aktif golongan alkaloid dengan baik. Fadhilah tahun 2016 telah melakukan fraksinasi ekstrak kasar etanol 80% dari tanaman anting-anting menggunakan pelarut etil asetat. Proses fraksinasi dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan dengan pelarut etil asetat sebanyak 50 mL. Fraksi etil asetat tersebut menghasilkan randemen sebesar 33,813% dan hasil uji kualitatif menggunakan reagen dragendroff menunjukkan hasil positif adanya golongan senyawa alkaloid dalam ekstrak tersebut.

Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Maryanti pada tahun 2006 juga melakukan isolasi senyawa alkaloid dari daun tumbuhan pacah piriang dengan menggunakan proses fraksinasi menggunakan etil asetat. Proses fraksinasi tersebut menghasilkan berat fraksi alkaloid sebanyak 7,6219 g dan hasil karakterisasi dengan UV-Vis serta NMR menunjukkan bahwa dalam fraksi tersebut positif terdapat golongan senyawa alkaloid. Pada tahun 2013, Pramita, dkk., juga melakukan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dari ekstrak metanol daun kesum. Hasil karakterisasi fraksi menggunakan UV-Vis dan NMR menunjukkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa golongan alkaloid. Beberapa penelitian tersebut menunjukkan bahwa golongan senyawa alkaloid dapat difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat.



Senyawa berberin dapat di isolasi menggunakan metode KLTP. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan campuran senyawa berdasarkan fasa diam yang dilapiskan pada pelat kaca atau alumunium dengan suatu pelarut. Proses pengaliran pelarut yang naik sepanjang permukaan pelat KLT oleh gaya kapiler disebut dengan elusi. Dengan proses elusi tersebut pelarut membawa komponen-komponen yang terdapat dalam pelarut sesuai dengan kepolarannya (Atun, 2014).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Srinivasan dkk., pada tahun 2008 membuktikan bahwa senyawa berberin dari tanaman *Tinospora Cordifolia* dan *Tinospora Sinensis* dapat di isolasi menggunakan metode KLT. Jenis eluen yang digunakan dalam KLT yakni kloroform-metanol dengan perbandingan volume 70:20. Pfoze, dkk., (2014) juga telah mengisolasi senyawa berberin menggunakan metode KLT dengan eluen kloroform-etil asetat-metanol-dietilamin-20% NH<sub>4</sub>OH dengan perbandingan (6:24:6:1,5:0,3). Senyawa standard berberin digunakan dalam penelitian tersebut untuk memudahkan dalam mengamati spot senyawa berberin dari sampel dengan cara membandingkan nilai R<sub>f</sub> antara standard dan sampel. Penelitian yang sudah dilakukan tersebut menunjukkan bahwa KLT merupakan metode yang paling mudah digunakan, dengan biaya yang murah, sensitifitas tinggi, kecepatan proses pemisahan yang tinggi, serta sangat cocok digunakan untuk identifikasi isolat dalam jumlah yang sedikit.

Pemisahan senyawa golongan alkaloid dalam ekstrak tanaman anting-anting menggunakan KLTA telah dilakukan oleh Fadhilah (2016). Eluen yang digunakan dalam KLTA bervariasi dan mencari jenis dan perbandingan eluen terbaik dalam memisahkan senyawa alkaloid yang ada di dalam ekstrak. Hasil

menunjukkan bahwa eluen sikloheksana: toluena: dietil amin dengan perbandingan (75:15:10) merupakan eluen terbaik dalam memisahkan senyawa golongan alkaloid ditunjukkan dengan adanya spot berwarna kuning saat disemprot dengan reagen dragendroff. Eluen tersebut yang akan digunakan untuk mengidentifikasi senyawa berberin yang ada dalam fraksi etil asetat tanaman anting-anting.

### **2.3 Identifikasi Senyawa Berberin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

Kromatografi merupakan teknik dimana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan zat-zat ini melewati suatu kolom kromatografi (Swarbrick & Boylan, 1998). Kromatografi cair kinerja tinggi merupakan metode pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi tinggi yang dapat mengidentifikasi serta menetapkan secara kuantitatif bahan dalam jumlah yang sangat kecil. KCKT mempunyai kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif. Dengan itu, kromatografi cair dapat menghasilkan pemisahan yang cepat dalam banyak hal, dengan keunggulan zat-zat yang tidak menguap atau tidak tahan panas dapat dikromatografi tanpa membuat derivat tersebut menguap (Depkes RI, 1995).

Sistem Dasar KCKT terdiri dari wadah fase gerak, pompa, injektor, kolom, dan detektor. Pompa menarik fase gerak dari wadah dan memompanya menuju kolom. Pada bagian depan kolom dihubungkan dengan injektor yang berfungsi sebagai tempat memasukkan sampel ke sistem. Pada aliran keluar, terdapat detektor yang mendeteksi komponen sampel dan menghasilkan sinyal yang ditampilkan sebagai sebuah puncak pada bagian rekorder (Kenkel, 1994).

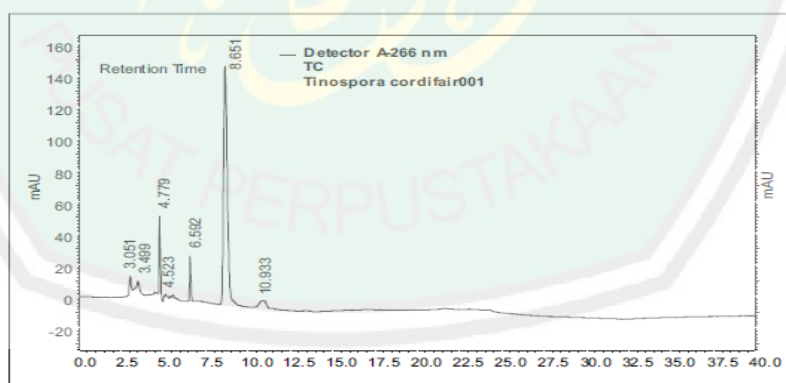
Penelitian tentang optimasi pemisahan dari senyawa berberin menggunakan instrument KCKT telah banyak dilakukan. Penelitian untuk optimasi pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT tersebut, banyak dilakukan dengan melakukan variasi pada variabel laju alir, jenis fase gerak yang digunakan, serta tipe elusi fase gerak. Berikut ini adalah hasil dan kondisi pemisahan dari penelitian mengenai pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT yang diambil dari beberapa jurnal penelitian:

Tabel 2.1 Hasil penelitian pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT

Sumber Pustaka	Fase Gerak & Jenis Elusi	Laju Alir (mL/min)	Waktu Retensi (menit)	Jenis dan Panjang Kolom
Srinivasan, dkk., 2008	Asetonitril:air (10:90 v/v), isokratik	0,6	8,6	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 250 mm x 4,6 mm)
Praadhan, dkk., 2013	Asetonitril:air (1% ammonium klorida), isokratik	0,8	30,754	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 250 mm x 4,6 mm)
Pfoze, dkk., 2014	Metanol:air (asam format 0,1%), gradien	1,0	16,457	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 250 mm x 4,6 mm)
Tarte, P.S. dkk., 2014	Asetonitril:Air (0,05 M buffer Phospat) (25:75 v/v), isokratik	1,0	10, 545	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 150 mm x 4,6 mm)
Karthikeyan R. dkk., 2014	Asetonitril:air (0,1% buffer TFA) (40:60 v/v), isokratik	1,0	5,311	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 250 mm x 4,6 mm)
Qun, dkk.,2013	Asetonitril:Air (0,05 mol/L monopotassium phospat), gradien	1,0	40	Kolom hypersil (5 $\mu$ m, 250 mm x 4,6 mm)

Gondaliya, dkk., 2014	Metanol:air (0,1% buffer TFA), gradien	1,0	7,89	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 10 mm x 4,6 mm)
Shigwan, 2013	Asetonitril:air (0,1% buffer TFA) (40:60 v/v), isokratik	1,0	3,633	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 150 mm x 4,6 mm)
Ren, 2007	Metanol:air (buffer asam format), gradien	1,0	18	Kolom C18 (5 $\mu$ m, 150 mm x 4,6 mm)

Penelitian pertama yang dilakukan oleh Srinivasan dkk., pada tahun 2008 tentang penentuan kadar berberin dalam *Tinospora Cordifolia* dan *Tinospora Sinensis* menggunakan laju alir 0,6 mL/min dengan fase gerak asetonitril : air (10:90 v/v) menunjukkan bahwa senyawa berberin muncul pada waktu retensi 8,6 menit. Bentuk puncak kromatogram dalam kondisi tersebut optimum untuk memisahkan senyawa berberin dengan bentuk dari puncak yang lancip dan simetris. Berikut adalah kromatogram dari sampel *T. Cordifolia*:

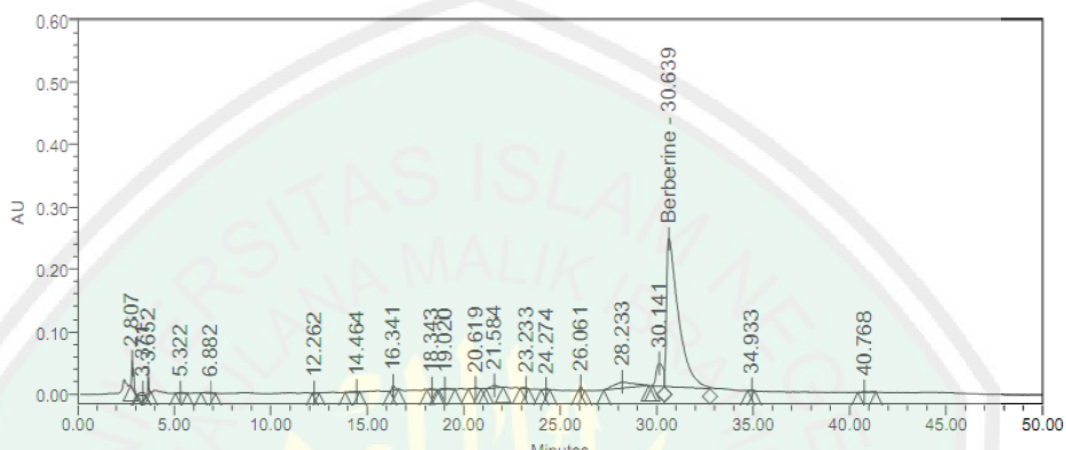


Gambar 2.3 Kromatogram berberin dari ekstrak metanol *T. Cordifolia* menggunakan laju alir 0,6 mL/min (Srinivasan, dkk., 2008)

Penelitian berikutnya dilakukan oleh Praadhan dkk., tahun 2013 yang menggunakan kondisi KCKT laju alir 0,8 mL/min dengan fase gerak Asetonitril : air

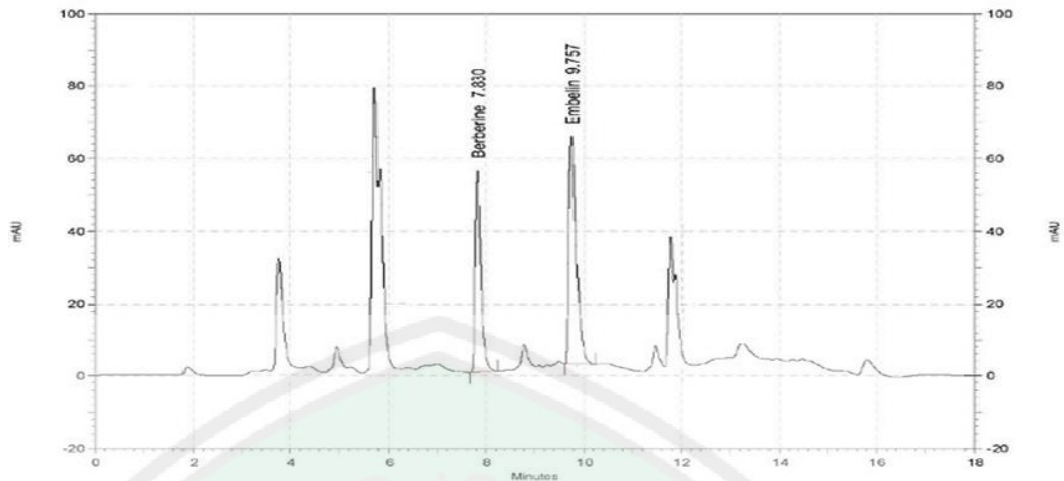


(1% ammonium klorida) menunjukkan waktu retensi pada 30,639 menit. Bentuk puncak yang terbentuk dari kromatogram kurang simetris, dengan adanya sedikit pemanjangan puncak menunjukkan kurang maksimalnya proses pemisahan. Berikut ini adalah kromatogram dari ekstrak *Berberis Vulgaris Linn.*:



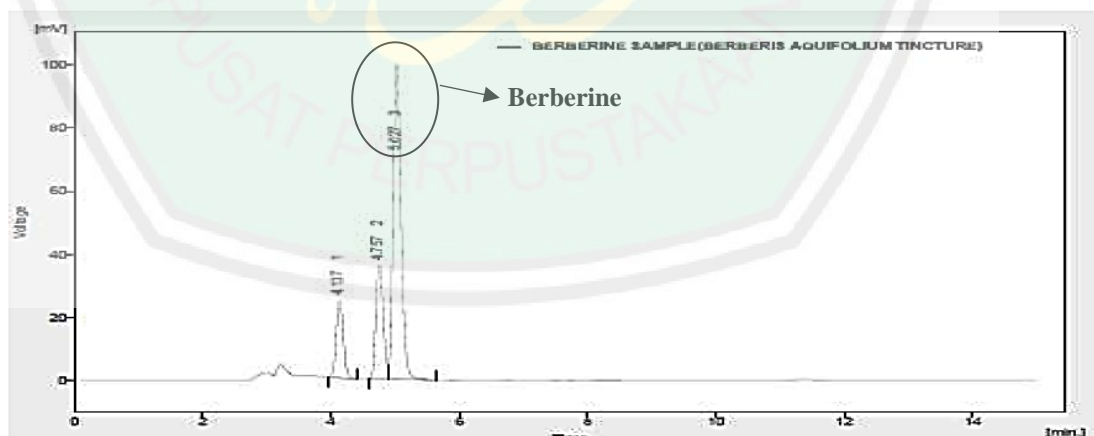
Gambar 2.4 Kromatogram berberin dari ekstrak *Berberis Vulgaris Linn.* Menggunakan laju alir 0,8 mL/min (Pradhan, dkk., 2013)

Gondaliya dkk., (2014) melakukan identifikasi berberin menggunakan KCKT dengan laju alir 1,0 mL/min dengan fase gerak metanol : air (0,1% buffer TFA) tipe elusi gradien. Waktu retensi senyawa berberin 7,89 menit. Kondisi tersebut menghasilkan puncak senyawa berberin yang simetris. Kondisi tersebut juga telah memenuhi uji validasi, dan dapat digunakan sebagai uji rutin *quality control* dari penentuan kadar senyawa berberin. Berikut adalah kromatogram dari senyawa berberin dari obat herbal:



Gambar 2.5 Kromatogram berberin dari obat herbal menggunakan laju alir 1,0 mL/min (Gondaliya, dkk., 2014)

Karthikeyan dkk., (2014) juga telah melakukan pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT dengan laju alir 1,0 mL/min dan fase gerak Asetonitril : air (0,1% buffer TFA) (40:60 v/v) dengan tipe elusi isokratik. Hasil kromatogram menunjukkan puncak yang lancip dan simetris. Waktu retensi dari senyawa berberin yakni 5,113 menit. Berikut adalah kromatogram senyawa berberin dari kondisi yang sudah disebutkan:



Gambar 2.6 Kromatogram berberin dari *B. Aquifolium* menggunakan laju alir 1,0 mL/min (Karthikeyan, dkk., 2014)

Beberapa kondisi pemisahan diatas menunjukkan bahwa faktor penggunaan laju alir dan jenis fase gerak akan mempengaruhi hasil kromatogram KCKT dari suatu senyawa. Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel (Rohman, 2007). Penggunaan fase gerak yang banyak digunakan dalam analisis atau pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT yakni campuran asetonitril; air, atau metanol; air dengan buffer. Buffer berfungsi sebagai penyangga PH eluen, selain itu buffer juga berfungsi untuk mencegah proses ionisasi dari solut, apabila solut mengalami ionisasi maka menyebabkan ikatannya dengan fase diam menjadi lebih lemah dibanding jika solut dalam bentuk yang tidak terionisasi akan terelusi lebih cepat (Gandjar dan Rohman, 2007).

Penggunaan buffer TFA 0,1% dalam campuran eluen KCKT dalam pemisahan senyawa berberin telah digunakan oleh Karthikeyan (2014), Gondaliya, dkk. (2014), serta Shigwan (2013). Penggunaan buffer TFA ini memiliki kelebihan sebagai penghambat ionisasi yang baik serta memiliki rentang pH sekitar 2. Selain itu buffer TFA 0,1% juga merupakan pilihan terbaik untuk identifikasi senyawa menggunakan LC-MS (Dolan, 2006). Penggunaan buffer dengan nilai  $< 2,5$  juga mencegah terjadinya deprotonasi gugus hidroksi dari molekul kolom silika C-18 (deprotonasi terjadi pada  $\text{pH} > 3,5$ ) sehingga kolom dapat digunakan dalam jangka waktu yang Panjang (Kazakevich, Y & LoBrutto R, 2007).

Laju alir merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan melakukan pemisahan menggunakan KCKT. laju alir yang baik yakni apabila dapat

memisahkan suatu senyawa dengan waktu yang cepat dan tanpa adanya pemanjangan puncak (*tailing*). Laju alir menjadi faktor yang penting karena akan mempengaruhi luas puncak dari kromatogram, waktu retensi, dan resolusi dari suatu kromatogram (Meyer, 2004).

### 2.3.1 Kriteria Optimasi KCKT

Menurut Berridge (1985), optimasi dalam sistem KCKT disyaratkan untuk menemukan kondisi yang optimal guna menghasilkan pemisahan yang baik pada kondisi percobaan tersebut dilakukan. Meskipun demikian, kondisi terbaik sistem KCKT sulit untuk ditemukan. Adapun tujuan dipersyaratkannya optimasi pada sistem KCKT antara lain yaitu untuk menghemat biaya penelitian, mendapatkan hasil pemisahan yang baik dengan waktu yang singkat, menciptakan pemisahan terbaik yang mungkin dihasilkan oleh sampel, menyeleksi / memilih komposisi fase gerak dan kolom yang menunjukkan pemisahan yang baik pada waktu yang singkat, memperoleh kombinasi optimum pada kecepatan elusi / laju alir, ukuran sampel, dan resolusi dari larutan sampel, serta untuk melokasikan kriteria optimasi untuk tempat / daerah percobaan tersebut dilakukan.

Keberhasilan suatu pemisahan analit sangat dipengaruhi oleh pemilihan sistem kromatografi dan komposisi fase gerak yang tepat. Meskipun dari segi instrumennya sering diabaikan. Proses pemisahan dikatakan baik bergantung pada kondisi kolom, detektor, dan pompa instrumen KCKT. Ditinjau lebih luas lagi, pemilihan komposisi fase gerak merupakan aspek utama dalam optimasi. Pemilihan fase gerak ini tidak hanya mempertimbangkan proses ekstraksi / isolasi sampel oleh pelarut karena adanya parameter seperti laju alir dan suhu kolom yang menjadi



pertimbangan penting dalam pemilihan komposisi fase gerak yang digunakan (Berridge, 1985).

#### 2.4 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Tumbuh-tumbuhan diciptakan oleh Allah SWT dengan segala manfaat dan hikmah tertentu. Segala sesuatu yang ada di bumi berhak dimanfaatkan oleh manusia dengan sebaik-baiknya, salah satunya ialah berbagai macam tumbuhan. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam Al-Quran Surat Thaha yang berbunyi:

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

Artinya: *Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami turunkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS. Thaha: 53).*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa terdapat banyak tumbuhan dengan berbagai macam jenis yang dapat tumbuh dari bumi dengan adanya air hujan. Menurut Tafsir Al-Maraghi (1993), bahwa tumbuh-tumbuhan dalam berbagai jenis diciptakan Allah SWT untuk mengeluarkan berbagai manfaat dalam bentuk aroma, bentuk, dan warna. Bagian dari tumbuh-tumbuhan seperti akar, daun, rimpang, bunga maupun bijinya banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat, sebagaimana dalam Q.S. Asy-Syu'ara:7 yang berbunyi:

أَوْ لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ كَرِيمٍ (٧)

Artinya: *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (Qs. AsySyu'araa':7).*

Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat bagi makhluk hidup (Shihab, 2002). Tafsir Al-Maraghi (1993) menyatakan bahwa kata *كريم* bermakna mulia dari segala sesuatu yang berarti diridhai dan dipuji dari-Nya. kata *كريم* pada ayat diatas juga bermakna baik atau mulia, yang artinya ayat tersebut menjelaskan bahwa tumbuhan diciptakan bermacam-macam sehingga manusia dapat memanfaatkannya (Al-Qurtubi, 2009).

Tumbuhan selain dimanfaatkan untuk konsumsi sehari-hari bagi manusia juga sering digunakan sebagai obat dari berbagai penyakit. Pada zaman Rasulullah SAW dikenal beberapa tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat, diantaranya *habbatussauda'* (jinten hitam) dan minyak *zaitun* (Kustoro, 2007). Tanaman anting-anting diketahui memiliki kemampuan untuk mengobati malaria dan diabetes (Hayati, 2012). Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat secara tersampaikan secara tersirat dalam hadist Rasulullah SAW yang diriwayatkan dalam shahih Bukhari:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: *Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali dia turunkan untuk penyakit itu obatnya (HR. Bukhari no. 5678) (Al-Bukhari, 1969).*

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Biotek Universitas Surabaya pada bulan Februari 2017 – Desember 2017.

#### **3.2. Alat Dan Bahan**

##### **3.2.1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik, corong buchner, rotary evaporator, shaker, vortex, desikator, oven, bejana kromatografi, sentrifuge, plat KLT GF254, lampu UV 366 nm, mikro pipet, Ultrasonikator, dan KCKT (Agilent 1200 Series; kolom Zorbax ODS 4,6 x 250 mm, 5 µm (880952-702)).

##### **3.2.2. Bahan**

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman anting-anting yang berasal dari daerah Malang, standar berberin dari Wako *Pure Chemical Industries*, LTD. (Nomor Kode. 025-17181), etanol p. a, etil asetat p. a, akuades, HCL 2%, metanol KCKT *grade*, asetonitril KCKT *grade*, reagen Dragendorff, reagen Mayer, buffer TFA, sikloheksana, toluena, dietil amin, akuabides.

#### **3.3. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Tanaman anting-anting diambil dari daerah Malang. Sampel yang telah dikeringkan

kemudian dimaserasi menggunakan etanol 80%. Hasil maserasi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan fraksinasi ekstrak kasar etanol 80% menggunakan pelarut etil asetat. Hasil fraksinasi dilakukan uji alkaloid secara kualitatif menggunakan reagen untuk mengetahui kandungan alkaloid. Fraksi etil asetat kemudian diidentifikasi menggunakan metode KLTA dengan eluen sikloheksana : toluena : dietil amin (75 : 15 : 10) untuk mengetahui spot berberin dalam sampel serta dibandingkan dengan hasil KLT standard berberin. Standar berberin di optimasi laju alir dan fase gerak pada pemisahan menggunakan KCKT, hasil laju alir dan fase gerak terbaik digunakan untuk kadar berberin yang terdapat dalam fraksi etil asetat tanaman anting-anting.

### **3.4. Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan langkah langkah sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Ekstraksi sampel menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 80%
3. Fraksinasi ekstrak etanol 80% menggunakan pelarut etil asetat
4. Uji reagen kandungan alkaloid
5. Identifikasi senyawa berberin menggunakan KLTA
6. Optimasi pemisahan menggunakan KCKT
7. Penentuan kadar berberin secara kuantitatif menggunakan KCKT

### **3.5. Cara Kerja**

#### **3.5.1 Preparasi Sampel**

Sebayak 5 kg tanaman Anting-anting (*Acalypha indica*L.) diperoleh dari daerah Kota Malang. Tanaman Anting-anting dibersihkan lalu dipisahkan batang dan daun kemudian dikeringkan. Setelah kering, tanaman Anting-anting dihaluskan



dengan blender dan dilakukan pengayakan menggunakan ayakan 90 mesh, sehingga diperoleh sampel berupa serbuk tanaman Anting-anting.

### 3.5.2 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan cara maserasi atau perendaman dengan pelarut etanol 80 %. Serbuk tanaman anting-anting ditimbang sebanyak 200 g dibagi menjadi dua bagian masing-masing 100 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 mL. Perendaman sampel dilakukan selama 24 jam dengan 3 jam pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Perlakuan maserasi dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali pengulangan. Pada proses maserasi pertama sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 80 % sebanyak 400 mL per 100 g sampel, untuk hari kedua hingga hari keempat residu yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 80 % sebanyak 200 mL per erlenmeyer. Semua filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 60 °C dan dihentikan ketika ekstrak cukup kental dan ditandai dengan berhentinya penetesannya pelarut pada labu alas bulat, sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol tanaman anting-anting.

### 3.5.3 Fraksinasi Ekstrak Kasar Etanol menggunakan Etil Asetat

Hasil ekstrak kasar etanol difraksinasi dengan etil asetat:air. Ekstrak etanol dilarutkan terlebih dahulu dengan air sebanyak 50 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambah dengan pelarut etil asetat 50 mL. Hasil ekstraksi akan terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan air dan lapisan etil asetat. Kemudian dipisahkan kembali kedua lapisan tersebut. Lapisan air difraksinasi kembali dengan total 6 kali pengulangan dengan pelarut etil asetat hingga filtrat yang dihasilkan

berwarna putih kekuningan. Selanjutnya semua filtrat dari fraksi etil asetat dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi etil asetat pekat. Lalu fraksi etil asetat ini ditimbang untuk dihitung randemennya dan dilakukan uji fitokimia, identifikasi menggunakan KLTA, dan penentuan kadar berberin menggunakan KCKT dengan fase gerak dan laju alir sesuai hasil optimasi.

#### **3.5.4 Uji Reagen Senyawa Alkaloid (Hayati, dkk., 2012)**

Ekstrak tanaman anting-anting dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0.5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

#### **3.5.5 Identifikasi Senyawa Berberin Menggunakan Metode KLTA**

Pada identifikasi senyawa berberin dengan KLTA digunakan plat silika gel GF<sub>254</sub> dengan ukuran 10 x 3 cm. Fraksi etil asetat ditotolkan bersebelahan dengan standar berberin pada plat dengan jarak 1 cm dari garis tepi bawah dan 1 cm dari garis tepi plat dengan pipa kapiler. Selanjutnya dikeringkan dan dielusi sejauh 8 cm dengan menggunakan eluen sikloheksana : toluena : dietil amin (75 : 15 : 10) (v/v). Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada titik batas, elusi dihentikan. Plat hasil elusi dikeringkan, noda yang terbentuk diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan dihitung nilai R<sub>f</sub> dari spot yang muncul. Nilai R<sub>f</sub> dari masing-masing spot dalam sampel dibandingkan dengan nilai R<sub>f</sub> dari standar berberin.

### **3.5.6 Identifikasi Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-anting (*Acalypha Indica* L.) menggunakan KCKT**

#### **3.5.6.1 Preparasi Larutan Stok Standard Berberin Klorida (Gondaliya, dkk., 2014)**

Sebanyak 10 mg serbuk berberin klorida dilarutkan dalam labu takar 100 mL dengan pelarut metanol untuk mendapatkan larutan standar berberin klorida sebesar 100 µg/mL.

#### **3.5.6.2 Pembuatan Fase Gerak**

Metanol KCKT grade sebanyak 500 mL diultrasonikkan selama 20 menit. Sebanyak 0,5 mL asam trifloroasetat dimasukkan kedalam 500 mL labu takar dan ditandabatkan menggunakan akuabides. Larutan tersebut menghasilkan 0,1% buffer TFA dalam akuabides dan diultrasonikkan selama 20 menit (Gondaliya, 2014).

Asetonitril sebanyak 500 mL dengan penyaring 0,22 µm membran nilon vakum dan diultrasonikkan selama 20 menit. Sebanyak 0,5 mL asam trifloroasetat dimasukkan kedalam 500 mL labu takar dan ditandabatkan menggunakan akuabides. Larutan tersebut menghasilkan 0,1% buffer TFA dalam akuabides dan diultrasonikkan selama 20 menit (Karthikeyan, dkk., 2014).

#### **3.5.6.3 Optimasi Pemisahan menggunakan KCKT**

Larutan standard berberin sebanyak 20 µL dengan kadar 2 µg/mL diinjeksikan ke dalam sistem KCKT menggunakan fase gerak metanol : buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan laju alir 0,6 mL/min; 0,8 mL/min; 1,0 mL/min dan fase gerak asetonitril : buffer TFA (0,1%) (40:60 v/v) dengan laju alir 0,6 mL/min; 0,8

mL/min; 1,0 mL/min pada panjang gelombang 290, 315, dan 345 nm. Kemudian dicatat waktu retensi dan tekanan kolom pada tiap penyuntikan dengan berbagai perbandingan fase gerak dan laju alir, serta diamati profil kromatogramnya.

#### **3.5.6.4 Uji Identifikasi**

Uji identifikasi terhadap senyawa berberin dalam sampel tanaman anting-anting dilakukan dengan membandingkan waktu retensi puncak standar berberin klorida dengan waktu retensi pada sampel. Bila waktu retensi puncak sampel hampir sama dengan standar, berarti sampel mengandung senyawa berberin klorida.

#### **3.5.6.5 Penentuan Kuantitatif**

##### **3.5.6.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standard Berberin Klorida (Srinivasan, dkk., 2014)**

Larutan induk berberin klorida di pipet sebanyak 0,1 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; 3 mL dimasukkan kedalam labu takar 10 mL kemudian ditandabatkan dengan pelarut metanol. Hasil konsentrasi deret standard 1 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 20 µg/mL; 30 µg/mL kemudian diinjeksikan secara berurutan dan dihasilkan persamaan kurva standar.

##### **3.5.6.5.2 Penetapan Kadar Berberin dalam Tanaman Anting-Anting**

Diinjeksikan 20 µL fraksi etil asetat Tanaman Anting-anting ke dalam injektor dengan kondisi kromatografi sesuai dengan hasil optimasi. Diamati puncak yang muncul dalam kromatogram. Luas area (luas puncak) dari kromatogram isolat (Y) didistribusikan ke persamaan garis regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi ( $Y = aX + b$ ), sehingga diperoleh konsentrasi sampel (X) dan dihitung kadarnya.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L), yang diambil dari daerah Kota Malang Jawa Timur. Tahapan preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, dan penghalusan sampel. Tahapan pencucian dilakukan menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang dapat mengganggu dalam proses ekstraksi. Tahapan pengeringan sampel menggunakan cara diangin-anginkan supaya tidak merusak kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman tersebut khususnya kandungan alkaloid berberin. Penggunaan pengeringan dengan diangin-anginkan telah dijelaskan oleh Hernani dan Nurdjanah (2009) bahwa dalam tumbuhan obat yang tidak tahan panas untuk mempertahankan metabolit sekunder sebaiknya dengan udara tidak menggunakan sinar matahari secara langsung karena sinar ultra violet dari matahari dapat menimbulkan kerusakan kandungan kimia pada bahan yang dikeringkan.

Sampel yang telah kering berwarna coklat kehijauan dihaluskan untuk memperkecil luas permukaan sampel, hal ini bertujuan memudahkan dalam proses ekstraksinya. Voight (1995) menyatakan semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya, sehingga interaksi antara sampel dengan pelarut dalam proses ekstraksi akan semakin besar, hal tersebut menyebabkan proses ekstraksi berlangsung semakin cepat. Serbuk simplisia yang telah halus dilakukan pengayakan untuk memaksimalkan dalam memperkecil variasi ukuran. Sehingga

diperoleh serbuk halus dengan berat  $\pm$  300 g. Serbuk inilah yang selanjutnya dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80 %.

#### 4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif

Metode ekstraksi senyawa alkaloid berberin yang digunakan adalah metode ekstraksi maserasi. Ekstraksi ini bertujuan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman anting-anting. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk kering (*Acalypha indica* L) dengan pelarut etanol 80% dan terjadi proses difusi. Proses difusi terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi larutan. Pelarut etanol 80% yang memiliki konsentrasi tinggi akan terdistribusi kedalam sel tumbuhan dan mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel, kemudian senyawa aktif yang berada dalam sitoplasma akan terambil dan masuk dalam pelarut (Djarwis, 2004). Metode maserasi memiliki kelebihan tersendiri diantaranya adalah pengerjaannya cukup sederhana, mudah dilakukan dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dimungkinkan dapat merusak senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam sampel, sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Voight, 1995).

Pelarut etanol 80 % memiliki nilai kepolaran yang lebih tinggi daripada etanol p.a, titik didih yang rendah sehingga mudah diuapkan, dan sifat ketoksikan yang rendah daripada pelarut alkohol lainnya (Guenther, 1987). Berdasarkan literatur Harbone (1996) alkaloid dari tumbuhan bersifat basa sehingga untuk melarutkannya dapat dilakukan dengan alkohol yang bersifat asam lemah seperti etanol. Berberin memiliki kelarutan yang baik dalam etanol dengan nilai  $0,444 \times 10^3 x_w$  (kelarutan mol fraksi) pada suhu 25° C, kelarutan berberin akan terus naik seiring dengan kenaikan suhu larutan (Lu, Yang-Chen dkk., 2006).

Filtrat yang diperoleh, dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*. Penggunaan suhu 60 °C dilakukan agar tidak merusak kandungan senyawa berberin yang ada dalam sampel. Senyawa berberin dalam bentuk bebas sangat mudah terdekomposisi oleh pemanasan dan oksigen yang menghasilkan bentuk N-oksida. Hasil maserasi serbuk tanaman anting-anting menghasilkan berat ekstrak pekat sebanyak 16,420 g dengan nilai randemen (b/b) sebesar 8,21 %.

#### 4.2.1 Fraksinasi dengan Pelarut Etil Asetat

Fraksinasi komponen aktif ekstrak etanol tanaman anting-anting dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat. Proses fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan sifat kepolarannya. Proses fraksinasi dilakukan dengan mencampurkan ekstrak yang telah dilarutkan dengan air dengan etil asetat disertai proses pengocokan. Hal ini bertujuan agar senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi polar di dalam ekstrak dapat terekstrak ke dalam pelarut etil asetat. Proses fraksinasi dengan pelarut etil asetat menghasilkan dua lapisan yaitu lapisan organik dan lapisan air. Lapisan organik berisi pelarut etil asetat dan komponen-komponen lain yang terlarut pada pelarut etil asetat, sedangkan lapisan air berisi sisa-sisa pelarut etanol yang kemungkinan masih tersisa pada ekstrak dan garam. Lapisan etil asetat berada pada lapisan atas karena densitas etil asetat (0,894 g/mL) lebih kecil dibandingkan densitas air (1 g/mL). Hasil fraksi yang didapatkan sebanyak 5,56 g dengan nilai randemen (b/b) sebesar 37,07 %.

Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi polar seperti berberin dapat ikut terekstrak ke dalam pelarut etil asetat. Etil asetat telah teridentifikasi dapat mengekstrak

senyawa berberin yang terdapat dalam tumbuhan. Zhou, Cunliu., dkk tahun 2013 menjelaskan dalam penelitiannya bahwa senyawa berberin dapat diekstrak menggunakan pelarut etil asetat dari bubuk huangbai. Berdasarkan penelitian Hayati, dkk tahun 2012 menyebutkan bahwa ekstrak kasar etil asetat tanaman anting-anting diidentifikasi adanya senyawa golongan alkaloid berberin, oleh karena itu digunakan etil asetat sebagai pelarut dalam fraksinasi ekstrak kasar etanol 80%.

#### 4.3 Uji Fitokimia Hasil Fraksi Etil Asetat

Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid dengan menggunakan reagen Dragendorff dan Mayer. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna (*spot test*) dan busa dengan suatu pereaksi warna (Kristanti, dkk., 2006). Hasil uji fitokimia pada masing-masing fraksi etil asetat ditunjukkan pada Tabel 4.1 dan gambar berikut ini.

Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia masing-masing fraksi etil asetat dan ekstrak kasar alkaloid

Sample	Alkaloid	
	Meyer	Dragendorff
Fraksi etil asetat	(+)	(+)

Keterangan: (+) Terdapat senyawa alkaloid  
(-) Tidak terdapat senyawa alkaloid



Gambar 4.1 Hasil uji fitokimia fraksi etil asetat dengan menggunakan reagen Dragendorff





Gambar 4.2 Hasil uji fitokimia fraksi etil asetat dengan menggunakan reagen Meyer

Berdasarkan Tabel 4.1 diketahui bahwa hasil uji fitokimia fraksi etil asetat tanaman Anting-anting menggunakan reagen Dragendorff dan Mayer menunjukkan fraksi tersebut mengandung senyawa alkaloid. Hal tersebut sesuai dengan uji fitokimia yang dilakukan oleh Hayati dkk, tahun 2012 bahwa ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting mengandung senyawa alkaloid.

Uji fitokimia ini dilakukan menggunakan reagen Meyer dan Dragendorff yang memberikan warna berbeda pada masing-masing reagen. Hasil yang diperoleh pada pereaksi Meyer mengandung alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan putih yang mengendap di bawah tabung reaksi dan endapan yang melayang dalam larutan, sedangkan pada pereaksi Dragendorff mengandung alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan jingga yang mengendap di bawah tabung reaksi dan endapan jingga yang melayang dalam larutan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Harborne (1987) bahwa ekstrak yang mengandung senyawa alkaloid akan membentuk endapan jingga dengan reagen Dragendorff dan membentuk endapan putih dengan reagen Meyer. Endapan yang terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Tujuan penambahan HCl 2 % dalam uji alkaloid adalah untuk mengekstrak alkaloid karena alkaloid bersifat basa. Harborne (1996) menyebutkan tujuan penambahan HCl

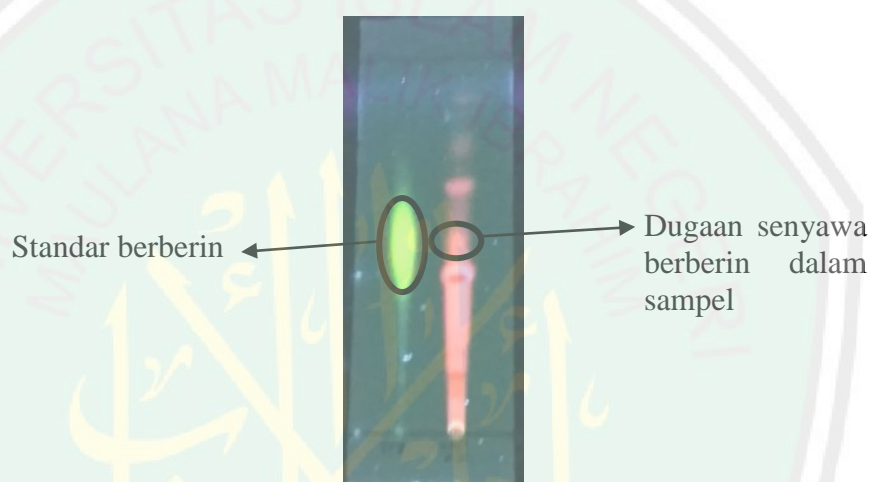
adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2007). Alkaloid berberin adalah senyawa yang tersusun dari atom nitrogen tanpa adanya PEB (pasangan elektron bebas) karena sudah digunakan untuk berikatan dengan 3 atom C, sehingga senyawa alkaloid yang bereaksi dan menghasilkan senyawa kompleks bukan dari senyawa berberin. Senyawa berberin dapat diidentifikasi secara kualitatif menggunakan reagen Frohde dan reagen Mandelin (Peach, K. dan Tracey, M.V., 1980). Pada umumnya senyawa alkaloid memiliki atom N dengan 1 PEB. PEB tersebut akan digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam sehingga terbentuk senyawa kompleks (Mc Murry, 2004 dalam Marliana, 2005).

#### **4.4 Identifikasi Senyawa Berberin Menggunakan Metode KLTA**

KLT Analitik (KLTA) dilakukan untuk mengetahui spot berberin yang terdapat dalam sampel dengan cara membandingkan nilai  $R_f$  spot pada sampel dengan  $R_f$  standar berberin. Proses KLTA dilakukan dengan mengelusikan fraksi etil asetat dari tanaman Anting-anting dengan standar berberin secara bersamaan. Eluen yang digunakan pada proses KLT yaitu sikloheksana: toluena: dietilamin (75;15;10), hal ini berdasarkan pada penelitian Fadhilah (2016) yang menunjukkan bahwa eluen tersebut dapat memisahkan dengan baik senyawa alkaloid yang ada dalam sampel tanaman Anting-anting.

Preparasi plat KLT dan kondisi bejana eluen dilakukan untuk memaksimalkan proses kromatografi yang terjadi. Proses pemanasan plat KLT sebelum digunakan bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat agar tidak mengganggu proses kromatografi (Sastrohamidjojo, 2007). Eluen yang digunakan sebagai fase gerak dilakukan penjenjuran terlebih dahulu yang bertujuan agar campuran eluen dapat mengelusi ekstrak dengan baik. Gambar hasil KLTA disajikan dalam Gambar 4.3 sebagai berikut.



Gambar 4.3 Hasil KLTA standar berberin dan fraksi etil asetat dengan eluen sikloheksana : toluena : dietil amin (75 : 15 : 10)

Noda warna kuning kehijauan yang muncul menunjukkan senyawa berberin dengan nilai  $R_f$  0,560, sedangkan dalam ekstrak nampak noda berwarna merah pucat dengan nilai  $R_f$  0,585 yang diduga adalah senyawa berberin yang terdapat dalam fraksi etil asetat. Walaupun memiliki nilai  $R_f$  yang hampir sama, kedua spot tersebut memiliki warna yang berberda saat diamati dibawah sinar UV 366 nm. Senyawa berberin menunjukkan spot dengan warna kuning kehijauan, hal tersebut sesuai dengan yang ditulis Wagner, H (2001), bahwa senyawa berberin akan menampakkan warna kuning kehijauan saat disinari dibawah sinar UV 366 nm. Dari hasil KLTA tersebut dapat disimpulkan bahwa eluen sikloheksana: toluena:

dietilamin (75;15;10) tidak dapat memisahkan senyawa berberin yang terdapat dalam fraksi etil asetat tanaman anting-anting dengan baik.

#### 4.5 Optimasi Laju Alir dan Fase Gerak pada Pemisahan Senyawa Berberin

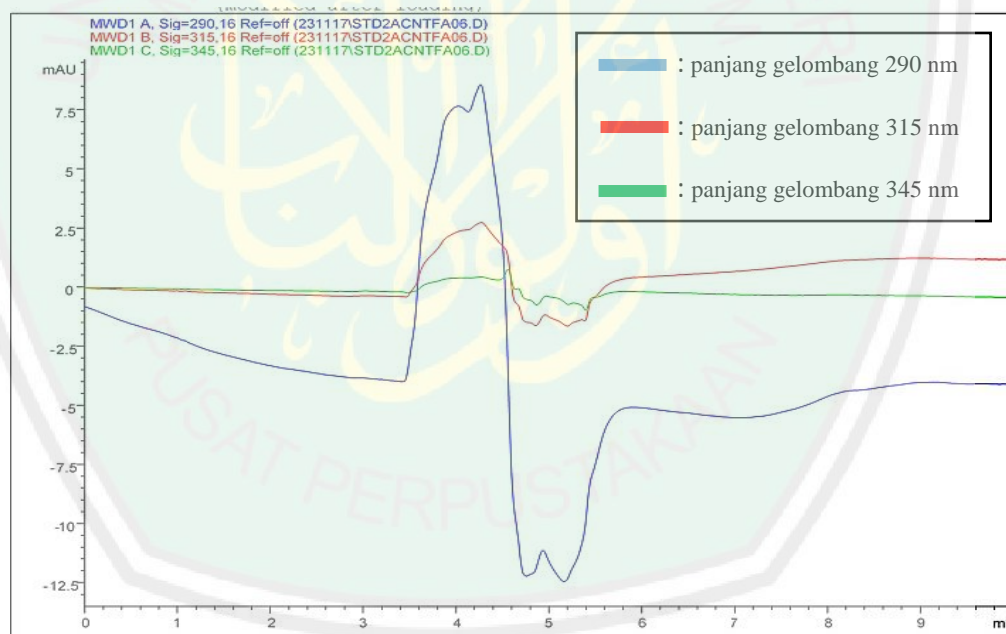
Optimasi laju alir dan fase gerak dilakukan dengan menganalisis hasil kromatogram senyawa berberin pada variasi fase gerak methanol;buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan laju alir 0,6 mL/min;0,8 mL/min;1,0 mL/min dan fase gerak asetonitril;buffer TFA (0,1%) (60:40 v/v) dengan laju alir 0,6 mL/min;0,8 mL/min;1,0 mL/min pada panjang gelombang 290 nm, 315 nm, dan 345 nm dengan metode elusi yang digunakan adalah isokratik. Metode isokratik berarti perbandingan eluen tetap atau tidak mengalami perubahan selama proses elusi berlangsung (Rohman: 2007). Penggunaan buffer TFA pada eluen berdampak pada kromatogram yang dihasilkan. Nilai pH < 2,5 (asam) dari buffer menyebabkan nilai absorbansi sampel menjadi kecil (Kazakevich, Y & LoBrutto R, 2007). Penggunaan buffer dengan nilai < 2,5 juga mencegah terjadinya deprotonasi gugus hidroksi dari molekul kolom silika C-18 (deprotonasi terjadi pada pH > 3,5) sehingga kolom dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang.

Spesifikasi alat KCKT yang digunakan adalah tipe *Agilent 1200 Series*, kolom Zorbax ODS 4,6 x 250 mm, 5  $\mu$ m (880952-702), detektor UV pada panjang gelombang 290, 315, dan 345 nm. Berdasarkan jenis kolom yang digunakan, metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode fase terbalik. Kolom C-18 bersifat non-polar dan eluen metanol, asetonitril, dan TFA 0,1 % bersifat polar. Hasil optimasi ditunjukkan pada Tabel 4.2 dan Gambar kromatogram 4.4 – 4.9 berikut ini.

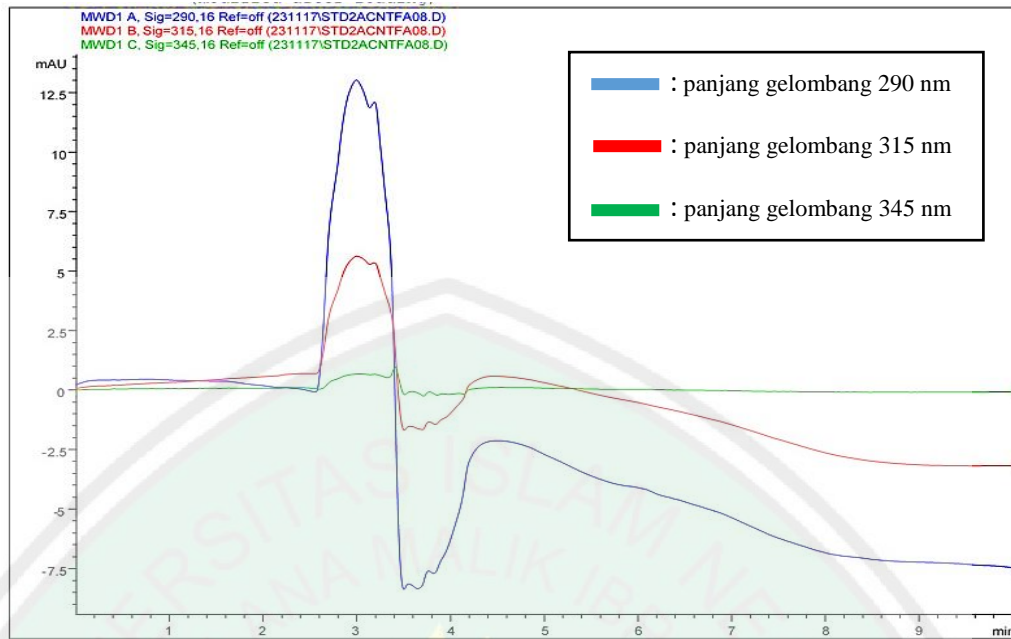


Tabel 4.2 Hasil optimasi laju alir dan fase gerak

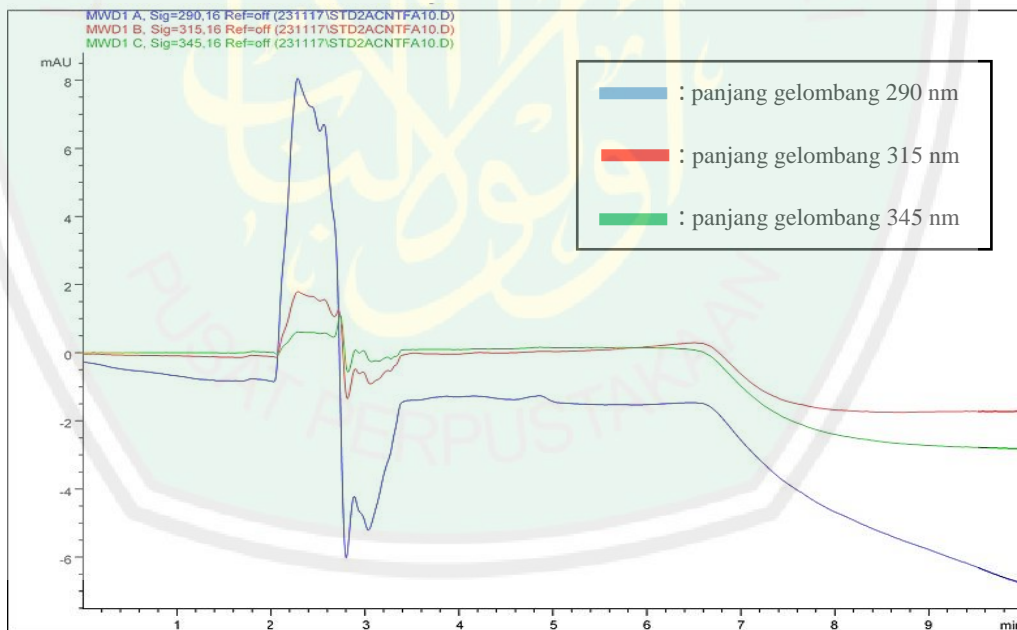
Parameter optimasi	$\lambda$	Asetonitril : buffer TFA (0,1%) (40:60 v/v)			Metanol : buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v)		
		0,6	0,8	1,0	0,6	0,8	1,0
		<b>Waktu retensi (menit)</b>	<b>290</b>	4,263	3,184	2,282	4,870
	<b>315</b>	4,270	3,186	2,284	4,601	3,364	2,652
	<b>345</b>	4,668	4,407	2,734	4,524	3,264	2,518
<b>Plat teoritis (N)</b>	<b>290</b>	204,30	213,09	238,96	435,63	453,62	374,89
	<b>315</b>	255,76	233,76	219,83	1287,00	882,33	779,29
	<b>345</b>	327,94	267,65	244,07	2832,7	1565,2	1055,6
<b>HETP (H)</b>	<b>290</b>	0,122369	0,117316	0,104618	0,057387	0,055111	0,071861
	<b>315</b>	0,097747	0,106946	0,113723	0,019425	0,028334	0,032080
	<b>345</b>	0,076232	0,093404	0,102428	0,008825	0,015972	0,023683
<b>Tekanan kolom (kgf/cm<sup>2</sup>)</b>		70	93	116	138	182	193



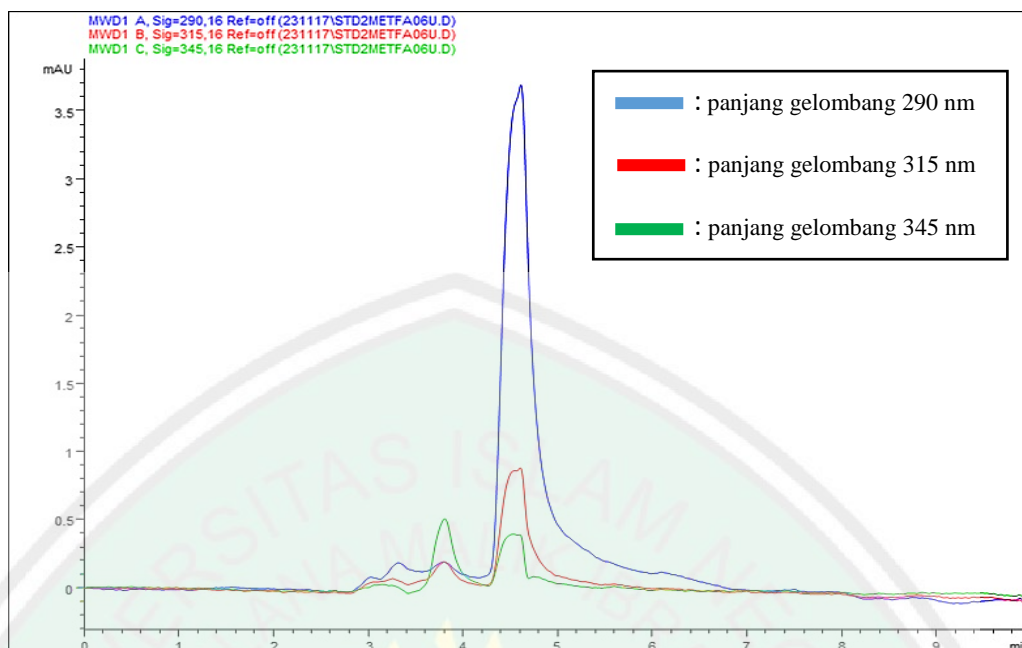
Gambar 4.4 Kromatogram standar berberin pada kondisi eluen asetonitril : buffer TFA (0,1%) (60:40 v/v) dengan laju alir 0,6 mL/min



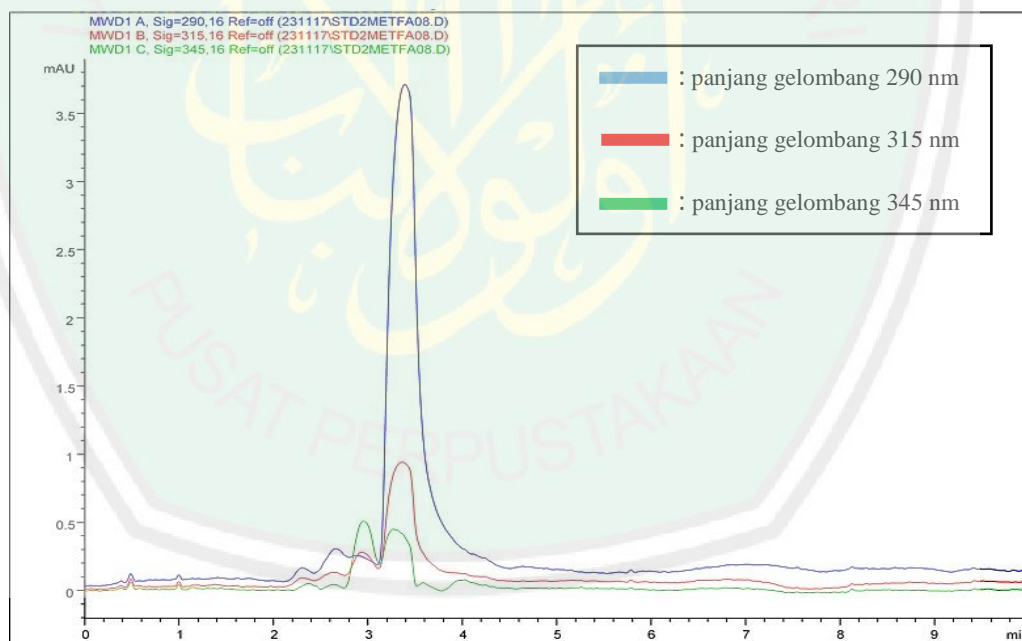
Gambar 4.5 Kromatogram standar berberin pada kondisi eluen asetonitril : buffer TFA (0,1%) (60:40 v/v) dengan laju alir 0,8 mL/min



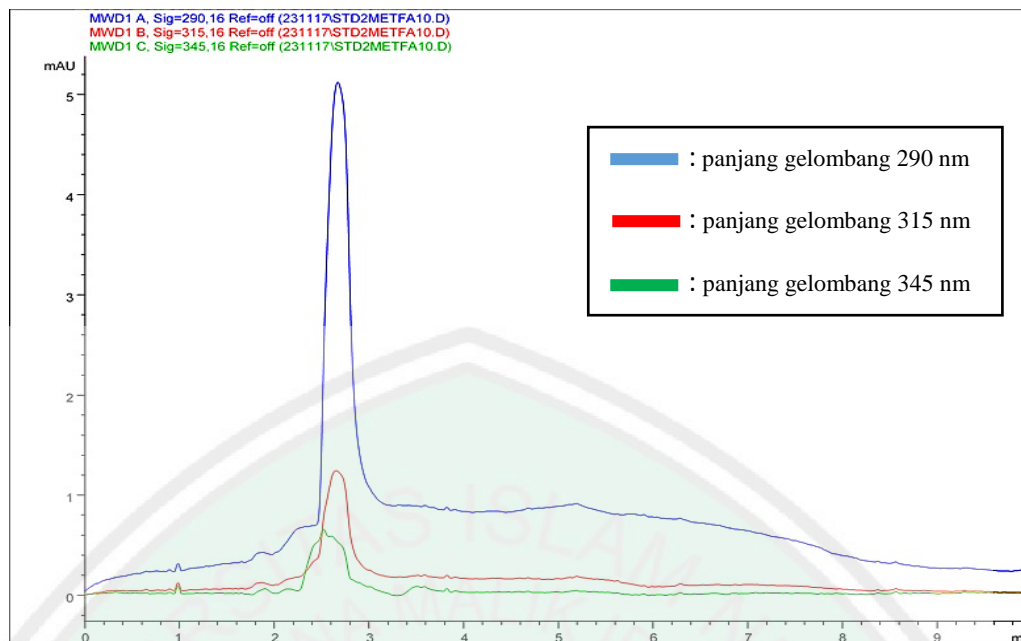
Gambar 4.6 Kromatogram standar berberin pada kondisi eluen asetonitril : buffer TFA (0,1%) (60:40 v/v) dengan laju alir 1,0 mL/min



Gambar 4.7 Kromatogram standar berberin pada kondisi eluen metanol : buffer TFA (0,1% ) (50:50 v/v) dengan laju alir 0,6 mL/min



Gambar 4.8 Kromatogram standar berberin pada kondisi eluen metanol : buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan laju alir 0,8 mL/min



Gambar 4.9 Kromatogram standar berberin pada kondisi eluen metanol : buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan laju alir 1,0 mL/min

Dalam proses kromatografi ini, senyawa berberin mengalami interaksi dengan kolom sebelum akhirnya masuk ke detektor. Selain konsep *like dissolve like* (interaksi berdasarkan sifat kepolaran), interaksi pertama yang terjadi adalah gaya Van der Waals antara senyawa berberin dengan molekul kolom. Interaksi kedua yang terjadi adalah ikatan hidrogen. Gugus -OH pada material kolom C-18 berinteraksi dengan atom O pada senyawa berberin, sehingga senyawa berberin tertahan sementara di dalam kolom karena adanya interaksi tersebut. Ikatan hidrogen memiliki kekuatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan gaya Van der Waals, sehingga banyaknya ikatan hidrogen yang terjadi antara senyawa dengan fase diam, menyebabkan senyawa tersebut semakin lama tertahan di dalam fase diam (Sukardjo, 1990). Gaya intermolekul tersebut akan mempengaruhi nilai waktu retensi ( $t_R$ ). Semakin sedikit interaksi yang terjadi antara sampel dengan fase diam maka semakin cepat waktu retensinya dan semakin banyak interaksi antara sampel dengan fase diam maka semakin lambat waktu retensinya.



Identifikasi data pada tabel 4.2 dan kromatogram pada gambar 4.4 - 4.6 menunjukkan penggunaan fase gerak asetonitril : buffer TFA (0,1%) (40:60 v/v) pada panjang gelombang 290, 315, dan 345 nm dengan laju alir 0,6 ; 0,8 ; 1,0 mL/min. Pada kondisi tersebut, kromatogram senyawa berberin memiliki bentuk puncak yang tidak simetris dan muncul puncak negatif (nilai absorbansi negatif).

Munculnya puncak ganda (*double peak*) dalam kromatogram menunjukkan bahwa kondisi tersebut tidak optimal dalam memisahkan senyawa berberin. Nilai N (plat teoritis) dan H (tinggi ekuivalen plat teoritis) pada kondisi eluen tersebut juga menunjukkan nilai yang kurang baik (nilai N kecil dan H besar). Data waktu retensi juga menunjukkan bahwa penggunaan fase gerak asetonitril : buffer TFA (0,1%) (40:60 v/v) memiliki nilai yang cenderung lebih besar walaupun tidak signifikan jika dibandingkan dengan penggunaan fase gerak metanol : buffer TFA (50:50 v/v). Berdasarkan analisis tersebut, dapat disimpulkan bahwa kondisi tersebut kurang efisien untuk digunakan pada proses analisis selanjutnya.

Berbeda dari hasil kromatogram yang menggunakan fase gerak asetonitril : buffer TFA (0,1%) (40:60 v/v), hasil kromatogram pada kondisi fase gerak metanol : buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) pada gambar 4.7 – 4.9 tidak menunjukkan munculnya puncak negatif dan *double peak*. Data Kromatogram yang menggunakan laju alir 0,6 mL/min dan 0,8 mL/min (gambar 4.7 dan 4.8) pada panjang gelombang 345 nm menunjukkan adanya dua puncak (*ghost peak*) yang muncul. Jarak waktu retensi antara *ghost peak* dengan puncak senyawa berberin (nilai absorbansi unit tinggi) semakin kecil saat laju alir dipercepat ( $\pm 0,7$  menit pada laju alir 0,6 mL/min dan  $\pm 0,3$  menit pada laju alir 0,8 mL/min) dan hilang pada kondisi laju alir 1 mL/min.

Jika dilihat dari nilai  $N$  (plat teoritis) pada tabel 4.2, maka kedua kondisi (laju alir 0,6 mL/min dan 0,8 mL/min) tersebut memiliki nilai yang lebih baik dibandingkan dengan nilai  $N$  (plat teoritis) pada kondisi laju alir 1 mL/min, akan tetapi dikarenakan adanya *ghost peak*, menyebabkan kondisi tersebut tidak digunakan dalam analisis lebih lanjut. Menurut teori laju atau Van Deemter ( $H=A+B/\mu+C\cdot\mu$ ) terdapat 4 hal yang mempengaruhi baiknya proses pemisahan. Nilai  $A$  merupakan efek difusi Edy, nilai  $B$  merupakan efek difusi longitudinal, nilai  $C$  merupakan efek transfer massa, dan nilai  $\mu$  merupakan laju alir fase gerak. Dalam penelitian ini, seiring dengan ditingkatkannya laju alir maka proses pemisahan yang terjadi semakin baik. Besarnya laju alir yang digunakan akan mempengaruhi nilai  $B$  (difusi longitudinal). Nilai  $B$  (difusi longitudinal) akan semakin kecil nilainya apabila laju alir fase gerak diperbesar. Hal tersebut dikarenakan senyawa berberin akan terdifusi lebih lama dalam fase gerak saat laju alir cepat. Sehingga disimpulkan *ghost peak* muncul karena besarnya pengaruh difusi longitudinal ( $B$ ).

Kondisi eluen metanol : buffer TFA (50:50 v/v) dengan laju alir 1 mL/min pada Panjang gelombang 290, 315, dan 345 nm (gambar 4.9) memiliki waktu retensi yang paling cepat yakni sebesar 2,668; 2,662; dan 2,518 menit. Nilai waktu retensi senyawa berberin yang muncul pada kromatogram juga tergolong cepat jika dibandingkan dengan penelitian sejenis dengan spesifikasi kolom yang hampir sama, yakni pada penelitian Gondaliya, dkk., (2014) dengan panjang dan diameter kolom sama serta fase gerak metanol : air buffer TFA (0,1%) dengan laju alir 1,0 mL/min menghasilkan waktu retensi pada menit ke 7,89. Selain itu, puncak yang dihasilkan dari kondisi tersebut tunggal. Tekanan pada kolom juga menunjukkan angka 193 Kgf/cm<sup>2</sup>. Kondisi tersebut merupakan kondisi yang paling optimal untuk

memisahkan senyawa berberin dengan nilai waktu retensi yang rendah, bentuk puncak yang cukup bagus dan tekanan kolom yang baik. Kondisi tekanan kolom dengan nilai  $<210 \text{ Kgf/cm}^2$  juga merupakan kondisi yang baik, karena tidak akan cepat merusak kolom (Kazakevich, Y & LoBrutto R, 2007). Selain itu, nilai plat teoritis (N) sebesar 1055.6 merupakan nilai yang cukup baik untuk suatu kondisi pemisahan dengan KCKT. Kondisi tersebut akan digunakan dalam proses analisis selanjutnya.

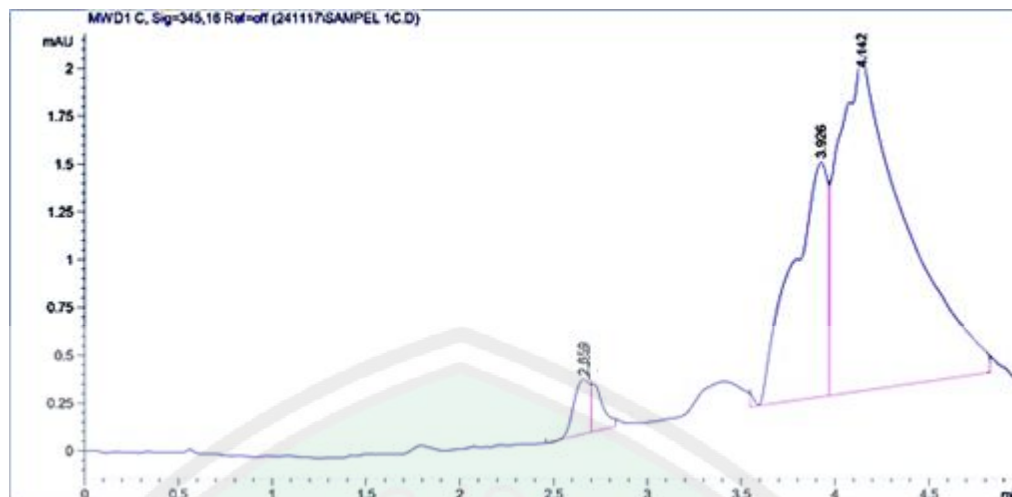
#### 4.6 Penentuan Kadar Senyawa Berberin dalam Sampel

Kadar senyawa berberin dalam sampel ditentukan menggunakan metode standar eksternal. Pembuatan kurva standar dilakukan pada panjang gelombang 290 nm; 315 nm; dan 345 nm untuk mengetahui panjang gelombang optimal untuk menganalisis kadar senyawa berberin dalam sampel. Hasil persamaan kurva standar ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Persamaan Kurva Standar

Panjang gelombang	Persamaan kurva standar	Regresi linier
290 nm	$y = 0,222383x + 26,83678$	0,86853
315 nm	$y = 0,101518x + 8,99479$	0,92402
345 nm	$y = 0,0185243x + 3,54490$	0,95871

Nilai regresi linier dari pada panjang gelombang 345 nm menunjukkan angka yang paling baik yakni dengan nilai 0,95871. Nilai regresi linier semakin mendekati satu maka semakin baik pula kurva standar yang dihasilkan. Oleh karena itu, persamaan kurva standar pada Panjang gelombang 345 nm digunakan untuk menentukan kadar berberin dalam sampel. Hasil kromatogram fraksi etil asetat tanaman anting-anting dapat dilihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Kromatogram fraksi etil asetat pada Kondisi Eluen Metanol : Buffer TFA (0,1%) (50 v/v) dengan Laju Alir 1,0 mL/min pada Panjang gelombang 345 nm

Sampel fraksi etil asetat 100  $\mu\text{g/mL}$  (faktor pengenceran 25x) setelah itu di injeksikan sebanyak 2  $\mu\text{L}$ . Hasil masing-masing menunjukkan puncak pada waktu retensi 2,659 ; 3,926 ; 4,142. Dari beberapa waktu retensi tersebut, puncak yang merupakan senyawa berberin adalah yang memiliki waktu retensi 2,659 menit pada fraksi etil asetat, karena nilai tersebut mendekati waktu retensi dari standar berberin saat optimasi yakni 2,518 menit. Waktu retensi senyawa berberin dalam sampel sedikit lebih lama dibandingkan dengan waktu retensi dari standar. Hal tersebut dapat disebabkan karena dalam fraksi etil asetat masih terdapat senyawa lain selain berberin (pada Gambar 4.10 terdapat 2 puncak dengan waktu retensi yang berbeda selain puncak senyawa berberin), kondisi tersebut mengakibatkan semakin banyak interaksi yang terjadi dalam proses pemisahan sehingga mengakibatkan waktu retensi dari senyawa berberin dalam fraksi etil asetat menjadi lebih lama.

Nilai luas area puncak pada waktu retensi tersebut digunakan untuk menghitung kadar senyawa berberin dalam fraksi etil asetat. Nilai luas area puncak dimasukkan ke dalam persamaan  $y = 0,0185243x + 3,54490$  dan didapatkan nilai



kadar senyawa berberin dalam fraksi etil asetat (Faktor Pengenceran 25x) sebesar 0,472812  $\mu\text{g/mL}$  atau 11,8203  $\mu\text{g/mL}$ . Teridentifikasinya senyawa berberin dalam sampel tanaman Anting-anting sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan instrument LC-MS dan diketahui terdapat puncak yang diduga sebagai senyawa berberin (Husna, 2011; Lisiyana, 2016; dan Rosyidah, 2016).

Nilai resolusi dari pemisahan senyawa berberin dalam fraksi etil asetat sebesar 2,4045 (antara puncak dengan tR 2,659 dengan tR 3,926). Nilai resolusi merupakan ukuran kuantitatif dari suatu pemisahan. Nilai resolusi dihitung dengan membandingkan jarak antara dua puncak yang berdekatan dibagi dengan rata-rata lebar puncak. Nilai resolusi yang baik yakni apabila mendekati nilai 1,5 atau lebih (Rohman, 2007). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan juga bahwa pemisahan senyawa berberin dalam kedua sampel terjadi dengan baik.

#### **4.7 Relevansi Hasil Temuan dengan Perspektif Islam**

Penelitian ini difokuskan untuk memisahkan senyawa alkaloid jenis berberin yang terkandung di dalam tanaman anting-anting. Senyawa berberin dalam tanaman Anting-anting dapat dipisahkan secara optimum menggunakan instrumen KCKT dengan kondisi eluen metanol: buffer TFA 0,1% (50:50 v/v) dengan laju alir 1 mL/min pada Panjang gelombang 345 nm. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa senyawa alkaloid berberin dalam tanaman Anting-anting memiliki kadar sebesar 11,8203  $\mu\text{g/mL}$  (pada fraksi etil asetat).

Hasil temuan kadar senyawa berberin dalam tanaman Anting-anting tersebut telah dijelaskan secara tersirat dalam Q.S. Al-Qamar ayat 49 tentang penciptaan segala makhluk dengan kadar tertentu:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ (٤٩)

Artinya: *Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.* (Qs. Al-Qamar ayat 49)

Qs. Al-Qamar ayat 49 menunjukkan bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah sesuai dengan naluri, sifat-sifat dan fungsinya masing-masing dalam hidup. Dalam tafsir Ibnu Katsir (2004) menjelaskan bahwa Allah SWT telah menentukan atau memberi ukuran/kadar masing-masing makhluk-Nya dan memberi petunjuk kepada makhluk-Nya. Semua makhluk telah ditetapkan kadarnya dalam segala hal. Kadar berberin yang terdapat dalam tanaman Anting-anting nantinya dapat digunakan sebagai dasar dalam standarisasi tanaman tersebut menjadi tanaman obat, sehingga dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai salah satu obat herbal.

Manfaat tanaman Anting-anting sebagai salah satu obat herbal sudah terbukti dari beberapa hasil penelitian. Senyawa berberin yang terkandung dalam tanaman tersebut juga memiliki berbagai fungsi sebagai obat antimalaria dan antidiabetes. Rasulullah SAW bersabda dalam haditsnya:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً جَهْلُهُ مَن جَهْلُهُ وَ عِلْمُهُ مَن عِلْمُهُ

Artinya: *Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya* (HR. Ahmad). (Al-Qaradhawi, 1998).

Semua penyakit berdasarkan hadits tersebut pastilah memiliki obatnya sendiri-sendiri. Dalam penelitian ini, dengan diketahuinya kandungan senyawa berberin dalam tanaman Anting-anting diharapkan dapat menjadi jawaban mengenai obat dari penyakit malaria dan diabetes, sehingga tanaman Anting-anting dapat bermanfaat khususnya dalam bidang pengobatan tradisional.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Laju alir dan fase gerak optimum yang digunakan untuk memisahkan senyawa berberin yakni dengan laju alir 1 mL/min dan fase gerak methanol:air (0,1% TFA) (50;50 v/v).
2. Kadar senyawa berberin dalam tanaman anting-anting (*Acalypha Indica L.*) yakni 11,8203  $\mu\text{g/mL}$  (100 ppm fraksi etil asetat).

#### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan optimasi KLT untuk dapat mengidentifikasi senyawa berberin dalam sampel secara lebih efisien.
2. Uji fitokimia dan reagen penyemprot pada KLT untuk mengidentifikasi senyawa berberin dapat dilakukan dengan menggunakan reagen Frohde dan reagen Mandelin.
3. Perlu dilakukan optimasi metode elusi gradien untuk mengoptimalkan proses pemisahan.
4. Perlu dilakukan validasi metode KCKT dalam pemisahan senyawa berberin agar dapat digunakan untuk analisis secara rutin dan berkala.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Bukhari, Abu Abdillah Muhammad bin Ismail. 1969. Shahih Bukhari (Terjemah). Jakarta: Wijaya Jakarta.
- Al-Maraghi, Ahmad Mushthafa. 1993. Tafriis Al-Maraghi (Terjemah). Semarang: Toha Putra.
- Al-Qardhawi, Y. 1998. *Sunnah Rasul Sumber Ilmu Pengetahuan dan Peradaban*. Jakarta: Gema Insani Pers.
- Al-Qurthubi, S.I. 2009. Tafsir Al Qurthubi. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Amelia, Fani Putri, & Suyatno. 2014. Aktivitas Biolarvasida Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Bakau Merah ( *Rhizophora stylosa* ) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* . 3(3).
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. 8(2), 53 – 61.
- Berridge, J.C. 1985. *Techniques for the Automated Optimization of HPLC Separations*. Britain: John Wiley & Sons Ltd. 1-4.
- Dalimartha S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid II*. Jakarta: Trubus Agri Widya. 123-5.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta:Departemen Kesehatan RI: 15,299,421-422,1009-1011.
- Dolan, J. (n.d.). 2006. A Guide to HPLC. ACE HPLC Columns.
- Dong,M.W. 2006. *Modern HPLC for practicing scientists*. New York: John Wiley and Sons: 26.
- Fadhilah, Ulum Sholihatul. 2016. Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat dan Ekstrak Kasar Alkaloid Tenaman Anting-Anting (*Achalipa Indica Linn.*) sebagai Antimalaria pada Parasit *Plasmodium Falciparum*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Fera, Okta. Arifin, Helmi. Almahdy A. 2014. Uji Efek Antidiabetes dan Toksisitas Akut Ekstrak Kental Tumbuhan Anting-Anting (*Achalipa Indica Linn.*) pada Mencit Putih Jantan. Prosiding Seminar dan Workshop “Pengembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV” Tahun 2014.
- Gandjar, Ibnu Ghalib. Rohman, Abdul. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gondaliya, Ankita V., Vikani, K., Kapupara, Pankaj P. 2014. Development and



- Validation of Analytical Method for Simultaneous Estimation of Ebastine and Phenylephrine Hydrochloride in Tablet Dosage Form, *4*(7), 16–40.
- Grycová, L., Dostál, J., Marek, R. 2007. Quarternary Protoberberine alkaloids. *Phytochemistry*. 68. 150-175.
- Hayati, E. K., & Halimah, N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-Anting ( *Acalypha indica* Linn .) PLANT EXTRACT. *Alchemy*, *1*(2), 75–82.
- Hayati, E. K., Jannah, A., Ningsih, R., Kimia, J., Malik, M., & Malang, I. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.), *7*(1), 20–32.
- Husna, Ana Nihayatul. 2011. Identifikasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Achalipa Indica* Linn.) dan Uji Aktifitas Antimalaria *in Vivo* pada Hewan Uji. *Skripsi Tidak Diterbitkan*: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hutapea, J. R. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ibnu Katsir, Al- Imam Abu Fida Isma'il. *Terjemahan Tafsir Ibn Katsir*. Jakarta: Sinar Baru AL- Gensindo, 2004.
- Kazakevich, Y & LoBrutto R. 2007. *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc.
- Karthikeyan, R., Devadasu, C., Srinivasa, P., & Sukumar, C. 2014. Isolation , characterisation and RP-HPLC estimation of berberine in homeopathic formulation, *3*(4), 31–37.
- Kenkel, J. 1994. *Analytical chemistry for technicians*. 2nd Edition. New York: CRC Press: 394, 412.
- Kristanti, A. N. Nanik Siti Aminah. Mulyadi Tanjung. Bambang Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia* . Surabaya : Universitas Airlangga Press.
- Koide T, et, all. 2001. *kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho*. (119): 97-100.
- Lisiyana, Nur. 2016. Isolasi Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.) dengan Variasi Kecepatan Laju Alir menggunakan Kromatografi Kolom. Uji. *Skripsi Tidak Diterbitkan*: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Liu, F., Li, Z., Shi, X., & Zhong, M. 2011. Determination of berberine, palmatine and jatrorrhizine in rabbit plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *56*(5), 1006–1015. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.08.001>

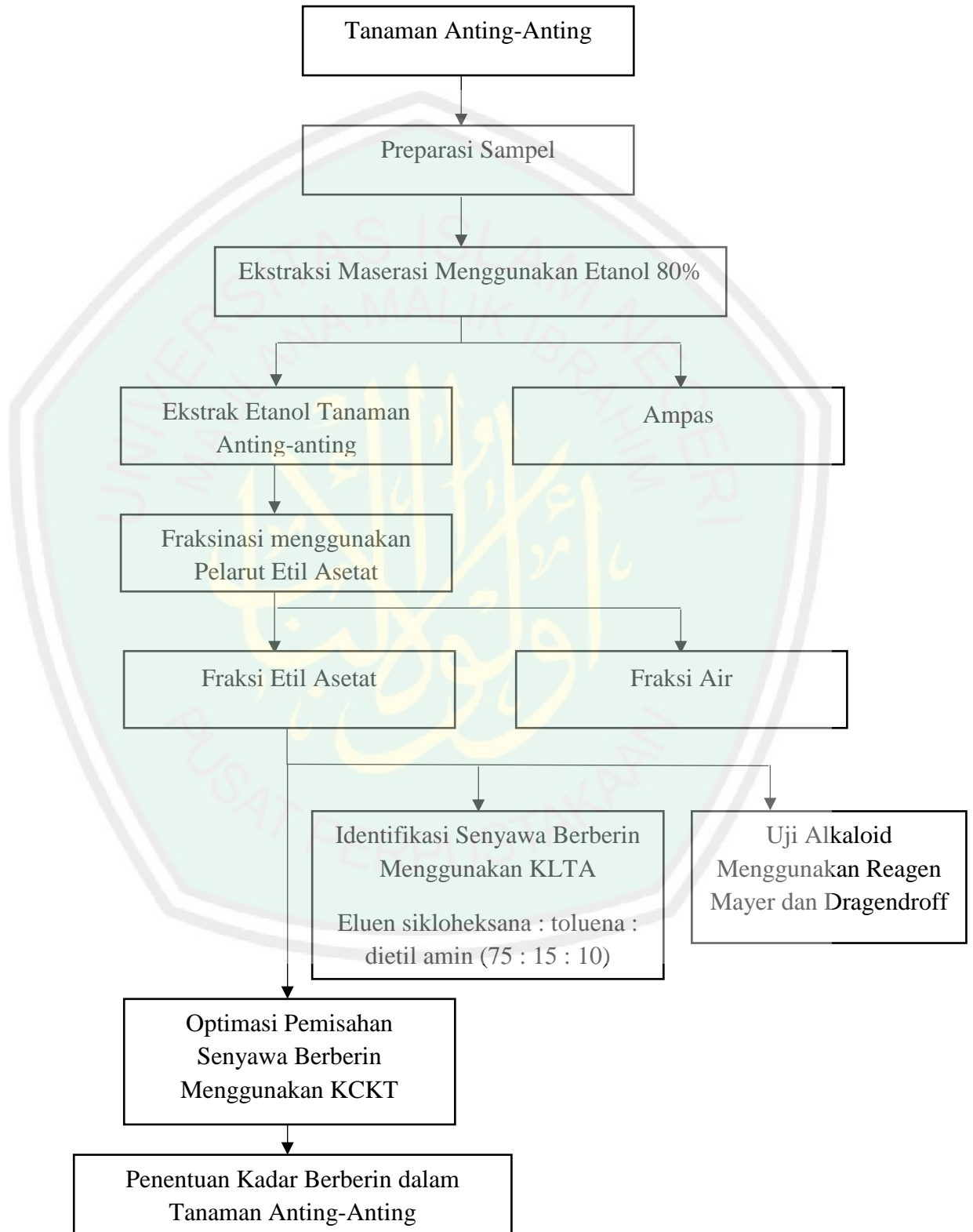
- Maryanti, E. 2006. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Hasil Isolasi dari Daun Tumbuhan Pacah Piriang ( *Ervatamia coronaria* ( Jacq .) Stapf ), 2(2), 176–178.
- Ngibad, Khoirul. 2013. Efektifitas Kombinasi Ekstrak Etanol 80% daun Bunga Matahari (*Helinmuss annuus*) dan Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn.) Sebagai Antimalaria serta Uji Kadar Sisa Etanol 80%. Uji. *Skripsi Tidak Diterbitkan*: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nurhaman A. 2010. *Acalypha Indica* L. E-Prosea.SP.PC. 2:1003 (1753).
- Pfoze, N. L., Myrboh, B., Kumar, Y., & Rohman, R. 2014. Journal of Medicinal Plants Studies Isolation of Protoberberine Alkaloids from Stem Bark of *Mahonia manipurensis* Takeda Using RP-HPLC, 48–57.
- Pine, S. H. dkk, 1998. *Kimia Organik 1*, Bandung: ITB.
- Pradhan, D., Biswasroy, P., & Suri, K. A. 2013. Isolation of Berberine from *Berberis vulgaris* Linn . and Standardization of Aqueous extract by RP-HPLC. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(2), 2–7.
- Pramita, D., Sayekti, E., Kimia, P. S., & Tanjungpura, U. 2013. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum, 2(3), 1–6.
- Protabase Record display. 2010. *Acalypha indica* L. Protologue 2: 1003. 1753.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. 2012. Skining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis ( *Garcinia mangostana* L .).
- Ren, L., Xue, X., Zhang, F., Xu, Q., & Liang, X. 2007. High performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis of protoberberine alkaloids in medicine herbs. *Journal of Separation Science*, 30(6), 833–842. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600246>
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis* . Yogyakarta: Pustaka pelajar.
- Rosjanga, P., Gritsanapan, W. and Sontornsuk, L. 2006. Determination of berberine content in the stem extract of *coscinium fenestratum* by TLC Densitometry. *Med.Princ. Pract.*
- Rosyidah, Hilmatul. 2016. Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Anting-Anting (*Achalypha Indica* Linn.) Sebagai Herba Antimalaria. Uji. *Skripsi Tidak Diterbitkan*: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sa'adah, L., Elok K. H., Tri Kustono A., 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: UIN Malang.
- Shigwan, H., Saklani, A., Hamrapurkar, P. D., Mane, T., & Bhatt, P. 2013. HPLC

Method Development and Validation for Quantification of Berberine from *Berberis aristata* and *Berberis tinctoria*, (October 2012), 203–211.

- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* Vol.7,8 dan 10. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Singh, R., Pasrija, A., Katiyar, C. K., 2010. Validated HPLC-UV Method for the Determination of Berberine in Raw Herb *Daruharidra* (*Berberis aristata* DC), Its Extract, and in Commercially Marketed Ayurvedic Dosage Forms, *International Journal of Ayurveda Research*. 1(4), 243-246.
- Srinivasan, Med, I., Medica, E. E., Abstracts, I. P., & Abstracts, C. 2008. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* Scienti fi c Publication of the Indian Pharmaceutical Association Simultaneous Estimation of Esomeprazole and Domperidone by UV Spectrophotometric Method, 70(February).
- Sukardjo. 1990. *Ikatan Kimia*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Swarbrick, James. & James, C.B. 1988. *Encyclopedia of pharmaceutical technology volume I*. New York, USA: 233.
- Tarte, P. S., Shedharkar, G. R., College, N. P., Nagar, S., Matru, K., Sangh, S., & Nagar, S. 2014. Force Degradation Study of Berberine Chloride by Using Stability Indicating HPLC Method, 6(5), 1490–1500.
- Tracey, M.V. dan Peach, K. 1980. *Modern Methods of Plant Analysis Vol IV*. Berlin: Springer Verlag
- Wagner, H., dan Blatt, S., 1996. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Edisi Kedua, 22-23, 42-43, 359-362. Springer, Heidelberg.
- Wang, Q., Liu, W., Yang, S., Chen, D., & Chen, Z. 2013. Simultaneous Determination of Four Active Ingredients in Wuji Pellet by HPLC. *Chinese Herbal Medicines*, 5(4), 297–300. [https://doi.org/10.1016/S1674-6384\(13\)60044-1](https://doi.org/10.1016/S1674-6384(13)60044-1)
- Wei-Fang, D., L., Zong-Wen, & S., Han-Dong. 1994. A New Compound from *Acalypha Australis* L. Laboratory of Phytochemistry. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences.
- Yuniarti T. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Media Pressindo, Hal: 28-30.
- Zhu, F., dan Qian, C., 2006. Berberine Chloride Can Ameliorate the Spatial Memory Impairment and Increase the Expression of Interleukin-I Beta And Inducible Nitric Oxide Synthase In The Rat Model Of Alzheimer's Disease, *BMC neuroscience*, No.7. 78.

Lampiran 1

SKEMA KERJA

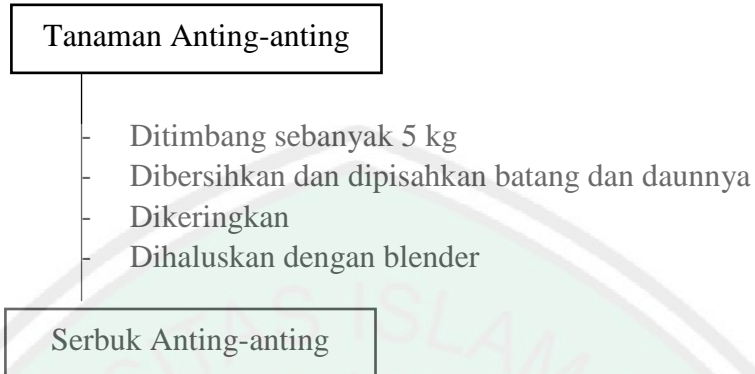




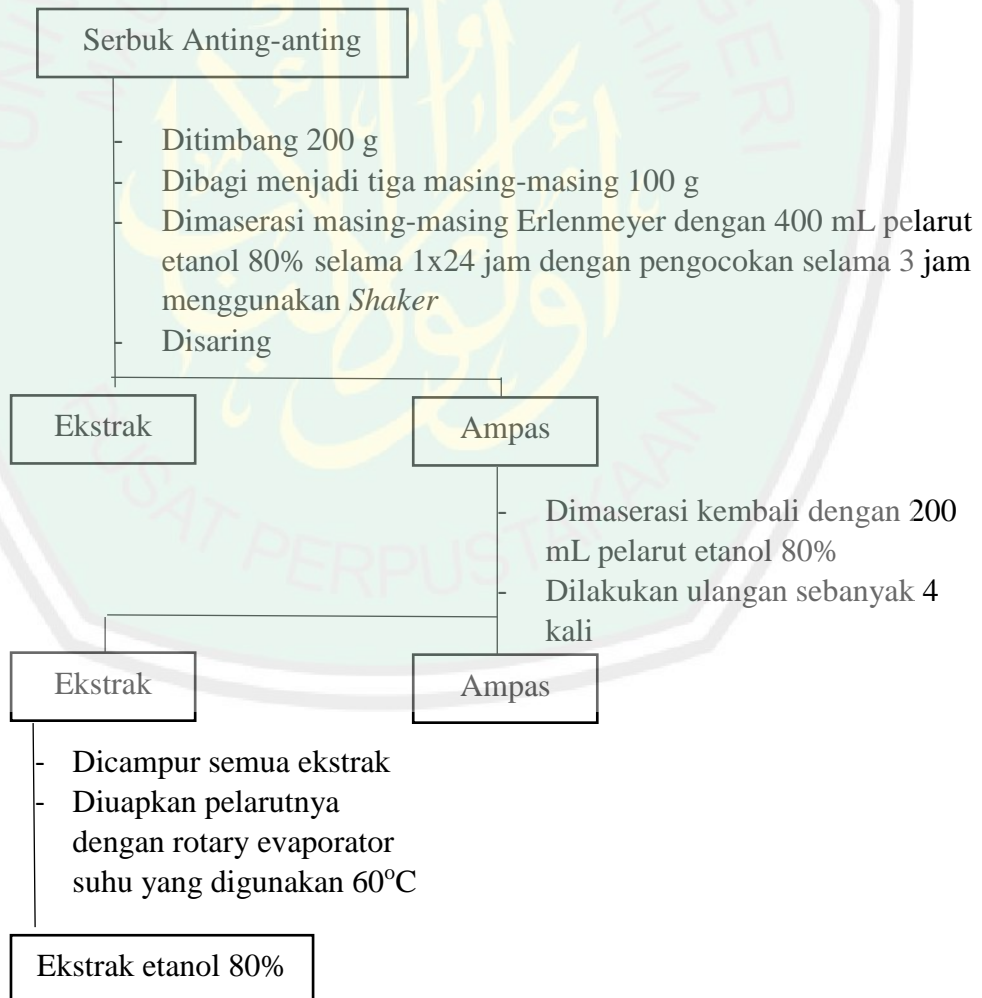
## Lampiran 2

### DIAGRAM ALIR

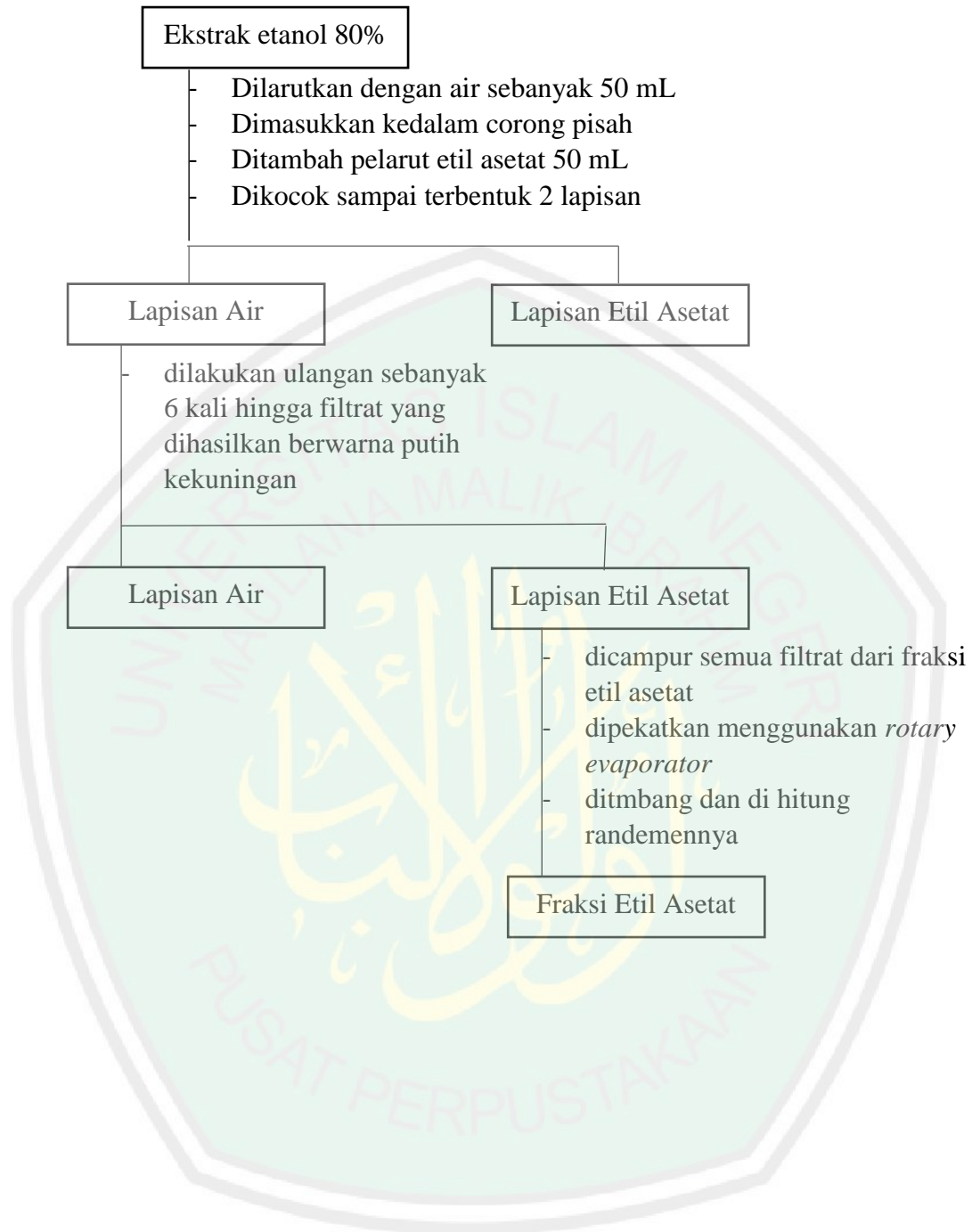
#### 1. Preparasi Sampel



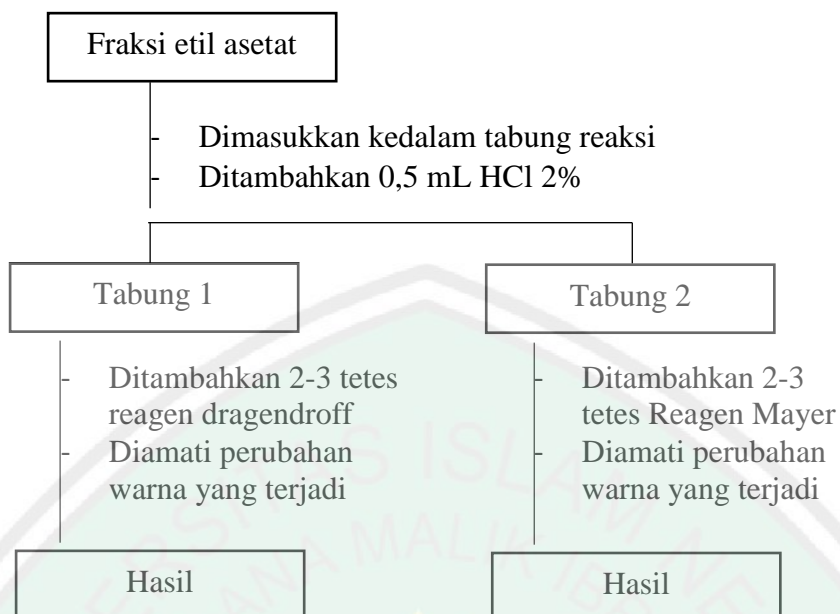
#### 2. Ekstraksi Sampel



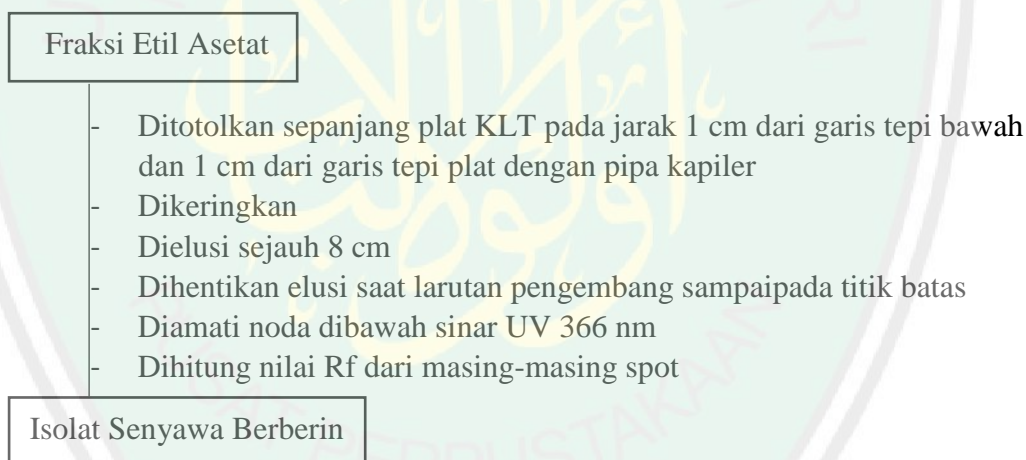
### 3. Fraksinasi menggunakan Pelarut Etil Asetat



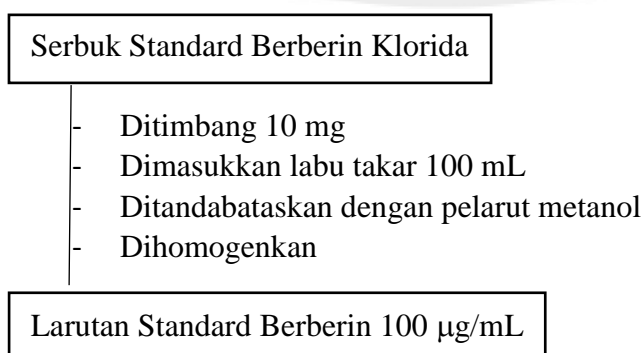
#### 4. Uji reagen Senyawa Alkaloid



#### 5. Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)



#### 6. Preparasi Larutan Stok Standard Berberin Klorida



## 7. Pembuatan Fase Gerak KCKT

Metanol KCKT Grade

- Diultrasonikkan sebanyak 500 mL selama 20 menit

Hasil

Asetonitril KCKT Grade

- Diultrasonikkan sebanyak 500 mL selama 20 menit

Hasil

Asam Trifloroasetat

- Diambil sebanyak 0,5 mL  
- Dimasukkan labu takar 500 mL  
- Ditandabatkan menggunakan akuabides  
- dihomogenkan

0,1% Buffer TFA PH 2

## 8. Optimasi Pemisahan Menggunakan KCKT

Standard berberin 2  $\mu\text{g/mL}$

- Diinjeksikan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ke dalam injector alat KCKT  
- Divariasikan fase gerak dan laju alirnya

Fase Gerak Metanol; Buffer TFA 0,1%	Laju alir 0,6; 0,8; dan 1,0 mL/min
Fase Gerak Asetonitril; Buffer TFA 0,1%	Laju alir 0,6; 0,8; dan 1,0 mL/min

- Dicatat waktu tambat dan tekanan kolom pada masing-masing fase gerak dan laju alir

Hasil



**9. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standard Berberin Klorida ( $Y=aX+b$ )**

Standard berberin 100  $\mu\text{g/mL}$

- Dipipet sebanyak 0,1 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; 3 mL
- Dimasukkan dalam labu takar 10 mL
- Ditandabatkan dengan pelarut metanol
- Diinjeksikan kedalam alat KCKT mulai konsentrasi terkecil
- Dibuat kurva kalibrasi

Hasil

**10. Penetapan Kadar Berberin Klorida dalam Fraksi Etil Asetat Tanaman Anting-Anting**

Fraksi Etil Asetat tanaman anting-anting

- Diinjeksikan kedalam alat KCKT sebanyak 20  $\mu\text{L}$
- Kondisi kromatografi sesuai hasil optimasi
- Diamati puncak yang muncul
- Didistribusikan luas area dari kromatogram isolat ke persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi

Hasil

### Lampiran 3 Pembuatan Larutan dan Reagen

#### 1. Pembuatan Larutan HCl 2 %

Diketahui :  $M1 = 37\%$

$M2 = 2\%$

$V2 = 10 \text{ mL}$

Ditanya :  $V1 ?$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$37\% \times V1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{0,2 \text{ mL}}{37\%}$$

$$V1 = 0,540 \text{ mL}$$

- Larutan HCL 2% ini kemudian digunakan pada uji kualitatif senyawa alkaloid sebelum penambahan reagen dragendroff dan Mayer.
- Larutan HCl 2% dibuat dengan mengambil sebanyak 0,540 mL HCL 37%, pengambilan dilakukan dilemari asam karena sifat HCl 37% yang mudah menguap. Kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 mL yang sudah di isi sedikit akuades terlebih dahulu agar panas yang ditimbulkan tidak begitu besar saat penandabatasan. Larutan kemudian ditandabatasan dan dihomogenkan sehingga mendapatkan larutan HCl 2% sebanyak 10 mL.

#### 2. Pembuatan Reagen Dragendroff

- Larutan I. 0,6 gr  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$
- Larutan II. 6 gr KI dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Larutan I dibuat dengan melarutkan 0,6 gr  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades. Larutan II dibuat dengan melarutkan 6 gr KI ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

### 3. Pembuatan Reagen Mayer

- Larutan I. 1,358 gr  $\text{HgCl}_2$  dalam 60 mL  $\text{H}_2\text{O}$
- Larutan II. 5 gr KI dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Larutan I dibuat dengan melarutkan 1,358 gr  $\text{HgCl}_2$  ke dalam 60 mL aquades.

Larutan II dibuat dengan melarutkan 5 gr KI ke dalam 10 mL aquades. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL.

### 4. Pembuatan Larutan Stok Standard Berberin Klorida

Diketahui : M yang dibutuhkan =  $100 \mu\text{g/mL} = 0,1 \text{ mg/mL}$

V yang dibutuhkan = 100 mL

Ditanya : massa standard yang dibutuhkan ?

$$\begin{aligned} 0,1 \text{ mg/mL} &= \frac{100 \times 0,1 \text{ mg}}{100 \times 1 \text{ mL}} \\ &= \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \end{aligned}$$

- Jadi, dibutuhkan sebanyak 10 mg serbuk standard berberin klorida
- Larutan Stok ini digunakan sebagai stok standard berberin yang bisa diencerkan konsentrasinya.
- Larutan ini dibuat dengan cara menimbang sebanyak 10 mg serbuk standard berberin, kemudian memasukkannya dalam labu takar 100 mL. kemudian ditandabatkan dan dihomogenkan. Hasil yang didapat yakni larutan stok berberin  $100 \mu\text{g/mL}$ .

### 5. Pembuatan Larutan Buffer TFA 0,1% (v/v)

Diketahui :  $M_1 = 100\%$

$M_2 = 0,1\%$

$V_2 = 500\text{ mL}$

Ditanya :  $V_1$  ?

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100\% \times V_1 = 0,1\% \times 500\text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{0,5\text{ mL}}{100\%}$$

$$V_1 = 0,5\text{ mL}$$

- Larutan Buffer asam TFA 0,1% digunakan sebagai fase gerak dalam optimasi pemisahan menggunakan KCKT
- Larutan ini dibuat dengan mengambil 0,5 mL buffer asam TFA lalu memasukkannya dalam labu takar 500 mL. pengambilan buffer asam TFA menggunakan pipet mikro. Kemudian menandabatasannya dengan menggunakan akuabides. Dihomogenkan, dan didapatkan larutan buffer asam TFA 0,1%.

### 6. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Diketahui :  $M$  larutan baku  $100\text{ }\mu\text{g/mL}$

$V_2 = 10\text{ mL}$

$M$  yang dibuat  $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ ,  $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ ,  $10\text{ }\mu\text{g/mL}$ ,  $20\text{ }\mu\text{g/mL}$ ,  $30\text{ }\mu\text{g/mL}$

Ditanya ;  $V_1$  ?

Konsentrasi  $1\text{ }\mu\text{g/mL}$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100\text{ }\mu\text{g/mL} \times V_1 = 1\text{ }\mu\text{g/mL} \times 10\text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{10\text{ }\mu\text{g}}{100\text{ }\mu\text{g/mL}}$$

$$V_1 = 0,1\text{ mL}$$

Konsentrasi  $5\text{ }\mu\text{g/mL}$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100\text{ }\mu\text{g/mL} \times V_1 = 5\text{ }\mu\text{g/mL} \times 10\text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{50\text{ }\mu\text{g}}{100\text{ }\mu\text{g/mL}}$$

$$V_1 = 0,5\text{ mL}$$



Konsentrasi 10  $\mu\text{g/mL}$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \mu\text{g/mL} \times V_1 = 10 \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{100 \mu\text{g}}{100 \mu\text{g/mL}}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Konsentrasi 20  $\mu\text{g/mL}$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \mu\text{g/mL} \times V_1 = 20 \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{200 \mu\text{g}}{100 \mu\text{g/mL}}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 30  $\mu\text{g/mL}$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \mu\text{g/mL} \times V_1 = 30 \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{300 \mu\text{g}}{100 \mu\text{g/mL}}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL}$$

- Kurva kalibrasi ini digunakan dalam penentuan kadar berberin dalam isolat tanaman Aning-Aning menggunakan KCKT.
- Larutan untuk membuat kurva kalibrasi dibuat dengan mengambil sebanyak 0,1 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; dan 3 mL larutan stok standard berberin menggunakan pipet mikro. Kemudian dimasukkan pada labu takar 10 mL dan menandabatkannya dengan pelarut metanol. Hasil konsentrasi kurva standard yang didapatkan yakni 1  $\mu\text{g/mL}$ ; 5  $\mu\text{g/mL}$ ; 10  $\mu\text{g/mL}$ ; 20  $\mu\text{g/mL}$ ; dan 30  $\mu\text{g/mL}$ .

#### Lampiran 4 Rendemen Ekstrak Etanol 80% Tanaman Anting-anting

Berat sampel serbuk = 200 gram

Berat Ekstrak Pekat = 16,42 gram

Rendemen =  $\frac{\text{Berat ekstrak} \times 100\%}{\text{Berat Sampel}}$

$$= \frac{16,42 \text{ gram} \times 100\%}{200 \text{ gram}}$$

$$= 8,21\%$$



### Lampiran 5 Rendemen Fraksi Etil Asetat Tanaman Anting-anting

Berat ekstrak pekat = 15 gram

Berat fraksi etil asetat = 5,56 gram

Rendemen =  $\frac{\text{Berat fraksi etil asetat} \times 100\%}{\text{Berat ekstrak pekat}}$

$$= \frac{5,56 \text{ gram} \times 100\%}{15 \text{ gram}}$$

$$= 37,07\%$$



## Lampiran 6 Hasil Rf Kromatografi Lapis Tipis

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

1. Rf standar berberin dengan eluen sikloheksana;toluene;dietilamin (75;15;10)

$$\begin{aligned} \text{Rf noda} &= \frac{4,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} \\ &= 0,560 \end{aligned}$$

2. Rf noda fraksi etil asetat yang diduga senyawa berberin dengan eluen sikloheksana;toluene;dietilamin (75;15;10)

$$\begin{aligned} \text{Rf noda} &= \frac{4,68 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} \\ &= 0,585 \end{aligned}$$



### Lampiran 7 Perhitungan Nilai Plat Teoritis (N) dan HETP (H)

1. Kondisi laju alir 0,6 mL/min dengan eluen asetonitril;buffer TFA (0,1%)

(60:40 v/v)

290 nm	315 nm	345 nm
$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$
$N = 16 \left[ \frac{4,263}{1,193} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{4,290}{1,073} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{4,559}{1,007} \right]^2$
N = 204,30	N = 255,76	N = 327,94
$H = \frac{L}{N}$	$H = \frac{L}{N}$	$H = \frac{L}{N}$
$= \frac{25 \text{ cm}}{204,30}$	$= \frac{25 \text{ cm}}{255,76}$	$= \frac{25 \text{ cm}}{327,94}$
= 0,122369 cm	= 0,097747 cm	= 0,076232 cm

2. Kondisi laju alir 0,8 mL/min dengan eluen asetonitril;buffer TFA (0,1%)

(60:40 v/v)

290 nm	315 nm	345 nm
$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$
$N = 16 \left[ \frac{3,186}{0,873} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{3,184}{0,833} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{3,407}{0,833} \right]^2$
N = 213,09	N = 233,76	N = 267,65
$H = \frac{L}{N}$	$H = \frac{L}{N}$	$H = \frac{L}{N}$
$= \frac{25 \text{ cm}}{213,09}$	$= \frac{25 \text{ cm}}{233,76}$	$= \frac{25 \text{ cm}}{267,65}$
= 0,117316 cm	= 0,106946 cm	= 0,093404 cm

3. Kondisi laju alir 1,0 mL/min dengan eluen asetonitril;buffer TFA (0,1%)

(60:40 v/v)

290 nm	315 nm	345 nm
$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$
$N = 16 \left[ \frac{2,883}{0,746} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{2,717}{0,733} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{2,734}{0,700} \right]^2$
N = 238,96	N = 219,83	N = 244,07
$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{238,96}$ = 0,104618 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{219,83}$ = 0,113723 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{244,07}$ = 0,102428 cm

4. Kondisi laju alir 0,6 mL/min dengan eluen metanol;buffer TFA (0,1%) (50:50

v/v)

290 nm	315 nm	345 nm
$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$
$N = 16 \left[ \frac{4,524}{0,867} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{4,601}{0,513} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{4,524}{0,304} \right]^2$
N = 435,63	N = 1287,03	N = 2832,74
$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{435,63}$ = 0,057387 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{1287,03}$ = 0,019425 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{2832,74}$ = 0,008825 cm

5. Kondisi laju alir 0,8 mL/min dengan eluen metanol;buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v)

290 nm	315 nm	345 nm
$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$
$N = 16 \left[ \frac{3,264}{0,613} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{3,364}{0,453} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{3,264}{0,330} \right]^2$
N = 453,62	N = 882,33	N = 1565,28
$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{453,62}$ = 0,055111 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{882,33}$ = 0,028334 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{1565,28}$ = 0,015972 cm

6. Kondisi laju alir 1,0 mL/min dengan eluen metanol;buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v)

290 nm	315 nm	345 nm
$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{tR}{W} \right]^2$
$N = 16 \left[ \frac{2,518}{0,540} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{2,652}{0,380} \right]^2$	$N = 16 \left[ \frac{2,518}{0,310} \right]^2$
N = 347,89	N = 779,29	N = 1055,62
$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{347,89}$ = 0,071861 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{779,29}$ = 0,032080 cm	$H = \frac{L}{N}$ = $\frac{25 \text{ cm}}{1055,62}$ = 0,023683 cm

## Lampiran 8 Perhitungan Kadar Senyawa Berberin

### 1. Fraksi Etil Asetat

Diketahui : persamaan kurva standar =  $y=0,0185243x + 3,54490$   
y (luas area puncak) = 1,68483

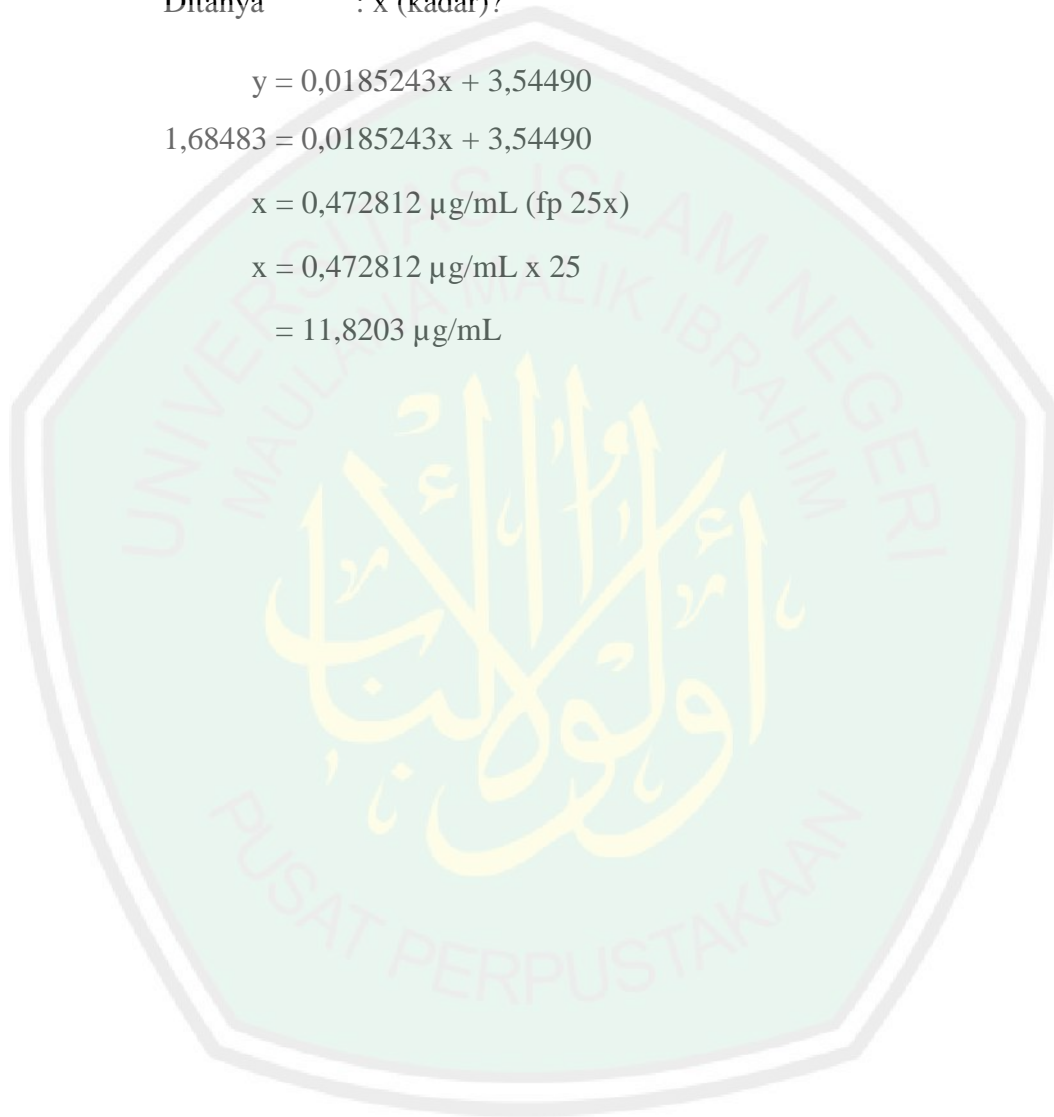
Ditanya : x (kadar)?

$$y = 0,0185243x + 3,54490$$

$$1,68483 = 0,0185243x + 3,54490$$

$$x = 0,472812 \mu\text{g/mL (fp 25x)}$$

$$x = 0,472812 \mu\text{g/mL} \times 25 \\ = 11,8203 \mu\text{g/mL}$$





## Lampiran 9 Perhitungan Nilai Resolusi Puncak




### 1. Fraksi Etil Asetat

$$\begin{aligned} R &= 2 \times \frac{tR_2 - tR_1}{W_2 + W_1} \\ &= 2 \times \frac{3,926 - 2,659}{0,8 + 0,6} \\ &= 2,4045 \end{aligned}$$






## Lampiran 10 Dokumentasi Penelitian



### 10.1 Preparasi Sampel Tanaman Anting-Anting

		
<p>Gambar 1. Anting-anting</p>	<p>Gambar 2. Anting-anting setelah dikeringkan</p>	<p>Gambar 3. Anting-anting setelah dihaluskan</p>



### 10.2 Ekstraksi Maserasi

		
<p>Gambar 4. Proses maserasi</p>	<p>Gambar 5. Hasil ekstrak etanol 80%</p>	<p>Gambar 6. Proses pemkatan ekstrak</p>



### 10.3 Ekstraksi Cair-cair (Partisi)

	
<p>Gambar 7. Proses fraksinasi (ulangan ke-1)</p>	<p>Gambar 8. Proses fraksinasi (ulangan ke-5)</p>




#### 10.4 Uji Fitokimia dengan Reagen

	
Gambar 9. Hasil uji fitokimia dengan reagen dragendorff	Gambar 10. Hasil uji fitokimia dengan reagen mayer

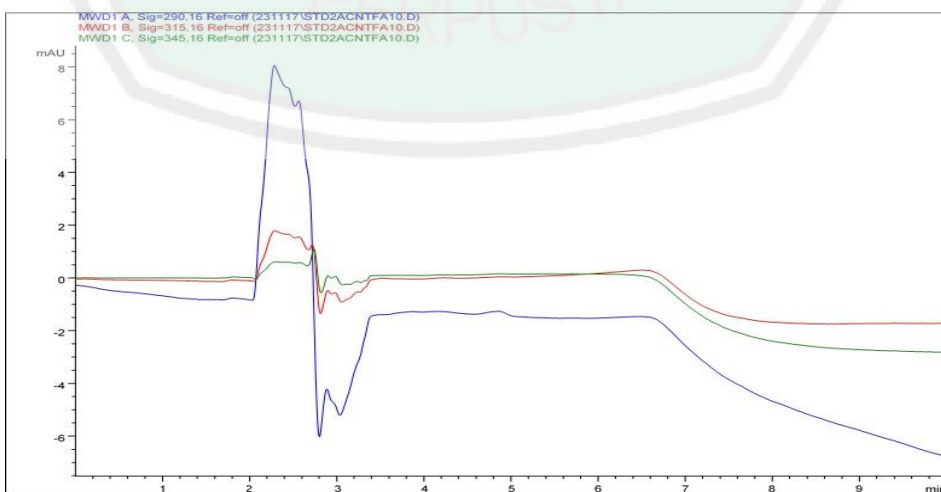
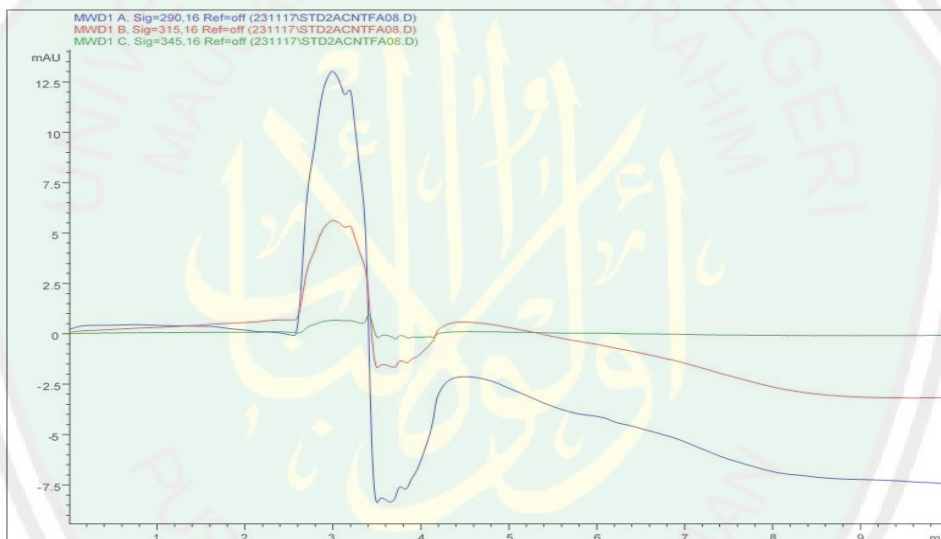
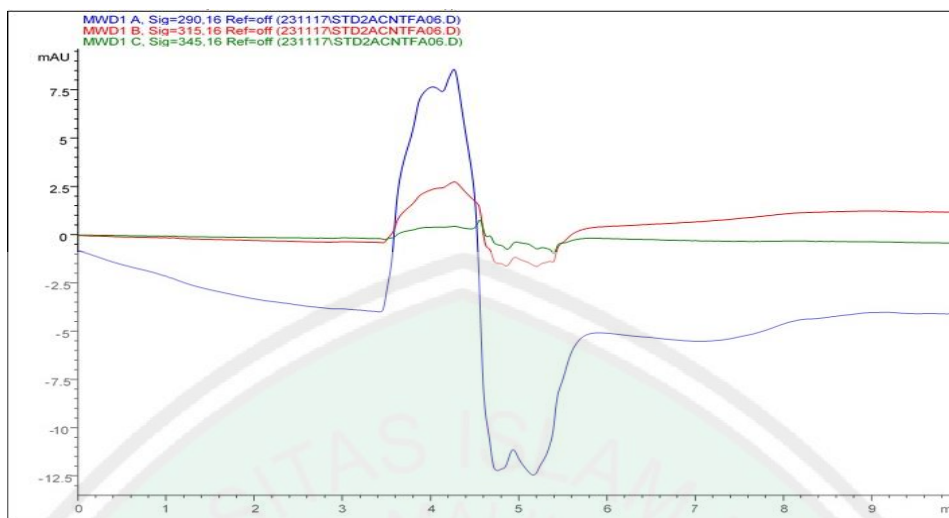
#### 10.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

	
Gambar 11. Proses KLT	Gambar 12. Profil KLT (UV 366)

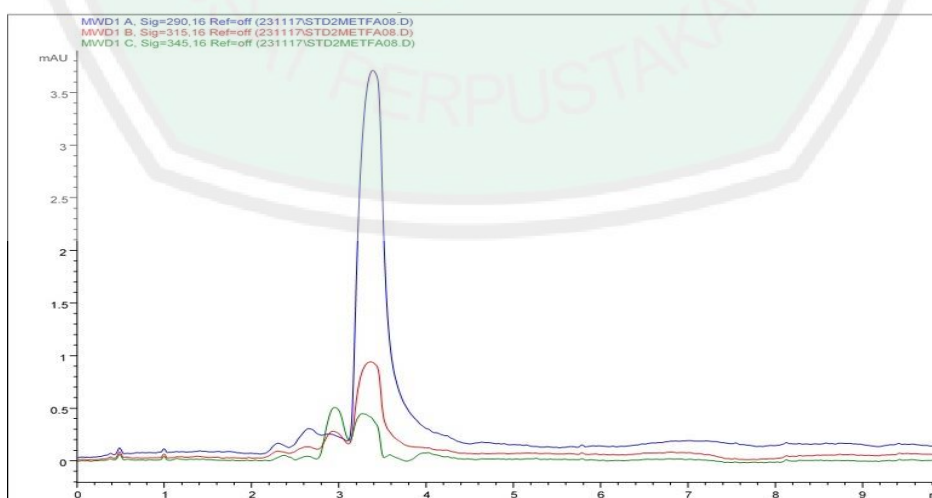
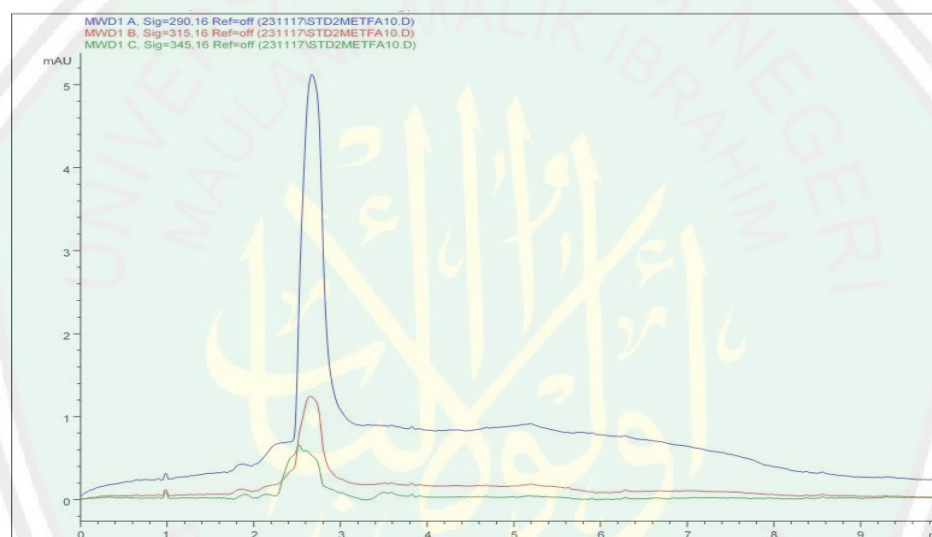
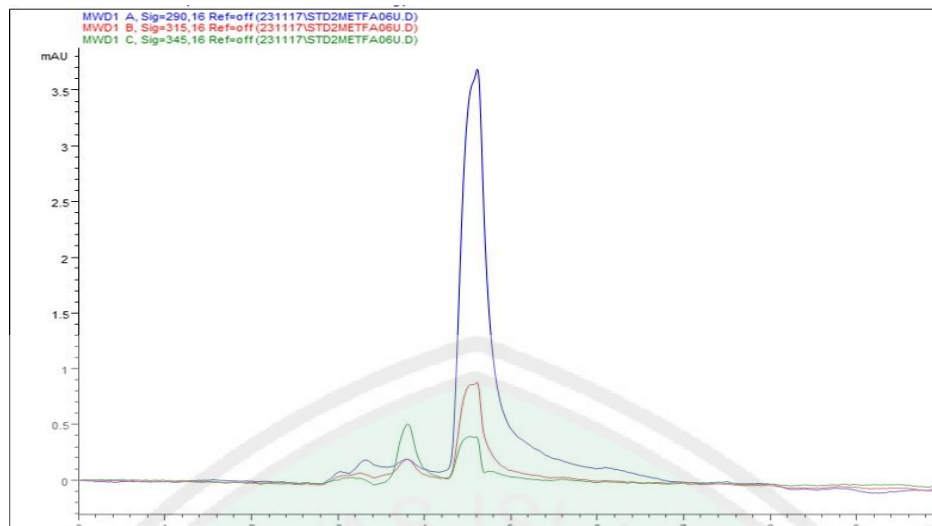
#### 10.6 Optimasi Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

		
Gambar 13. Preparasi Eluen KCKT	Gambar 14. Preparasi eluen KCK	Gambar 15. Proses elusi KCKT

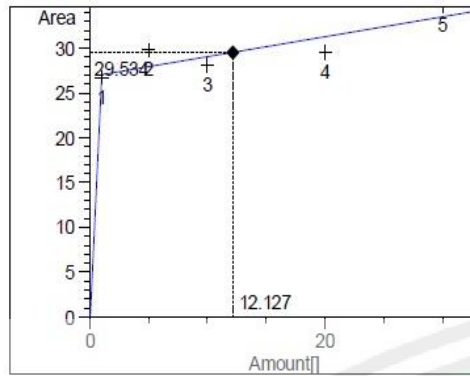
Lampiran 11 Hasil KCKT Keseluruhan



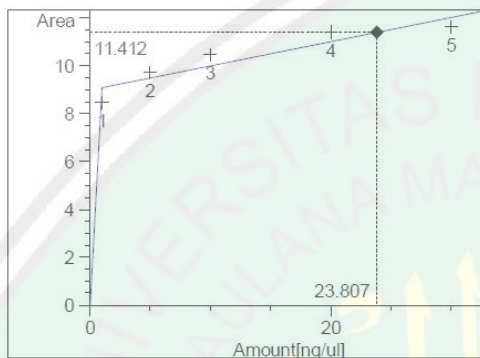




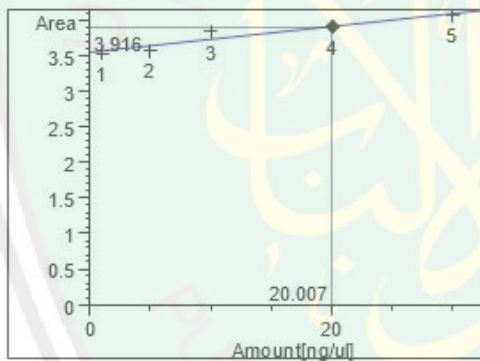




berberin at exp. RT: 2.653  
 MWD1 A, Sig=290,16 Ref=off  
 Correlation: 0.86853  
 Residual Std. Dev.: 1.72579  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m:  $2.22383e-1$   
 b: 26.83678  
 x: Amount  
 y: Area



berberine at exp. RT: 2.639  
 MWD1 B, Sig=315,16 Ref=off  
 Correlation: 0.92402  
 Residual Std. Dev.: 0.57127  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m:  $1.01518e-1$   
 b: 8.99479  
 x: Amount  
 y: Area



berberine at exp. RT: 2.632  
 MWD1 C, Sig=345,16 Ref=off  
 Correlation: 0.95871  
 Residual Std. Dev.: 0.07472  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m:  $1.85243e-2$   
 b: 3.54490  
 x: Amount  
 y: Area

