

**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN STEROID DAN TRITERPENOID
FRAKSI PETROLEUM ETER MIKROALGA *Chlorella* sp. DENGAN
KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

Oleh:
ZAHROTUN NISA'
NIM. 13630055



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

**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN STEROID DAN TRITERPENOID
FRAKSI PETROLEUM ETER MIKROALGA *Chlorella* sp. DENGAN
KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

Oleh:
ZAHROTUN NISA'
NIM. 13630055

**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**

**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN STEROID DAN TRITERPENOID
FRAKSI PETROLEUM ETER MIKROALGA *Chlorella* sp. DENGAN
KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

Oleh:
ZAHROTUN NISA'
NIM. 13630055

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 3 Januari 2018

Pembimbing I

A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Pembimbing II

Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19761003 200312 1 004

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

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

**VARIASI ELUEN PADA PEMISAHAN STEROID DAN TRITERPENOID
FRAKSI PETROLEUM ETER MIKROALGA *Chlorella* sp. DENGAN
KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

Oleh:
ZAHROTUN NISA'
NIM. 13630055

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Sains (S.Si)
Tanggal: 3 Januari 2018

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
Ketua Penguji	: Dewi Yuliani, M.Si NIDT. 19880711 20160801 2 067	(.....)
Sekretaris Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)
Anggota Penguji	: Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19761003 200312 1 004	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Zahrotun Nisa'

NIM : 13630055

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Variasi Eluen Pada Pemisahan Steroid Dan Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Mikroalga *Chlorella* sp. Dengan Kromatografi Kolom.

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, 9 Januari 2018

Yang membuat pernyataan,



Zahrotun Nisa'
NIM. 13630055

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat taufik hidayah serta inayah-Nya. Berkat rahmat dan petunjukNya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Variasi Eluen Pada Pemisahan Steroid dan Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Mikroalga *Chlorella* sp. dengan Kromatografi Kolom” ini.

Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari jalan kegelapan menuju jalan kebenaran seluruh umat manusia yaitu Agama Islam.

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

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

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Elok Kamilah Hayati, M. Si., selaku ketua jurusan Kimia
4. A. Ghanaim Fasya, M.Si. sebagai dosen pembimbing yang senantiasa memberikan arahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi
5. Dewi Yuliani, M.Si., selaku konsultan yang senantiasa memberi arahan

6. Ahmad Abtokhi, M.Pd., sebagai dosen pembimbing agama yang senantiasa memberikan arahan dan bimbingan agama
7. Moh. Sujud dan Pi'ani selaku orang tua yang senantiasa memberi dukungan dan do'a
8. Seluruh Dosen Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya selama kuliah

Akhirnya dengan memohon ridho Allah SWT, semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan balasan kepada semua pihak yang telah membantu hingga selesainya skripsi ini. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, saran dan kritik dari berbagai pihak sangat diharapkan demi terwujudnya karya yang lebih baik untuk masa yang akan datang dan bisa memberikan manfaat bagi kita semua. *Aamiin ya Robbal 'aalamiin.*

Malang, 13 Oktober 2017

Penulis

DAFTAR ISI

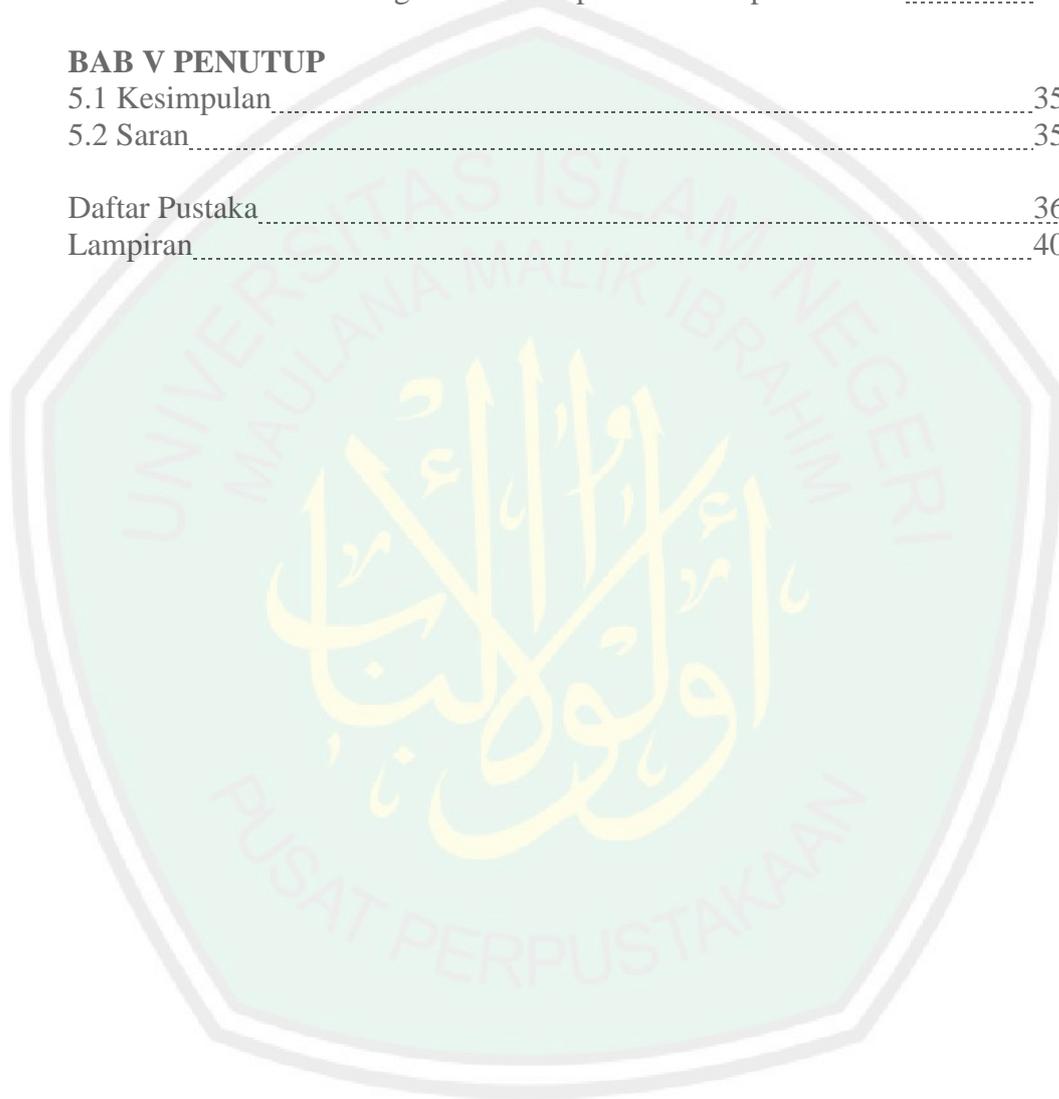
Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan.....	ii
Lembar Pengesahan.....	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Daftar Isi.....	vii
Daftar Gambar.....	ix
Daftar Tabel.....	x
Daftar Lampiran.....	xi
Abstrak.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Konsep Tumbuhan dalam Perspektif Alquran.....	6
2.2 Mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	8
2.3 Kandungan Golongan Senyawa Aktif Mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	9
2.3.1 Steroid.....	9
2.3.2 Triterpenoid.....	10
2.4 Ekstraksi Komponen Aktif <i>Chlorella sp.</i>	11
2.5 Hidrolisis dan Partisi.....	12
2.6 Kromatografi Kolom.....	13
2.7 Identifikasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid Menggunakan FTIR.....	14
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan tempat penelitian.....	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.2.1 Alat.....	16
3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Tahapan penelitian.....	17
3.4 Cara kerja.....	17
3.4.1 Kultivasi mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	17
3.4.2 Pemanenan Mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	18
3.4.3 Penentuan Kadar Air Mikroalga.....	18
3.4.4 Ekstraksi Maserasi Mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	18
3.4.5 Hidrolisis dan Partisi.....	19
3.4.6 Uji Steroid dan Triterpenoid.....	19
3.4.7 Pemisahan Menggunakan Kromatografi Kolom.....	20
3.4.8 Monitoring KLTA.....	20
3.4.9 Identifikasi Menggunakan FTIR.....	21
3.4.10 Analisis Data.....	21

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultivasi dan Pemanenan Mikroalga <i>Chlorella</i> sp.....	22
4.2 Penentuan Kadar Air.....	22
4.3 Ekstraksi Maserasi.....	23
4.4 Hidrolisis dan Partisi.....	23
4.5 Uji Fitokimia Senyawa Steroid dan Triterpenoid.....	24
4.6 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom dan Monitoring KLT-A.....	25
4.7 Identifikasi Gugus Fungsi menggunakan FT-IR.....	28
4.8 Pemanfaatan Mikroalga <i>Chlorella</i> sp. dalam Perspektif Islam.....	31

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
Daftar Pustaka.....	36
Lampiran.....	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Senyawa Fitosterol	10
Gambar 2.2 Struktur Senyawa Triterpenoid	11
Gambar 2.3 Spektra FT-IR Fraksi Etil Asetat Mikroalga <i>Chlorella</i> sp.....	15
Gambar 4.1 Hasil Uji Liberman Burchad	25
Gambar 4.2 Hasil Spektra FT-IR Senyawa Steroid dan Triterpenoid	29



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi kimia <i>Chlorella</i> sp.	9
Tabel 4.1 Fraksi Hasil Kromatografi Kolom dengan Eluen 4:1	26
Tabel 4.2 Fraksi Hasil Kromatografi Kolom dengan Eluen 17:3	26
Tabel 4.3 Fraksi Hasil Kromatografi Kolom dengan Eluen 9:1	27
Tabel 4.4 Pengelompokan Fraksi Tunggal.....	28



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian.....	40
Lampiran 2. Diagram Alir.....	41
Lampiran 3. Perhitungan, Pembuatan Reagen dan Larutan.....	45
Lampiran 4. Uji Kadar Air.....	49
Lampiran 5. Perhitungan.....	50
Lampiran 6. Monitoring Hasil Isolasi.....	53
Lampiran 7. Gambar Dokumentasi Penelitian.....	61



ABSTRAK

Nisa, Zahrotun. 2017. **Variasi Eluen Pada Pemisahan Steroid dan Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Mikroalga *Chlorella* sp. dengan Kromatografi Kolom.** *Skripsi.* Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si ; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M. Pd, Konsultan: Dewi Yuliani, M.Si

Kata Kunci: Variasi Eluen, Steroid, Triterpenoid, *Chlorella* sp., Kromatografi Kolom

Isolasi senyawa steroid dan triterpenoid pada mikroalga *Chlorella* sp. telah dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan memvariasikan komposisi eluen n-heksana:etil asetat. Identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan dengan spektrofotometer FT-IR. Ekstraksi senyawa aktif pada *Chlorella* sp. menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak kasar dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan dipartisi dengan pelarut petroleum eter. Fraksi petroleum eter diuji dengan reagen Lieberman-Burchard. Pemisahan dilakukan dengan kromatografi kolom basah menggunakan variasi eluen n-heksana:etil asetat 4:1, 17:3 dan 9:1 pada rasio sampel 1:200. Hasil pemisahan dimonitoring menggunakan KLT dan diidentifikasi menggunakan Spektrofotometer FT-IR. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak metanol sebesar 23,79 % dan rendemen fraksi petroleum eter sebesar 55,06 %. Perbandingan eluen yang terbaik pada kolom yaitu 9:1 diperoleh 4 fraksi tunggal, antara lain 1 fraksi diduga steroid dengan Rf 0,44 dan 3 kelompok fraksi diduga triterpenoid masing-masing Rf 0,3; 0,21 dan 0,13. Hasil analisis senyawa steroid memberikan informasi gugus -OH, -CH₂, -CH₃, C=C, C=O, C-O alkohol sekunder, C-O alkohol tersier dan geminal dimetil.

ABSTRACT

Nisa, Zahrotun. 2017. The Variation of Eluen on the Separation of Steroids and Triterpenoids Microalgae Ether Petroleum Fraction of *Chlorella sp.* with Column Chromatography. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim of Malang. Supervisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M. Pd, Consultant: Dewi Yuliani, M.Si

Keywords: Variation of eluent, Steroid, Triterpenoid, *Chlorella sp.*, Column chromatography

Steroid and triterpenoid compounds isolation in *Chlorella sp.* had been performed using column chromatography by varying of composition the eluent n-hexane: ethyl acetate. Identification of steroid and triterpenoid used FT-IR spectrophotometer. Active compounds extracted of *Chlorella sp.* was using maceration method with methanol solvent. The crude extract was hydrolyzed by using HCl 2 N and partitioned with ether petroleum. Petroleum ether fraction was tested with Lieberman-Burchard reagents. Separation using column chromatography with variation of eluent was used n-hexane:ethyl acetate of 4:1, 17:3 and 9:1 (sample ratio silica 1: 200). The results were monitored by TLC and identification using the FT-IR Spectrophotometer. The yield of methanol extract was 23.79 % and petroleum ether fraction was 55.06 %. The best column separation with eluent (ratio of 9:1) was obtained 4 single fraction such as 1 steroid fraction (Rf 0.44) and 3 groups of triterpenoid fraction (Rf 0.3; 0.21; 0.13). Spectra analysis gave information of -OH, -CH₂, -CH₃, C=C, C=O, C-O tertiary alcohol, C-O secondary alcohol and geminal dimethyl.

مستخلص البحث

النساء، زهرة. ٢٠١٨. تنوع الشايط في تفريق الستيرويديّة و التريترينيويديّة الجزء للبتروال الأثير الطحالب *Chlorella sp.* بالكروماتوغرا في الأعمدة. البحث الجامعي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: أحمد غنائم فشا الماجستير، المشرف الثاني: أحمد أبطخي الماجستير، والمستشارة: ديوي يولياني الماجستير.

الكلمات الأساسية: لكروماتوغرافي الأعمدة، الستيرويديّة، التريترينيويديّة، تنوع الشايط.

عازلة مركبة الستيرويديّة و التريترينيويديّة في *Chlorella sp.* قد بالكروماتوغرا في الأعمدة بتنوع الشايط ن-هيكسان:آثيل أسيتات. مقتطف المركبة الفعّالية في *Chlorella sp.* يستخدم بالطريقة النقع بذائب الإيثانول. مقتطف هبوطية تحليل الماء باستخدام حمض الهيدروكلوريك 2 N وتقسيم بذائب البترول الأثير. فصيلة البترول الأثير يختبر بالكاشف ليبرمان بورجاد. وبالتالي التفريق بالطريقة الكروماتوغرا في الأعمدة الرطوبة بتنوع الشايط المستخدمة ن-هيكسان:آثيل أسيتات ١:٩ و ٣:١٧ و ١:٤ يستخدم نسبة العينة والسيليكا ١:٢٠٠ على أقطار الأعمدة على المقياس ١,٥ cm نتيجة تفريق الرصد باستخدام تحليلية طبقة رقيقة اللوني نتيجة الرصد الجيدة بتعرف طيفي الأشعة تحت الحمراء. تدل نتائج البحث إلى أن عائد مقتطف الإيثانول في المبلغ ٢٣,٧٩% وعائد الفصيلة البترول الأثير ٥٥,٠٦%. أن تفريق الأعمدة بالشايط الجيد وهو مقابلة 9:1 يحصل إلى 1 الفصيلة الستيرويديّة Rf: 0,44 وثلاث مجموعات الفصيلة التريترينيويديّة لكل: ٠,٣; ٠,٢١; ٠,١٣ نتيجة تحليل يعطي اعلان الأنصاف غيمينال ثنائى ميثيل كحول C-O, C=O, C=C, -CH₂, -CH₃, -OH-

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah berfirman dalam Al Qur'an surat asy Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Apabila seluruh manusia dimuka bumi ini dapat memperhatikan kekuasaan Allah SWT maka mereka akan mendapatkan petunjuk. Sebagaimana yang telah disebutkan dalam firman-Nya bahwa Allah SWT mengeluarkan dari bumi ini beraneka ragam tumbuh-tumbuhan yang mempunyai manfaat. Hal tersebut hanya dapat dilakukan oleh Allah SWT yang Maha Esa dan Maha Kuasa. Adapun tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat yaitu tumbuhan tingkat rendah salah satunya mikroalga *Chlorella* sp. Mikroalga *Chlorella* sp. merupakan mikroorganisme fotosintetik yang menggunakan sinar matahari dan karbondioksida untuk menghasilkan biomassa (Becker, 1994).

Keseluruhan bagian mikroalga *Chlorella* sp. dapat dimanfaatkan. Pemanfaatannya antara lain sebagai bioremediator logam berat timbal (Pb) (Mazidah, 2014), dan biodiesel (Assadad, dkk., 2010). Mikroalga *Chlorella* sp. juga memiliki aktivitas antioksidan (Anggraeni, dkk, 2014 dan Bariyyah, dkk, 2013) dan berpotensi sebagai antibakteri (Khamidah, 2014). Mikroalga *Chlorella* sp. memiliki kandungan senyawa aktif seperti steroid yang telah terbukti dapat bermanfaat sebagai antikanker, antibakteri dan antioksidan (Hayati, dkk., 2012). Bariyyah, dkk

(2013) menemukan senyawa steroid dalam ekstrak metanol mikroalga *Chlorella* sp. yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi ditunjukkan dengan nilai EC_{50} yaitu 18,610 ppm. Aktivitas antioksidan yang mempunyai nilai EC_{50} kurang dari 50 ppm tergolong kuat. Isolat steroid dari mikroalga *Chlorella* sp. mempunyai toksisitas terhadap *A. salina* dengan nilai LC_{50} yaitu 14,9625 ppm. Triterpenoid mampu meningkatkan aktivitas rifampisin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *M. Tuberculosis* (patogen penyebab TBC) (Pridawati, dkk, 2014; Ahmad dan Muhammad, 2013). Steroid dan triterpenoid ditemukan pada fraksi petroleum eter yang telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai EC_{50} yaitu 27,26 ppm (Anggraeni, dkk, 2014). Steroid dan triterpenoid memiliki aktivitas farmakologi untuk dimanfaatkan dalam bidang farmasi, oleh karena itu penting untuk dipisahkan.

Proses pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid ini dilakukan dengan ekstraksi maserasi karena metode tersebut aman digunakan untuk senyawa yang rentan terhadap panas. Proses isolasi senyawa organik bahan alam pada umumnya menggunakan pelarut golongan alkohol karena dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder (Lenny, 2006). Handoko (2016) telah melakukan ekstraksi mikroalga *Chlorella* sp. yang dimaserasi menggunakan metanol dan didapatkan randemen sebesar 21,8926 %. Proses ini dilanjutkan dengan hidrolisis dan partisi untuk mendapatkan hasil pemisahan yang maksimal. Hidrolisis dan partisi dilakukan untuk memutus ikatan glikosida yang ada pada steroid dan triterpenoid serta memisahkan dari senyawa-senyawa berdasarkan kepolarannya. Partisi dilakukan dengan pelarut nonpolar karena diharapkan senyawa steroid dan triterpenoid lebih terdistribusi dalam fase nonpolar dan terpisah dengan senyawa

polar. Hidayah (2015) telah melakukan pemisahan senyawa steroid pada fraksi petroleum eter ekstrak metanol mikroalga *Chlorella* sp. dan dihasilkan randemen dari fraksi petroleum eter sebesar 78,0548%. Hasil partisi menggunakan petroleum eter masih berupa senyawa campuran, maka perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom.

Pemilihan eluen sebagai fasa gerak merupakan salah satu faktor yang sangat penting pada pemisahan senyawa aktif menggunakan kromatografi kolom. Pemisahan dengan kromatografi kolom biasanya akan diperoleh hasil yang baik apabila digunakan pelarut campuran yang dapat memisahkan komponen (Atun, 2014). Sundari (2010) mengatakan pelarut sebagai fasa gerak atau eluen merupakan salah satu faktor yang menentukan gerakan komponen-komponen dalam suatu campuran. Senyawa n-heksana dapat mengambil senyawa yang memiliki kepolaran rendah, sedangkan pelarut yang lebih polar seperti etil asetat digunakan untuk mengambil senyawa yang lebih polar (Rusdi, 1990). Campuran eluen n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 4:1 menunjukkan hasil yang baik yaitu dapat memisahkan senyawa steroid maupun triterpenoid paling banyak pada tanaman ekor naga (Sinulinnga, 2011). Sholihah (2016) menggunakan eluen campuran n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 4,25:0,75 dan diperoleh hasil 9 fraksi, diantaranya 5 fraksi menunjukkan steroid dan 4 fraksi menunjukkan triterpenoid pada sampel makroalga *Eucheuma spinosum*. Pemisahan senyawa triterpenoid menggunakan KLT analitik dan KLT preparatif dengan perbandingan eluen 17:3 menghasilkan 9 noda, 4 noda diantaranya menunjukkan senyawa triterpenoid (Setiyawan, dkk., 2015). Kromatografi kolom maupun KLT merupakan metode pemisahan yang memiliki prinsip yang sama yaitu berdasarkan distribusi fasa,

keduanya juga menggunakan fasa diam berupa silika gel. Penelitian ini dilakukan untuk memisahkan senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan kromatografi kolom basah dengan perbandingan eluen n-heksana : etil asetat 17:3, 9:1, 4:1. Dari variasi tersebut diharapkan memperoleh variasi terbaik yang dapat memisahkan senyawa aktif secara maksimal. Hasil kromatografi kolom dimonitoring dengan KLTA dan isolat yang menunjukkan positif steroid dan triterpenoid dianalisis menggunakan FT-IR.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Pada perbandingan eluen n-heksana : etil asetat berapakah senyawa aktif steroid dan triterpenoid dari *Chlorella* sp. dapat terpisahkan dengan maksimal?
2. Bagaimana hasil identifikasi gugus fungsi senyawa steroid dan triterpenoid dengan spektrofotometer inframerah (FTIR)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui perbandingan eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa aktif steroid dan triterpenoid secara maksimal.
2. Untuk mengetahui gugus fungsi senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan spektrofotometer inframerah (FTIR).

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Sampel yang digunakan yaitu mikroalga *Chlorella* sp. yang dikultivasi di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Kultivasi *Chlorella* sp. dalam medium ekstrak taugé (MET) 4%.
3. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol.
4. Partisi menggunakan pelarut petroleum eter (PE).
5. Isolasi steroid dan triterpenoid menggunakan kromatografi kolom basah dengan ukuran kolom 1,5 cm dan perbandingan sampel dan silika gel (fase diam pada kromatografi kolom basah) 1:200.
6. Eluen yang digunakan adalah n-heksana : etil asetat dengan variasi perbandingan 17:3, 9:1, 4:1.
7. Identifikasi gugus fungsi senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan FTIR.

1.5 Manfaat Penelitian

Memperoleh senyawa aktif dari mikroalga *Chlorella* sp. yaitu steroid dan triterpenoid yang dapat dimanfaatkan untuk masyarakat terutama dalam bidang farmasi sebagai antioksidan dan antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Konsep Tumbuhan dalam Perspektif Al Qur'an

Allah SWT menciptakan manusia semata-mata hanya untuk beribadah kepada-Nya. Manusia diciptakan dengan diberi akal dan pikiran supaya dipergunakan untuk memikirkan segala yang tercipta di dunia ini memiliki tujuan yang baik. Oleh karena itu, munculah berbagai eksperimen guna mengetahui manfaat berbagai tumbuhan yang telah diciptakan. Dalam Firman Allah SWT Q.S ali Imran ayat 190:

﴿ ١٩٠ ﴾ إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.*”

Ayat di atas menerangkan bahwa untuk mengetahui kekuasaanNya hanya dapat dilakukan oleh orang-orang yang berakal. Dalam bidang sains untuk membuktikan suatu fenomena biasanya dilakukan dengan eksperimen. Penelitian ini diharapkan dapat menemukan pengetahuan baru cara efektif mengisolasi bahan alam yang ada pada tumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. Tumbuhan merupakan salah satu nikmat yang diberikan oleh Allah SWT. Salah satu ayat Al Qur'an yang menerangkan pemanfaatan tumbuhan yaitu Q.S Thahaa ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن

تَبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

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

Banyak tumbuhan yang disebutkan dalam Al Qur'an dengan berbagai manfaatnya agar dapat diterapkan oleh generasi selanjutnya. Dalam Firman Allah SWT Q.S al An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّجْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

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

Dalam ayat-ayat Alquran, Allah SWT menyuruh manusia supaya memperhatikan keberagaman dan keindahan disertai seruan agar merenungi segala ciptaan-Nya yang amat menakjubkan. Dari Firman Allah SWT yang disebutkan bahwa “Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau”, tanaman hijau ini diantaranya tanaman yang mengandung klorofil yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan. Klorofil menyerap energi matahari yang digunakan sebagai makanan. Banyak tumbuhan yang oleh Allah disebutkan dalam Al Qur'an dan tumbuhan tersebut memiliki manfaat dan khasiat. Dalam Firman Allah SWT surah an Nahl ayat 14:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاحِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ

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

Dalam ayat ini juga disebutkan bahwa segala ciptaan-Nya tiada yang sia-sia. Segala macam tumbuhan baik yang hidup di darat dan di air masing-masing mempunyai manfaat. Salah satu tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat adalah mikroalga *Chlorella* sp. Mikroalga merupakan tumbuhan yang hidup di lautan memiliki berbagai kandungan senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan. Oleh karena itu, perlu dipisahkan menggunakan metode yang tepat.

2.2 Mikroalga *Chlorella* sp.

Chlorella sp. merupakan salah satu jenis mikroalga dari golongan *Chlorophyta* yang memiliki potensi sebagai bahan pangan alami dan ternak serta penghasil komponen senyawa aktif dalam bidang farmasi dan kedokteran. *Chlorella* sp. dapat dimanfaatkan dalam bidang pangan dan bidang kedokteran. *Chlorella* sp. dalam bidang pangan dapat dikembangkan sebagai sumber vitamin, mineral, dan protein untuk pangan sehat, sedangkan dalam bidang kedokteran dapat bermanfaat untuk mencegah kanker, menurunkan kadar kolesterol dan menurunkan tekanan darah (Steenblock, 1996). Komposisi kimia *Chlorella* sp. disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi kimia *Chlorella* sp.

Komposisi Kimia <i>Chlorella</i> sp.	Kadar (%)
Karbohidrat	20,6
Protein	30,9
Lipid	20,1
Lain-lain	28,4

Sumber: Ben-Amotz, dkk., 1987

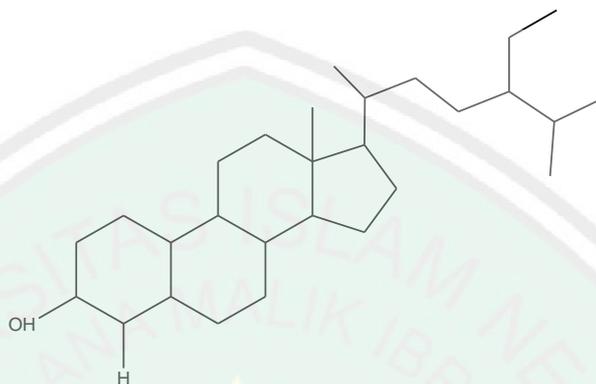
2.3 Kandungan Golongan Senyawa Aktif Mikroalga *Chlorella* sp.

Uji kualitatif menggunakan reagen kimia dapat dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif pada *Chlorella* sp. Khamidah (2014) telah mengidentifikasi golongan senyawa aktif dalam ekstrak metanol *Chlorella* sp. pada fase stasioner. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada fase stasioner ekstrak metanol *Chlorella* sp. mengandung tanin dan steroid. Bariyyah, dkk. (2013) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat *Chlorella* sp. mengandung tanin dan asam askorbat, sedangkan ekstrak metanol *Chlorella* sp. positif mengandung tanin, steroid dan asam askorbat. Uma, dkk. (2011) menyatakan bahwa *Chlorella* sp. mengandung senyawa aktif berupa terpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin. Handoko (2016) juga melakukan pemisahan senyawa aktif ekstrak metanol *Chlorella* sp. dan didapatkan senyawa steroid dan triterpenoid. *Chlorella* sp. mempunyai potensi sebagai antioksidan, antibakteri, dan antikanker dikarenakan senyawa-senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak *Chlorella* sp.

2.3.1 Steroid

Steroid merupakan senyawa organik golongan lipid hasil turunan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, memiliki inti 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana (Poedjiadi, 1994). Steroid bersifat nonpolar yang tersusun dari

isoprena rantai panjang hidrokarbon. Beberapa turunan steroid yang sering dijumpai ialah steroid alkohol (sterol). Struktur senyawa fitosterol hasil isolasi steroid dari daun cendana ditunjukkan pada Gambar 2.1

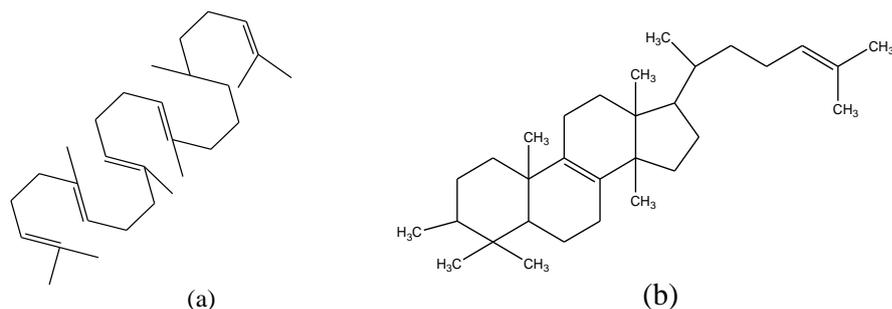


Gambar 2.1 Struktur senyawa steroid dengan jenis fitosterol (Saleh, 2007)

Saleh (2007) mengisolasi senyawa steroid dari daun cendana dengan kromatografi kolom. Hasil kromatografi kolom diidentifikasi dengan spektrofotometer inframerah menunjukkan senyawa steroid jenis fitosterol. Pada umumnya steroid yang ada pada tumbuhan merupakan steroid jenis fitosterol (Robinson, 1995).

2.3.2 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang berasal dari 6 satuan isoprena dan turunan dari hidrokarbon C_{30} asiklik (skualena). Senyawa ini banyak ditemukan dalam jaringan tumbuhan yang terdapat sebagai glikosida (Harborne, 1987). Triterpenoid pentasiklik banyak ditemukan dalam berbagai macam tumbuhan (Robinson, 1995).



Gambar 2.2 (a) Skualena (Struktur dasar golongan senyawa triterpenoid)
(b) Lanosterol (senyawa triterpenoid tetrasiklik)

2.4 Ekstraksi Komponen Aktif *Chlorella* sp.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Kristanti, dkk., 2008). Metode ekstraksi tergantung pada kelarutan senyawa yang akan diekstrak. Suatu senyawa mudah larut pada pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama. Semakin besar konstanta dielektrik, maka pelarut tersebut akan semakin polar. Umumnya proses ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen senyawa yang diinginkan (Mulyono, 2009).

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak bahan alam adalah metode maserasi. Menurut Lenny (2006), maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan merendam bahan dalam pelarut tanpa pemanasan. Maserasi harus dilakukan dengan waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 1987). Senyawa-senyawa polar akan terpisah dengan baik jika digunakan pelarut polar dan senyawa-senyawa non polar akan terpisah dengan baik apabila digunakan pelarut non polar. Berdasarkan sifat kelarutan pada teori *like dissolve like* (Nur dan Adijuwana, 1989).

Pada penelitian ini proses maserasi *Chlorella* sp. menggunakan pelarut yang bersifat polar yaitu metanol. Pemilihan pelarut metanol tersebut tidak lepas dari

penelitian sebelumnya. Lestari (2015) telah melakukan pemisahan senyawa aktif ekstrak metanol *Chlorella* sp. dihasilkan randemen sebesar 13,37%. Bariyyah, dkk. (2013) menghasilkan randemen maserasi menggunakan metanol *Chlorella* sp. sebanyak 7,001% sedangkan pada ekstrak etil asetat randemen yang dihasilkan sebesar 3,673%. Pada penelitian Handoko (2016) randemen hasil maserasi metanol *Chlorella* sp. sebesar 21,8926%.

Steroid dan triterpenoid yang terdapat pada *Chlorella* sp. ditemukan dalam keadaan berikatan dengan gugus glikosida. Glikosida merupakan senyawa gabungan dari gula (glikon) yang mempunyai sifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang cenderung bersifat nonpolar (Gunawan, 2004). Pemisahan lebih lanjut dilakukan dengan hidrolisis dan partisi untuk memutus ikatan glikosida.

2.5 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis merupakan reaksi pemutusan ikatan glikosida yang disebabkan adanya proses dekomposisi kimia (Adhiatama, dkk., 2012). Pada umumnya senyawa organik yang ada didalam tanaman umumnya berbentuk glikosida yaitu terdiri dari gula (glikon) dan senyawa bukan gula (aglikon). Senyawa metabolit primer tergolong dalam senyawa glikon, sedangkan metabolit sekunder tergolong dalam senyawa aglikon (Gunawan, 2004). Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan dengan pemutusan ikatan glikosida menggunakan reaksi hidrolisis (Saifudin, dkk., 2006).

Reaksi hidolisis menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator (Nihlati, dkk., 2008). Pemilihan HCl sebagai katalis untuk mempercepat reaksi pemutusan ikatan antara metabolit sekunder

(aglikon) dengan gugus gula. Hasil hidrolisis dipisahkan dengan partisi menggunakan petroleum eter. Hidayah (2015) telah melakukan pemisahan senyawa steroid pada fraksi petroleum eter *Chlorella* sp dan dihasilkan randemen sebesar 78,0548 %. Hasil uji fitokimia fraksi petroleum eter menunjukkan positif steroid. Handoko (2016) mendapatkan randemen ekstrak hasil hidrolisis dan partisi *Chlorella* sp. sebanyak 50,6299 %.

2.6 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada prinsip adsorpsi. Metode ini dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan senyawa campuran dengan skala mikrogram. Kromatografi kolom dilakukan untuk memurnikan senyawa steroid dan triterpenoid dari hasil hidrolisis dan partisi. Pemisahan dilakukan dengan meletakkan sampel pada ujung atas kolom dengan pelarut yang dialirkan terus menerus (Kristanti, dkk., 2008).

Pemilihan fasa gerak merupakan langkah utama untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Sifat-sifat pelarut juga berpengaruh terhadap pemisahan komponen-komponen campuran. Pemisahan menggunakan kromatografi kolom membutuhkan bahan yang banyak dan waktu yang cukup lama. Oleh karena itu, campuran eluen yang digunakan ditentukan terlebih dahulu agar mendapatkan hasil pemisahan yang maksimal.

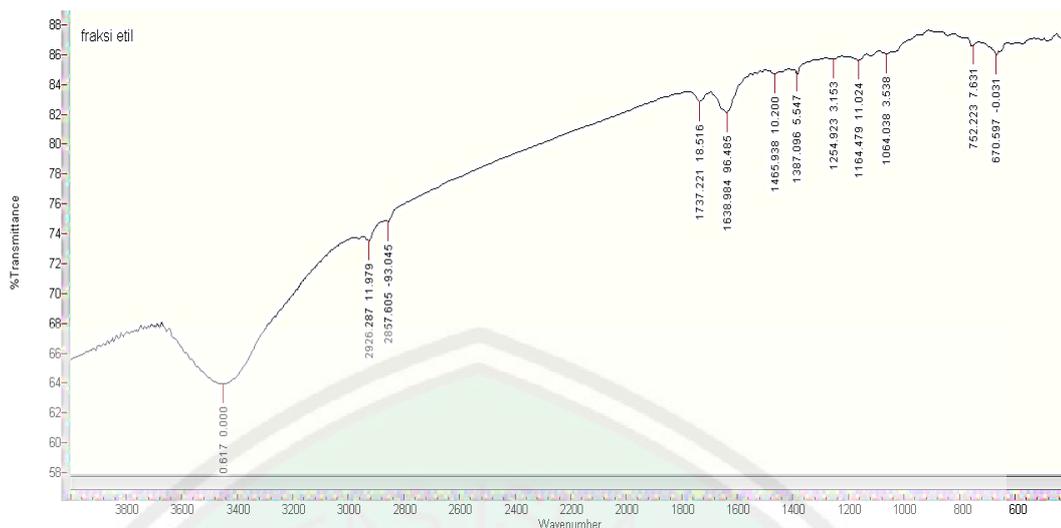
Eluen terbaik hasil KLT analitik ekstrak metanol *Chlorella* sp. pada penelitian Imamah (2015) yaitu campuran n-heksana:etil asetat (4:1) didapatkan 12 spot. Sinulingga (2011) menggunakan eluen n-heksana : etil asetat pada isolasi steroid/triterpenoid dari akar tanaman ekor naga menggunakan KLT dengan

perbandingan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4. Pemisahan yang terbaik pada perbandingan 8:2 menghasilkan 10 noda dan 8 diantaranya merupakan senyawa steroid/triterpenoid. Handayani, dkk. (2012) mengisolasi senyawa sitotoksik dari spons laut *Petrosia* sp. dengan eluen yang digunakan pada kromatografi berupa n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 4:1 senyawa yang dihasilkan berupa triterpenoid. Handoko (2016) melakukan isolasi senyawa steroid menggunakan kromatografi kolom memperoleh 1 fraksi murni senyawa steroid dan 4 fraksi murni senyawa triterpenoid.

Pada penelitian ini akan dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom cara basah. Kromatografi kolom basah fase diam berupa silika gel dicampurkan dengan eluen sebelum dimasukkan ke dalam kolom kromatografi. Hasil isolat kromatografi kolom diuji tingkat kemurniannya menggunakan KLTA dan diuji fitokimia menggunakan pereaksi *Lieberman-Burchard* (LB). Steroid akan memberikan warna hijau/biru dengan pereaksi LB (Ismarti, 2011) sedangkan untuk triterpenoid berwarna merah.

2.7 Identifikasi Senyawa Menggunakan FTIR

Identifikasi menggunakan FT-IR akan memberikan informasi mengenai gugus fungsi pada struktur senyawa. Setiap gugus fungsi memiliki jenis ikatan yang berbeda sehingga masing-masing memiliki serapan yang khas. Identifikasi akan dinyatakan berhasil jika gugus fungsi yang didapatkan sesuai dengan serapan pada daerahnya masing-masing (Mulyani, dkk., 2013). Hasil spektra FT-IR *Chlorella* sp. yang ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Hasil spektra FTIR dari isolat fraksi etil asetat *Chlorella sp.* (Imamah, 2015)

Hasil analisis serapan FT-IR gugus fungsi dari senyawa yang dihasilkan isolat fraksi etil asetat *Chlorella sp.* menunjukkan adanya pita serapan $752,22\text{ cm}^{-1}$ dan $670,59\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan dengan intensitas lemah dari rentangan C-H pada gugus alkena. Pita serapan pada daerah $3450,61\text{ cm}^{-1}$ yang melebar menunjukkan adanya gugus O-H. Pita serapan $2926,28\text{ cm}^{-1}$ dan $2857,60\text{ cm}^{-1}$ diduga mengandung rentangan -CH alifatik. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan adanya gugus metil (CH_3) dan metilen (CH_2). Dugaan ini diperkuat adanya vibrasi C-H tekuk pada pita serapan $1465,93\text{ cm}^{-1}$ dan $1387,09\text{ cm}^{-1}$. Adanya vibrasi C-H tekuk mengindikasikan adanya gugus geminal dimetil yang khas ditemukan pada senyawa terpenoid dan steroid (Socrates, 1994; Astuti, dkk., 2014).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik dan Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan April – Mei 2017.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, diantaranya gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, dan botol vial. Pemanenan biomassa menggunakan *sentrifuge* dan neraca analitik. Alat yang lain diantaranya *autoclave*, hot plate, plat KLTA, cawan porselen, desikator, *shaker*, *rotary evaporator*, aluminium foil, kolom, dan spektrofotometer infra merah.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat mikroalga *Chlorella* sp. dari Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Universitas Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Media kultivasi menggunakan Medium Ekstrak Tauge (MET) 4%. Bahan-bahan yang digunakan antara lain metanol p.a, petroleum eter p.a, HCl 2 N p.a, natrium bikarbonat, n-heksana, etil asetat, anhidrida asetat, asam sulfat pekat, *glass wool*, plat silika gel G F₂₅₄, dan silika gel G-60.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Kultivasi mikroalga *Chlorella* sp.
2. Pemanenan biomassa *Chlorella* sp.
3. Analisis kadar air sampel kering mikroalga *Chlorella* sp.
4. Ekstraksi maserasi biomassa *Chlorella* sp. dengan pelarut metanol.
5. Hidrolisis menggunakan HCl 2 N dan partisi ekstrak metanol *Chlorella* sp. dengan petroleum eter.
6. Uji fitokimia steroid dan triterpenoid.
7. Pemisahan senyawa aktif (steroid dan triterpenoid) *Chlorella* sp. menggunakan metode kromatografi kolom basah dengan variasi eluen 17:3, 9:1, 4:1.
8. Monitoring dengan KLT-A.
9. Identifikasi isolat steroid dan triterpenoid dengan spektrofotometer inframerah.
10. Analisis data.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Kultivasi Mikroalga *Chlorella* sp. (Hidayah, 2015)

Isolat mikroalga *Chlorella* sp. sebanyak 200 mL diinokulasi dalam 100 mL MET 4% yang berada dalam botol 1500 mL. Botol yang berisi isolat diletakkan dalam rak kultivasi yang telah dilengkapi dengan lampu neon TL.36 watt (intensitas cahaya 1000 – 4000 lux) dengan waktu pencahayaan 10 jam gelap dan 14 jam terang selama 10 hari.

3.4.2 Pemanenan Biomassa Mikroalga *Chlorella* sp (Imamah, 2015)

Pemanenan dilakukan pada hari ke-10 yang merupakan fase stasioner. Isolat yang didapat diisolasi dengan cara didekantasi dan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. Hasil sentrifugasi ditimbang dan dimasukkan dalam satu wadah. Isolat dalam wadah diletakkan dalam suhu ruang, kemudian setelah kering dikerok dan ditimbang hasil sampel kering mikroalga *Chlorella* sp.

3.4.3 Penentuan Kadar Air Mikroalga (AOAC, 1984)

Pertama cawan dipanaskan dalam oven selama 15 menit dengan suhu 105 °C, disimpan dalam desikator selama 10 menit lalu ditimbang. Perlakuan yang sama dilakukan hingga memperoleh berat cawan konstan. Biomassa *Chlorella* sp. ditimbang sebanyak 0,5 gram dalam cawan dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 15 menit. Cawan dimasukkan dalam desikator lalu ditimbang dan dioven hingga berat konstan. Perhitungan kadar air sampel biomassa *Chlorella* sp. menggunakan rumus Persamaan 3.1 (AOAC, 1984):

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

Dimana a menunjukkan berat cawan kosong, b merupakan berat cawan dengan sampel sebelum dikeringkan. Sedangkan c menunjukkan berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan.

3.4.4 Ekstraksi Maserasi Mikroalga *Chlorella* sp. (Handoko, 2016)

Sebanyak 5 gram sampel kering mikroalga *Chlorella* sp. dimasukkan dalam gelas kimia dan ditambahkan metanol sebanyak 25 mL lalu ditutup dengan alumunium foil. Sampel dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm ±24 jam pada suhu kamar. Residu disaring dan dilakukan pengulangan hingga 5 kali proses ekstraksi. Filtrat yang didapatkan pada 5 kali maserasi dijadikan satu, dihilangkan pelarut menggunakan *rotary evaporator vacuum* sehingga memperoleh

ekstrak pekat *Chlorella* sp. Ekstrak pekat yang didapatkan kemudian dihitung randemen dengan menggunakan Persamaan 3.2 (Khopkar, 2003):

$$\text{Randemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang diekstrak}} \times 100 \% \quad \dots\dots\dots(3.2)$$

3.4.5 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Metanol Mikroalga *Chlorella* sp.

(Handoko, 2016)

Ekstrak pekat maserasi sebanyak 3 gram dihidrolisis menggunakan HCl 2N sebanyak 6 mL dan distirrer selama 1 jam. Selanjutnya, ekstrak pekat dinetralkan menggunakan natrium bikarbonat. Ekstrak dipartisi menggunakan 15 mL petroleum eter (PE) sebanyak 5 kali. Hasil partisi dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dialiri gas N₂. Dihitung randemen dengan menggunakan Persamaan 3.2.

3.4.6 Uji Steroid dan Triterpenoid

3.4.6.1 Uji Steroid

Ekstrak pekat hasil partisi mikroalga *Chlorella* sp. sebanyak 1 mg dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform. Selanjutnya ditambah 0,5 mL asam asetat anhidrida dan ditambah 1 – 2 mL larutan H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau-kebiruan (Indrayani, dkk., 2006).

3.4.6.2 Uji Triterpenoid

Ekstrak petroleum eter mikroalga *Chlorella* sp. sebanyak 1 mg dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform. Selanjutnya ditambah 0,5 mL asam asetat anhidrida dan ditambah 1 – 2 mL larutan H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada pembatas dua pelarut (Khoiriyah, dkk., 2014).

3.4.7 Pemisahan Senyawa Steroid dengan Kromatografi Kolom Basah (Kusmiyati, dkk, 2011)

Fasa diam berupa silika gel dibuat dengan cara menimbang 10 gram silika gel yang sudah diaktivasi selama 2 jam pada suhu 110°C. Silika gel dibuat *slurry* (dibuburkan) dengan cara mencampurkan eluen n-heksana:etil asetat dengan perbandingan 4:1 sebanyak 20 mL, diaduk dengan stirer hingga tidak terdapat gelembung udara. Suspensi dimasukkan kedalam kolom dan diketuk-ketuk agar diperoleh fasa diam yang rapat. Kolom didiamkan selama 24 jam, selanjutnya pelarut dikeluarkan sampai mendekati batas adsorben dan sampel dimasukkan dalam kolom.

Sebanyak 0,05 gram sampel dilarutkan dalam 1 mL fasa gerak dengan perbandingan yang pertama yaitu n-heksana : etil asetat 17:3 dan dimasukkan dalam kolom kromatografi. Ditampung setiap 2 mL dalam botol vial. Perlakuan yang sama dilakukan dengan variasi eluen yang kedua yaitu n-heksana : etil asetat 9:1 dan variasi eluen yang ketiga n-heksana : etil asetat 4:1.

3.4.8 Monitoring dengan KLT (Hidayah, 2015)

Monitoring dilakukan menggunakan plat silika gel F₂₅₄ ukuran 10x10 cm yang sudah diaktifkan dalam oven pada suhu 110°C selama 30 menit. Campuran eluen yang digunakan sebagai fasa gerak yaitu n-heksana:etil asetat (4:1) dijenuhkan selama satu jam. Plat silika ditandai dengan jarak 1 cm dari batas atas dan bawah. Fraksi ditotolkan pada silika yang sudah diaktivasi menggunakan pipa kapiler dengan jarak ± 1 cm. Plat silika dimasukkan dalam bejana pengembang dan dielusi sampai batas atas. Noda pada KLT diamati dibawah sinar UV dan dihitung R_f.

3.4.9 Identifikasi Menggunakan FTIR

Hasil yang didapatkan dari pemisahan menggunakan kromatografi kolom kemudian diidentifikasi dengan spektrofotometer IR. Senyawa yang dihasilkan dijadikan pelet KBr terlebih dahulu, kemudian pelet KBr diletakkan diatas tempat sampel dan dimasukkan dalam instrumen spektrofotometer IR kemudian dianalisis gugus fungsi dan spektra yang dihasilkan.

3.4.10 Analisis Data

Analisis dilakukan dengan mendeskripsikan pola pemisahan berdasarkan monitoring dari hasil kromatografi kolom. Monitoring didasarkan pada pengukuran jarak (Rf) dan warna spot senyawa pada plat KLT. Identifikasi steroid dan triterpenoid dilakukan menggunakan FT-IR. Hasil identifikasi diamati dengan memperhatikan serapan yang dimiliki masing-masing senyawa dan gugus fungsinya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultivasi dan Pemanenan Mikroalga *Chlorella* sp.

Kultivasi *Chlorella* sp. ini bertujuan meregenerasi sel mikroalga *Chlorella* sp. Pertumbuhan sel *Chlorella* sp. mulai dari hari ke-0 sampai hari ke-10 ditandai dengan perubahan warna. Gradasi warna hijau menunjukkan peningkatan populasi sel *Chlorella* sp. Perubahan warna yang terjadi pada pertumbuhan selama 10 hari yaitu berwarna hijau muda hingga berwarna hijau pekat dan sampel siap untuk dipanen. Pemanenan *Chlorella* sp. dilakukan pada hari ke-10 karena merupakan fase pertumbuhan yang menghasilkan kerapatan sel yang tinggi (Khamidah, 2014). Sampel kering *Chlorella* sp. yang didapatkan sebanyak 15,6430 gram.

4.2 Penentuan Kadar Air Mikroalga *Chlorella* sp.

Penentuan kadar air *Chlorella* sp. menggunakan metode *thermogravimetri* dengan prinsip pemanasan dan penimbangan. Kadar air pada sampel *Chlorella* sp. sebesar 8,02%. Kandungan air yang terlalu tinggi akan mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada saat penyimpanan sampel dan juga dapat mengurangi konsentrasi pelarut pada saat maserasi. Menurut Winarno (1997) pertumbuhan mikroba pada sampel dapat dikurangi jika sampel memiliki kadar air dibawah 10%.

4.3 Ekstraksi Maserasi Mikroalga *Chlorella* sp.

Maserasi mikroalga *Chlorella* sp. dilakukan untuk mengekstrak senyawa aktif yang ada dalam *Chlorella* sp. Sampel kering *Chlorella* sp. diekstraksi menggunakan pelarut metanol. Perendaman dilakukan sebanyak 5 kali agar senyawa aktif yang terdapat dalam *Chlorella* sp. terekstrak secara maksimal. Maserasi dilakukan berulang hingga ekstrak yang berwarna hijau pekat berubah menjadi hijau pudar. Perubahan warna yang semakin pudar dan berkurangnya volume ekstrak mengindikasikan komponen senyawa yang ada dalam sampel sudah terekstrak secara maksimal. Hasil ekstrak metanol yang sudah dipekatkan sebanyak 3,7222 gram sehingga diperoleh randemen maserasi *Chlorella* sp. sebesar 23,79%. Metode serupa telah dilakukan oleh peneliti terdahulu yang menghasilkan randemen yang tidak jauh dari penelitian ini yaitu 21,89% (Handoko, 2016).

4.4 Hidrolisis Ekstrak Pekat Mikroalga *Chlorella* sp. dan Partisi Menggunakan Petroleum Eter

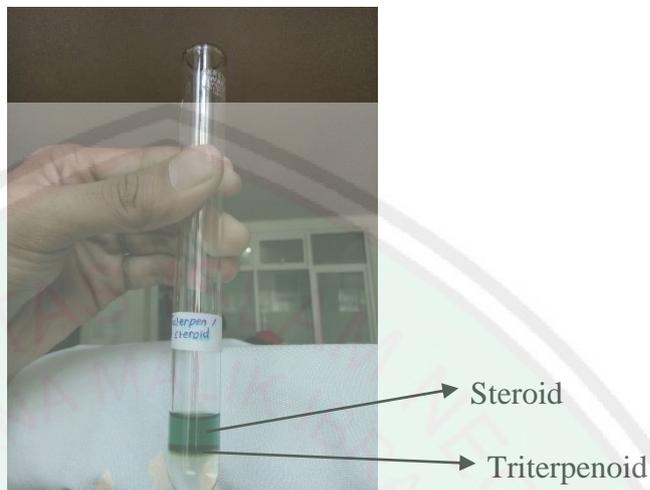
Hidrolisis ekstrak pekat *Chlorella* sp. dilakukan untuk memutus ikatan glikosida antara gugus gula dengan metabolit sekunder. Senyawa steroid dan triterpenoid dalam *Chlorella* sp. berikatan dengan gugus glikosida sehingga perlu dilakukan hidrolisis untuk memutus ikatan tersebut. Hidrolisis ekstrak pekat *Chlorella* sp. dilakukan menggunakan HCl 2N dan proses penetralan dilakukan menggunakan natrium bikarbonat untuk menghentikan reaksi hidrolisis. Hasil dari proses hidrolisis berpengaruh terhadap randemen partisi yang menunjukkan banyaknya senyawa steroid dan triterpenoid yang terekstrak dalam petroleum eter.

Partisi yang dilakukan dengan menggunakan petroleum eter dikarenakan senyawa steroid dan triterpenoid yang akan diisolasi memiliki sifat kepolaran yang hampir sama dengan petroleum eter. Proses partisi menghasilkan dua lapisan warna yang berbeda, lapisan atas berupa fase organik yang berwarna hijau pekat dan lapisan bawah berupa fase air berwarna coklat pudar. Fase organik tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder berupa steroid dan triterpenoid. Fase organik yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga dihasilkan randemen partisi sebesar 55,06 %. Hasil randemen partisi ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yang melakukan partisi ekstrak *Chlorella* sp. menggunakan petroleum eter diperoleh randemen sebesar 50,63 % (Handoko, 2016).

4.5 Uji Reagen Senyawa Steroid dan Triterpenoid Menggunakan Liberman Burchard

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui gambaran golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Reagen yang digunakan yaitu Liberman Burchard (LB) karena merupakan reagen spesifik untuk mendeteksi adanya senyawa golongan steroid dan triterpenoid (Kristanti dkk., 2008). Reagen LB yang ditambahkan dengan asam kuat pada ekstrak akan menghasilkan warna hijau-kebiruan yang positif mengandung steroid sedangkan triterpenoid akan terbentuk cincin kecoklatan pada permukaan larutan (Robinson, 1995, Kristanti dkk., 2008). Hasil identifikasi senyawa menggunakan reagen LB ini menunjukkan bahwa ekstrak hasil partisi menggunakan petroleum eter pada *Chlorella* sp. positif mengandung senyawa golongan steroid dan triterpenoid dengan ditunjukkan adanya warna hijau-

kebiruan dan cincin kecoklatan pada permukaan larutan yang ditunjukkan pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Hasil Uji Liberman Burchad

4.6 Pemisahan Steroid-Triterpenoid dengan Kromatografi Kolom dan Monitoring Menggunakan KLT-Analitik

Kromatografi kolom yang dilakukan pada penelitian ini untuk memisahkan senyawa steroid dan triterpenoid. Pemisahan dengan metode kromatografi kolom didasarkan pada dua fasa, yaitu fasa diam berupa silika gel 60 dan fasa gerak berupa eluen campuran. Hasil dari proses elusi kromatografi kolom menggunakan eluen perbandingan n-heksana dan etil asetat 4:1 diperoleh sebanyak 216 vial. Pada perbandingan eluen 17:3 diperoleh 199 vial dan perbandingan eluen 9:1 diperoleh 205 vial isolat *Chlorella* sp.

Hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom diidentifikasi menggunakan KLT Analitik untuk mengetahui senyawa yang berhasil dipisahkan.

Monitoring dilakukan pada masing-masing hasil kolom (4:1, 17:3, 9:1) yang disajikan pada Tabel 4.1; Tabel 4.2 dan Tabel 4.3.

Tabel 4.1 Fraksi Hasil Kolom dengan Eluen n-heksana:etil asetat (4:1)

Fraksi	Vial	Warna (UV 366 nm)	Rf	Dugaan Senyawa
1	1-15	-	-	-
2	16	Merah	0,25	Campuran
		Merah	0,6	
		Hijau	0,8375	
3	17-33	Merah	0,35	Campuran
		Merah	0,6125	
4	34-80	Merah	0,35	Campuran
		Merah	0,4125	
		Merah	0,5625	
5	81-84	Merah	0,6125	Campuran
		Merah	0,275	
6	85-94	Merah	0,6125	Campuran
		Merah	0,35	
7	95-99	Merah	0,275	Campuran
		Merah	0,4125	
8	100-120	Merah	0,075	Campuran
		Merah	0,225	
		Merah	0,2625	
9	121-134	Merah	0,075	Campuran
		Merah	0,225	
10	135-175	Merah	0,075	Triterpenoid
11	176-216	-	-	-

Tabel 4.2 Fraksi Hasil Kolom dengan Eluen n-heksana:etil asetat (17:3)

Fraksi	Vial	Warna (UV 366 nm)	Rf	Dugaan Senyawa
1	1-17	-	-	-
2	18-25	Hijau	0,6	Steroid
3	26-35	Hijau	0,6	Campuran
		Merah	0,45	
		Merah	0,4	
4	36-55	Merah	0,44	Campuran
		Merah	0,4	
		Merah	0,3	
5	56-69	Merah	0,4	Campuran
		Merah	0,3	
		Merah	0,26	
6	70-99	Merah	0,26	Triterpenoid
7	100-191	Merah	0,25	Campuran
		Merah	0,15	
8	192-199	-	-	-

Tabel 4.3 Fraksi Hasil Kolom dengan Eluen n-heksana:etil asetat (9:1)

Fraksi	Vial	Warna (UV 366 nm)	Rf	Dugaan Senyawa
1	1-22	-	-	-
2	23-38	Hijau	0,44	Steroid
3	39-42	Hijau Merah	0,44 0,3	Campuran
4	43-55	Merah	0,3	Triterpenoid
5	56-99	Merah Merah	0,3 0,21	Campuran
6	100-134	Merah	0,21	Triterpenoid
7	135-180	Merah Merah	0,21 0,13	Campuran
8	181-199	Merah	0,13	Triterpenoid
9	200-205	-	-	-

Berdasarkan hasil monitoring diketahui bahwa kromatografi kolom yang dilakukan mampu memisahkan senyawa steroid dan triterpenoid. Terpisahnya kedua senyawa tersebut ditandai dengan munculnya spot warna hijau yang diduga murni steroid dan spot warna merah yang diduga murni triterpenoid pada plat KLT (Saleh, 2007) (lampiran 8). Hasil monitoring KLT-Analitik dikelompokkan dalam fraksi besar. Pengelompokan fraksi ini didasarkan pada jumlah spot, nilai Rf dan warna spot (Kusmiyati, dkk., 2011). Tabel monitoring KLT-Analitik diatas menunjukkan hasil pemisahan pada kolom dengan variasi eluen 4:1 didapatkan 11 fraksi besar diantaranya 1 fraksi tunggal dan 10 fraksi campuran. Perbandingan eluen 17:3 diperoleh 8 fraksi besar diantaranya 2 fraksi tunggal dan 6 fraksi campuran. Kolom dengan variasi eluen 9:1 dapat memisahkan 9 fraksi besar diantaranya 4 fraksi tunggal dan 5 fraksi campuran. Pengelompokan fraksi tunggal dari kolom eluen 4:1, 17:3 dan 9:1 disajikan dalam Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Pengelompokan Fraksi Tunggal

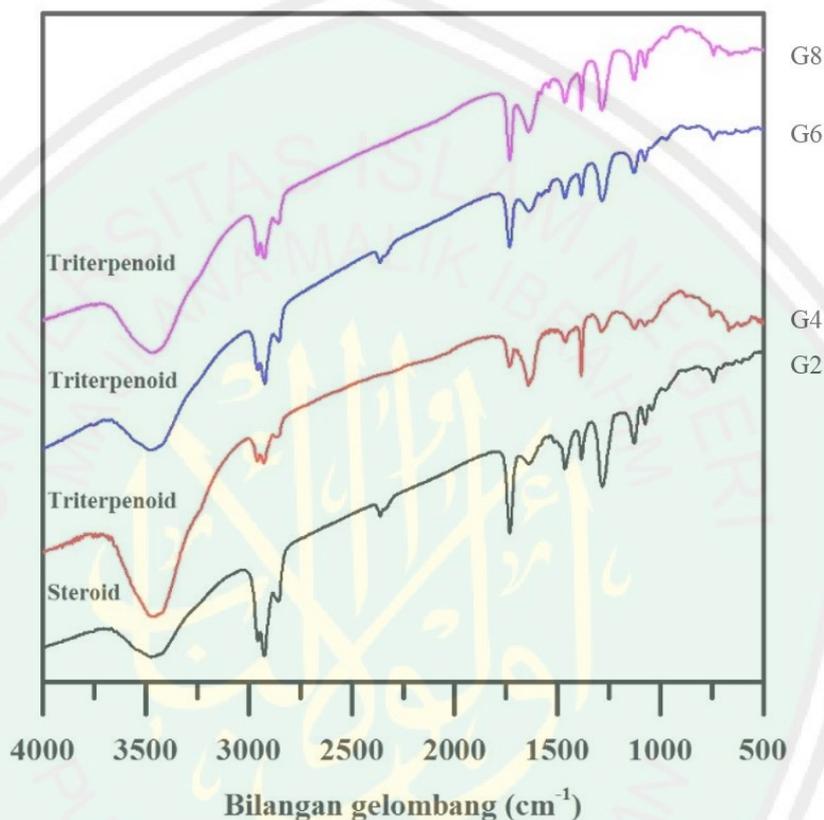
N- heksana : Etil asetat	Σ Spot Tunggal	Warna (UV)	Rf	Senyawa	Berat (gram)
4 : 1	1	Merah	0,075	Triterpenoid (A10)	0,003
17 : 3	2	Hijau	0,6	Steroid (F2)	0,002
		Merah	0,26	Triterpenoid (F6)	0,002
9 : 1	4	Hijau	0,44	Steroid (G2)	0,004
		Merah	0,3	Triterpenoid (G4)	0,004
		Merah	0,21	Triterpenoid (G6)	0,012
		Merah	0,13	Triterpenoid (G8)	0,003

Zhang, dkk. (2012) menyatakan bahwa pemilihan fase gerak pada pemisahan menggunakan kromatografi tidak hanya didasarkan pada banyaknya campuran eluen yang digunakan melainkan dipusatkan pada pemisahan yang maksimal. Oleh karena itu perlu dilakukan pemilihan komposisi fase gerak yang sesuai dengan senyawa yang dipisahkan (Kondeti, dkk., 2014). Diantara ketiga variasi eluen yang digunakan dalam kromatografi kolom dapat diketahui bahwa perbandingan eluen n-heksana : etil asetat (9:1) merupakan variasi eluen kolom yang terbaik. Hal ini dapat diketahui bahwa pada variasi tersebut dapat memisahkan senyawa steroid dan triterpenoid lebih banyak dengan randemen isolat yang lebih besar dari hasil pemisahan yang lainnya. Isolat hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan perbandingan eluen 9:1 terdiri dari 1 fraksi berupa steroid (G2), dan 3 fraksi berupa triterpenoid (G4, G6 dan G8) diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FT-IR.

4. 7 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Hasil pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan kromatografi kolom eluen n-heksana dan etil asetat (9 : 1) sebanyak 4 fraksi

diantaranya fraksi G2, G4, G6 dan G8 diidentifikasi dengan spektrofotometer FT-IR. Tujuan identifikasi ini yaitu untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa steroid dan triterpenoid. Hasil spektra FT-IR dari keempat isolat ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil Spektra FT-IR Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Berdasarkan hasil identifikasi FTIR isolat yang diduga fraksi steroid (G2) yang ditunjukkan pada Gambar 4.2 didapatkan serapan daerah bilangan gelombang 3473 cm^{-1} yang melebar menunjukkan adanya gugus O-H pada isolat. Diperkuat dengan adanya gugus C-O alkohol tersier pada bilangan gelombang 1126 cm^{-1} . Bilangan gelombang 2925 cm^{-1} diduga mengandung regangan $-\text{CH}_2$ asiklik asimetri. Pada bilangan gelombang 1730 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O

ester. Diperkuat dengan munculnya bilangan gelombang 1281 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O ester disertai dengan bilangan gelombang 1074 cm^{-1} yang menunjukkan gugus C-O-C pada ester. Dugaan gugus ester diperkuat dengan munculnya gugus C-O ester pada bilangan gelombang $1300 - 1100\text{ cm}^{-1}$ (Socrates, 1994). Adanya vibrasi C-H tekuk pada pita serapan 1462 cm^{-1} dan 1383 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus geminal dimetil. Hasil interpretasi spektra IR tersebut tidak jauh berbeda dengan gugus fungsi senyawa steroid pada penelitian Astuti, dkk (2014) gugus fungsi yang dihasilkan antara lain OH, $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$, C=C, C=O dan geminal dimetil.

Spektra FTIR yang dihasilkan dari ketiga fraksi yang diduga senyawa triterpenoid (G4, G6 dan G8) tidak jauh berbeda, diantaranya menghasilkan serapan $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2$, C=O ester, C=C dan geminal dimetil. Adanya bilangan gelombang pada daerah 3455 cm^{-1} (G4), 3473 cm^{-1} (G6) dan 3453 cm^{-1} yang diduga merupakan serapan gugus OH ($3600 - 3450\text{ cm}^{-1}$). Adanya OH diperkuat dengan munculnya serapan C-OH sekunder pada bilangan gelombang 1124 cm^{-1} (G4) dan 1125 cm^{-1} (G8) ($1125 - 1085\text{ cm}^{-1}$) dan serapan C-OH tersier pada bilangan gelombang 1126 cm^{-1} (G4) ($1205 - 1125\text{ cm}^{-1}$). Adanya serapan ulur $-\text{CH}$ alifatik ditunjukkan dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 2927 dan 2865 cm^{-1} (G4), 2924 dan 2457 cm^{-1} (G6), 2925 dan 2859 cm^{-1} (G8). Hal ini menunjukkan adanya gugus metil (CH_3) dan metilen (CH_2). Adanya gugus geminal dimetil ditunjukkan pada bilangan gelombang 1460 dan 1384 cm^{-1} (G4), 1463 dan 1383 cm^{-1} (G6), 1462 dan 1383 cm^{-1} (G8). Serapan pada daerah 1638 cm^{-1} (G4), 1637 cm^{-1} (G6) dan 1639 cm^{-1} (G8) menunjukkan adanya gugus C=C terisolasi ($1680 - 1620\text{ cm}^{-1}$). Serapan pada bilangan gelombang 1731 cm^{-1} (G4;G6) dan 1730 cm^{-1} (G8) menunjukkan

adanya C=O ester pada ketiga fraksi (1750 – 1725 cm⁻¹) (Socrates, 1994). Serapan tersebut diperkuat dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang 1286 cm⁻¹ (G4), 1284 cm⁻¹ (G6) dan 1285 cm⁻¹ (G8) yang menunjukkan adanya gugus C-O ester (1300 – 1100 cm⁻¹) (Socrates, 1994). Hasil FT-IR pada penelitian Saha, dkk (2011) menunjukkan senyawa triterpenoid yang tidak berbeda jauh dengan penelitian ini. Gugus fungsi yang dihasilkan antara lain –OH, –CH₂, –CH₃, C=C, C=O, geminal dimetil dan C-O alkohol.

4.8 Pemanfaatan Mikroalga *Chlorella* sp. dalam Perspektif Islam

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا
مِنَ النَّارِ

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

Ayat tersebut menerangkan tentang segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT yaitu alam beserta isinya merupakan rahmat yang besar, tidak ada segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT suatu yang menjadi sia-sia melainkan Allah SWT menciptakan sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Manusia berhak memanfaatkan segala ciptaan-Nya yang ada di alam ini. Allah SWT menumbuhkan berbagai macam tanaman bukan hanya dalam skala makro, melainkan tanaman dalam skala mikro pun memiliki berbagai manfaat. Dalam hal ukuran Allah telah mengaturnya sebelum segala sesuatunya diciptakan. Firman Allah surah al Hijr ayat 19:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ

Artinya: “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.”

Ayat tersebut menjelaskan tentang penciptaan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya. *Chlorella* sp. merupakan tanaman yang berukuran kecil, akan tetapi dengan ukuran tersebut tidak menutup kemungkinan tumbuhan ini tidak memiliki kegunaan dengan adanya kandungan senyawa aktif yang ada didalamnya. Firman Allah surah al Qomar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: “Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.”

Allah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik yaitu subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan yaitu *Chlorella* sp. dalam bidang farmakologi seperti antioksidan dan antibakteri. Senyawa yang dapat dipisahkan berupa steroid dan triterpenoid. Untuk mendapatkan bahan alam tersebut maka perlu dilakukan eksperimen agar mendapatkan hasil pemisahan yang maksimal. Pemilihan metode dalam penelitian juga akan mempengaruhi kadar yang dihasilkan. Firman Allah SWT Q.S az Zumar ayat 21:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرَى لِأُولِي الْأَبْصَارِ ﴿٢١﴾

Artinya: “Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu ia menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal.”

Surah az Zumar ayat 9 menerangkan bahwa perlunya ilmu pengetahuan dalam mempelajari segala sesuatu. Ilmu merupakan pedoman hidup umat manusia. Kita tidak dapat melakukan segala sesuatu tanpa adanya ilmu, dengan adanya ilmu juga dapat mengetahui apa yang sebelumnya belum diketahui. Dalam Firman Allah SWT surah az Zumar ayat 9:

أَمْ مَنْ هُوَ قَانِتٌ آتَاءَ اللَّيْلِ سَاجِدًا وَقَائِمًا يَحْذَرُ الْآخِرَةَ وَيَرْجُو رَحْمَةَ رَبِّهِ ۗ قُلْ هَلْ يَسْتَوِي الَّذِينَ يَعْلَمُونَ
وَالَّذِينَ لَا يَعْلَمُونَ ۗ إِنَّمَا يَتَذَكَّرُ أُولُو الْأَلْبَابِ

Artinya: “(Apakah kamu hai orang musyrik yang lebih beruntung) ataukah orang yang beribadat di waktu-waktu malam dengan sujud dan berdiri, sedang ia takut kepada (azab) akhirat dan mengharapkan rahmat Tuhannya? Katakanlah: "Adakah sama orang-orang yang mengetahui dengan orang-orang yang tidak mengetahui?" Sesungguhnya orang yang berakallah yang dapat menerima pelajaran.”

Segala hal yang ada di bumi ini tidak semua bisa dimanfaatkan dengan baik. Oleh karena itu, manusia diberi akal oleh Allah SWT agar berfikir. Pada penelitian ini dilakukan variasi perbandingan untuk mendapatkan metode pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom secara maksimal. Jika hasil pemisahannya baik maka dapat dimanfaatkan untuk uji lanjutan. Dalam penelitian ini perbandingan terbaik eluen n-heksana dan etil asetat yang digunakan yaitu 9:1. Dimana variasi tersebut dapat memisahkan senyawa tunggal dari steroid dan triterpenoid yang paling banyak dengan Rf berturut-turut: 0,44; 0,3; 0,21 dan 0,13. Steroid dan

triterpenoid ini dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi, seperti antikanker, antibakteri dan antioksidan (Hayati, dkk, 2012).



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid terbaik dari fraksi petroleum eter hasil hidrolisis ekstrak metanol *Chlorella sp.* menggunakan kromatografi kolom adalah perbandingan eluen (n-heksana : etil asetat) 9 : 1 yang menghasilkan 4 fraksi tunggal yaitu 1 fraksi diduga senyawa steroid dan 3 fraksi diduga senyawa triterpenoid dengan Rf berturut-turut: 0,44; 0,3; 0,21 dan 0,13.
2. Identifikasi senyawa yang dihasilkan menggunakan FTIR menghasilkan beberapa serapan diantaranya gugus –OH, –CH₂, –CH₃, C=C, C=O, C-O alkohol sekunder, C-O alkohol tersier dan geminal dimetil.

5.2 Saran

Diperlukan isolasi senyawa steroid dan triterpenoid dengan menggunakan eluen bergradien dan identifikasi senyawa lebih lanjut dilakukan dengan LCMS untuk memperkuat dugaan jenis senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiatama, I., Zainuddin, M., dan Rokhati, N. 2012. Hidrolisis Kitosan Menggunakan Katalis Asam Klorida (HCl). *Jurnal Teknik Kimia dan Industri*, 1 (1).
- Ahmad, A., dan Muhammad, N., M. 2013. Inhibitive Enhancement of Isoniacid Treatment on *Mycobacterium tuberculosis* Through Triterpenoid Carbocyclic Acid From Red Algae *Eucheuma spinosum*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2): (B) 231 – 237.
- Anggraeni, O. N., Achmad, G., F., Munirul, A., dan Ahmad, H. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum eter dan N-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* *ALCHEMY*, 3 (2): 173 – 188.
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, Inc.* Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
- Assadad, L., Bagus, S. B. U., dan Rodiah, N. S. 2010. Pemanfaatan Mikroalga sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Squalen*, 5 (2): 51 – 58.
- Astuti, D., M., Maulana, A., dan Kuntowati, E., M. 2014. Isolasi Steroid dari Fraksi N-heksana Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya. ISBN : 978-602-0951-00-3.
- Atun S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Kimia*, 8 (2): 53-61.
- Bariyyah, S. K., Achmad, G., F., Munirul, A., dan Ahmad, H. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge. *ALCHEMY*, 2 (3): 150 – 204.
- Becker, E. W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*, Cambridge: Cambridge University Press.
- Ben-Amotz, A., Gressel, J., dan Avron, M. 1987. Massive Accumulation of Phytoene Induced by norflurazon in *Dunaliella bardawil* (*Chlorophyceae*) Prevents Recovery from Photoinhibition. *Journal Phycol*, 23: 176-181.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid 1*. Jakarta: UI Press.
- Gunawan, D. dan Sri, M. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Bogor: Penebar Swadayana.

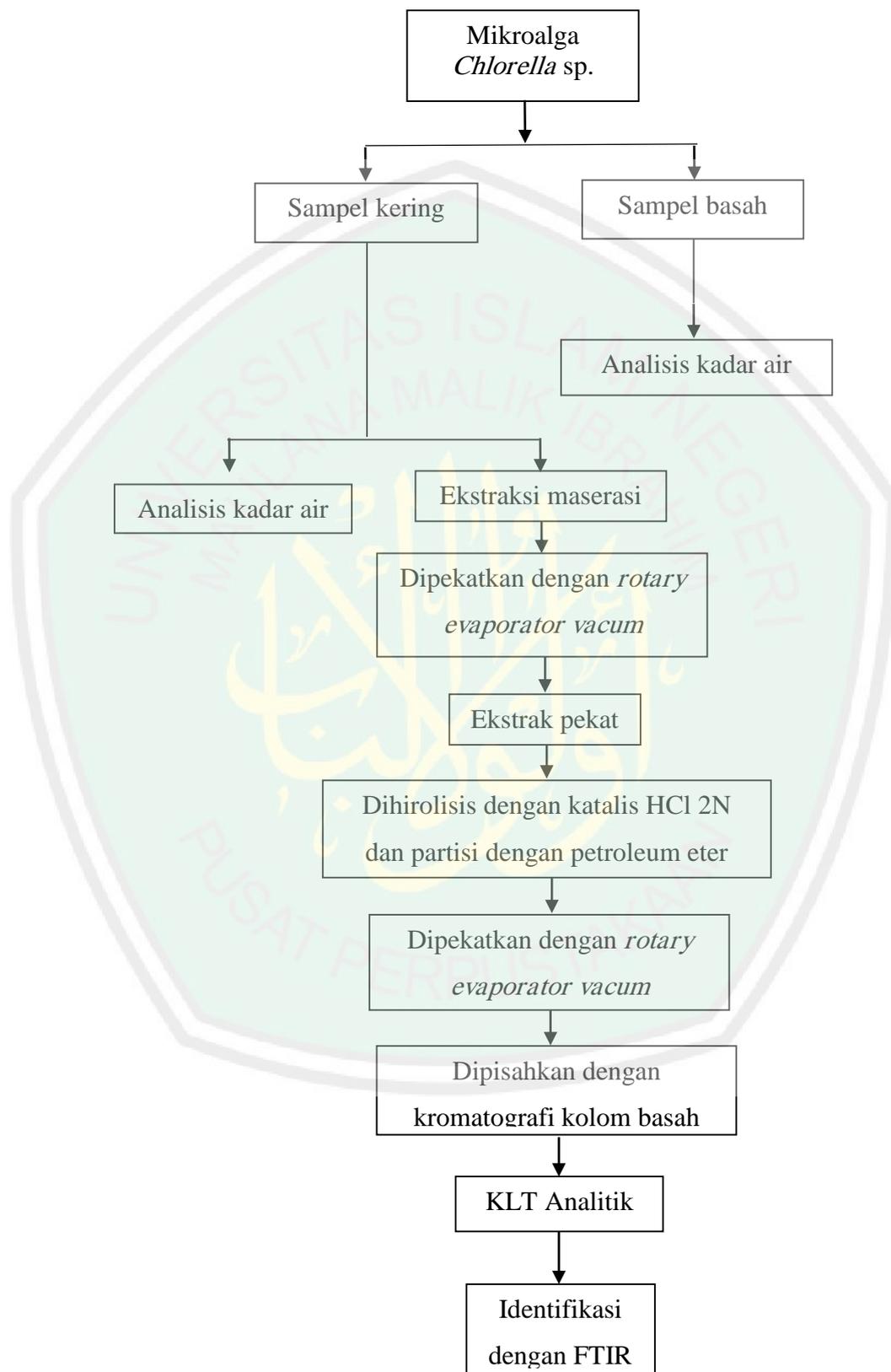
- Handayani, D., Mega, Y., Yohanes, A., dan Nicole, J. 2012. Isolasi Senyawa Sitotoksik dari Spons Laut *Petrosia* sp. *Jurnal Perikanan*, 7 (1): 69 – 76.
- Handoko, S. 2016. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter (PE) Mikroalga *Chlorella* sp. dengan Metode Kromatografi Kolom Pembuatan Fasa Diam Cara Basah dan Kering. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Edisi Kedua*. Bandung: ITB.
- Hayati, K., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Molekul*, 7 (1): 20 – 32.
- Hidayah, H. 2015. Pemisahan Senyawa Steroid pada Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. Menggunakan KLT dan Identifikasinya Menggunakan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Imamah, N. 2015. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Identifikasinya Menggunakan Spektrofotometer FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Indrayani, L., Soetjipto, H., dan Sihasale, L., 2006. *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (stachytarphetajamaicensis L. Vahl) Terhadap Larva Udang Artemia Salina Leach. Berk, Penelitian.Hayati: 12 (57-61).*
- Ismarti. 2011. Isolasi Triterpenoid dan Uji Antioksidan dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Meranti Merah (*Shorea singkawang* (Miq).Miq). *Artikel*. Pascasarjana Universitas Andalas.
- Khamidah, U. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khoiriyah, S., Hanapi, A., dan Fasya, G. A. 2014. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum lulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *ALCHEMY*, 3 (2): 133 – 144.
- Kondeti, R., R., Mulpuri, K., S., dan Meruga, B. 2014. Advancements in column chromatography: A review. *World Journal of Pharmaceutical Science*, 2 (9): 1375 – 1383.

- Kristanti, A. N., Nanik, S., A., Mulyadi, T., dan Bambang, K. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusmiyati, Nurfini, A., Sri, H. 2011. Isolation and Identification of Active Compound Methanol Extract of *Curcuma mangga* Val Rhizomes of Ethyl Acetate Fraction. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 1 (2).
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavanoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, S. 2015. Pemisahan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. Menggunakan KLT dan Identifikasinya Menggunakan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mazidah, R. 2014. Pemanfaatan Mikroalga *Chlorella* sp. sebagai Bioremediator Logam Berat Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo Sidoarjo. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mulyani, M., Arifin, B., dan Nurdin, H. 2013. Uji Antioksidan dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Srikaya (*Annona squamosa* L). *Jurnal Kimia*, 2 (1).
- Mulyono, H. A. M. 2009. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Nihlati, L., Abdul, R., dan Triana, H. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (roxb)) dengan Metode Penangkapan DPPH. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Nur dan Adijuwana. 1989. *Teknik Pemisahan Dalam Analisis Biologis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Pridawati, E., Ahmad, A., dan Hanapi, U. 2014. Isolation and Identification of Secondary Metabolites of Chloroform Fraction of Macroalgae *Padina australis* As Anti Tuberculosis. *Indonesia Chimica Acta*, 7 (1).
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Saha S., Subrahmanyam, E. V. S., Kondangala, C. dan Shastri, S. C. 2011. Isolation and Characterization of Triterpenoids and Fatty Acid Ester of Triterpenoid from Leaves of *Bauhinia Variegata*. *Der Pharma Chemica*, 3 (4): 28 – 37.

- Saifudin, A., Suparti, F., Anang dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus roseus [L] G.Don* Berbunga Merah. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Saleh, C. 2007. Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Steroid dari Akar Tumbuhan Cendana (*Santalum Album linn*). *Disertasi*. Sumatera: Program Doktor Ilmu Kimia Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara Medan.
- Setiyawan, M. I., Ningsih, R., Syarifah, U. dan Adi, T. K. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dan Identifikasi Menggunakan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Vol. 7 dan 10*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Sholikah, A. N. L. 2016. Isolasi Senyawa Sterid Dari Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma spinosum* Menggunakan Metode Kromatografi Kolom. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sinulingga, S.E. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid/Triterpenoid dari Akar Tanaman Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata schott*). *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.
- Socrates. 1994. *Infrared Characteriztic Group Frequencies 2nd Edition*. England: John Wiley and Sons Ltd.
- Steenblock. 1996. *Chlorella Makanan Sehat Alami*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Sundari, I. 2010. Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk*). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Uma, R., Ivasubramanian, V. S., dan Devaraj, S. N. 2011. Preliminary Phycochemical Analysis In Vitro Antibacterial Screening of Green Microalgae, *Desmoccocus olivaceous*, *Chlorococum humicola* and *Chlorella vukgaris*. *Algal Biomass Utilization*, 2 (3): 74 – 81.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Zhang, K., Xingguo, W., Jianhua, H. dan Yuanfa, L. 2012. *Purification of L-Alpha Glycerolphosphorylcholine by Coloumn Chromatography*. *Journal of Chromatography A*, 1220: 108 – 114.

LAMPIRAN

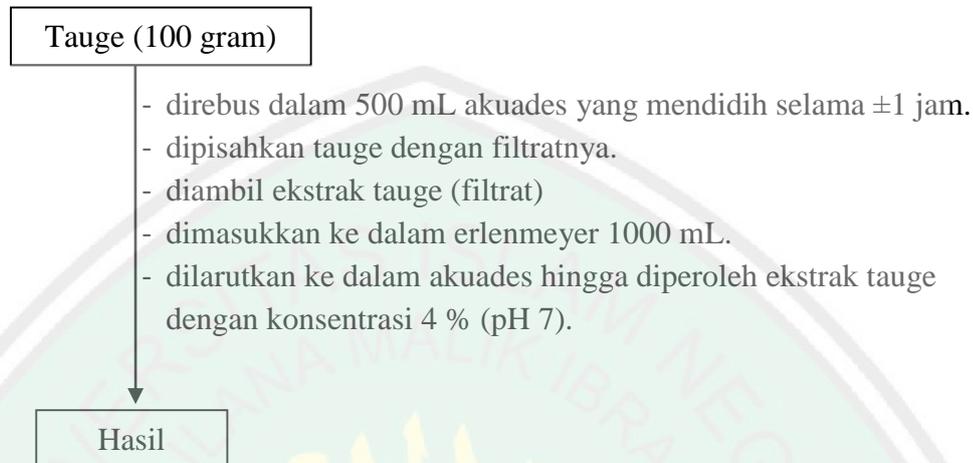
Lampiran 1. Diagram alir penelitian



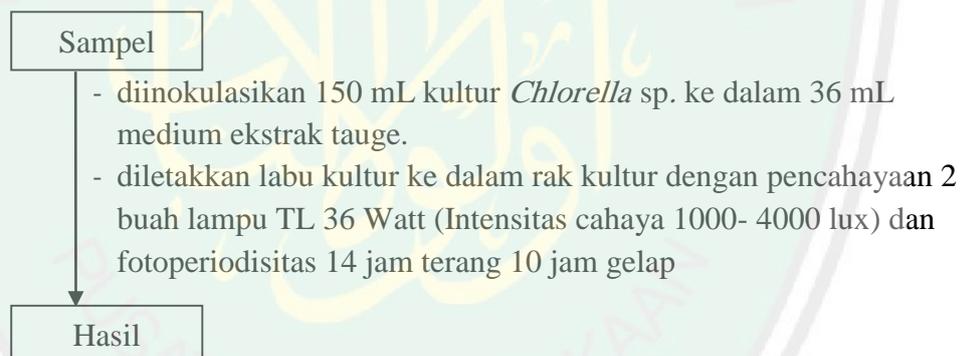
Lampiran 2. Diagram alir

L.2.1 Kultivasi Mikroalga *Chlorella* sp.

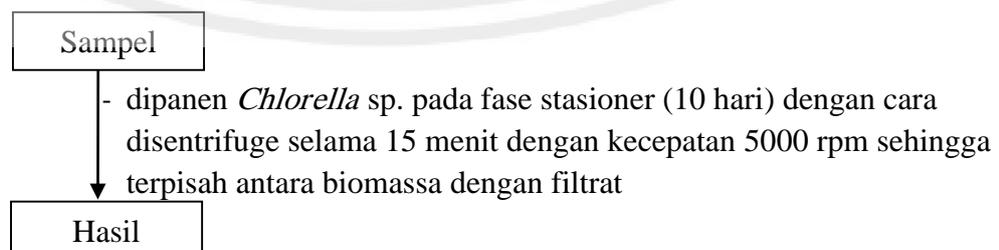
L.2.1.1 Pembuatan Medium Ekstrak Tauge (MET)



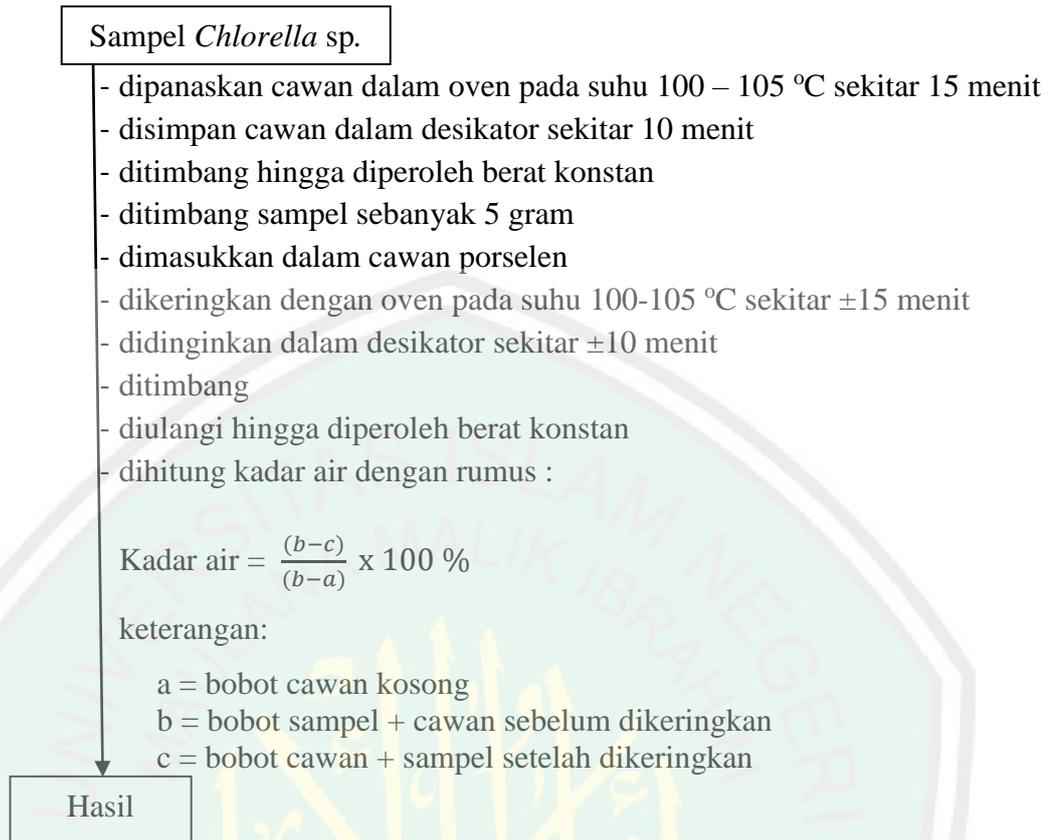
L.2.1.2 Kultivasi *Chlorella* sp. dalam Medium Ekstrak Tauge



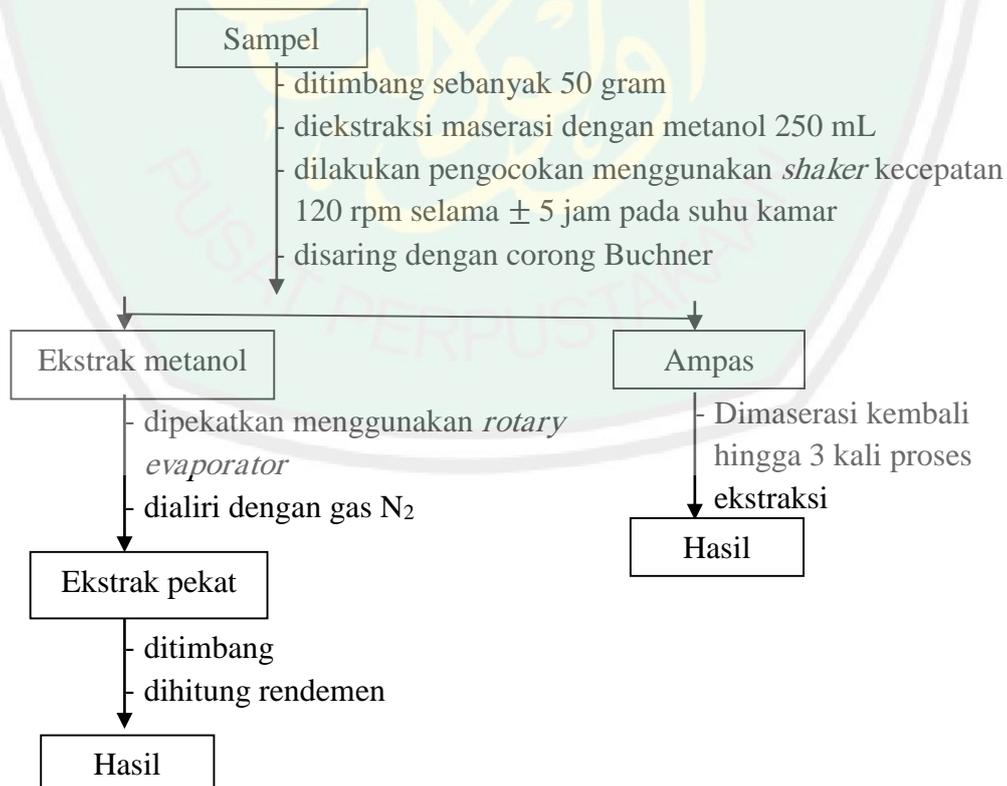
L.2.1.3 Pemanenan Mikroalga *Chlorella* sp.



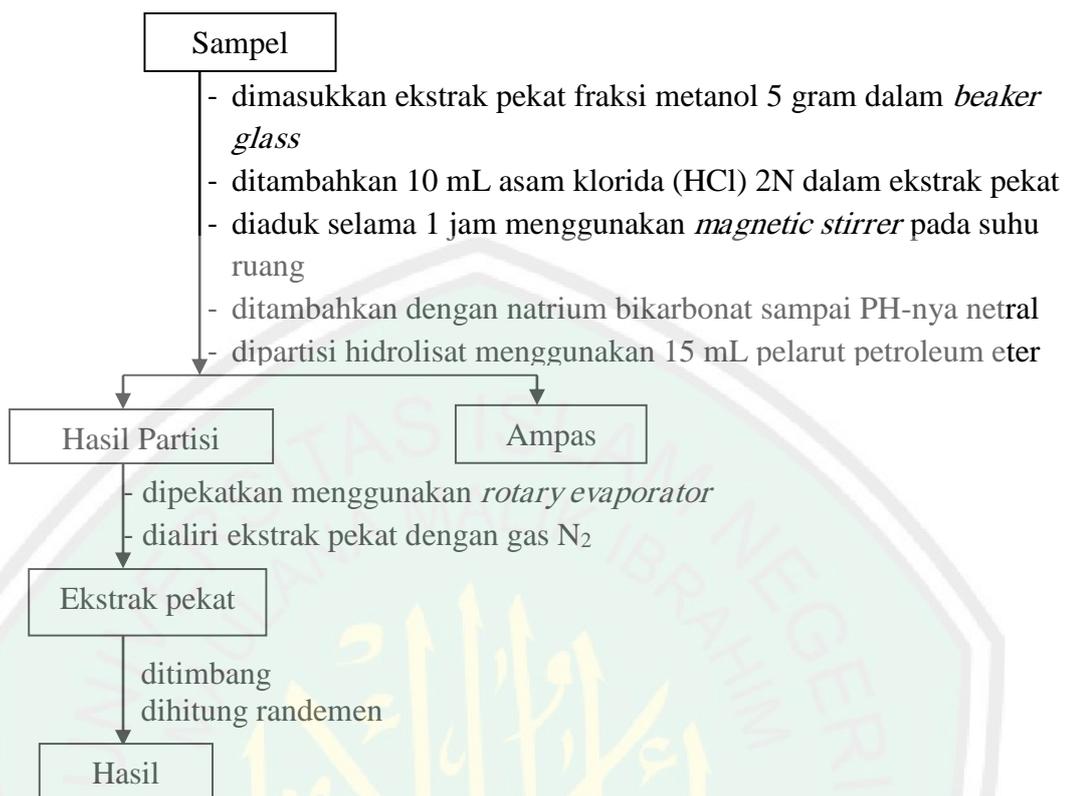
L.2.2 Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri (AOAC, 1984)



L.2.3 Ekstraksi Mikroalga *Chlorella* sp. dengan Maserasi

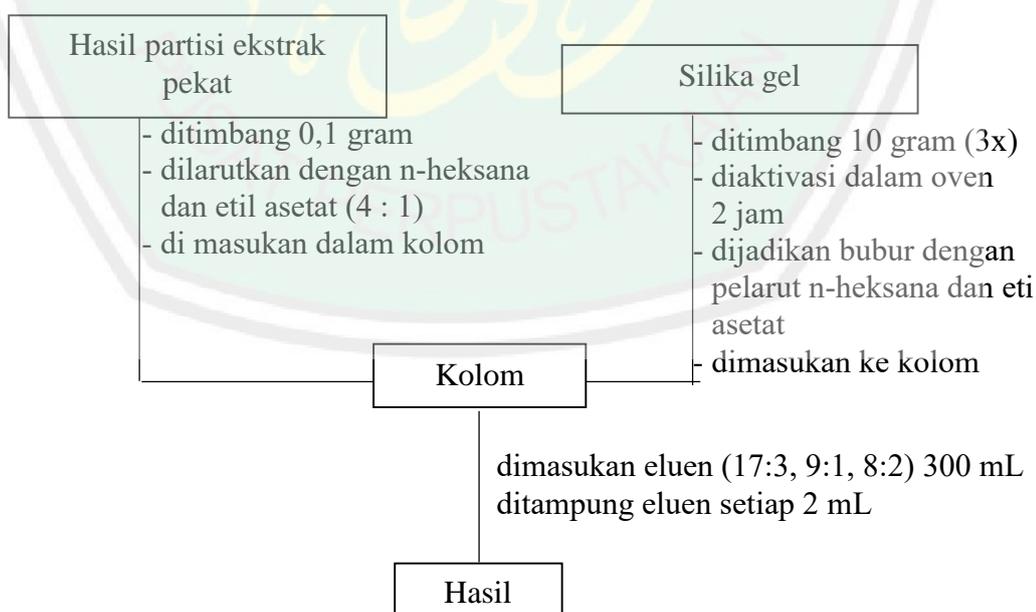


L.2.4 Hidrolisis Dan Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol



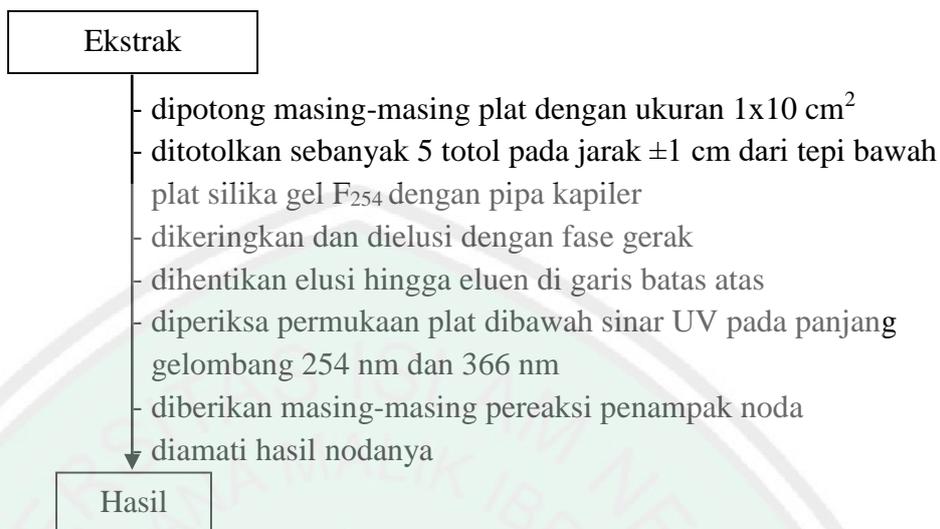
L.2.5 Pemisahan Senyawa Steroid dan Triterpenoid *Chlorella* sp. dengan

Kromatografi Kolom



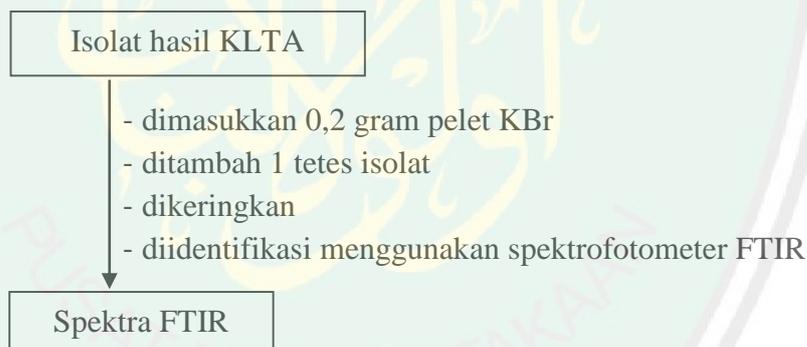
L.2.6 Monitoring Senyawa Steroid dan Triterpenoid dengan KLT Analitik

(Bawa, 2007)



L.2.7 Identifikasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid dengan Spektrofotometer

FTIR



Lampiran 3. Perhitungan, Pembuatan Reagen dan Larutan

L.3.1 Kultivasi *Chlorella* sp. dalam MET 4%

$$\text{Ketentuan} = \frac{10 \text{ ml isolat } \textit{chlorella} \text{ sp}}{60 \text{ ml MET 4 \%}} = \text{Volume total 70 mL}$$

Pembuatan MET : 100 gram taugé direbus dalam 500 mL akuades

- a. Pembuatan MET 4 % sebanyak 900 mL

$$\begin{aligned} \text{MET 4 \%} &= \frac{4}{100} \times 900 \text{ mL} \\ &= 36 \text{ mL ekstrak taugé} \end{aligned}$$

$$V \text{ larutan} = V \text{ akuades} + V \text{ MET}$$

$$\begin{aligned} V \text{ akuades} &= V \text{ larutan} - V \text{ MET} \\ &= 900 \text{ mL} - 36 \text{ mL} \\ &= 864 \text{ mL} \end{aligned}$$

- b. Kultivasi dalam Erlenmeyer 1000 mL dengan Memaksimalkan Daya

Tampung Erlenmeyer

$$\frac{10}{60} = \frac{\text{Isolat } \textit{Chlorella} \text{ sp. (x)}}{900 \text{ ml MET 4 \%}}$$

$$60x = 9000 \text{ mL}$$

$$x = 150 \text{ mL Isolat } \textit{Chlorella} \text{ sp.}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume total} &= \text{Isolat } \textit{Chlorella} \text{ sp.} + \text{Larutan MET 4 \%} \\ &= 150 \text{ mL} + 900 \text{ mL} \\ &= 1050 \text{ mL} \end{aligned}$$

- c. Pembuatan MET 4 % sebanyak 1200 mL

$$\text{MET 4 \%} = \frac{4}{100} \times 1200 \text{ mL}$$

$$= 48 \text{ mL ekstrak taugé}$$

$$\begin{aligned}
 V \text{ Aquades} &= V \text{ larutan} - V \text{ MET} \\
 &= 1200 \text{ mL} - 48 \text{ mL} \\
 &= 1152 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

- d. Kultivasi dalam Botol 1500 mL dengan Memaksimalkan Daya Tampung

Botol

$$\frac{10}{60} = \frac{\text{Isolat } Chlorella \text{ sp. (x)}}{1200 \text{ ml MET } 4 \%}$$

$$60x = 12000 \text{ mL}$$

$$x = 200 \text{ mL Isolat } Chlorella \text{ sp.}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Volume total} &= \text{Isolat } Chlorella \text{ sp.} + \text{Larutan MET } 4 \% \\
 &= 200 \text{ mL} + 1200 \text{ mL} \\
 &= 1400 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

L.3.2 Pembuatan larutan HCl 2 N

Konsentrasi HCl dalam N

$$\text{HCl } 37\% \left(\frac{b}{b}\right) = \frac{37 \text{ g HCl}}{100 \text{ g Larutan HCl}}$$

$$\rho \text{ Larutan HCl} = 1,19 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

$$1,19 \text{ g} = 1 \text{ mL}$$

$$100 \text{ g} = X$$

$$\frac{100 \text{ g}}{1,19 \text{ g}} = \frac{1 \text{ mL}}{X}$$

$$1,19 \text{ g } X = 100 \text{ g} \times 1 \text{ mL}$$

$$X = \frac{100 \text{ g} \times \text{mL}}{1,19 \text{ g}} = 84,03 \text{ mL} = 0,8403 \text{ L}$$

$$M = \frac{n}{V}$$

$$n = \frac{\text{gram}}{Mr} = \frac{37 \text{ g}}{36,5 \text{ g/mol}} = 1,01 \text{ mol}$$

$$M = \frac{1,01 \text{ mol}}{0,8403 \text{ L}} = 12,063 \text{ M/N}$$

$$\text{Pengenceran HCl} \quad N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

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

$$V_1 = 16,67 \text{ mL}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 16,67 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang berisi 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.3 Pembuatan larutan NaHCO_3 jenuh

Sebanyak 11 gram natrium bikarbonat dilarutkan dengan 100 mL akuades dalam gelas. Ditambahkan serbuk natrium bikarbonat sedikit demi sedikit sampai natrium bikarbonat tidak larut (kelarutan NaHCO_3 dalam air 11,1 g/100 mL air suhu 30°C).

L.3.4 Penggunaan reagen Lieberman-Burchard

Reagen Lieberman-Burchard dibuat dengan 0,5 mL kloroform, 0,5 mL anhidrida asetat dan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan keberhasilan terbentuknya reagen Lieberman-Burchard.

L.3.5 Preparasi Eluen untuk Kromatografi Kolom

- Variasi eluen 1 n-heksana: etil asetat (17:3)

$$\text{Volume n-heksana} = \frac{17}{20} \times 500 \text{ mL} = 425 \text{ mL}$$

$$\text{Volume etil asetat} = \frac{3}{20} \times 500 \text{ mL} = 75 \text{ mL}$$

- Variasi eluen 2 n-heksana : etil asetat (9:1)

$$\text{Volume n-heksana} = \frac{9}{10} \times 500 \text{ mL} = 450 \text{ mL}$$

$$\text{Volume etil asetat} = \frac{1}{10} \times 500 \text{ mL} = 50 \text{ mL}$$

- Variasi 3 n-heksana : etil asetat (4:1)

$$\text{Volume n-heksana} = \frac{4}{5} \times 500 \text{ mL} = 400 \text{ mL}$$

$$\text{Volume etil asetat} = \frac{1}{5} \times 500 \text{ mL} = 100 \text{ mL}$$

Lampiran 4. Uji Kadar Air

a. Berat cawan kosong

Cawan	Sebelum dikeringkan	Berat cawan kosong (g)					Rata-rata berat konstan (g)
		U1	U2	U3	U4	U5	
1	52,996	52,995	52,990	52,990	52,990	52,993	52,992
2	54,706	54,706	54,702	54,700	54,700	54,701	54,702
3	58,577	58,577	58,573	58,572	58,574	58,571	58,573

b. Berat cawan dan sampel

Cawan	Sebelum dikeringkan	Berat cawan kosong + sampel kering					Rata-rata berat konstan (g)
		U1	U2	U3	U4	U5	
1	53,093	53,082	53,081	53,081	53,081	53,083	53,082
2	54,801	54,793	54,792	54,792	54,791	54,790	54,792
3	58,671	58,669	58,666	58,664	58,667	58,669	58,667

1. Kadar air ulangan 1

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

a = Berat rata-rata cawan kosong

b = Berat cawan + sampel sebelum dioven

c = Berat rata-rata cawan + sampel setelah dioven

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{53,093-53,082}{53,093-52,992} \times 100\% \\ &= \frac{0,011}{0,101} \times 100\% \\ &= 10,89\% \end{aligned}$$

2. Kadar air ulangan 2

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{54,801-54,792}{54,801-54,702} \times 100\% \\ &= \frac{0,009}{0,099} \times 100\% \\ &= 9,09\% \end{aligned}$$

3. Kadar air ulangan 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{58,671-58,667}{58,671-58,573} \times 100\% \\ &= \frac{0,004}{0,098} \times 100\% \\ &= 4,08\% \end{aligned}$$

Kadar air rata-rata mikroalga *Chlorella* sp.

P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)	Total %	Rata-rata (%)
10,89	9,09	4,08	24,06	8,02

Lampiran 5. Perhitungan

L.5.1 Perhitungan Randemen

1. Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp.

Berat Sampel = 15,6430 g

Berat Ekstrak Pekat Metanol = 3,7222 g

$$\begin{aligned}\% \text{ Randemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat metanol}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{3,7222 \text{ g}}{15,6430 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 23,79 \%\end{aligned}$$

2. Ekstrak dan Fraksi Petroleum Eter

Berat ekstrak metanol = 3,7222 g

Berat fraksi yang diperoleh = 2,0497 g

$$\begin{aligned}\% \text{ Randemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak dari fraksi PE}}{\text{Berat ekstrak metanol}} \times 100\% \\ &= \frac{2,0497 \text{ g}}{3,7222 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 55,06 \%\end{aligned}$$



L.5.2 Perhitungan Rf

1. Nilai Rf Hasil Monitoring Kromatografi Kolom Eluen 4:1

$$Rf = \frac{\text{Jarak spot (cm)}}{\text{jarak tempuh (cm)}}$$

Jarak tempuh = 8 cm

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25$$

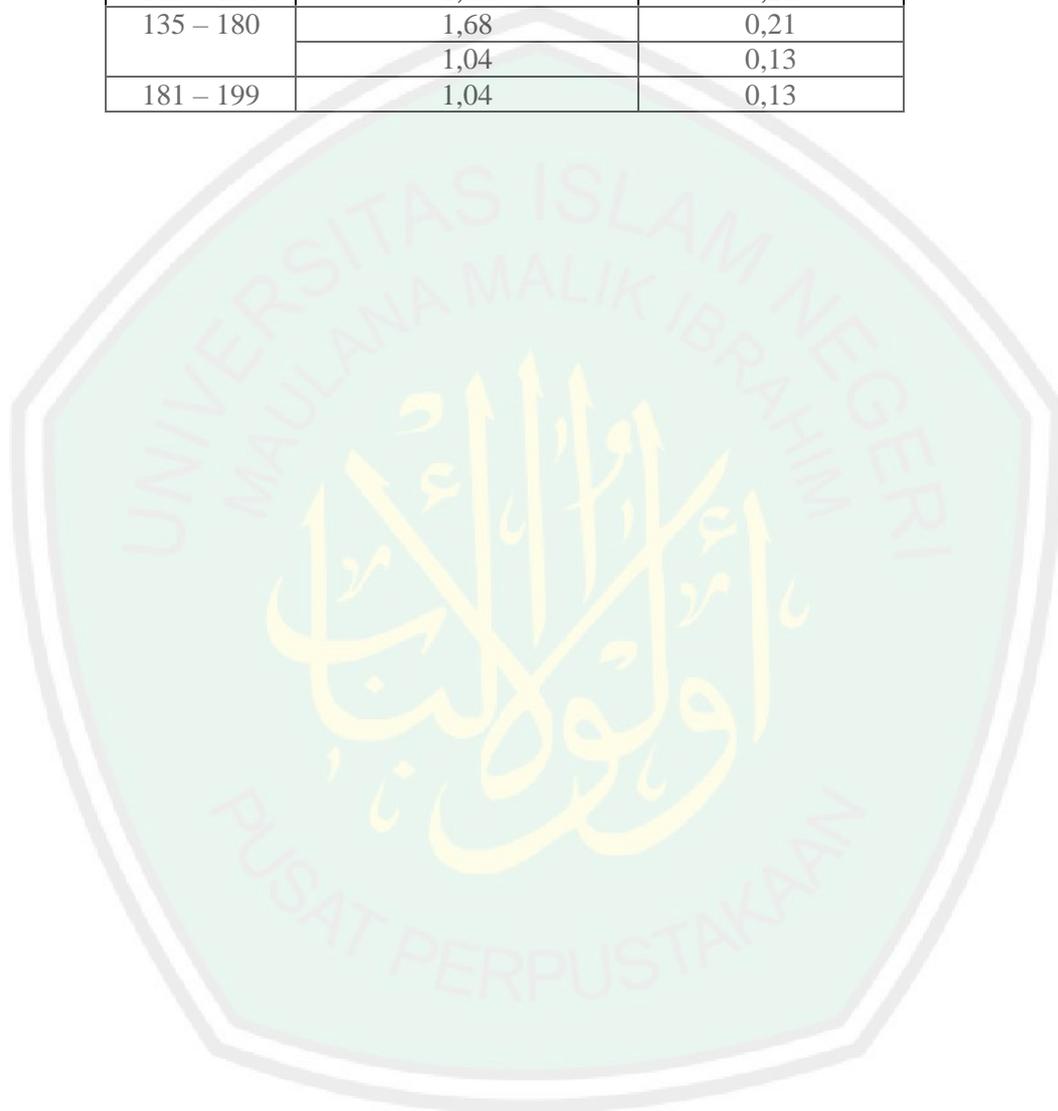
Fraksi	Jarak spot (cm)	Rf
16	2	0,25
	4,8	0,6
	6,7	0,8375
17 – 33	2	0,25
	4,9	0,6125
34 – 80	2	0,25
	3,3	0,4125
	4,5	0,5625
81 – 84	1,3	0,6125
	2,2	0,275
85 – 94	1,3	0,6125
	2	0,25
95 – 99	2,2	0,275
	3,3	0,4125
100 – 120	0,6	0,075
	1,8	0,225
	2,1	0,2625
121 – 134	0,6	0,075
	1,8	0,225
135 – 175	0,6	0,075

2. Nilai Rf Hasil Monitoring Kromatografi Kolom Eluen

Fraksi	Jarak spot (cm)	Rf
18 – 25	4,8	0,6
26 – 35	4,8	0,6
	3,6	0,45
	3,2	0,4
36 – 55	3,52	0,44
	3,2	0,4
	2,4	0,3
56 – 69	3,2	0,4
	2,4	0,3
	2,8	0,26
70 – 99	2,8	0,26
100 – 191	2	0,25
	1,2	0,1

3. Nilai Rf Hasil Monitoring Kromatografi Kolom Eluen 9:1

Fraksi	Jarak spot (cm)	Rf
23 – 38	3,52	0,44
39 – 42	3,52	0,44
	2,4	0,3
43 – 55	2,4	0,3
56 – 99	2,4	0,3
	1,68	0,21
100 – 134	1,68	0,21
135 – 180	1,68	0,21
	1,04	0,13
181 – 199	1,04	0,13



Lampiran 6. Monitoring Hasil Isolasi Steroid dan Triterpenoid dengan Kromatografi Kolom Basah Variasi Eluen

1. Perhitungan Nilai Rf Variasi Eluen N-heksana : Etil asetat (4 :1)

No.	Fraksi	Warna (UV)	Rf	Senyawa	Berat (g)	R %
1.	1 – 15	Kosong	-	-	-	-
2.	16	Merah	0,25	Campuran	0,0005	1
		Merah	0,6			
		Hijau	0,8375			
3.	17 – 33	Merah	0,25	Campuran	0,0071	14,2
		Merah	0,6125			
4.	34 – 80	Merah	0,35	Campuran	0,0080	16
		Merah	0,4125			
		Merah	0,5625			
5.	81 – 84	Merah	0,1625	Campuran	0,0011	2,2
		Merah	0,275			
6.	85 – 94	Merah	0,1625	Campuran	0,0011	2,2
		Merah	0,25			
7.	95 – 99	Merah	0,275	Campuran	0,0008	1,6
		Merah	0,4125			
8.	100 – 120	Merah	0,075	Campuran	0,0015	3
		Merah	0,225			
		Merah	0,2625			
9.	121 – 134	Merah	0,075	Campuran	0,0014	2,8
		Merah	0,225			
10.	135 – 175	Merah	0,0075	Triterpenoid	0,0034	6,8
11.	176 – 216	Kosong	-	-	-	-

2. Perhitungan Nilai Rf Variasi Eluen N-heksana : Etil asetat (17 : 3)

No	Fraksi	Warna (UV)	Rf	Senyawa	Berat (g)	R %
1.	1 – 17	Kosong	-	-	-	-
2.	18 – 25	Hijau	0,6	Streroid	0,0024	4,8
3.	26 – 35	Hijau	0,6	Campuran	0,0023	4,6
		Merah	0,45			
		Merah	0,4			
4.	36 – 55	Merah	0,44	Campuran	0,0049	9,8
		Merah	0,4			
		Merah	0,3			
5.	56 – 69	Merah	0,4	Campuran	0,0016	3,2
		Merah	0,3			
		Merah	0,26			
6.	70 – 99	Merah	0,26	Tritrpenoid	0,0084	16,8
7.	100 – 191	Merah	0,25	Campuran	0,0265	53
		Merah	0,15			
8.	192 – 199	Kosong	-	-	-	-

3. Perhitungan Nilai Rf Variasi Eluen N-heksana : Etil asetat (9 : 1)

No.	Fraksi	Warna (UV)	Rf	Senyawa	Berat (g)	R %
1.	1 – 22	Kosong	-	-	-	-
2.	23 – 38	Hijau	0,44	Steroid	0,0036	7,2
3.	39 – 42	Hijau	0,44	Campuran	0,002	4
		Merah	0,3			
4.	43 – 55	Merah	0,3	Triterpenoid	0,0044	8,8
5.	56 – 99	Merah	0,3	Campuran	0,0163	32,6
		Merah	0,21			
6.	100 – 134	Merah	0,21	Triterpenoid	0,0123	24,6
7.	135 – 180	Merah	0,21	Campuran	0,015	30
		Merah	0,13			
8.	181 – 199	Merah	0,13	Triterpenoid	0,0034	6,8
9.	200 – 205	Kosong	-	-	-	-

L. 6. 1 Hasil Randemen Hasil Kromatografi Kolom

a. Hasil Randemen Eluen 4 : 1

Fraksi	Berat (g)	Berat Sampel (g)	Randemen (%)	Senyawa
135 – 175	0,0034	0,05	6,8	Triterpenoid

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{Berat isolat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0034 \text{ g}}{0,05 \text{ g}} \times 100\% = 6,8 \%$$

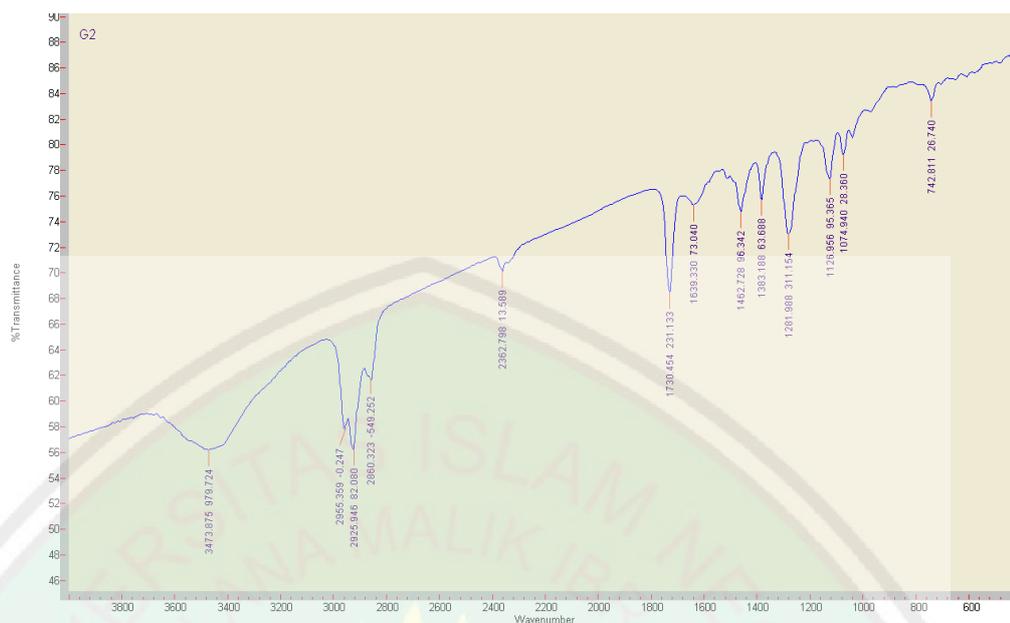
b. Hasil Randemen Eluen 17 : 3

Fraksi	Berat (g)	Berat Sampel (g)	Randemen (%)	Senyawa
18 – 25	0,0024	0,05	4,8	Steroid
70 – 99	0,0084	0,05	16,8	Triterpenoid

c. Hasil Randemen Eluen 9 : 1

Fraksi	Berat (g)	Berat Sampel (g)	Randemen (%)	Senyawa
23 – 38	0,0036	0,05	7,2	Steroid
43 – 55	0,0044	0,05	8,8	Triterpenoid
100 – 134	0,0123	0,05	24,6	Triterpenoid
181 – 199	0,0034	0,05	6,8	Triterpenoid

L 6.2 Data FT-IR



Tabel 4.6 Interpretasi spektra FT-IR fraksi G2

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Referensi (v, cm^{-1}) (Socrates, 1994)
-OH, ulur	3473	3600 – 3540
-CH ₂ -, asiklik asimetri	2925	2940 – 2915
-CH ₃ , asimetri	2955	2975 – 2950
-CH ₃ , simetri	2860	2885 – 2855
C=O, ester	1730	1750 – 1725
C=C, terisolasi	1639	1680 – 1620
-CH(CH ₃) ₂ (geminal dimetil)	1462 dan 1383	1454 dan 1384*
C–O, ester	1281	1300 – 1100
C–O, ulur (alkohol tersier)	1126	1205 – 1125
C–O–C, ester	1074	1160 – 1050
-(CH ₂) ₂ rocking	742	745 – 735

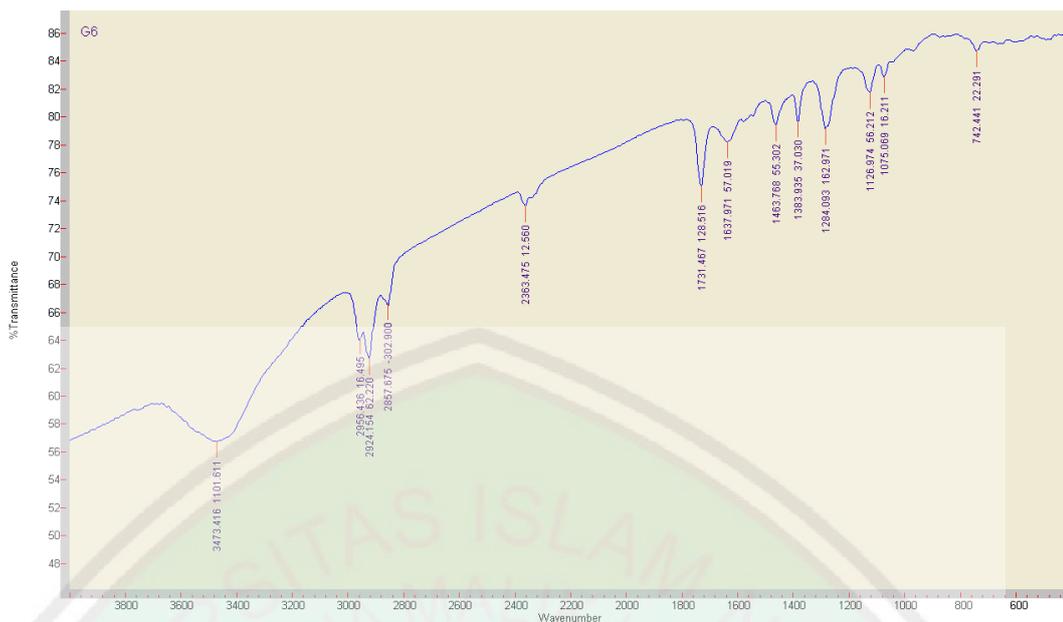
*Suryani (2011)



Tabel 4.7 Interpretasi spektra FT-IR fraksi G4

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Referensi (v, cm ⁻¹) (Socrates, 1994)
-OH, ulur	3455	3600 – 3450
-CH ₂ -, asiklik asimetri	2927	2940 – 2925
-CH ₃ , asimetri	2957	2975 – 2950
-CH ₃ , simetri	2865	2885 – 2855
C=O, ester	1731	1750 – 1725
C=C, terisolasi	1638	1680 – 1620
-CH(CH ₃) ₂ (geminal dimetil)	1460 dan 1384	1454 dan 1384*
C–O, ester	1286	1300 – 1100
C–O, ulur (alkohol sekunder)	1124	1125 – 1085
=C-H siklik (tekuk)	867 dan 809	995 – 560

*Suryani (2011)



Tabel 4.8 Interpretasi spektra FTIR isolat G6

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Referensi (v, cm ⁻¹) (Socrates, 1994)
-OH, ulur	3473	3600 – 3540
-CH ₂ -, asiklik asimetri	2924	2940 – 2915
-CH ₃ , asimetri	2956	2975 – 2950
-CH ₃ , simetri	2857	2885 – 2855
C=O, ester	1731	1750 – 1725
C=C, terisolasi	1637	1680 – 1620
-CH(CH ₃) ₂ (geminal dimetil)	1463 dan 1383	1454 dan 1384*
C–O, ester	1284	1300 – 1100
C–O, ulur (alkohol tersier)	1126	1205 – 1125
C-O-C, ester	1075	1160 – 1050
-(CH ₂) ₂ rocking	742	745 – 735

*Suryani (2011)

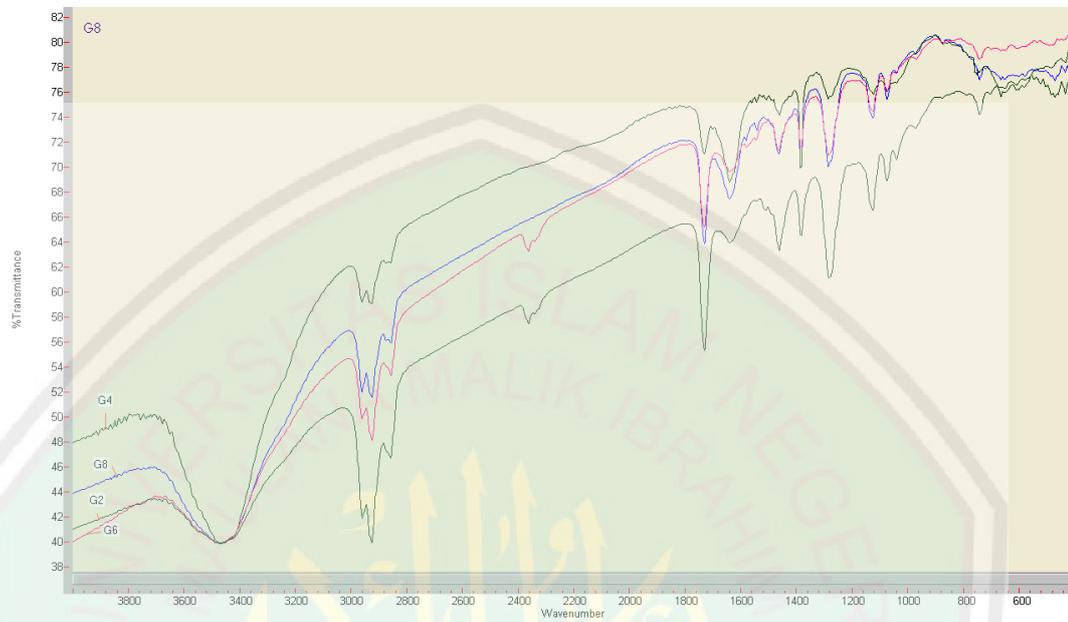


Tabel 4.9 Interpretasi spektra FTIR isolat fraksi G8

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Referensi (v, cm ⁻¹) (Socrates, 1994)
-OH, ulur	3453	3600 – 3450
-CH ₂ -, asiklik asimetri	2925	2940 – 2925
-CH ₃ , asimetri	2957	2975 – 2950
-CH ₃ , simetri	2859	2885 – 2855
C=O, ester	1730	1750 – 1725
C=C, terisolasi	1639	1680 – 1620
-CH(CH ₃) ₂ (geminal dimetil)	1462 dan 1383	1454 dan 1384*
C–O, ester	1285	1300 – 1100
C–O, ulur (alkohol sekunder)	1125	1125 – 1085
C-O-C	1074	1160 – 1050

*Suryani (2011)

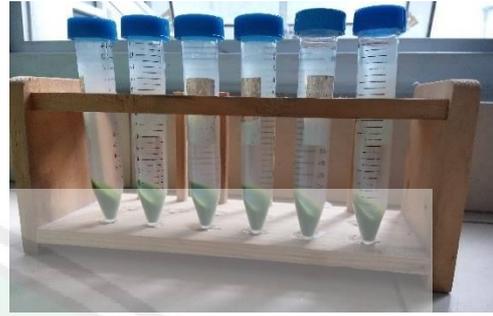
L 6.3 Spektra IR Senyawa Steroid dan Triterpenoid



Lampiran 7. Gambar Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Kultivasi Mikroalga
Chlorella sp.



Gambar 2. Setelah disentrifuge



Gambar 3. Setelah disentrifuge



Gambar 4. Partisi dengan petroleum
eter



Gambar 11. Pembuatan bubuk silika

Gambar 12. Pendiaman silika selama
24 jamGambar 15. Hasil penyinaran dengan
UV (eluen 9:1) monitoring 1Gambar 16. Hasil penyinaran
dengan UV (eluen 9:1) monitoring 2



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIKI MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN KIMIA

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
 www.uin-malang.ac.id Email: info@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI PENELITIAN

Nama : Zahrotun Alisha
 NIM : 12620055
 Judul Skripsi : Variasi Fluor pada Pemisahan Steroid dan
 Interponoid Fraksi Petroleum Eter Murni
 Chlorella sp. Dengan Kompartemen Kolom Basah
 Pembimbing Utama : A. Ghana'im Fasya, M.Si
 Pembimbing Agama :
 Konsultan : Dewi Yuliani, M.Si

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (ditulis tangan)	Tanda tangan (Pembimbing)
		Revisi Bab I		Gh
		Revisi Bab 2		Gh
		Revisi Bab 3		Gh
		Revisi bab 2		Gh
		Revisi Bab 1 & 2		Gh
		Revisi Bab 3		Gh
		Konsultasi perhitungan		Gh
		Perbaikan metode		Gh
		Revisi bab 1, 2 & 3		Gh
		Revisi lampiran		Gh
		Acc	Propor 2le	Gh
		Revisi bab 4		Gh
		Revisi bab 4		Gh
		Konsultasi hasil		Gh
		Revisi bab 1, 2 & 3		Gh
		Konsultasi lampiran		Gh
		Revisi bab 1-5		Gh
		Revisi bab 4 & 5		Gh
		Revisi perhitungan		Gh
		Acc	Konsep ok	Gh



Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlaq, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional