

**PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) EKSTRAK DAUN
BIDARA ARAB (*Ziziphus spina cristi. L*) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MUKSIN MAULANA
NIM. 13630065



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

**PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) EKSTRAK DAUN
BIDARA ARAB (*Ziziphus spina cristi. L*) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MUKSIN MAULANA
NIM. 13630065

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**

**PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) EKSTRAK DAUN
BIDARA ARAB (*Ziziphus spina cristi. L*) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MUKSIN MAULANA
NIM. 13630065

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 Juni 2018

Pembimbing I

Pembimbing II

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

Umayyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

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

**PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) EKSTRAK DAUN
BIDARA ARAB (*Ziziphus spina cristi. L*) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MUKSIN MAULANA
NIM. 13630065

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 25 Juni 2018

Penguji Utama : Rachmawati Ningsih, M.Si (.....)
NIP. 19810811 200801 2 010

Ketua Penguji : Armeida Dwi Ridhowati M., M.Si (.....)
NIDT. 19890527 20160801 2071

Sekretaris Penguji : Elok Kamilah Hayati, M.Si (.....)
NIP. 19790620 200604 2 002

Anggota Penguji : Umayyatus Syarifah, M.A (.....)
NIP. 19820925 200901 2 005

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muksin Maulana

Nim : 13630065

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian :”Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus sipan-cristi.L*) Berdasarkan Variasi Pelarut”

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, 02 Juli 2018
Yang membuat pernyataan,

Muksin Maulana
NIM. 13630065

KATA PENGANTAR



Alhamdulillah, puji syukur penyusun panjatkan kehadiran Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, atas limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya penyusun dapat menyusun skripsi ini dengan maksimal, walaupun masih jauh dari kesempurnaan. Semoga dari apa yang penyusun upayakan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Sholawat serta salam akan selalu tercurahlimpahkan kepada junjungan kita Nabi yang Agung, yang merupakan presiden seluruh penjuru dunia, penuntun umatnya hingga akhir zaman yang senantiasa berlandaskan al Qur'an dan al Sunnah, dan suri tauladan terbaik yaitu Nabi Muhammad SAW.

Alhamdulillah, penyusun juga bersyukur atas terselesaikannya skripsi **“Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina cristy L.*) Berdasarkan Variasi Pelarut”**. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk memenuhi kewajiban dalam kelulusan. Selama proses penyusunan skripsi ini penyusun mendapat banyak bimbingan, nasihat, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Armeida Dwi Ridhowati M., M.Si, selaku dosen konsultan skripsi yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi.

3. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun.
4. Orang tua tercinta yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan juga keluarga besar penyusun.

Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penyusun, mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Aamiin.

Dengan menyadari atas terbatasnya ilmu yang penyusun miliki, skripsi ini tentu jauh dari sempurna. Untuk itu penyusun dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Amiin.

Malang, 02 Juli 2018

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan masalah.....	7
1.5 Manfaat penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tanaman bidara arab.....	8
2.1.1 Morfologi	8
2.1.2 Klasifikasi	10
2.1.3 Kandungan Kimia	10
2.2 Teknik pemisahan metabolit sekunder.....	11
2.2.1 Metode ekstraksi	13
2.2.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	14
2.3 Uji fitokimia.....	18
2.4 Senyawa metabolit sekunder pada tanaman bidara.....	19
2.4.1 Alkaloid.....	19
2.4.2 Flavonoid.....	25
2.4.3 Tanin	28
2.4.4 Saponin.....	30
2.4.5 Triterpenoid.....	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	33
3.1 Lokasi dan waktu penelitian.....	33
3.2 Alat dan bahan.....	33
3.2.1 Alat.....	33
3.2.2 Bahan.....	33
3.3 Rancangan penelitian	34
3.4 Tahapan penelitian	35
3.5 Pelaksanaa penelitian	35
3.5.1 Preparasi sampel.....	35
3.5.2 Analisis kadar air.....	35
3.5.3 Ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi	36
3.5.4 Uji fitokimia dengan penambahan pereaksi.....	37
1. Uji alkaloid	38
2. Uji flavonoid.....	38
3. Uji tanin	38

4. Uji saponin.....	38
5. Uji triterpenoid	38
3.5.5 Uji kromatografi lapis tipis analitik	39
3.5.6 Analisis data	42
BAB IV PEMBAHASAN.....	44
4.1 Preparasi Sampel.....	44
4.2 Analisa Kadar Air	44
4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif	45
4.3.1 Ekstraksi Maserasi	45
4.3.2 Ekstraksi Cair-cair.....	46
4.4 Uji fitokimia dengan Reagen	47
4.4.1 Alkaloid.....	47
4.4.2 Flavonoid.....	49
4.4.3 Triterpenoid.....	50
4.5 Uji KLT Analitik.....	52
4.5.1 Alkaloid.....	54
4.5.2 Flavonoid.....	56
4.5.3 Triterpenoid.....	69
4.6 Uji Stabilitas dengan Variasi Waktu	62
4.6.1 Uji Stabilitas Senyawa Alkaloid	64
4.6.2 Uji Stabilitas Senyawa Flavonoid	66
4.6.3 Uji Stabilitas Senyawa Triterpenoid	70
BAB V PENUTUP	74
5.1 Kesimpulan	74
5.2 Saran.....	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN.....	82

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman bidara arab	10
Gambar 2.2	Struktur alkaloid.....	20
Gambar 2.3	Perkiraan reaksi uji Mayer	22
Gambar 2.4	Perkiraan reaksi uji Wagner	23
Gambar 2.5	Reaksi hidrolisis bismut	23
Gambar 2.6	Reaksi uji Dragendorf	24
Gambar 2.7	Struktur inti senyawa flavonoid	25
Gambar 2.8	Struktur dasar tanin	29
Gambar 2.9	Saponin.....	30
Gambar 2.10	Struktur dasar triterpenoid.....	31
Gambar 4.1	Hasil Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid (a) Mayer dan (b) Dragendorf	48
Gambar 4.2	Hasil uji fitokimia senyawa flavonoid	49
Gambar 4.3	Dugaan reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2004 dalam Sriwahyuni, 2010)	50
Gambar 4.4	Hasil uji fitokimia senyawa triterpenoid	51
Gambar 4.5	Dugaan reaksi senyawa triterpenoid dengan reagen LB (Siadi,2012).....	51
Gambar 4.6	Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid ekstrak etanol dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2).....	65
Gambar 4.7	Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid ekstrak etanol dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)	66
Gambar 4.8	Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid fraksi n-heksana dengan eluen toluen : etil asetat (6:4)	68
Gambar 4.9	Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid ekstrak etanol dengan eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5)	70
Gambar 4.10	Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid fraksi kloroform dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4)	72

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kepolaran Pelarut.....	13
Tabel 2.2	Uji alkaloid.....	24
Tabel 2.3	Nilai Rf dan noda hasil KLT.....	27
Tabel 3.1	Jenis eluen yang digunakan pada golongan senyawa aktif.....	41
Tabel 4.1	Hasil uji fitokimia pada Daun Bidara Arab	47
Tabel 4.2	Hasil pemisahan KLTA senyawa alkaloid.....	55
Tabel 4.3	Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid	57
Tabel 4.4	Hasil pemisahan KLTA senyawa triterpenoid.....	60
Tabel 4.5	Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid ekstrak etanol dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2)	65
Tabel 4.6	Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid ekstrak etanol dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5).....	67
Tabel 4.7	Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid fraksi n-heksana dengan eluen toluen : etil asetat (6:4)	69
Tabel 4.8	Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid ekstrak etanol dengan eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5)	71
Tabel 4.9	Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid fraksi kloroform dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4)	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan penelitian.....	82
Lampiran 2. Diagram alir.....	83
Lampiran 3. Pembuatan larutan	90
Lampiran 4. Data dan hasil perhitungan penelitian	89



ABSTRAK

Maulana, M. 2018. **Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-cristi. L*) Berdasarkan Variasi Pelarut**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si ; Pembimbing II: Umayyatus Syarifah, M.A ; Konsultan: Armeida Dwi Ridhowati M., M.Si.

Kata kunci: *Fitokimia, KLT, Stabilitas, Ziziphus spina-cristi. L*

Bidara Arab (*Ziziphus spina-cristi. L*) memiliki potensi sebagai obat antikanker serta mampu mengobati penyakit lainnya karena kandungan metabolit sekundernya. Untuk itu, penelitian ini akan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui senyawa aktif, eluen terbaik yang dapat memisahkan masing-masing senyawa aktif dan stabilitas senyawa dari analisis KLTA senyawa aktif tersebut. Sampel akan diekstraksi menggunakan etanol, kloroform dan n-heksana terlebih dahulu dengan cara maserasi sebelum dilakukan tahapan penelitian selanjutnya.

Ekstrak Bidara Arab (*Ziziphus spina-cristi. L*) selanjutnya dilakukan uji fitokimia dan penentuan eluen terbaik sesuai masing-masing senyawa aktif yang telah diketahui dari uji fitokimia. Untuk menentukan stabilitas senyawa analit pada pemisahan menggunakan KLTA dilakukan variasi kondisi pada tiap-tiap eluen terbaik untuk masing-masing senyawa aktif yaitu: 1. Sampel ditotolkan, dielusi kemudian diidentifikasi secara langsung; 2. Sampel ditotolkan, didiamkan selama 1 jam, kemudian dielusi dan diidentifikasi; dan 3. Sampel ditotolkan, dielusi, didiamkan selama 1 jam kemudian diidentifikasi.

Hasil uji fitokimia pada masing-masing fraksi ekstrak Daun Bidara Arab menunjukkan hasil positif untuk alkaloid, flavonoid dan triterpenoid. Eluen terbaik untuk memisahkan alkaloid pada fraksi etanol dengan etil asetat : metanol : air (6:4:2), flavonoid pada fraksi etanol dengan n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan pada fraksi n-heksan dengan toluen : etil asetat (6:4) dan triterpenoid pada fraksi etanol dengan kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) dan pada fraksi kloroform dengan n-heksana : etil asetat (6:4). Hasil uji stabilitas diperoleh senyawa yang paling stabil yaitu pada senyawa flavonoid dengan eluen toluen : etil asetat (6:4) fraksi n-heksana. Penentuan stabilitas diperhatikan pada jumlah noda, nilai R_f, warna, dan syarat keberterimaan simpangan baku intraplat tidak lebih dari 0,02 dan simpangan baku interplat tidak lebih dari 0,05.

ABSTRACT

Maulana, M. 2018. **Thin Layer Chromatography (TLC) Extract Arabian Bidara Leaf (*Ziziphus spina-cristi. L*) Based on Solvent Variation**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Islamic State University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Katiah Hayati, M.Si; Supervisor II: Umaiyatus Syarifah, M.A; Consultant: Armeida Dwi Ridhowati M., M.Si.

Keyword : *phytochemicals, stability, Thin Layer Chromatography (TLC), Ziziphus spina-cristi. L*

The Arabian Bidara leaf (*Ziziphus spina-cristi. L*) has a potential as anticancer drug and others diseases due to their secondary metabolite. Therefore, this research would be conducted in order to know the active compound, the best eluent which can separate the active compound and the stability of the compound is the analysis analytical TLC. Samples were extracted using ethanol, chloroform and n-hexane by maceration before the next step of the research.

Arabian Bidara Leaf extract was done, phytochemical tests and determined the best eluent according to each active compound which known from the phytochemical test. The stability of the compound was done using analytical TLC at various conditions in each best eluent and active compound, those were: 1. The samples were drip, eluted and then identified directly; 2. Samples were drip, left for an hour, eluted then and identified; and 3. Samples were drip, eluted, left for an hour then identified.

The phytochemical test showed positive for alkaloid, flavonoid and triterpenoid in every fraction. In every best eluent for separating alkaloid was ethanol fraction with ethyl acetate : methanol : water (6:4:2), flavonoids was ethanol fraction with n-butanol : acetic acid : water (4:1:5) and n-hexane fraction with toluene : ethyl acetate (6:4) and triterpenoids was ethanol fraction with chloroform : ethanol : ethyl acetate (9:3:5) and chloroform fraction with n-hexane : ethyl acetate (6:4). The result of stability test showed that the most stable compound was flavonoid compound n-hexane fraction with eluent toluene : ethyl acetate (6:4). The stability was determined based on the number of spots, R_f value, colour, standard deviation intraplate not more than 0.02 and the standard deviation interplate is not more than 0.05.

المخلص

العربية بدارا نبات أوراق (KLT) رقيقة طبقة ذات مولنا، م. ٢٠١٨ كروماتوغرافية العلوم كلية ، الكيمياء قسم البحث الجامي. المذيبات تبين على بناء (Ziziphusspina-cristi. L) ايلوك كميلة حيتي :الأول مالانج. المشرفة إبراهيم مالك مولانا الحكومية الإسلامية الجامعة، والتكنولوجيا الثاني: امية الشريفة الماجستير، والمستشارة: أرميدا دوي رضوتي م الماجستير الماجستير، المشرفة

كلمات البحث : (Ziziphus spina-cristi. L) المواد الكيميائية النباتية، TLC والاستقرار

تمتلك نباتات البدارة العربية (Ziziphus spina-cristi. L) إمكانات كدواء مضاد للسرطان وأمراض أخرى بسبب المستقلب الثانوي. لذلك ، سيتم إجراء هذا البحث من أجل معرفة المركب الفعال ، أفضل شاردة وهو المركب التحليلي واستقرار المركب هو تحليل ذات طبقة رقيقة. تم استخراج العينات باستخدام الإيثانول ، والكلوروفورم و الهكسان عن طريق النقع قبل الخطوة التالية من البحث. وقد تم استخراج أوراق سدر العربي، اختبارات الكيمياء النباتي وتحديد أفضل شاطف ووفقا لكل مركب نشط من المواد الكيميائية النباتية المعروفة الاختبار. وقد تم استقرار المجمع باستخدام ذات طبقة رقيقة التحليلي في ظروف مختلفة في كل أفضل شاطف ومركب نشط، والمراجعات تلك هم: ١. كانت العينات بالتنقيط، مزال ثم حددت مباشرة. ٢. كانت العينات بالتنقيط ، تركت لمدة ساعة ، تمت صياغتها ثم تحديدها ؛ ٣. وكانت عينات بالتنقيط ، شطفة، غادر لمدة ساعة ثم حددت. وأظهرت المواد الكيميائية النباتية إختبار إيجابية لقلويدات، فلافونيدات وثرفينويدات في كل جزء. في كل أفضل شاطف لقلويدات فصل كان جزء الإيثانول مع خلات الإيثيل: الميثانول: الماء (٦ : ٤ : ٢)، وكانت مركبات الفلافونويد الإيثانول جزء مع بيوتانول: حمض الخليك: ماء (٤ : ١ : ٥) ون الهكسان جزء مع التولوين: خلات الإيثيل (٦ : ٤) وثرفينويدات كان جزء الإيثانول مع الكلوروفورم: الإيثانول: خلات الإيثيل (٩ : ٣ : ٥) وكلوروفورم جزء مع الهكسان: خلات الإيثيل (٦ : ٤). نتيجة اختبار الاستقرار وأظهرت أن الأكثر استقرارا مركب الفلافونويد مركب كان جزء الهكسان مع التولوين شاطف: خلات الإيثيل (٦ : ٤) كان مصمما. والاستقرار على أساس عدد من النقاط، قيمة الترددات اللاسلكية أو اللون أوداخل الطبقة الانحراف المعياري الصفائحية لا أكثر من ٠,٠٠٢، وخارج الطبقة الانحراف المعياري ليست أكثر من ٠,٠٠٥.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT. menciptakan makhluknya baik tumbuhan ataupun hewan dengan beragam jenisnya, bahkan manusia diciptakan dengan dikaruniai akal dan pikiran. Hal ini mempunyai tujuan tertentu yaitu agar manusia berfikir lebih luas dan men-*tadaburi* akan hikmah kehidupan di dunia. Sebagaimana Allah SWT. Berfirman dalam QS. Thaha (20) : 53-54:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا
بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى (٥٣) كُلُوا وَارْعَوْا أَنْعَامَكُمْ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِأُولِي
النُّهَى (٥٤)

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. Makanlah dan gembalakanlah binatang-binatangmu. Sesungguhnya pada yang demikian itu, terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berakal”.

Ayat di atas memerintah kita sebagai orang yang berakal untuk berfikir bahwa semua yang ada di bumi diciptakan memiliki maksud dan tujuan tertentu.

Berdasarkan Tafsir Jalalayn pada ayat (53) bahwa kata شَتَّى (bermacam-

macam) kata tersebut menjadi sifat dari pada kata أَزْوَاجًا (berjenis-jenis). Hal ini

maksudnya adalah yang berbeda-beda baik itu warna, rasa, bentuk, atau bahkan

manfaat dari tumbuh-tumbuhan tersebut. Ayat (54) kata أُولِي النُّهَى (orang-orang

yang berakal) maksudnya adalah sebagai orang yang berakal tidak berbuat buruk

dan kerusakan. Ayat tersebut menjadi tanda bahwa semua makhluk hidup

terutama tumbuhan memiliki sifat dan manfaat yang berbeda-beda. Hal ini

memungkinkan bahwa kandungan senyawa yang ada pada tumbuhan berpotensi untuk dimanfaatkan oleh manusia. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia adalah tanaman Bidara Arab.

Bidara Arab secara ilmiah dikenal dengan *Ziziphus spina-christi*, atau dikenal sebagai *Christ's Thorn Jujube* ("bidara mahkota duri Kristus"), adalah sejenis pohon kecil yang selalu hijau, penghasil buah yang tumbuh di daerah Afrika utara dan tropis serta Asia Barat (Zohary, 1972). Di Indonesia tanaman ini banyak tumbuh di Sumbawa (Nusa Tenggara Barat) dan memiliki sebutan berbeda-beda disetiap daerah, misalnya orang yang tinggal di pulau jawa menyebutnya Widara (Sunda, jawa) atau lebih akrab dipanggil dara (jawa) dan di Madura disebut jugol (Heyne, 1987: 1270). Tanaman Bidara Arab ini dapat digunakan sebagai obat antikanker dan tanaman ini telah umum digunakan pada *Traditonal Chinese Medicine* untuk mengobati berbagai penyakit seperti kanker, gangguan pencernaan, kelemahan, keluhan hati, obesitas, masalah kemih, diabetes, infeksi kulit, hilangnya nafsu makan, demam, faringitis, bronkitis, anemia, diare, dan insomnia (Brown 1995; Him-Che 1985;. Plastina dkk, 2012).

Tanaman Bidara Arab berpotensi sebagai obat karena mengandung beberapa senyawa kimia di dalamnya. Untuk mengetahui senyawa kimia pada tanaman harus dipisahkan antara senyawa kimia satu dengan lainnya. Ekstraksi adalah metode awal yang paling mudah digunakan untuk memisahkan senyawa kimia pada suatu tanaman. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi maserasi, metode ini digunakan karena proses pengekstrakannya menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan pada temperatur ruangan, biaya yang dikeluarkan relatif murah dan tidak membutuhkan alat modern dan

rumit, serta bisa menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas yang terkandung dalam sampel (Meloan, 1999). Untuk mendapatkan ekstraksi yang menyeluruh dan mendapatkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas farmakologi maka pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi merupakan faktor yang penting. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air karena merupakan pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid (Wijesekera, 1991).

Senyawa kimia yang akan dipisahkan adalah senyawa metabolit sekunder. Pada umumnya untuk mengetahui gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman dilakukan skrining fitokimia (Kristanti dkk., 2008). Fitokimia merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mencari dan menemukan senyawa bioaktif dengan cara pendekatan fitofarmakologi (*Phytopharmacologic approaches*) dan pendekatan skrining fitokimia (*Phytopharmacologic screening approaches*) (Linskens, 1963 dalam Abraham, 2007). Menurut Kusriani (2015), bahwa hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun Bidara Arab dengan pelarut etanol menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan steroid/triterpenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Ningsih, dkk., (2016) uji fitokimia pada ekstrak kloroform daun sirsak mengandung senyawa tanin. Yuliyani dkk., (2015) melakukan pemisahan pada ekstrak kloroform limbah padat daun serai wangi (*Cymbopogon nardus*) menunjukkan adanya saponin, flavonoid, tanin, kuinon, dan steroid. Rumondang dkk., (2013) memisahkan ekstrak n-heksan daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) menunjukkan adanya triterpenoid. Hasil

penelitian di atas menjadi dasar untuk lebih meyakinkan keberhasilan, pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol, n-heksana dan kloroform untuk mengetahui profil metabolit sekunder dari daun Bidara Arab pada masing- masing pelarut.

Menurut Harborne (1996) dalam Marlina, dkk. (2005) KLT dilakukan untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari skrining fitokimia. Pada penelitian ini akan dilakukan analisa menggunakan KLT analitik. Menurut Towshend (1995) KLT analitik digunakan untuk menganalisa senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil salah satunya adalah menentukan jumlah komponen senyawa metabolit sekunder.

Pada hakikatnya KLT merupakan metode kromatografi cair yang melibatkan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (eluen). Fase diamnya dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penyerap (kromatografi cair- padat) atau sebagai penyangga untuk lapisan zat cair (kromatografi cair- cair) (Iskandar, 2007). 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). Penelitian ini menggunakan variasi eluen dengan tujuan untuk menentukan eluen terbaik. Menurut Rustanti, dkk., (2013) Penggunaan berbagai macam eluen pada pemisahan ini untuk mencari eluen terbaik dan dapat memisahkan senyawa metabolit sekunder.

Fase gerak terbaik hasil penelitian sebelumnya akan dijadikan sebagai referensi untuk penelitian ini yang berdasarkan pada kepolarannya. Hasil

penelitian Rustanti, dkk., (2013) pada uji KLT menggunakan eluen etil asetat: air: asam format (18:1:1) terhadap daun menunjukkan adanya katekin (flavonoid). Hasil penelitian lain untuk identifikasi tanin menurut Hayati, dkk., (2010) pada daun belimbing wuluh eluen terbaiknya adalah butanol: asam asetat: air (4:1:5). Menurut Indrayani, dkk., (2006) hasil uji KLT daun pecut kuda menggunakan eluen kloroform: metanol: etil asetat (9:3:5) disempnot dengan perekasi H_2SO_4 50% menunjukkan adanya senyawa terpenoid. Uji KLT akan dilakukan sesuai 1 hasil skrining fitokimia yang positif.

Selama penelitian dari awal hingga proses deteksi dilakukan secara terpisah sehingga peralihan setiap tahapnya memerlukan selang waktu. Hal tersebut menyebabkan banyak gangguan dari lingkungan yang dapat mempengaruhi sistem, misalnya senyawa yang ada pada plat volatil, perubahan suhu dan cahaya. Adsorben pada plat juga berpengaruh pada permukaan yang dapat merubah analit (Koll, dkk. 2003; Reich dan Schibli 2008 dalam Fatahillah, 2008). Stabilisasi analit dibuat 3 variasi waktu yaitu, pertama sampel ditotolkan pada plat KLT kemudian langsung dielusi dan diidentifikasi, kedua sampel ditotolkan pada plat KLT kemudian didiamkan selama 1 jam lalu dielusi dan diidentifikasi, dan ketiga sampel ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi lalu didiamkan selama 1 jam dan diidentifikasi. Stabilisasi dilakukan dengan KLT analitik pada hasil eluen terbaik.

Penelitian ini merupakan skrining pendahuluan yang akan menentukan profil kromatografi lapis tipis (KLT), sehingga Daun Bidara Arab dari bahan alam diekstrak menggunakan variasi pelarut (etanol, n-heksana dan kloroform). Uji senyawa aktif dengan KLT analitik menggunakan variasi komposisi eluen untuk

mendapatkan eluen terbaik dan waktu stabilisasi untuk mengetahui waktu yang lebih tepat untuk mendapatkan hasil terbaik. Senyawa yang diujikan adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui golongan senyawa aktif pada daun bidara.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Senyawa aktif apakah yang terdapat pada ekstrak daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christ L.*) dengan metode skrinning fitokimia?
2. Eluen terbaik apakah yang dapat memisahkan senyawa aktif yang terdapat pada daun bidara Arab (*Ziziphus Spina- Cristy L.*) dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT)?
3. Bagaimana stabilitas senyawa aktif pada analisis KLT ekstrak daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christ L.*)?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang akan dilaksanakan adalah:

1. Untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christ L.*) dengan metode skrinning fitokimia.
2. Untuk mengetahui eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa aktif yang terdapat pada daun bidara Arab (*Ziziphus Spina- Cristy L.*) dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT).
3. Untuk mengetahui stabilitas senyawa aktif pada analisis KLT ekstrak daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christ L.*).

1.4 Batasan Masalah

Agar pembahasan tidak menyimpang, maka penulis menentukan batasan masalah sebagai berikut:

1. Sampel yang dilakukan penelitian adalah tumbuhan bidara diambil bagian daun. Bahan tersebut diambil langsung dari alam daerah Sumenep, Madura, Jawa Timur.
2. Pelarut yang digunakan adalah etanol, kloroform dan n- heksana.
3. Metode ekstraksi yang di gunakan adalah metode ekstraksi maserasi dilanjutkan dengan pengujian fitokimia dengan reagen.
4. Zat fitokimia yang diuji pada peneltian ini adalah alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin.
5. Kondisi KLTA yang dioptimasi adalah eluen yang disesuaikan dengan hasil uji fitokimia.

1.5 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini dapat diketahui senyawa aktif yang ada pada daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina- Cristy L.*) melalui metode kromatografi lapis tipis (KLT). Selain itu, penelitian yang dilakukan ini dapat membantu untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bidara Arab

2.1.1 Morfologi

Tanaman bidara telah dikenal banyak orang terutama di kalangan orang-orang religius (Islam). Hal ini karena tanaman Bidara telah disebutkan dalam kitab suci al- Quran. Sebagaimana firman Allah swt dalam Quran surat Saba' (34) :16.

فَأَعْرَضُوا فَأَرْسَلْنَا عَلَيْهِمْ سَيْلَ الْعَرِمِ وَبَدَّلْنَاهُمْ بِجَنَّتَيْهِمْ جَنَّتَيْنِ ذَوَاتِي أُكُلٍ خَمْطٍ
وَأَثَلٍ وَشَيْءٍ مِّن سِدْرٍ قَلِيلٍ

“Tetapi mereka berpaling, maka Kami datangkan kepada mereka banjir yang besar dan Kami ganti kedua kebun mereka dengan dua kebun yang ditumbuhi (pohon-pohon) yang berbuah pahit, pohon Atsl dan sedikit dari pohon Sidr”.

Segala sesuatu yang disebutkan dalam al-Quran pasti ada hikmahnya. Sebagaimana tanaman Bidara yang telah disebutkan pada QS.Saba' (34): 16 selain itu, pada ayat lain telah disebutkan yaitu pada Quran surat al- Waqi'ah (56) ayat 28:

فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ

“Berada di antara pohon bidara yang tak berduri”

Berdasarkan ayat di atas menurut tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa tanaman Bidara yang dimaksud adalah Bidara yang berada di surga yang pohonnya berbuah lebat, sedikit daunnya dan memiliki 72 rasa yang berbeda antara buah satu dengan buah yang lain. Hal ini diperkuat juga oleh haditsnya, salah satunya yaitu sebagai berikut:

خَضَدَ اللَّهُ شَوْكَهُ، فَجَعَلَ مَكَانَ كُلِّ شَوْكَةٍ ثَمْرَةً، فَإِنَّهَا لَتُنْبِتُ ثَمْرًا تَفْتَقُ الثَّمْرَةَ مِنْهَا
عَنْ اثْنَيْنِ وَسَبْعِينَ لَوْناً مِنْ طَعَامٍ، مَا فِيهَا لَوْنٌ يُشْبِهُ الْأَخَرَ

"Allah telah melenyapkan semua durinya dan menggantikan setiap durinya dengan buah, maka sesungguhnya pohon bidara surga itu menghasilkan banyak buah; tiap buah darinya menghasilkan tujuh puluh dua rasa buah yang tiada suatu rasa pun yang mirip dengan yang lainnya "

Menurut kitab *Lisaanul lil lisaan* (risangkalan kitab *Lisaanul ‘Arob*) bahwa kata (سدر) adalah tanaman Bidara. Ada dua jenis bidara yang berbeda yaitu, yang pertama tanaman Bidara yang sama sekali tidak bisa dimanfaatkan baik itu buahnya ataupun daunnya, bahkan buahnya memiliki rasa pahit (tengik) dan di negeri Arab dinamakan tanaman yang menyestetkan; yang kedua tanaman Bidara yang tumbuh di atas perairan buahnya berwarna kuning dan kalau dimakan rasanya pahit, daunnya serupa dengan daun anggur dan dapat digunakan untuk membasuh. Kata (شوك\شوكة) yang berarti duri. Maksudnya adalah pohon yang memiliki duri. Banyak sekali di dunia pohon-pohon yang berduri, pada Hadits di atas disebutkan kata duri secara umum namun yang dimaksud adalah pohon Bidara.

Ayat Quran dan Hadits di atas menunjukkan bahwa betapa sempurna ciptaan Allah di surga. Lain lagi dengan ciptaan Allah yang ada di dunia. Bidara yang ada di dunia tidak seperti yang ada di surga, akan tetapi Allah maha adil tidak menciptakan sesuatu pun melainkan ada hikmahnya. Pengetahuan yang akan menuntun manusia untuk menemukan manfaat tanaman yang telah tersedia di alam ini. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuan, maka tidak akan pernah tahu manfaat dan kandungan tanaman yang telah disebutkan dalam Quran yaitu Bidara (سدر).

Bidara Arab atau *Ziziphus spina-christi* L. merupakan pohon tropis yang berasal dari Sudan yang biasa disebut "Sidr", "Nebeq", "Nabg" di Arab Saudi. Tanaman ini banyak tumbuh di Afrika Timur, Asia Barat termasuk Mesir, Arab Saudi, dan Iran Selatan. Bidara arab ini merupakan pohon berduri yang tahan terhadap panas dan kekeringan. Memiliki akar tunggang yang sangat kuat, tinggi pohonnya bisa mencapai 20 m dengan diameter 60 cm. Tanaman ini sering disebutkan dalam Al-Qur'an maupun hadist, karena tanaman ini digunakan sebagai alat ruqyah dan untuk memandikan jenazah (Orwa, dkk., 2009).



Gambar 2.1 Tanaman Bidara Arab (Allan, 2012)

2.1.2 Klasifikasi (Adzu, 2001) :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rosales
Famili	: Rhamnaceae
Genus	: Ziziphus
Spesies	: Christi
Nama binomial	: Ziziphus spina-christy L.

2.1.3 Kandungan kimia

Beberapa penelitian menyatakan bahwa bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) memiliki beragam senyawa kimia aktif termasuk alkaloid seperti spinanin A, tanin, sterol seperti β -sitosterol, flavonoid seperti rutin, kuarsetin derivatif, triterpenoid, saponin, dan saponin seperti asam betulink (Branther & Males,

1999; Godini, dkk., 2009; Abalaka, dkk., 2010). Komposisi kimia tanaman ini telah diteliti secara luas dan telah diketahui komposisi kimianya. Konstituen utama dari minyak esensial adalah α -terpineol (16,4%) dan linalool (11,5%). Hidrokarbon netral dalam bentuk n-pentacosane adalah (81%). Metil ester yang diisolasi dari daun termasuk metil palmitat, metil stearat dan metil miristat. β -sitosterol, asam oleanolik dan asam maslinik adalah aglikon utama dari glikosida terdapat dalam daun bidara. Kandungan gula dalam daun bidara adalah laktosa, glukosa, galaktosa, arabinosa, xilosa dan rhamnosa, dan juga berisi empat glikosida saponin. Kandungan flavonoid tertinggi ditemukan dalam daun (0,66%). Terdapat kandungan quercetin 3-O-rhamnoglucoside 7-O-rhamnoside yang merupakan senyawa flavonoid utama pada semua bagian tanaman. Komposisi kimia tanaman bidara terbukti sangat kompleks dan lengkap, selain alkaloid, terdapat zizyphine-F, jubanine-A dan amphibine-H, sebuah peptida baru alkaloid spinanine-A telah diisolasi dari kulit batang pohon bidara. Spinanine-A adalah salah satu dari 14 jenis cyclopeptide alkaloid jenis amphibine-B (Adzu, 2007).

2.2 Teknik Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder Daun Bidara (*Ziziphus spina christi* L.)

Menurut Anief (2000) ekstraksi merupakan proses penarikan zat aktif dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang telah dipilih sehingga zat yang diinginkan akan terlarut. Semua atau hampir semua pelarut diuapkan untuk mendapatkan senyawa yang khas (zat aktif) dalam suatu tumbuhan (Harborne, 1987). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sumber bahan alami dan senyawa yang akan diisolasi tersebut. Cara pemisahan dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi, dan pemisahan berkesinambungan. Secara umum

pemisahan akan bertambah baik apabila semakin luas permukaan sampel yang berinteraksi dengan pelarut (Sarker, dkk., 2005).

Struktur kimia zat aktif yang terdapat dalam berbagai sampel akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, logam berat, udara, cahaya dan derajat keasaman. Zat aktif yang terkandung dalam sampel yang telah diketahui akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara pemisahan yang tepat (Ditjen POM, 1986). Pemilihan pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor, yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat dan diperbolehkan oleh peraturan. Untuk proses penyarian Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai pelarut adalah air, etanol, etanol-air. Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut karena kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Untuk meningkatkan pemisahan biasanya digunakan campuran antara etanol dan air (Ditjen POM, 1986).

Setiap komponen pembentuk bahan mempunyai perbedaan kelarutan yang berbeda dalam setiap pelarut, sehingga untuk mendapatkan sebanyak mungkin komponen yang diinginkan, maka ekstraksi dilakukan dengan menggunakan suatu pelarut yang secara selektif dapat melarutkan komponen tersebut. Komponen yang terkandung dalam bahan akan dapat larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya. Kriteria kepolaran suatu pelarut dapat ditinjau dari konstanta dielektrik. Pelarut polar memiliki konstanta dielektrik yang besar, sedangkan non-

polar memiliki konstanta dielektrik yang kecil. Semakin besar nilai konstanta dielektriknya, maka semakin polar senyawa tersebut (Adnan, 1997). Polaritas pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kepolaran Pelarut (Adnan, 1997)

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih (°C)	Konstanta Dielektrik	Massa Jenis (g/ml)
n-Heksana	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	60	2,0	0,655
Benzena	C ₆ H ₆	80	2,3	0,879
Toluena	C ₆ H ₅ -CH ₃	111	2,4	0,867
Dietil Eter	CH ₃ CH ₂ -O- CH ₂ -CH ₃	35	4,3	0,713
Kloroform	CHCl ₃	61	4,8	1,498
Etil asetat	CH ₃ -C(=O)- O-CH ₂ -CH ₃	77	6,0	0,894
Diklorometana	CH ₂ Cl ₂	40	9,1	1,326
Asam asetat	CH ₃ -C(=O)OH	118	6,2	1,049
n-Butanol	CH ₃ -CH ₂ - CH ₂ -CH ₂ -OH	118	18	0,785
Isopropanol	CH ₃ CH(-OH)-CH ₃	82	18	0,785
n-Propanol	CH ₃ -CH ₂ - CH ₂ -OH	97	20	0,803
Amoniak	NH ₃	-33,5	22	0,899
Etanol	CH ₃ CH ₂ -OH	79	30	0,789
Metanol	CH ₃ -OH	65	33	0,791
Asam format	H-C(=O)-OH	100	58	1,21
Air	H-O-H	100	80	1,000

2.2.1 Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut melalui beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Cairan pelarut akan menembus dinding sel sampel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, sehingga larutan yang pekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut terjadi secara berulang

sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Ditjen POM, 1986).

Maserasi digunakan untuk ekstraksi sampel yang bersifat lunak seperti daun dan bunga tetapi banyak juga yang menggunakan metode ini untuk ekstraksi sampel yang keras seperti akar dan korteks karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diperoleh. Pemisahan dengan cara maserasi perlu dilakukan pengadukan untuk menghomogenkan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Ditjen POM, 1986).

Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan 10% bagian sampel dengan derajat halus yang cocok kedalam sebuah bejana kemudian dituangi 75% dengan pelarut, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari, sampel hasil ekstrak dikerai, ampas diperas dan dicuci dengan pelarut secukupnya hingga diperoleh 100%. ekstrak dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan ditempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari lalu dienaptungkan dan disaring (Depkes RI, 1979).

2.2.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Istilah kromatografi digunakan pada beberapa teknik pemisahan berdasarkan pada “migration medium” yang berbeda, yaitu distribusinya terhadap fase diam dan fase gerak. Terdapat 3 hal yang wajib ada pada teknik ini. Pertama harus terdapat medium perpindahan tempat, yaitu tempat terjadinya pemisahan. Kedua harus terdapat gaya dorong agar spesies dapat berpisah sepanjang “migration medium“. Ketiga harus terdapat gaya tolakan selektif. Gaya yang

terakhir ini dapat menyebabkan pemisahan dari bahan kimia yang dipertimbangkan (Sienko, 1984).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu kromatografi yang berdasarkan proses adsorpsi. Lapisan yang memisahkan terdiri atas fase diam dan fase gerak. Fase diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau aluminium. Jika fase diam berupa silika gel maka bersifat asam, jika fase diam alumina maka bersifat basa. Fase gerak yang digunakan umumnya merupakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik (Gritter, dkk., 1991).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah suatu teknik yang sederhana yang banyak digunakan, metode ini menggunakan lempeng kaca atau lembaran plastik yang ditutupi penyerap atau lapisan tipis dan kering. Untuk menotolkan larutan cuplikan pada lempeng kaca, pada dasarnya menggunakan mikro pipet atau pipa kapiler. Selain itu, bagian bawah dari lempeng dicelup dalam larutan pengelusi di dalam wadah yang tertutup (Soebagio, 2002).

Prinsip dari metode KLT adalah sampel ditotolkan pada lapisan tipis (fase diam) kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi fase gerak (eluen) sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya. Salah satu fase diam yang paling umum digunakan adalah silika gel F_{254} yang mengandung indikator flourosensi ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan. Fase gerak terdiri dari satu atau beberapa pelarut (dengan perbandingan volume total 100) yang akan membawa senyawa yang mempunyai sifat yang sama dengan pelarut tersebut (Gritter, dkk., 1991; Stahl, 1985; Nyiredy, 2002).

Pertimbangan untuk pemilihan pelarut pengembang (eluen) umumnya sama dengan pemilihan eluen untuk kromatografi kolom. Dalam kromatografi adsorpsi, pengelusi eluen naik sejalan dengan pelarut (misalnya dari heksana ke aseton, ke alkohol, ke air). Eluen pengembang dapat berupa pelarut tunggal dan campuran pelarut dengan susunan tertentu. Pelarut-pelarut pengembang harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Terdapatnya sejumlah air atau zat pengotor lainnya dapat menghasilkan kromatogram yang tidak diharapkan, maka eluen pengembang yang digunakan harus memiliki potensi baik untuk memisahkan senyawa-senyawa aktif (Soebagio, 2002).

Identifikasi dari senyawa-senyawa hasil pemisahan KLT dapat dilakukan dengan penambahan pereaksi kimia dan reaksi-reaksi warna. Tetapi lazimnya untuk identifikasi digunakan harga R_f . Harga R_f dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana persamaan sebagai berikut (Gandjar dan Rohman, 2007).

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}} \dots\dots\dots \text{pers. (2.2)}$$

Harga maksimum R_f adalah 1, sampel bermigrasi dengan kecepatan sama dengan eluen. Harga minimum R_f adalah 0, dan ini teramati jika sampel tertahan pada posisi titik awal dipermukaan fase diam. Harga-harga R_f untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga-harga R_f yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Nilai R_f sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai R_f lebih besar berarti mempunyai

kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai R_f yang rendah (Gandjar dan Rohman, 2007).

Adapun hasil identifikasi KLT menunjukkan pemisahan yang baik dengan munculnya bentuk spot yang jelas, tidak berekor, dan resolusinya $> 1,25$. Menurut Wonorahardjo (2013) bahwa nilai resolusi yang tinggi menunjukkan kesempurnaan keterpisahan antara dua buah puncak kromatogram (spot) dengan nilai R_s mendekati 1,25 atau lebih dari 1,25 memberikan hasil pemisahan 2 spot yang sangat baik dan kecil kemungkinan terjadinya tumpang tindih senyawa.

Reich dan Shibli (2006) dalam Fatahillah (2016) mengatakan bahwa senyawa yang stabil adalah tidak menghilangnya noda yang sama pada dimensi pertama dan kedua. Stabilitas suatu senyawa dapat ditentukan dengan tingkat presisi yaitu dengan cara mencermati pola sidik jari (noda), sebagaimana menurut (Reich dan Schibli, 2006 dalam Fatahillah, 2016) bahwa hasil dapat diterima jika pola sidik jari identik terkait dengan jumlah, letak, warna, dan syarat keberterimaan simpangan baku (intraplat) tidak lebih dari 0,02 dan simpangan baku (interplat) tidak lebih dari 0,05. Secara visual presisi semakin baik jika pola yang terlihat mendekati garis lurus. Simpangan baku adalah nilai yang menunjukkan tingkat (derajat) variasi kelompok data dari meannya (rata-rata) (Setiawan, 2008).

Prosedur uji KLT dilakukan untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari skrining fitokimia. Uji KLT hanya dilakukan untuk golongan-golongan senyawa yang menunjukkan hasil positif terbanyak pada skrining fitokimia.

2.3 Uji Fitokimia

Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu tanaman dapat diketahui dengan suatu metode pendekatan yang dapat memberikan informasi adanya senyawa metabolit sekunder. Salah satu metode yang digunakan adalah metode skrining fitokimia (Harborne, 1987). Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa kimia di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, triterpenoid, dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

Kimia tumbuhan atau fitokimia adalah cabang kimia organik yang berada di antara kimia organik bahan alam dan biokimia tumbuhan, serta berkaitan erat dengan keduanya. Bidang perhatian dari fitokimia adalah keanekaragaman senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimia, biosintesis, perubahan serta metabolismenya, penyebaran secara ilmiah, dan fungsi biologis (Rafi, 2003).

Analisis fitokimia atau uji fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, senyawa fenol (termasuk flavonoid), steroid, saponin, dan terpenoid tanpa menghasilkan penapisan biologis. Uji ini sangat bermanfaat untuk memberikan informasi jenis senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa-senyawa ini merupakan metabolit sekunder yang mungkin dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Analisis ini merupakan tahapan awal dalam

isolasi senyawa bahan alam sehingga menjadi panduan bersama-sama dengan uji aktivitas biologis senyawa tersebut. Salah satu tujuan pengelompokan senyawa-senyawa aktif ini adalah untuk mengetahui hubungan biosintesis dan famili tumbuhan. Informasi ini sangat berguna bagi ahli sintesis kimia organik untuk memprediksi atau mengubah substituen senyawa aktif tersebut sehingga dapat lebih berkhasiat. Tanaman yang diuji fitokimianya adalah dapat berupa tanaman segar, kering yang berupa rajangan, serbuk, ekstrak atau dalam bentuk sediaan (Rafi, 2003).

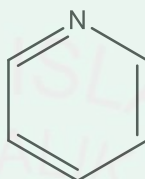
Uji fitokimia dilakukan berdasarkan pada reaksi yang menghasilkan warna atau endapan. Selama bertahun-tahun uji warna sederhana dan reaksi tetes dikembangkan untuk menunjukkan adanya senyawa tertentu atau golongan tertentu karena sudah terbukti khas dan peka. Uji fitokimia masih sering digunakan dalam pencirian senyawa karena mudah dan tidak memerlukan peralatan yang rumit (Rafi, 2003).

2.4 Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tanaman Bidara

2.4.1 Alkaloid

Salah satu senyawa metabolit sekunder adalah senyawa metabolit sekunder dengan keanekaragaman struktur, penyebarannya di alam serta mempunyai aktivitas biologisnya yang sangat penting. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung nitrogen yang sering kali terdapat dalam cincin heterosiklik, tetapi ada yang terdapat dalam struktur alifatiknya, bersifat basa (Lenny,2006).

Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Meskalina dan efedrina merupakan golongan alkaloid yang nitrogennya terdapat dalam struktur alifatik, Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson,1995).



Gambar 2.2 Struktur senyawa alkaloid (Robinson,1995)

Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak, dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5%, asam tanat 5%, pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), iodoplatinat dan larutan asam pikrat jenuh.

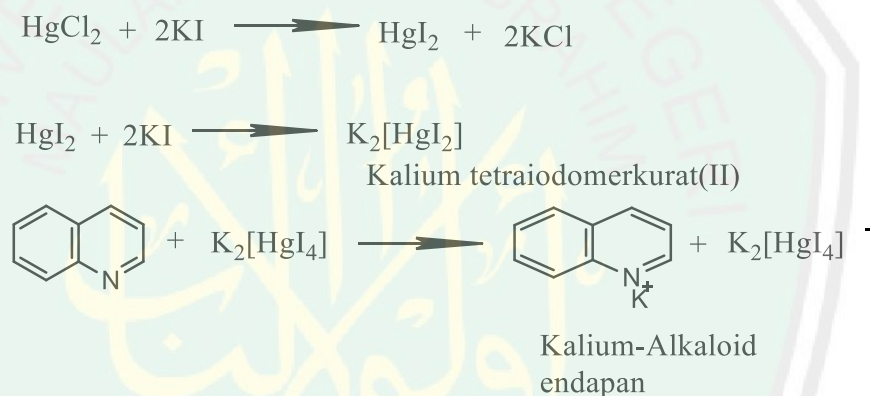
Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu cara cepat untuk pemisahan alkaloid dengan silika gel sebagai penyerapnya. Pereaksi yang paling umum digunakan untuk menyemprot kromatogram adalah pereaksi Dragendorff (Robinson,1995). Sedangkan pada uji KLT untuk memudahkan mengidentifikasi kemurnian senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan eluen. Hasil penelitian Ismiyah (2014), terhadap daun pulai menggunakan eluen metanol : amoniak (200:3) terbentuk 6 spot, dan nilai Rf 0,16; 0,48; 0,55; 0,63; 0,68; 0,79.

Spot yang diduga sebagai senyawa alkaloid adalah pada Rf 0,16 dan 0,79. Menurut Harborne (1996) timbulnya bercak coklat jingga setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Kemudian hasil penelitian Murtadlo, dkk., (2013) eluen yang digunakan pada KLT untuk alkaloid n-heksan : etil asetat : etanol (30:2:1) juga dengan hasil penelitian Mufadal (2015), eluen yang digunakan adalah etil asetat : metanol : air (6:4:2) menunjukkan adanya senyawa alkaloid yang ditunjukkan dari bawah lampu UV 365 nm menghasilkan warna biru terang dengan nilai Rf yaitu 0,15 dan 0,78 sedangkan hasil penelitian Marliana, dkk., (2007) identifikasi alkaloid terhadap sampel menggunakan fase gerak etil asetat : metanol : air (6:4:2) memberikan hasil positif yang ditandai dengan timbulnya noda berwarna coklat (Rf = 0,80). Menurut Abraham, dkk., (2014) hasil penelitiannya pada uji KLT eluen yang digunakan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) menunjukkan hasil pemisahan paling bagus dengan menghasilkan 6 buah spot dengan nilai Rf (0,08-0,76), dengan warna hasil pengamatan pada UV 366 nm yaitu jingga, ungu kebiruan dan coklat.

Hasil skrining fitokimia Marliana, dkk., (2005) pada buah labu siam terbentuknya endapan putih pada uji Mayer, Wagner, dan Dragendorf yang berarti telah menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari

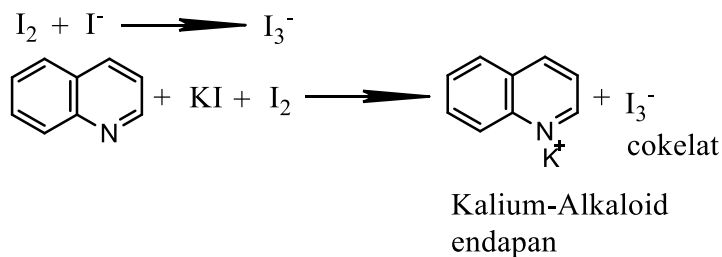
kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

Cara untuk mengklasifikasi alkaloid adalah dengan klasifikasi yang didasarkan pada jenis tumbuhan dari mana alkaloid ditemukan. Alkaloid dapat dipisahkan dari sebagian besar komponen tumbuhan berdasarkan sifat basanya. Oleh karena itu, senyawa golongan ini cenderung sering diisolasi dengan HCl atau H₂SO₄ garam ini atau alkaloid bebasnya berbentuk padat membentuk kristal yang tidak berwarna (Kristanti, dkk.,2008). Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Perkiraan reaksi uji Mayer (Marliana, dkk., 2005)

Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I⁻ dari kalium iodida menghasilkan ion I₃⁻ yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K⁺ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji Wagner ditunjukkan pada Gambar 2.4.



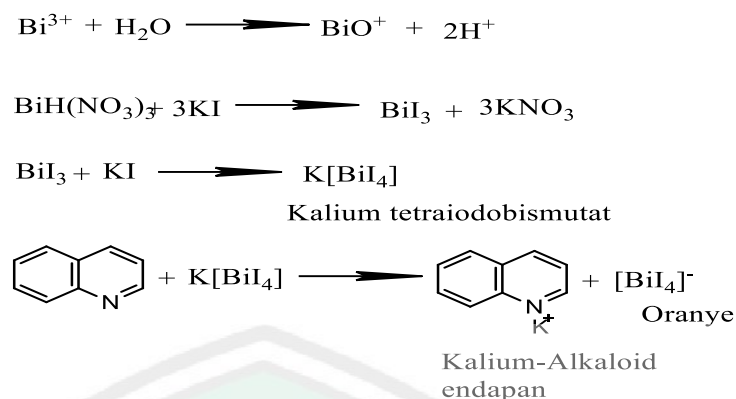
Gambar 2.4 Perkiraan reaksi uji Wagner (Marliana, dkk., 2005)

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kaliumalkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+), yang reaksinya ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Reaksi hidrolisis bismut (Marliana, dkk., 2005)

Agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut(III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 2.6 (Miroslav, 1971). Untuk menegaskan hasil positif alkaloid yang didapatkan, dilakukan uji Mayer, Wagner dan Dragendorff pada fraksi CHCl_3 dan fraksi air dari sampel.



Gambar 2.6 Reaksi uji Dragendorff (Marliana, dkk., 2005)

Kemudian hasil uji KLT Marliana, dkk., (2005) Pelarut pengembang yang digunakan pada KLT untuk alkaloid adalah etil asetat : metanol : air (100:16,5:13,5). Setelah plat disemprot dengan pereaksi Dragendorff akan menunjukkan bercak coklat jingga berlatar belakang kuning (Harborne, 1996). Timbulnya noda dengan Rf 0,9 berwarna kuning muda pada pengamatan dengan sinar berwarna hijau muda pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan alkaloid pada ekstrak etanol labu siam tampak, berwarna kuning pada UV 254 nm dan berwarna hijau muda pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan alkaloid pada ekstrak etanol labu siam.

Menurut Sumiati, (2014) Analisis kandungan kimia ekstrak kloroform menggunakan kromatografi lapis tipis terhadap biji bidara laut dengan menggunakan fase gerak kloroform : dietilamina (90:10) telah menunjukkan adanya senyawa alkaloid setelah dilihat pada UV 254 nm dan UV 366 nm serta disemprot dengan pereaksi Dragendroff.

Tabel 2.2 Uji Alkaloid

Reagen/Uji	Komposisi Reagen	Hasil
Mayer	Larutan kalium merkuri iodida	Endapan putih- kuning
Wagner	Iodium dalam kalium iodida	Endapan coklat kemerahan

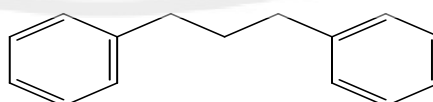
Reagen/Uji	Komposisi Reagen	Hasil
Asam Tanat	Asam Tanat	Endapan
Hager	Larutan Pikrat Jenuh	Endapan Kuning
Dragendorff	Larutan Kalium bismut iodida	Endapan Jingga atau cokelat kemerahan
Mureksida	Kalium Klorat dan HCl Residu ditambah uap NH ₃	Ungu

Sumber: Nahar dan Sarker. 2009

2.4.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C₃, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin, dan kalkon (Robinson,1995).

Beberapa kemungkinan lain fungsi flavonoid bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tubuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat mikroba, antivirus, dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungi yang menyerangnya (Kristanti, dkk., 2008).



Gambar 2.7 Struktur inti senyawa flavonoid (Robinson,1995)

Pemisahan dengan KLT dikenal pengembang yang paling populer adalah butanol : asam asetat : air (4:1:5). Pelarut yang bersifat basa cenderung

menguraikan flavonoid, sedangkan pelarut asam dapat menyebabkan asilasi bagian gula sehingga menimbulkan bercak jadian. Beberapa senyawa (flavonol, kalkon) akan berfluorosensi di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 365 nm sedangkan senyawa yang lain (glikosida flavonol, antosianin, flavon) menyerap sinar dan tampak sebagai bercak gelap dengan latar belakang berfluorosensi. Glikosida flavon dan flavonol berfluorosensi kuning, flavonol kelihatan kuning pucat, katekin biru pucat,. Selanjutnya di bawah cahaya biasa sambil diuapi uap amoniak flavon kelihatan kuning, antosianin kelabu-biru, kalkon dan aouron merah jingga (Robinson,1995).

Hasil penelitian Koirewoa, dkk (2012) identifikasi senyawa flavonoid daun beluntas, langkah awal sampel diekstraksi maserasi dengan etanol 95% p.a lalu diidentifikasi kandungan kimia pada sampel dengan menggunakan uji fitokimia Dari skrining fitokimia yang dilakukan, diperoleh hasil yang menunjukkan sampel positif mengandung flavonoid. Isolasi senyawa flavonoid daun beluntas dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). KLT yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 20 cm x 20 cm GF254 (Merck). Plat KLT silika gel GF254 diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 100 °C selama 1 jam untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT (Sastrohamidjojo, 2007).

Ekstrak kental hasil ekstraksi dilarutkan dengan etanol 96% p.a, kemudian ditotolkan sepanjang plat dengan menggunakan pipet mikro pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis atas. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang yang memberikan hasil pemisahan terbaik pada KLT yaitu n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan perbandingan (4:1:5).

Hasil KLT seperti pada gambar 1 kemudian diangin-anginkan dan diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Noda yang terbentuk yaitu sebanyak 3 noda, noda-noda tersebut lalu dilingkari dan dihitung nilai Rf-nya. Pemisahan dengan KLT menghasilkan harga Rf dari noda pertama sebesar 0,69. Noda kedua memiliki nilai Rf sebesar 0,78 dan noda ketiga memiliki nilai Rf sebesar 0,89.

Nilai Rf dan warna noda setelah disinari dengan lampu UV panjang gelombang 366, noda pertama menghasilkan warna hijau muda. Noda kedua menghasilkan warna merah muda dan noda ketiga menghasilkan warna hijau. Dari ketiga noda yang tampak, noda ketiga yang berwarna hijau diduga mengandung karena setelah diuapi dengan amoniak terjadi perubahan warna sedikit pada noda ketiga yaitu berubah dari warna hijau ke hijau tua. Noda-noda hasil KLT dikerok dan dilarutkan dalam pelarut metanol sebanyak 4 ml, kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Pembanding rutin yang dipakai dalam mengisolasi ialah kuersetin, yang merupakan pembanding rutin yang biasanya di pakai untuk mengisolasi senyawa flavonoid. Dari hasil KLT, Kuersetin memiliki noda warna kuning setelah diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan memiliki Rf sebesar 0,64.

Tabel 2.3 Nilai Rf dan noda hasil KLT

Noda	Nilai Rf	Warna noda setelah disinari UV 366 nm
1	0,69	Hijau Muda
2	0,78	Merah Muda
3	0,89	Hijau
Rutin	0,64	Kuning

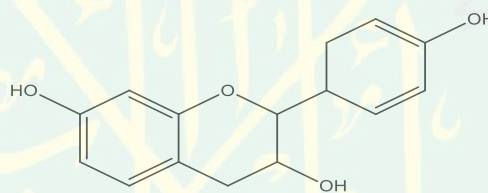
Hasil penelitian Puzi, (2015) menggunakan eluen butanol-asam asetat-air (3:1:1) yang menunjukkan adanya flavonoid dengan nilai Rf 0,92 dan 0,54 yang berwarna kuning muda. Sedangkan hasil penelitian Rohyani (2008), eluen yang digunakan adalah butanol : etil asetat : air (9:2:6) menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Penelitian yang telah dilakukan Akbar (2010) diperoleh eluen terbaik untuk memisahkan senyawa golongan flavonoid dari daun Dandang Gendis menggunakan fase gerak kloroform : metanol (9:1), dimana menunjukkan 4 noda di bawah lampu UV 254 nm. Kemudian penelitian yang telah dilakukan Rustanti, (2013) hasil uji KLT pada daun teh menggunakan fase gerak etil asetat : air : asam format (18:1:1) menghasilkan 6 noda salah satunya dengan Rf 0,86. Noda-noda pada permukaan plat diuapkan dengan uap amoniak sambil diperiksa di bawah sinar UV 254 nm warna biru pucat menunjukkan adanya katekin dan diuji kimia dengan menyemprotkan larutan FeCl₃ warna hitam kebiruan menunjukkan adanya katekin (Robinson, 1995). Penelitian lain menyebutkan bahwa hasil uji KLT pada daun sirih merah menggunakan fase gerak toluen : etil asetat (6:4) setelah disemprot dengan pereaksi menghasilkan 2 noda dengan Rf 0,83 dan 0,66 dengan warna biru kehitaman (Reveny, 2011).

2.4.3 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau katekol dan tanin terhidrolisis atau tannin galat (Harborne,1994).

Tanin terkondensasi merupakan oligomer atau polimer flavonoid (flavan-3-ol atau flavan-3,4-diol) di mana ikatan C-C tidak mudah untuk dihidrolisis, biasanya disebut juga dengan nama proantosianidin. Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, gimnospermae, dan angiospermae terutama pada jenis tumbuh-tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis merupakan molekul dengan poliol (umumnya D-glukosa) sebagai pusatnya. Gugus -OH pada karbohidrat sebagian atau seluruhnya teresterefikasi dengan gugus karboksil pada asam galat atau asam elagat. Salah satu fungsi tanin dalam tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harborne,1994). Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti “reverse” transkriptase dan DNA topoisomerase (Robinson,1995).



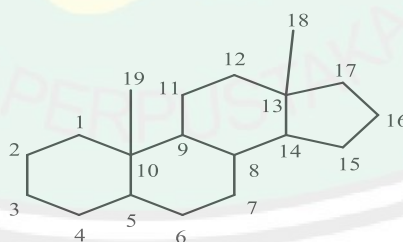
Gambar 2.8 Struktur dasar tanin (Harborne,1987)

Beberapa kelompok peneliti menggunakan kromatografi kertas untuk deteksi tanin. Pelarut yang digunakan untuk mendeteksi campuran tanin terkondensasi adalah butanol : asam asetat : air (14:1:5), diikuti dengan asam asetat 6% merupakan pelarut yang cukup baik. Bercak noda diperiksa dengan sinar UV lalu dengan penyemprot FeCl_3 menghasilkan warna lembayung (Harborne,1987). Menurut Hayati, dkk., (2010) hasil uji KLT pada daun blimbing wuluh dengan fase gerak n-Butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5) menunjukkan adanya 3 noda dan yang menunjukkan tanin adalah noda yang kedua dengan Rf sebesar 0,61. Hasil uji KLT pada daun sirih merah dengan fase

gerak kloroform : metanol (7:3) setelah disemprot pereaksi FeCl_3 menunjukkan adanya 4 noda diperoleh harga R_f 0,96 dan R_f 0,88 (hijau biru), R_f 0,77 dan R_f 0,63 (biru hitam) (Reveny, 2011). Hasil penelitian lain menurut Amilia, (2013) pada uji KLT terhadap daun sinyo nakal menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (11:3) dibawah lampu UV 254 nm menunjukkan 5 noda dengan R_f berturut-turut 0.90, 0.78, 0.62, 0.55, dan 0,19.

2.4.4 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin dalam larutan yang sangat encer dapat sebagai racun ikan, selain itu saponin juga berpotensi sebagai antimikroba, dapat digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid. Dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam asam atau menggunakan enzim (Robinson,1995).



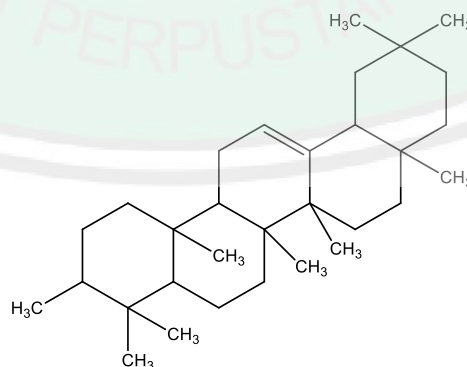
Gambar 2.9 Saponin (Robinson,1995)

Pemisahan saponin melalui plat silika gel KLT menggunakan larutan pengembang seperti butanol yang dijenuhkan dengan air atau kloroform : metanol : air (13:7:2) (Harborne,1987). Salah satu pelarut pengembang yang biasa

digunakan untuk uji KLT saponin adalah heksana : aseton (4:1). Setelah penyemprotan dengan SbCl_3 dalam asam asetat, saponin terdeteksi sebagai noda berwarna merah jambu sampai ungu (Santos, dkk., 1978). Timbulnya noda dengan Rf 0,84 dan 0,79 yang berwarna merah jambu pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna kuning pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan saponin pada ekstrak etanol labu siam (Marliana, dkk., 2005). Menurut Ismiyah, (2013) Pemisahan senyawa saponin daun pulai menggunakan fase gerak kloroform : aseton (4:1) setelah disemprot Dragendorf menghasilkan warna biru, ungu, hijau dan cokelat sebanyak 11 spot. Dengan nilai Rf 0,16; 0,21; 0,33; 0,39; 0,44; 0,50; 0,62; 0,66; 0,77; 0,84; 0,97. Yang diduga sebagai senyawa saponin adalah pada spot 0,44.

2.4.5 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isopren, dimana kerangka karbonnya dibangun oleh dua atau lebih satuan C5 tersebut. Senyawa terpenoid terdapat bebas dalam jaringan tanaman, tetapi banyak diantaranya yang terdapat sebagai alkohol, aldehyd (Harbone, 1987), glikosida dan ester asam aromatik (Sastrohamidjojo, 1996).



Gambar 2.10 Struktur dasar triterpenoid (Robinson, 1995)

Triterpenoid merupakan senyawa yang tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi dan optik aktif, yang umumnya sukar dicirikan karena tidak mempunyai kereaktifan kimia. Kebanyakan senyawa ini memberikan warna hijau-biru dengan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrid-asam sulfat pekat) (Harborne, 1987).

Triterpenoid memiliki beberapa aktivitas fisiologi, antara lain untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria (Robinson, 1995), radang (Aguirre, dkk., 2009), analgesik (Delporte, dkk., 2007) dan kanker (Atenza, dkk., 2009).

Hasil penelitian Ula (2014), pada uji KLT terhadap daun widuri dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (10:1) menunjukkan adanya senyawa triterpenoid nilai Rf 0,49; 0,54; 0,78; 0,95 dan menurut Sumiati (2014), menggunakan metanol-air dengan pereaksi Liebermann-Burchard (LB) menunjukkan adanya senyawa triterpenoid. Menurut Nurulita, dkk., (2007) hasil uji KLT menggunakan etanol : kloroform (9:2) dibawah lampu UV 254 nm menghasilkan warna hijau gelap (golongan senyawa triterpenoid) memiliki satu noda dengan Rf 0,77 dan menurut penelitian Renevy, (2011) hasil uji KLT triterpenoid menggunakan fase gerak n-heksan : etilasetat (8:2) diperoleh Rf 0,41 dan 0,29 (ungu merah) setelah disemprot pereaksi Lieberman-Brchard.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2018 di Laboratorium Kimia Organik dan Analitik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana (UIN) Maliki Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, blender, gunting, pisau, ayakan 60 mesh, oven, loyang, cawan penguap, desikator, neraca analitik, kaca arloji, penjepit kayu, *shaker inkubator*, kertas saring, penyaring *buchner*, *Rotary evaporator*, botol vial, gelas vial, tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, plat silika gel F₂₅₄, bejana pengembang (*chamber*), bola hisap, pipa kapiler, *air dryer* dan penggaris.

3.2.2 Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bidara (*Ziziphus Spina- Crysti. L*). Bahan- bahan kimia yang digunakan adalah pelarut etanol, metanol, amoniak, etil asetat, asam format, kloroform, n-heksana, toluen, aseton, aquades, pereaksi Liebermann-Burchad (LB), pereaksi Dragendorff, pereaksi meyer, larutan amonia, larutan HCl pekat, larutan kloroform, larutan asam asetat anhidrat, larutan H₂SO₄ pekat, larutan FeCl₃, n-butanol, asam asetat dan serbuk magnesium (Mg).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di Laboratorium. Tahapan awal yang dilakukan yaitu determinasi tanaman Bidara Arab agar kebenaran tanaman sesuai dengan yang diinginkan, selanjutnya daun bidara dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada sampel, dipotong kecil-kecil dan dikering-anginkan. Kemudian sampel kering dihaluskan dengan blender hingga halus (serbuk) dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk yang diperoleh merupakan sampel penelitian yang kemudian akan ditentukan kadar airnya (sampel kering) kemudian diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol, kloroform dan n-heksana pada masing-masing erlenmeyer, lalu dipisahkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Kemudian dilanjutkan uji fotokimia dengan melakukan penambahan pereaksi. Penentuan eluen terbaik dari variasi komposisi eluen dengan KLTA. KLTA dilakukan kembali pada eluen terbaik dengan menggunakan variasi waktu optimasi. Waktu optimasi antara lain:

- a). Setelah ditotolkan langsung dielusi dan diidentifikasi.
- b). Setelah ditotolkan kemudian didiamkan selama 1 jam kemudian pengelusan dan diidentifikasi.
- c). Setelah ditotolkan langsung dielusi kemudian didiamkan selama 1 jam dan diidentifikasi.

Analisis data hasil KLTA dengan mendeskripsikan perubahan warna, resolusi dan Rf-nya.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan- tahapan sebagai berikut:

- 1 : Preparasi sampel
- 2 : Analisis kadar air
- 3 : Ekstraksi senyawa aktif dengan metode ekstraksi maserasi
- 4 : Uji fitokimia dengan penambahan pereaksi
- 5 : Pemisahan senyawa aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)
- 6 : Uji stabilitas
- 7 : Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Diambil sampel daun bidara kemudian dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada sampel, dipotong kecil-kecil dan dikering-anginkan. Kemudian sampel kecil dihaluskan dengan blender hingga halus (serbuk) dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk yang diperoleh merupakan sampel penelitian yang kemudian ditentukan kadar airnya.

3.5.2 Analisis Kadar Air (AOAC., 2005)

Langkah awal yang dipanaskan cawan pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar airnya, lalu didinginkan di dalam desikator selama ± 15 menit. Kemudian cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai diperoleh berat konstan. Sampel ditimbang sebanyak 5 gr dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menguapkan air yang terkandung dalam sampel. Setelah itu, didinginkan dalam desikator selama ± 15 menit dan ditimbang

kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi

Sampel yang telah dipreparasi dan diuji kadar airnya selanjutnya dilakukan tahap ekstraksi. Langkah awal yang dilakukan yaitu ditimbang serbuk daun bidara dan dimasukkan ke dalam 3 erlenmeyer 500 mL masing- masing erlenmeyer 50 gr, lalu diekstraksi dengan perendaman menggunakan 300 mL pelarut etanol p.a selama 24 jam, dan *dishaker* selama 3 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Pengulangan kedua dan ketiga menggunakan pelarut sebanyak 250 mL. Ketiga filtrat dari 3 erlenmeyer digabung menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* dengan suhu 60 °C dan dihentikan ketika ekstrak cukup kental dan ditandai dengan berhentinya penetesan pelarut pada labu alas bulat. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.2)$$

Ekstrak pekat etanol dibagi menjadi 3 bagian, yaitu :

- 1) ekstrak pekat etanol ditimbang sebanyak 8 gr sebagai sampel uji
- 2) ekstrak pekat etanol ditimbang sebanyak 4 gr, ditambahkan pelarut kloroform (1:1). Lalu dikocok selama 15 menit dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 2x. Hasil fraksi

kloroform dikumpulkan menjadi satu, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*.

3) Ekstrak pekat etanol ditimbang sebanyak 4 gr, ditambahkan pelarut n-heksan (1:1). Lalu dikocok selama 15 menit dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 2x. Hasil fraksi n-heksana dikumpulkan menjadi satu, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* hingga diperoleh ekstrak yang cukup kental.

Fraksi n-heksan dan fraksi kloroform masing-masing ditimbang dan dihitung rendemennya dengan menggunakan persamaan 3.2. Ketiga ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dilakukan uji fitokimia dengan penambahan reagen untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang ditandai dengan perubahan warna pada ekstrak dan diuji karakterisasi dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT).

3.5.4. Uji Fitokima dengan Penambahan Pereaksi

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji pereaksi dari ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana dilarutkan dengan sedikit pelarutnya. Kemudian dilakukan terhadap uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Data yang diperoleh dari hasil uji fitokimia dengan penambahan pereaksi ditandai dengan perubahan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak dengan tanda berikut:

1. + :terkandung senyawa/warna.
2. - : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna.

1. Uji Alkaloid (Halimah dan Hayati, 2010)

Ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana dari daun bidara diambil ekstrak pekat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 ml HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambah 3 tetes pereaksi Dragendorff, tabung II ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan/putih, menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Hasil uji pereaksi ini selanjutnya digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan alkaloid.

2. Uji Flavonoid (Indrayani, 2006)

Ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana dari daun bidara diambil ekstrak pekat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1-2 ml metanol panas 50%. Setelah itu ditambah logam Mg dan 0,5 ml HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid. Hasil uji pereaksi ini selanjutnya digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan flavonoid.

3. Uji Tanin (Indrayani, 2006)

Ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana dari daun bidara diambil ekstrak pekat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin galat. Hasil uji pereaksi ini selanjutnya digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan tanin.

4. Uji Saponin (Halimah dan Hayati, 2010)

Ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana dari daun bidara diambil ekstrak pekat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1N dan dibiarkan 10 menit., bila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin. Hasil uji pereaksi ini selanjutnya digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan saponin.

5. Uji Triterpenoid (Indrayani, 2006)

Ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana dari daun bidara diambil ekstrak pekat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform lalu ditambah dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid. Hasil uji selanjutnya digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan triterpenoid maupun steroid.

3.5.5 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik

Hasil uji fitokimia golongan senyawa yang positif pada masing-masing ekstrak selanjutnya dilakukan identifikasi eluen terbaik masing-masing golongan metabolit sekunder menggunakan KLTA.

Identifikasi dengan KLTA menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran 60 mesh yang mampu berfluoresensi dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Plat KLT disiapkan dengan dibuat ukuran 1 cm x 10 cm

dengan menggunakan pensil, penggaris dan *cutter*. Selanjutnya garis digambar dengan pensil di bawah plat (1 cm dari tepi bawah dan 1 cm dari tepi atas plat), lalu diberi penandaan pada garis dibagian bawah menggunakan jarum untuk menunjukkan posisi awal totalan. Plat KLT silika gel GF₂₅₄ diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT.

Setiap golongan memiliki campuran fase gerak yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan ke dalam *chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan proses penjuanan selama 20-30 menit. Penjuanan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana pengembang.

Ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana dari daun bidara diambil 50 mg dan dilarutkan dengan 5 ml pelarutnya. Kemudian ditotolkan ekstrak sebanyak 1 μ L (1-10 totalan) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan dengan *hair dryer*. Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat KLT selanjutnya dielusikan dengan masing-masing fase gerak berdasarkan kelarutannya. Plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, kemudian diletakkan pada jarak setinggi \pm 1 cm dari dasar plat KLT, selanjutnya *chamber* ditutup rapat selama 10 menit hingga fase geraknya mencapai jarak 1 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. KLTA awal dilakukan untuk menentukan eluen terbaik kemudian dilakukan KLTA kembali pada eluen terbaik untuk menentukan kestabilan hasil pemisahan dengan parameter waktu stabilisasi.

Tabel 3.1 Jenis eluen yang digunakan pada golongan senyawa aktif

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Reagen	Pendeteksi	Warna noda
Alkaloid	Metanol:amoniak (200:3) (Ismiyah, 2014)	Dragendorff	Vis	cokelat
	Etil asetat:metanol:air (6 :4:2) (Abraham, 2014)		UV 366 nm	ungu kebiruan
	n-Heksana: etil asetat: etanol (30:2:1) (Murtadlo, 2013)		UV 365 nm	biru terang
	kloroform-metanol-asam asetat (47,5:47,5:5) (Wagner, <i>et al.</i> , 1996)	Dragendorff	Vis	cokelat/ jingga
	toluen-kloroform-etanol (28,5:57:14,5) (Wagner, <i>et al.</i> , 1996)			cokelat/ jingga
Flavonoid	n-Butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Nirwana, 2015)		UV 366 nm	kuning kehijauan
	Etil asetat:air:asam format (18:1:1) (Rustanti, 2013)	FeCl ₃	Vis	hitam kebiruan
	Toluen-etilasetat (6:4) (Reveny, 2011)			biru kehitaman
	benzena-piridin-asam format (72:18:10) (Wagner, <i>et al.</i> , 1996)		UV 365 nm	hitam kekuningan/ hijau/biru hitam
	kloroform-aseton-asam format (75:16,5:8,5) (Wagner, <i>et al.</i> , 1996)			kekuningan/ hijau/biru
Tanin	n-Butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Hayati, 2010)		UV 366 nm	lembayung
	Kloroform-Metanol (7:3) (Reveny, 2011)	FeCl ₃	Vis	biru kehitaman
	n-Heksana:etil asetat (11:3) (Amilia, 2013)		UV 254	hitam kebiruan
Saponin	Kloroform:aseton (4:1) (Ismiyah, 2014)	Dragendorff	Vis	Hijau
	n-heksana: aseton (4:1) (Marliana, dkk (2005)		UV 366 nm	Kuning
	kloroform-asam asetat- metanol-air (64:32:12:8) (Wagner, <i>et al.</i> , 1996)	anisaldehid- asam sulfur	UV 465 nm	biru/ ungu/ hijau
Triterpenoid	Etanol:kloroform (9:2) (Nurulita, dkk., 2007)		UV 366 nm	hijau gelap

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Reagen	Pendeteksi	Warna noda
	Kloroform:etanol:etil asetat (9:3:5) (Indrayani, 2006)		UV 350 nm	merah muda
	n-heksan-etilasetat (6:4) (Reveny, 2011)	Lieberman-Burchard (LB)	Vis	ungu kemerahan

Proses stabilisasi KLTA yang akan dilakukan dengan perbedaan waktu. Prosesnya menggunakan tipe yaitu, tipe pertama sampel ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dan diidentifikasi, ke-dua sampel ditotolkan pada plat KLT kemudian didiamkan selama 1 jam lalu dielusi dan diidentifikasi, dan ke-tiga sampel ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi lalu didiamkan selama 1 jam dan diidentifikasi.

Adapun eluen pengembang, pereaksi penyemprot maupun pendeteksi masing-masing golongan senyawa yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.1.

3.5.6 Analisis Data

Data yang diperoleh yang positif mengandung golongan senyawa aktif diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan berbagai eluen yang digunakan, dihitung nilai resolusi dan Rf-nya dan dianalisis secara deskriptif yaitu dengan memperhatikan perubahan warna dan pola pemisahan pada kromatogram dari berbagai eluen yang digunakan. Hasil pemisahan KLTA berupa bercak (spot) yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara bercak satu dengan bercak lainnya jelas. Perhitungan resolusi dan Rf sebagai berikut:

$$R_s = \frac{d}{(w_1+w_2)\sqrt{2}} \dots\dots\dots(3.3)$$

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}} \dots\dots\dots(3.4)$$

Hasil uji stabilitas senyawa metabolit sekunder berupa kromatogram dengan tiga kali pengulangan dalam 3 variasi waktu (langsung, dibiarkan 1 jam sebelum elusi dan dibiarkan 1 jam setelah elusi). Kromatogram tersebut dihitung simpangan bakunya (standar deviasi). Menghitung simpangan baku dirumuskan sebagai berikut (Harinaldi, 2005):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}}{n-1}} \dots\dots\dots(3.5)$$



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel bertujuan untuk mempermudah dalam proses maserasi, karena dengan memperkecil ukuran sampel maka akan semakin banyak kontak yang terjadi antara sampel dengan pelarut sehingga proses maserasi berjalan cepat dan maksimal. Pencucian sampel bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada daun bidara arab, pengeringan dilakukan untuk menghilangkan kadar air dalam sampel agar sampel terhindar dari perkembangbiakan mikroba. Proses pengeringan dilakukan dengan cara di angin-anginkan pada suhu ruang agar senyawa aktif yang terkandung dalam sampel tidak rusak. Penyerbukan dilakukan untuk menyamakan ukuran sampel yaitu dengan ukuran 60 mesh.

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air yang dilakukan pada sampel kering bertujuan untuk mengetahui kualitas sampel yang digunakan atas kandungan air yang terkandung. Air merupakan media tumbuh dan berkembangnya jamur. Persyaratan kadar air suatu sampel menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 10% (Febriani, dkk, 2015). Selisih berat sampel sebelum dan sesudah proses pengeringan menunjukkan banyaknya air yang telah menguap. Dari hasil ini diketahui kadar air dari sampel daun bidara arab sebesar 3,7524% (b/b). Sehingga dapat diketahui bahwa sampel cukup aman dari kontaminasi jamur selama proses penyimpanan.

4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

4.3.1 Ekstraksi Maserasi

Proses pemisahan dalam perendaman terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel, cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang pekat didesak ke luar. Peristiwa ini terjadi berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Dwitiyanti, 2015).

Hasil maserasi disaring menggunakan corong *buchner* untuk memisahkan filtrat dari endapan/residunya, kemudian filtratnya dipekatkan dengan *rotary evaporator vacum* dengan suhu 60°C. Suhu yang digunakan 60°C karena menyesuaikan dengan titik didih pelarutnya dan prinsip *rotary evaporator vacum*. Pelarut yang digunakan yaitu etanol memiliki titik didih 70°C sedangkan prinsip *rotary evaporator vacum* yaitu proses pemisahan ekstrak dari cairan pelarutnya dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu, cairan pelarut dapat menguap 5-10°C di bawah titik didih pelarutnya disebabkan oleh karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, pelarut akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu penampung. Prinsip ini membuat pelarut dapat dipisahkan dari zat terlarut di dalamnya tanpa pemanasan yang tinggi (Rachman, 2009).

Ekstrak pekat yang diperoleh berwarna hijau pekat dengan berat 14,19 gram dan hasil rendemen sebesar 14,19 %. Ekstrak pekat etanol yang diperoleh

kemudian diambil sebanyak 8 gram untuk ekstraksi cair-cair dengan n-heksan dan kloroform, masing-masing menggunakan ekstrak pekat sebanyak 4 gram.

4.3.2 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstrak pekat yang diperoleh diduga memiliki berbagai kandungan senyawa dengan kepolaran yang berbeda. Ekstraksi cair-cair ini berfungsi untuk melarutkan senyawa-senyawa yang masih terikat pada sampel dengan kepolaran yang berbeda. Oleh karena itu, pada ekstraksi cair-cair ini digunakan 2 pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda juga, yaitu kloroform dan n-heksan. Penggunaan kloroform untuk mendapatkan senyawa yang bersifat semipolar, sedangkan pelarut n-heksan untuk mendapatkan senyawa non-polar yang terkandung dalam daun bidara arab.

Pada proses ekstraksi cair-cair ini terbentuk 2 lapisan, dimana massa jenis yang lebih besar akan berada di lapisan bawah. Kloroform sendiri memiliki massa jenis sebesar 1,49 g/mL dan massa jenis n-heksan sebesar 0,695 g/mL sedangkan etanol memiliki massa jenis sebesar 0,7893 g/mL. Sehingga hasil ekstraksi cair-cair dari pelarut kloroform fase organikanya berada di lapisan bawah sedangkan pada hasil n-heksan fase organikanya berada di lapisan atas. Filtrat yang diperoleh dari kedua pelarut ini kemudian masing-masing dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*. Fraksi kloroform diperoleh sebesar 0,82 gram dengan rendemen sebesar 20,5% dan untuk fraksi n-heksan sebesar 0,71 gram dengan rendemen sebesar 17,75%.

4.4 Uji Fitokimia Senyawa dengan Reagen

Uji fitokimia ini merupakan salah satu uji kualitatif yang berguna untuk mengidentifikasi kandungan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Uji reagen dilakukan pada ekstrak etanol 96%, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksan. Hasil dari identifikasi kandungan golongan senyawa metabolit sekunder ditunjukkan pada tabel 4.1.

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kusriani (2015), yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun bidara arab di Nusa Tenggara Barat mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid sedangkan fraksi kloroform dan fraksi n-heksana mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid.

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia pada Daun Bidara Arab

Senyawa aktif	Etanol 96%	Fraksi Kloroform	Fraksi n-Heksana
Alkaloid			
- Dragendorff	+	+	+
- Mayer	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Saponin	-	-	-
Triterpenoid	+	+	+
Tanin	-	-	-

Keterangan

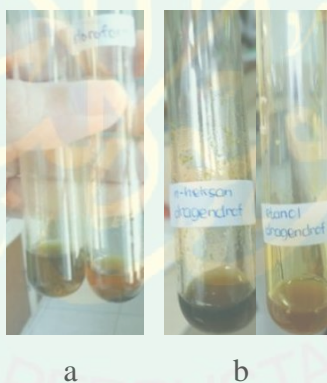
- :
 + = Mengandung senyawa (terjadi perubahan warna)
 - = Tidak terkandung senyawa

4.4.1 Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen Mayer dan Dragendorff. Hasil uji positif dengan reagen Mayer adalah terbentuknya endapan

berwarna putih, sedangkan dengan reagen Dragendorf terbentuk endapan berwarna orange. Sebelum penambahan reagen, sampel ditambahkan dengan HCl karena alkaloid bersifat basa sehingga perlu untuk diekstrak menggunakan pelarut asam (Harbone, 1996).

Hasil positif uji alkaloid dengan reagen Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Pengujian alkaloid ini terjadi reaksi pengendapan karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion iod dalam pereaksi Mayer. Hal ini mengakibatkan terbentuknya endapan putih kekuningan karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks mercury-alkaloid yang mengendap (Dewi, dkk., 2013). Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Gambar 4.1.



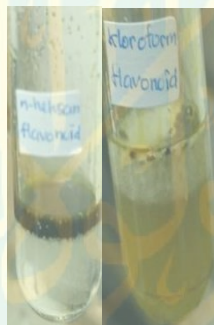
Gambar 4.1 Hasil Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid (a) Mayer dan (b) Dragendorf

Hasil positif uji alkaloid dengan reagen Dragendorf berwarna orange karena reaksi senyawa alkaloid dengan reagen Dragendorf menghasilkan tetraiodobismutat. Tetraiodobismutat terbentuk karena alkaloid mampu bergabung dengan logam bismuth (Sastrohamidjojo, 1996). Dugaan reaksi uji alkaloid

dengan reagen Mayer dan Dragendorf ditunjukkan pada Gambar 2.3 dan 2.6 (Marliana, dkk., 2005).

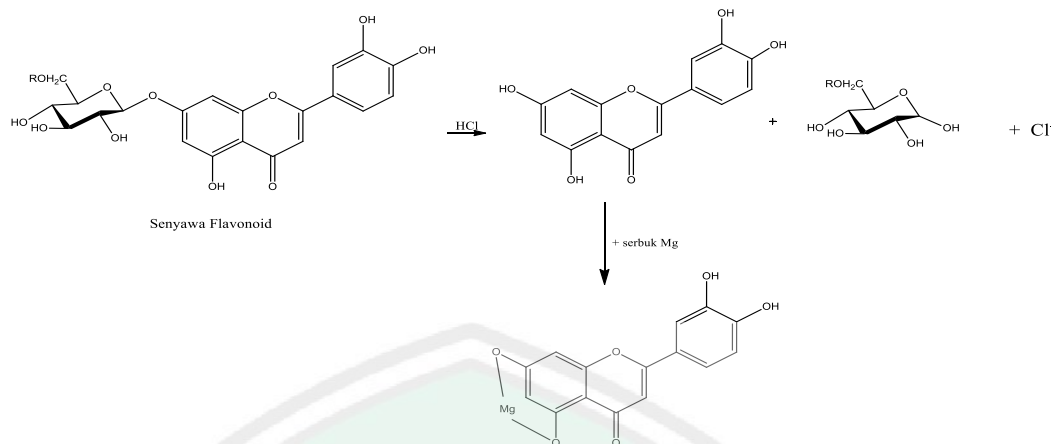
4.4.2 Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksan dengan metanol panas kemudian HCl pekat dan logam Mg. Penambahan metanol panas untuk memaksimalkan kelarutan flavonoid, sedangkan penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Flavonoid yang tereduksi dengan HCl dan Mg dapat memberikan warna merah, kuning atau jingga (Baud, 2014). Hasil uji fitokimia senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil Uji fitokimia Senyawa Flavonoid

Hasil uji flavonoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana dengan terbentuknya warna jingga pada larutan sampel. Berikut ini dugaan reaksi yang terjadi pada uji flavonoid (Hidayat, 2004 dalam Sriwahyuni, 2010) :



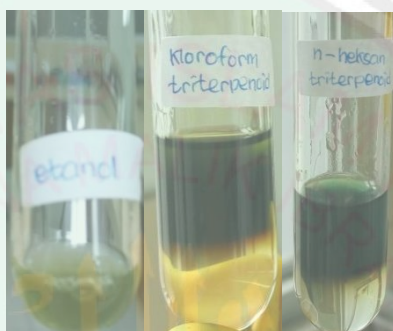
Gambar 4.3 Dugaan reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Hidayat,2004 dalam Sriwahyuni, 2010)

4.4.3 Triterpenoid

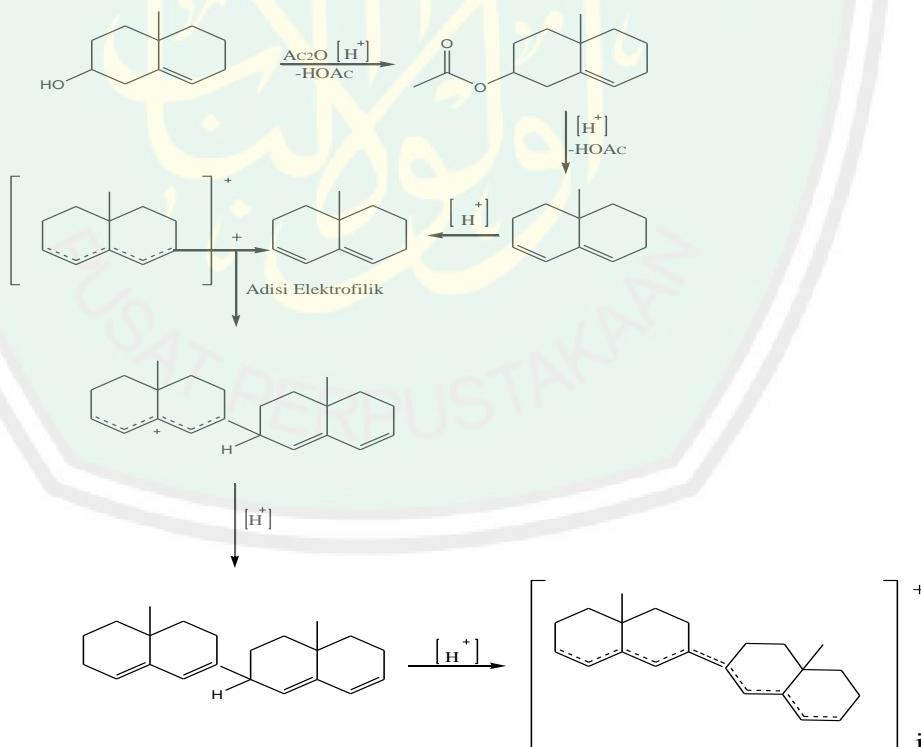
Uji triterpenoid dilakukan dengan menambahkan larutan kloroform, asam anhidrat, dan ditetesi dengan asam sulfat pekat melalui dinding tabungnya. Hasil positif dari uji triterpenoid yaitu terbentuknya cincin coklat pada batas larutan dan perubahan warna hijau kebiruan untuk uji steroid ketika penambahan asam sulfat pekat (Robinson, 1995). Perubahan warna ini terjadi akibat terjadinya oksidasi pada golongan senyawa triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip reaksi dalam mekanisme reaksi uji triterpenoid yaitu adanya kondensasi atau pelepasan H₂O dan penggabungan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti dengan pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas akibatnya senyawa

mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin coklat dan warna hijau kebiruan (Siadi, 2012). Hasil uji fitokimia senyawa triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 4.6.

Ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi n-heksan menunjukkan hasil positif pada uji triterpenoid, hal ini kemungkinan jenis triterpenoid yang larut dalam ketiga sampel berbeda.



Gambar 4.4 Hasil Uji fitokimia Senyawa Triterpenoid



Gambar 4.5 Dugaan reaksi senyawa triterpenoid dengan reagen Liebermann Burchard (Siadi, 2012)

Karena pada pelarut yang digunakan dalam penelitian ini memiliki sifat kepolaran yang berbeda, maka jenis senyawa triterpenoid yang terekstrak juga berbeda. Dugaan reaksi yang terjadi pada uji triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 4.5.

4.5 Uji KLT Analitik

KLT merupakan salah satu metode pemisahan suatu senyawa yang berdasarkan pada perbedaan dua distribusi fasa yaitu fasa diam (plat) dan fasa gerak (eluen). KLT dilakukan untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari skrining fitokimia yang menunjukkan positif adanya golongan-golongan senyawa. Spot yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987). Penentuan eluen terbaik ini dilakukan menggunakan KLT analitik dengan variasi eluen pada hasil uji fitokimia yang menandakan positif saja. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang menandakan positif dilanjutkan dengan KLT analitik yaitu alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.

Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan pereaksi penyemprot atau indikator berfluoresensi untuk membantu penampakan bercak berpendar (memancarkan cahaya) pada lapisan yang telah terelusi. Indikator fluoresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar yang berpanjang gelombang seperti sinar UV. Beberapa senyawa organik bersinar dan berfluoresensi pada 254 nm dan 366 nm yang dapat tampak dengan mudah (Gritter, 1991).

Penampakan warna pada panjang gelombang tersebut tersebut disebabkan adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi

cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali berbarengan dengan melepaskan energi (Sudjadi, 1988).

Saat penyinaran lampu UV, diperoleh beberapa noda dengan beberapa nilai R_f yang berbeda. Secara teoritis, komponen suatu senyawa akan terdistribusi dalam 2 fase yang berbeda dalam kesetimbangan dinamis. Komponen senyawa masing-masing akan terpisah. Hal ini dikarenakan setiap senyawa memiliki kemampuan yang berbeda terhadap fase diam dan fase geraknya, sehingga menyebabkan komponen tersebut terpisah. Tingkat kemampuan pemisahan suatu komponen senyawa terhadap fase diam dan fase gerak dapat diketahui berdasarkan nilai Koefisien Distribusi ($KD = C_s/C_m$) yang dipengaruhi oleh tingkat kepolaran fase diam, fase gerak, dan kecepatan air.

Eluen dipilih sebagai eluen terbaik karena memiliki nilai R_f dan resolusi yang baik dari pada yang lain. Selain itu, hasil pemisahan terbaik dilihat dari banyaknya noda yang terpisah, bentuk noda yang bulat, tidak berekor, pemisahan nodanya jelas dan warna yang menunjukkan senyawa positif. Hal ini sesuai dengan literatur bahwa pemisahan yang bagus yaitu yang menghasilkan senyawa banyak, noda tidak berekor, dan pemisahan nodanya jelas (Markham, 1998). Noda dengan nilai R_f yang rendah bersifat lebih polar dibandingkan dengan nilai R_f yang tinggi sehingga senyawa yang memiliki nilai R_f rendah maka koefisien distribusinya semakin besar karena senyawa tertahan kuat pada fase diamnya (polar) dibandingkan fase geraknya (non polar). Demikian diasumsikan $C_{stationer} > C_{mobile}$, begitupun sebaliknya. Pemilihan resolusi terbaik didasarkan pada besarnya hasil resolusi yaitu lebih dari 1,25 (bab 2, hal. 17).

Pemisahan ekstrak Daun Bidara dengan KLT ini digunakan beberapa eluen terbaik dari penelitian sebelumnya yang digunakan dalam pemisahan senyawa alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.

4.5.1 Alkaloid

Pemisahan senyawa alkaloid pada ekstrak Daun Bidara Arab menggunakan beberapa eluen yaitu a). metanol : amoniak (200:3), b). etil asetat : metanol : air (6:4:2) dan c). n-heksana : etil asetat : etanol (30:2:1). Noda-noda yang dihasilkan kemudian dideteksi dengan pereaksi atau pengamatan di bawah lampu UV, untuk eluen a dideteksi dengan penyemprotan pereaksi Dragendorf. Selanjutnya untuk eluen b dan c menggunakan pendeteksi lampu UV 366 nm. Hasil pemisahan KLTA senyawa alkaloid ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 4.2 didapatkan hasil pemisahan yang terbentuk dari masing-masing eluen dan ekstrak. Eluen terbaik yang didapatkan yaitu eluen c pada ekstrak etanol. Nilai Rf yang dihasilkan menunjukkan sangat rendah maka dapat diasumsikan bahwa senyawa tersebut lebih terdistribusi pada fase diamnya sehingga senyawa tersebut lebih cenderung polar. Noda yang dihasilkan berbentuk bulat dan bentuk pemisahannya jelas. Adapun warnanya menunjukkan positif (alkaloid) setelah dideteksi di bawah lampu UV 366 nm berwarna, jingga, ungu kebiruan dan coklat. Abraham, (2014) mengatakan bahwa warna noda yang muncul pada pengamatan UV dengan panjang gelombang 366 nm ialah jingga, ungu kebiruan dan coklat. Nilai resolusi menunjukkan lebih dari 1,25 maka diasumsikan dapat memisahkan senyawa analit dengan baik.

Tabel 4.2 Hasil Pemisahan KLTA Senyawa Alkaloid

Eluen	Ekstrak	Rf	Resolusi	Warna noda	Keterangan	
Metanol:amoniak (200:3) (Dragendorf)	Etanol	0,61	0,71	putih	-	
		0,67		cokelat	-	
		0,67	hijau kehitaman	-		
	Fraksi kloroform	0,67	0,99	cokelat	-	
		0,8		hijau kehitaman	-	
		Fraksi n-heksana	0,56	0,73	cokelat	-
0,71	1,08		cokelat	-		
0,82	hijau kehitaman		-			
Etil asetat: metanol:air (6:4:2) (UV 366nm)	Etanol	0,51	0,23	cokelat	Alkaloid	
		0,7		cokelat	Alkaloid	
		0,89	0,31	merah muda	-	
	Fraksi kloroform	0,92	0,71	1,41	hijau kehitaman	-
		0,89		cokelat	Alkaloid	
		0,94	hijau kehitaman	-		
	Fraksi n-heksana	0,76	1,51	cokelat	Alkaloid	
		0,95		hijau kehitaman	-	
	N-heksana: etil asetat:etanol (30:2:1) (UV 366nm)	Etanol	0,21	1,41	jingga	Alkaloid
0,25			jingga		Alkaloid	
0,28			1,27		cokelat	Alkaloid
0,31			1,41		biru	Alkaloid
0,4			0,43		merah muda	-
0,50					jingga	Alkaloid
Fraksi kloroform	0,74	7,78	jingga	Alkaloid		

Eluen	Ekstrak	Rf	Resolusi	Warna noda	Keterangan
		0,75		merah muda	-
		0,45	0,12	cokelat	Alkaloid
	Fraksi n-heksana	0,84		kuning	-

Keterangan : Huruf tebal = eluen terbaik

4.5.2 Flavonoid

Pemisahan senyawa flavonoid pada ekstrak daun Bidara Arab menggunakan beberapa eluen yaitu a). n-butanol : asam asetat : air (4:1:5), b). etil asetat : air : asam format (18:1:1), dan c). toluen : etil asetat (6:4). Noda-noda yang dihasilkan kemudian dideteksi, eluen a dideteksi dengan dengan lampu UV 366 nm. Eluen b dan c dengan pereaksi FeCl_3 . Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 4.3 didapatkan hasil pemisahan terbaik yaitu eluen a pada ekstrak etanol dan eluen c pada fraksi n-heksana. Eluen a mampu menghasilkan noda yang banyak karena bersifat polar sebanding dengan senyawa analit (flavonoid) juga bersifat polar. Sesuai dengan literatur bahwa flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air (Markham, 1988). Nilai Rf yang dihasilkan lebih cenderung terdistribusi pada fase diamnya, hal ini didukung dengan kepolaran sebanding antara eluen dengan senyawa analit Eluen c pada fraksi n-heksana didapatkan noda yang sedikit dari pada eluen/fraksi yang lainnya, namun karena memiliki nilai resolusi yang baik dan bentuk pemisahannya jelas maka cenderung dapat memisahkan senyawa dengan baik.

Nilai resolusi baik eluen a atau c hanya ada 1 yang lebih dari 1,25. Hal ini dimungkinkan adanya gangguan pada saat penjenuhan yang mengakibatkan naik atau turunnya nilai resolusi yang disebabkan nilai Rf, sebagaimana dikatakan bahwa naik/turunnya nilai Rf karena naiknya suhu udara sehingga penjenuhan fase gerak lebih cepat terjadi (Fatahillah, 2016). Warna noda yang dihasilkan pada eluen a dideteksi dengan lampu UV 366 nm menunjukkan positif. Hasil positif adanya senyawa flavonoid menurut Wagner dan Bladt (2001) yang menyebutkan bahwa flavonoid dapat berfluoresensi dan memberikan warna kuning, hijau, maupun biru. Adapun warna yang dihasilkan pada eluen c dengan penambahan FeCl₃ menunjukkan positif. Bercak yang muncul setelah disemprot dengan menggunakan FeCl₃ menunjukkan senyawa flavonoid dengan adanya warna hijau kehitaman (Wagner, 1996).

Tabel 4.3 Hasil Pemisahan KLTA Senyawa Flavonoid

Eluen	Ekstrak	Rf	Resolusi	Warna noda	Keterangan		
N-butanol: asam asetat:air (4:1:5) (UV 366 nm)	Etanol	0,32	0,60	Putih	-		
		0,45		Hijau	Flavonoid		
		0,56	0,51	Hijau	Flavonoid		
		0,62	0,78	Hijau	Flavonoid		
			0,50	Biru	Flavonoid		
		0,71	1,41	Biru	Flavonoid		
			0,74	1,53	Merah	-	
			0,77		Kuning	Flavonoid	
		Fraksi kloroform		0,36	1,27	Jingga	-
				0,42		Putih	-
0,5	1,53			Jingga	-		

Eluen	Ekstrak	Rf	Resolusi	Warna noda	Keterangan
	Fraksi n-heksana	0,01		Hijau	Flavonoid
		0,08		Cokelat	-
			0,60		
		0,24		Cokelat	-
			0,15		
	Etanol	0,7		Biru	-
			0,15		
		0,9		Kuning	-
			1,88		
		0,94		Biru	-
		0,07		Cokelat	-
			0,61		
		0,21		Cokelat	-
			0,21		
		0,55		Biru	-
			0,71		
		0,62		Kuning	-
			0,71		
Etil asetat: air:asam format (18:1:1) (FeCl ₃)	Fraksi kloroform	0,7		Biru	-
			0,71		
		0,75		Biru	-
			0,82		
		0,79		Kuning	-
			0,47		
		0,86		Kuning	-
			1,77		
		0,91		Biru	-
			3,53		
		0,94		Merah	-
		0,05		Cokelat	-
			0,11		
		0,63		Biru	-
			0,13		
	Fraksi n-heksana	0,86		Kuning	-
			2,83		
		0,89		Biru	-
			4,24		
		0,91		Merah	-
Toluen: etil asetat (6:4)	Etanol	0,07		Cokelat	-
			0,22		
		0,49		Kuning	-
			0,42		

Eluen	Ekstrak	Rf	Resolusi	Warna noda	Keterangan	
(FeCl ₃)		0,55				
			0,24	Kuning	-	
			0,75			
				1,21	Kuning	-
			0,79			
				1,21	Biru	-
			0,84			
				0,71	Biru	-
			0,92			
				3,30	Hijau	Flavonoid
		0,94				
			1,07	Hijau	Flavonoid	
		0,96				
				Kuning	-	
		0,57				
			1,41	Kuning	-	
		0,7				
			1,26	Hijau	Flavonoid	
	Fraksi n-heksana	0,85				
			0,76	Hijau	Flavonoid	
		0,94				
				Kuning	-	
		0,06				
			0,13	Cokelat	-	
		0,49				
			0,78	Kuning	-	
		0,54				
			0,34	Kuning	-	
	Fraksi kloroform	0,72				
			0,35	Kuning	-	
		0,79				
			0,64	Biru	-	
		0,91				
			1,59	Hijau	Flavonoid	
		0,96				
				Kuning	-	

Keterangan : Huruf tebal = eluen terbaik

4.5.3 Triterpenoid

Pemisahan triterpenoid pada ekstrak halus Daun Bidara Arab menggunakan beberapa eluen yaitu a). kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5), b). etanol : kloroform (9:2) dan b). n-heksana : etil asetat (6:4). Noda-noda yang

dihasilkan kemudian dideteksi, untuk eluen a dan b dideteksi dengan disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard (LB). Eluen c dilakukan pengamatan di bawah lampu sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Hasil pemisahan KLTA senyawa triterpenoid ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Pemisahan KLTA Senyawa Triterpenoid

Eluen	Eksrak	Rf	Resolusi	Warna noda	Keterangan	
Etanol: kloroform (9:2) (UV 366 nm)	Etanol	0,56	0,41	Jingga	-	
		0,71		Jingga	-	
	Fraksi kloroform	0,39	0,24	Jingga	-	
		0,55		Jingga	-	
	Fraksi n-heksana	0,21	0,37	Jingga	-	
		0,61		Jingga	-	
	Etanol		0,11	0,56	Hijau kebiruan	Triterpenoid
			0,23	1,30	Hijau kebiruan	Triterpenoid
0,30			0,23	Hijau kebiruan	Triterpenoid	
Etanol		0,59	0,41	merah keunguan	-	
		0,73	1,30	merah keunguan	-	
		0,78	1,27	merah keunguan	-	
		0,83	-	merah keunguan	-	
Kloroform: etanol: etil asetat (9:3:5) (UV 366 nm)		Fraksi kloroform	0,06	1,41	Hijau kebiruan	Triterpenoid
			0,09	2,24	Hijau kebiruan	Triterpenoid
			0,12	0,14	Hijau kebiruan	Triterpenoid
	0,65			merah	-	
			1,13	keunguan	-	
			0,68	merah	-	
			1,41	keunguan	-	
	0,72	merah	-			
	0,71	keunguan	-			
	0,79	merah	-			
	0,25	keunguan	-			
	0,91	-	Hijau kebiruan	Triterpenoid		

Eluen	Eksrak	Rf	Resolusi	Warna noda	Keterangan
		0,69	0,35	merah keunguan	-
	Fraksi n-heksana	0,79	0,45	merah keunguan	-
		0,92	-	Hijau kebiruan	Tritepenoid
		0,04	0,56	merah	Tritepenoid
		0,07	0,71	merah	Tritepenoid
		0,09	0,046	merah	Tritepenoid
	Etanol	0,67	0,50	kuning	-
		0,76	1,70	kuning	-
		0,79	1,41	merah	Tritepenoid
		0,84	2,47	merah	Tritepenoid
		0,87	-	kuning	-
		0,06	0,33	merah	Tritepenoid
		0,14	0,10	merah	Tritepenoid
		0,52	1,41	kuning	-
		0,54	0,22	kuning	-
n-Heksana: etil asetat (6:4) (Lieberman- Burchard)	Fraksi kloroform	0,71	1,44	merah	Tritepenoid
		0,75	0,37	merah	Tritepenoid
		0,91	1,88	kuning	-
		0,95	1,88	merah	Tritepenoid
		0,99	-	kuning	-
		0,5	0,20	kuning	-
		0,61	0,40	merah	Tritepenoid
	Fraksi n-heksana	0,7	0,26	merah	Tritepenoid
		0,84	0,94	kuning	-
		0,87	0,85	merah	Tritepenoid
		0,94	-	kuning	-

Keterangan: huruf tebal = eluen terbaik

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 4.4 didapatkan hasil pemisahan yang baik yaitu eluen b pada ekstrak etanol dan eluen c pada fraksi kloroform. Eluen b mampu menghasilkan noda yang banyak karena sifat

kepolaran eluen tersebut sebanding dengan senyawa analit (triterpenoid) yaitu semipolar. Nilai Rf ada yang kecil dan ada yang lebih besar maka cenderung terdistribusi ke fase gerak maupun ke fase diamnya. Hal ini didukung dengan kepolaran sebanding antara eluen dengan senyawa analit.

Nilai resolusi baik eluen b ataupun c yang memiliki nilai lebih dari 1,25 pada senyawa positif hanya 2 noda. Hal ini dimungkinkan adanya gangguan pada saat penjuanan yang mengakibatkan naik atau turunnya nilai resolusi yang disebabkan nilai Rf, sebagaimana dikatakan bahwa naik/turunnya nilai Rf karena naiknya suhu udara sehingga penjuanan fase gerak lebih cepat terjadi (Fatahillah, 2016). Warna noda yang dihasilkan pada eluen b dideteksi dengan penambahan pereaksi LB menunjukkan positif. Pereaksi semprot LB dapat mendeteksi senyawa terpenoid dengan memberikan warna merah (Farnsworth, 1966). Adapun warna yang dihasilkan pada eluen c dengan pendeteksi lampu UV 336 nm menunjukkan positif positif. Reaksi positif triterpenoid ditunjukkan dengan adanya noda berwarna hijau biru (Kristanti dkk., 2008).

4.6 Uji Stabilitas Senyawa dengan Variasi Waktu

Stabilitas adalah kemampuan yang dimiliki oleh suatu senyawa, organisme, populasi, atau ekosistem untuk mempertahankan dirinya sendiri atau meredam sejumlah gangguan maupun tekanan dari luar. Al-Quran telah membuktikan bahwa stabilitas suatu peristiwa dapat terjadi pada waktu-waktu tertentu. Sebagaimana dalam QS.Yasin : 40.

لَا الشَّمْسُ يَنْبَغِي لَهَا أَنْ تُدْرِكَ الْقَمَرَ وَلَا اللَّيْلُ سَابِقُ النَّهَارِ وَكُلٌّ فِي فَلَكٍ يَسْبَحُونَ

“Tidaklah mungkin bagi matahari mendapatkan bulan, dan malam pun tidak dapat mendahului siang. Dan masing-masing beredar pada garis edarnya”

Ayat di atas menurut Tafsir Ibnu Katsir pada kalimat yang artinya “*dan masing-masing beredar pada garis edarnya*” dijelaskan bahwa segala sesuatu baik itu peristiwa atau fenomena tidak akan terjadi kecuali pada waktu yang telah ditentukan. Berdasarkan penjelasan tersebut menjadi bukti bahwa segala sesuatu itu tidak akan mencapai kondisi kestabilan kecuali dengan waktu yang tepat sebagaimana matahari tidak akan datang pada malam hari. Demikian pula senyawa analit pada plat akan memperoleh stabilitas pada waktu tertentu.

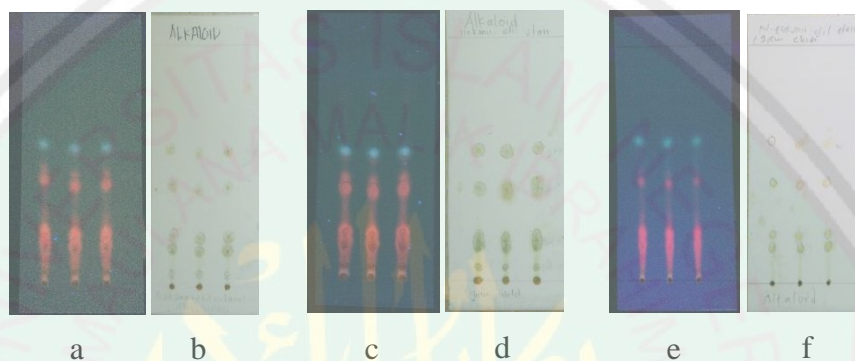
Hasil penentuan eluen terbaik dilakukan pengulangan dengan variasi 3 waktu. Hal ini untuk mengetahui stabilitas senyawa (analit) dalam pelat. Stabilitas suatu senyawa perlu diketahui agar senyawa analit yang diperoleh tidak dipengaruhi oleh gangguan lain baik itu suhu ataupun waktu pada perpindahan sistem kerja. Fatahillah (2016) mengatakan bahwa stabilitas analit sebelum dan selama proses kromatografi penting untuk diketahui karena sistem dalam kromatografi lapis tipis tidak saling terhubung (*offline*). Jumlah senyawa yang berkurang diasumsikan menguap karena eluen yang cukup volatil ataupun pengaruh dari lingkungan sehingga adanya gangguan pada plat tersebut dalam waktu tertentu, sebagaimana dikatakan oleh Reich dan Schibli (2006) dalam Fatahillah (2016) bahwa hal tersebut disebabkan adanya gangguan dari lingkungan yang dapat mempengaruhi sistem, misalnya udara, cahaya, uap, debu, dan perubahan suhu.

Hasil penentuan eluen terbaik pada alkaloid adalah eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) ekstrak etanol, untuk flavonoid adalah n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) ekstrak etanol dan eluen toluen : etil asetat (6:4) fraksi n-heksana

sedangkan untuk triterpenoid adalah eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) ekstrak etanol dan eluen eluen n-heksana : etil asetat (6:4) fraksi kloroform.

4.6.1 Uji Stabilitas Senyawa Alkaloid

Pemisahan senyawa alkaloid digunakan 1 eluen terbaik hasil KLTA, yaitu etil asetat : metanol : air (6:4:2) ekstrak etanol. Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Alkaloid Ekstrak Etanol dengan Eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2)

Keterangan :

- Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dengan UV 366 nm (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dengan UV 366 nm (dibiarkan 1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (dibiarkan 1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dengan UV 366 nm (dibiarkan 1 jam setelah elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (dibiarkan 1 jam setelah elusi)

Berdasarkan Gambar 4.6 dapat diketahui hasil uji stabilitas senyawa alkaloid dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2). Stabilitas senyawa dapat ditentukan dengan membandingkan jumlah bercak noda yang dihasilkan ketika dideteksi dengan UV dan disemprot dengan reagen. UV 366 nm sebagai lampu pendeteksi senyawa alkaloid, dengan perbandingan jumlah bercak noda yang dihasilkan antara lain: 5 noda (langsung), 4 noda (1 jam sebelum elusi) dan 3 noda (setelah elusi). Setelah disemprot dengan reagen Dragendorff bercak-bercak

tersebut mengalami perubahan warna untuk masing-masing waktu, yaitu: 5 noda (langsung), 4 noda (sebelum elusi) dan 4 noda (setelah elusi). Hal ini terjadi diasumsikan karena adanya penguapan yang disebabkan oleh eluen yang bersifat volatil dan senyawa analit yang bersifat nonpolar tidak tertahan oleh fase diamnya, sehingga pada saat proses didiamkan 1 jam baik sebelum elusi ataupun sesudahnya terjadi penguapan.

Tabel 4.5 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Alkaloid Ekstrak Etanol dengan Eluen etil aasetat : metanol : air (6:4:2)

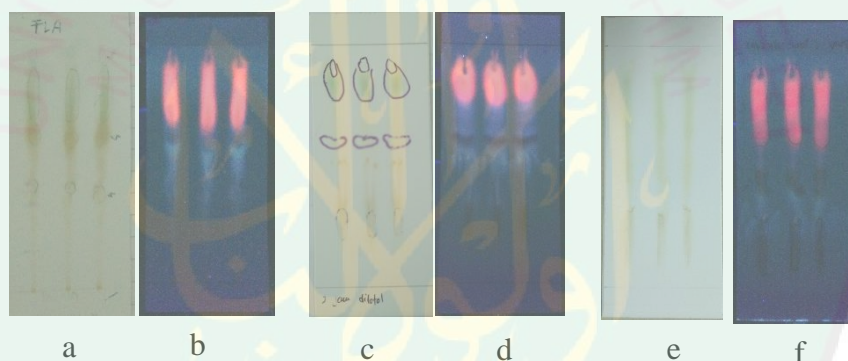
Spot	Rf								
	Langsung			1 jam sebelum elusi			1 jam setelah elusi		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,06	-	-	-
2	0,16	0,15	0,16	0,16	0,15	0,16	0,14	0,13	0,14
3	0,21	0,21	0,2	-	-	-	0,19	0,18	0,19
4	0,43	0,4	0,4	0,37	0,36	0,37	0,41	0,4	0,4
5	0,6	0,56	0,56	0,52	0,52	0,54	0,58	0,58	0,57
Rerata SD intraplat	0,017			0,007			0,006		
rerata SD interplat	0,016								

Berdasarkan hasil perhitungan (Tabel 4.5) noda-noda dengan nilai Rf yang rendah berarti senyawa tersebut cenderung polar karena senyawa yang terbentuk dalam bentuk noda lebih tertahan pada fase diamnya, selain itu senyawa alkaloid memiliki sifat polar sesuai dengan ungkapan Rogers, dkk., (1998) bahwa alkaloid pada umumnya larut dalam air. Simpangan baku menunjukkan bahwa selisih nilai dengan pengulangan tidak berbeda signifikan sehingga harga presisi intraplat $\leq 0,02$ dan presisi interplat $\leq 0,05$ memenuhi syarat keberterimaan, terdapat noda yang hilang tidak berpengaruh secara signifikan sehingga masih memenuhi syarat keberterimaan. Paparan tersebut dapat mendukung untuk diterimanya stabilitas, namun tidak memenuhi salah satu syarat hasil

keberterimaan stabilitas (bab 2. Hal. 17) yaitu jumlah noda yang dihasilkan sama baik yang dilakukan secara langsung, dibiarkan sebelum elusi ataupun setelah elusi 1 jam. Maka disimpulkan hasil uji stabilitas senyawa alkaloid ekstrak etanol dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) tidak stabil.

4.6.2 Uji Stabilitas Senyawa Flavonoid

Pemisahan senyawa flavonoid digunakan dua eluen terbaik hasil KLTA, yaitu n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) ekstrak etanol dan toluen : etil asetat (6:4) fraksi n-heksana. Hasil identifikasi stabilitas senyawa flavonoid ekstrak etanol dengan menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hasil Uji Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol dengan Eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

Keterangan :

- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid tanpa penyemprotan reagen (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan UV 366 nm (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid tanpa penyemprotan reagen (1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan UV 366 nm (1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid tanpa penyemprotan reagen (1 jam setelah elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan UV 366 nm (1jam setelah elusi)

Berdasarkan Gambar 4.7 dapat diketahui hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Stabilitas dapat ditentukan dengan membandingkan jumlah bercak noda ketika dideteksi dengan UV 366 nm. Perbandingan jumlah bercak noda antara lain adalah 4 noda (langsung); 4 noda (1 jam sebelum elusi) dan 5 noda (1 jam setelah elusi). Hal ini

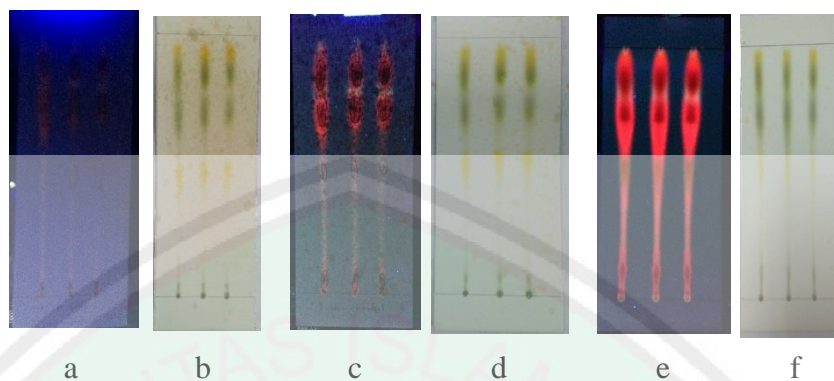
diasumsikan karena ketika dibiarkan 1 jam setelah elusi artinya dibiarkan setelah adanya interaksi antara sampel dengan eluen maka lebih maksimal untuk terbentuknya noda dari pada dengan cara langsung ataupun dibiarkan 1 jam sebelum elusi. Secara visual (Gambar 4.7) terbentuknya gelombang, hal tersebut terjadi karena kelembaban yang tidak seragam yang diakibatkan pada pergantian eluen sehingga noda yang muncul tidak terlihat sejajar.

Tabel 4.6 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol dengan Eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

spot	Rf								
	Langsung			1 jam sebelum elusi			1 jam setelah elusi		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	-	-	-	0,25	0,24	0,25	0,2	0,2	0,21
2	0,41	0,4	0,4	-	-	-	0,43	0,43	0,43
3	0,62	0,6	0,61	0,58	0,59	0,59	0,48	0,48	0,48
4	0,77	0,77	0,77	0,81	0,82	0,82	0,76	0,78	0,77
5	0,94	0,96	0,94	0,89	0,9	0,9	0,92	0,98	0,91
rerata SD intraplat	0,0065			0,006			0,011		
rerata SD interplat	0,028								

Berdasarkan hasil perhitungan (Tabel 4.6) nilai Rf yang muncul menunjukkan adanya Rf yang bermilai rendah dan tinggi, namun pada umumnya flavonoid bersifat polar. Simpangan baku menunjukkan bahwa presisi intraplat ($\leq 0,02$) dan presisi interplat ($\leq 0,05$) memenuhi syarat keberterimaan presisi, terdapat noda yang hilang tidak berpengaruh secara signifikan sehingga masih memenuhi syarat keberterimaan. Paparan tersebut karena terbentuk jumlah noda yang berbeda dan bergelombang maka dapat disimpulkan hasil uji kestabilan senyawa flavonoid ekstrak etanol dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) tidak stabil.

Hasil identifikasi stabilitas senyawa flavonoid fraksi n-heksana dengan eluen toluen:etil asetat (6:4) dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Flavonoid Fraksi n-Heksana dengan Eluen toluen : etil asetat (6:4)

Keterangan :

- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan UV 366 (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan penyemprotan reagen FeCl_3 (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan UV 366 (1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan penyemprotan reagen FeCl_3 (1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan UV (1 jam setelah elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan penyemprotan reagen FeCl_3 (1 jam setelah elusi)

Berdasarkan Gambar 4.8 dapat diketahui hasil uji stabilitas senyawa flavonoid dengan eluen toluen : etil asetat (6:4). Stabilitas senyawa dapat ditentukan dengan membandingkan jumlah bercak noda yang dihasilkan ketika dideteksi dengan UV dan disemprot dengan reagen. UV 366 nm sebagai lampu pendeteksi senyawa flavonoid, dengan perbandingan jumlah bercak noda yang dihasilkan adalah 5 noda yang sama antara perbedaan waktu (langsung, 1 jam sebelum elusi, dan 1 jam setelah elusi). Setelah disemprot dengan reagen FeCl_3 bercak noda mengalami perubahan dan jumlah noda dari ketiga perbedaan waktu itu tetap sama yaitu 5 noda. Secara visual (Gambar 4.8) tidak terbentuk gelombang antara noda satu dengan yang lainnya, hal ini disebabkan kelembaban

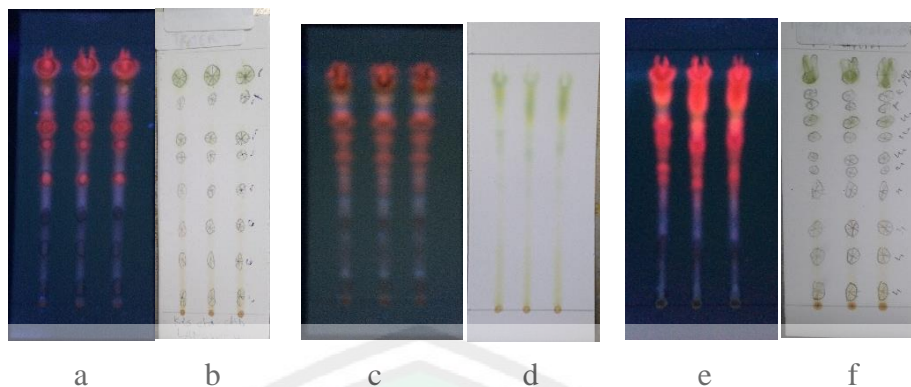
Berdasarkan hasil perhitungan (Tabel 4.7) noda-noda yang muncul dengan nilai R_f yang rendah dan tinggi yang mengindikasikan bahwa senyawa analit cenderung bersifat polar dan nonpolar namun nilainya lebih banyak diatas 0,4 maka diasumsikan lebih terdistribusi ke fase geraknya nonpolar, selain itu eluen yang memisahkannya juga bersifat nonpolar. Simpangan baku menunjukkan bahwa presisi intraplat $\leq 0,02$ dan presisi interplat $\leq 0,05$ memenuhi syarat keberterimaan, maka presisi interplat dapat diterima. Paparan tersebut disimpulkan hasil uji stabilitas senyawa flavonoid fraksi n-heksana dengan eluen toluen : etil asetat (6:4) didapatkan stabilitas yang baik.

Tabel 4.7 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Flavonoid Fraksi n-Heksana dengan Eluen toluen : etil asetat (6:4)

Spot	Rf								
	Langsung			1 jam sebelum elusi			1 jam setelah elusi		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0,02	0,03	0,03	0,05	0,06	0,05	0,09	0,09	0,1
2	0,46	0,47	0,47	0,48	0,49	0,5	0,49	0,5	0,5
3	0,7	0,71	0,71	0,72	0,72	0,73	0,69	0,69	0,69
4	0,85	0,85	0,87	0,86	0,86	0,86	0,86	0,87	0,87
5	0,97	0,93	0,94	0,93	0,92	0,91	0,95	0,96	0,95
rerata SD intraplat	0,0096			0,0064			0,0048		
rerata SD interplat	0,016								

4.6.3 Uji Stabilitas Senyawa Triterpenoid

Pemisahan senyawa triterpenoid digunakan dua eluen terbaik hasil KLTA, yaitu kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) ekstrak etanol dan n-heksana : etil asetat (6:4) fraksi kloroform. Hasil identifikasi senyawa triterpenoid dengan eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) ekstrak etanol ditunjukkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Triterpenoid Ekstrak Etanol dengan Eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5)

Keterangan :

- Hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan UV 366 nm (langsung)
- Hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan penyemprotan reagen LB (langsung)
- Hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan UV 366 nm (1 jam sebelum elusi)
- Hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan penyemprotan reagen LB (1 jam sebelum elusi)
- Hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan UV 366 nm (1 jam setelah elusi)
- Hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan penyemprotan reagen LB (1 jam setelah elusi)

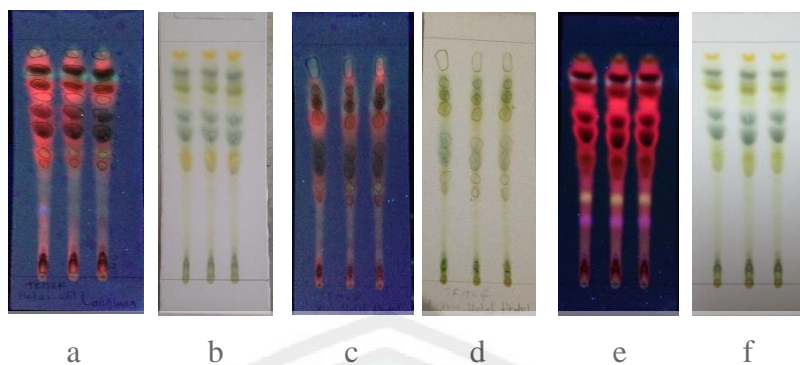
Berdasarkan Gambar 4.9 dapat diketahui hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) ekstrak etanol. Stabilitas senyawa dapat ditentukan dengan membandingkan jumlah bercak noda yang dihasilkan baik itu ketika dideteksi dengan lampu UV ataupun setelah disemprot dengan pereaksi. Lampu UV 366 nm sebagai lampu pendeteksi senyawa triterpenoid, sedangkan pereaksi digunakan untuk mendeteksi perubahan warna dengan pereaksi LB. Hasil deteksi baik dengan UV 366 nm dan setelah penyemprotan pereaksi LB dengan perbandingan jumlah noda bercak antara lain: 8 noda (langsung), 11 noda (1 jam sebelum elusi) dan 7 noda (1 jam setelah elusi). Hal ini menunjukkan bahwa dengan cara membiarkan pelat 1 jam sebelum dielusi lebih maksimal dari pada waktu yang lainnya maka, ketika dilakukan secara langsung diasumsikan bahwa senyawa yang terkandung belum terpisahkan secara maksimal dengan cara langsung dan dengan cara dibiarkan 1 jam setelah elusi

diasumsikan senyawa yang ada pada pelat telah menguap. Adapun eluen yang digunakan adalah campuran yang terdapat senyawa kloroform, sedangkan salah satu sifat dari kloroform adalah volatil sehingga senyawa analit terbawa oleh eluen yang menguap. Secara visual (Gambar 4.9) tidak terjadinya gelombang antara bercak satu dengan bercak lainnya. Berdasarkan hasil perhitungan (Tabel 4.8) menunjukkan bahwa harga presisi intraplat $\leq 0,02$ dan ($\leq 0,05$), maka presisi intraplat dan antarplat dapat diterima. Paparan tersebut karena ada noda yang hilang maka disimpulkan hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid ekstrak etanol dengan eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) tidak stabil.

Tabel 4.8 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Triterpenoid Ekstrak Etanol dengan Eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5)

spot	Rf								
	Langsung			1 jam sebelum elusi			1 jam setelah elusi		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0,06	0,06	0,07	0,06	0,06	0,06	-	-	-
2	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,2	0,25	0,25	0,26
3	0,33	0,34	0,35	0,31	0,32	0,32	-	-	-
4	0,42	0,48	0,49	0,46	0,47	0,46	0,42	0,41	0,4
5	-	-	-	0,54	0,54	0,55	-	-	-
6	0,61	0,62	0,62	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,58
7	0,67	0,68	0,68	0,67	0,67	0,67	0,66	0,67	0,65
8	-	-	-	0,74	0,73	0,74	0,72	0,71	0,7
9	-	-	-	0,8	0,79	0,79	-	-	-
10	0,81	0,82	0,82	0,84	0,83	0,84	0,82	0,81	0,82
11	0,91	0,92	0,91	0,92	0,92	0,91	0,9	0,9	0,9
rerata SD intraplat	0,009			0,004			0,007		
rerata SD interplat	0,01								

Hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) fraksi kloroform ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Triterpenoid Fraksi Kloroform dengan Eluen n-heksana : etil asetat (6:4)

Keterangan :

- Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid dengan UV 366 nm (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid dengan penyemprotan pereaksi LB (langsung)
- Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid dengan UV 366 nm (1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid dengan penyemprotan pereaksi LB (1 jam sebelum elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid dengan UV 366 nm (1 jam setelah elusi)
- Hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid dengan penyemprotan pereaksi LB (1 jam setelah elusi)

Berdasarkan Gambar 4.10 dapat diketahui hasil identifikasi stabilitas senyawa triterpenoid dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) fraksi kloroform. Stabilitas senyawa dapat ditentukan dengan membandingkan jumlah bercak noda yang dihasilkan baik itu ketika dideteksi dengan UV ataupun setelah disemprot dengan pereaksi. Lampu UV 366 nm sebagai pendeteksi senyawa triterpenoid, sedangkan pereaksi digunakan untuk mendeteksi perubahan warna dengan pereaksi LB. Hasil deteksi baik dengan UV 366 nm dan setelah penyemprotan pereaksi LB dengan perbandingan jumlah noda bercak antara lain: 10 noda (langsung), 10 noda (1 jam sebelum elusi) dan 9 noda (1 jam setelah elusi). Hal tersebut terdapat noda yang hilang pada waktu 1 jam setelah elusi, maka dapat diasumsikan senyawa analit terjadi penguapan, selain itu eluen yang digunakan terdapat etil asetat yang bersifat volatil sehingga dimungkinkan senyawa analit terbawa oleh etil asetat yang bersifat volatil. Secara visual (Gambar 4.10) terbentuk bercak bergelombang antara bercak satu dengan bercak lainnya.

Berdasarkan hasil perhitungan (Tabel 4.9) menunjukkan bahwa harga presisi intraplat $\leq 0,02$ dan presisi interplat $\leq 0,05$. Paparan tersebut walaupun nilai presisi intarplat dan interplat memenuhi syarat akan tetapi ada noda yang hilang dan bergelombang maka disimpulkan hasil uji stabilitas senyawa triterpenoid fraksi kloroform dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) tidak stabil.

Tabel 4.9 Hasil Uji Stabilitas Senyawa Triterpenoid Fraksi Kloroform dengan Eluen n-heksana : etil asetat (6:4)

Spot	Rf								
	Langsung			1 jam sebelum elusi			1 jam setelah elusi		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0,05	0,052	0,05	0,03	0,03	0,03	0,05	0,06	0,05
2	0,09	0,09	0,1	0,05	0,06	0,06	-	-	-
3	0,47	0,47	0,47	0,35	0,34	0,34	0,49	0,48	0,49
4	0,52	0,52	0,56	0,41	0,4	0,41	0,62	0,6	0,61
5	0,62	0,61	0,61	0,48	0,48	0,48	0,7	0,67	0,68
6	0,7	0,7	0,69	0,56	0,55	0,55	0,76	0,75	0,75
7	0,76	0,75	0,75	0,69	0,67	0,68	0,81	0,79	0,8
8	0,81	0,8	0,79	0,75	0,74	0,75	0,84	0,83	0,83
9	0,87	0,87	0,86	0,82	0,8	0,81	0,87	0,87	0,87
10	0,95	0,95	0,94	0,9	0,9	0,9	0,94	0,93	0,94
rerata SD intraplat	0,0067			0,005			0,007		
rerata SD interplat	0,052								

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil pemisahan dengan uji fitokimia pada ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-cristi. L*) dengan masing-masing ekstrak terdapat senyawa aktif metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.
2. Hasil uji KLTA didapatkan eluen terbaik. Eluen terbaik untuk senyawa alkaloid adalah eluen n-heksana : etil asetat : etanol (30:2:1) ekstrak etanol. Eluen terbaik untuk senyawa flavonoid adalah eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) ekstrak etanol dan toluen : etil asetat (6:4) fraksi n-heksana. Eluen terbaik untuk triterpenoid adalah eluen kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) ekstrak etanol dan n-heksana : etil asetat (6:4) fraksi kloroform.
3. Hasil uji stabilitas senyawa metabolit sekunder yang menunjukkan stabil adalah senyawa flavonoid dengan eluen toluen : etil asetat (6:4) fraksi n-heksana.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan kontrol suhu, kelembaban, dan kejenuhan bejana kromatografi agar keterulangan pola kromatogram KLT yang dihasilkan lebih baik.
2. Perlu dilakukan analisis lanjutan dengan uji aktivitas antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Abalaka ME, Daniyan SY, Mann A. 2010. *Evaluation of the antimicrobial activities of two Ziziphus species (Ziziphus mauritiana L. and Ziziphus spina-christi L.) on some microbial pathogens.* Afr J pharm pharmacol, 4(1): 135-9.
- Abalaka, M.E., Daniyan SY, Mann A. 2011. *Studies on InVitroAntioxidant and Free Radical Scavenging Potential and Phytochemical Screening of Leaves of Ziziphus mauritiana L. and Ziziphus spinachristiL. Compared with Ascorbic Acid.* J.Med.Gener.Genomics. Vol.3(2): 28-34.
- Abraham. 2007. *Penuntun Praktikum Kimia Organik II.* Kandari: Universitas Haluoleo.
- Abraham, Ali., Begum Fauziyah, Ghanaim Fasya dan Tri Kustono Adi. 2014. *Uji Antitoksoplasma Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulai (Alstonia scholaris, (L.) R. BR) terhadap Mencit (Mus musculus) BALB/C yang Terinfeksi Toxoplasma Gondii STRAIN RH.* ALCHEMY: vol. 3 No. 1.
- Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan.* Yogyakarta : Penerbit Andi. Halaman 10, 15-16.
- Adzu B, Amos S. 2001. Antinociceptive Activity of Ziziphus spina-christi.L Root Bark Extract. *Fitoterapia.*72(4) : 322-50.
- Adzu B, Haruna AK. 2007. Studied on the use of Ziziphus spina-christi against pain in rats and mice. *Afr. J. Biotechnol.*, 6(11), 1317-1324.
- Aguirre, M. C., Delporte. C., Backhouse, N., Erazo, S., Letelier, M. E., Cassels, B. K., Silva, X., Alegria, S., Negrete, R. (2006). *Topical Anti -Inflammatory Activity of 2 α -Hydroxy Pentacyclic Triterpen Acids from the Leaves o f Ugni molinae.* In Journal Bioorganic and Medicinal Chemistry Vol. 14. Pages 5673-5677.
- Akbar, H.R., 2010. *Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (Clinachantus nutans) Berpotensi sebagai Antioksidan.* Skripsi, Bogor :Departemen Kimia FMIPA IPB.
- Allan, Ali.E.A. 2012. *Ziziphus spina-christi "Christ's Thorn": In Vitro Callus and Cell Culture, Qualitative Analysis of Secondary Metabolites and Bioassay.* Palestine Polytechnic. University Deanship of Higher Studies and Scientific Research.
- Alfiyaturrohmah. 2013. *Uji aktivitas antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Kloroform dan n Heksana Alga Coklat (Sargassum vulgare staphilococcus aureus dan Eschericia coli).* Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Amilia, Rizki. 2013. *Fraksi Nonpolar Metanol Buah Sinyo Nakal (Duranta repens).* Skripsi, Bogor: Departemen Kimia FMIPA IPB.
- Anief, M. 2000. *Ilmu Meracik Obat Teori Dan Praktek. Cetakan ke- 9.* Yogyakarta: Gajah Mada University- Press, Halaman 32 – 80.
- Atenza, M., Ratnawati, D., Widiyati, E. (2009). *Uji Pendahuluan Penentuan Adanya Kandungan Senyawa Flavonoid dan Triterpenoid Pada Tanaman Sayuran Serta Bioassay Brine Shrimp Menggunakan Artemia Salina Leach.* Bengkulu : FMIPA Universitas Bengkulu. Halaman 1.

- AOAC, 2005. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Benjamin Franklin Station, Washington.
- Brantner AH, Males Z (1999). *Quality assessment of Paliurus spina-christi extracts*. *J Ethnopharmacol*, 66, 175-9.
- Brown, D. 1995. *Encyclopaedia of herbs and their uses*. London: dorling kindersley.
- Delporte, C., Backhouse, N., Inostroza, V., Aguirre, M. C., Peredo, N., Silva, X., Negrete, R., Miranda, H. F. (2007). *Analgesic Activity of Ugni molinae (Murtilla) in Mice Models of A cute Pain* . In *Journal Bioorganic and Medicinal Chemistry*. Pages 162-165.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia* . Edisi ketiga.
- Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia, Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 639.
- Ditjen POM. 1986. *Sediaan Galenik. Jilid II*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Halaman 19 – 22.
- Fatahillah, A.U., 2016. *Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Tanaman Pegagan (Centella asiatica)*. SKRIPSI. Bagor: ITB
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 419, 425.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., dan Swharting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Edisi Kedua. Bandung: ITB.
- Godini A, Kazem M, Naseri G, Badavi M (2009). *The effect of Zizyphus Spina-Christi leaf extract on the isolated rat aorta*. *J Pak Med Assoc*, 59, 537-9.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Bandung: ITB.
- Harinaldi, M.Eng, (2005), *Prinsip-Prinsip Statistik Untuk Teknik Dan Sains*, Penerbit Erlangga: Jakarta
- Hayati, E.K., A. Ghanaim Fasya dan Lailis Sa'adah. 2010. *Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (Averrho bilimbi L.)*. Malang: JURNAL KIMIA 4(2): 193-200. ISSN1907.9850
- Hayati, E.K. & Halimah, N., 2010, *Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against Artemia salina Leach of Anting-Anting (Acalypha indica Linn.)* Malang: Plant Extract, Alchemy, 1 (2), 80-81.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia, jil. 3*. Jakarta: Yay. Arana Wana Jaya.
- Him-Che Y. 1985. *Handbook of Chinese herbs and formulas*. Los Angeles, CA: Institute of Chinese Medicine.
- Indrayani, L., Hartati soedjipto, dan Lydia Sihasale (2006). *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Pecut Kuda (Stachytarpeha jamaicensis L.Vahl) Terhadap Larva Udang (Artemia salina Leach)*. Berk. Penel. Hayati: 12: 57-61.
- Iskandar, M.J. 2007. *Pengantar Kromatografi Edisi kedua*. Penerbit ITB: Bandung.

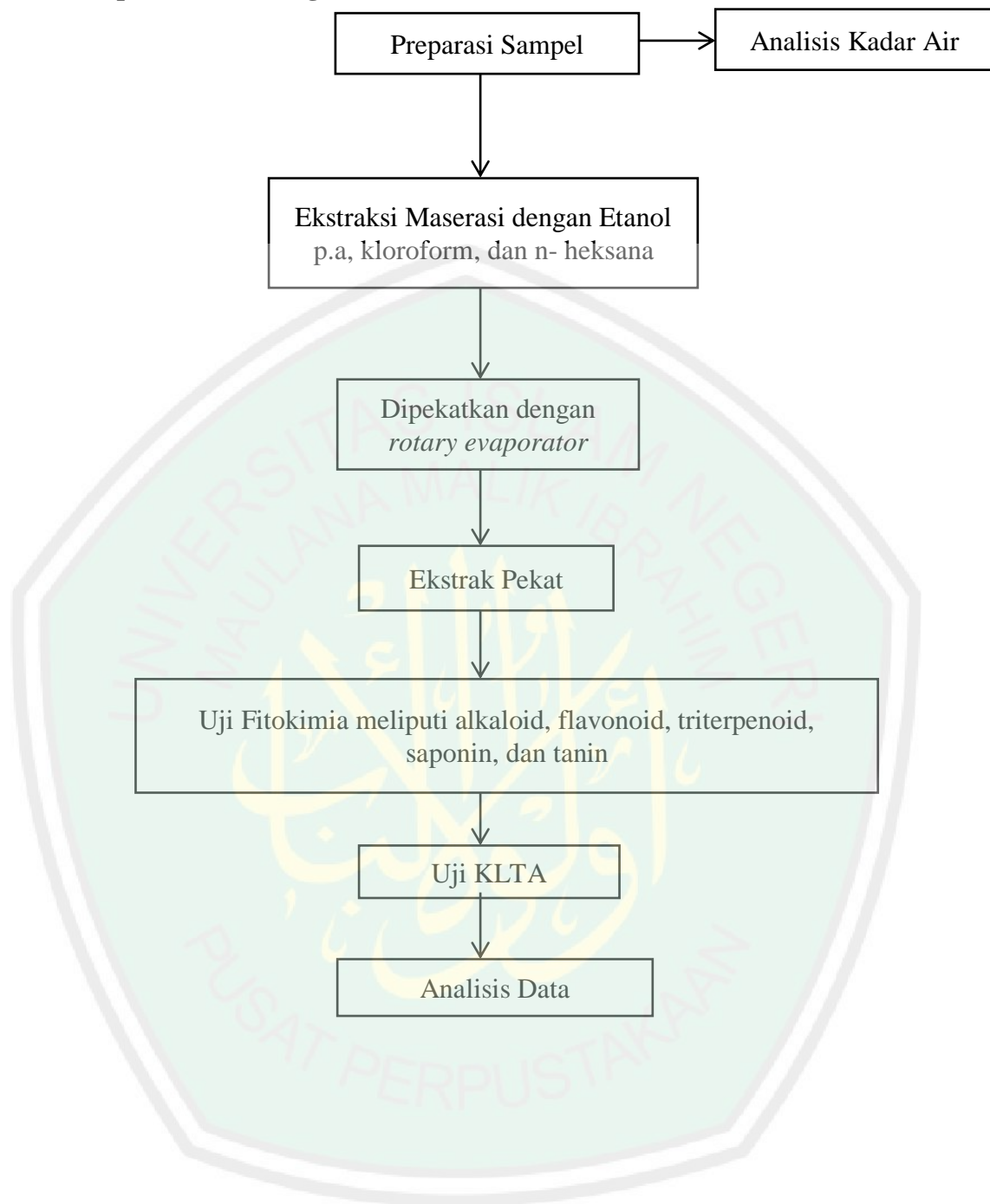
- Ismiyah, Fadhilatul. 2014. *Identifikasi Golongan Senyawa dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 95% Daun, Batang dan Akar Pulai (Astonia Scholaris (L.) R. Br) Terhadap Mencit BAB/C*. Malang: Alchemy, Vol. 3 No. 1
- Jafarian M, Etebarian A. 2013. *Reasons for extraction of permanent teeth in general dental practices in Teheran*. Iran. Med Princ Pract; 22: 1-5.
- Kantasubrata, J. 1993. *Warta Kimia Analitik Edisi Juli 1993*. Bogor : Pusat Peneliti Kimia LIPI.
- Khairunnisak. 2013. *Efektivitas Antimalaria dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol 80% Daun Bnga Matahari (Helianthus Annuus) pada Mencit Terinfeksi*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khozaimah, Sity. 2013. *Isolasi dan Identifikasi Alkaloid Akar Pulai (Alstonia scholaris L.S.Br) Menggunakan Variasi Pelarut dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kristanti, Alfinda Novi., dkk. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Koll K, Reich E, Blatter A, Veit M. 2003. *Validation of standardized high performance thin layer chromatographic methods for quality control and stability testing of herbals*. J AOAC Int. 86: 909-915
- Koirewoa, Y.A., Fatimawali, dan W. I. Wiyono. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalm Daun Beluntas*. Manado : Universitas Sam Ratulangi.
- Kusriani, R.H., As'ari Nawawi, Eko Machter 2015. *Penetapan Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Atioksidan Ekstrak Daun, Buah dan Biji Bidara (Ziziphus Spina-Christi L.)*. Bandung: pISSN 2477-2364, eISSN 2477-2356 | Vol 1, No.1.
- Lenny, S., 2006, *Senyawa Flavanoida, Fenilpropanida dan Alkaloida*, Karya Ilmiah Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Marliana, S.D., Venty Suryanti, dan Suyono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. Jurnal Biofarmasi. 3(1): 29.
- McMurry, J. and R.C. Fay. (2004). *McMurry Fay Chemistry. 4th edition*. Belmont, CA. : Pearson Education International.
- Meloan, C.E., 1999. *Chemical Separations: Principles, Techniques and Experiments*. New York : John Willey and Sons, Inc.
- Miroslav, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. New York: Planum Piblishing Corporation and SNTC Publishers of Literatur.
- Mufadal. 2015. *Isolasi Senyawa Alkaloid dari Alga Merah (Eucheuma cottoni) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Serta Analisa dengan Spektrofotometer UV- Vis dan FTIR*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Murtadlo, Yazid., Dewi Kusriani, dan Enny Fachriyah. 2013. *Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (Sonchus avensis Linn) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)*. Chem Info: vol 1, No 1.
- Nahar, L dan Sarker, S. D. 2009. *Kimia untuk Mahasiswa Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ningsih, DR., Zufahair, Dwi Kartika. 2016. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jenderal Soedirman. Molekul. Vol. 11. No. 1.
- Nurul, UQ. 2014. *Identifikasi Golongan Senyawa dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Daun Widuri (Clotropis Gigantea) Terhadap Berat Tumor Secara In Vivo pada Mencit (Mus Musculus)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nurulita, Yuana., Haryanto Dhanutirto, Andreanus A.S. 2008. *Penapisan Aktivitas dan Senyawa Antidiabetes Ekstrak Air Daun Dandang Gendis (Clinacanthus nutans)*. Jurnal Natur Indonesia: ISSN 1410-9379.
- Nyiredy S.Z. 2002. *Planar Chromatographic Method Development Using The Prisma Optimization System and Flow Charts*. Jurnal Chromatografi Scientific. 40:1–10.
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Simons A. 2009. *Agroforestry Database, a tree reference and selection guide version 4.0*.
- Plastina P, Bonofiglio D, Vizza D, et al. 2012. Identification of bioactive constituents of Ziziphus jujube fruit extracts exerting antiproliferative and apoptotic effects in human breast cancer cells. *J Ethnopharmacol*, 140: 325-338.
- Puzi. 2015. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav)*. Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba: Bandung.
- Rafi, M. 2003. *Identifikasi fisik dan senyawa kimia pada tumbuhan obat: focus pada tanaman obat untuk diabetes mellitus. Di dalam Pelatihan Tanaman Obat Tradisional (Swamedikasi): Pengobatan Penyakit Diabetes Mellitus*. 3-4 Mei 2003. Bogor: Pusat Studi Biofarmaka Lembaga Penelitian IPR.
- Rachmawari, Ririn. 2014. *Uji Aktifitas Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides (L) Presl) dan Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) Terhadap Bakteri Steptococcu Mutans*. Skripsi Tidak

Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.

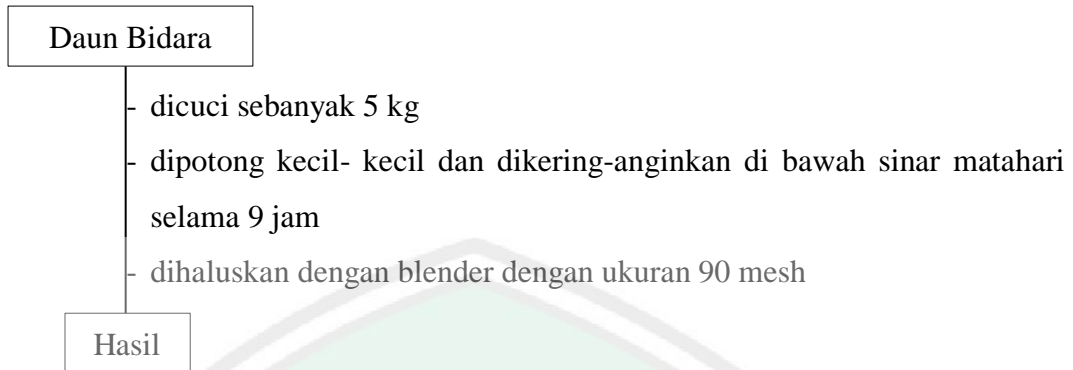
- Reich E, Schibli A. 2008. *Validation of high performance thin layer chromatographic methods for identification of botanicals in a cGMP environment.* J AOAC Int. 9: 13-20
- Reveny, Julia. 2011. *Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle Linn.).* Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara: Jurnal ILMU DASAR, Vol. 12 No. 1
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata.* Bandung: ITB Press.
- Rogers, M.F., Wink M. 1998. *Alkaloid: biokimia, ekologi, dan obat-obatan aplikasi.* Plenum Press. Plenum Press. pp. 2-3
- Rohman, Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rumondang, Meutia. Dewi Kusriani, Enny Fachriyah. 2013. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Antibakteri Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak n- Heksana Daun Tempayung (Sonchus arvensis L.).* Vol 1, No 1, Hal 156.
- Rustanti, Elly., Akyunul Jannah, A. Ghanaim Fasya. 2013. *Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Katekin Dari Daun Teh (Cameliasinensis L. varassamica) Terhadap Bakteri Micrococcus luteus.* Malang : Alchemy, Vol. 2 No. 2.
- Santos, A.F. B.Q. Guevera, A.M Mascardo and C.Q. Estrada. 1978. *Phytochemical, Microbiological and Pharmacological, Screening of Medical Plants.* Mannila: Research centre University of Santo Thomas.
- Sarker, S. D. dan Nahar, L. 2005. *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Kimia Organik, Alam Dan Umum.* Penerjemah: Abdul Rohman. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hal. 365-366.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2007. *Spektroskopi .* Yogyakarta: Liberty.
- Sienko, Plane and Marcus. 1984. "*Experimental Chemistry 6th Edition*". Mc Graw Hill Book Co, Singapore.
- Soebagio, 2002. *Kimia Analitik.* Makassar: Universitas Negeri Makassar Fakultas MIPA.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi.* diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 3-17, Bandung: ITB,
- Sukadana, I. M., dkk., 2008. *Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (Carica papaya L.).* Jurnal Kimia, 2 (1) : 15-18.

- Sumiati, Eti. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol Biji Bidara Laut (Strychnos ligustrina Bl) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 dan Salmonella thypi*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro, Edisi ke-5*. Jakarta: PT Kalman Media Pustaka.
- Towsand, A. 1995. *Encyclopedia Of Analytical Science*. Vol. 2. London: Academic Press Inc.
- Verma, R.K., dkk., 2011. *Alpinia Galanga – A Important Medicinal Plant: A Review*. *Der. Pharmacia Sinica*. Journal of Chemistry. 2:142-154.
- Wijesekera, R.O.B. 1991. *Plant-Derived Medicines and Their Role in Global Health in the Medicine Plant Industry*. Wijesekera Ed., C.R.C. Press, Inc. Florida.
- Wonorahadjo, Surjani. 2013. *Metode-Metode Pemisahan Kimia Sebuah Pengantar*. Jakarta: Akademia Permata.
- Yuliani, Maria., Bernardus B.R.S., Fransiskus S.P., 2015. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Limbah Padat Daun Serai Wangi (Cymbopogon nardus) Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus*. Yogyakarta: Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Zohary M. *Flora Palestina. II. Jerusalem: The Israel Academy of Science and Humanities*; 1972 pp. 307-308 cited in Amots Dafni. Shay Levy, and Efraim Lev. The ethnobotany of Christ's Thorn Jujube (*Ziziphus spinachristi* L.) in Israel, PMC 1277088, PMID 16270941.

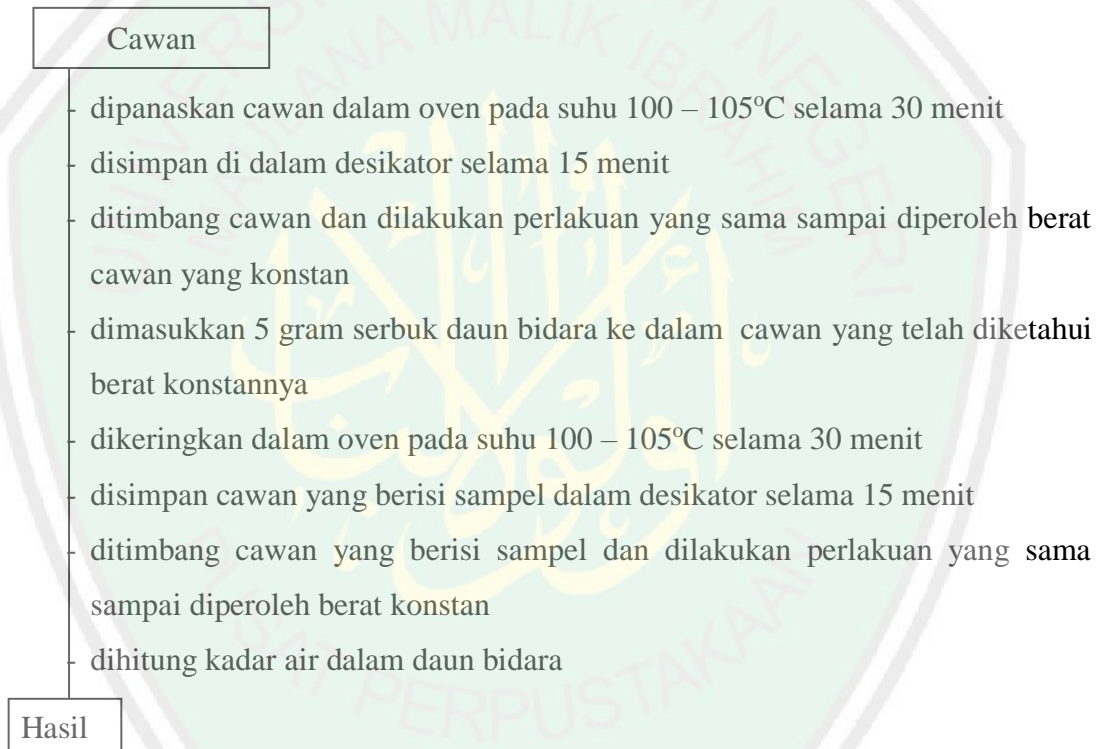
Lampiran 1. Rancangan Penelitian

Lampiran 2. Skema Kerja

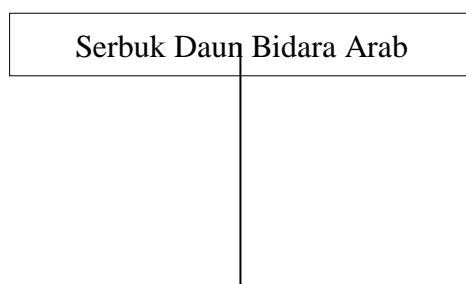
L.2.1 Preparasi Sampel



L.2.2 Analisis Kadar Air



L.2.3 Ekstraksi Komponen Aktif

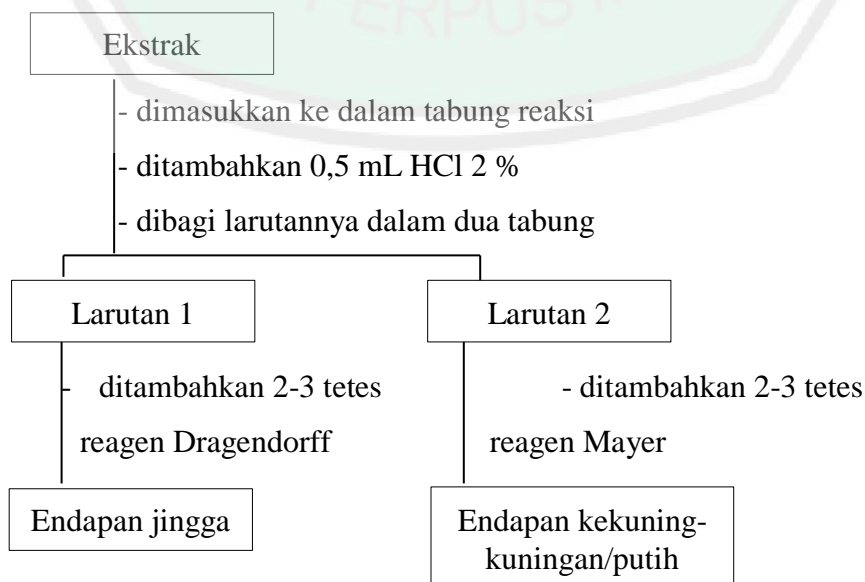


- ditimbang 100 gr dan dimasukkan ke dalam 2 erlenmeyer masing-masing 50 gr
- direndam dengan 500 mL pelarut etanol p.a tiap erlenmeyer selama 24 jam dan dishaker selama 3 jam
- disaring dan ampasnya direndam kembali dengan pelarut etanol p.a sebanyak 250 mL hingga 3 kali pengulangan
- digabung ketiga filtrat dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*

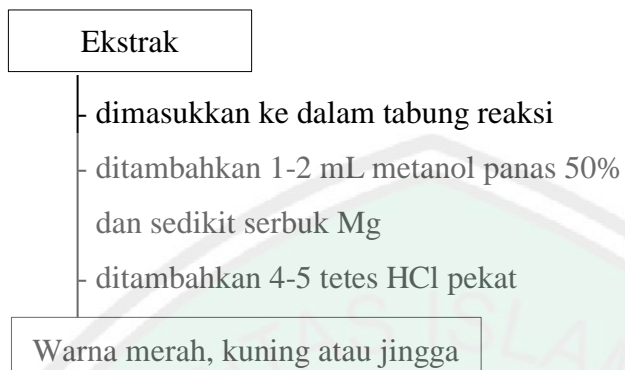


L.2.4 Uji Fitokimia

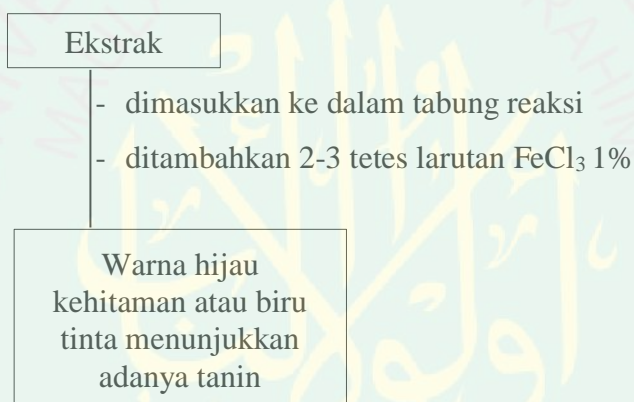
L.2.4.1 Identifikasi Alkaloid



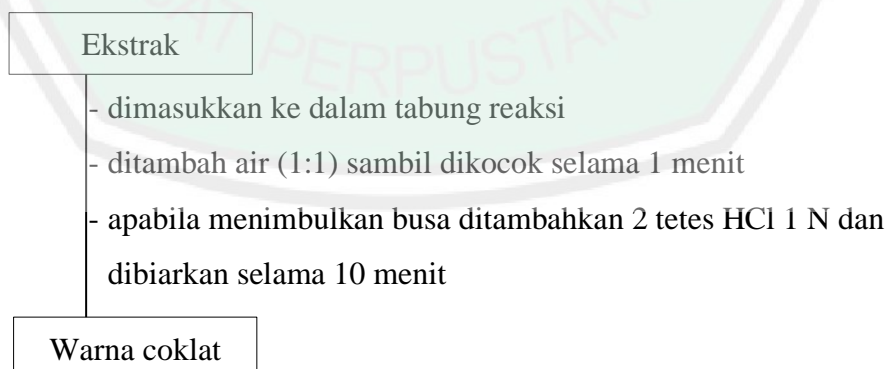
L.2.4.2 Identifikasi Flavonoid



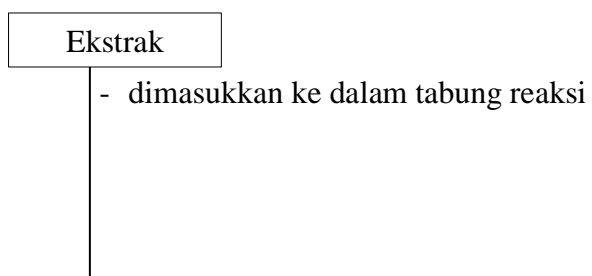
L.2.4.3 Identifikasi Tanin



L.2.4.4 Identifikasi Saponin



L.2.4.5 Identifikasi Triterpenoid dan Steroid

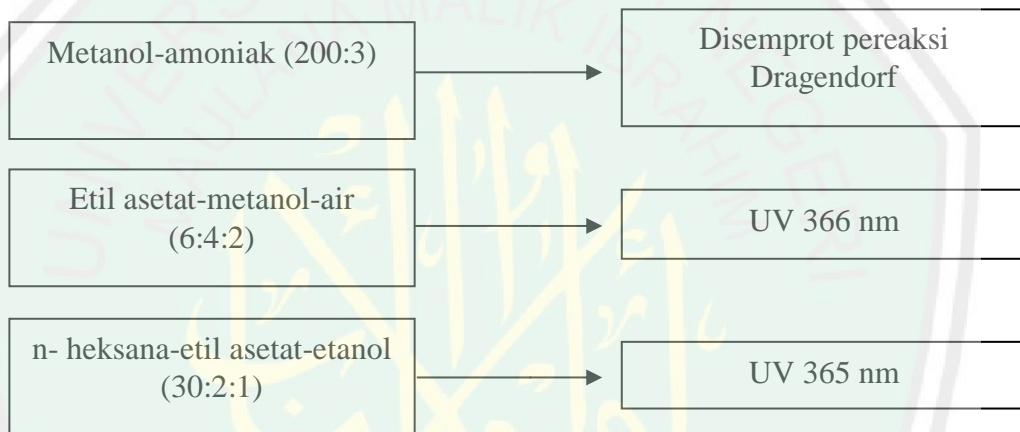


- dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform
- ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrida dan 1-2 tetes H₂SO₄ pekat

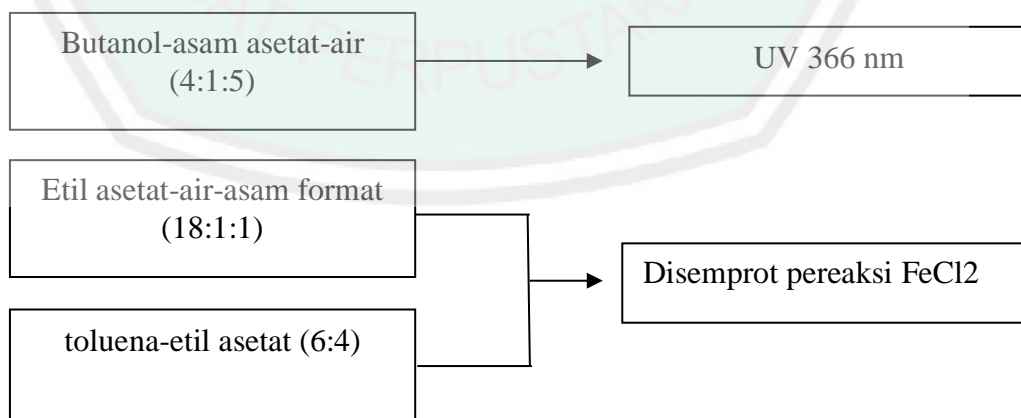


L.2.5 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLTA

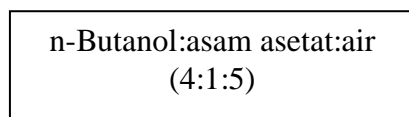
L.2.5.1 Golongan Senyawa Alkaloid

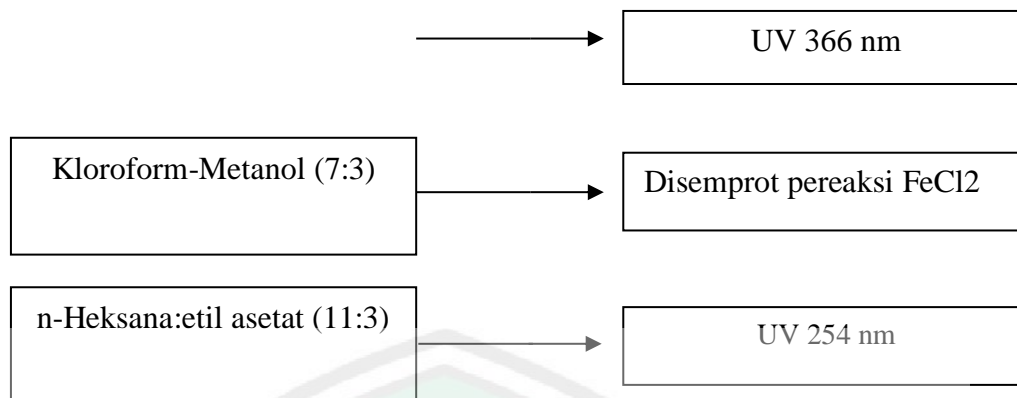


L.2.5.2 Golongan Senyawa Flavonoid

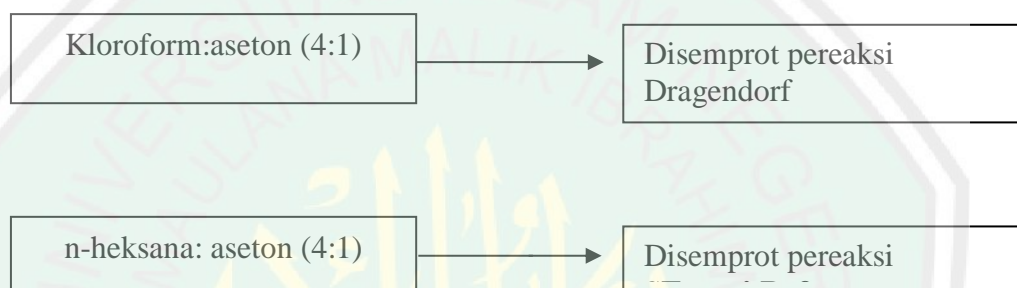


L.2.5.3 Golongan Senyawa Tanin

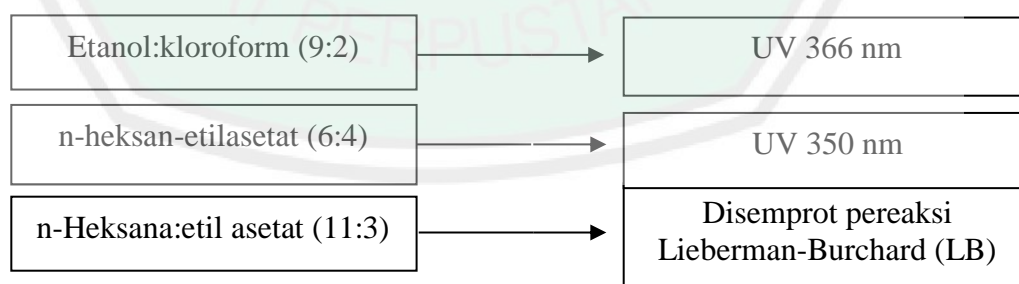




L.2.5.4 Golongan Senyawa Saponin



L.2.5.5 Golongan Senyawa Triterpenoid



L.3. Pembuatan Larutan

L.3.1 Larutan HCl 1 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

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

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

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

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

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

$$= \frac{37\% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$12,09 \text{ N} \cdot V_1 = 1 \text{ N} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,3 \text{ mL}$$

Prosedur pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 8,3 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.3.2 Pembuatan HCl 2 N

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$12,09 \text{ N} \cdot V_1 = 2 \text{ N} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 16,5 \text{ mL}$$

Prosedur pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 16,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang berisi 30 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.3 Pembuatan HCl 2%

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

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

Prosedur pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL yang berisi 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan Reagen Dragendorff

- 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 H_2O
- Larutan II. 6 gr KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 0,6 gr $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 6 gr KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, 2001).

L.3.5 Pembuatan Reagen Mayer

- Larutan I. 1,358 gr HgCl_2 dalam 60 mL H_2O
- Larutan II. 5 gr KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 1,358 gr HgCl_2 yang dilarutkan ke dalam 60 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 5 gr KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

L.3.6 Pembuatan reagen Liebermann-Burchard

- Asam sulfat pekat = 5 mL
- Asam asetat anhidrida = 5 mL
- Etanol absolut = 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat 5 mL dan asam asetat anhidrida 5 mL dicampur ke dalam etanol absolut 50 mL, kemudian didinginkan dalam lemari pendingin. penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 2001).

L.3.7 Pembuatan metanol 50%

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8% sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.8 Pembuatan FeCl₃

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{g \text{ terlarut}}{g \text{ terlarut} + g \text{ pelarut}} \times 100\%$$

$$g \text{ terlarut} + g \text{ pelarut} = \frac{g \text{ terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100\%$$

$$1 \text{ g} + g \text{ pelarut} = \frac{1 \text{ g}}{1 \%} \times 100\%$$

$$g \text{ pelarut} = \frac{g \text{ pelarut}}{BJ \text{ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk FeCl₃.6H₂O sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan 99 mL aquades.

L.3.9 Pembuatan Reagen FeCl₃ 1 %

$$BM \text{ FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa FeCl}_3 = \frac{1\% \times BM_{\text{FeCl}_3} \times V}{22,4}$$

$$= \frac{1\% \times 162,2 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,01 \text{ L}}{22,4} = 0,072 \text{ gr} = 72 \text{ mg}$$

Untuk membuat larutan FeCl₃ 1% adalah ditimbang sebanyak 72 mg serbuk FeCl₃ dengan neraca analitik, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL kemudian dilarutkan dengan \pm 3

mL aquades. Setelah larut, dipindahkan dalam labu ukur 10 mL dan ditandabatkan dengan aquades.

3.8 Pembuatan NH_3 10%

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$50 \% \times V_1 = 10 \% \times 10 \text{ mL}$$

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan NH_3 50% sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi \pm 5 mL aquades. Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.9 Pembuatan H_2SO_4 50%

$$\% \text{H}_2\text{SO}_4 = 98 \%$$

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$98 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5,1 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 98% sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Analisis Kadar Air

❖ Berat Cawan Kosong

Ulangan Perlakuan	Berat Cawan Kosong (g)
1	74,3861
2	74,3866
3	74,3873
4	74,3879
5	74,3885
6	74,3889
7	74,3888
Rata-Rata Berat Konstan	74,3887

❖ Berat Cawan + Sampel Sebelum Dikeringkan 79,3909 g

❖ Berat Cawan + Sampel Setelah Dikeringkan

Ulangan Perlakuan	Berat Cawan + Sampel (g)
1	79,1702
2	79,1718
3	79,1739
4	79,2019
5	79,2025
6	79,2032
Rata-Rata Berat Konstan	79,2025

❖ Perhitungan Kadar Air Sampel Kering Daun Bidara Arab

Rumus perhitungan kadar air, yaitu :

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

Keterangan :
 a = berat konstan cawan kosong
 b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{c - \text{berat konstan cawan} + \text{sampel setelah dikeringkan}}{(79,3909 - 79,2025)} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,1884}{5,0022} \times 100 \% \\
 &= 3,7663 \%
 \end{aligned}$$

L.4.2 Perhitungan Rendemen

1. Ekstrak pekat etanol

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{14,19}{100} \times 100 \% \\
 &= 14,19 \%
 \end{aligned}$$

2. Fraksi kloroform

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,82}{4} \times 100 \% \\
 &= 20,5 \%
 \end{aligned}$$

3. Fraksi n-heksan

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,71}{4} \times 100 \% \\
 &= 17,75 \%
 \end{aligned}$$

L.4.3 Pehitungan Rf KLTA

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

L.4.3.1 Alkaloid

➤ metanol : amoniak (200:3)

- Ekstrak alkaloid

$$\text{Rf noda 1} = \frac{4,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,61$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{5,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,67$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{5,75 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,72$$

- Fraksi kloroform

$$\text{Rf noda 1} = \frac{5,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,67$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8$$

- Fraksi n-heksana

$$\text{Rf noda 1} = \frac{4,45 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{5,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,71$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{6,55 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,82$$

➤ **etil asetat : metanol : air (6:4:2)**

- Ekstrak etanol

$$\text{Rf noda 1} = \frac{4,05 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,51$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{5,06 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,7$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92$$

- Fraksi kloroform

$$\text{Rf noda 1} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94$$

- Fraksi n-heksana

$$\text{Rf noda 1} = \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,76$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

➤ **n-heksana : etil asetat : etanol (30:2:1)**

- Ekstrak etanol

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21$$

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

$$\text{Rf noda 3} = \frac{2,25 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,31$$

- Fraksi kloroform
 - Rf noda 1 = $\frac{3,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,4$
 - Rf noda 2 = $\frac{4,02 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5$
 - Rf noda 3 = $\frac{5,95 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,74$
 - Rf noda 4 = $\frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75$

- Fraksi n-heksana
 - Rf noda 1 = $\frac{3,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,45$
 - Rf noda 2 = $\frac{6,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,84$

L.4.3.2 Flavonoid

➤ N-butanol:asam asetat:air (4:1:5)

- Ekstrak etanol
 - Rf noda 1 = $\frac{2,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,32$
 - Rf noda 2 = $\frac{3,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,45$
 - Rf noda 3 = $\frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$
 - Rf noda 4 = $\frac{4,95 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,62$
 - Rf noda 5 = $\frac{5,65 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,71$
 - Rf noda 6 = $\frac{5,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,74$
 - Rf noda 7 = $\frac{6,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,77$

- Fraksi kloroform
 - Rf noda 1 = $\frac{2,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,36$
 - Rf noda 1 = $\frac{3,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,42$
 - Rf noda 1 = $\frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5$

- Fraksi n-heksana
 - Rf noda 1 = $\frac{0,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,01$

➤ Etil asetat:air:asam format (18:1:1)

- Ekstrak etanol
 - Rf noda 1 = $\frac{0,65 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,08$
 - Rf noda 2 = $\frac{1,95 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,24$

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 3} &= \frac{5,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,7 \\ \text{Rf noda 4} &= \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \\ \text{Rf noda 5} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \end{aligned}$$

- Fraksi kloroform

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{0,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,07 & \text{Rf noda 6} &= \frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21 & \text{Rf noda 7} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 \\ \text{Rf noda 3} &= \frac{4,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55 & \text{Rf noda 8} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86 \\ \text{Rf noda 4} &= \frac{5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63 & \text{Rf noda 9} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf noda 5} &= \frac{5,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,7 & \text{Rf noda 10} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \end{aligned}$$

- Fraksi n-heksana

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{0,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,05 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{5,05 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63 \\ \text{Rf noda 3} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86 \\ \text{Rf noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 \\ \text{Rf noda 5} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \end{aligned}$$

➤ **Toluen:etil asetat (6:4)**

- Ekstrak etanol

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{0,55 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,07 & \text{Rf noda 6} &= \frac{6,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,84 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{3,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,48 & \text{Rf noda 7} &= \frac{7,35 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92 \\ \text{Rf noda 3} &= \frac{4,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55 & \text{Rf noda 8} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \\ \text{Rf noda 4} &= \frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75 & \text{Rf noda 9} &= \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96 \\ \text{Rf noda 5} &= \frac{6,35 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 \end{aligned}$$

- Fraksi kloroform

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{0,45 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,06 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{3,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5 \\ \text{Rf noda 3} &= \frac{4,35 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,54 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 4} &= \frac{5,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,72 \\ \text{Rf noda 5} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 \\ \text{Rf noda 6} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf noda 7} &= \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96 \end{aligned}$$

- Fraksi n-heksana

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{4,57 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{5,62 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf noda 3} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \end{aligned}$$

L.4.3.3 Triterpenoid

- Etanol : kloroform (9:2)

- Ekstrak etanol

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{5,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,71 \end{aligned}$$

- Fraksi koroform

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{0,31 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,39 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{0,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55 \end{aligned}$$

- Fraksi n-heksana

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{4,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,61 \end{aligned}$$

L.4.4 Perhitungan Resolusi KLTA

$$\text{Nilai reolusi (Rs)} = \frac{d}{(w_1+w_2)\sqrt{2}}$$

L.4.4.1 Resolusi Senyawa Alkaloid

- Metanol:amoniak (200:3)

- Ekstrak etanol

$$\begin{aligned} \text{Rs} &= \frac{0,5}{(0,5)\sqrt{2}} = 0,61 \\ \text{Rs} &= \frac{0,45}{(0,35)\sqrt{2}} = 0,67 \end{aligned}$$

- Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,4}{(1)\sqrt{2}} = 0,99$$

- Fraksi n-heksana

$$R_s = \frac{1,3}{(1,25)\sqrt{2}} = 0,73$$

$$R_s = \frac{1,3}{(0,85)\sqrt{2}} = 1,08$$

➤ **Etil asetat:metanol:air (6:4:2)**

- Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{0,5}{(1,55)\sqrt{2}} = 0,23$$

$$R_s = \frac{0,65}{(1,5)\sqrt{2}} = 0,31$$

$$R_s = \frac{0,6}{(0,3)\sqrt{2}} = 1,41$$

- Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,4}{(0,4)\sqrt{2}} = 0,71$$

- Fraksi n-heksana

$$R_s = \frac{3,2}{(1,5)\sqrt{2}} = 1,51$$

➤ **N-Heksana:etilasetat:etaol (30:2:1)**

- Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{0,6}{(0,3)\sqrt{2}} = 1,41$$

$$R_s = \frac{0,45}{(0,25)\sqrt{2}} = 1,27$$

$$R_s = \frac{0,5}{(0,25)\sqrt{2}} = 1,41$$

- Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,5}{(0,82)\sqrt{2}} = 0,43$$

$$R_s = \frac{0,5}{(1,95)\sqrt{2}} = 0,18$$

$$R_s = \frac{0,55}{(0,05)\sqrt{2}} = 7,78$$

- Fraksi n-heksana

$$R_s = \frac{0,55}{(3,1)\sqrt{2}} = 1,12$$

L.4.4.2 Resolusi Senyawa Flavonoid

➤ N-Butanol:asam asetat:air (4:1:5)

▪ Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{0,85}{(1)\sqrt{2}} = 0,6$$

$$R_s = \frac{0,65}{(0,9)\sqrt{2}} = 0,51$$

$$R_s = \frac{0,5}{(0,45)\sqrt{2}} = 0,78$$

$$R_s = \frac{0,5}{(0,7)\sqrt{2}} = 0,50$$

$$R_s = \frac{0,5}{(0,25)\sqrt{2}} = 1,41$$

$$R_s = \frac{0,65}{(0,3)\sqrt{2}} = 1,53$$

▪ Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,9}{(0,5)\sqrt{2}} = 1,27$$

$$R_s = \frac{1,3}{(0,6)\sqrt{2}} = 1,53$$

➤ Etil asetat:air:asam format (18:1:1)

▪ Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{1,1}{(1,3)\sqrt{2}} = 0,60$$

$$R_s = \frac{0,8}{(3,65)\sqrt{2}} = 0,15$$

$$R_s = \frac{0,35}{(1,6)\sqrt{2}} = 0,15$$

$$R_s = \frac{0,8}{(0,3)\sqrt{2}} = 1,88$$

▪ Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,95}{(1,1)\sqrt{2}} = 0,61$$

$$R_s = \frac{0,8}{(2,7)\sqrt{2}} = 0,21$$

$$R_s = \frac{0,6}{(0,6)\sqrt{2}} = 0,71$$

$$R_s = \frac{0,6}{(0,6)\sqrt{2}} = 0,71$$

$$R_s = \frac{0,4}{(0,4)\sqrt{2}} = 0,71$$

$$R_s = \frac{0,35}{(0,3)\sqrt{2}} = 0,82$$

$$R_s = \frac{0,4}{(0,6)\sqrt{2}} = 0,47$$

$$R_s = \frac{1}{(0,4)\sqrt{2}} = 1,77$$

$$R_s = \frac{1}{(0,2)\sqrt{2}} = 3,53$$

- Fraksi n-heksaa

$$R_s = \frac{0,7}{(4,65)\sqrt{2}} = 0,11$$

$$R_s = \frac{0,35}{(1,85)\sqrt{2}} = 0,13$$

$$R_s = \frac{1}{(0,25)\sqrt{2}} = 2,85$$

$$R_s = \frac{0,9}{(0,15)\sqrt{2}} = 4,24$$

➤ **Toluen:etil asetat (6:4)**

- Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{1,05}{(3,35)\sqrt{2}} = 0,22$$

$$R_s = \frac{0,3}{(0,5)\sqrt{2}} = 0,42$$

$$R_s = \frac{0,55}{(1,6)\sqrt{2}} = 0,24$$

$$R_s = \frac{0,6}{(0,35)\sqrt{2}} = 1,21$$

$$R_s = \frac{0,6}{(0,35)\sqrt{2}} = 1,21$$

$$R_s = \frac{0,65}{(0,65)\sqrt{2}} = 0,71$$

$$R_s = \frac{0,7}{(0,15)\sqrt{2}} = 3,30$$

$$R_s = \frac{0,3}{(0,2)\sqrt{2}} = 1,07$$

- Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,65}{(3,45)\sqrt{2}} = 0,13$$

$$R_s = \frac{0,5}{(0,45)\sqrt{2}} = 0,78$$

$$R_s = \frac{0,7}{(1,45)\sqrt{2}} = 0,34$$

$$R_s = \frac{0,25}{(0,5)\sqrt{2}} = 0,35$$

$$R_s = \frac{0,9}{(1)\sqrt{2}} = 0,64$$

$$R_s = \frac{0,9}{(0,4)\sqrt{2}} = 1,59$$

- Fraksi n-heksana

$$R_s = \frac{2,1}{(1,05)\sqrt{2}} = 1,41$$

$$R_s = \frac{2,1}{(1,18)\sqrt{2}} = 1,26$$

$$R_s = \frac{0,75}{(0,7)\sqrt{2}} = 0,76$$

L.4.4.2 Resolusi Senyawa Triterpenoid

➤ **Etanol:kloroform (9:2)**

- Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{0,7}{(1,2)\sqrt{2}} = 0,41$$

- Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,45}{(1,3)\sqrt{2}} = 0,24$$

- Fraksi n-heksana

$$R_s = \frac{1,7}{(3,2)\sqrt{2}} = 0,37$$

➤ **Kloroform:etanol:etil asetat**

- Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{0,8}{(1,01)\sqrt{2}} = 0,56$$

$$R_s = \frac{0,9}{(0,49)\sqrt{2}} = 1,30$$

$$R_s = \frac{0,75}{(2,33)\sqrt{2}} = 0,23$$

$$R_s = \frac{0,65}{(1,11)\sqrt{2}} = 0,41$$

$$R_s = \frac{0,7}{(0,42)\sqrt{2}} = 0,30$$

$$R_s = \frac{0,7}{(0,39)\sqrt{2}} = 1,27$$

- Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,6}{(0,3)\sqrt{2}} = 1,41$$

$$R_s = \frac{0,7}{(0,22)\sqrt{2}} = 2,24$$

$$R_s = \frac{0,85}{(4,23)\sqrt{2}} = 0,14$$

$$R_s = \frac{0,4}{(0,25)\sqrt{2}} = 1,13$$

$$R_s = \frac{0,7}{(0,35)\sqrt{2}} = 1,41$$

$$R_s = \frac{0,5}{(0,5)\sqrt{2}} = 0,71$$

$$R_s = \frac{0,35}{(1)\sqrt{2}} = 0,25$$

- Fraksi n-heksana

$$R_s = \frac{0,4}{(0,8)\sqrt{2}} = 0,35$$

$$R_s = \frac{0,7}{(1,1)\sqrt{2}} = 0,45$$

➤ **N-Heksana:etil asetat (6:4)**

- Ekstrak etanol

$$R_s = \frac{0,2}{(0,25)\sqrt{2}} = 0,56$$

$$R_s = \frac{0,2}{(0,2)\sqrt{2}} = 0,71$$

$$R_s = \frac{0,3}{(4,65)\sqrt{2}} = 0,04$$

$$R_s = \frac{0,5}{(0,7)\sqrt{2}} = 0,50$$

$$R_s = \frac{0,6}{(0,25)\sqrt{2}} = 1,70$$

$$R_s = \frac{0,8}{(0,4)\sqrt{2}} = 1,41$$

$$R_s = \frac{0,7}{(0,2)\sqrt{2}} = 2,47$$

▪ Fraksi kloroform

$$R_s = \frac{0,3}{(0,65)\sqrt{2}} = 0,33$$

$$R_s = \frac{0,3}{(3,05)\sqrt{2}} = 0,10$$

$$R_s = \frac{0,4}{(0,5)\sqrt{2}} = 1,41$$

$$R_s = \frac{0,4}{(1,3)\sqrt{2}} = 0,22$$

$$R_s = \frac{0,65}{(0,32)\sqrt{2}} = 1,44$$

$$R_s = \frac{0,7}{(1,33)\sqrt{2}} = 0,37$$

$$R_s = \frac{0,8}{(0,3)\sqrt{2}} = 1,88$$

$$R_s = \frac{0,8}{(0,3)\sqrt{2}} = 1,88$$

▪ Fraksi n-heksana

$$R_s = \frac{0,25}{(0,9)\sqrt{2}} = 0,20$$

$$R_s = \frac{0,4}{(0,7)\sqrt{2}} = 0,40$$

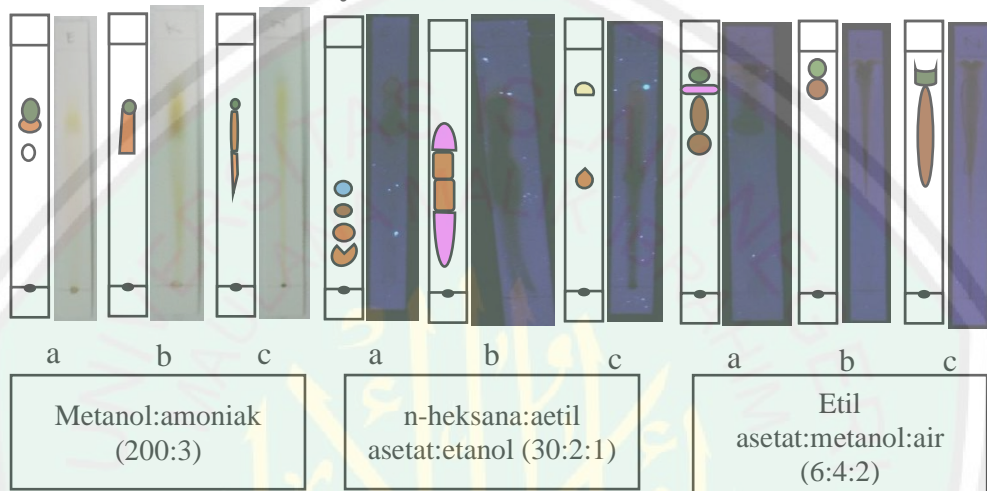
$$R_s = \frac{0,4}{(1,1)\sqrt{2}} = 0,26$$

$$R_s = \frac{0,4}{(0,3)\sqrt{2}} = 0,94$$

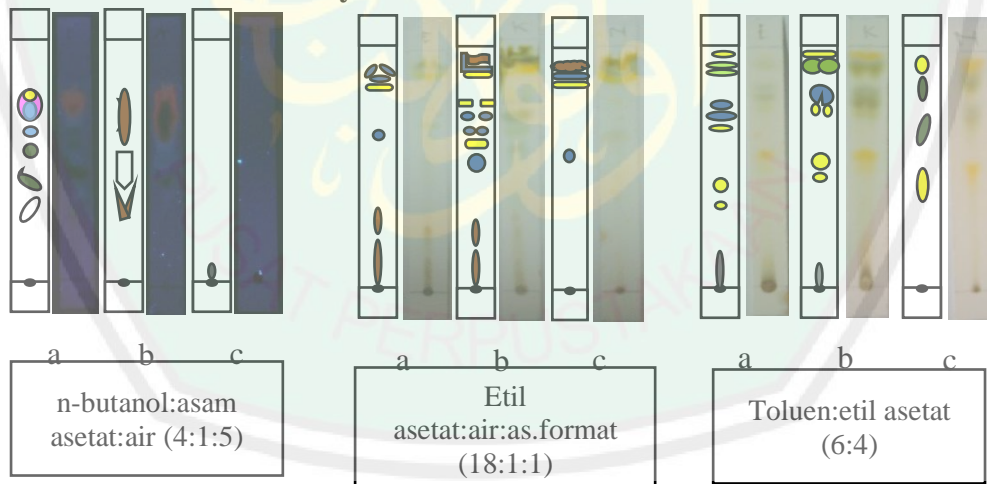
$$R_s = \frac{0,6}{(0,5)\sqrt{2}} = 0,85$$

L.4.5 Gambar Hasil KLTA

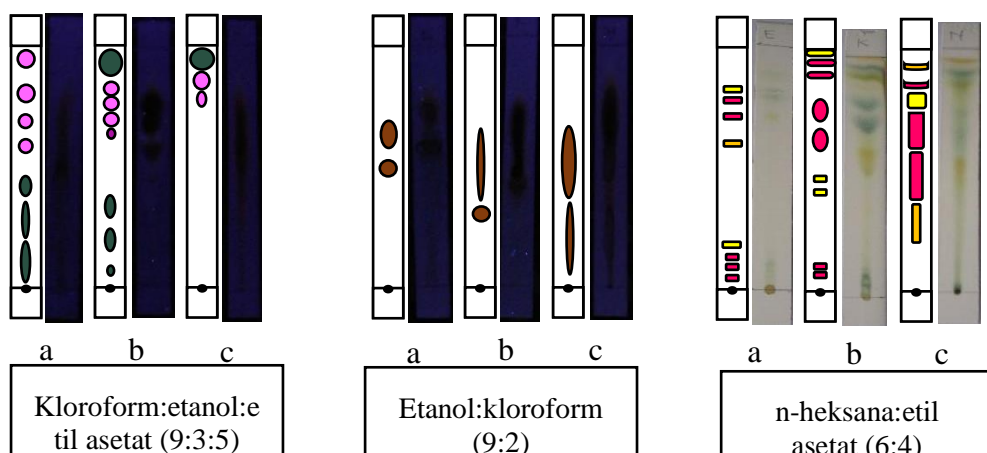
L.4.5.1 Hasil KLTA Senyawa Alkaloid



L.4.4.1 Hasil KLTA Senyawa Flavonoid



L.4.4.1 Hasil KLTA Senyawa Triterpenoid



Keterangan : -a = ekstrak etanol, -b = fraksi kloroform, -c = fraksi n-heksana

