

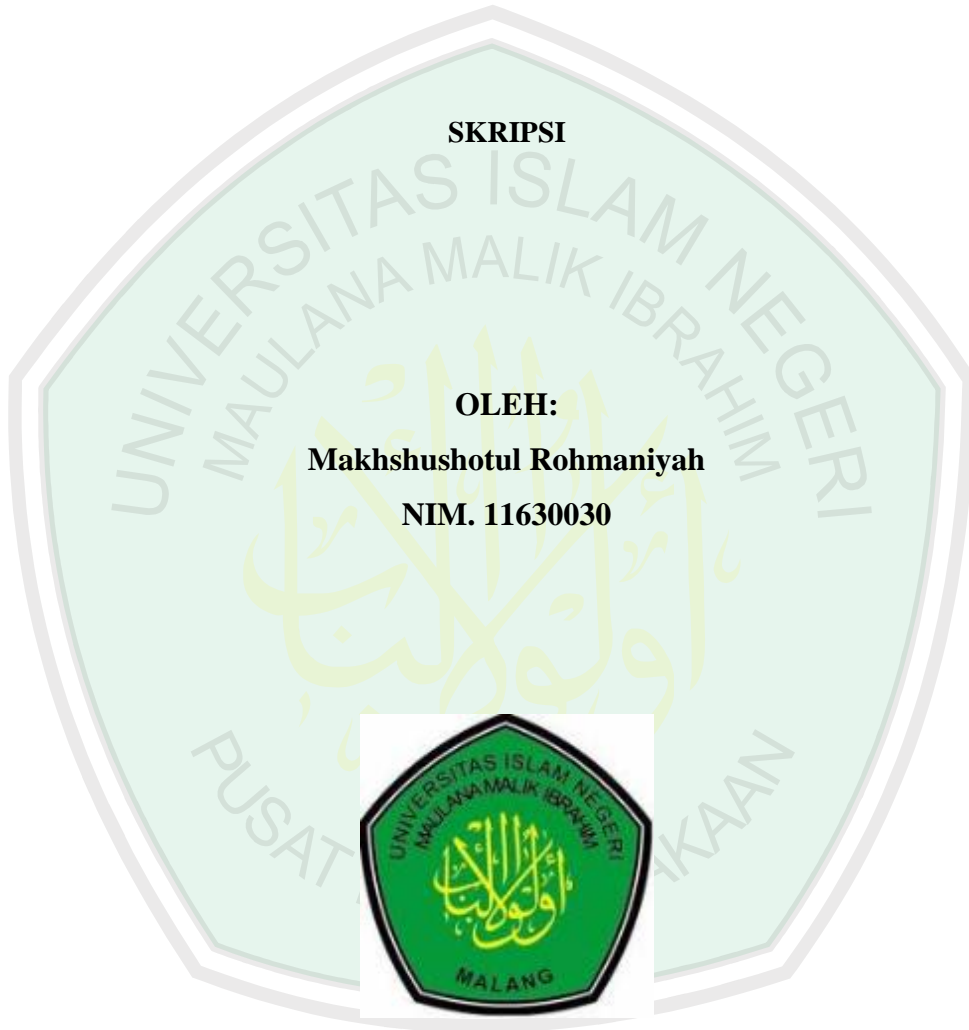
**UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 80% DAN FRAKSI AKTIF
RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile* Brongn) MENGGUNAKAN METODE
DPPH SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA**

SKRIPSI

OLEH:

Makhshushotul Rohmaniyah

NIM. 11630030



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2016**

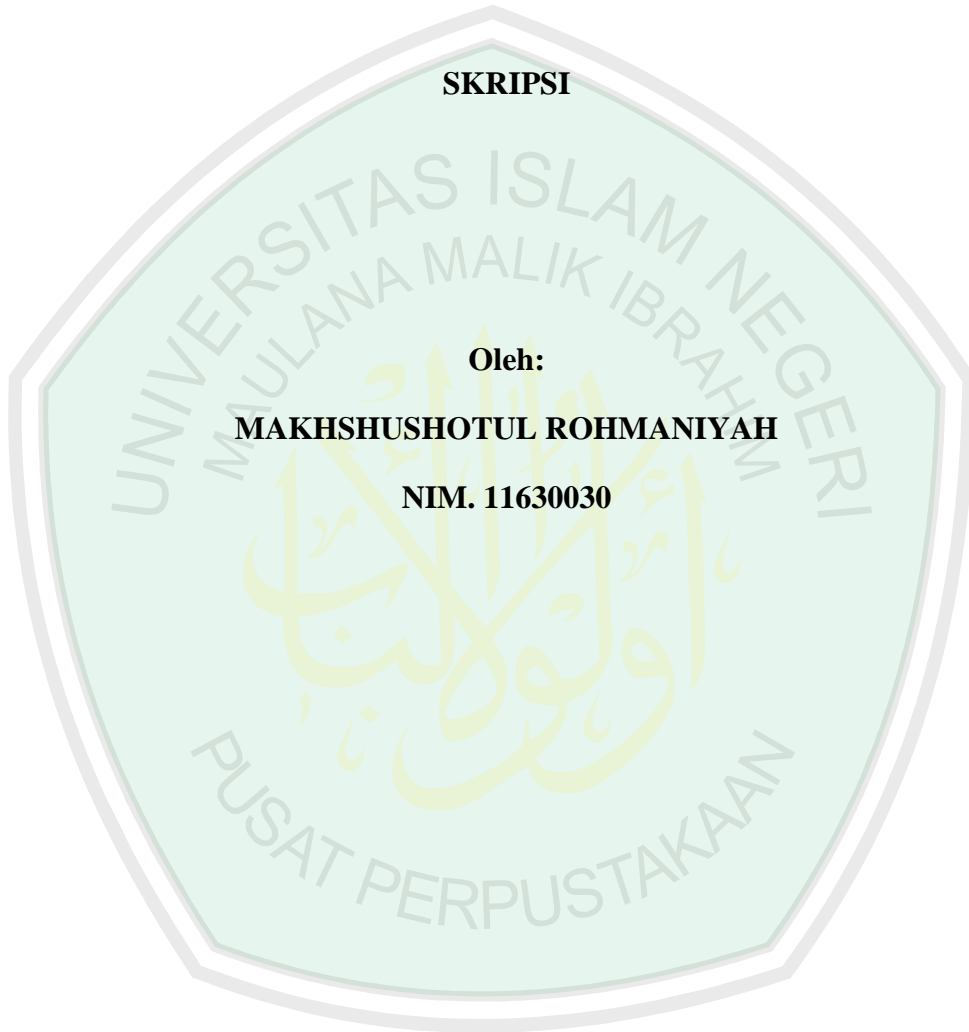
**UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 80% DAN FRAKSI AKTIF
RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile* Brongn) MENGGUNAKAN METODE
DPPH SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA**

SKRIPSI

Oleh:

MAKSHUSHOTUL ROHMANIYAH

NIM. 11630030



Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)



**UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 80% DAN FRAKSI AKTIF
RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile* Brongn) MENGGUNAKAN METODE
DPPH SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA**

SKRIPSI

Oleh:

MAKSHUSHOTUL ROHMANIYAH

NIM. 11630056

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal: 05 Januari 2016

Pembimbing I

Pembimbing II

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

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

Mengetahui,
Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Ketua Jurusan Kimia

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

**UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 80% DAN FRAKSI AKTIF
RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile Brongn*) MENGGUNAKAN
METODE DPPH SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA**

SKRIPSI

Oleh:

MAKSHUSHOTUL ROHMANIYAH

NIM. 11630030

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

Tanggal: 05 Januari 2016

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

**Ketua Penguji : Dewi Yuliani, M.Si (.....)
LB. 63024**

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

**Anggota Penguji : Ahmad Abtokhi, M.Pd (.....)
NIP. 19761003 200312 1 004**

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia

SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Makhshushotul Rohmaniyah

NIM : 11630030

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : “Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif
Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)
Menggunakan Metode DPPH serta Identifikasi Senyawa
Aktifnya”

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 7 januari 2016
Yang Membuat Pernyataan,

Makhshushotul Rohmaniyah
NIM. 11630030

KATA PENGANTAR



Alhamdulillahirobbil ‘Alamin, segala puji bagi Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang yang telah memberikan kenikmatan tiada terukur sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% Dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Menggunakan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Aktifnya”** dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. Penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Bayyinatul Muchtarromah, drh. M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia sekaligus pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan, pengalaman yang berharga dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tugas akhir.
4. Dewi Yuliani, M.Si. selaku konsultan yang selalu meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tugas akhir.
5. Ahmad Abtokhi, M.Pd. selaku Pembimbing Agama dan Rachmawati Ningsih, M. Si. selaku Penguji Utama terimakasih atas saran dan masukannya untuk perbaikan naskah ini.
6. Segenap civitas akademika Jurusan Kimia, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
7. Orang tua tercinta Ayahanda Khomsun, S.Pd. dan Ibunda Luluk Zuhriyah yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.

8. Terimakasih tiada terkira pada kakak ku tercinta Nanag Zubaidi yang senantiasa menjadi inspirasi kehidupan dan studi ku, yang selalu memotivasi dalam segala aktivitas positif ku.
9. adek-adek ku Iza Wafa Arifa dan Ahmad Mashobihus Surur terimakasih atas segala motivasi yang mampu menjadikan penulis menjadi tegar dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman-teman kimia angkatan 2011 (khususnya Ima, Anis, Fitroh, Ulfa, Aa' chusna, Ali, & Rita) yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
11. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Malang, 7 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR PERSAMAAN.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	01
1.2 Rumusan Masalah	05
1.3 Tujuan Penelitian	05
1.4 Batasan Masalah	05
1.5 Manfaat Penelitian	06
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Perspektif Islam.....	07
2.2 Rumput Bambu (<i>L. gracile</i> B.)	08
2.3 Kandungan kimia rumput bambu.....	09
2.4 Metode Ekstraksi.....	10
2.4.1 Ekstraksi Maserasi	10
2.4.2 Hidrolisis Glikosida	12
2.4.3 Ekstraksi Partisi (Ekstraksi cair-cair).....	12
2.5 Senyawa Kimia Metabolit Sekunder pada tanaman.....	13
2.5.1 Alkaloid.....	14
2.5.2 Flavonoid	15
2.5.3 Triterpenoid.....	16
2.5.4 Steroid	17
2.5.5 Saponin	18
2.5.6 Tanin	19
2.6 Antioksidan	19
2.6.1 Metode Penangkapan Radikal DPPH	21
2.6.2 Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLTA	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	26
3.2 Alat dan Bahan.....	26
3.2.1 Alat.....	26
3.2.2 Bahan	26
3.3 Tahapan Penelitian.....	27
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	27
3.4.1 Uji Taksonomi Rumput Bambu	27

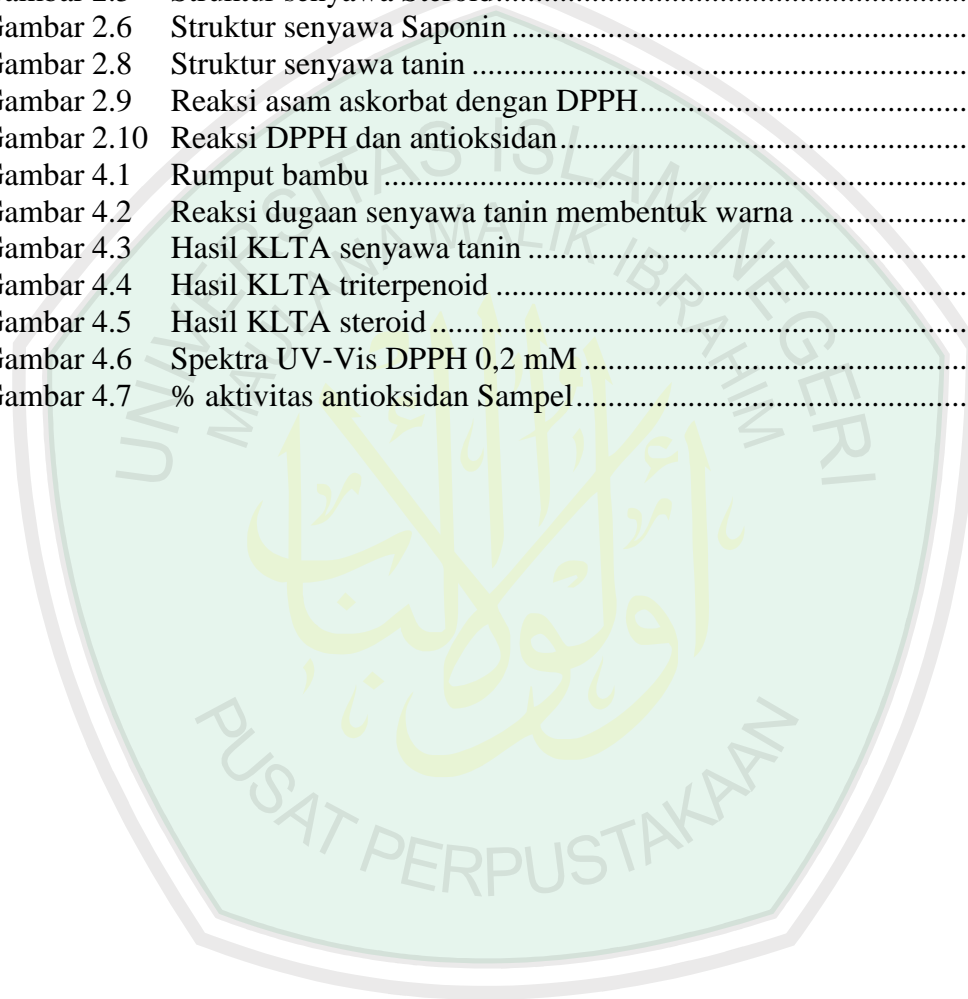
3.4.2 Preparasi Sampel.....	27
3.4.3 Analisis Kadar Air	28
3.4.4 Ekstraksi Metode Maserasi dan Partisi Hasil Hidrolisis	28
3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan DPPH.....	29
3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	29
3.4.5.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan.....	30
3.4.5.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel.....	30
3.4.6 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen	31
3.4.6.1 Uji Flavonoid	31
3.4.6.2 Uji Alkaloid.....	32
3.4.6.2 Uji Saponin	32
3.4.6.3 Uji Tanin	32
3.4.6.4 Uji Steroid/Triterpenoid.....	33
3.5.7 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan KLTA	33
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Uji Taksonomi.....	37
4.2 Preparasi Sampel.....	37
4.3 Analisis Kadar Air.....	38
4.4 Ekstraksi Rumpun Bambu.. ..	38
4.5 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen dan KLTA.....	39
4.5.1 Tanin	41
4.5.2 Triterpenoid.....	45
4.5.4 Steroid	47
4.6 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH	50
4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	50
4.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan	51
4.6.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel.....	52
4.7 Pemanfaatan Rumpun Bambu dalam Islam	55
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran.....	60
 DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN.....	69

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil uji kandungan golongan senyawa aktif ekstrak rumput bambu.....	40
Tabel 4.2	Data penampakan noda dugaan senyawa tanin ekstrak etanol 80% dan etanol hidrolisis daun rumput bambu dengan beberapa variasi eluen	43
Tabel 4.3	Dugaan senyawa tanin ekstrak etanol 80% dengan eluen n-heksana: etil asetat (3:2).....	44
Tabel 4.4	Dugaan senyawa tanin ekstrak etanol hidrolisis dengan eluen n-heksana: etil asetat (3:2).....	45
Tabel 4.5	Data penampakan noda dugaan senyawa triterpenoid ekstrak etanol 80% dan etanol terhidrolisis rumput bambu.....	46
Tabel 4.6	Dugaan senyawa triterpenoid ekstrak etanol terhidrolisis dengan eluen n-heksana: etil asetat (3:2).....	47
Tabel 4.7	Dugaan senyawa triterpenoid ekstrak n-heksan dengan eluen benzen: kloroform (3:7).....	47
Tabel 4.8	Data penampakan noda dugaan senyawa steroid ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform rumput bambu dengan beberapa variasi eluen.....	48
Tabel 4.9	Dugaan senyawa steroid ekstrak etanol 80% dengan eluen n-heksana : etil asetat (7:3).....	49
Tabel 4.10	Dugaan senyawa steroid ekstrak etanol hidrolisis dengan eluen n-heksana : etil asetat (4:1)....	50
Tabel 4.11	Waktu kestabilan masing-masing sampel bambu.....	51
Tabel 4.12	Persen (%) Aktivitas antioksidan.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Rumput bambu (<i>L. gracile</i> B.)	09
Gambar 2.2	Struktur senyawa Alkaloid	14
Gambar 2.3	Struktur dasar senyawa flavonoid	15
Gambar 2.4	Struktur senyawa Triterpenoid	16
Gambar 2.5	Struktur senyawa Steroid.....	17
Gambar 2.6	Struktur senyawa Saponin	18
Gambar 2.8	Struktur senyawa tanin	19
Gambar 2.9	Reaksi asam askorbat dengan DPPH.....	21
Gambar 2.10	Reaksi DPPH dan antioksidan.....	22
Gambar 4.1	Rumput bambu	37
Gambar 4.2	Reaksi dugaan senyawa tanin membentuk warna	42
Gambar 4.3	Hasil KLTA senyawa tanin	44
Gambar 4.4	Hasil KLTA triterpenoid	46
Gambar 4.5	Hasil KLTA steroid	49
Gambar 4.6	Spektra UV-Vis DPPH 0,2 mM	51
Gambar 4.7	% aktivitas antioksidan Sampel.....	54



DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 2.2 Harga Rf	24
Persamaan 3.1 % Kadar air	28
Persamaan 3.2 % Rendemen	29
Persamaan 3.3 % Aktivitas Antioksidan	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir	69
Lampiran 2 Skema Kerja	70
Lampiran 3 Pembuatan Reagen dan Larutan	77
Lampiran 4 Data hasil Penelitian dan perhitungan	82
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian	85
Lampiran 6 Perhitungan Rf	86
Lampiran 7 Surat Keterangan Hasil Identifikasi Sampel	92
Lampiran 9 Lembar Konsultasi	93



ABSTRAK

Rohmaniyah, M. 2015. **Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Kandungan Senyawa Aktif**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi M. Pd; Konsultan: Dewi Yuliani M. Si.

Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) merupakan tanaman gulma yang dapat digunakan sebagai obat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak rumput bambu. Selain itu, dilakukan pula identifikasi terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam rumput bambu. Rumput bambu dimaserasi dengan pelarut etanol 80 % dan dihidrolisis. Ekstrak terhidrolisis tersebut kemudian dipartisi dengan kloroform dan n-heksana. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80 %, ekstrak etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan n-heksana diuji dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Identifikasi senyawa aktif pada masing-masing ekstrak dilakukan melalui uji fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa persen aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak etanol 80 %, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan n-heksana berturut-turut sebesar 54,90 % (400 ppm), 29,23% (400 ppm), 34,45 % (100ppm) dan 38,18 % (200 ppm). Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80 % mengandung senyawa tanin dan steroid, ekstrak etanol terhidrolisis mengandung senyawa tanin dan triterpenoid, ekstrak fraksi kloroform mengandung senyawa steroid, dan ekstrak fraksi n-heksana mengandung senyawa triterpen. Eluen n-heksana dan etil asetat diketahui merupakan eluen terbaik pada pemisahan senyawa aktif menggunakan KLT. Identifikasi dengan KLT terhadap senyawa tanin, triterpenoid dan steroid berturut-turut menghasilkan 8 noda (Rf 0,28 - 0,96), 7 noda (Rf 0,57 - 0,92) dan 9 noda (Rf 0,11 - 0,63).

Kata kunci : *Lophatherum gracile* Brongn, aktivitas antioksidan, *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*, uji fitokimia

ABSTRACT

Rohmaniyah, M. 2015. **Antioxidant Assay by DPPH Method and Active Compound Identification of Ethanol 80% Extract and Active Fraction of Bamboo Grass (*Lophatherum gracile* Brongn)**. Thesis. Chemistry Department, Science and Technology Faculty the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Consultant: Dewi Yuliani M. Si.

Bamboo grass (*Lophatherum gracile* Brongn) is a weed that can be used as a medicine. The aims of this research was to find out the antioxidant activity of bamboo grass extract. The active compounds of extract were also identified. Bamboo grass were macerated by ethanol 80% and then hydrolyzed. The hydrolyzed extract was partitioned by chloroform and n-hexane. Antioxidant activity of ethanol 80% extract, ethanolic hydrolyzed extract, chloroform and n-hexane fraction was determined by DPPH assay. The active compounds were identified by phytochemical screening and thin layer chromatography (TLC). The result of antioxidant assay showed that the highest percentage of antioxidant activity of ethanol extract, ethanolic hydrolyzed extract, chloroform and n-hexane fraction were respectively 54,90 % (400 ppm), 29,23% (400 ppm), 34,45 % (100 ppm) and 38,18 % (200 ppm). The result of phytochemical screening showed that ethanol extract containing tannin and steroid, hydrolyzed ethanol extract contained tannin and triterpenoid, chloroform fraction contained steroid, and n-hexane fraction containing triterpenoid. The best eluent for separation using TLC was by n-hexane and ethyl acetate. Solvent identification of tannin, triterpenoid, and steroid using TLC obtained 8 spots (Rf: 0,28 - 0,96), 7 spots (Rf: 0,57 - 0,92) and 9 spots (Rf: 0,11 - 0,63) respectively.

Keywords : *Lophatherum gracile* Brongn, antioxidant activity, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, phytochemical screening

ملخص البحث

رحمانيه، م. ٢٠١٥. اختبار النشاط لمضادة للأكسدة المقتطفة في للعشب الخيزران (لوباتيروم غراسيل برونجن) بالطريقة دفعه و تحديد مستحضر نشاطها. بحث جامعي. شعبة كيمياء في كلية العلوم و التكنولوجيا ب الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم بمالانج. المشرفة الأولى: أيلوك كميلى حياة، الماجستير؛ المشرف الثاني: أحمد ابطخ، الماجستير؛ المشاركة: دوى يولسانى الماجستير.

أعشاب الخيزران (لوباتيروم غراسيل برونجن) هو الأعشاب ما تنبت متوحشا حول المجتمع. لهذه النبات فوائد كثيرة لعلاج الأمراض. أهداف هذا البحث لمعرفة النشاط لمضادة للأكسدة المقتطفة في للعشب الخيزران (لوباتيروم غراسيل برونجن) بالطريقة دفعه و تحديد مستحضر نشاطها. منهج المستخدم ليحصل على المقتطفة في للعشب الخيزران هو استخراج النقع بالإيثانول لمذيبات ٨٠ ٪. المقتطفة الحاصلة تستمرّ بعملية تحليلية بالماء و تقسيم باستخدام كلوروفورم و الهكسان لمذيبات. ثمّ مقتطفة الإيثانول لمذيبات ٨٠ ٪، و إيثانول تحليل بالماء، و الهكسان لمذيبات و كلوروفورم اختبر النشاط لمضادة للأكسدة. و اختبر مستحضر النشاط بكاشف و طبقة رقيقة اللوني التحليلي (ك.ل.ت.أ). النشاط لمضادة للأكسدة العالية في المائة هو المقتطف الإيثانول ٨٠ ٪، و التحليل بالماء و كلوروفورم و الهكسان لمذيبات لكلّ منهم على قدر ٥٤,٩٠٤ ٪ (٤٠٠ جزء في مليون)، ٢٩,٢٢٨ ٪ (٤٠٠ جزء في مليون)، ٣٤,٤٥٣ ٪ (١٠٠ جزء في مليون)، ٣٨,١٨ ٪ (٢٠٠ جزء في مليون). كان المقتطف الإيثانول ٨٠ ٪ بالنشاط لمضادة للأكسدة العالية هي تمكن كافية لاستخدام على مصدر المضادة للأكسدة الطبيعية اختبار الكيمياء النباتي يظهر على أنّ المقتطف الإيثانول ٨٠ ٪ لهما شبه العفص و الستيرويد. والإيثانول تحليل بالماء له شبه العفص و تريفينوويد. و أما في مقتطف الفصيل لكلوروفورم له شبه الستيرويد. و الهكسان لمذيبات يحتوي فيه تريفينوويد. المنفصل بين هم يستعملون بشاطف الهكسان لمذيبات: حالات الإيثيل بتنوع الحجم. تحديد اللطخة في بقع العفص بكاشف درجندروف يحصل على ثمنيت اللطخة بالترددات اللاسلكية ٠,٢٨ - ٠,٩٦ و أما تحديد اللطخة المستحضر و الستيرويد مستخدم لكاشف ليرمان بورشاد و يحصل لكلّ منهم سبع اللطخة بالترددات اللاسلكية ٠,٥٧ - ٠,٩٢ و تسع اللطخة بالترددات اللاسلكية ٠,٦٣ - ٠,١١

الكلمة الرئيسية: للعشب الخيزران (لوباتيروم غراسيل برونجن)، المضادة للأكسدة، طريقة دفعه ، اختبار الكاشف و طبقة رقيقة اللوني التحليلي (ك.ل.ت.أ).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kemajuan zaman dewasa ini telah membuat sebagian besar masyarakat mengalami perubahan pola hidup termasuk diantaranya dalam hal makanan. Masyarakat cenderung memilih hal-hal yang bersifat cepat dan instan tanpa memperhatikan efek samping di baliknya. Pola makan yang tidak tepat dapat menyebabkan munculnya beragam penyakit, seperti diabetes mellitus, jantung, dan kanker (Rohmatussolihat, 2009).

Salah satu penyebab penyakit tersebut adalah radikal bebas yang menyerang sel tubuh manusia. Radikal bebas terdapat dalam tubuh manusia, sebagai sampingan dari proses pembentukan energi. Radikal bebas dalam jumlah sedikit dibutuhkan tubuh untuk membantu sel darah putih atau leukosit untuk membunuh kuman. Namun, jika radikal bebas terlalu banyak, maka akan merusak tubuh. Oleh karena itu, dibutuhkan senyawa antioksidan yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron pada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002).

Antioksidan merupakan zat yang dibutuhkan oleh tubuh, pada konsentrasi kecil dapat menghambat oksidasi pada substrat, mencegah penuaan dini, dan menangkal radikal bebas penyebab penyakit. Antioksidan pada dasarnya dibedakan menjadi dua kategori yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik yang biasa digunakan pada makanan umumnya *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA) yang dalam kadar tinggi berbahaya

(Shahidi, dkk., 1995). Berdasarkan hal tersebut senyawa antioksidan alami sangat dibutuhkan.

Indonesia merupakan negara yang mempunyai keanekaragaman hayati terbesar ketiga setelah Brazil dan Zaire, diperkirakan sekitar 30.000 jenis tumbuhan ditemukan di hutan Indonesia. Berdasarkan data tersebut hanya ± 180 spesies diantaranya yang dimanfaatkan dalam industri obat-obatan di Indonesia. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat kurang maksimal karena hanya berdasarkan pada pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun tanpa diketahui kandungan senyawa metabolit sekunder tumbuhan tersebut (Attamimi, 2001). Tumbuhan yang berpotensi sebagai obat-obatan pada umumnya berasal dari jenis tanaman umbi-umbian, rimpang, biji-bijian, buah-buahan, tanaman hias sampai gulma. Salah satu gulma yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan adalah rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang berpotensi sebagai antioksidan alami.

Menurut Wijayakusuma (2005), seluruh bagian rumput bambu baik akar, batang, dan daun mengandung banyak senyawa kimia diantaranya triterpenoid dan steroid. Sedangkan identifikasi yang dilakukan Jing, dkk., (2009) pada daun rumput bambu menemukan adanya 14 senyawa metabolit sekunder flavonoid, triterpenoid dan steroid (*b-sitosterol*). Menurut Rizqiyah (2014) ekstrak kloroform akar rumput bambu menghasilkan senyawa steroid. Sedangkan penelitian Purwitasari (2014) ekstrak etanol daun rumput bambu menghasilkan senyawa alkaloid, tanin dan triterpenoid.

Ekstrak metanol seluruh bagian tanaman rumput bambu jenis *Pogonatherum crinitum* menggunakan HPLC menghasilkan senyawa flavonoid (Wang, dkk., 2008).

Pada penelitian ini akan digunakan sampel rumput bambu secara keseluruhan yaitu akar, batang dan daun. Hal ini dilakukan agar lebih banyak senyawa yang dapat terekstrak. Tuhan menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini pasti ada tujuan dan memberikan manfaat atau kebaikan. Hanya saja kita belum tahu kebaikan apa yang ada dibalik sesuatu (tumbuhan) ciptaan-Nya. Seperti firman Allah dalam QS. asy-Syu'araa: 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَىٰ آلِٰرَارِضِ كَمْ أَنبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy Syu’araa: 7).

Kata *ila* pada ayat ini merupakan makna batas akhir. *Ila* berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangannya hingga batas kemampuannya, dengan aneka tanah dan tumbuhannya, dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhan. Kata *zauj* berarti pasangan. Pasangan yang dimaksud pada ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan memiliki pasangan (benang sari dan putik) guna pertumbuhan dan perkembangannya. Kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2003).

Pada penelitian ini akan dilakukan pemisahan senyawa aktif rumput bambu dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan etanol 80%. Ekstrak yang didapat

kemudian dihidrolisis untuk memisahkan ikatan glikosidanya yaitu ikatan antara gula dan senyawa metabolit sekunder (Gunawan, 2004) dilakukan ekstraksi kembali dengan metode partisi. Tujuan ekstraksi partisi dengan variasi pelarut untuk mendapatkan senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Djarwis, 2004).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak rumput bambu akan dilakukan menggunakan metode perendaman radikal DPPH. Metode DPPH dipilih karena memiliki beberapa kelebihan antara lain sederhana, mudah, cepat, peka, dan memerlukan sedikit sampel. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah % aktivitas antioksidan yang didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi sampel yang dapat menangkal radikal bebas (Pratiwi, dkk., 2012).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang golongan senyawa yang memiliki potensi antioksidan dari ekstrak rumput bambu untuk dilakukan pengujian lebih lanjut, sehingga dapat meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomis rumput bambu. Berdasarkan pemaparan diatas perlu diadakan penelitian yang mendalam guna mengkaji lebih banyak manfaat rumput bambu khususnya mengenai senyawa antioksidan yang ada di dalamnya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan n-heksana rumput bambu dengan metode DPPH?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat pada ekstrak etanol, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan n-heksana rumput bambu?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan n-heksana rumput bambu dengan metode DPPH.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan n-heksana rumput bambu.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah seluruh bagian rumput bambu (daun, batang dan akar) yang diperoleh dari perkebunan kota Batu dan Malang, Jawa Timur.
2. Ekstraksi senyawa aktif dengan metode maserasi dan partisi hasil dari proses hidrolisis.
3. Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%, kloroform dan n-heksana.
4. Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH.
5. Uji kandungan senyawa metabolit sekunder dengan uji reagen (fitokimia) dan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan rumput bambu terhadap kesehatan dengan dosis tertentu, dan memberikan informasi tentang kandungan antioksidan rumput bambu. Hal ini dapat digunakan sebagai rujukan pada penelitian tahap selanjutnya, serta meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomis rumput bambu untuk kepentingan masyarakat.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Tuhan yang memiliki banyak manfaat. Tumbuh-tumbuhan menghasilkan beberapa zat yang dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, misalnya, vitamin, minyak, dan obat. Allah memerintahkan manusia supaya memperhatikan keberagaman dan keindahan disertai seruan agar merenungkan ciptaan-Nya yang menakjubkan dalam firman Allah QS. al An'am ayat 99.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجَ مِنَّا مِنَ الْهَرَّةِ خَضِرًا نُّخِجًا مِنْ هَرَّةٍ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ٩٩

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

Menurut Shihab (2003) dalam tafsir Al-Mishbah, aneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis, bentuk dan rasa merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan dan membuktikan bahwa penciptaan-Nya sangat agung. Setiap macam

tumbuhan diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber pangan bagi manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Manfaat tumbuhan ini salah satunya digunakan sebagai tanaman obat.

Tanaman obat sebenarnya bukan merupakan hal yang baru. Sejak terciptanya manusia di permukaan bumi, telah diciptakan pula alam sekitarnya mulai dari itu manusia mencoba memanfaatkan alam sekitarnya untuk memenuhi keperluan hidupnya, termasuk keperluan akan obat-obatan dalam rangka mengatasi masalah kesehatan yang dihadapinya. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman memiliki potensi yang besar untuk dijadikan obat-obatan. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn).

2.2 Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)

Rumput bambu merupakan rumput liar yang tumbuh di hutan, kebun atau di pinggir jalan. Tumbuh di dataran menengah sampai pegunungan tinggi dari ketinggian 800-2.500 meter di atas permukaan air laut. Rumput bambu merupakan rumput menahun yang memiliki tinggi 20-50 cm, bertangkai banyak dengan rimpang pendek bercabang-cabang. Tumbuhan ini memiliki batang kecil, panjang, berongga, berambut, warna kuning beralur memanjang, daun berbentuk runcing dan pertulang sejajar. Akar berbentuk serabut seperti umbi-umbian, kecil berbentuk kerucut serta mempunyai rimpang yang menyerupai kayu. Batang-batanganya tegak, mampat dan berbulu (Kusumawati, dkk., 2003).



Gambar 2.1 Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) (Wijayakusuma, 2005)

Klasifikasi tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) adalah sebagai berikut (Cronquis, 1981).

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan pembuluh)
Super devisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan Berbunga)
Ordo	: <i>Poales</i>
Famili	: <i>Poaceae</i> (Suku rumput-rumputan)
Genus	: <i>Lophatherum</i>
Spesies	: <i>Lophatherum gracile</i> Brongn

2.3 Kandungan Kimia Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.)

Seluruh bagian rumput bambu menurut penelitian Wijayakusuma (2005) mengandung senyawa triterpenoid, steroid, dan senyawa lainnya. Hasil penelitian Kusumawati, dkk., (2003) menyatakan bahwa tanaman *Lophatherum gracile* B. memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder golongan steroid dan terpenoid yang terdapat pada akar dan senyawa metabolit sekunder flavonoid yang terdapat pada bagian daun. Berdasarkan penelitian Jing, dkk., (2009) dalam ekstrak etanol daun rumput bambu terkandung banyak senyawa diantaranya flavonoid, triterpenoid, dan *b-sitosterol*.

Rumput bambu merupakan salah satu jenis tanaman yang sangat berpotensi digunakan sebagai obat penyembuhan penyakit tertentu, seperti antiinflamasi dan antikanker (Kusumawati, dkk., 2003). Sedangkan menurut Wijayakusuma (2005) daun rumput bambu berfungsi sebagai obat untuk mengatasi kanker, demam, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan, gusi bengkak, antipiretik, diuretik, antibakteri, anti-tumor dan efek hiperglikemia.

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan senyawa metabolit sekunder dengan pelarut pada simplisia. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan tanin, triterpenoid, saponin, alkaloid dan flavonoid. Pengetahuan tentang senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar (*like dissolve like*). Faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi, meliputi lama ekstraksi, suhu, lama pengadukan, proses penyarian dan pemekatan. Hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan jenis pelarut adalah daya melarutkan, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

2.4.1 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Maserasi didasarkan pada perendaman sampel

dengan pelarutnya pada suhu ruang. Sampel akan mengalami pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut pada pelarut (Voight, 1995).

Melalui ekstraksi maserasi diharapkan semua senyawa dapat terekstrak secara maksimal, dilanjutkan dengan partisi untuk memperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik (Dewi, dkk., 2010). Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan bahan alam dalam pelarut tersebut (Guenther, 2006). Kelebihan maserasi ini adalah cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan (Vogel, 1978).

Pelarut yang digunakan dalam mengekstrak senyawa aktif dalam rumput bambu adalah etanol 80%. Pelarut etanol merupakan pelarut universal golongan alkohol yang mudah melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat karena sifat kepolarannya yang tinggi, memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dan memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006).

Pemekatan filtrat menggunakan *rotary evaporator*. Prinsip kerja rotary adalah penurunan tekanan pada labu alas bulat sehingga pelarut dapat menguap lebih cepat di bawah titik didihnya. Pelarut akan menguap menuju kondensor dan tertampung dalam labu alas bulat penampung sehingga terpisah dari ekstrak (Vogel, 1978).

2.4.2 Hidrolisis Glikosida

Hidrolisis adalah proses dekomposisi kimia dengan menggunakan pelarut untuk memecahkan ikatan kimia dari substansinya. Prinsip hidrolisis asam adalah peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifudin, dkk., 2006). Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida.

Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar dan non polar (senyawa metabolit sekunder) (Gunawan, 2004). Suatu senyawa apabila mempunyai banyak ikatan glikosida maka senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar. Pada proses ekstraksi, senyawa metabolit sekunder akan lebih terekstrak pada pelarut yang bersifat polar, senyawa bekerja kurang spesifik karena terikat dengan gugus gula dan pada proses pemisahan senyawa dengan KLT akan cenderung tertahan pada fase diamnya (Saifudin, dkk., 2006).

2.4.3 Ekstraksi Partisi (Ekstraksi Cair-cair)

Ekstraksi partisi merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, yaitu sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur (Khopkar, 2008). Kelebihan dari metode partisi adalah dapat memperoleh komponen bioaktif yang

lebih spesifik dan waktu ujinya cepat (waktu total ekstraksi pendek) (Dewi, dkk., 2010).

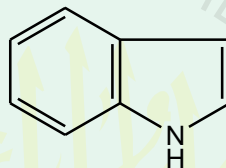
Pelarut organik yang dipilih untuk ekstraksi pelarut yang mempunyai kelarutan rendah dalam air ($< 10\%$), dapat menguap sehingga memudahkan penghilangan pelarut organik setelah dilakukan ekstraksi, dan mempunyai kemurnian yang tinggi untuk meminimalkan adanya kontaminasi sampel (Rohman dan Gandjar, 2007). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah n-heksana dan kloroform karena kedua pelarut memiliki sifat kepolaran yang berbeda sehingga dapat memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Selain itu kedua pelarut ini memiliki nilai kelarutan rendah pada air yaitu $3,9\%$ dan $2,0\%$ sehingga memungkinkan mendapatkan senyawa murni.

2.5 Senyawa Kimia Metabolit Sekunder pada Tanaman

Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa kimia di dalam tumbuhan. Prinsip uji fitokimia didasarkan terbentuknya warna dan busa (Kristanti, dkk., 2008). Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, triperpenoid, dan steroid. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006a).

2.5.1 Alkaloid

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 paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006b).



Gambar 2.2 Struktur senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

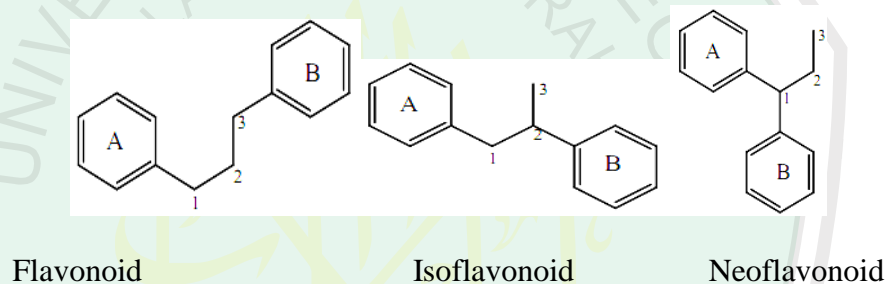
Sriwahyuni (2010) memisahkan senyawa alkaloid menggunakan eluen kloroform-metanol (9,5:0,5) dan penyemprot dragendorff (kalium tetraiodobismutat) dan mendapatkan 7 noda. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silicotungstat 5%, dan asam tanat 5%. Hasil positif alkaloid pada uji dragendroff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (Lutfillah, 2008).

Hasil positif alkaloid pada reagen mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih, diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuriem (II) klorida ditambah dengan kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah-merkuriem (II) iodida. Jika kalium

iodida ditambahkan secara berlebih maka akan berbentuk kalium tetraiodomerkurat (II) (Svehla, 1990).

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzana terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis senyawa flavonoid, yaitu flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid. Turunan senyawa flavonoid diantaranya resveratrol, hesperidin dan quercetin (Lenny, 2006a).



Gambar 2.3 Struktur inti senyawa Flavonoid

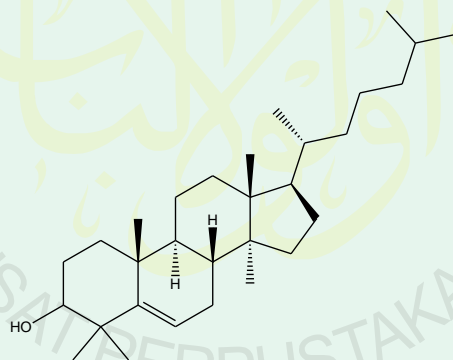
Tiap-tiap fraksi diuji fitokimia untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid. Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan sedikit serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat dan uji senyawa flavonoid dinyatakan positif jika reaksi yang terjadi menghasilkan warna merah, kuning dan jingga (Harborne, 1987).

Identifikasi flavonoid dengan KLT dapat menggunakan penyemprot amoniak/uap amoniak yang memberikan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung dan kuning kecoklatan (Halimah, 2010). Alasan penggunaan uap amoniak karena flavonoid merupakan senyawa fenol yang warnanya dapat berubah apabila ditambah basa atau amoniak. Oleh karena itu golongan ini mudah dideteksi pada

kromatogram atau dalam larutan (Harbone, 1987). Suroso (2011) mengidentifikasi golongan flavonoid menggunakan eluen metanol : kloroform (1:39) menunjukkan 8 noda setelah diuapi amoniak dibawah lampu UV 366 nm.

2.5.3 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari 6 unit isoprena, suatu rantai C_{30} hidrokarbon asilik. Senyawa tersebut mempunyai stuktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan sutau alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Senyawa tersebut tidak bewarna, kristalin, yang mempunyai titik lebih tinggi, umumnya sulit utuk dikarakterisasi karena secara kimia tidak reaktif. Uji triterpenoid dilakukan dengan reagen Libermann-Burchard yang akan membentuk warna biru hijau untuk sebagian besar triterpen dan sterol (Sirait, 2007).



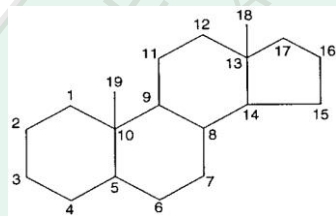
Gambar 2.4 Struktur senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan triterpenoid dapat menggunakan eluen benzanaa-kloroform (3:7), disemprot reagen Liebermann Burchard dan dilihat di bawah sinar UV 366 nm menunjukkan 4 noda yang berwarna ungu tua, ungu muda, ungu dan merah keunguan. Sedangkan untuk eluen n-heksana : etil asetat (1:1) menunjukkan 7 noda. Noda ke-1, 2, dan 3 menunjukkan warna ungu

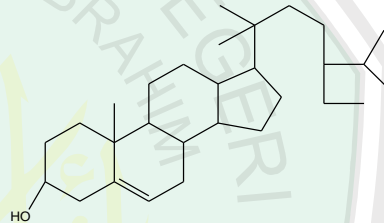
tua, noda ke-4 berwarna ungu, noda ke- 5 dan 6 berwarna merah muda keunguan dan noda ke-7 berwarna merah tua keunguan.

2.5.4 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994).



Struktur Dasar



β -sitosterol

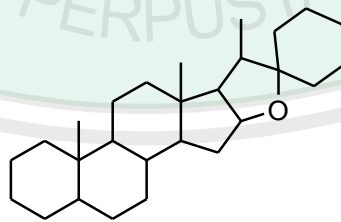
Gambar 2.5 Contoh struktur Steroid (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994).

Steroid tersusun dari isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non-polar. Beberapa senyawaan steroid mengandung gugus – OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya yang cenderung lebih polar. Beberapa turunan steroid yang penting adalah steroid alkohol atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid. Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk hidup. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol.

Sriwahyuni (2010) melakukan identifikasi golongan steroid dengan eluen sikloheksana : etil asetat (1:1) menunjukkan 2 noda steroid yang berwarna jingga kecoklatan di bawah sinar UV 366 nm. Penelitian Hayati, dkk., (2012) menyatakan bahwa identifikasi senyawa steroid dapat menggunakan KLT dengan eluen heksana:etil asetat (7:3) dan disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan terbentuknya noda bewarna hijau, biru ungu sampai coklat.

2.5.5 Saponin

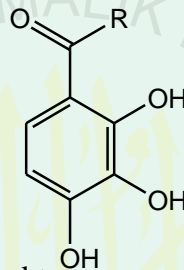
Saponin termasuk dalam golongan senyawa terpenoid dan bagian dari triterpenoid (diturunkan dari hidrokarbon C_{30}) (Harborne, 1987). Pengujian adanya saponin dalam penelitian (Fitriyani, dkk., 2011) dapat dilakukan dengan 0,3 g sampel, ditambah air suling 10 mL, dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Tes buih mengandung saponin bila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi 3 cm di atas permukaan cairan. Hasil Uji buih menghasilkan buih stabil yang menunjukkan adanya saponin.



Gambar 2.6 Struktur inti senyawa Saponin (Robinson, 1995)

2.5.6 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, 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 tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995).



Gambar 2.7 Contoh struktur senyawa tanin (Robinson,1995)

Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan dapat menggunakan eluen butanol : asam asetat : air (14:1:5) menghasilkan noda di bawah sinar UV 366 nm berwarna ungu dan ungu kehitaman setelah disemprot dengan FeCl_3 . Sedangkan untuk eluen asam asetat glasial : air : HCl pekat (30:10:3) menghasilkan noda yang berwarna ungu kehitaman dan ungu.

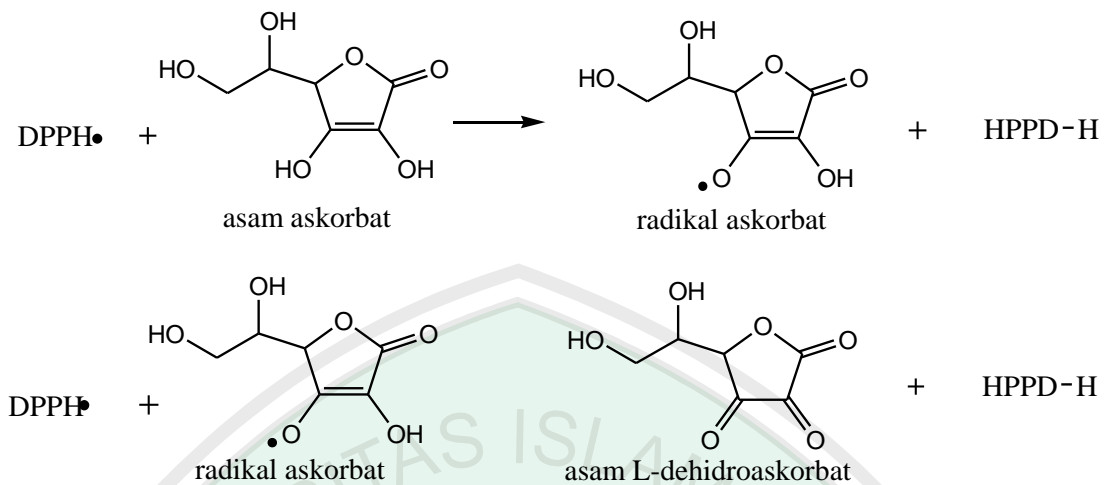
2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi didalam tubuh. Berbagai bukti ilmiah

menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis, seperti kanker dan jantung koroner (Amrun, dkk., 2007).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih atom tidak berpasangan. Meskipun suatu radikal tidak bermuatan positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Suatu radikal bebas dijumpai sebagai zat antara yang tidak dapat diisolasi usia pendek karena sangat reaktif dan berenergi tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1997). Radikal bebas oksigen (RBO) termasuk radikal bebas yang sangat berbahaya, diantaranya adalah $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2$ dan $\text{ROO}\cdot$ (Silalahi, 2006).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat digolongkan menjadi dua yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial bahan nonpangan seperti karet dan bensin. Sedangkan antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh dari senyawa metabolit sekunder tumbuhan seperti senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavanoid dan asam askorbat. Antioksidan alami telah lama diketahui menguntungkan untuk digunakan dalam bahan pangan karena umumnya derajat toksisitasnya rendah (Cahyadi, 2006). Reaksi antara asam askorbat dengan dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi Asam Askorbat dengan DPPH (Prakash, 2001).

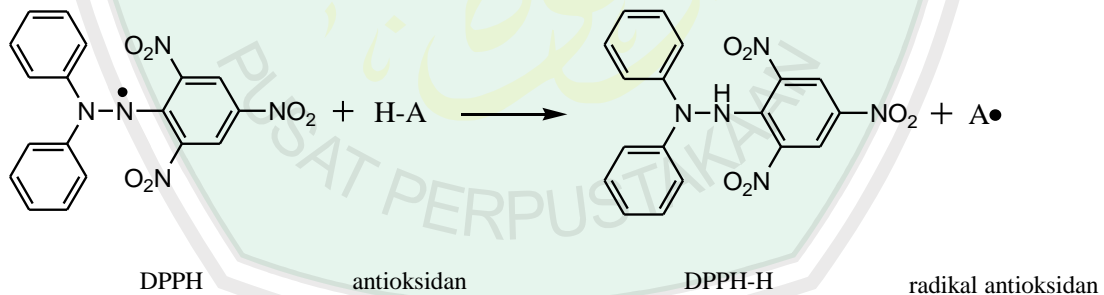
Radikal DPPH bereaksi dengan asam askorbat, sehingga DPPH bersifat netral sedangkan asam askorbat menjadi radikal. Asam askorbat yang radikal bisa kembali stabil ketika ikatan rangkap pada atom C mendonorkan elektronnya pada atom O yang radikal. Berdasarkan hal itu maka terbentuklah asam L-dehidroaskorbat (Prakash, 2001).

2.6.1 Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1- diphenyl-2-pikrilhidrazil)

Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm. Pada panjang gelombang tersebut cahaya tampak dan memberikan warna ungu. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektron berpasangan. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Hanani, dkk., 2005; Day dan Underwood, 2001).

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, mudah untuk skrining aktivitas penangkapan radikal bebas beberapa senyawa dan hanya memerlukan sedikit sampel dibandingkan dengan metode yang lain. Metode ini dapat mengukur efektivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Beberapa metode lain terbatas mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisis. Metode ini mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak ataupun dalam air (Prakash, 2001).

Antioksidan bereaksi dengan radikal DPPH akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan. Adanya senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal akan mereduksi radikal DPPH. Reaksi yang terjadi antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.7 (Sandrasari, 2008).



Gambar 2.7 reaksi radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan antioksidan (Prakash, 2001)

Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan satuan persen aktivitas antioksidan. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan dalam sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan

kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran saat itu. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2004).

DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm. karena adanya elektron yang tidak berpasangan, Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stoikiometri sesuai jumlah elektron yang diambil (Dehpour, dkk., 2009).

2.6.2 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase yakni fase gerak atau eluen dan fase diam atau adsorben yang berbeda tingkat kepolarannya. Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik seperti asam lemak dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip pemisahan dengan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (fase diam) (Hendayana, 2006).

Fase diam dalam KLT berupa silika gel (biasanya berupa plat silika gel F₂₅₄ yang mampu mengikat senyawa yang akan dipisahkan. Sedangkan fase geraknya berupa berbagai macam pelarut atau campuran pelarut (Hendayana, 2006). Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapisan tipis dapat

menggunakan harga Rf (Retardation factor) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan (Glitter, 1991).

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa}}{\text{Jarak tempuh eluen}} \dots\dots\dots 2.1$$

Bercak yang terjadi setelah pengembangan dapat dideteksi. Cara mendeteksi paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan di daerah UV gelombang pendek (254 nm) atau jika senyawa itu dapat dieksitasi ke fluoresensi radiasi UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ (Stahl, 1985). Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik berbagai jenis, sinar UV akan mengeksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula dengan melepaskan energi (Gritter 1991).

Kandungan kimia dalam bercak dapat dideteksi menggunakan pereaksi kimia. Cara yang digunakan untuk mendeteksi senyawa berfluoresensi adalah dengan dipendarkan pada sinar ultraviolet. Untuk senyawa yang tidak berfluoresensi, fase diam ditambah indikator fluoresensi. Bercak akan kelihatan gelap dengan cara penyemprotan. Bercak kemudian dilihat dengan sinar tampak atau lampu ultraviolet. Setelah penyemprotan dilakukan kadang-kadang diperlukan pemanasan (Stahl, 1985).

Penggunaan deteksi yang sederhana tidak mampu mendeteksi seluruh senyawa yang terdapat pada plat KLT, sehingga senyawa yang mampu dideteksi relatif sedikit. Deteksi non-destruktif suatu senyawa yang mungkin terdapat pada plat

KLT yaitu menggunakan deteksi UV, sedangkan deteksi destruktif dengan mengkontaminasi senyawa oleh reagen deteksi dikenal sebagai deteksi semprot. Deteksi semprot ini mampu mendeteksi senyawa yang secara visibel didapati pada plat KLT maupun yang tidak. Pemanasan diperlukan untuk membantu reaksi warna, hal ini dapat dilakukan dengan hair dryer atau oven (Cannell, 1998).

Hasil eksplorasi keanekaragaman dan kandungan kimia tumbuhan obat di hutan tropis gunung Arjuno menyatakan bahwa identifikasi golongan steroid dari ekstrak alkohol akar rumput bambu menggunakan eluen n-heksana : aseton (4:1) dan penampak nodanya lieberman Burchard mendapatkan nilai Rf 0,04; 0,12; 0,17; 0,3 (Kusumawati, dkk., 2003). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pula identifikasi senyawa steroid menggunakan eluen n-heksana : aseton (7:3) dengan lampu UV 366 nm pada ekstrak kloroform akar rumput bambu menghasilkan 7 noda berwarna ungu setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard mendapatkan nilai Rf 0,31; 0,46; 0,53; 0,67; 0,73; 0,80; dan 0,96 (Rizqiyah, 2014).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai Agustus 2015 di Laboratorium Biokimia dan Organik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik (lokal), cawan penguap (lokal), oven (lokal), loyang (lokal), ayakan 60 mesh (lokal), aluminium foil (SIGMA), *vacuum buchner* (lokal), botol vial (lokal), penjepit kayu (lokal), rak tabung reaksi (lokal), lampu UV (*Varian Carry*), Spektrofotometer UV-Vis (*Varian Carry*), *rotary evaporator* (BUCHI-R 210), *shaker* (*Owl Sparation System*), dan plat silika gel G₆₀F₂₅₄ (Merck)

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput bambu (*Lophaterium gracile* Brongn) yang diperoleh dari Kebun Kota Batu, reagen lain yang digunakan diantaranya, etanol 80% p.a 9 (Merck), kloroform (Merck), n-heksana (Merck), larutan HCl 37% p.a (Merck), metanol (Merck), logam Mg, larutan FeCl₃ 99 % (Merck) p.a, NaHCO₃ 99% p.a (Merck), gas N₂, CH₃COOH 99,5% p.a (Merck), H₂SO₄ 95 % (Merck), Vitamin C (Lokal), dan DPPH (SIGMA-ALDRICH).

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Uji taksonomi rumput bambu
2. Preparasi sampel
3. Analisis kadar air
4. Ekstraksi senyawa aktif dengan metode maserasi dan metode partisi hasil hidrolisis
5. Uji antioksidan dengan metode DPPH
6. Uji golongan senyawa aktif dengan penambahan reagen
7. Pemisahan senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA)

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Uji Taksonomi Rumput Bambu

Uji taksonomi rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dilakukan di Dinas Kesehatan Material Medika Kota Batu Propinsi Jawa Timur.

3.4.2 Preparasi Sampel

Sampel sebanyak 100 gram dipotong kecil-kecil, dicuci bersih, diangin-anginkan pada suhu kamar sampai kering. Kemudian sampel yang sudah kering diserbukkan dan disaring dengan ayakan 60 mesh. Hasil yang diperoleh berupa serbuk yang digunakan sebagai sampel penelitian.

3.4.3 Analisis Kadar Air (Ditjen POM, 2000)

Analisis kadar air dilakukan dengan metode termografi yaitu dengan pemanasan, dilakukan pada sampel kering (hasil preparasi). Sebanyak 5 gram sampel dimasukkan ke dalam krus porselen yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan dimasukkan desikator. Kemudian dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan pada suhu 100 – 105 °C. Selanjutnya dilakukan penimbangan, pemanasan diulangi sampai didapat berat yang konstan. Kadar air dalam tanaman 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

3.4.4 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi dan Ekstraksi Metode Partisi Hasil Hidrolisis (Tensiska, dkk., 2007)

Sebanyak 100 gr serbuk rumput bambu diekstraksi maserasi dengan 500 mL etanol 80% selama 24 jam. Kemudian sampel tersebut dishaker dengan kecepatan 130 rpm selama 3 jam. Selanjutnya sampel disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sampai filtrat yang diperoleh berwarna lebih bening. Filtrat yang diperoleh disaring menggunakan *vacuum buchner* dan dipisahkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak yang pekat dan dialiri gas N₂.

Ekstrak pekat fraksi etanol 80% dibagi menjadi 2, dimana ekstrak bagian pertama 1 mg diuji aktivitas antioksidannya dan sisanya dihidrolisis dengan HCl 2N ke dalam ekstrak pekat dengan perbandingan 1:2. Masing-masing hidrolisat yang diperoleh ditambahkan dengan NaHCO₃ sampai netral. Kemudian hasil dari hidrolisis dibagi menjadi 2, dimana ekstrak bagian pertama 1 mg diuji aktivitas antioksidan dan sisanya dibagi menjadi 2 bagian yang sama. Bagian pertama diekstraksi dengan metode partisi menggunakan pelarut kloroform sedangkan bagian kedua diekstraksi dengan metode partisi menggunakan pelarut n-heksana.

Proses ekstraksi dengan metode partisi dilakukan dengan tiga kali pengulangan, dimana fase organik di partisi kembali untuk memaksimalkan hasil ekstraksi. Masing-masing ekstrak hasil partisi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri gas N₂ ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \dots\dots\dots 3.2$$

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Rahayu, dkk., 2010)

Larutan DPPH 0,2 mM 6 mL dimasukkan ke dalam kuvet, didiamkan ±10 menit pada suhu 37°C, kemudian dicari λ_{maks} larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dicatat λ_{maks} hasil pengukuran yang akan digunakan pada tahap selanjutnya.

3.4.5.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan (Suroso, 2011)

Larutan ekstrak 100 ppm 4,5 mL ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL, lalu diinkubasi pada suhu 37°C. Larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet, kemudian dicari waktu kestabilan pada rentangan waktu 5-120 menit dengan interval 10 menit. Sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

3.4.5.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan diawali dengan membuat absorbansi kontrol. Larutan DPPH 0,2 mM dipipet 1,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan aluminium foil, setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya. Larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya.

Sampel dari masing-masing fraksi dilarutkan dalam etanol 96% dengan konsentrasi 12, 25, 50, 75 dan 100 ppm. Tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi, dipipet masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, setelah itu ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL. Perbandingan larutan DPPH 0,2 mM dan ekstrak yang dilarutkan adalah 1:3. Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37°C pada suhu kestabilan masing-masing ekstrak yang didapatkan pada tahap sebelumnya.

Pembandingan asam askorbat diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan asam askorbat. Apabila % aktivitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai % aktivitas antioksidan pembandingan maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan. Data absorbansi yang diperoleh dari tiap konsentrasi pada masing-masing ekstrak dihitung nilai % kapasitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan persamaan 3.3.

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{A_o - A_c}{A_c} \times 100\% \dots \dots \dots 3.3$$

Keterangan : A_o = Absorbansi sampel
 A_c = Absorbansi kontrol

3.4.6 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana rumput bambu dilarutkan dengan etanol. Kemudian dilakukan uji flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, dan tanin.

3.4.6.1 Uji Flavonoid

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas 1–2 mL dan sedikit serbuk logam Mg. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama lalu dikocok. Jika terbentuk larutan berwarna merah, kuning atau jingga, maka ekstrak kasar positif mengandung flavonoid

3.4.6.2 Uji Alkaloid (Harborne, 1987)

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 1 mL kloroform dan 1 ml amonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 2-4 tetes H_2SO_4 pekat untuk menetralkan, lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam yang tidak berwarna diuji dengan menambahkan 2-3 tetes reagen marquis, mayer dan dragendorff. Jika hasil pengujian dengan reagen marquis, mayer dan dragendorff menghasilkan warna berturut-turut kuning sampai lembayung, putih keruh dan jingga, maka ekstrak kasar tersebut mengandung alkaloid.

3.4.6.3 Uji Saponin

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 10 menit, apabila busa yang terbentuk selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N dan busa yang terbentuk bisa tetap stabil, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.4.6.4 Uji Tanin (Halimah, 2010)

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka ekstrak tersebut mengandung tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

3.4.6.5 Uji Triterpenoid dan Steroid (Lestari, 2012)

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL kloroform lalu ditambah 0,5 mL anhidrida asetat dan 1,5 mL asam sulfat pekat (1:3) (pereaksi Lieberman Burchard) melalui dinding tabung tersebut. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, jingga, kuning, ungu, cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut. Sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan atau biru.

3.4.7 Uji Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (Rohman dan Gandjar, 2007)

Uji senyawa aktif dengan KLT dilakukan pada ekstrak yang positif pada uji reagen. Kromatografi lapis tipis analitik adalah metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase yakni fase gerak (eluen) dan fase diam (silika) yang berbeda tingkat kepolarannya (Sastrohamidjojo, 1991).

K (koefisien distribusi) merupakan perbandingan konsentrasi solut dalam fase diam (C_s) dan dalam fase gerak (C_m), $K = C_s/C_m$. Semakin besar nilai K menyebabkan nilai R_f bertambah kecil dan sebaliknya. Nilai R_f yang kecil menandakan noda cenderung terdistribusi pada fase diam yang bersifat polar atau konsentrasi solut lebih besar pada fase polar dan sebaliknya.

Plat KLT silika gel $G_{60}F_{254}$ (Merck) disiapkan dan dibuat ukuran 1 cm x 10 cm. Selanjutnya plat KLT diberi tanda atau garis (1 cm dari tepi bawah dan 1 cm dari tepi atas plat), lalu diberi penandaan pada garis di bagian bawah plat untuk

menunjukkan posisi awal totalan. Plat KLT silika gel $G_{60}F_{254}$ diaktifasi dengan cara dioven pada suhu $60-80^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT.

Setiap golongan memiliki campuran fase gerak yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan dalam great chamber lalu ditutup rapat dan dilakukan penjuhan selama 20–30 menit. Cara mengetahui eluen sudah jenuh atau belum dapat digunakan kertas saring untuk memeriksanya yaitu dengan membasahi kertas saring dengan uap eluen. Penjuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

Ekstrak ditotolkan sebanyak (1–10 totol) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan dengan hair dryer. Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Plat dimasukkan dalam great chamber yang berisi fase gerak yang telah jenuh, kemudian great chamber ditutup rapat hingga fase gerak mencapai jarak $\pm 0,5$ cm dari tepi atas plat. Berikut adalah masing-masing fase gerak golongan senyawa:

a) Golongan Senyawa Flavonoid

Penentuan senyawa ini digunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) (Hayati, dkk., 2012), eluen metanol : kloroform (1:39), butanol : asam asetat : air (3:1:1) (Marliana, dkk., 2005), kloroform : metanol : air (17:2:1) (Fitriyani, dkk., 2011) dan metanol-kloroform (1:9) (Milyasari, 2010).

b) Golongan Senyawa Alkaloid

Penentuan senyawa ini digunakan pengembang campuran fase gerak atau eluen kloroform : metanol (9:1) dan (19:1) (Sriwahyuni, 2010) dengan disemprot dengan reagen Dragendorff, eluen kloroform : metanol (8:3) (Purwitasari, 2014), etil asetat : metanol : air (3:2:1) (Marliana, 2005), dan kloroform:metanol (1:4) (Setiaji, 2009) dengan disemprot pereaksi dragendroff.

c) Golongan Senyawa Saponin

Penentuan senyawa ini digunakan campuran eluen kloroform : metanol : air (2:6:1) dan ketika ditambah H_2SO_4 akan menimbulkan warna ungu-ungu gelap (Kristianingsih, 2002), (Wonohadi, dkk., 2006), eluen kloroform:metanol (21:4), kloroform : metanol : air (3:1:0,1) (Rahayu, dkk., 2010), dengan penampak noda Lieberman Buchard kemudian dipanaskan pada suhu $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit, menghasilkan noda yang berwarna biru dan hijau dan campuran eluen heksana : aseton (4:1) dengan penyemprotan dengan $SbCl_3$ dalam asam asetat (Marliana, dkk., 2005).

d) Golongan Senyawa Tanin

Penentuan ini digunakan eluen campuran fase gerak butanol : asam asetat : air (14:1:5) dan asam asetat glasial : air : HCl pekat (30:10:3) (Sriwahyuni, 2010), Butanol:asam asetat:air (14:1:5) (Purwitasari, 2014), butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Nahari, 2015), dan n-heksana : etil asetat (3:2) (Mangunwardoyo, dkk., 2009) dengan pereaksi $FeCl_3$.

e) Golongan Senyawa Triterpenoid

Penentuan senyawa ini digunakan eluen campuran n-heksana : etil asetat (1:4) dengan pereaksi penyemprot reagen Liebermann Burchard (Halimah, 2010), eluen heksana : etil asetat (3:2) (Purwitasari, 2014), dan eluen benzena : kloroform (3:7) dengan disemprot reagen Liebermann Burchard dan eluen n-heksana : etil asetat (1:1) (Sriwahyuni, 2010) dan metanol : etil asetat (7:3) (Santi, 2009).

f) Senyawa Steroid

Penentuan senyawa ini digunakan eluen campuran n-heksana : etil asetat (7:3) dengan pereaksi lieberman Burchard (Sriwahyuni, 2010 ; Halimah, 2010 ; Hayati, dkk., 2012), heksana:etil asetat (3:2) (Laila, 2014) , n-heksana:etil asetat (4:1) (Reveny, 2011), n-heksana : aseton (7:3) (Rizqiyah, 2014), dan campuran kloroform:metanol (3:7) (Gunawan, 2008) dengan disemprot reagen Liebermann-Burchard.

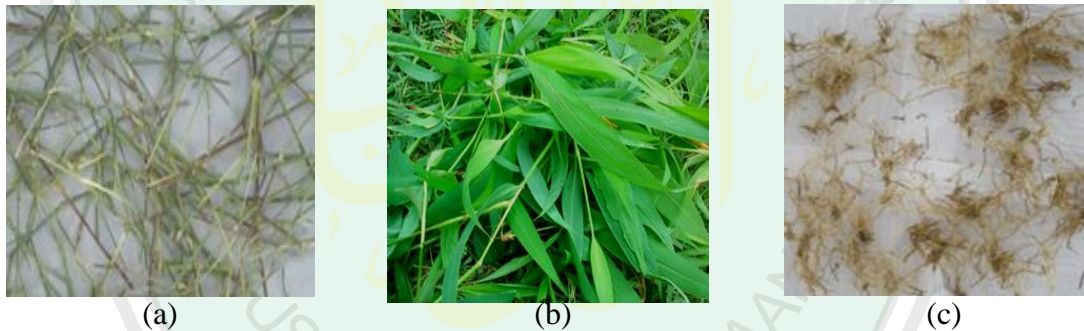
Noda-noda yang terbentuk pada plat silika gel $G_{60}F_{254}$ kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, disemprot dengan penampak noda, dipanaskan di oven pada suhu 60°C selama 10 menit, kemudian diamati masing-masing noda yang terbentuk. Pengamatan noda meliputi jumlah noda, warna noda dan penghitungan nilai R_f noda.

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Uji Taksonomi

Uji taksonomi tanaman rumput bambu (*Lophaterum gracile* Brongn) dilakukan di Materia Medika, Batu. Hasil uji taksonomi menyatakan tumbuhan yang diperoleh merupakan rumput bambu (lampiran 7). Hal tersebut sesuai dengan ciri-ciri daunnya bertangkai jelas, berurat melintang, terdapat bulu halus pada semua bagian batang dan daun, batangnya berongga, dan akarnya berupa serabut (Heyne, 1987).



Gambar 4.1 Rumput bambu bagian (a) batang, (b) daun, dan (c) akar (Dokumen pribadi, 2015)

4.2 Preparasi Sampel

Preparasi sampel meliputi proses pencucian, pengeringan dan penyerbukan sampel. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada rumput bambu. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air dan meminimalkan kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme atau jamur sehingga sampel dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Baraja, 2008). Proses

penyerbukan dilakukan dengan cara pemblenderan dan pengayakan. Tujuan dari pengayakan untuk menyeragamkan ukuran serbuk dan luas permukaan (Dewi, 2007). Hasil yang didapatkan berupa sampel yang halus, kering, berwarna hijau untuk daun dan batang, sedangkan berwarna coklat untuk akar.

4.3 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam sampel. Prinsip analisis kadar air adalah berdasarkan penghilangan air yang terkandung dalam sampel dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu diatas titik didih air yaitu 100 – 105°C hingga diperoleh berat konstan. Kadar air yang tinggi dalam sampel dapat menjadi media tumbuhnya mikroorganisme yang dapat mendekomposisi senyawa aktif dalam sampel (Winarno, 2002). Kumala (2007) menyatakan bahwa semakin kecil kadar air suatu sampel maka semakin mudah pelarut mengekstrak komponen senyawa aktif yang diinginkan.

Hasil analisis kadar air sampel kering rumput bambu sebesar 10,86 % (Lampiran 7). Persyaratan yang ditetapkan Departemen Kesehatan RI No. 761 (1995) untuk kadar air adalah kurang atau sama dengan 10%. Hasil analisis kadar air pada penelitian ini mendekati persyaratan yang ditetapkan Depkes RI sehingga sampel dianggap baik untuk dilakukan proses maserasi.

4.4 Ekstraksi Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* Brongn)

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dan partisi. Sampel diekstraksi dengan pelarut etanol 80 % selama 3 hari dengan

pengocokan 3 jam per hari. Tujuan pengocokan agar memperbanyak pengambilan senyawa metabolit sekunder (Vogel, 1978). Sampel yang diperoleh berwarna hijau pekat.

Ekstrak pekat etanol 80 % dibagi menjadi 2 bagian yaitu ekstrak A dan B. Ekstrak A akan langsung dilakukan uji aktivitas antioksidan, fitokimia dan KLTA. Ekstrak B dihidrolisis dengan HCl untuk memutus ikatan glikosida antara senyawa glikon (gula) dan aglikon (senyawa metabolit sekunder). Reaksi hidrolisis merupakan reaksi reversible (dapat balik) sehingga perlu dinetralkan dengan NaHCO_3 jenuh untuk menghentikan pembentukan glikosida (Handoko, 2006). Ekstrak B dibagi menjadi 3 bagian B1, B2, dan B3. Ekstrak B1 langsung dilakukan uji aktivitas antioksidan, fitokimia dan KLTA.

Sampel B2 dan B3 dipartisi masing-masing menggunakan kloroform dan n-heksana. Hasil yang didapatkan berupa ekstrak yang berwarna hijau pekat pada masing-masing fraksi. Pemilihan pelarut yang berbeda ini dimaksudkan agar senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dapat terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai (Voight, 1995). Proses partisi dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Komponen glikon akan terdistribusi pada fase air sedangkan senyawa metabolit sekunder (aglikon) akan terdistribusi pada fase organik (Sumardjo, 2006). Fraksi hasil partisi dari masing-masing pelarut dilakukan uji antioksidan, fitokimia, dan KLTA.

4.5 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Fitokimia dan KLTA

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif (Sani, 2014) yang terdapat dalam ekstrak rumput bambu. Uji fitokimia dilakukan pada

ekstrak etanol 80 %, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin dan tanin. Berdasarkan Tabel 4.1 diketahui bahwa ekstrak etanol 80%, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana berturut-turut mengandung senyawa tanin dan steroid, tanin dan triterpenoid, steroid, dan triterpenoid. Ekstrak yang mengandung tanin, triterpenoid dan steroid diidentifikasi lebih lanjut menggunakan KLTA (Kromatografi Lapis Tipis Analitik).

Tabel 4.1 Hasil uji kandungan golongan senyawa aktif ekstrak rumput bambu

Golongan Senyawa aktif	Ekstrak				Keterangan
	Etanol 80%	Etanol terhidrolisis	Fraksi kloroform	Fraksi n-heksana	
Alkaloid (meyer)	-	-	-	-	-
Alkaloid (dragendroff)	-	-	-	-	-
Flavonoid	-	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-	-
Tanin	+	+	-	-	Terbentuk endapan jingga
Triterpenoid	-	+	-	+++	Cincin kecoklatan
Steroid	+	-	++	-	Hijau kehitaman

Keterangan: +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)

++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)

+ = Mengandung senyawa (berwarna)

- = Tidak terkandung senyawa

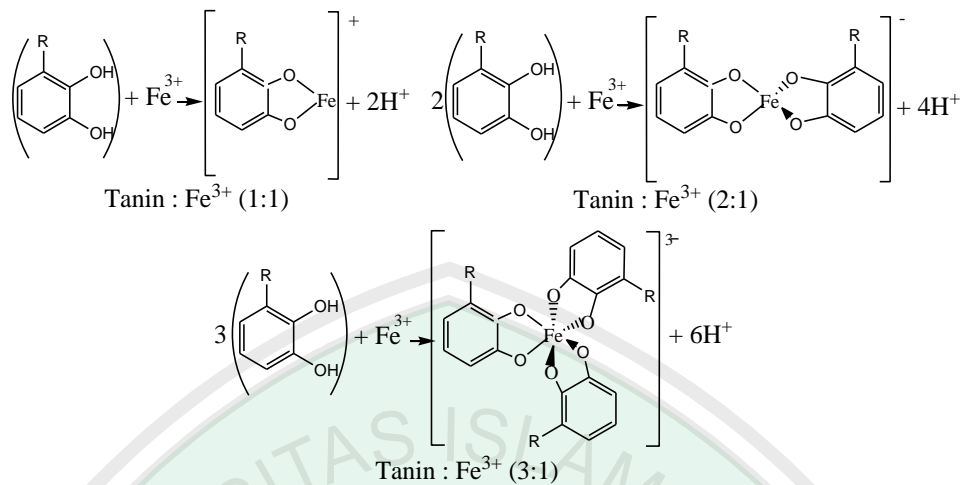
KLTA digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan fase gerak (eluen) dan fase diam (silika) yang berbeda tingkat kepolarannya. Pemisahan dikatakan baik apabila menghasilkan komponen senyawa berupa noda yang banyak, noda yang

terbentuk bulat tidak berekor, dan pemisahan nodanya jelas (Rohman dan Gandjar, 2007). Pemisahan KLTA menghasilkan nilai Rf (retardation factor) antara 0-1 yang menunjukkan kecepatan elusi dari suatu senyawa dalam noda. Senyawa yang dipisahkan akan terpisah berdasarkan distribusi senyawa tersebut terhadap fase diam atau fase geraknya.

Kepolaran suatu molekul ditentukan oleh struktur suatu senyawa. Perbedaan struktur tersebut menyebabkan nilai Rf berbeda-beda. Suatu senyawa yang sama ketika strukturnya lebih polar maka lebih terdistribusi pada fase diamnya (polar) yang menyebabkan nilai Rf kecil dan sebaliknya (Effendy, 2010).

4.5.1 Tanin

Uji adanya kandungan senyawa tanin pada ekstrak ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Hal tersebut disebabkan pembentukan senyawa kompleks antara gugus fenol pada tanin dan Fe^{3+} dapat menimbulkan warna (Effendy, 2007). Hasil uji fitokimia senyawa tanin positif untuk ekstrak etanol 80% dan ekstrak etanol terhidrolisis. Reaksi dugaan yang terjadi pada uji fitokimia senyawa tanin pada Gambar 4.3.



Gambar 4.2 Kompleks besi-polifenol (Perronn dan Brumaghim, 2009)

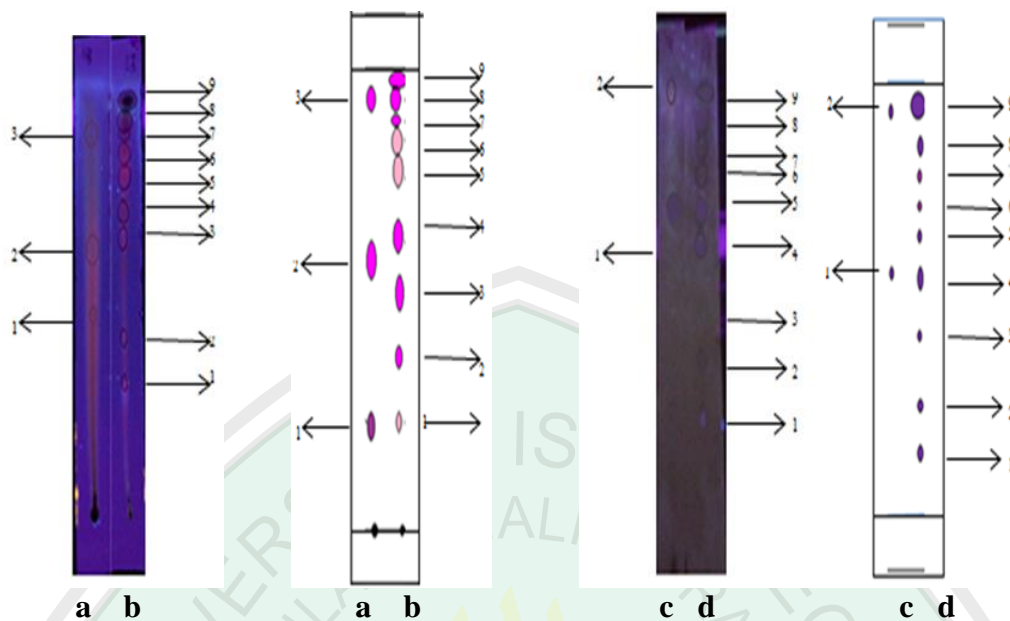
Atom Fe merupakan atom logam, sedangkan atom O dari senyawa tanin merupakan atom nonlogam. Atom Fe adalah atom pusat dari senyawa kompleks tersebut yang menerima donor elektron, sedangkan atom O merupakan atom donor yang memberikan elektron pada atom pusat Fe. Atom donor terdapat pada suatu ion atau molekul netral. Ion dan molekul netral yang memiliki atom-atom donor yang dikoordinasikan pada atom pusat disebut dengan ligan. Atom O dari ligan senyawa tanin memiliki pasangan elektron bebas (PEB). Atom O tersebut bertindak sebagai basa lewis yang mendonorkan PEB pada atom pusat Fe. Fe^{3+} dalam pembentukan senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk hibridisasi d^2sp^3 , sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O (Effendy, 2007).

Ekstrak yang positif mengandung tanin diuji KLTA. Noda-noda yang dihasilkan disemprot dengan reagen FeCl_3 untuk memastikan adanya senyawa golongan tanin dan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm.

Noda yang diduga senyawa tanin adalah noda dengan warna ungu (Harborne, 1987). Pemisahan senyawa tanin terbaik dari ekstrak etanol terhidrolisis dan etanol 80% yaitu menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (3:2). Eluen ini mampu menghasilkan masing-masing 2 dan 9 noda.

Tabel 4.2 Data penampakan noda dugaan senyawa tanin ekstrak etanol 80 % dan etanol terhidrolisis rumput bambu dengan beberapa variasi eluen

No.	Eluen	Ekstrak Etanol 80%			Ekstrak Etanol teridrolisis		
		Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
1.	Butanol : asam asetat : air (14:1:5)	2	0,28;0,68	Tidak terpisah	1	0,11	Tidak terpisah
2.	Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	2	0,87;0,91	Tidak terpisah	3	0,81; 0,91; 0,97	Tidak terpisah
3.	n-heksana : etil asetat (3:2)	9	0,28;0,40 0,63;0,68 0,78;0,85 0,87;0,91 0,96	Terpisah	2	0,66; 0,37;	Terpisah
4.	Klorofom: Metanol: air (7:3:0,4)	8	0,15;0,35; 0,41;0,60; 0,63;0,67; 0,70;0,81	Terpisah	1	0,86	Terpisah
5.	Butanol: asam asetat : air (4:1:2)	2	0,78;0,91	Tidak terpisah	1	0,78; 0,91	Tidak terpisah



Gambar 4.3 Hasil KLTA senyawa tanin ekstrak etanol terhidrolisis (a,c) dan etanol 80% (b,d) dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2)
 (a,b) hasil pengamatan sebelum disemprot reagen FeCl_3
 (c,d) hasil pengamatan setelah disemprot reagen FeCl_3

Tabel 4.3 Dugaan senyawa tanin ekstrak etanol 80% dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2)

Rf	Warna Noda		Dugaan Senyawa Positif
	Sebelum disemprot FeCl_3	Sesudah disemprot FeCl_3	
0,28	Merah muda	Ungu	Tanin
0,40	Ungu	Ungu	Tanin
0,63	Ungu	Ungu	Tanin
0,68	Ungu	Ungu	Tanin
0,78	Merah muda	Ungu	Tanin
0,85	Merah muda	Ungu	Tanin
0,87	Ungu	Ungu	Tanin
0,91	Ungu	Ungu	Tanin
0,96	Ungu	Ungu	Tanin

Tabel 4.4 Dugaan senyawa tanin ekstrak etanol terhidrolisis dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2)

Rf	Warna Noda		Dugaan Senyawa Positif
	Sebelum disemprot	Sesudah disemprot FeCl ₃	
0,66	Ungu	Ungu	Tanin
0,92	Ungu kehitaman	Ungu	Tanin

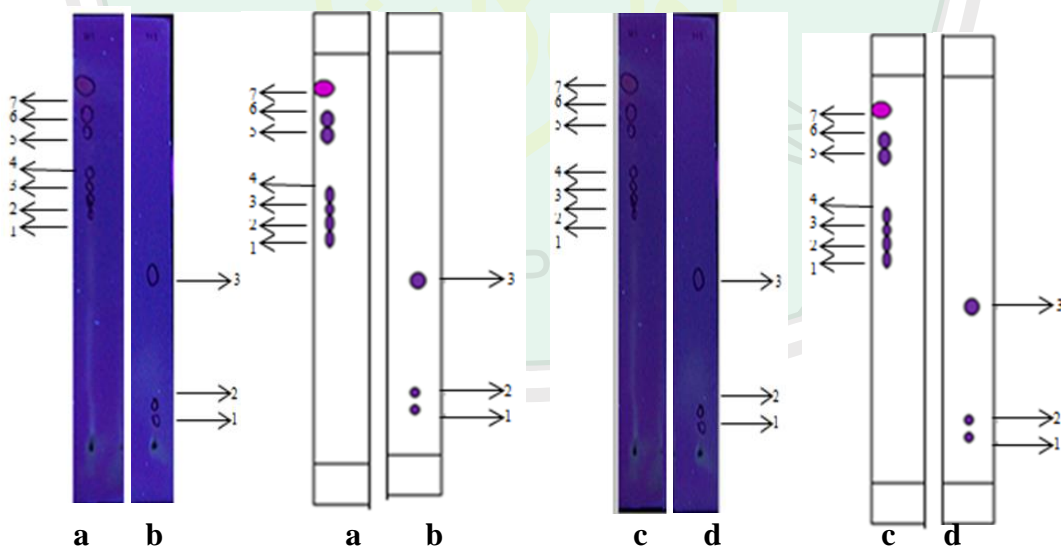
Berdasarkan harga Rf yang dihasilkan pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4 senyawa tanin terdistribusi pada fase gerak yang bersifat non polar dengan mempunyai nilai Rf pada rentang 0,63-0,96.

4.5.2 Uji Triterpenoid

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol terhidrolisis dan fraksi n-heksana rumput bambu positif mengandung senyawa triterpenoid. Senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan reaksi terbentuknya cincin kecoklatan (Robinson, 1995). Senyawa triterpen ketika bereaksi dengan reagen lieberman-Burchard akan mengalami perpanjangan konjugasi menjadi asam sulfonat triterpenheksaene. Perpanjangan konjugasi ini mengakibatkan senyawa triterpen mengalami perubahan warna.

Tabel 4.5 Data penampakan noda dugaan senyawa triterpenoid ekstrak etanol terhidrolisis dan fraksi n-heksana rumput bambu dengan beberapa variasi eluen

No	Eluen	Ekstrak Etanol terhidrolisis			Ekstrak fraksi n-heksana		
		Jumlah noda	Rf	Keterangan	Jumlah Noda	Rf	Keterangan
1.	n-heksana: etil asetat (3:2)	7	0,57;0,61; 0,65;0,68; 0,80;0,85; 0,92	Terpisah	1	0,08	Terpisah
2.	n-heksana: etil asetat (1:4)	1	0,97	Terpisah	1	0,97	Terpisah
3.	n-heksana: etil asetat (17:3)	7	0,06;0,10; 0,12;0,16; 0,21;0,30; 0,50	Terpisah	4	0,06;0,11 0,13;0,17	Terpisah
4.	n-heksana: etil asetat (4:1)	2	0,47;0,66	Terpisah	1	0,07	Terpisah
5.	Benzana: kloroform (3:7)	6	0,07;0,1; 0,41;0,47; 0,53	Terpisah	3	0,06;0,08 ;0,47	Terpisah



Gambar 4.4 Hasil KLT senyawa triterpenoid ekstrak etanol terhidrolisis dan ekstrak fraksi n-heksana. Ekstrak etanol terhidrolisis (a,c) dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2), ekstrak fraksi n-heksana (b,d) dengan eluen benzana:kloroform (3:7) (a,b) Hasil pengamatan sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard (c,d) Hasil pengamatan setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

Tabel 4.6 Dugaan senyawa triterpenoid pada ekstrak etanol terhidrolisis dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2)

Rf	Warna Noda		Dugaan Senyawa Positif
	Sebelum disemprot	Sesudah disemprot	
0,57	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,61	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,65	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,68	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,80	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,85	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,92	Ungu	Ungu	Triterpenoid

Tabel 4.7 Dugaan senyawa triterpenoid ekstrak dengan pada ekstrak fraksi n-heksana dengan eluen benzana: kloroform (3:7)

Rf	Warna noda		Dugaan Senyawa Positif
	Sebelum disemprot	Sesudah disemprot	
0,06	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,08	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,47	Ungu	Ungu	Triterpenoid

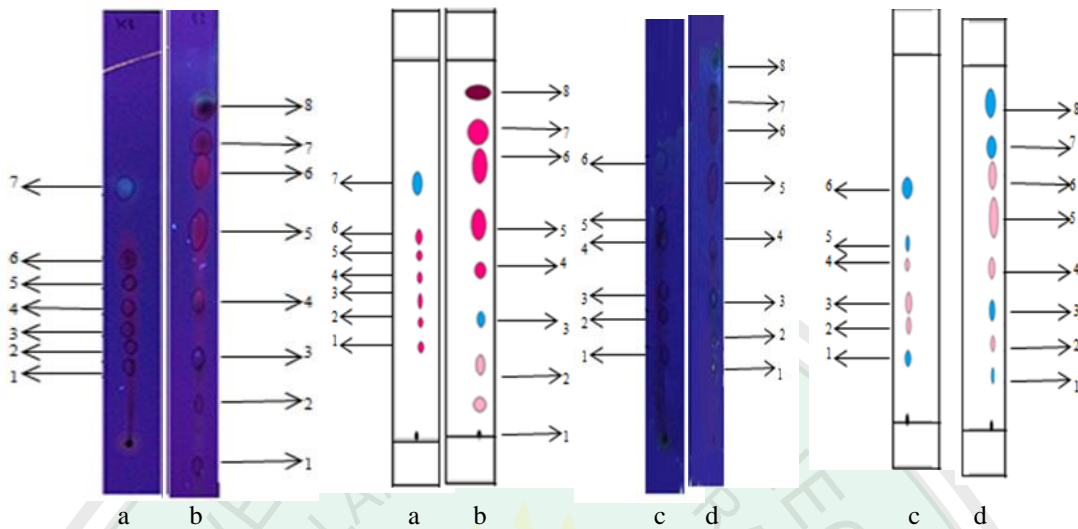
Hasil KLTA golongan senyawa triterpenoid setelah disemprot Lieberman-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna ungu tua (Bawa, 2009). Hasil pemisahan golongan senyawa triterpenoid ekstrak etanol terhidrolisis dan fraksi n-heksana menghasilkan masing-masing 7 dan 3 noda. Noda-noda ini terpisah berdasarkan tingkat kepolarannya. Noda yang memiliki nilai Rf yang kecil diduga cenderung bersifat polar karena noda tersebut lebih terdistribusi ke fase diam. Noda yang memiliki Rf yang tinggi cenderung bersifat non polar karena noda tersebut lebih terdistribusi ke dalam fase gerak. Berdasarkan hasil pengamatan sampel lebih terdistribusi pada fase gerak karena memiliki nilai Rf yang tinggi (0,61-0,92).

4.5.3 Steroid

Identifikasi golongan senyawa steroid pada ekstrak rumput bambu dilakukan menggunakan asam anhidrida asetat dan H₂SO₄ pekat. Steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan menghasilkan produk oksidasi yang memberikan reaksi warna hijau kebiruan. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% dan fraksi kloroform mengandung steroid yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan.

Tabel 4.8 Data penampakan noda dugaan senyawa steroid ekstrak etanol 80% dan fraksi kloroform rumput bambu dengan beberapa variasi eluen

No	Eluen	Ekstrak etanol 80%			fraksi kloroform		
		Jumlah noda	Nilai Rf	Keterangan	Jumlah noda	Nilai Rf	Keterangan
1.	n-heksana: etil asetat (3:2)	6	0,28;0,68; 0,85;0,88; 0,93;0,96	Terpisah	1	0,03	Terpisah
2.	n- heksana: etil asetat (7:3)	8	0,1;0,22; 0,3;0,41; 0,56;0,72; 0,78;0,86	Terpisah	1	0,06	Terpisah
3.	n-heksana: aseton (7:3)	8	0,32;0,48; 0,46;0,50; 0,65;0,68; 0,80;0,86;	Terpisah	1	0,07	Terpisah
4.	n-heksana: etil asetat (7:3)	3	0,13;0,81; 0,87	Tidak terpisah	5	0,55;0,60; 0,73;0,86; 0,87	Tidak terpisah
5.	n-heksana: etil asetat (4:1)	10	0,1;0,12; 0,17;0,23; 0,28;0,35; 0,41;0,47; 0,52;0,66	Terpisah	9	0,11;0,17; 0,22;0,27; 0,31;0,40; 0,43;0,60; 0,63;	Terpisah



Gambar 4.5 Hasil KLTA senyawa steroid fraksi kloroform (a,c) eluen n-heksana : etil asetat (4:1) dan ekstrak etanol 80% (b,d) dengan eluen n-heksana : etil asetat (7:3) (a,b) Hasil pengamatan sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard (c,d) Hasil pengamatan setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

Tabel 4.9 Dugaan senyawa steroid ekstrak etanol 80% dengan eluen n-heksana: etil asetat (7:3)

Rf	Warna noda dibawah lampu UV		Dugaan Senyawa Positif
	Sebelum disemprot reagen LB	Sesudah disemprot reagen LB	
0,10	Merah muda	Biru	Steroid
0,22	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,30	Biru	Biru	Steroid
0,41	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,56	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,72	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,78	Merah muda	Biru	Steroid
0,86	Coklat	Biru	Steroid

Tabel 4.10 Dugaan senyawa steroid fraksi kloroform dengan eluen n-heksana : etil asetat (4:1)

Rf	Warna noda dibawah lampu UV pada 366 nm		Dugaan Senyawa Positif
	Sebelum disemprot reagen LB	Sesudah disemprot reagen LB	
0,11	Merah muda	Biru	Steroid
0,17	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,22	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,27	Merah muda	-	-
0,31	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,40	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,43	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,60	Merah muda	Biru	Steroid
0,63	Biru	Biru	Steroid

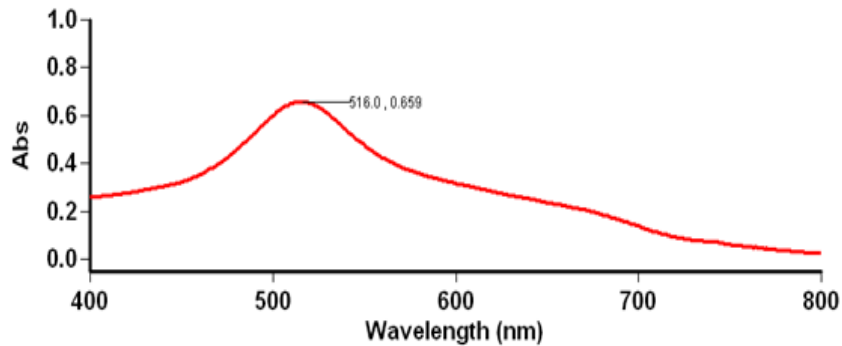
Noda yang diduga golongan senyawa steroid adalah noda dengan warna biru, ungu, sampai coklat setelah disemprot pereaksi Liebermann-Burchard (Syamsudin, dkk., 2007). Hasil pemisahan senyawa steroid pada ekstrak etanol 80% dengan eluen n-heksana : etil asetat (7:3) menghasilkan 8 noda yang terpisah. Pada fraksi kloroform menghasilkan 6 noda dengan eluen n-heksana : etil asetat (4:1). Noda yang ada diduga cenderung terdistribusi pada fase geraknya yang non polar, hal tersebut berdasarkan banyaknya noda yang mempunyai Rf pada rentang (0,56 - 0,86).

4.6 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm dengan menggunakan pelarut etanol (Prakash, 2001). Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,2 mM diperoleh λ maksimal sebesar 516,0 nm. Hal tersebut sesuai dengan penelitian

Saputro dan Sudarsono (2014) panjang gelombang maksimal DPPH sebesar 516,0 nm. Hasil spektra UV-Vis DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.6 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

4.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan

Penentuan waktu kestabilan dilakukan untuk mengetahui waktu antara sampel dan DPPH bereaksi secara sempurna yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi (Lu dan Foo, 2000). Setiap senyawa memiliki waktu kestabilan yang berbeda untuk bereaksi secara sempurna (Brand, 1995).

Tabel 4.11 Waktu kestabilan masing-masing sampel

Sampel	Waktu Kestabilan Range (menit)	Waktu Kestabilan Perhitungan (menit)
Asam askorbat	45-75	60
Etanol 80%	55-75	65
Etanol terhidrolisis	75-95	85
Kloroform	55-75	65
n-heksana	75-95	85

Hasil penentuan waktu kestabilan di atas berbeda-beda karena masing-masing ekstrak memiliki rentang waktu tertentu untuk dapat bereaksi dengan senyawa radikal

DPPH. Pengujian antioksidan diinkubasi pada suhu 37°C karena suhu ini merupakan suhu yang telah terkondisikan sehingga reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa metabolit sekunder akan berlangsung lebih optimal (Suroso, 2011).

4.6.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput bambu dilakukan dengan metode DPPH. Prinsip metode ini adalah pengurangan intensitas warna DPPH akibat berkurangnya jumlah DPPH yang bereaksi dengan sampel menjadi DPPH-H (Molyneux, 2004). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang dan waktu kestabilan yang telah didapat pada tahap sebelumnya.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada empat ekstrak rumput bambu dalam berbagai variasi konsentrasi sampel 12-400 ppm. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas adalah % aktivitas antioksidan. Persen aktivitas antioksidan menggambarkan besarnya konsentrasi sampel yang dapat menangkal radikal bebas (Pratiwi, dkk., 2012).

Tabel 4.12 Persen Aktivitas antioksidan rumput bambu

Konsentrasi (ppm)	% Aktivitas Antioksidan				Vitamin C
	Ekstrak Etanol 80%	Etanol terhidrolisis	Fraksi n-heksana	Fraksi kloroform	
12,0	0,79	20,7	20,7	19,7	95,4
25,0	3,62	23,0	30,1	19,5	96,9
50,0	10,4	22,1	26,3	25,6	98,0
75,0	16,0	23,7	29,6	33,1	97,1
100	19,7	23,3	28,7	34,5	96,8
200	37,1	28,4	38,2	32,7	98,8
400	54,9	29,2	36,9	24,1	98,6

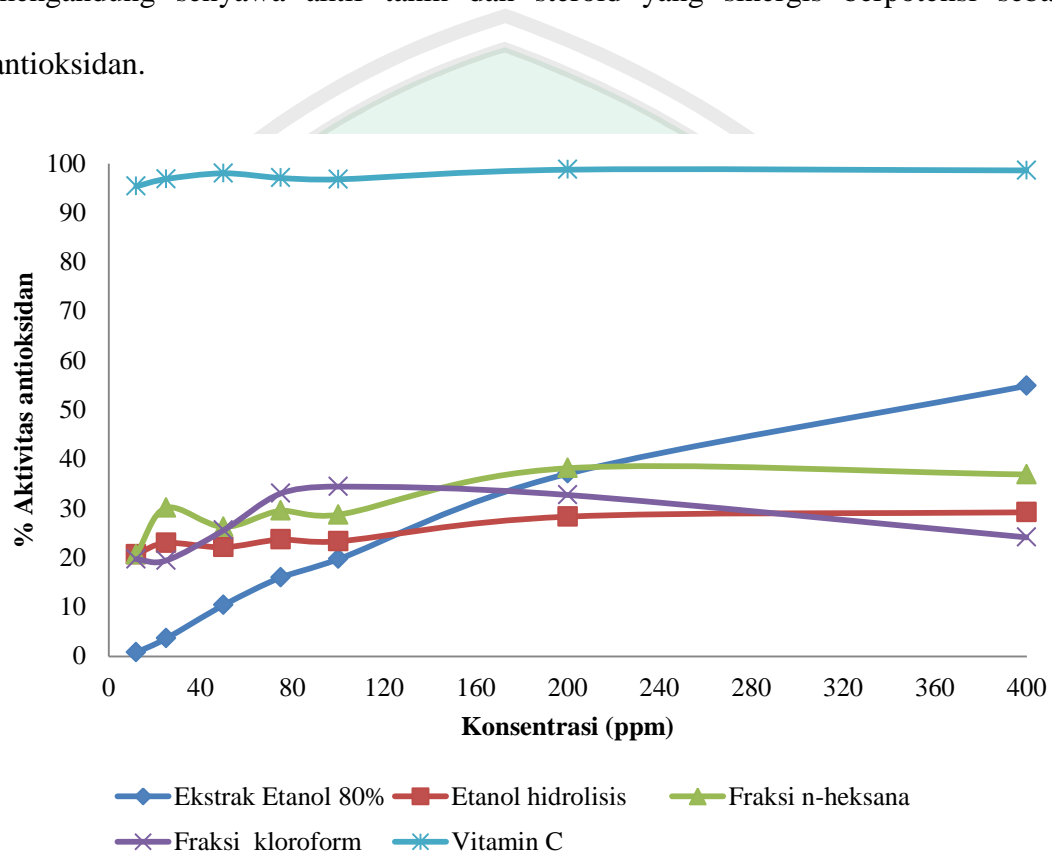
Berdasarkan Tabel 4.12 nilai hasil ekstrak etanol adalah 54,9 % (400 ppm), fraksi n-heksana 38,2 % (200 ppm), fraksi kloroform 34,5 % (100 ppm), dan ekstrak etanol terhidrolisis 29,2 % (400 ppm). Masing-masing ekstrak atau sampel mengandung senyawa yang berbeda-beda. Berturut-turut ekstrak etanol 80%, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana mengandung senyawa tanin dan steroid, tanin dan triterpenoid, steroid, dan triterpenoid.

Senyawa tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan (Dai dan Mumper, 2010 ; Pratiwi, dkk., 2012). Produk radikal bebas yang terbentuk pada senyawa tanin tersebut akan terstabilkan oleh resonansi sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan yang efektif (Wijaya, 2011). Senyawa aktif lain adalah steroid dan triterpenoid yang juga berpotensi sebagai antioksidan (Lu, dkk., 2014 ; Topcu, dkk., 2007).

Perbedaan aktivitas antioksidan terhadap suatu sistem yang mengandung lebih dari satu jenis senyawa aktif disebabkan oleh adanya interaksi yang terjadi antara dua senyawa aktif tersebut. Interaksi ini dapat bersifat sinergis atau antagonis. Sinergisme adalah interaksi antara dua senyawa aktif yang mengakibatkan aktivitas antioksidan keduanya ketika bersama lebih tinggi dibandingkan secara individu. Sedangkan antagonis merupakan interaksi antara dua senyawa aktif yang justru mengakibatkan penurunan terhadap aktivitas antioksidan ketika bersama dibandingkan secara individu (Prieto, dkk., 2011).

Aktivitas antioksidan pada umumnya mengalami kenaikan seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Ekstrak etanol 80 % mengalami kenaikan seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Hal tersebut menandakan semakin besar kemampuan

aktivitas sampel dalam menangkal radikal bebas DPPH. Sampel yang mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi adalah ekstrak etanol 80 % sebesar 54,9 % ditunjukkan pada Gambar 4.11. Hal tersebut diduga karena ekstrak etanol 80% mengandung senyawa aktif tanin dan steroid yang sinergis berpotensi sebagai antioksidan.



Gambar 4.7 Persen aktivitas antioksidan pada sampel

Aktivitas antioksidan tertinggi kedua adalah fraksi n-heksana sebesar 38,2 %. Aktivitas antioksidan fraksi n-heksana mengalami kenaikan pada konsentrasi 12-200 namun pada konsentrasi > 200 ppm mengalami penurunan. Aktivitas antioksidan tertinggi ketiga adalah fraksi kloroform sebesar 34,5%. Aktivitas antioksidan ekstrak fraksi kloroform mengalami kenaikan pada konsentrasi 12-100 ppm namun pada

konsentrasi 200-400 ppm mengalami penurunan. Penurunan nilai tersebut dimungkinkan karena gaya intermolekul antara senyawa metabolit sekunder dan pelarut pada konsentrasi tertentu semakin kuat. Hal ini menyebabkan senyawa metabolit sekunder sulit mereduksi radikal bebas DPPH (Choe dan Min, 2009).

Aktivitas antioksidan terendah dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol terhidrolisis sebesar 29,2 %. Ekstrak etanol terhidrolisis mengandung senyawa tanin dan triterpenoid, diduga kedua senyawa berinteraksi secara antagonisme atau bertentangan sehingga aktivitas antioksidannya rendah. Rendahnya aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh faktor lain yang tidak diketahui secara pasti.

4.7 Pemanfaatan Tanaman Rumput Bambu Sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan alam beserta isinya seperti hewan dan tumbuhan merupakan rahmat yang besar, tidak ada segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT menjadi suatu yang sia-sia, melainkan Allah menciptakan setiap sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Manusia hendaknya merenungkan dan menganalisis semua yang telah diciptakan Allah di alam ini sehingga akan tercipta ilmu pengetahuan yang bermanfaat bagi manusia sendiri. Menurut Imam al Ghazali jalan untuk mengenal Allah adalah mengagungkannya, dengan memikirkan hikmah dan merenungkan keajaiban yang terkandung dalam setiap ciptaan-Nya. Allah memberikan gelar Ulul Albab bagi orang yang berakal dan mau menggunakan pikiran, mengambil faedah, hidayah serta selalu mengingat Allah (berdzikir) disetiap waktu dan keadaan (Shihab, 2002).

Salah satu karunia Allah SWT kepada umat manusia yaitu berupa aneka ragam tanaman dengan segala macam manfaatnya. Banyaknya tanaman yang tumbuh di bumi ini benar-benar menjadi bukti jelas sempurnanya kekuasaan Allah, tidak ada yang mampu menciptakannya kecuali Allah Tuhan Semesta Alam, sebagaimana dalam firman Allah SWT QS. Taha ayat 53.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَآخَرَ بِهِ زَرْحًا مِنْ بَيْنِ أَصْنَافٍ ۚ إِنَّهُ عَالِمُ الْغُيُوبِ ۚ

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” (QS. Thoha: 53).

Allah SWT menciptakan alam beserta isinya seperti hewan dan tumbuhan yang merupakan rahmat yang besar, tidak ada segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT menjadi suatu yang sia-sia, melainkan Allah menciptakan setiap sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Manusia berhak untuk memanfaatkan segala sesuatu yang ada di bumi baik hewan maupun tumbuhan. Allah menumbuhkan berbagai macam tanaman yang salah satunya dapat dimanfaatkan sebagai obat, obat tersebut tidak akan diketahui manusia jika tidak benar-benar memikirkannya, sehingga manusia dengan ilmu pengetahuannya mampu mensyukuri, mengambil hikmah dan mengetahui kebesaran-Nya.

Berdasarkan firman Allah tersebut jelas bahwa Allah menciptakan bumi yang didalamnya banyak terdapat tumbuhan yang baik, yang dimanfaatkan oleh makhluk hidup, diantara tumbuh-tumbuhan tersebut terdapat golongan rumput-rumputan sebagaimana yang tersurat dalam QS. ‘Abasa ayat 25 – 32.

أَنَا صَبَبْنَا آلَ مَاءً صَبَّآ ۚ ۲۵ ثُمَّ شَقَقْنَا آلَ أَرْضٍ شَقَقْنَا ۚ ۲۶ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا
حَبَّآ ۚ ۲۷ وَعِنَبًا وَقَضَّآبًا ۚ ۲۸ وَزَيِّتُونًا ۚ وَنَخْلًا ۚ ۲۹ وَحَدَادًا ۚ وَغُلَّابًا ۚ ۳۰
وَفُكْهَةً ۚ وَأَبَّآ ۚ ۳۱ مَّتَّعْنَا لَكُمْ ۚ وَلَآنَ عَمَّكُمْ ۚ ۳۲

Artinya: “ 25. Sesungguhnya Kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit) 26. kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya 27. lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu 28. anggur dan sayur-sayuran 29. zaitun dan kurma 30. kebun-kebun (yang) lebat 31. dan buah-buahan serta rumput-rumputan 32. untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu”.

Kekuasaan Allah dalam tumbuh-tumbuhan terlihat pada modifikasi tumbuh-tumbuhan sesuai dengan berbagai kondisi lingkungan. Semua tumbuhan memiliki susunan dan bentuk luar yang berbeda dengan tumbuhan lain. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda, sebagaimana tanaman padi yang dapat digunakan sebagai salah satu makanan pokok, begitu juga dengan rumput bambu yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan.

Rumput bambu merupakan salah satu tanaman golongan rumput-rumputan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Hal ini telah dibuktikan dengan hasil penelitian uji fitokimia dan uji aktivitas ekstrak dan fraksi rumput bambu (*Lopatherum gracile* B.) terhadap antioksidan secara in vitro. Hasil penelitian ini

menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% rumput bambu mempunyai efektivitas yang lebih tinggi dari sampel lain.

Pemanfaatan tumbuh-tumbuhan sebagai obat sudah diajarkan dalam Islam sejak dahulu kala. Rasulullah telah memberikan petunjuk tentang cara mengobati diri beliau sendiri, keluarganya dan para sahabat yaitu menggunakan jenis obat yang tidak ada campuran kimia atau obat herbal. Pengobatan nabi menggunakan tiga jenis obat yaitu obat alamiah, obat ilahiyah dan kombinasi antara obat alamiah dan ilahiyah. Pengobatannya berdasarkan wahyu Allah tentang apa yang bermanfaat dan yang tidak berbahaya, misalnya melakukan pengobatan dengan tumbuh-tumbuhan.

Rasulullah telah bersabda: “Sesungguhnya Allah tidak menurunkan satu penyakit, kecuali Dia menurunkan obat penyembuhannya”. Hadits tersebut berlaku secara umum untuk semua jenis penyakit. Nabi Muhammad SAW memosisikan kedudukan antara obat dan penyakit yang saling berlawanan. Jadi setiap penyakit memiliki lawan yaitu obat. Berdasarkan hadits tersebut maka untuk mendapatkan obat dari suatu penyakit maka kita harus berusaha dan berpikir dari apa yang telah diwahyukan Allah sebagai petunjuk bagi kehidupan, dan tentunya tidak hanya sekedar dapat menemukan obatnya saja, melainkan sebagai seorang peneliti juga harus bisa mengembangkan suatu ukuran atau dosis dari obat yang ditemukan. Hal ini juga tersirat dalam al Quran surah al Qomar ayat 49 tentang penciptaan segala sesuatu dengan kadar tertentu:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ۙ ٤٩

Artinya: “Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran” (QS. al Qomar:49)

Ayat ini menyebutkan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah sesuai dengan naluri, sifat-sifat dan fungsinya masing-masing dalam hidup. Maksudnya, Allah memberikan petunjuk-Nya bahwa segala macam yang telah diciptakan merupakan nikmat dan karunia-Nya yang sangat baik. Kata qodarin berarti mengukur, memberi kadar, sehingga pengertian ayat ini adalah memberi kadar/ ukuran/ batas-batas tertentu dalam kemampuan maksimalnya. Semua makhluk telah ditetapkan kadarnya dalam segala hal. Sebagaimana pemanfaatan rumput bambu sebagai alternatif antioksidan dengan kadar tertentu, hal ini tentu juga sesuai dengan salah satu hadits nabi Muhammad SAW berbunyi (Farooqi, 2005) “setiap penyakit ada obatnya. Ketika obat yang diberikan tepat, penyakit itu disembuhkan dengan izin Allah yang maha kuasa” (HR. Muslim).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 80 %, etanol terhidrolisis, fraksi kloroform dan n-heksana rumput bambu terhadap DPPH masing-masing sebesar 54,90 % (400 ppm), 29,23% (400 ppm), 34,45 % (100 ppm), 38,18 % (200 ppm).
2. Berdasarkan uji fitokimia dan KLTA, ekstrak etanol 80 % mengandung senyawa tanin dan steroid, ekstrak etanol terhidrolisis mengandung senyawa tanin dan triterpenoid, fraksi kloroform mengandung senyawa steroid dan n-heksana mengandung senyawa triterpenoid.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan lebih lanjut dengan menggunakan variasi waktu.
2. Perlu dilakukan pemisahan senyawa aktif dengan KLTP untuk mendapatkan fraksi dan isolat yang spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrun, H. M., Umiyah, dan Umayah, U. E. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.). *Jurnal kimia*, Vol. 1(3):45-50.
- Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solonum muricatum* Aiton) yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Attamimi, F. 2001. Tiga Senyawa Baru Cassane Furano Diterpene Hasil Isolasi dari Daging Biji Bagore (*Caesalpinia crista*, L) Asal Sulawesi Selatan Sebagai Bahan Dasar Obat Antimalaria. *Jurnal kimia*, Vol. 2(1): 12-24.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Bawa, I. G. A. G. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*, 3(2):117-124.
- Brand, W.W. 1995. *Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant activity*. London: Elsvier.
- Cahyadi, W. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Makanan*. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara.
- Cannell, R.J.P. 1998. *Natural Products Isolation Methods in Biotechnology*. Totowa: Humana Press.
- Choe, E dan Min D.B. 2009. Antioxidants in the Oxidation of Foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, Vol(8):345-358.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Dai, J., dan Mumper, R. J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Journal Molecules*, Vol.15: 7313-7352.
- Day and Underwood. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.

- Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. S., dan Mohammad, N. S. 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*, Vol.60 (4):405-412
- Departemen Kesehatan RI. 1995. Keputusan Menteri Kesehatan RI NO. 761/Menkes/SK/IX /1992 tentang Pedoman Fitofarmaka. Direktorat Pengawasan Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dewi, L.K. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Biji Rekek (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Dewi, S., Rahman, F., Handayani, N., dan Rahmawati, R. 2010. Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam). *Jurnal kimia*, Lampung: Universitas Lampung.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Djarwis, D. 2004. Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan. Padang: Universitas Andalas.
- Doughari, J.H. 2012. *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*. Nigeria: InTech.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Effendy. 2010. *Teori VSPER, Kepolaran dan Gaya antar Molekul Edisi 3*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Farooqi, M.I. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam; Manfaat Tumbuhan Menurut Al-Qur'an dan Sunnah nabi*. Diterjemahkan oleh: Ahmad, Y. S. Jakarta: PT Mizan Publika.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., dan Nuri. 2011. Uji Anti inflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*, Vol. 16(1):34-42.

- Glitter, R. J. 1991. *Pengantar Kromatografi edisi kedua*. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri*. Jakarta: UI Press.
- Gunawan, D. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hanani, E, Abdul, M, dan Ryany, S. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spongy Spongia sp. Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 2(3) :127-133.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Handoko, D.S.P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis. *Jurnal kimia*, Vol.9(1):9-17
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh: Padmawinata K, Soedira I. Bandung: ITB Press.
- Hayati, E. K., Jannah, A. dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *ALCHEMY*. Vol. 7(1): 53-103.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Diterjemahkan oleh: Badan LITBANG Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. 2009. Chemical Constituents from the Leaves of *Lophatherum gracile*. *Chim. J. Not. Mead*, Vol. 7(6): 428-431.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., dan Kurniai, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Kristianingsih. 2002. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (*Polyscias fruticosa*). *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Kumala, L.D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bandung:IPB.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. 2003. Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di Hutan Tropis Gunung Arjuno. *Jurnal Bahan*, Vol.2 (3):100-104
- Lailah, N. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat. *Skripsi*. Malang: UIN Maliki Malang.
- Lestari, S.M. 2012. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Lenny, S. 2006a. *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Lenny, S. 2006b. *Senyawa Flavonoida Fenil Propanoida dan Alkaloida*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Lu, J. M., Lin, P. H., Yao, Qi., dan Chen, C., 2009. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants. *Experimental approaches and model systems*, Vol.14(4): 840–86
- Lu, Y., dan Foo, F.Y. 2000. Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Polyphenols from Apple. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 68: 81–85.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Mangunwardoyo, W., Cahyaningsing, E dan Usia, T. 2009. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol. 7(2): 57-63.
- Marliana, A.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, Vol. 3 (1): 26 – 31.

- Milyasari, C. 2010. Isolasi Senyawa Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *E.coli* Dari Ekstrak Buah Blimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi*. L). *Skripsi*. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Molyneux, P. 2004. The Use of DPPH for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*, Vol. 26 (2): 211-219.
- Nahari, D. S. 2015. Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dan Penentuan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) serta Efek Terapinya terhadap Aktivitas Superoksida Dismutase Hati Tikus Diabetes. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Perron, R. N dan Brumaghim, L. J. 2009. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem. Biophys.*, Vol. 2(53):75 -100.
- Poedjiadi, A. dan Supriyanti, F. M. T. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories*, Vol. 10(2):-4.
- Pratiwi, D. 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Prieto M.A., Murado M.A., dan Vázquez J.A. 2010. Quantification, characterization and description of synergy and antagonism in the antioxidant response. *Journal of the science of food and agriculture*, Vol.2(60):1-34
- Purwitasari, S. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rahayu, D.S., Dewi, K dan Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrilhidrazil (DPPH). *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Rizqiyah, A. H. 2014. Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Reveny, J. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle L.). *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol. 12(1): 6-12.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh: Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Rohman, A. dan Gandjar, I. B., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Jurnal kesehatan*, Vol.4(1):5-9.
- Saifudin, A. Suparti, Fuad, A., dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun Catharanthusroseus L. G. Don Berbunga Merah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, Vol. 7(2): 92-102.
- Sandrasari, D. A. 2008. Kapitas Antioksidan dan Hubungannya dengan Nilai Total Penol Ekstrak Sayuran Indigenous. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Sani, R. N. 2014. Analisis Rendemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol.2(2):121-126.
- Santi, S. R. 2009. Penelusuran Senyawa Sitotoksis Pada Kulit Biji Nyemplung (*Colopyllum Inopyhllum L.*) Dan Kemungkinan Kolerasi Sebagai Antikanker. *Jurnal Kimia*, Vol. 2(1): 101-108.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Saputro, A. H., dan Sudarsono. 2014. Potensi Penangkapan Radikal 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) Oleh Buah Pisang Susu (*Musa paradisiaca L.* "Susu") dan Pisang Ambon (*Musa paradisiaca L.* "Ambon"). *Traditional Medicine Journal*, Vol. 19(1): 1410-5918
- Setiaji, A. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol 70% Rhizoma Binahong (*Anredera cardifolia* (Tenore) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 Serta Skrining Fitokimianya. *Makalah*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Shahidi, F., Wanasundono, U., dan Amarowicz., 1995. *Isolation and Partial Characterization of Oil Seed Phenolics and Evaluation of Their Antioxidant*

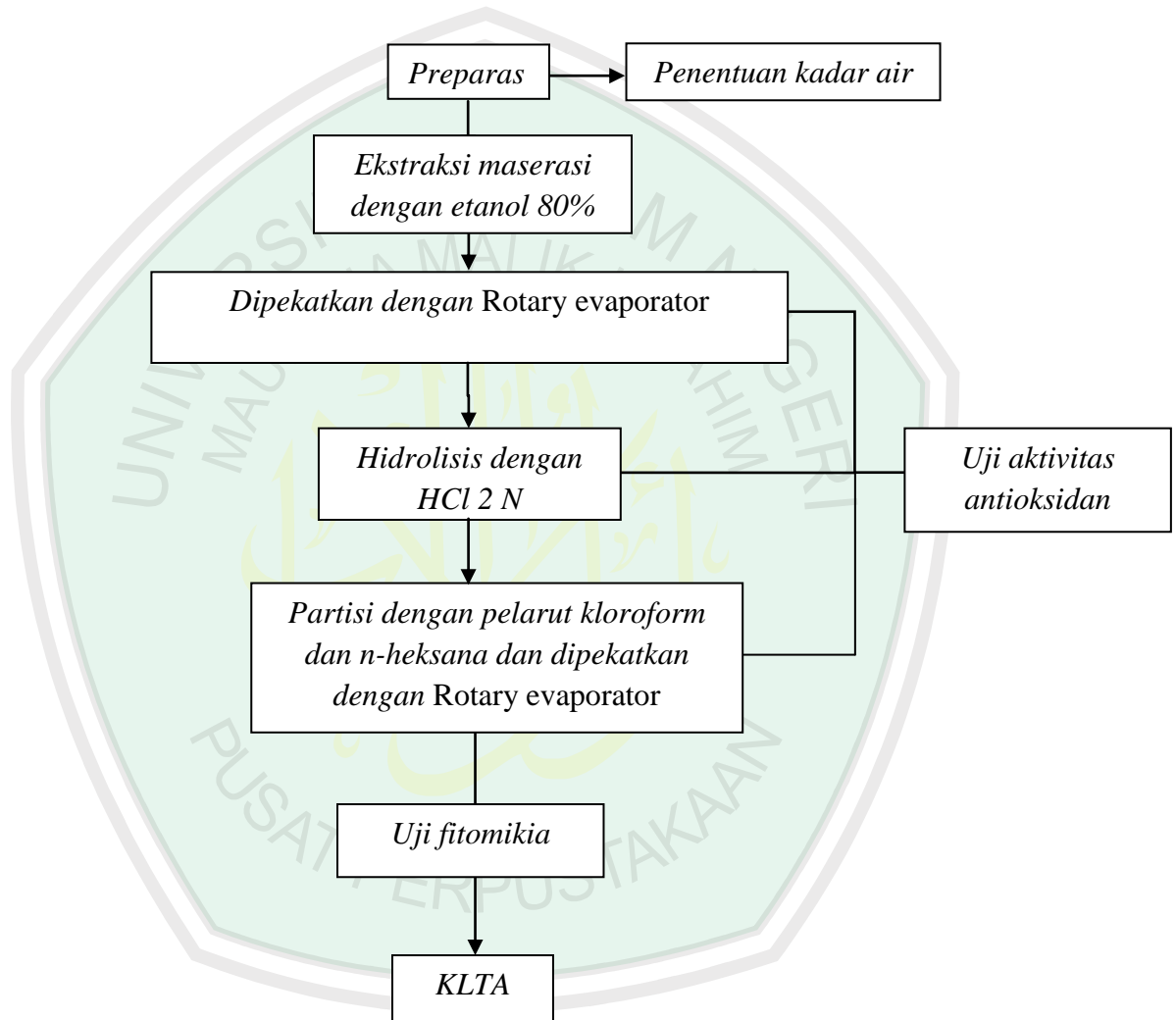
Activity, dalam Charolambous, editor, Food Flavors; Generation, Analysis and Process Influence. London: Elvisier.

- Shihab,Q. 2003. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran.* Jakarta: Lentera Hati.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional.* Yogyakarta: Kanisius.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi.* Bandung: ITB.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach). *Skripsi.* Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis.* Bandung: ITB Press.
- Suhartono. 2002. Uji Kandungan Vitamin E dan Aktivitas Antioksidan Pada Kecambah Kacang Hijau dan Kedelai dengan Umur Berbeda. *Skripsi.* Malang: UIN Mulana Malik Ibrahim.
- Sumardjo D. 2006. *Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran Dan Program Strata 1 Fakultas Biosakta.* Jakarta:EGC.
- Suroso, H.C. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalyphaindica* L.). *Skripsi.* Malang: UIN Mulana Malik Ibrahim Malang.
- Svehla, G.1979. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro Edisi Kelima.* Diterjemahkan oleh: Setiono, L., dan Pudjaatmaka, Hadyana. Jakarta: PT. Kalman Media Pustaka.
- Syamsudin, S., Tjokrosonto., Wahyuono dan Mustofa. 2007. Aktivitas Antiplasmodium dari Dua Fraksi Ekstrak n-heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Skripsi.* Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta.
- Tensiska., Marsetio dan Silvia, O.N.Y. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu. *Hasil Penelitian,* Bandung: Universitas Padjadjaran.

- Topcu, G., Ertas, A., Kolak, U., Öztürk, M., dan Ulubelen, A., 2007. Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. *Journal of chemistry*, Vol.195-208
- Voight, R.1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Diterjemahkan oleh: Soedani Noerono Soewandi. Yogyakarta: UGM press.
- Vogel. 1978. *Text Book of Practical Organic Chemistry, 4th Edition*. London: Longman Group Limited.
- Wijaya, A. 2011. Zat Warna Alam dalam daun Asam jawa (*Taramindus indica* L.) sebagai pewarna alam pada bahan tekstil. *Skripsi*. Bandung: ITB.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- Wang, G., Chen, Y., Wang, T., Lee, C., Chen, K., dan Lee, T. 2008. Flavonoids with INOS inhibitory activity from *Pogonatherum crinitum*. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 118: 71-78.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Wonohadi, E., Ayu, D.P., Agustin, D.B., Liasthirani dan Melani. 2006. Identifikasi Senyawa Antimikroba Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Val & Van Zijp) Secara Bioautografi. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol.3(2): 89-96.

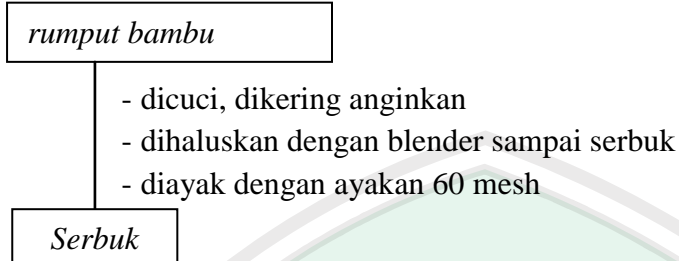
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir

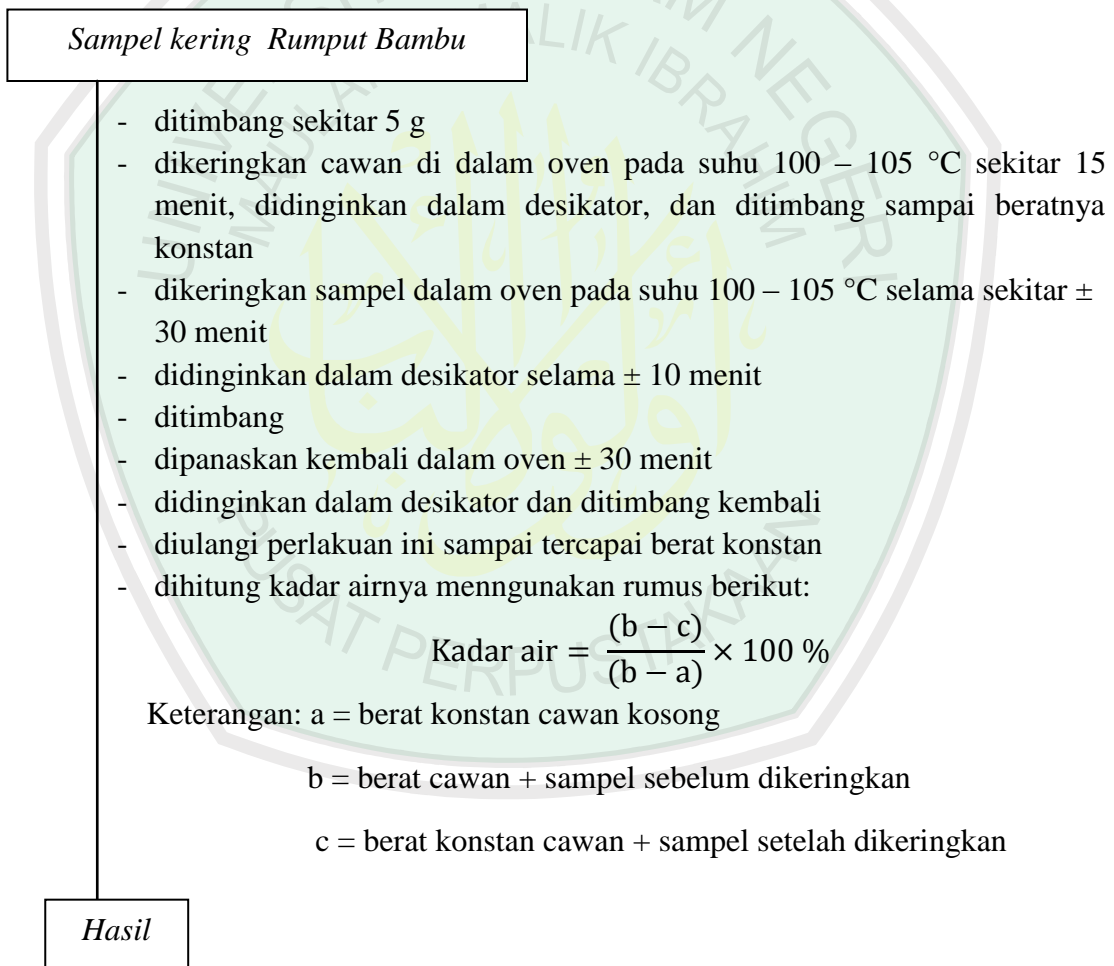


Lampiran 2. Skema kerja

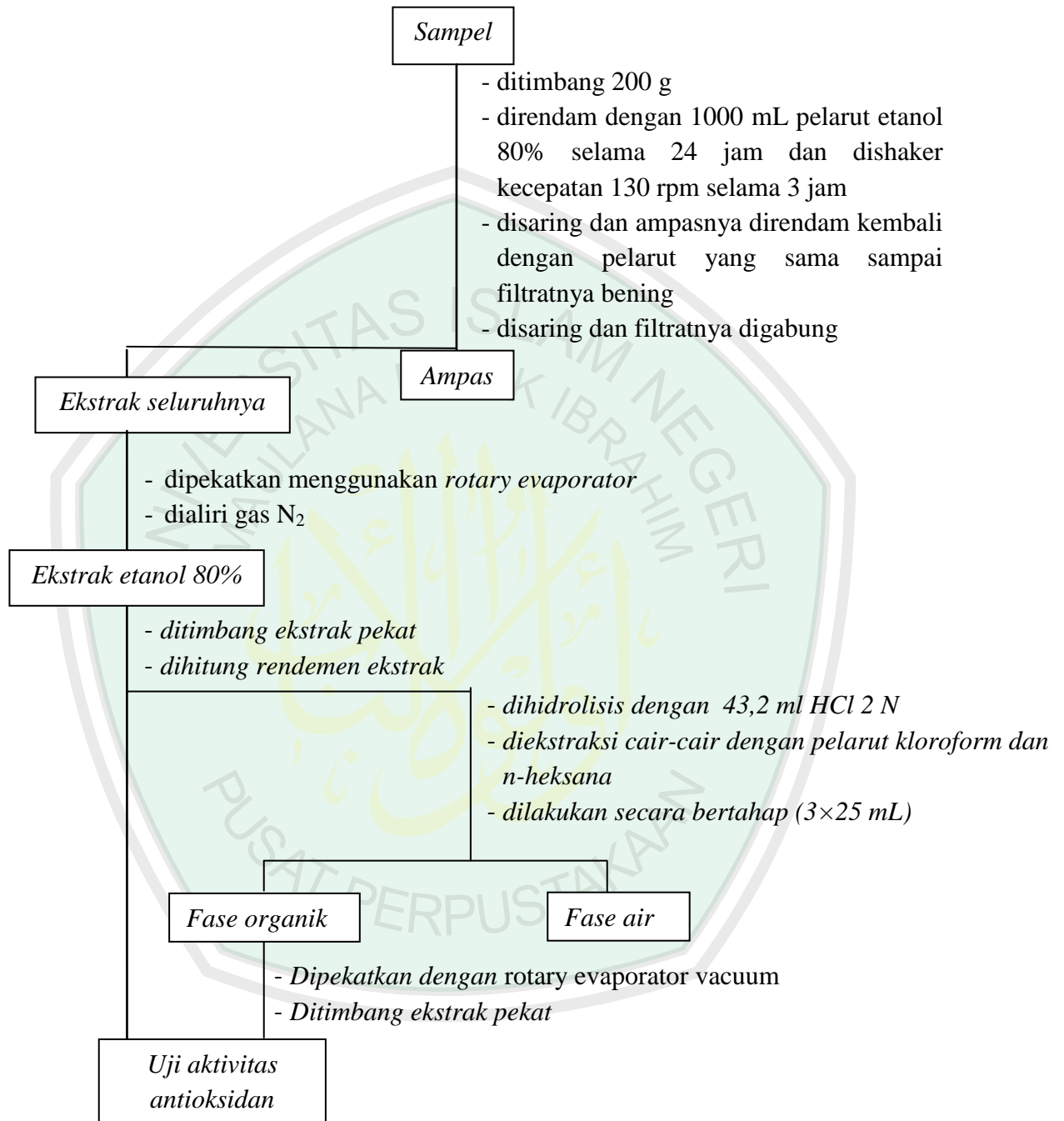
L.2.1 Preparasi Sampel



L.2.2 Analisis Kadar Air (Helrich, 1984)



L.2.3 Ekstraksi Komponen Aktif

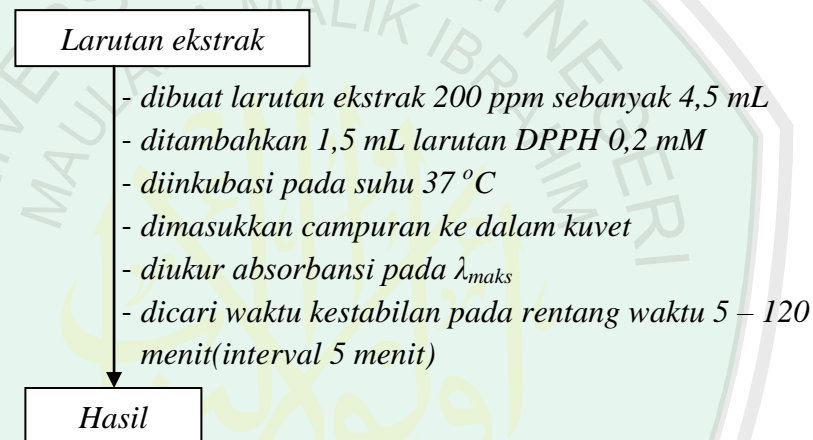


L.2.4 Uji Antioksidan dengan DPPH

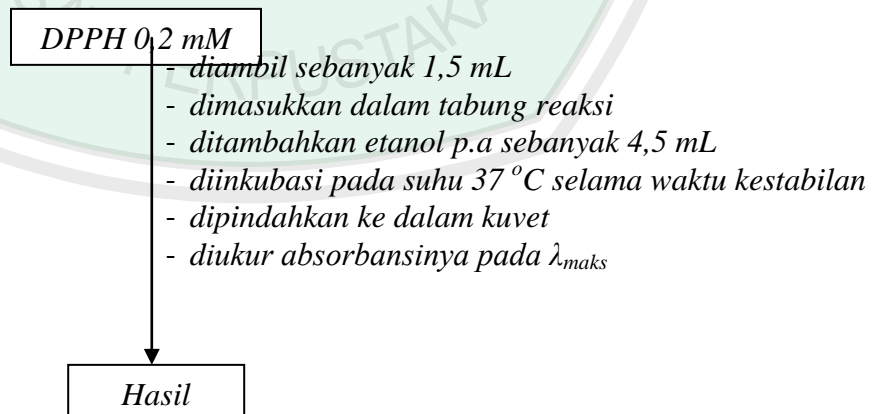
- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



- Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan



- Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Konsentrasi 50, 100, 200, 250 dan 300 ppm
 - a. Absorbansi Kontrol



b. Absorbansi Sampel variasi konsentrasi

Ekstrak etanol 80%, hidrolisis, kloroform dan n-heksana

- dilarutkan pada etanol p.a dengan konsentrasi 12, 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm
- diambil masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL
- ditambahkan 0,2 mM DPPH sebanyak 1,5 mL
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan
- dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansi pada λ_{maks}

Hasil

*Pembanding Vitamin C diperlakukan seperti sampel tetapi sampel diganti dengan larutan Vitamin C.

L.2.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak etanol 80%, etanol terhidrolisis, kloroform dan n-heksana rumput bambu dilakukan dengan membuat 10.000 ppm masing-masing ekstrak, kemudian dilakukan untuk uji alkaloid, flavonoid, tannin, triterpenoid, steroid dan saponin.

L.2.5.1 Uji Alkaloid

0,5 ml ekstrak sampel

- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan 0,5 mL HCl 2 %
- dibagi larutannya dalam dua tabung

Larutan pada tabung I

- ditambah 0,5 mL reagen Dragendorff
- 0,5 ml ekstrak sampel*

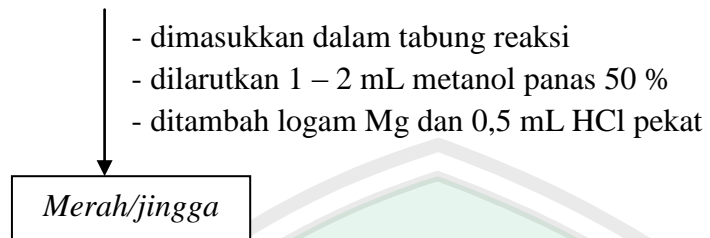
Endapan jingga

Larutan pada tabung II

- ditambah 0,5 mL reagen Meyer

Endapan kekuning-kuningan

L.2.5.2 Uji Flavonoid

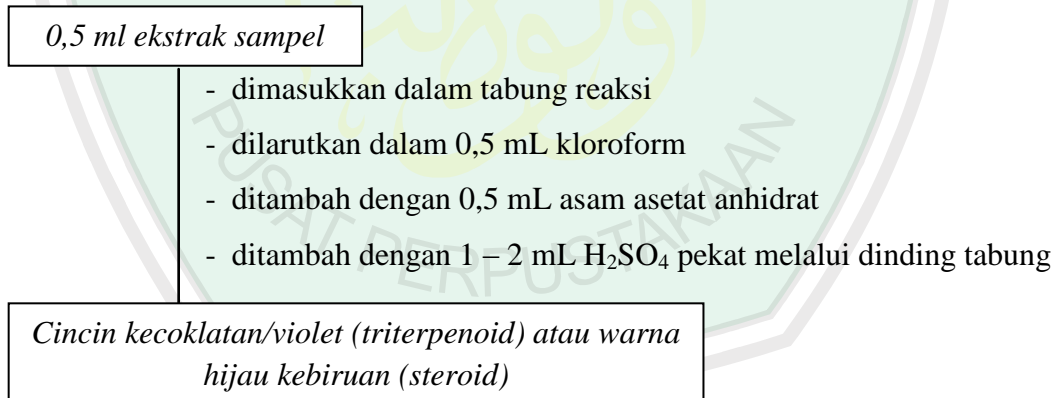


L.2.5.3 Uji Tanin

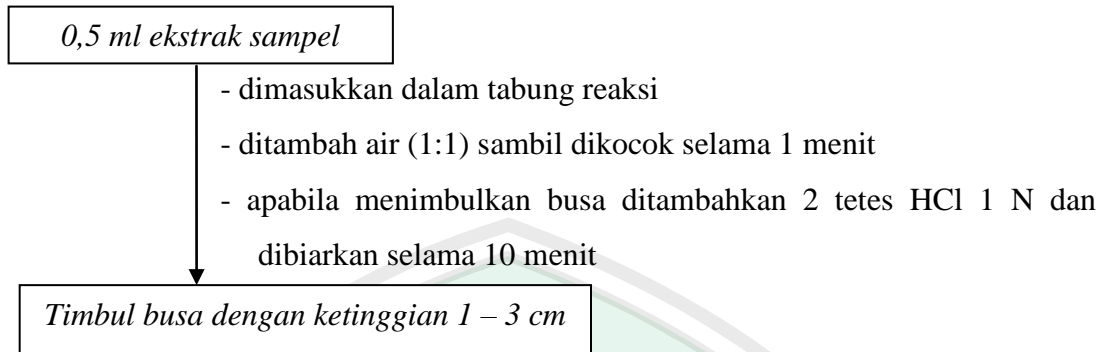
L.2.5.3.1 Uji dengan FeCl₃



L.2.5.4 Uji Triterpenoid/Steroid

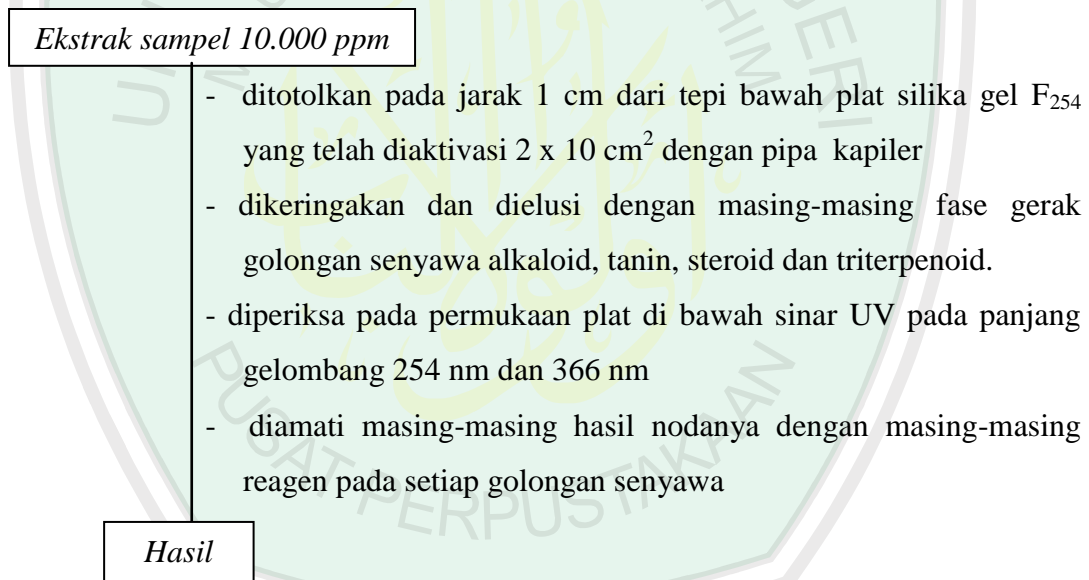


L.2.5.5 Uji Saponin



L.2.6 Pemisahan senyawa aktif dengan KLT Analitik

Uji fitokimia dengan KLT dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji fitokimia dengan uji reagen.



Tabel 1. Jenis-jenis fase gerak dan pendeteksi uji KLT untuk metabolit sekunder

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Tanin	<ol style="list-style-type: none"> 1. butanol : asam asetat : air (14:1:5) 2. butanol : asam asetat : air (4:1:5) 3. kloroform-metanol-air (7:3:0,4) 4. butanol : asam asetat : air (2:0,5:1,1) 5. n-heksana : etil asetat (6:4) 	Pereaksi FeCl_3	Ungu, ungu kehitaman
Steroid	<ol style="list-style-type: none"> 1. n-heksana-etil asetat (6:4) 2. n-heksana-etil asetat (3,5:1,5) 3. n-heksana-aseton (7:3) 4. n-heksana-etil asetat (7:3) 5. n-heksana-etil asetat (8:2)) 	Pereaksi Lieberman-Burchard	Hijau, hijau-biru Biru, ungu, merah muda.
Triterpenoid	<ol style="list-style-type: none"> 1. n-eksana-etil asetat (6:4) 2. n-eksana-etil asetat (2:8) 3. n-eksan-etil asetat (17:3) 4. n-eksan-kloroform (8:2) 5. Benzanaa-kloroform (3:7) 	Pereaksi Lieberman-Burchard	merah-ungu (Violet), ungu tua, merahmuda

Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan

L.3.1 Pembuatan Larutan HCl 2 N

$$\begin{aligned} \text{BJ HCl pekat} &= 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L} \\ \text{Konsentrasi} &= 37\% \\ \text{BM HCl} &= 36,42 \text{ g/mol} \\ n &= 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+) \\ \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\ &= 1 \times \frac{37\% \times \text{BJ HCl} \times 10}{\text{BM HCl pekat}} \\ &= \frac{37\% \times 11,90 \text{ g/mL}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 12,09 \text{ N} \times V_1 &= 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= 16,5 \text{ mL} = 16,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 16,5 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi \pm 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.2 Pembuatan NaHCO₃ 2N

$$\begin{aligned} M &= 2 \text{ M} \\ \text{BJ} &= 84 \text{ gr/mol} \\ V &= 50 \text{ ml} \\ \text{Normalitas NaHCO}_3 &= n \times \text{Molaritas NaHCO}_3 \\ M &= \frac{\text{gr}}{\text{BJ}} \times \frac{1000}{V} \\ 2 \text{ M} &= \frac{\text{gr}}{84 \text{ gr/mol}} \times \frac{1000}{50 \text{ mL}} \\ \text{gr} &= \frac{168}{20} = 8,4 \text{ gr} \end{aligned}$$

Prosedur pembuatannya adalah ditimbang NaHCO_3 sebanyak 8,4 gr, kemudian dilarutkan dengan aquades. Selanjutnya dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan dihomogenkan.

L.3.3 Pembuatan HCl 2%

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

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

$$V_1 = 0,54 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,54 mL menggunakan pipet volume 1 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan Reagen Dragendorff

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O .

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3$ dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam beaker glass untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 g KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL aquades ke dalam beaker glass untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, dkk., 2001).

L.3.5 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl_2 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 1,358 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kemudian larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Selanjutnya diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

L.3.6 Pembuatan Reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat = 5 mL

Anhidrida asetat = 5 mL

Etanol absolut = 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat diambil sebanyak 5 mL dengan pipet volume 5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam. Setelah itu larutan asam sulfat tersebut dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian diambil larutan anhidrida asetat sebanyak 5 mL di dalam lemari asam dan dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah berisi asam sulfat. Selanjutnya diambil larutan etanol absolut 50 mL di dalam lemari asam dan dicampurkan ke dalam asam sulfat dan anhidrida. Kemudian ketiga campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam botol kaca dan didinginkan di dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, dkk., 2001).

L.3.7 Pembuatan Metanol 50%

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

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

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL di dalam lemari asam menggunakan pipet volume 5 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.8 Pembuatan FeCl₃ 1 %

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

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

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

$$\text{g pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g}$$

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

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk FeCl₃.6H₂O sebanyak 1 g menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 99 mL untuk melarutkan serbuk tersebut dengan bantuan pengadukan.

L.3.9 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 20 mL etanol p.a

Mr DPPH = 394,33 g/mol

$$\begin{aligned} \text{Mol DPPH} &= 20 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 20 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000} \\ &= 0,004 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\text{Mg DPPH} = 0,004 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH}$$

$$= 0,004 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} = 1,57 \text{ mg}$$

L.3.10 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Stok 400 ppm Ekstrak Daun Rumpun Bambu

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$\text{larutan stok 1000 ppm} = \text{mg/L dalam 25 mL etanol p.a}$$

$$400 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{25 \cdot 10^{-3} \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 10 \text{ mg}$$

b. Pembuatan Larutan Ekstrak 50 ppm

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

$$V_1 \times 400 \text{ ppm} = 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ mL}$$

c. Pembuatan Larutan Ekstrak 100 ppm

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

$$V_1 \times 400 \text{ ppm} = 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

d. Pembuatan Larutan Ekstrak 200 ppm

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

$$V_1 \times 400 \text{ ppm} = 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 200 \text{ ppm}$$

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

e. Pembuatan Larutan Ekstrak 250 ppm

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

$$V_1 \times 400 \text{ ppm} = 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 250 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 6,25 \text{ mL}$$

f. Pembuatan Larutan Ekstrak 300 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 400 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 300 \text{ ppm} \\V_1 &= 7,5 \text{ mL}\end{aligned}$$



L.4 Data Hasil Penelitian dan perhitungan

L.4.1 Uji kadar air

a. Cawan kosong

No.	Pengulangan		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
1	54,036	61,075	50,213
2	54,036	61,075	50,211
3	54,036	61,074	50,213
4	54,037	61,075	50,213
5	54,036	61,075	50,213
Rata-Rata	54,0362	61,0748	50,2126

b. Cawan + Sampel awal

No.	Pengulangan		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
	61,037	67,075	56,213

c. Cawan + Sampel sesudah konstan

No.	Pengulangan		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
1	60,296	66,317	55,486
2	60,291	66,310	55,481
3	60,295	66,313	55,487
4	60,281	66,321	55,474
5	60,309	66,341	55,471
Rata-rata	60,2944	66,3204	55,4798

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

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

$$\text{Ulangan 1} = \frac{(61,037-60,2944)}{(61,037-54,0362)} \times 100 \% = \mathbf{10,6\%}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 10,6 \%} = 1,11\%$$

$$10,6\% - 1,11\% = \mathbf{9,49\%}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{(67,075-66,3204)}{(67,075-61,0748)} \times 100 \% = \mathbf{12,5\%}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 12,5\%} = 1,14\%$$

$$12,5\% - 1,14\% = \mathbf{11,3\%}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{(56,213-55,4798)}{(56,213-50,2126)} \times 100 \% = \mathbf{12,21\%}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 12,21\%} = 1,13\%$$

$$12,21\% - 1,13\% = \mathbf{11,08\%}$$

$$\text{Rata-rata Kadar air} = \frac{9,49+11,3+11,8}{3} = \mathbf{10,86\%}$$

L.4.3 Rendemen Ekstrak Pekat Etanol 80%

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{7,5 \text{ g}}{90 \text{ g}} \times 100 \% = \mathbf{8,33 \%} \end{aligned}$$

L.4.3 Penentuan Waktu Kestabilan Antioksidan Sampel dan Pembanding

Waktu Inkubasi (menit)	Absorbansi sampel				
	Etanol	Etanol terhidrolisis	n-heksana	Kloroform	Vitamin C
5	0,31	0,21	0,42	0,29	0,015
15	0,32	0,21	0,42	0,28	0,015
25	0,31	0,24	0,43	0,28	0,015
35	0,30	0,25	0,42	0,27	0,010
45	0,30	0,26	0,41	0,27	0,012
55	0,31	0,27	0,41	0,28	0,012
65	0,31	0,28	0,41	0,28	0,012
75	0,31	0,29	0,42	0,28	0,012
85	0,32	0,29	0,42	0,25	0,015
95	0,31	0,29	0,42	0,25	0,012
105	0,35	0,28	0,41	0,25	0,013
115	0,35	0,28	0,40	0,25	0,012
120	0,35	0,28	0,40	0,25	0,012



Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Akar Rumput Bambu



Batang Rumput Bambu



Daun Rumput Bambu



Uji kadar Air



Ekstraksi Maserasi



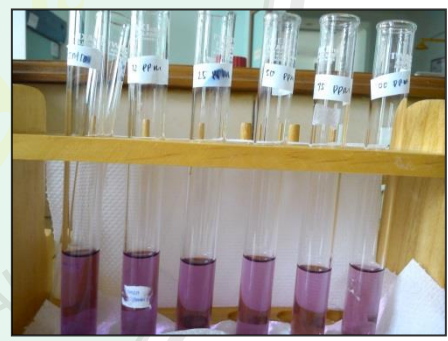
Partisi Kloroform



Partisi n-heksana



Panjang Gelombang dan waktu kestabilan



Pengujian aktivitas antioksidan



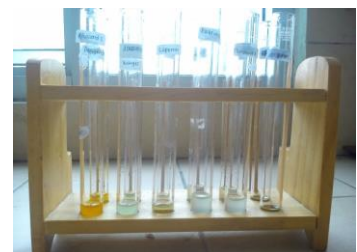
Uji Steroid



Uji Triterpenoid



Uji Tanin



Uji Fitokimia

Lampiran 6. Perhitungan Nilai Rf (Retardation Factor) Hasil KLTA Ekstrak Rumput Bambu (*Lophatherum gracile Brongn*)

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

1. Hasil nilai Rf KLTA Ekstrak Etanol 80%

➤ **Senyawa Tanin**

a. Eluen 1 = Butanol : asam asetat : air (14:1:5)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{2,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \qquad \text{Rf noda 2} = \frac{5,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,68$$

b. Eluen 2 = Butanol : asam asetat : air (4:1:5)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{6,96 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,87 \qquad \text{Rf noda 2} = \frac{7,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91$$

c. Eluen 3 = n-heksana : etil asetat (3:2)

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{2,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 & \text{Rf noda 6} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{3,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,40 & \text{Rf noda 7} &= \frac{6,96 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,87 \\ \text{Rf noda 3} &= \frac{5,04 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63 & \text{Rf noda 8} &= \frac{7,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf noda 4} &= \frac{5,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,68 & \text{Rf noda 9} &= \frac{7,68 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96 \\ \text{Rf noda 5} &= \frac{6,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78 \end{aligned}$$

d. Eluen 4 = kloroform : metanol : air (7:3:0,4)

$$\begin{aligned} \text{Rf noda 1} &= \frac{1,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,15 & \text{Rf noda 6} &= \frac{3,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,44 \\ \text{Rf noda 2} &= \frac{2,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,35 & \text{Rf noda 7} &= \frac{5,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,70 \\ \text{Rf noda 3} &= \frac{3,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41 & \text{Rf noda 8} &= \frac{6,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81 \end{aligned}$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{4,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,60$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{5,04 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63$$

e. Eluen 5 = butanol : asam asetat : air (2:0,5:1,1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{6,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{7,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91$$

➤ **Senyawa Steroid**

a. Eluen 1= n-heksana : etil asetat (3:2)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{2,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{7,04 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{5,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,68$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{7,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,93$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{6,80 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{7,68 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96$$

b. Eluen 2 = n-heksana : etil asetat (7:3)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,80 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,10$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{4,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,22$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{5,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,72$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{2,40 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,30$$

$$\text{Rf noda 7} = \frac{6,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{3,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41$$

$$\text{Rf noda 8} = \frac{6,88 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86$$

c. Eluen 3 = n-heksana : aseton (7:3)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{2,56 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,32$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{5,20 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,65$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{3,68 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,46$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{5,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,68$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{3,84 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,48$$

$$\text{Rf noda 7} = \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,80$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{4,00 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,50$$

$$\text{Rf noda 8} = \frac{6,88 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86$$

d. Eluen 4 = n-heksana : etil asetat (7:3)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,04 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,13 \qquad \text{Rf noda 3} = \frac{6,96 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{6,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81$$

e. Eluen 5 = n-heksana : etil asetat (8:2)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,10 \qquad \text{Rf noda 6} = \frac{2,80 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,35$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{0,96 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,12 \qquad \text{Rf noda 7} = \frac{3,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{1,36 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,17 \qquad \text{Rf noda 8} = \frac{3,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,47$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{1,84 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,23 \qquad \text{Rf noda 9} = \frac{4,16 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,52$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{2,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \qquad \text{Rf noda 10} = \frac{5,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,66$$

2. Hasil nilai Rf KLTA Ekstrak Etanol terhidrolisis**➤ Senyawa Triterpenoid****a. Eluen 1= n-heksana : etil asetat (3:2)**

$$\text{Rf noda 1} = \frac{4,56 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,57 \qquad \text{Rf noda 5} = \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,80$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{4,88 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,61 \qquad \text{Rf noda 6} = \frac{6,80 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{5,20 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,65 \qquad \text{Rf noda 7} = \frac{7,36 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{5,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,68$$

b. Eluen 2 = n-heksana : etil asetat (1:4)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{7,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,97$$

c. Eluen 3 = n-heksana : etil asetat (17:3)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,06 \qquad \text{Rf noda 5} = \frac{1,68 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{0,80 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,10 \qquad \text{Rf noda 6} = \frac{2,40 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,30$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{0,96 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,12 \qquad \text{Rf noda 7} = \frac{4,00 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,50$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{1,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,16$$

d. Eluen 4 = n-heksana : etil asetat (4:1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{3,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,47 \qquad \text{Rf noda 4} = \frac{5,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,66$$

e. Eluen 5 = benzanaa : kloroform (3:7)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,56 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,07 \qquad \text{Rf noda 4} = \frac{3,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,47$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{0,80 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,1 \qquad \text{Rf noda 5} = \frac{4,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,53$$

$$= \frac{3,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41$$

Rf noda 3

➤ Senyawa Tanin**a. Eluen 1 = Butanol : asam asetat : air (14:1:5)**

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,11$$

b. Eluen 2 = Butanol : asam asetat : air (4:1:5)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{6,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81 \qquad \text{Rf noda 3} = \frac{7,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,97$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{7,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91$$

c. Eluen 3 = n-heksana : etil asetat (3:2)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{5,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,66 \qquad \text{Rf noda 3} = \frac{2,96 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,37$$

d. Eluen 4 = kloroform : metanol : air (7:3:0,4)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{6,88 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86$$

e. Eluen 5 = butanol : asam asetat : air (4:1:2)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{6,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78 \qquad Rf \text{ noda 3} = \frac{7,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91$$

3. Hasil nilai Rf KLTA Ekstrak Kloroform**➤ Senyawa Steroid****a. Eluen 1 = n-heksana : etil asetat (3:2)**

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{0,24 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,03$$

b. Eluen 2 = n-heksana : etil asetat (7:3)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{0,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,06$$

c. Eluen 3 = n-heksana : aseton (7:3)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{0,56 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,07$$

d. Eluen 4 = n-heksana : etil asetat (7:3)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{4,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55 \qquad Rf \text{ noda 4} = \frac{6,88 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86$$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{4,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,60 \qquad Rf \text{ noda 5} = \frac{6,96 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,87$$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{5,84 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,73$$

e. Eluen 5 = n-heksana : etil asetat (4:1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,88 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,11 \qquad \text{Rf noda 6} = \frac{3,20 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,40$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,36 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,17 \qquad \text{Rf noda 7} = \frac{3,44 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,43$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{1,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,22 \qquad \text{Rf noda 8} = \frac{4,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,60$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{2,16 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,27 \qquad \text{Rf noda 9} = \frac{5,04 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{2,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,31$$

f. Hasil nilai Rf KLTA Ekstrak n-heksana

➤ **Senyawa Triterpenoid**

a. Eluen 1= n-heksana : etil asetat (3:2)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,64 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,08$$

b. Eluen 2 = n-heksana : etil asetat (1:4)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{7,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,97$$

c. Eluen 3 = n-heksana : etil asetat (17:3)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,48 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,06 \qquad \text{Rf noda 3} = \frac{1,04 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,13$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{0,88 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,11 \qquad \text{Rf noda 4} = \frac{1,36 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,17$$

d. Eluen 4 = n-heksana : etil asetat (4:1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{6,56 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,07$$

e. Eluen 5 = Benzana:kloroform (3:7)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{4,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,06$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{3,76 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,47$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{0,64 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,08$$

