

**OPTIMASI PENGGUNAAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)
PADA PEMISAHAN SENYAWA ALKALOID DAUN PULAI
(*Alstonia scholaris* L.R.Br)**

SKRIPSI

Oleh:
FITRIA RAHMAWATI
NIM. 10630084



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**OPTIMASI PENGGUNAAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)
PADA PEMISAHAN SENYAWA ALKALOID DAUN PULAI
(*Alstonia scholaris* L.R.Br)**

SKRIPSI

**Oleh:
FITRIA RAHMAWATI
NIM. 10630084**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar
Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**OPTIMASI PENGGUNAAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)
PADA PEMISAHAN SENYAWA ALKALOID DAUN PULAI
(*Alstonia scholaris* L.R.Br)**

SKRIPSI

Oleh:
FITRIA RAHMAWATI
NIM. 10630084

Telah Diperiksa dan disetujui untuk Diuji
Tanggal: 07 Januari 2015

Pembimbing I

Pembimbing II

Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm

Ahmad Abtokhi, M.Pd

NIP. 19830628 200912 2 004

NIP. 19761003 200312 1 004

Mengetahui
Ketua Jurusan Kimia

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

**OPTIMASI PENGGUNAAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)
PADA PEMISAHAN SENYAWA ALKALOID DAUN PULAI
(*Alstonia scholaris* L.R.Br)**

SKRIPSI

Oleh:
FITRIA RAHMAWATI
NIM. 10630084

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 07 Januari 2015**

**Penguji Utama : Suci Amalia, M.Sc (.....)
NIP. 19821104 200901 2 007**

**Ketua Penguji : A. Hanapi, M.Sc (.....)
NIPT. 20140201 1 422**

**Sekretaris Penguji : Begum Fauziah, S.Si, M.Farm (.....)
NIP. 19830628 200912 2 004**

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

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Yang Utama Dari Segalanya...

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT. Taburan cinta dan kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta. Atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya skripsi yang sederhana ini dapat terselesaikan. Sholawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat kukasihi dan kusayangi sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada keluarga besar Al-Hasyimiyah, Ibu, Bapak, Tante, Om, Mbak, dan Adek yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan kata cinta dan persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu, Bapak, Tante, Om, Mbak, dan Adek bahagia dan bangga, karna kusadar, selama ini belum bisa berbuat yang lebih untuk Ibu, Bapak, Tante, Om, Mbak, dan Adek yang selalu membuatku termotivasi dan selalu menyirami kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku menjadi lebih baik, Terima Kasih Ibu.... Ibu.... Ibu.....Terima Kasih Bapak, Tante, Om, Mbak, dan Adek

Buat sahabat - sahabatku Echa, Nuna, Maya (Fasion Holich), terima kasih selama 4 tahun ini kalian sudah mau menjadi sahabat-sahabat terbaikku, melewati susah senang dalam masa-masa perkuliahan. Terima kasih atas bantuan, doa, nasehat, hiburan, traktiran dan semangat yang kalian berikan selama ini. Terima kasih juga buat teman – teman satu tim penelitian Pulai (Bak vika, Ima) sudah sangat banyak membantu dan kompak selama penelitian, susah senang tetap semangat penelitian. Terima kasih juga kepada teman – teman seperjuangan Chem B'10 yang turut mendoakan dan selalu gokil dan kompak. Terima kasih buat Afa, Zakinah, Babe, Endut, dan temen-temen yang lain yang selalu mendoakan, menyemangati dan menyayangiku.

Dan teruntuk guru-guruku (TK, SD, MTS, SMA) dan dosen-dosen kimia yang terkasih, khusus kepada Ibu Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si yang telah banyak memberikan bimbingan dan motivasi. Kalian adalah para pendidik generasi yang memberi ilmu dengan kesempurnaan pada pondasi kehidupan dan menjadi penyangga bagi kemajuan negeri. Seluruh Dosen, staf Laboratorium dan Administrasi Jurusan Kimia Terima kasih banyak untuk semua ilmu, didikan dan pengalaman yg sangat berarti yang telah kalian berikan kepada kami...

”Your dreams today, can be your future tomorrow”.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fitria Rahawati

NIM : 10630084

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Optimasi Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
Pada Pemisahan Senyawa Alkaloid Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 Januari 2015

Yang membuat pernyataan,

Fitria Rahmawati

NIM. 10630084

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/ skripsi ini dengan baik.

Penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. DR. H.Mudjia Raharjo, M.Si, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Dr.Bayyinatul Muchtaromah, drh. M.Si selaku Dekan fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm, A. Ghanaim Fasya, M.Si dan Bapak Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
6. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
7. Kakak dan adik penulis yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Malang, 14 Januari 2015

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> L.R.Br.)	8
2.1.1 Deskripsi dan Morfologi Umum Tumbuhan Pulai	8
2.1.2 Taksonomi	9
2.1.3 Manfaat dan Kegunaan dalam Perspektif Islam	10
2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Pulai	13
2.2 Teknik Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder Daun Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> L.R.Br.)	14
2.2.1 Ekstraksi Alkaloid	14
2.2.2 Ekstraksi Maserasi	15
2.2.3 Ekstraksi Cair-cair (Partisi)	16
2.3 Identifikasi Senyawa Aktif	18
2.3.1 Alkaloid	19
2.3.2 Dugaan Reaksi Senyawa Alkaloid Dengan Penambahan Asam dan Basa	22
2.3.3 Klasifikasi Senyawa Alkaloid	23
2.3.4 Sifat-Sifat Fisika Alkaloid	24
2.3.5 Sifat-Sifat Kimia Alkaloid	24
2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	25
2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dua Dimensi	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.2 Alat dan Bahan	29
3.2.1 Alat	29
3.2.2 Bahan	29

3.3 Rancangan Penelitian	30
3.4 Tahapan-Tahapan Penelitian	31
3.5 Pelaksanaan Penelitian	31
3.5.1 Preparasi Sampel	31
3.5.2 Analisis Kadar Air.....	32
3.5.3 Ekstraksi Maserasi Alkaloid Daun Pulai	32
3.5.4 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Daun Pulai	33
3.5.5 Uji Fitokimia	34
3.5.6 Identifikasi Alkaloid dengan KLT Analitik	34
3.5.7 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif	37
3.5.8 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel.....	39
4.2 Analisis Kadar Air Sampel Daun Pulai	41
4.3 Ekstraksi Maserasi Daun Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> L.R.Br)	43
4.4 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Daun Pulai.....	47
4.5 Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Alkaloid	51
4.6 Identifikasi Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulai dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)	54
4.7 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)	61
4.8 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D).....	64
4.8.1 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D) Pada Noda 8	64
4.8.2 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D) Pada Noda 9	68
4.9 Pemanfaatan Tanaman Pulai dalam Perspektif Islam	71
BAB V PENUTUP	
2.1 Kesimpulan	76
2.2 Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	78
LAMPIRAN	84

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Pelarut organik dan sifat fisiknya	18
Tabel 4.1	Kadar Air Sampel Basah dan Kering Daun Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> L.R.Br)	42
Tabel 4.2	Hasil Ekstraksi Maserasi Serbuk Daun Pulai	47
Tabel 4.3	Hasil Ekstraksi Alkaloid Daun Pulai	51
Tabel 4.4	Hasil Uji Fitokimia Pada Masing-masing Ekstrak dan Fraksi	51
Tabel 4.5	Data Penampak Noda dari KLT Analitik Senyawa Alkaloid Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulai Pada Panjang Gelombang 366 nm	58
Tabel 4.6	Hasil Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif	62
Tabel 4.7	Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT Dua Dimensi Noda 8 dengan Varian Eluen Pertama	65
Tabel 4.8	Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT Dua Dimensi Noda 8 dengan Varian Eluen Kedua	66
Tabel 4.9	Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT Dua Dimensi Noda 9 dengan Varian Eluen Pertama	68
Tabel 4.10	Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT Dua Dimensi Noda 9 dengan Varian Eluen Kedua	69
Tabel 4.11	Hasil Jumlah Spot Noda Akhir Varian Eluen Pertama dan Varian Eluen Kedua	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tumbuhan Pulai (<i>A. scholaris</i> L.R.Br	9
Gambar 2.2	Contoh Struktur Senyawa Alkaloid	19
Gambar 2.3	Reaksi Amina dengan Asam Kuat	22
Gambar 2.4	Reaksi Pembebasan Amina dengan Cara Pembasaan	23
Gambar 2.5	Pemisahan Menggunakan KLT Dua Dimensi.....	28
Gambar 4.1	Daun Pulai Sebelum Dikeringkan Dan Setelah Dikeringkan	39
Gambar 4.2	Hasil ekstraksi maserasi daun pulai	47
Gambar 4.3	Reaksi Alkaloid dengan Asam Kuat	48
Gambar 4.4	Reaksi Pembebasan Alkaloid dengan Cara Pembasaan	49
Gambar 4.5	Reaksi Dugaan Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorff	53
Gambar 4.6	Reaksi Dugaan Alkaloid dengan Pereaksi Meyer	54
Gambar 4.7	Hasil KLTA Ekstrak Kasar Alkaloid dengan Eluen Kloroform : Metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)	57
Gambar 4.8	Hasil Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif	63
Gambar 4.9	Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi dengan varian eluen pertama	66
Gambar 4.10	Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi dengan varian eluen kedua	67
Gambar 4.11	Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi dengan varian eluen pertama	69
Gambar 4.12	Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi dengan varian eluen kedua	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Rancangan Penelitian	84
Lampiran 2	Skema Kerja	85
Lampiran 3	Pembuatan Reagent dan Larutan	89
Lampiran 4	Kadar Air	93
Lampiran 5	Hasil Rendemen	97
Lampiran 6	Hasil Pengamatan Uji Fitokimia	99
Lampiran 7	Perhitungan Nilai Rf	100
Lampiran 8	Dokumentasi Penelitian	105



ABSTRAK

Rahmawati, F. 2015. Optimasi Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Pada Pemisahan Senyawa Alkaloid Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) Pembimbing I: Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Konsultan: A. Ghanaim Fasya, M.Si

Kata Kunci: KLT, Alkaloid, *Alstonia scholaris*, L.R.Br

Nabi Muhammad SAW bersabda dalam HR. Bukhari bahwa Allah SWT tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan pula obat untuknya. Tumbuhan Pulai (*Alstonia scholaris*, L.R.Br) merupakan salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat. Hampir semua bagian dari tumbuhan pulai dapat dimanfaatkan sebagai obat dan mengandung senyawa alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris*, L.R.Br) dengan KLT analitik, KLT preparatif dan KLT dua dimensi.

Ekstraksi dilakukan secara maserasi dan dilanjutkan dengan ekstraksi asam basa untuk pengambilan senyawa alkaloid dalam ekstrak etanol. Hasil ekstrak kasar alkaloid dilakukan Uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa aktif metabolit sekunder pada ekstrak tanaman serta dilanjutkan dengan identifikasi senyawa alkaloid dengan KLT analitik untuk memperoleh eluen terbaik. Pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT preparatif dan uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi.

Hasil penelitian menunjukkan kadar ekstrak menggunakan etanol sebesar 14,5246 %, sedangkan kadar ekstrak kasar alkaloid sebesar 0,388 %. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak alkaloid menunjukkan ekstrak positif mengandung alkaloid dengan terbentuk endapan putih ketika ditambahkan reagen Meyer dan endapan jingga ketika ditambahkan reagen Dragendorff. Ekstrak kasar alkaloid diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan diperoleh eluen terbaik yaitu kloroform : metanol : amonia (85:15:1) yang menghasilkan 11 noda, diketahui bahwa 7 spot diduga merupakan senyawa alkaloid. Pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT preparatif menghasilkan 13 noda. Untuk uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi menunjukkan isolat yang diperoleh masih belum murni karena masih belum menghasilkan noda tunggal.

ABSTRACT

Rahmawati, F., 2015. Optimization of the use of Thin-Layer Chromatography (TLC) on the Alkaloid Compound Separation of Leaves Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) Supervisor I: Begum Fauziyah, S.Si, M. Farm; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M. Pd; Consultant: A. Fasya Ghanaim, M.Si

Key words: TLC, Alkaloid, *Alstonia scholaris*, L.R.Br

Prophet Muhammad SAW said in HR. Bukhari which means that Allah SWT has not created a disease without creating a drug for it. Pulai plan (*Alstonia scholaris*, L.R.Br) is one of the plants used as medicine. Almost all parts of this plant can be utilized as a remedy and contains alkaloid compound. This research aims to know the alkaloid separation profile of pulai leaves (*Alstonia scholaris*, L.R.Br) with TLC analytic, preparative TLC, and two-dimensional TLC.

The extraction was done by maceration and acid base extraction for retrieval of alkaloid compound in ethanol extract. The results of the crude extract alkaloid was conducted a Phytochemical test to find out the content of active compound of secondary metabolite in extract plant and then identified the alkaloid compound using analytical TLC to get the best eluen. The alkaloid compound was separated using preparative TLC and the isolate alkaloid purity was tested using two dimensional TLC.

The Result of this study showed the levels of ethanol extract of 14,5246% and crude extract of alkaloid of 0,388%. The phytochemicals test result showed positive extract which contains alkaloid in a white precipitate when it was added reagent Meyer and in an orange precipitation when added reagent Dragendorff. The crude alkaloid extract was identified by using thin-layer chromatography (TLC) and obtained the best IE eluen chloroform: methanol: ammonia (85: 15: 1) that produced 11 stains, it was known that 7 spots allegedly showed an alkaloid compound. The separation of alkaloid compounds with preparative TLC produced 13 stains. The test of isolate alkaloid purity with two dimensional TLC showed the obtained-isolates was still not pristine because it has not produced a single stain yet.

رحماتي، ف، ٢٠١٥، استمثال استعمال كروماتوغرافيا بالطبقة الرقيقة (Thin Layer Chromatography / TLC) على تفريق موحد القلواني (alkaloid) لورقة الستونيا (*Alstonia scholaris L.R.Br*) المشرف الأول : بيغم فوزية الماجستير؛ المشرف الثاني : أحمد أبطخي الماجستير؛ الناصح : أ. غنائم فشا الماجستير.

الكلمات المفتاحية : الستونيا سكولرس، استمثال، TLC، قلواني

قول النبي صل الله عليه و سلم الذي رواه البخاري بأن لا يتزل الله المرض إلا بدوائه. الستونيا سكولرس هو نوع من أنواع النباتات المستفيدة للدواء و تحتوي على موحد القلواني. يهدف هذا البحث لمعرفة صورة لنتيجة تفريق القلواني لورقة الستونيا ——— TLC التحليلي (analytic) و TLC التحضيري و TLC ذو بعدين (two dimensional).

قيم استخراج بعملية التعطين (maceration) و الإستخراج الحَمْضِيّ القَاعِدِيّ (acid-base extraction) لتأخوذ موحد القلواني في خلاصة إيثانول (extract of ethanol). يختبر خلاصة القلواني جافة باختبار كيميائي نباتي (phytochemical) لمعرفة محتوى الموحد الفاعل الثانوي على خلاصة النبات و يستمر باستعراف موحد القلواني بعملية TLC التحليلي لنيل الشايطف الأحسن. أما تفريق موحد القلواني بعملية TLC التحضيري و أما اختبار نقاوة أفرد القلواني بعملية TLC ذو بعدين.

أشارت نتيجة البحث بأن درجة خلاصة إيثانول ——— ١٤،٥٢٤٦ % و درجة خلاصة القلواني ——— ٠،٣٨٨ %. أشارت نتيجة اختبار كيميائي نباتي إلى خلاصة إيجابية التي تحتوي على القلواني مشكّل بِنْفَالَة بيضاء عند زيادة الكاشف مير (Meyer reagent) و مشكّل بِنْفَالَة برتقالية عند زيادة الكاشف دراجندرف (Dragendorff reagent). استعرف خلاصة القلواني جافة ——— TLC و تنال الكاشف الأحسن و هي كلوروفورم : ميثانول : أمونيا (٨٥ : ١٥ : ١) و يحصل على ١١ ملونات، تعرف بأن أشارت ٧ نقط إلى وجود موحد القلواني. تفريق موحد القلواني ب——— TLC التحضيري على ١٣ ملونات. وأشار اختبار نقاوة أفرد القلواني ب——— TLC ذو بعدين بأن الأفرد المحصول لا يزال أصليا لأن لا يحصل ملونا فرديا.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis dan memiliki beraneka ragam tumbuhan. Beberapa tumbuhan di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional (Hariana, 2004). Tumbuhan merupakan salah satu sumber daya alam penting, yang memiliki nilai khusus terutama dari segi ekonomi. Tumbuhan merupakan tempat terjadinya sintesis senyawa organik kompleks yang menghasilkan sederet golongan senyawa dengan berbagai macam struktur. Salah satu keanekaragaman tumbuhan yang terdapat di Indonesia adalah tanaman pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br).

Keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia merupakan salah satu nikmat yang diberikan oleh Allah SWT kepada kita, sehingga kita patut bersyukur dan memanfaatkannya dengan baik, tumbuhan yang telah diciptakan-Nya memiliki bentuk, ciri khas serta berbeda-beda tingkat kelebihan dan kekurangannya (al Maraghi, 1992), sebagaimana firman Allah dalam surat asy Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Q.S. asy syu'ara: 7).

Berdasarkan ayat tersebut lafadz كَرِيمٍ antara lain digunakan untuk menggambarkan sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan

yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Allah SWT telah menumbuhkan dari bermacam-macam tumbuhan yang baik untuk makhluk-Nya yaitu tumbuhan yang bermanfaat. Manfaat tumbuhan salah satunya digunakan sebagai tumbuhan obat, sebagaimana sabda Nabi Muhammad SAW dalam HR. Bukhari (Farooqi, 2005):

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya : “Allah SWT tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan pula obat untuknya.” (HR. Bukhari).

Hadits di atas menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah SWT yang memberikan suatu penyakit beserta penawarnya (obat). Pengetahuan yang akan menuntun manusia untuk menemukan obat-obatan yang telah tersedia di alam, seperti obat dari tumbuhan. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuan, maka tidak akan pernah tahu adanya obat yang berasal dari tanaman yang biasanya tidak dihiraukan.

Tumbuhan pulai merupakan salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat. Pulai telah digunakan sebagai obat penyakit ringan seperti diare, demam, batuk, kencing manis, malaria dan batu ginjal (Hajar dan Noordiyah, 2008). Hampir semua bagian dari tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai obat misalnya bagian daun, batang, akar, rimpang, bunga, buah dan bijinya (Savitri, 2008). Bagian daun dari tumbuhan pulai berkhasiat sebagai antioksidan dan antidiabetes (Sinnathambi, 2010 dan Sinnathambi, 2011).

Kajian etnobotani, fitokimia dan farmakologi terhadap tumbuhan pulai menunjukkan beberapa penelitian di berbagai penjuru belahan dunia antara lain digunakan sebagai obat asma, demam, kanker, tumor, hepatitis, malaria, penyakit

kulit (Dey, 2011). Secara keseluruhan pada bagian tumbuhan ini dilaporkan aktif sebagai antiparasit (Monzon, 1995).

Penelitian mengenai manfaat serta kegunaan bioaktivitas dari tumbuhan pulai telah dikaji oleh Misra dkk. (2011) yaitu tentang uji fitokimia dan aktivitas sebagai antibakteri pada akar, daun, dan kulit batang tumbuhan pulai dengan menggunakan variasi pelarut heksana, benzena, isopropanol, etil asetat, metanol dan air. Analisis fitokimia dari variasi ekstrak ketiga sampel tersebut menunjukkan senyawa yang dihasilkan adalah alkaloid, karbohidrat, terpenoid, steroid dan saponin. Penelitian Luo (2010) menyatakan ekstrak daun pulai menggunakan etanol kemudian difraksinasi menggunakan, petroleum eter, etil asetat dan air menunjukkan adanya senyawaan alkaloid.

Kandungan kimia pada ekstrak daun pulai dengan pelarut n-heksana ditemukan adanya kandungan alkaloid, saponin dan steroid. Pada kulit batang pulai ditemukan adanya terpenoid. Pada ekstrak daun dengan pelarut etil asetat ditemukan adanya alkaloid, terpenoid dan steroid sedangkan pada ekstrak kulit batang hanya ditemukan terpenoid dan pada akar ditemukan adanya alkaloid, terpenoid, steroid dan saponin. Pada ekstrak daun dengan pelarut metanol menunjukkan adanya alkaloid, steroid dan saponin, pada kulit batang dan akar pulai ditemukan adanya alkaloid, terpenoid, steroid dan saponin (Misra dkk., 2011). Khyade (2008) menyatakan bahwa daun pulai mengandung beberapa senyawa, diantaranya adalah acubin/iridoids, kumarin, Phlobatannin, fenolat, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid.

Abraham (2013) melakukan ekstraksi daun pulai dengan menggunakan pelarut etanol menghasilkan ekstrak alkaloid. Kemudian dilakukan pemisahan

alkaloid dengan KLT dan diperoleh eluen terbaik yaitu etil asetat : metanol : air (6:4:2) yang diidentifikasi dengan pereaksi Dragendorff, dimana pada penelitiannya diperoleh 6 noda dan pada noda ke 6 diidentifikasi sebagai alkaloid yang ditunjukkan dengan Rf 0,76 berwarna jingga pudar pada pengamatan di bawah lampu UV yang dipasang dengan panjang gelombang emisi 254 nm dan 366 nm.

Hasibuan (2007) menggunakan eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) dengan penyemprot Dragendorff untuk mengidentifikasi alkaloid dari daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn) menghasilkan dua bercak yaitu Rf 0,35 (hijau) dan Rf 0,62 (merah orange). Untuk uji kemurnian alkaloid dengan KLT dua dimensi menggunakan fase gerak I: kloroform : metanol : amonia (85:15:1) dan fase gerak II: kloroform : etil asetat (60:40), sebagai fase diam adalah silika gel F₂₅₄ dan menghasilkan satu noda setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff yaitu merah orange (Rf 0,69). Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat alkaloid telah murni.

Kusrini (2013) melakukan pemisahan alkaloid dari daun tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan mengidentifikasi dengan pereaksi Dragendorff. Setelah itu dianalisis menggunakan KLT untuk mencari eluen yang tepat. Fase gerak KLT menggunakan eluen etil asetat : etanol : n-heksan (2:1:30) dan kloroform : aseton : methanol (20:3:2) sedangkan fase diamnya menggunakan silika gel 60 GF₂₅₄. Setelah diketahui jumlah komponen senyawa yang terkandung dan mengetahui eluen yang tepat selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif dengan eluen etil asetat : etanol : n-heksan (2:1:30). Untuk uji kemurnian isolat alkaloid menggunakan KLT dengan berbagai eluen dan

menggunakan KLT dua dimensi dengan fase gerak menggunakan eluen etil asetat : etanol : n-heksan (2:1:30) dan kloroform : aseton : methanol (20:3:2). Dari hasil KLT preparatif diperoleh 6 noda dan noda ke 6 mengidentifikasi alkaloid yang ditunjukkan oleh Rf 0,77 berwarna biru terang pada pengamatan dibawah lampu UV 365 nm. Sedangkan KLT dua dimensi pada lampu UV pada panjang gelombang 365 nm menghasilkan noda tunggal yang berwarna biru yang diduga isolat alkaloid telah murni.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk lebih mengoptimalkan variasi eluen dengan menggunakan beberapa eluen terbaik dari penelitian sebelumnya, salah satunya yaitu menggunakan eluen terbaik dari hasil penelitian Abraham (2013) untuk mengidentifikasi alkaloid dengan KLT. Sehingga diharapkan pada penelitian ini akan diperoleh eluen terbaik untuk pemisahan senyawa alkaloid daun pulai.

Pada penelitian ini akan digunakan sampel kering berupa daun pulai. Pemisahan senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 95 %. Kemudian dilakukan uji fitokimia dengan uji reagen, selanjutnya ekstrak alkaloid kasar yang diperoleh dipisahkan dengan KLT analitik yang bertujuan untuk memperoleh eluen terbaik, dilanjutkan dengan KLT preparatif untuk memperoleh ekstrak tunggal. Hasil dari KLT preparatif diuji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi, yaitu bertujuan untuk membuktikan apakah ekstrak tunggal yang dihasilkan dari KLT preparatif spot yang diperoleh menghasilkan senyawa tunggal. Apabila sudah terdapat satu noda berarti diduga isolat alkaloid telah murni.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) dengan KLT analitik?
2. Bagaimana hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) dengan KLT preparatif?
3. Bagaimana profil hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) dengan KLT dua dimensi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui profil hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) dengan KLT analitik.
2. Untuk mengetahui hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) dengan KLT preparatif.
3. Untuk mengetahui profil hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) dengan KLT dua dimensi?

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah tanaman pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) berasal dari Purwodadi, Kab. Pasuruan Jawa Timur.
2. Pelarut yang digunakan untuk memperoleh ekstrak kasar daun pulai secara maserasi adalah etanol 95 % dilanjutkan dengan ekstraksi asam basa.
3. Ekstrak alkaloid dianalisis dengan KLT analitik dan KLT preparatif.
4. Uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat terhadap pemanfaatan tanaman pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) sebagai alternatif penghasil senyawa alkaloid sebagai usaha untuk pembuatan obat-obatan serta mengetahui kandungan golongan senyawanya. Sehingga mempermudah pengkajian lebih lanjut tentang aktivitas dan pemanfaatan senyawa alkaloid dalam bidang kesehatan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Pulau (*Alstonia scholaris* L.R.Br.)

2.1.1 Deskripsi dan Morfologi Umum Tumbuhan Pulau

Pulai adalah nama pohon dengan nama botani *Alstonia scholaris*. Pohon ini dari jenis tanaman keras yang hidup di pulau Jawa dan Sumatera. Kualitas kayunya tidak terlalu keras dan kurang disukai untuk bahan bangunan karena kayunya mudah melengkung jika lembap, tapi banyak digunakan untuk membuat perkakas rumah tangga dari kayu dan ukiran serta patung. Pohon ini banyak digunakan untuk penghijauan karena daunnya hijau mengkilat, rimbun dan melebar ke samping sehingga memberikan kesejukan. Kulitnya digunakan untuk bahan baku obat. Berkhasiat untuk mengobati penyakit radang tenggorokan dan lain-lain (Dalimartha, 1999).

Pulai (*A. scholaris* L.R.Br) yang termasuk suku kamboja-kambojaan tersebar diseluruh Nusantara. Di Jawa pulai tumbuh di hutan jati, hutan campuran dan hutan kecil di pedesaan, ditemukan dari daratan rendah sampai 900 m dpl. Pulai kadang ditanam di dekat pekarangan dekat pagar atau ditanam sebagai pohon hias. Pulai adalah jenis tumbuhan berkayu yang diakui banyak manfaatnya dan memiliki nama beragam. Misalnya lame (Sunda), pulai (Jawa), polay (Madura). Kayu gabus, pulai (Sumatera), hanjalatung (Kalimantan), kaliti, reareangou, bariangow, rariangow, wariangow, mariangan, deadeangow, kita (Minahasa), rite (Ambon), tewer (Banda), aliag (Irian), hange (Ternate) namun yang paling umum adalah pulai (Dalimartha, 1999).

Marga *Alstonia* terdapat banyak jenisnya, ada sekitar 40 jenis tumbuhan. Ciri-ciri umum dari marga *Alstonia* yaitu sebagai berikut: tinggi pohon mencapai 40 m. Daunnya berukuran 3-8 cm; banyak tulang daun. Perbungaan terminalis atau terletak pada ketiak daun yang terletak di bagian ujung cabang, mempunyai tangkai bunga, percabangannya memayung, umumnya warna bunganya putih atau putih kehijauan, kecil. Buahnya berupa bumbung berpasangan. Di alam, jenis-jenis *Alstonia* umumnya tumbuh di daerah terbuka, bersemak, atau di hutan campuran, dengan ketinggian 50 – 1.500 m dpl (Sutomo dan Dyan, 2005).



Gambar 2.1 Tumbuhan Pulai (*A. scholaris* L.R.Br) (Dey, 2011)

2.1.2 Taksonomi

Menurut Dey (2011), klasifikasi tumbuhan pulai (*A. scholaris* L.R.Br) dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Ordo	: Gentianales
Famili	: Apocynaceae
Kelas	: Plumeriae
Subkelas	: Alstoniinae
Genus	: <i>Alstonia</i>
Spesies	: <i>Alstonia scholaris</i> L.R.Br

2.1.3 Manfaat dan Kegunaan dalam Perspektif Islam

Tumbuhan pulai merupakan salah satu tumbuhan yang ada yang berkhasiat dan bermanfaat sebagai obat. Kajian tumbuhan sebagai obat dalam perspektif islam telah di jelaskan dalam firman Allah SWT. Allah SWT menciptakan alam dan isinya seperti hewan dan tumbuh-tumbuhan mempunyai hikmah yang amat besar, semuanya tidak ada yang sia-sia dalam ciptaanNya. Manusia diberikan kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan tersebut (Farooqi, 2005).

Tumbuhan adalah makhluk hidup yang tumbuh dan terdapat di alam semesta. Tumbuhan merupakan sesuatu yang tumbuh, segala yang hidup, berbatang, berdaun dan berakar. Tumbuhan juga dapat melangsungkan proses fotosintesis dengan bantuan dari sinar matahari. Hampir semua bagian dari tumbuhan dapat kita manfaatkan. Salah satu manfaat tumbuhan adalah sebagai obat. Bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah bagian daun, batang, akar, rimpang, bunga, buah, dan bijinya. Sebagaimana disebutkan dalam surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَاءَ وَاتِ بَعِيرٍ عَمَدٍ تَرْوِنَهَا وَأَلْقَاهَا فِي الْأَرْضِ رَوَاسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bui supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”(QS. Luqman: 10).

Berdasarkan ayat tersebut, lafadz *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya.

Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Allah SWT menumbuhkan dari bermacam-macam tumbuhan yang baik untuk makhluknya. Hal ini juga sesuai dengan firman Allah SWT yang menyebutkan bahwa Allah SWT menurunkan segala sesuatu di bumi, termasuk tumbuh-tumbuhan, tidak lain adalah agar dapat memberikan manfaat bagi manusia. Sebagaimana sabda Nabi Muhammad SAW.

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَمِلَهُ وَجَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ

Artinya : “Sesungguhnya Allah tidak menurunkan penyakit kecuali menurunkan pula obatnya. Ada yang tahu, dan ada juga yang tidak tahu“ (HR. Ahmad).

Hadits di atas menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah SWT yang memberikan suatu penyakit beserta penawarnya (obat). Pengetahuan yang akan menuntun manusia untuk menemukan obat-obatan yang telah tersedia di alam, seperti obat dari tanaman. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuan, maka tidak akan pernah tahu adanya obat yang berasal dari tanaman yang biasanya tidak dihiraukan. Semua tumbuhan memiliki susunan dan bentuk yang berbeda. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah SWT tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda. Misalnya tanaman padi yang digunakan sebagai sumber makanan pokok dan ada juga tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai tanaman obat seperti tumbuhan pulai yang digunakan sebagai obat.

Banyak khasiat obat yang dimiliki oleh tumbuhan ini, bahkan pulai merupakan salah satu bahan baku industri fitofarmaka serta obat tradisional. Jenis ini memiliki simplisia yang dikenal dengan nama *Alstoniae cortex* dan *Ditae cortex* (Kulsum dan Gusmailia, 2003). Di Indonesia masyarakat memanfaatkan

pulai sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit-penyakit ringan hingga berat. Pulai berkhasiat untuk mengobati beberapa jenis penyakit dan gangguan kesehatan seperti memperkuat lambung dan isi perut, masuk angin dan limpa yang membengkak, demam, memperlancar pembersihan darah wanita nifas, obat cacing, penolak demam, kencing manis, malaria, maag, wasir, penyakit kulit, obat sepilis, obat beri-beri, mematikan kuman pada luka hewan, obat pematang bengkak, obat kencing batu, batuk berdahak, diare, disentri, kurang nafsu makan, bipertensi, anemia, rematik (Hajar dan Noordiyah, 2008).

Potensi tumbuhan pulai sebagai obat toksoplasmosis telah dibuktikan oleh Kumolosasi dkk. (1999) menunjukkan hasil ekstrak etanol kulit batang pulai terbukti mempunyai efek antitoksoplasma pada mencit terinfeksi *Toxoplasma gondii*. Setiap ekstrak dan obat mempunyai mekanisme penghambatan yang spesifik, begitu pula dengan senyawa-senyawa yang berasal dari tumbuhan (Kayser dkk., 2000). Ekstrak etanol kulit batang pulai yang telah dilakukan oleh Kumolosasi dkk. (1999) mempunyai aktivitas dalam membunuh dan menghambat takizoit *Toksoplasma gondii*. Hal ini juga terbukti aktif pada kombinasi pirimetamine dan sulfonamide serta obat golongan kuinolon dan fluoro kuinolon. Seperti yang telah dikatakan Kayser bahwasanya ekstrak dan obat mempunyai mekanisme penghambatan yang spesifik. Kombinasi pirimetamine dan sulfonamide bekerja dengan menghambat tetrahidrofolat-dehidrogenase (Schunack dkk., 1990). Cara kerja kuinolon adalah dengan menghambat sintesis DNA dengan cara menginhibisi enzim DNA gyrase atau topoisomerase. Fichera dan Roos (1997) menemukan bahwa beberapa antibiotik seperti azithromycin dan

ciprofloksasin dapat menghambat replikasi DNA dalam apicoplast sehingga mampu menghambat pertumbuhan toksoplasma.

2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Pulai

Menurut Hajar dan Noordiyah (2008), kandungan kimia yang terdapat pada berbagai bagian tumbuhan pulai beragam. Bagian akar, kulit batang, getah dan daun pulai memiliki rasa pahit karena adanya kandungan echeretine dan echlcherme. Pada beberapa bagian pohon ini terdapat bahan yang sudah diketahui antara lain alkaloid berupa ditamine, ditaine dan echi-kaetchine. Pada kulit batang, terdapat kandungan saponin, flavonoida, dan polifenol. Soerianegara dan Lemmens (1994), dalam Hajar dan Noordiyah (2008), menyebutkan bahwa kulit kayupulai banyak mengandung alkaloid dan biasa digunakan untuk berbagai keperluan pengobatan. Senyawa kimia yang terkandung di dalam tumbuhan pulai yang sudah diketahui adalah: alkaloid antara lain *echitamin* dalam *Alstonia scholaris*, *alstonin* dalam *Alstonia constricta*, *echitin* dalam *Alstonia scholaris*, dan *alstonidin* dalam *Alstonia constricta*; golongan triterpena yaitu amirin, amirin asetat, lupeol asetat dan beberapa fitosterol; golongan steroid, golongan saponin, dan senyawa lakton (Zuraidah dkk., 2010). Pada kulit batang pulai mengandung saponin, antraknon, tanin, kardinolida, minyak atsiri, alkaloid, flavonoida, dan polifenol. Sedangkan untuk zat pahitnya terdapat kandungan *echeretine* dan *echicherine*. Daun pulai mengandung beberapa senyawa, diantaranya adalah acubin/iridoids, kumarin, phlobatannin, fenolat, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid (Khyade, 2008).

Penelitian Misra dkk. (2011) menunjukkan ekstrak dengan pelarut n-heksana pada daun ditemukan adanya kandungan alkaloid, saponin dan steroid.

Pada kulit batang ditemukan adanya terpenoid. Pada ekstrak dengan pelarut etil asetat pada daun ditemukan adanya alkaloid, terpenoid dan steroid sedangkan pada ekstrak kulit batang hanya ditemukan terpenoid dan pada akar ditemukan adanya alkaloid, terpenoid, steroid dan saponin. Pada ekstrak dengan menggunakan pelarut methanol pada daun menunjukkan adanya alkaloid, steroid dan saponin, pada kulit batang dan akar ditemukan adanya alkaloid, terpenoid, steroid dan saponin. Kandungan metabolit sekunder pada daun pulai antara lain alkaloid, triterpenoid dan saponin (Apriyanti, 2002; Zuhud dan Haryanto, 1994 dalam Hajar dan Noordiyah, 2008).

2.2 Teknik Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br)

2.2.1 Ekstraksi Alkaloid

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu dan jenis pelarut yang digunakan. 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).

Metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi, soxhletasi, penggodakan (refluks), ekstraksi cair-cair (partisi) dan ekstraksi ultrasonik.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dan ekstraksi cair-cair (partisi).

2.2.2 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan proses pengambilan komponen target yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam jangka waktu tertentu (4-10 hari). Prinsip dari ekstraksi maserasi (padat-cair) ini adalah bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) disertai dengan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan, dan filtratnya diuapkan dengan evaporator sehingga diperoleh filtrat yang pekat (Voight, 1995). Menurut Nur dan Adijuwana (1989), pada proses maserasi, pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Voight (1995) mengatakan, kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas karena metode ini dilakukan tanpa proses pemanasan. Kelemahan metode ini antara lain membutuhkan waktu yang

cukup lama dan menggunakan jumlah pelarut yang banyak sehingga tidak efektif dan efisien.

2.2.3 Ekstraksi Cair-cair (Partisi)

Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (senyawa polar akan terbawa dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa dalam pelarut yang semipolar, dan senyawa nonpolar akan terbawa dalam pelarut nonpolar), lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok untuk memperluas area permukaan kontak di antara kedua pelarut sehingga pendistribusian zat terlarut di antara keduanya dapat berlangsung dengan baik. Lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair, dan komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan (Khopkar 2008).

Metode ekstraksi tergantung pada polaritas senyawa yang akan diekstrak. Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya. Prinsip kelarutan yang dipakai adalah *like dissolve like* artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Khopkar 2008). Pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi adalah pelarut polar (untuk melarutkan garam alkaloid,

glikosida dan bahan penyamak) dan pelarut non polar (untuk melarutkan minyak atsiri) (Nur dan Adijuwana, 1989).

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder. Salah satu pelarut alkohol yang digunakan untuk ekstraksi maserasi ini adalah etanol (Lenny, 2006).

Menurut Hardiningtyas (2009), komponen aktif yang dapat diekstrak dari suatu bahan tergantung pada kepolaran pelarut yang digunakan. Senyawa yang terikat pada pelarut polar antara lain alkaloid, asam amino, polihidroksi steroid dan saponin. Sedangkan senyawa yang terikat pada pelarut semi polar antara lain peptida dan depsipectida. Dan senyawa yang terikat pada pelarut non polar antara lain hidrokarbon, asam lemak dan terpen. Konstanta dielektrik (ϵ) merupakan salah satu ukuran kepolaran pelarut yang mengukur kemampuan pelarut untuk menyaring daya tarik elektrostatik antara isi yang berbeda. Meskipun air mempunyai konstanta dielektrikum paling besar (paling polar), namun penggunaannya sebagai pelarut pengekstrak jarang digunakan karena mempunyai beberapa kelemahan seperti menyebabkan reaksi fermentatif (mengakibatkan perusakan bahan aktif lebih cepat), pembengkakan sel dan larutannya mudah dikontaminasi.

Tabel 2.1 Pelarut organik dan sifat fisiknya (Nur dan Adijuwana, 1989)

Pelarut	Titik Didih (°C)	Konstanta Dielektrikum	Polaritas	Massa jenis (g/ mL)
Etanol	79	30	4.3	0,789
Metanol	65	33	5.1	0,791
Air	100	80	10.2	1.000
Heksana	69	2.0	0.1	0.655
Dietil eter	35	4.3	2.8	0.713
Kloroform	61	4.8	4.1	1.498
Etil asetat	77	6.0	4.4	0.894

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak senyawa aktif dalam daun tumbuhan pulai yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Etanol mempunyai titik didih yang rendah yaitu 79 °C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan. Selain itu, etanol juga tidak terlalu beracun dan berbahaya sehingga cenderung aman (Sudarmadji dkk., 2003). Sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Luo dkk. (2010) dalam mengekstraksi alkaloid dari daun pulai dengan pelarut etanol secara maserasi sebagai antiinflamasi menghasilkan rendemen 32 %, kemudian ekstrak pekatnya diteruskan dengan fraksinasi dengan etil asetat, petroleum eter dengan hasil rendemen masing-masing 3,4 %, 2,6 % dan fraksi air 20,8 %.

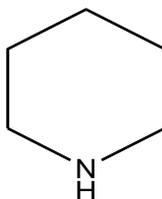
2.3 Identifikasi Senyawa Aktif

Identifikasi senyawa aktif dilakukan dengan uji fitokimia, uji ini merupakan tahapan pendahuluan yang dapat membantu memberikan gambaran tentang golongan senyawa aktif berupa metabolit sekunder yang terkandung

dalam tumbuhan. Secara umum metodenya sebagian besar merupakan reksi pengujian warna (*spot test*) dengan suatu pereaksi warna (Kristanti dkk., 2006).

2.3.1. 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 dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Achmad, 1986). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson, 1995). Fungsi alkaloid pada tumbuhan yakni sebagai zat beracun untuk melawan serangga atau hewan pemakan tumbuhan, faktor pengatur tubuh, substansi cadangan untuk memenuhi kebutuhan nitrogen dan elemen-elemen lain yang penting bagi tumbuhan. Sedangkan dalam pengobatan, alkaloid memberikan efek fisiologis pada susunan syaraf pusat (obat anti rasa sakit dan obat tidur), dalam jumlah besar sangat beracun bagi manusia (Sumiwi, 1992).



Gambar 2.2 Contoh Struktur Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan memakai pelarut atau pereaksi kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) palingbanyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampersemua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5 %, asam tanat 5 %, dan pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) (Robinson, 1995). Penelitian yang telah dilakukan Misra dkk, (2011) yaitu ekstrak dari berbagai variasi tumbuhan pulai daun, kulit batang dan akar dengan menggunakan pelarut methanol dan etil asetat menunjukkan adanya alkaloid.

Menurut Harborne (1987), sebagai basa alkaloid biasanya diekstraksi dari tumbuhan dengan pelarut alkohol yang bersifat asam lemah (HCl 1 M atau asam asetat 10 %) kemudian diendapkan dengan amoniak pekat. Uji fitokimia alkaloid dapat dilakukan dengan cara sebanyak 0,1 gr ekstrak dilarutkan dalam 10 mL CHCl_3 dan 4 tetes NH_4OH kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam tabung reaksi tertutup kemudian ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2 M, dikocok lalu lapisan asamnya dipisahkan ke dalam tabung reaksi yang lain. Lapisan asam yang diperoleh kemudian diuji dengan menggunakan reagen Meyer (kalium tetraiodomerkurat), Dragendorf (kalium tetraiodobismutat), dan Wagner (iodium dalam kalium iodida). Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih dan kekuning-kuningan (dengan pereaksi Meyer), endapan merah, jingga (dengan pereaksi Dragendorf), dan endapan coklat (dengan pereaksi Wagner) (Harbone, 1987).

Pemisahan alkaloid dengan KLT dapat menggunakan pereaksi penyemprot Dragendorff. Setelah disemprot, plat akan menunjukkan bercak coklat-jingga/orange-merah/coklat berlatar belakang kuning (Harborne, 1987). Pereaksi ini dibuat dari bismut nitrat, asam tartarat, kalium iodida dan air.

Sriwahyuni (2010) memperoleh eluen terbaik untuk memisahkan senyawa alkaloid dari ekstrak etil asetat tanaman anting-anting yakni menggunakan eluen kloroform-metanol (9,5:0,5) dan penyemprot Dragendorff. Dimana pada penelitiannya, diperoleh 5 noda dan 2 noda diantaranya mengidentifikasi alkaloid yang ditunjukkan oleh Rf 0,78 berwarna kuning pada pengamatan tanpa sinar UV, jingga kecoklatan pada UV 366 nm dan Rf 0,87 berwarna hijau kecoklatan pada pengamatan tanpa sinar UV, berwarna jingga kecoklatan tua pada UV 366 nm.

Sedangkan Lestari (2012) menggunakan eluen kloroform-metanol (8:3) lalu disemprot dengan pereaksi Dragendorff untuk mengidentifikasi alkaloid dari ekstrak n-butanol daun sidaguri, menghasilkan noda dengan Rf 0,59 yang berwarna coklat jingga dengan latar belakang kuning. Sedangkan Arifin *dkk.* (2006), mendeteksi alkaloid pada ekstrak etanol daun *Eugenia cumini* Merr menggunakan eluen etil asetat-metanol-air (100:13,5:10) dan penyemprot Dragendorff menghasilkan noda dengan Rf 0,83 yang berwarna jingga dibawah sinar UV 365 nm.

Sari (2010) menggunakan eluen etil asetat-metanol (3:1) dengan penyemprot Dragendorff menghasilkan noda dengan Rf 0,62 berwarna jingga pada pengamatan tanpa sinar UV untuk memisahkan senyawa alkaloid (kafein) dari daun teh. Sedangkan Setiaji (2009), memisahkan senyawa alkaloid dari

ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70% rhizoma binahong yang disemprot dengan penyemprot Dragendorff. Diperoleh hasil berturut-turut dengan eluen pengembang benzena-etil asetat (1:4) diperoleh Rf 0,83 menghasilkan noda berwarna jingga dengan pereaksi penyemprot, berfluorosensi kuning pada UV 366 nm; eluen pengembang kloroform-metanol (1:4) diperoleh Rf 0,93 berwarna jingga dengan pereaksi penyemprot, berfluorosensi kuning pada UV 366 nm.

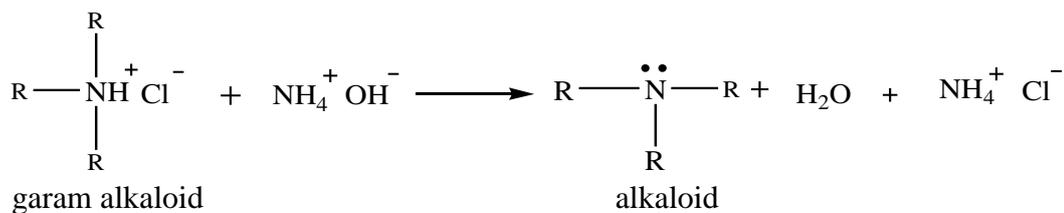
2.3.4 Dugaan Reaksi Senyawa Alkaloid Dengan Penambahan Asam dan Basa

Penambahan asam bertujuan untuk menarik alkaloid dan membentuk garam alkaloid/amina serta memperbesar kelarutan alkaloid dalam air (Robinson, 1995). Alkaloid/amina bereaksi dengan asam kuat akan membentuk garam alkilamonium. Jenis reaksi ini digunakan untuk memisahkan amina dari zat netral atau zat yang larut dalam air bersuasana asam.



Gambar 2.3 Reaksi Amina dengan Asam Kuat

Dengan penambahan NH_4OH , alkaloid yang semula dalam bentuk garamnya yang larut dalam air akan menjadi alkaloid bebas yang tidak larut dalam air tapi larut dalam pelarut organik. Dimana proses ini merupakan proses pembebasan amina dari garamnya dengan penambahan basa lemah yang sesuai reaksi pada gambar 2.4 (Robinson, 1995).



Gambar 2.4 Reaksi pembebasan amina dengan cara pembasaan

2.3.3 Klasifikasi Senyawa Alkaloid

Pada bagian yang memaparkan sejarah alkaloid, jelas kiranya bahwa alkaloid sebagai kelompok senyawa, tidak diperoleh definisi tunggal tentang alkaloid. Sistem klasifikasi yang diterima, menurut Hegnauer, alkaloid dikelompokkan sebagai (a) Alkaloid sesungguhnya, (b) Protoalkaloid, dan (c) Pseudoalkaloid. Meskipun terdapat beberapa pengecualian (Sastrohamidjojo, 1996).

1. Alkaloid sesungguhnya

Alkaloid sesungguhnya adalah racun, senyawa tersebut menunjukkan aktivitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa; lazim mengandung Nitrogen dalam cincin heterosiklik; diturunkan dari asam amino; biasanya terdapat “aturan” tersebut adalah kolkhisin dan asam aristolokhat yang bersifat bukan basa dan tidak memiliki cincin heterosiklik dan alkaloid quartenar, yang bersifat agak asam daripada bersifat basa (Sastrohamidjojo, 1996).

2. Protoalkaloid

Protoalkaloid merupakan amin yang relatif sederhana dimana nitrogen dan asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik. Protoalkaloid diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Pengertian “amin biologis” sering digunakan untuk kelompok ini. Contoh; adalah meskalin, ephedin dan N,N-dimetiltriptamin (Sastrohamidjojo, 1996).

3. Pseudoalkaloid

Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino. Senyawa biasanya bersifat basa. Ada dua seri alkaloid yang penting dalam khas ini, yaitu alkaloid steroidal (contoh; konessin dan purin (kaffein)) berdasarkan atom nitrogennya (Sastrohamidjojo, 1996).

2.3.4 Sifat-Sifat Fisika Alkaloid

Kebanyakan alkaloida yang telah diisolasi berupa padatan kristal dengan titik lebur yang tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Sedikit alkaloid yang berbentuk amorf, dan beberapa seperti nikotin dan koniin berupa cairan (Sastrohamidjojo, 1996).

Kebanyakan alkaloid tidak berwarna, tetapi beberapa senyawa yang kompleks, spesies aromatik yang berwarna (contoh berberin yang berwarna kuning dan betanin yang berwarna merah). Pada umumnya, basa bebas alkaloid hanya larut dalam pelarut organik meskipun pada beberapa pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air. Garam alkaloid dan alkaloid quartener sangat larut dalam air (Sastrohamidjojo, 1996).

2.3.5 Sifat-sifat Kimia Alkaloid

Kebanyakan alkaloid bersifat basa. Sifat tersebut tergantung pada adanya pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron, sebagai contoh; gugus alkil, maka ketersediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa lebih bersifat basa. Hingga trietilamin lebih basa daripada dietilamin dan senyawa dietilamin lebih basa daripada etilamin. Sebaliknya bila gugus fungsional yang berdekatan bersifat

menarik elektron (contoh; gugus karbonil), maka ketersediaan pasangan elektron berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan alkaloid dapat bersifat netral atau bahkan sedikit asam. Contoh; senyawa yang mengandung gugus amida (Sastrohamidjojo, 1996).

Kebasaan senyawa alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat mudah mengalami dekomposisi, terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Hasil dari reaksi ini sering berupa N-oksida. Dekomposisi alkaloid selama atau setelah isolasi dapat menimbulkan berbagai persoalan jika penyimpanan berlangsung dalam waktu yang lama. Pembentukan garam dengan senyawa organik (tartarat, sitrat) atau anorganik (asam hidroklorida atau sulfat) sering mencegah dekomposisi. Itulah sebabnya dalam perdagangan alkaloid lazim berada dalam bentuk garamnya (Sastrohamidjojo, 1996).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya. Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar yang digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecendrungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecendrungan molekul untuk menguap dan kecendrungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi, penjerapan) (Hendayana, 2006).

Gritter dkk. (1991) menyatakan bahwa kromatografi lapis tipis (KLT) pada hakikatnya melibatkan 2 peubah yaitu sifat fasa diam atau sifat lapisan dan sifat fasa gerak atau campuran pelarut pengembang. Fasa diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap, penyangga atau lapisan zat cair. Pada penelitian ini digunakan fasa diam berupa silika gel yang mampu menjerap senyawa yang akan dipisahkan. Fasa gerak dapat berupa hampir segala macam pelarut atau campuran pelarut, sebagaimana dalam penelitian ini digunakan campuran pelarut yang efektif untuk memisahkan masing-masing komponen senyawanya yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda.

Lapisan tipis (plat silika gel F254) yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator flourosensi yang ditambahkan untuk membantu penampakkan bercak tak warna pada plat yang telah dikembangkan. Indikator fluorosensi adalah senyawa yang memancarkan sinar (lampu UV). 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 sambil melepaskan energi (Gritter dkk., 1991).

Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapisan tipis dapat menggunakan harga R_f (*Retardation factor*) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan, yaitu:

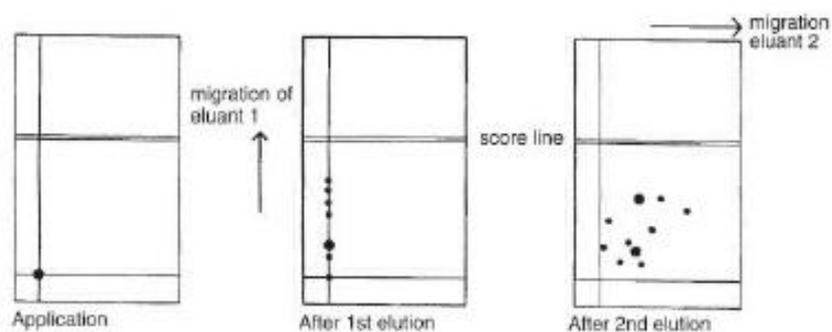
$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Harga Rf berjangka antara 0,00 – 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Harga Rf dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap, jenis eluen dan jumlah cuplikan (Sastrohamidjojo, 1991).

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dua Dimensi

KLT dua arah biasa disebut juga dengan KLT dua dimensi. Merupakan salah satu metode yang dapat memungkinkan pemakaian fase diam yang lebih luas untuk memisahkan campuran yang mengandung banyak komponen. Selain itu, dua system pelarut yang sangat berbeda dapat dipakai secara berurutan pada campuran tertentu, jadi memungkinkan pemisahan campuran yang mengandung komponen yang kepolarannya sangat berbeda (Gandjar, 2009).

Secara singkat pengerjaan KLT dua dimensi ialah sebagai berikut: sampel ditotolkan pada lempeng lalu dikembangkan dengan satu sistem fase gerak sehingga campuran terpisah menurut jalur yang sejajar dengan salah satu sisi. Lempeng diangkat, dikeringkan dan diputar 90° , dan diletakkan dalam bejana kromatografi yang berisi fase gerak kedua, sehingga bercak yang terpisah pada pengembang pertama terletak di bagian bawah sepanjang lempeng, lalu dikromatografi lagi (Gandjar, 2009). Keberhasilan pemisahan akan tergantung pada kemampuan untuk memodifikasi selektivitas eluen kedua dibandingkan dengan selektivitas dari eluen pertama (Wall, 2005).



Gambar 2.5 Pemisahan menggunakan KLT dua dimensi (Gandjar, 2009).

KLT dua arah atau dua dimensi ini bertujuan untuk meningkatkan resolusi sampel ketika komponen-komponen solute mempunyai karakteristik kimia yang hampir sama, karenanya nilai R_f juga hampir sama sebagaimana dalam asam-asam amino. Selain itu, dua sistem fase gerak yang sangat berbeda dapat digunakan secara berurutan sehingga memungkinkan untuk melakukan pemisahan analit yang mempunyai tingkat polaritas yang berbeda (Gandjar, 2009).

Keuntungan dilakukan KLT dua dimensi adalah untuk mendapatkan resolusi yang baik dari hasil KLT. Menfokuskan zona pemisahan. KLT dua dimensi memiliki potensi pemisahan 150-300 komponen senyawa kimia (Gandjar, 2009).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-September 2014 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, mortar, palu, blender, ayakan/*mesh screen* 80 mesh, kertas saring, neraca analitik, desikator, cawan penguap, erlenmeyer tutup 500 mL, *hot plate*, *magnetic stirrer*, corong pisah 500 mL, pengaduk kaca, spatula, gunting, *aluminium foil*, penyaring *buchner*, *shaker*, *rotary evaporator*, beaker glass 500 mL ; 250 mL ; 100 mL, corong gelas, tabung reaksi, pipet ukur 10 mL dan 5 mL, bola hisap, mikro pipet ukuran 10 – 100 μ L, mikro pipet ukuran 100-1000 μ L, labu ukur 1 L, labu ukur 100 mL, lemari asam, gelas vial, pipet tetes, pipa kapiler, plat KLT GF₂₅₄, dan lampu UV, pH meter.

3.2.2 Bahan-bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian tanaman yakni daun pulai (*Alstonia scholaris* (L) R. Br) berasal dari Kab. Pasuruan Jawa Timur. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pelarut etanol (C₂H₅OH) p.a, etil asetat (C₄H₈O₂) p.a, asam sulfat (H₂SO₄ 2 %),

amonium hidroksida (NH_4OH 25 %), kloroform (CHCl_3) p.a, aseton (CH_3COCH_3) p.a, metanol (CH_3OH) p.a, n-heksana p.a, dietil eter p.a. Bahan lain yang digunakan adalah akuades, reagen meyer, reagen dragendroff, asam klorida (HCl 1 %) dan gas N_2 .

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel daun pulai diambil, dibersihkan dari debu dan kotoran, dicuci, dikeringkan, ditumbuk kasar, kemudian ditentukan kadar airnya. Selanjutnya daun pulai dihaluskan dengan blender lalu diayak menggunakan ayakan dengan rentang 80 mesh hingga diperoleh serbuk yang halus (berukuran 80 mesh), kemudian ditentukan kadar airnya kembali hingga kurang dari 10 %. Sejumlah serbuk sampel masing-masing diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95 % sampai diperoleh filtrat yang pucat.

Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vakum* pada suhu $50\text{ }^\circ\text{C}$ dan dialiri gas N_2 . Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi alkaloid sebelum difraksinasi ekstrak etanol 95 % dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa alkaloid dengan menggunakan reagen. Selanjutnya dilakukan pemisahan terhadap senyawa alkaloid dengan KLT analitik berdasarkan berbagai campuran eluen dan reagen pereaksi yang digunakan. Eluen yang memberikan pemisahan paling baik akan digunakan dalam pemisahan dengan KLT preparatif. Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif dilakukan uji kemurnian menggunakan KLT dengan campuran eluen dan KLT dua dimensi.

3.4 Tahapan-Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air daun pulai
3. Ekstraksi maserasi daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br)
4. Ekstraksi senyawa alkaloid daun pulai
5. Uji fitokimia ekstrak etanol dan ekstrak kasar alkaloid
6. Identifikasi ekstrak kasar alkaloid daun pulai dengan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA)
7. Pemisahan senyawa alkaloid dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP)
8. Uji kemurnian isolat alkaloid dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi (KLT 2-D)

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel tumbuhan pulai yaitu daun pulai yang baru dipetik dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel, dicuci dengan air sampai bersih, ditiriskan. Selanjutnya dipotong kecil-kecil, dikeringkan di udara terbuka (diangin-anginkan) agar terhindar dari pengaruh cahaya matahari langsung. Daun pulai dihaluskan dengan menggunakan blender sampai terbentuk serbuk, kemudian serbuk disaring dengan ayakan 80 mesh hingga menghasilkan serbuk, kemudian disimpan dalam wadah plastik.

3.5.2 Analisis kadar Air (AOAC, 2005)

Tahap pertama yang dilakukan untuk menganalisis kadar air adalah mengeringkan cawan porselen dalam oven pada suhu 105 °C selama 30 menit. Cawan tersebut diletakkan dalam desikator (selama 15 menit) dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang. Cawan tersebut ditimbang kembali hingga beratnya konstan, sebanyak 5 gram sampel daun pulai dimasukkan ke dalam cawan tersebut, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 105 °C selama 30 menit atau hingga beratnya konstan. Setelah selesai proses kemudian cawan tersebut dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan sampai dingin dan selanjutnya ditimbang kembali. Perhitungan kadar air :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100 \%$$

Keterangan: A = Berat cawan kosong (gram)

B = Berat cawan yang diisi dengan sampel (gram)

C = Berat cawan dengan sampel yang sudah dikeringkan (gram)

3.5.3 Ekstraksi Maserasi Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br)

Serbuk kering daun pulai ditimbang secara terpisah sebanyak 150 gram dibagi menjadi tiga bagian masing-masing sebanyak 50 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer tutup 1000 mL. Tiap sampel diekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 95 %, perendaman sampel dilakukan selama 24 jam dengan 3 jam pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm.

Perlakuan maserasi dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pengulangan dengan penggantian pelarut baru. Pada proses maserasi pertama sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 350 mL per 50

gram sampel karena pada tahap awal maserasi senyawa yang akan di ekstrak banyak, sehingga pelarut yang digunakan lebih banyak pada saat proses maserasi yang pertama daripada proses maserasi yang kedua dan ketiga. Untuk hari kedua residu yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 250 mL, sedangkan untuk maserasi hari ketiga residu yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 150 mL. jumlah keseluruhan pelarut yang telah digunakan untuk maserasi 50 gram sampel yaitu sebanyak 750 ml. sedangkan pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu sebanyak 150 gram, sehingga total keseluruhan pelarut yang digunakan untuk maserasi 150 gram sampel yaitu 2250 mL etanol 95 %. Keseluruhan filtrat yang diperoleh tiap 50 gram sampel dicampur menjadi satu untuk diuapkan pelarutnya, sehingga terdapat 3 filtrat dari 150 gram sampel yang akan di lakukan *rotary evaporator vacum*. Selanjutnya pelarut yang masih bersisa dalam ekstrak diuapkan dengan gas N₂ dan dihitung rendemennya :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel kering}} \times 100 \%$$

3.5.4 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br)

(Berkov *et al.*, 2007)

Ekstrak hasil maserasi dengan etanol 95 % diambil sebanyak 20 gram, kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ 2 % sebanyak 50 mL. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring, filtrat yang diperoleh ditambahkan dietil eter (*p.a*) sebanyak 15 mL. Pengekstraksian dengan pelarut dietil eter diulangi sebanyak 5 kali pengulangan hingga pelarut yang digunakan untuk ekstraksi berwarna bening. Fraksi dietil eter dibuang dan fraksi air dibasakan dengan NH₄OH 25 % sebanyak

25 mL hingga pH mencapai kisaran rentang 9 – 10. Setelah larutan menjadi basa, selanjutnya diekstraksi dengan ditambahkan kloroform (*p.a*) sebanyak 15 mL. Pengekstraksian dengan kloroform diulangi sebanyak 5 kali pengulangan hingga pelarut yang digunakan untuk ekstraksi berwarna bening. Fraksi kloroform yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum*. Pelarut yang masih tersisa dalam ekstrak diuapkan dengan dialiri gas N₂ dan dihitung rendemennya.

Hasil yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji fitokimia dengan menggunakan reagen untuk mengetahui kandungan golongan senyawa alkaloid pada ekstrak daun pulai, ekstrak positif alkaloid selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan KLT.

3.5.5 Uji Fitokimia

Sebanyak 0,5 gr ekstrak ditambahkan 5 ml HCl 1 % kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 2 dimasukkan dalam tabung reaksi. Tabung reaksi I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, sedangkan tabung reaksi II ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Meyer. Jika pada tabung I terbentuk endapan merah atau jingga dan pada tabung II terbentuk endapan putih atau kekuning-kuningan maka ekstrak menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.6 Identifikasi Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulai dengan Kromatografi

Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Uji senyawa aktif dengan KLT dilakukan pada ekstrak yang golongan senyawanya positif pada uji reagen.

a. Persiapan Plat KLT

Pemisahan senyawa dari ekstrak kasar alkaloid dilakukan dengan menggunakan plat silika G₆₀ F₂₅₄ sebagai fase diamnya dengan ukuran 1 cm x 10 cm. Selanjutnya diberi penanda garis pada tepi bawah plat pada jarak 1 cm untuk menunjukkan posisi awal totalan dan 0,5 cm dari tepi atas plat untuk menunjukkan batas dari proses elusi. Selanjutnya plat silika G₆₀ F₂₅₄ diaktivasi dengan cara di oven pada suhu 100 °C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat KLT.

b. Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Sebelum dilakukan pengelusan, eluen dalam bejana dijenuhkan terlebih dahulu. Setiap campuran fase gerak dimasukkan ke dalam *great chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 1 jam. Penjenuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

Adapun eluen pengembang dan reagen penguji/penyemprot masing-masing golongan senyawa alkaloid adalah sebagai berikut:

- a. Etil Asetat : Metanol : Air (6:4:2) dengan penyemprot Dragendorf (Marliana, 2007).
- b. Kloroform : Aseton : Metanol (20:3:2) dengan penyemprot Dragendorf (Kusrini, 2013).
- c. Kloroform : metanol : amonia (85 : 15 : 1) dengan penyemprot Dragendorf (Hasibuan, 2007).
- d. Etil Asetat : Etanol : n-Heksan (2:1:30) dengan penyemprot Dragendorf (Kusrini, 2013).

e. Kloroform : etil asetat (60 : 40) dengan penyemprot Dragendorf (Hasibuan, 2007).

c. Penotolan Sampel

Ekstrak kasar alkaloid daun pulai dilarutkan dengan pelarutnya yaitu kloroform. Selanjutnya ekstrak ditotolkan sebanyak ± 10 totolan (pada tempat yang sama) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler, kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan.

d. Proses Elusi

Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak, dimana plat dimasukkan dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, diletakkan setinggi 0,5 cm dari dasar plat, kemudian *great chamber* ditutup rapat hingga fase geraknya mencapai jarak $\pm 0,5$ cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan diangin-anginkan.

e. Identifikasi Noda

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika G₆₀ F₂₅₄ kemudian diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Jika tampak noda, maka ditandai noda tersebut menggunakan pensil. Setelah itu noda ditandai dengan pereaksi Dragendorff, kemudian diamati kembali di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Diamati noda tersebut menggunakan pensil, diukur jarak tempuh tiap-tiap spot dan dihitung nilai R_f serta diamati warna noda yang dihasilkan. Eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik selanjutnya digunakan untuk KLT preparatif.

3.5.6 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif

Pada pemisahan dengan KLT preparatif digunakan plat silika G₆₀ F₂₅₄ dengan ukuran 10 x 20 cm. Ekstrak kasar alkaloid daun pulai dilarutkan dengan pelarutnya yaitu kloroform, kemudian ekstrak ditotolkan sebanyak ± 10 totolan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari tepi bawah dengan menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT analitik. Noda-noda pada permukaan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya.

Noda yang diduga merupakan senyawa golongan alkaloid dikerok kemudian dilarutkan dalam pelarut kloroform, selanjutnya disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya. Masing-masing supernatan yang diperoleh ditotolkan kembali untuk uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi dari masing-masing noda.

3.5.7 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT Dua Dimensi

Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif yang yang diduga senyawa alkaloid dilakukan uji kemurnian dengan KLT dua dimensi. Pada pemisahan dengan KLT dua dimensi digunakan plat silika G₆₀ F₂₅₄ dengan ukuran 10 x 10 cm. Supernatan yang diperoleh dari hasil KLT preparatif ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah dan 1 cm dari garis tepi lalu dielusi dengan fase gerak yang pertama sehingga campuran terpisah menurut jalur yang sejajar dengan salah satu sisi. Plat silika diangkat dari *chamber* dan dikeringkan, diputar 90° dan diletakkan dalam *chamber* yang berisi fase gerak kedua, sehingga bercak yang

terpisah pada proses elusi pertama terletak dibagian bawah sepanjang plat lalu dielusi kembali.

Adapun eluen pengembang yang digunakan pada KLT dua dimensi yaitu:

a. Kloroform : metanol : amonia (85 : 15 : 1) (Hasibuan, 2007).

Kloroform : etil asetat (60 : 40) (Hasibuan, 2007).

b. Kloroform : etil asetat (60 : 40) (Hasibuan, 2007).

Kloroform : metanol : amonia (85 : 15 : 1) (Hasibuan, 2007).

Apabila sudah terdapat satu noda maka diduga isolat alkaloid telah murni.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) yang diambil dari Desa Glagahsari Kecamatan Sukorejo Kab. Pasuruan Jawa Timur. Bagian daun dari tanaman Pulai yang masih segar dengan berat ± 2 Kg diambil kemudian didiamkan sebentar untuk menghilangkan sedikit getah daun yang tersisa, kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah maupun debu yang dapat mengganggu dalam proses ekstraksi. Daun Pulai kemudian dipotong kecil-kecil untuk memperbesar luas permukaan sehingga mempercepat proses pengeringan dan mempermudah dalam pemblenderan. Selanjutnya sampel dikeringanginkan di bawah terik sinar matahari secara tidak langsung selama ± 14 hari. Tujuan pengeringan adalah mengurangi kadar air bahan sampai batas dimana perkembangan mikroorganisme dan kegiatan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan terhambat atau berhenti. Dengan demikian bahan yang dikeringkan dapat mempunyai waktu simpan yang lebih lama (Hall, 1980 dalam Asti 2009).



(a)

(b)

Gambar 4.1 (a) Daun pulai sebelum dikeringkan (b) Daun pulai setelah dikeringkan

Pengeringan sampel daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) dengan cara diangin-anginkan diharapkan tidak merusak kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman tersebut khususnya kandungan alkaloid. Penggunaan pengeringan dengan diangin-anginkan telah dijelaskan oleh Hernani dan Nurdjanah (2009) bahwasanya dalam tumbuhan obat yang tidak tahan panas untuk mempertahankan metabolit sekunder sebaiknya dengan udara tidak menggunakan sinar matahari secara langsung karena kondisi cuaca yang berubah-ubah, dan sinar ultra violet dari matahari juga dapat menimbulkan kerusakan kandungan kimia pada bahan yang dikeringkan. Proses pengeringan dilakukan selama 14 hari sampai daun benar-benar kering.

Sampel yang telah kering berwarna coklat kehijauan dihaluskan dengan menggunakan blender untuk memperoleh serbuk sampel yang memiliki ukuran kecil dan halus, hal ini bertujuan memudahkan dalam proses ekstraksinya. Voight (1995) menyatakan semakin kecil bentuk sampel maka semakin besar luas permukaannya maka terjadinya kontak dengan pelarut dalam proses ekstraksi akan semakin besar, sehingga proses ekstraksi akan semakin cepat. Serbuk dengan tingkat penghalusan yang tinggi memungkinkan terjadinya kerusakan sel-sel semakin besar sehingga memudahkan pengambilan bahan kandungan langsung oleh bahan pelarut (Octavia, 2009). Serbuk simplisia yang telah halus selanjutnya dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan 80 mesh, hal ini bertujuan untuk memaksimalkan dalam memperkecil variasi ukuran. Sehingga diperoleh serbuk halus ukuran yang relatif sama dan seragam dengan berat ± 150 gr. Serbuk inilah yang selanjutnya dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95 %.

4.2 Analisis Kadar Air Sampel Daun Pulai

Sebelum dilakukan proses penyarian metabolit sekunder atau proses ekstraksi, serbuk kering daun Pulai ini dianalisis kadar airnya. Penentuan kadar air sampel kering berfungsi untuk menyatakan kandungan zat dalam tumbuhan sebagai persen bahan kering dan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan (sampel) dalam penyimpanan. Kadar air pada umumnya adalah jumlah air yang terkandung dalam bahan yang menentukan kesegaran bahan. Tujuan pengeringan sampel untuk menghindari pertumbuhan mikroba.

Dalam penelitian ini dilakukan analisis kadar air basah dan analisis kadar air kering. Tujuannya yaitu untuk mengetahui perbedaan kadar air sampel sebelum dikeringkan dan setelah dikeringkan. Pada analisis kadar air basah bertujuan untuk mengetahui total air yang terdapat dalam sampel, dikeringkan cawan porselen dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit sampai diperoleh berat konstan. Setelah berat cawan kosong konstan, dimasukkan 5 gram sampel daun pulai segar yang telah dipotong kecil-kecil ke dalam cawan. Dilakukan pengovenan setiap 30 menit dilanjutkan dengan pendinginan di dalam desikator selama 10 menit sampai diperoleh berat konstan yang menunjukkan kandungan air dalam bahan (sampel) sudah teruapkan secara maksimal. Selanjutnya sampel tersebut ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat yang konstan. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali untuk memperoleh nilai rata-rata dari hasil kadar air yang diperoleh. Untuk perlakuan analisis kadar air kering sama dengan analisis kadar air basah, hanya saja sampel yang digunakan pada analisis kadar air kering adalah sampel yang sudah dikeringkan dan yang sudah menjadi serbuk.

Tercapainya berat yang konstan menunjukkan air yang terdapat dalam tanaman telah teruapkan secara maksimal (Winarno, 2002). Adapun hasil kadar air sampel daun pulai basah (segar) dan serbuk daun kering, sebagaimana Tabel 4.1 dan perhitungannya ditunjukkan pada lampiran 4.

Tabel 4.1 Kadar air sampel basah dan kering daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br).

Nama Sampel	Ulangan	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
Daun Pulai segar	1	75,51 %	75,74 %
	2	74,69 %	
	3	77,02 %	
Serbuk kering daun Pulai	1	8,41 %	8,18 %
	2	7,94 %	
	3	8,2 %	

Hasil rata-rata pengukuran kadar air basah sampel daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) setelah pengambilan dari pohonnya dengan dibersihkan dari kotoran dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali yaitu sebesar 75,74 %. Sedangkan rata-rata kadar air serbuk kering daun pulai setelah dilakukan pengulangan tiga kali yaitu sebesar 8,18 %. Kadar air daun pulai dari sampel basah dan kering mengalami penurunan yang signifikan disebabkan adanya penguapan kandungan air sampel daun pulai selama proses pengeringan oleh udara panas lingkungan. Proses pengeringan yang cukup lama selama 14 hari tanpa pemanasan oven merupakan cara untuk menjaga kandungan alkaloid pada bahan dan tetap berdampak pada penurunan kadar air yang diharapkan yaitu kurang dari 10 %.

Menurut Setyowati (2006) kadar air bahan kering untuk proses ekstraksi disyaratkan sebesar 11 % atau dibawahnya agar proses ekstraksi dapat berjalan

lancar, dalam artian proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut akan maksimal karena tidak terhalang oleh air yang ada pada bahan alam. Semakin kecil nilai kadar air bahan kering maka semakin mudah pelarut mengikat senyawa aktif yang diinginkan.

4.3 Ekstraksi Maserasi Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br)

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi digunakan untuk mengisolasi produk alam dari jaringan asli kering tumbuh-tumbuhan. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Prinsip dari metode maserasi adalah terdapat waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan sampel yang diekstrak dengan demikian distribusi pelarut organik yang secara terus menerus ke dalam sel tumbuhan yang mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel, sehingga senyawa aktif metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terambil dan masuk dalam pelarut organik (Djarwis, 2004).

Metode maserasi memiliki kelebihan tersendiri diantaranya adalah pengerjaannya cukup sederhana, murah, mudah dilakukan dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dimungkinkan dapat merusak senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam sampel (Yustina, 2008). Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad, 2006). Ekstraksi daun Pulai menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 95 % agar senyawa-senyawa aktif metabolit sekunder yang terdapat dalam daun Pulai

khususnya alkaloid dapat terekstrak ke dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran pelarutnya atau dikenal dengan istilah *like dissolves like*.

Penggunaan pelarut etanol 95 % sebagai pelarut pengestraksi pada proses maserasi karena menurut Harbone (1987) alkaloid dari tumbuhan bersifat basa sehingga untuk melarutkannya dapat dilakukan dengan alkohol yang bersifat asam lemah seperti etanol. Etanol juga merupakan pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan. Selain itu menurut Achmadi (1990) cara pemilihan pelarut didasarkan pada selektifitas, mudah penanganannya, ekonomis, dan ramah lingkungan.

Serbuk kering daun pulai ditimbang secara terpisah sebanyak 150 gram dibagi menjadi tiga bagian masing-masing sebanyak 50 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer tutup 1000 mL untuk mempermudah proses ekstraksi. Tiap sampel diekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 350 ml per 50 gram sampel. Perendaman sampel dilakukan selama 24 jam dengan 3 jam pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Selama proses maserasi Pelarut akan menembus dinding dan membran sel kemudian masuk ke dalam rongga (sitoplasma) sel yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder akan terlarut dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa-senyawa metabolit sekunder di dalam dan di luar sel, hal ini mengakibatkan cairan hipertonis akan masuk ke cairan yang hipotonis sehingga terjadi keseimbangan (Baraja, 2008).

Pengocokan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (Baraja, 2008). Proses

pengadukan ini dilakukan dengan kecepatan konstan untuk mempercepat proses ekstraksi komponen. Proses pengadukan dengan *shaker* selama 3 jam ini dilakukan dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*), untuk mempercepat proses ekstraksinya karena kecepatan pengadukannya dapat dilakukan secara konstan, sehingga larutan yang diinginkan akan terdesak keluar. Perlakuan maserasi dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pengulangan. Setiap kali pengulangan, sebelum direndam dengan menggunakan pelarut yang baru sampel terlebih dahulu disaring dengan menggunakan *corong Buchner* yang diberi kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat hasil penyaringan disimpan di dalam erlenmeyer sedangkan residu dimasukkan kembali ke dalam erlenmeyer untuk dimaserasi kembali.

Pengulangan maserasi dalam penelitian ini dilakukan dengan penggantian pelarut baru. Pada proses maserasi pertama sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 350 mL per 50 gram sampel karena pada tahap awal maserasi senyawa yang akan di ekstrak banyak, sehingga pelarut yang digunakan lebih banyak pada saat proses maserasi yang pertama daripada proses maserasi yang kedua dan ketiga. Untuk hari kedua residu yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 250 mL, sedangkan untuk maserasi hari ketiga residu yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 150 mL. jumlah keseluruhan pelarut yang telah digunakan untuk maserasi 50 gram sampel yaitu sebanyak 750 ml. sedangkan pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu sebanyak 150 gram, sehingga total keseluruhan pelarut yang digunakan untuk maserasi 150 gram sampel yaitu 2250 mL etanol 95 %. Keseluruhan filtrat yang diperoleh tiap 50 gram sampel

dicampur menjadi satu untuk diuapkan pelarutnya, sehingga terdapat 3 filtrat dari 150 gram sampel yang akan di lakukan *rotary evaporator vacum*.

Pemisahan atau penguapan pelarut dari filtrat yang didapat dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator vacuum*. Prinsip utama alat ini yaitu terletak pada penurunan tekanan sehingga pelarut akan menguap dan terpisah pada suhu sebelum mencapai titik didihnya. Alat ini sering digunakan dalam proses pemisahan atau penguapan pelarut dikarenakan memberikan keuntungan terhadap hasil ekstrak yang dihasilkan karena pelarut menguap di bawah suhu titik didihnya maka ekstrak yang dihasilkan tidak akan mengalami kerusakan akibat panas dari titik didih pelarut. Karena pelarut yang digunakan adalah etanol 95 % yang terdapat kandungan air yang mana dengan bahan pertimbangan titik didih etanol (78,3 °C) dengan air (100 °C) dan disesuaikan dengan mengatur tekanan pompa *vacum* dari *rotary evaporator*, dan jika pemekatan dilakukan di atas suhu tersebut maka dikhawatirkan senyawa yang tidak tahan panas akan teruapkan bersama pelarut. Dalam hal ini, pelarut dapat menguap lebih dahulu di bawah titik didihnya karena adanya pompa *vacum*. Hal ini disebabkan karena tekanan diturunkan sehingga pelarut di bawah titik didihnya dapat teruapkan dan uap yang dihasilkan akan mudah tertarik ke dalam kondensor yang selanjutnya didinginkan sehingga dihasilkan pelarutnya kembali dalam wujud cair (Vogel, 1978).

Penguapan pelarut dengan *rotary evaporator vacuum* dihentikan sampai diperoleh ekstrak yang cukup pekat yang ditandai dengan berhentinya penetesannya pelarut pada labu penampung. Ekstrak yang diperoleh berwarna hijau tua dengan tekstur pekat. Selanjutnya pelarut yang masih bersisa dalam ekstrak diuapkan dengan gas N₂. Gambar hasil maserasi serbuk daun Pulai ditunjukkan pada

Gambar 4.2 dan Tabel 4.2 dengan perhitungan rendemen berat ekstrak ditunjukkan pada Lampiran 5.



Gambar 4.2 Hasil ekstraksi maserasi daun pulai

Tabel 4.2 Hasil ekstraksi maserasi serbuk daun pulai

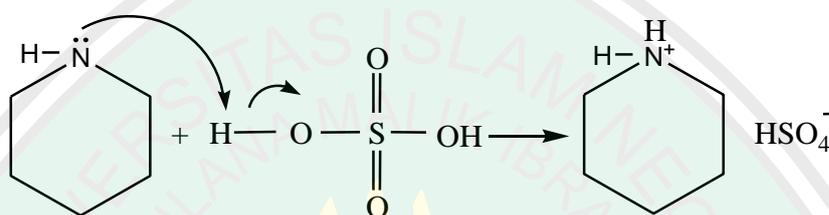
Pelarut	Warna Ekstrak	Berat Sampel	Berat Ekstrak	Rendemen
Etanol 95 %	Hijau Tua	50 g	6,7641 g	13,5282 %
		50 g	6,9415 g	13,883 %
		50 g	8,0813 g	16,1626 %
Jumlah Keseluruhan		150 g	21,7869 g	14,5246 %

4.4 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Daun Pulai (Berkov dkk., 2007)

Proses ekstraksi senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi asam basa serta ekstraksi cair-cair yang bertujuan untuk memisahkan senyawa alkaloid dari zat-zat lain yang ada pada ekstrak daun pulai. Perpindahan massa pada saat ekstraksi cair-cair akan terjadi, dimana ekstrak terpisah dari pelarut yang pertama (media pembawa) dan terdistribusi ke dalam pelarut yang kedua (media ekstraksi).

Tahap awal proses ekstraksi yaitu dari hasil ekstrak yang diperoleh diambil sebanyak 20 g ekstrak hasil maserasi dengan etanol 95 %, kemudian

dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL dan ditambahkan dengan H_2SO_4 sebanyak 50 mL. Penambahan asam bertujuan untuk menarik alkaloid dan membentuk garam alkaloid serta memperbesar kelarutan alkaloid dalam air (Robinson, 1995). Alkaloid bereaksi dengan asam kuat akan membentuk garam alkaloid. Jenis reaksi ini digunakan untuk memisahkan alkaloid dari zat netral yang tidak larut air.

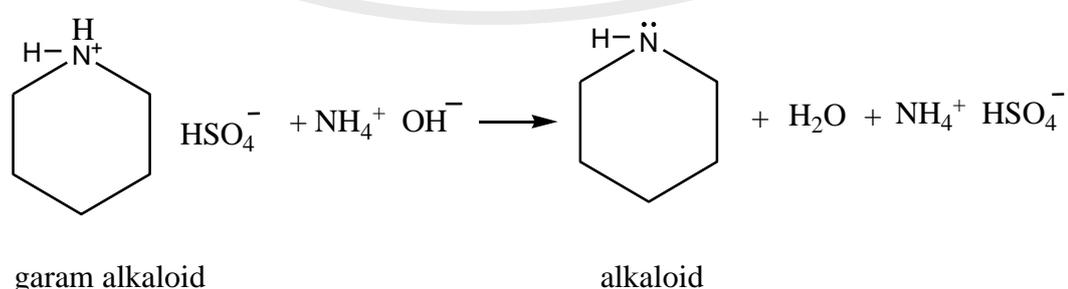


Gambar 4.3 Reaksi alkaloid dengan asam kuat

Ekstrak yang telah ditambahkan dengan asam sulfat 2 % (H_2SO_4) selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan endapan yang tidak larut. Hasil pengasaman dipartisi di dalam corong pisah 1000 mL dengan ditambahkan pelarut dietil eter (*p.a*) sebanyak 15 mL. Tujuan penambahan dietil eter yaitu berfungsi untuk mengambil senyawa-senyawa lemak dan lilin yang ada pada larutan asam. Setelah ditambahkan dietil eter terbentuk dua lapisan yang tidak saling campur dalam corong pisah. Lapisan atas atau lapisan bening ialah lapisan dietil eter dan lapisan bawah ialah lapisan asam/air karena massa jenis air lebih besar daripada massa jenis dietil eter. Massa jenis dietil eter yaitu 0,713 g/mL, sedangkan massa jenis air yaitu 1,000 g/mL. Kemudian dilakukan proses pengocokan agar pelarut dietil eter mengalami kontak yang sempurna dengan larutan asam, sehingga senyawa lilin dan lemak dapat terambil sesuai sifat dari pelarut dietil eter. Pengocokan dilakukan secara searah dan dihentikan ketika gas

di dalam corong pisah sudah terbuang habis, setelah pengocokan selesai corong pisah diletakkan dalam posisi tergantung sampai membentuk dua lapisan.

Tahap selanjutnya yaitu corong pisah didiamkan selama ± 10 menit hingga terbentuk 2 lapisan yang tidak saling campur yaitu lapisan atas ialah lapisan dietil eter yang berwarna hijau bening dan lapisan bawah ialah lapisan air/asam yang berwarna cokelat orange. Pengekstraksian dengan pelarut dietil eter ini diulangi sebanyak 5 kali pengulangan hingga pelarut yang digunakan untuk ekstraksi berwarna bening, hal ini menandakan bahwa senyawa yang sifatnya mirip dengan pelarut dietil eter telah terambil keseluruhannya. Fraksi asam/air yang dihasilkan, dikumpulkan menjadi satu selanjutnya dibasakan dengan menggunakan amonium hidroksida 25 % (NH_4OH) sebanyak 25 mL hingga pH mencapai kisaran rentang 9-10. Penambahan NH_4OH bertujuan untuk membebaskan alkaloid dari garamnya akibat penambahan asam. Dengan penambahan NH_4OH , alkaloid yang semula dalam bentuk garamnya yang larut dalam air akan menjadi alkaloid bebas yang tidak larut dalam air tapi larut dalam pelarut organik. Dimana proses ini merupakan proses pembebasan amina dari garamnya dengan penambahan basa lemah yang sesuai reaksi pada gambar 4.4 (Robinson, 1995).



Gambar 4.4 Reaksi pembebasan alkaloid dengan cara pembasaan

Berdasarkan reaksi garam alkaloid akan diubah menjadi alkaloid yang mana tidak larut lagi dalam air dan larut dalam pelarut organik. Setelah larutan menjadi basa selanjutnya diekstraksi dengan ditambahkan kloroform (*p.a*) sebanyak 15 mL. Penambahan kloroform ini berfungsi untuk menarik dan mengambil alkaloid yang sudah bebas dari bentuk garamnya, karena alkaloid bebas mudah larut dalam pelarut organik sedangkan garam alkaloid tidak larut. Setelah penambahan kloroform dalam corong pisah, ekstrak dikocok untuk meningkatkan proses distribusi atau pengikatan alkaloid bebas ke dalam kloroform. Pengocokan ini dihentikan hingga tidak ada gas yang ditimbulkan. Corong pisah diletakkan dalam posisi tergantung dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yang tidak saling campur. Lapisan atas merupakan fraksi air dan lapisan bawah ialah fraksi organik (kloroform). Hal ini karena massa jenis kloroform yaitu 1,498 g/mL lebih besar dibandingkan dengan massa jenis air yaitu 1,000 g/mL.

Fraksi kloroform diambil terlebih dahulu dan disimpan di dalam wadah botol sedangkan fraksi air diekstraksi kembali dengan kloroform. Perlakuan ini diulangi sebanyak 5 kali. Fraksi kloroform yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacum* untuk memisahkan ekstrak alkaloid dari pelarutnya yaitu kloroform sampai membentuk ekstrak pekat. Selanjutnya pelarut yang masih tersisa dalam ekstrak diuapkan dengan dialiri gas N₂.

Hasil ekstraksi alkaloid dari ekstrak etanol 95 % daun pulai seberat 20 g ditunjukkan pada Tabel 4.3 dan perhitungan rendemen berat ekstrak ditunjukkan pada Lampiran 5.

Tabel 4.3 Hasil ekstraksi alkaloid daun pulai

Pelarut	Warna Ekstrak	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
Kloroform	Coklat	0,5821 g	0,388 %

Hasil ekstrak kasar alkaloid yang diperoleh selanjutnya yaitu dilakukan uji fitokimia senyawa alkaloid dengan menggunakan reagen serta dilanjutkan identifikasi alkaloid dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

4.5 Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Alkaloid

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif metabolit sekunder pada ekstrak tanaman. Pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil dari sedikit sampel lalu dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid. Hasil uji fitokimia pada masing-masing ekstrak dan fraksi ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil uji fitokimia masing-masing ekstrak dan fraksi

Hasil Ekstrak dan Fraksi	Alkaloid	
	Meyer	Dragendorff
Ekstrak etanol	(+)	(+)
Fraksi dietil eter	(-)	(-)
Fraksi air	(-)	(-)
Ekstrak kasar alkaloid	(+)	(+)

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

Berdasarkan Tabel 4.4 diketahui bahwa pada saat uji fitokimia, hasil ekstrak etanol positif mengandung senyawa alkaloid. Sedangkan hasil uji fitokimia pada fraksi dietil eter menunjukkan hasil negatif tidak terdapat senyawa

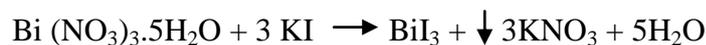
alkaloid. Hasil uji negatif juga ditunjukkan pada uji fitokimia untuk fraksi air, sedangkan pada ekstrak kasar alkaloid positif mengandung senyawa alkaloid.

Hasil analisis kualitatif golongan senyawa aktif daun pulai yang terdapat dalam ekstrak etanol 95 % daun pulai ialah positif alkaloid. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya endapan putih ketika ditambahkan dengan reagen Meyer dan endapan jingga ketika ditambahkan dengan reagen Dragendorff. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada golongan senyawa alkaloid yang terdapat dalam ekstrak kasar alkaloid daun pulai ialah positif alkaloid. Hal ini bisa dikatakan bahwasanya proses pengambilan ekstrak kasar alkaloid dengan metode ekstraksi maserasi dan fraksinasi dapat menarik senyawa alkaloid dari dalam daun pulai.

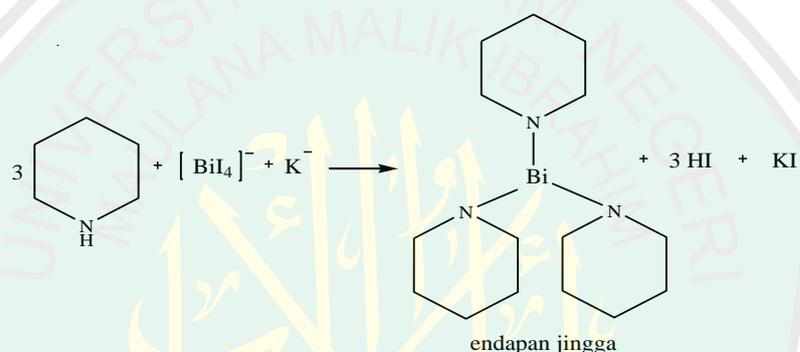
Uji fitokimia ini dilakukan menggunakan reagen Meyer dan Dragendorff yang memberikan warna berbeda pada masing-masing reagen. Dimana hasil yang diperoleh yaitu pada pereaksi Meyer positif mengandung alkaloid dengan konsentrasi sangat kuat ditunjukkan dengan adanya endapan putih yang mengendap di bawah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

dikatakan Harborne (1996) yaitu tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4.5.



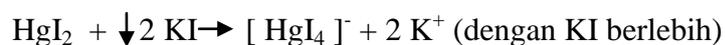
(Kalium tetraiodobismutat)



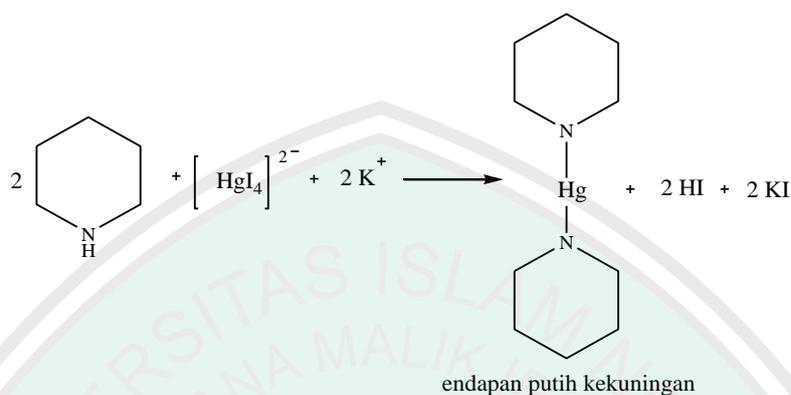
Gambar 4.5 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008).

Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2007). Alkaloid adalah senyawa yang tersusun dari atom nitrogen yang PEB (Pasangan Elektron Bebas) yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Mc Murry, 2004 dalam Marlina, 2005).

Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Meyer ditunjukkan pada Gambar 4.6.



(Kalium tetraiodomerkurat (II))



Gambar 4.6 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Meyer (Lutfillah, 2008)

4.6 Identifikasi Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulai dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Hasil uji fitokimia yang positif mengandung alkaloid merupakan tahap awal untuk langkah selanjutnya yaitu identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT dalam penelitian ini berguna untuk mendukung data uji fitokimia menggunakan reagen dengan melihat pola spot yang dihasilkan dan warna setelah disemprot reagen Dragendorff. Penggunaan KLT juga bertujuan untuk memisahkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak atau menentukan jumlah komponen yang terpisah pada daun pulai berdasarkan spot. KLT analitik ini digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa alkaloid. Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987).

Pemisahan senyawa dari ekstrak kasar alkaloid dilakukan dengan menggunakan plat silika G₆₀ F₂₅₄ sebagai fase diamnya dengan ukuran 1 cm x 10 cm. Plat yang digunakan pada KLT analitik ini sebelumnya dipanaskan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007). Selanjutnya ekstrak ditotolkan sebanyak 5 – 10 totolan (pada tempat yang sama) menggunakan pipa kapiler pada tepi bawah plat. Sebelum dilakukan pengelusian eluen dalam bejana dijenuhkan terlebih dahulu agar campuran eluen dapat mengelusi ekstrak dengan baik dan untuk mempercepat reaksi yang nantinya dapat bercampur sempurna. Plat yang sudah ditotol dengan sampel dimasukkan dalam bejana, diamati prosesnya. Plat bisa diangkat atau diambil dari bejana jika eluennya sudah naik sampai batas garis atas, kemudian plat didiamkan sebentar dan ditunggu sampai kering.

Plat diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Jika tampak noda, maka ditandai noda tersebut menggunakan pensil. Setelah itu, noda disemprot dengan pereaksi Dragendorff yang berfungsi untuk menambah kepekatan dan menghasilkan perubahan warna yang ada kaitannya dengan struktur senyawa yang bersangkutan pada waktu pendeteksian dengan lampu UV, kemudian diperiksa kembali dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Diamati noda tersebut. Jika tampak noda yang baru, maka ditandai noda tersebut menggunakan pensil. Diukur jarak tempuh tiap-tiap spot dan dihitung nilai R_f untuk mengetahui golongan senyawanya.

Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis sering menggunakan pereaksi penyemprot atau biasa disebut dengan indikator berfluoresensi untuk

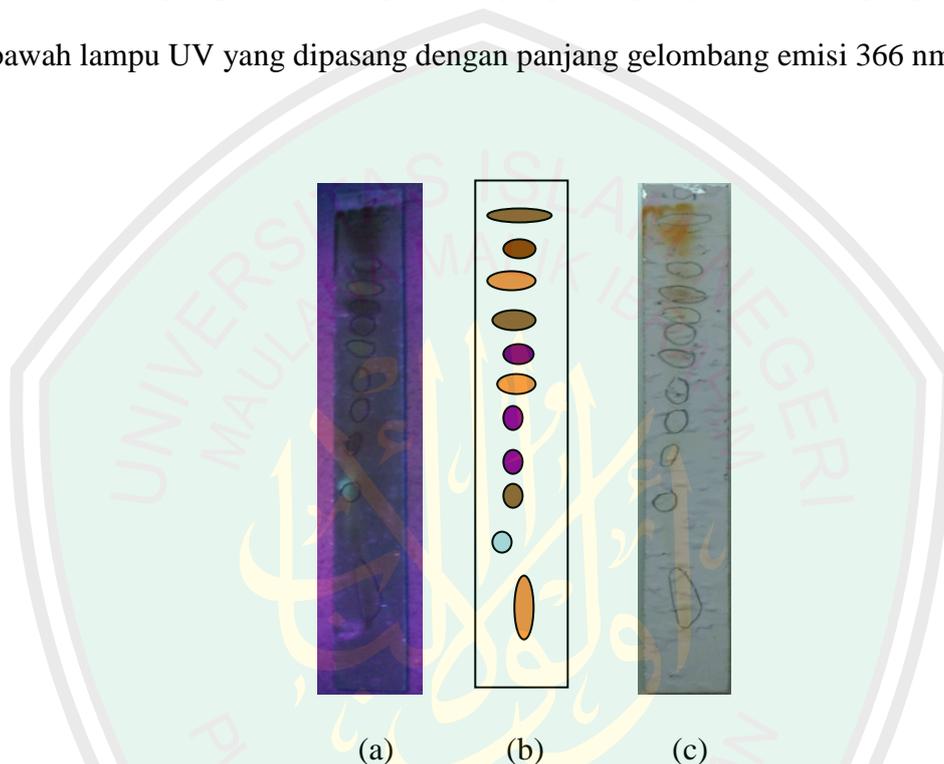
membantu penampakan bercak berpendar (memancarkan cahaya) pada lapisan yang telah terelusi. Indikator fluoresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar yang berpanjang gelombang seperti sinar UV. Beberapa senyawa organik bersinar dan berfluoresensi jika disinari pada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

Penampakan warna pada panjang gelombang tersebut disebabkan adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali sambil melepaskan energi (Sudjadi, 1988 dalam Zahro, 2011).

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

Pemisahan ekstrak kasar alkaloid dengan menggunakan KLT ini digunakan beberapa eluen terbaik dari penelitian sebelumnya yang mengidentifikasi senyawa alkaloid dari berbagai ekstrak. Beberapa eluen yang

digunakan dalam pemisahan senyawa alkaloid pada penelitian ini diantaranya adalah etil asetat : etanol : n-heksan (2:1:30); kloroform : aseton : metanol (20:3:2); etil asetat : metanol : air (6:4:2); kloroform : metanol : amonia (85 : 15 : 1); kloroform : etil asetat (60 : 40). Noda-noda yang dihasilkan kemudian dideteksi dengan pereaksi Dragendorff yang selanjutnya dilakukan pengamatan di bawah lampu UV yang dipasang dengan panjang gelombang emisi 366 nm.



Gambar 4.7 Hasil KLTA ekstrak kasar alkaloid dengan eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV setelah disemprot Dragendorff pada panjang gelombang 366 nm
 b. Ilustrasi gambar a
 c. Hasil pengamatan tanpa sinar UV setelah disemprot Dragendorff

Berdasarkan 5 variasi eluen pada Tabel 4.5, satu eluen menunjukkan hasil pemisahan paling bagus yaitu dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007) seperti ditunjukkan pada Gambar 4.7.

Tabel 4.5 Data penampak noda dari KLT analitik senyawa alkaloid ekstrak kasar alkaloid daun pulai pada panjang gelombang 366 nm

No	Fase gerak	Jumlah noda	Warna noda	Nilai Rf	Dugaan senyawa
1.	Etil Asetat : Metanol : Air (6:4:2) (Marliana, 2007)	6	Coklat jingga	0,105	Alkaloid
			Coklat jingga	0,2	Alkaloid
			Jingga	0,411	Alkaloid
			Jingga	0,588	Alkaloid
			Coklat ungu	0,788	Alkaloid
			Coklat jingga	0,894	Alkaloid
2.	Kloroform : Aseton : Metanol (20:3:2) (Kusrini, 2013)	9	Jingga	0,094	Alkaloid
			Coklat jingga	0,235	Alkaloid
			Coklat jingga	0,282	Alkaloid
			Coklat	0,423	Alkaloid
			Coklat ungu	0,564	Alkaloid
			Coklat ungu	0,635	Alkaloid
			Hijau muda	0,705	-
			Coklat	0,729	Alkaloid
			Hijau muda	0,858	-
3.	Kloroform : Metanol : Amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)	11	Coklat	0,152	Alkaloid
			Biru	0,317	-
			Coklat	0,435	Alkaloid
			Ungu	0,517	-
			Ungu	0,588	-
			Jingga	0,658	Alkaloid
			Ungu	0,717	-
			Coklat	0,752	Alkaloid
			Jingga	0,811	Alkaloid
			Coklat Jingga	0,870	Alkaloid
			Coklat	0,976	Alkaloid
4.	Etil Asetat : Etanol : n-Heksan (2:1:30) (Kusrini, 2013)	4	Ungu terang	0,188	-
			Ungu jingga	0,247	Alkaloid
			Ungu terang	0,458	-
			Ungu terang	0,505	-
5.	Kloroform : Etil Asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)	5	Jingga	0,035	Alkaloid
			Coklat	0,082	Alkaloid
			Jingga	0,258	Alkaloid
			Ungu terang	0,741	-
			Ungu terang	0,941	-

Hasil pemisahan senyawa alkaloid pada ekstrak kasar alkaloid dengan KLT analitik pada variasi eluen yang pertama yaitu etil asetat : metanol : air (2:1:30) (Marliana, 2007) menghasilkan 6 noda dan keenam noda tersebut

menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Campuran eluen etil asetat : metanol : air (2:1:30) memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Etil asetat bersifat kurang polar dengan konstanta dielektrik (6), metanol (33) dan air (80). Karena kepolaran metanol dan etanol lebih besar dari etil asetat dilihat dari nilai konstanta dielektrik dari masing-masing eluen, maka campuran eluen tersebut cenderung bersifat polar.

Variasi eluen kedua yaitu kloroform : aseton : metanol (20:3:2) (Kusrini, 2013) menghasilkan 9 noda 7 noda menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Campuran eluen kloroform : aseton : metanol (20:3:2) memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Kloroform bersifat kurang polar dengan konstanta dielektri (4,81), aseton (21) dan air (80). Namun karena perbandingan kloroform lebih besar dibandingkan aseton dan air, maka campuran eluen eluen ini cenderung bersifat kurang polar.

Pemisahan senyawa alkaloid dengan variasi eluen ketiga yaitu kloroform : metanol : amonia (85:15:1) mampu memberikan pemisahan yang cukup baik dibandingkan dengan variasi eluen yang lain. Dimana dengan menggunakan variasi eluen ini 11 noda yang dihasilkan mampu terpisah dengan baik. pemisahan yang bagus adalah pemisahan yang menghasilkan komponen senyawa yang banyak, nodanya bagus tidak berekor, dan pemisahan noda-nodanya jelas (Markham, 1988).

Campuran eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Kloroform bersifat non polar, sedangkan metanol dan amonia bersifat polar. Hal ini dapat dilihat dari nilai konstanta dielektrik metanol (33) dan amonia (22,7) yang lebih besar daripada kloroform (4,81). Namun,

karena perbandingan kloroform lebih besar dibandingkan metanol dan amonia, maka campuran eluen ini cenderung bersifat non polar. Senyawa dengan nilai Rf yang rendah lebih terdistribusi pada fase diamnya, sedangkan nilai Rf yang tinggi akan terdistribusi pada fase geraknya. Sistem pemisahan yang terjadi pada campuran eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) adalah fase diam silika bersifat polar, sedangkan fase geraknya bersifat non polar. Noda dengan nilai Rf yang rendah (0,152) bersifat lebih polar dibandingkan dengan nilai Rf yang tinggi (0,976). Senyawa dengan nilai Rf yang rendah memiliki koefisien distribusi besar karena senyawa tertahan kuat pada fase diamnya (polar) dibandingkan fase geraknya (non polar). Dengan kata lain, $C_{stationer} > C_{mobile}$. Begitupun berlaku kebalikannya.

Diantara 11 spot yang dihasilkan, diketahui bahwa 7 spot diduga menunjukkan adanya senyawa alkaloid, ditunjukkan dengan nilai Rf dan warna noda yang dihasilkan seperti pada tabel 4.6. Pemisahan alkaloid dengan KLT dapat menggunakan pereaksi penyemprot Dragendorff. Setelah disemprot, plat akan menunjukkan bercak coklat-jingga/orange-merah/coklat berlatar belakan kuning (Harborne, 1987).

Variasi eluen yang keempat yaitu etil asetat : etanol : n-Heksan (2:1:30) (Kusrini, 2013) menghasilkan 4 noda dan 1 noda menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Campuran eluen etil asetat : etanol : n-Heksan (2:1:30) memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Etil asetat bersifat kurang polar dengan konstanta dielektri (6), etanol (30) dan n-Heksan (2). Namun karena perbandingan n-Heksan dan etil asetat lebih besar dibandingkan dengan etanol, maka campuran eluen ini cenderung bersifat kurang polar.

Variasi eluen yang kelima yaitu kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007) menghasilkan 5 noda dan 3 noda menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Campuran eluen kloroform : etil asetat (60:40) memiliki sifat kepolaran yang hampir sama. kloroform bersifat kurang polar dengan konstanta dielektri (4,8) dan etil asetat (6), maka campuran eluen ini bersifat kurang polar.

4.7 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Hasil Pemisahan dengan KLT preparatif hampir sama dengan KLT analitik, hanya berbeda pada jumlah ekstrak yang ditotolkan pada plat dan ukuran plat KLT yang digunakan. Ekstrak pekat hasil ekstraksi ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah. Selanjutnya dikeringkan dan ditotolkan kembali ekstrak kasar alkaloid daun pulai sampai ± 10 kali penotolan. Plat yang digunakan pada KLT preparatif adalah plat KLT silika gel G₆₀ F₂₅₄ dengan ukuran yang lebih besar yaitu 10 cm x 20 cm. Eluen yang digunakan pada pemisahan KLT preparatif adalah eluen terbaik hasil pemisahan KLT analitik yaitu kloroform : metanol : amonia (85:15:1). Hasil pemisahan senyawa alkaloid dengan KLTP diperoleh 13 noda, yaitu sebagaimana yang tertera pada Tabel 4.6.

Jumlah noda yang dihasilkan KLT preparatif tidak sama dengan noda yang dihasilkan KLT analitik, pada KLT analitik diperoleh 11 noda sedangkan KLT preparatif diperoleh 13 noda. Hal tersebut dapat disebabkan karena pada KLT preparatif plat yang digunakan lebih besar yaitu 10 cm x 20 cm, sedangkan KLT analitik 1 cm x 10 cm. sehingga dimungkinkan senyawa yang terelusi lebih banyak pada KLT preparatif karena ukuran plat yang lebih panjang sehingga jarak

tempuh elusi pada KLT preparatif lebih panjang dan menyebabkan noda yang dihasilkan lebih banyak daripada noda pada KLT analitik.

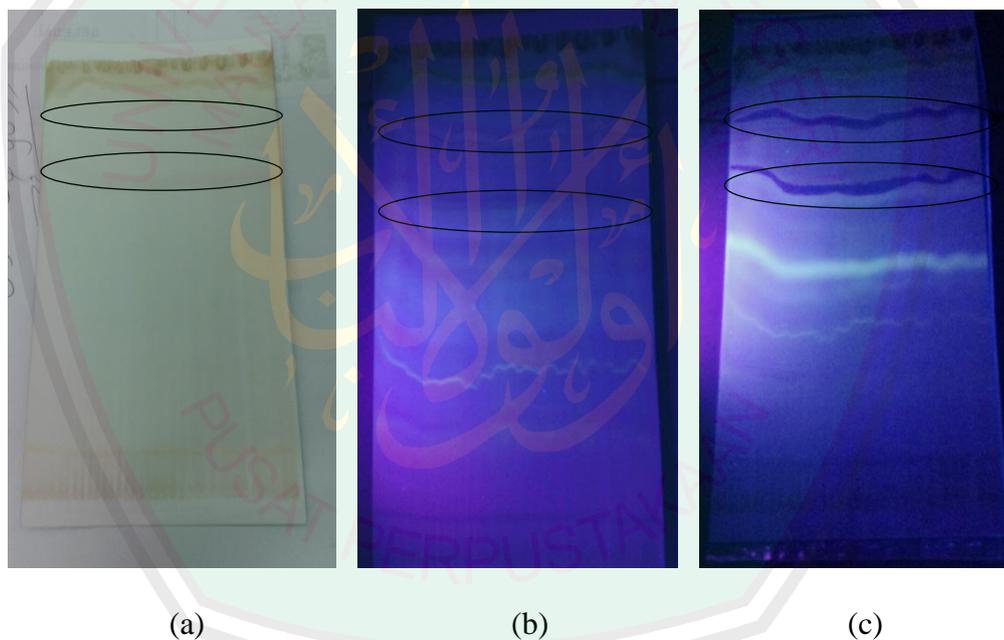
Tabel 4.6 Hasil Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif

Noda	Nilai Rf	Warna Noda		Golongan Senyawa	Keterangan
		Sebelum diberi Reagen	Setelah diberi Reagen		
1	0,083	Ungu	Ungu	-	-
2	0,244	Kuning jingga	Ungu kecoklatan	Alkaloid	+
3	0,344	Kuning	Ungu kecoklatan	Alkaloid	+
4	0,433	Biru muda	Ungu	-	-
5	0,477	Hijau terang	Hijau terang	-	-
6	0,561	Hijau kekuningan	Ungu	-	-
7	0,6	Biru muda	Ungu kecoklatan	Alkaloid	+
8	0,655	Jingga	Coklat	Alkaloid	++
9	0,822	Jingga	Coklat	Alkaloid	++
10	0,855	Hijau	Ungu kecoklatan	Alkaloid	+
11	0,872	Ungu	Ungu kecoklatan	Alkaloid	+
12	0,916	Kuning	Kuning	-	-
13	0,933	Hijau muda	Kuning	-	-

Diantara 13 noda yang diperoleh maka noda 8 dan 9 yang akan dikerok untuk uji selanjutnya. Karena diduga menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan konsentrasi alkaloid pada noda 8 dan 9 lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi noda yang lain, dengan noda 8 berwarna jingga sebelum disemprot reagen Dragendorff dan berwarna coklat setelah disemprot reagen pada pengamatan sinar UV 366 nm dengan nilai Rf 0,655. Sedangkan noda 9 berwarna jingga sebelum disemprot reagen dan berwarna coklat setelah disemprot reagen Dragendorff pada pengamatan sinar UV 366 nm dengan nilai Rf 0,822. Hal

tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hasibuan (2007) yaitu hasil uji kualitatif terhadap serbuk daun bandotan menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan dari hasil KLT diperoleh nilai R_f 0,62 dengan warna merah orange. Dan juga penelitian yang dilakukan oleh Arifin dkk (2006), mendeteksi alkaloid pada ekstrak etanol daun *Eugenia cumini* Merr menggunakan penyemprot Dragendorff menghasilkan noda dengan R_f 0,83 yang berwarna jingga dibawah sinar UV 365 nm.

Hasil pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT preparatif ditunjukkan pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Hasil pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT preparatif
Keterangan: a. Hasil pengamatan tanpa sinar UV
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV
c. Hasil pengamatan di bawah sinar UV setelah noda 8 dan 9 dikerok

Noda 8 dan 9 masing-masing dikerok dan dilarutkan dengan 1 mL kloroform. Setelah itu larutan divortex untuk menghomogenkan kloroform dengan senyawa yang terserap pada silika gel. Pemisahan silika gel dengan filtrat yang

mengandung senyawa aktif dilakukan dengan cara sentrifuse. Hal ini bertujuan untuk mengendapkan silika gel sehingga filtrat yang diambil tidak bercampur dengan silika gel tersebut. Filtrat yang didapatkan diambil dan dimasukkan dalam botol vial. Selanjutnya filtrat yang diperoleh ditotolkan kembali untuk uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi.

4.8 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D)

Pengujian kemurnian isolat alkaloid yaitu dengan KLT dua dimensi. Plat yang digunakan pada KLT dua dimensi adalah plat KLT silika gel G₆₀ F₂₅₄ dengan ukuran 10 cm x 10 cm. pada KLT dua dimensi hasil isolat alkaloid yang diperoleh dari KLTP ditotolkan pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi lalu dikembangkan dengan satu sistem fase gerak sehingga campuran terpisah menurut jalur yang sejajar dengan salah satu sisi. Lempeng diangkat dan dikeringkan, diputar 90° kemudian diletakkan ke dalam bejana kromatografi yang berisi sistem fase gerak kedua, sehingga bercak yang terpisah pada pengembangan pertama terletak di bagian bawah sepanjang lempeng, lalu dikromatografi lagi. Komponen yang terpisah dapat terdapat dimana saja di dalam lempeng (Gandjar, 2007).

4.8.1 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D) Pada Noda 8

Isolat yang diperoleh dari KLT preparatif setelah ditotolkan pada plat kemudian di elusi dengan menggunakan dua fase gerak yang berbeda. Eluen pengembang yang digunakan pada KLT dua dimensi yaitu untuk fase gerak pertama adalah kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007).

Sedangkan fase gerak kedua yaitu kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007). Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi, yaitu sebagaimana yang tertera pada Tabel 4.9.

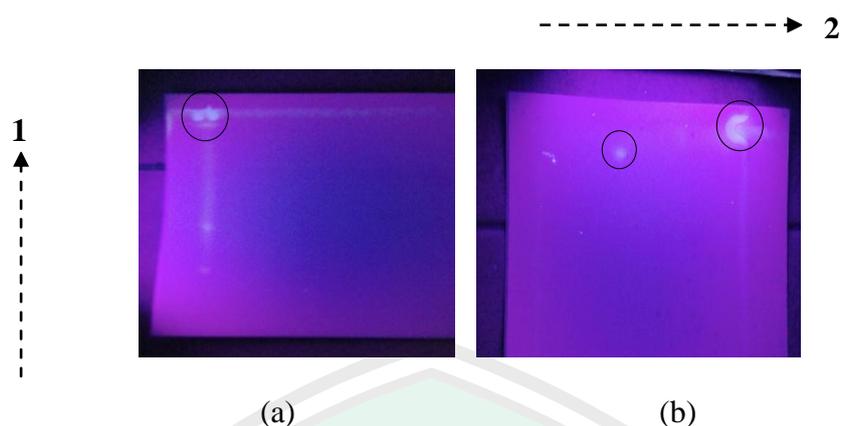
Hasil dari uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa pada saat proses elusi pertama menghasilkan 1 noda dengan warna biru terang campur kuning jingga, tetapi setelah dielusi menggunakan fase gerak yang kedua terbentuk 2 noda.

Tabel 4.7 Uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi noda 8 dengan varian eluen pertama

Noda ke	Elusi 1		Elusi 2		
	Warna noda	Rf	Warna noda		Rf
			Sebelum reagen	Setelah reagen	
1	Biru terang campur kuning jingga	0,98	Jingga keunguan	Ungu-coklat	0,35
2	-	-	Hijau terang	Ungu terang-Kecoklatan	0,87

Keterangan: Eluen 1 = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)
 Eluen 2 = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

Noda pertama berwarna jingga keunguan sebelum disemprot reagen dan berwarna ungu-coklat setelah disemprot reagen dengan nilai Rf 0,35. Sedangkan noda yang kedua berwarna hijau terang sebelum disemprot reagen dan berwarna ungu terang-kecoklatan setelah disemprot reagen dengan nilai Rf 0,87. Hasil uji kemurnian senyawa alkaloid dengan KLT dua dimensi ditunjukkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi dengan varian eluen pertama

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

Untuk lebih mengoptimalkan dalam uji kemurnian isolat alkaloid, maka digunakan varian eluen kedua. Sehingga untuk fase gerak pertama adalah kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007), sedangkan fase gerak kedua yaitu kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007). Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan varian eluen kedua, yaitu sebagaimana yang tertera pada Tabel 4.8

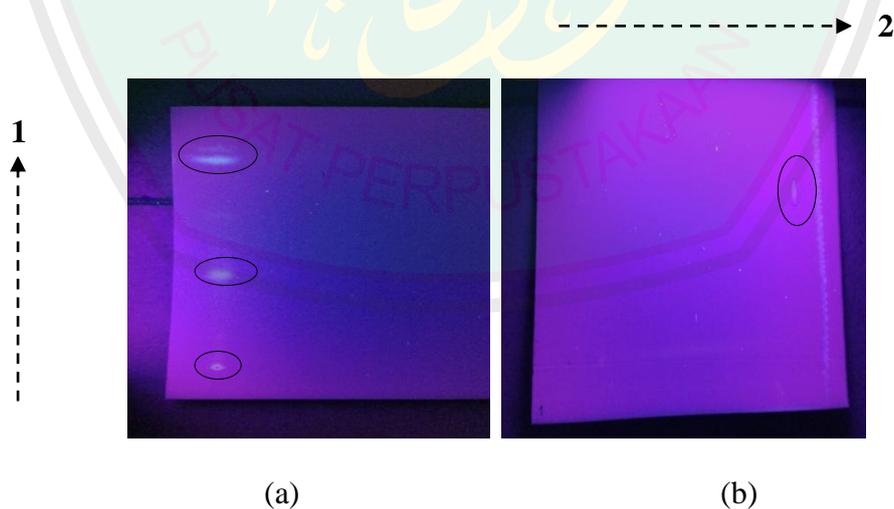
Tabel 4.8 Uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi noda 8 dengan varian eluen kedua

Noda ke	Elusi 1		Elusi 2		
	Warna noda	Rf	Warna noda		Rf
			Sebelum reagen	Setelah reagen	
1	Jingga	0,02	Ungu terang	Coklat jingga	0,87
2	Hijau terang	0,34	-	-	-
3	Biru terang	0,83	-	-	-

Keterangan: Eluen 1 = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

Eluen 2 = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

Hasil dari uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi dengan varian eluen kedua menunjukkan bahwa pada saat proses elusi pertama menghasilkan 3 noda. Noda pertama berwarna biru terang, noda kedua berwarna hijau terang dan noda yang ketiga berwarna jingga. Tetapi setelah dielusi menggunakan fase gerak yang kedua terbentuk 1 noda, yaitu berwarna ungu terang sebelum disemprot reagen dan berwarna coklat jingga setelah disemprot reagen dengan nilai R_f 0,87 dibawah pengamatan sinar UV 366 nm. Hal tersebut menunjukkan bahwa diduga isolat alkaloid yang diperoleh masih belum murni dikarenakan ketika dielusi menggunakan eluen terbaik dari hasil KLT analitik yaitu kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007) menghasilkan noda tunggal, tetapi setelah dielusi menggunakan eluen lain yaitu kloroform : etil asetan (60:40) (Hasibuan, 2007) menghasilkan lebih dari satu noda. Berikut adalah hasil uji kemurnian senyawa alkaloid dengan varian eluen kedua ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi dengan varian eluen kedua

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

4.8.2 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D) Pada Noda 9

Sama halnya dengan noda 8, pada hasil isolat noda 9. Eluen pengembang yang digunakan pada KLT dua dimensi yaitu untuk fase gerak pertama adalah kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007). Sedangkan fase gerak kedua yaitu kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007). Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi, yaitu sebagaimana yang tertera pada Tabel 4.9.

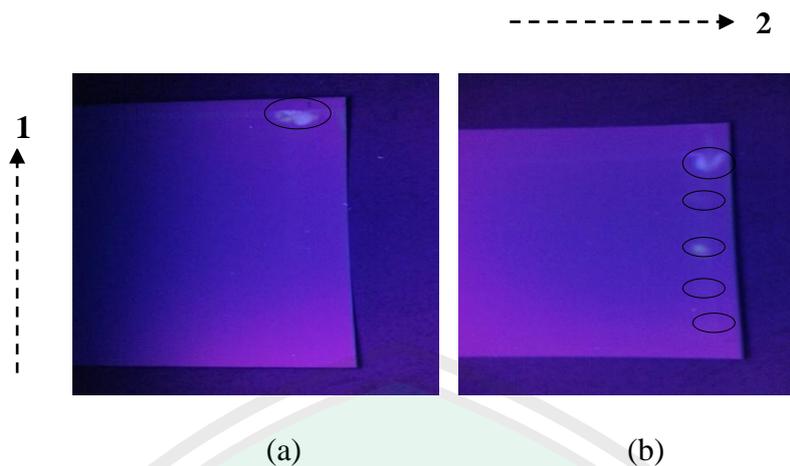
Berdasarkan Tabel 4.9 diketahui bahwa pada saat elusi pertama dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007) menghasilkan 1 noda. Kemudian setelah dielusi lagi dengan fase gerak yang kedua dengan eluen kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007) menghasilkan 5 noda.

Tabel 4.9 Uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi noda 9 dengan varian eluen pertama

Noda ke	Elusi 1		Elusi 2		
	Warna noda	Rf	Warna noda		Rf
			Sebelum reagen	Setelah reagen	
1	Biru terang campur kuning jingga	0,98	Jingga	Ungu-Jingga	0,05
2	-	-	Ungu muda	Ungu-Coklat	0,24
3	-	-	Hijau terang	Ungu terang	0,42
4	-	-	Jingga	Coklat	0,68
5	-	-	Biru terang	Ungu-Coklat	0,90

Keterangan: Eluen 1 = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)
 Eluen 2 = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

Hasil uji kemurnian senyawa alkaloid dengan KLT dua dimensi ditunjukkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi dengan varian eluen pertama

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

Selanjutnya eluen yang digunakan pada KLT dua dimensi dilakukan dengan menggunakan varian eluen kedua untuk lebih mengoptimalkan dalam uji kemurnian isolat alkaloid. Untuk fase gerak pertama adalah kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007), sedangkan fase gerak kedua yaitu kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007). Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan varian eluen kedua, yaitu sebagaimana yang tertera pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi noda 9 dengan varian eluen kedua

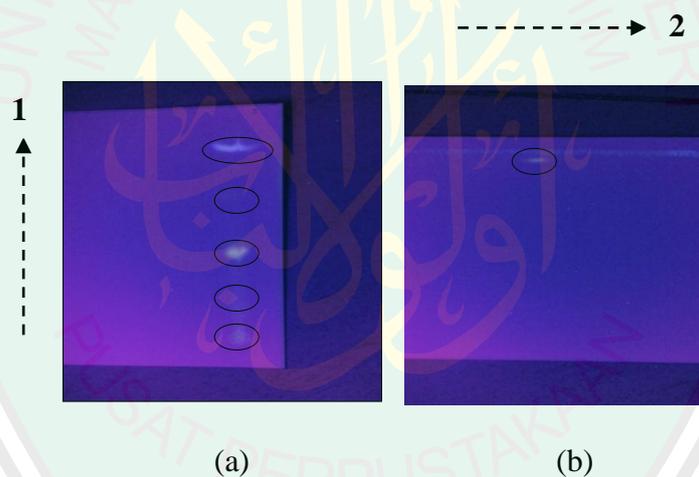
Noda ke	Elusi 1		Elusi 2		
	Warna noda	Rf	Warna noda		Rf
			Sebelum reagen	Setelah reagen	
1	Jingga	0,07	Hijau terang	Ungu-Jingga	0,95
2	Ungu muda	0,27	-	-	-
3	Hijau terang	0,43	-	-	-
4	Jingga	0,69	-	-	-
5	Biru terang	0,92	-	-	-

Keterangan: Eluen 1 = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

Eluen 2 = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

Hasil uji kemurnian isolat alkaloid pada noda 9 dengan varian eluen kedua menunjukkan bahwa pada saat elusi pertama dengan menggunakan eluen kloroform : etil asetat (60:40) menghasilkan 5 noda, dan setelah dielusi kembali dengan menggunakan fase gerak kedua yaitu kloroform : metanol : amonia (85:15:1) menghasilkan satu noda. Hasil uji kemurnian senyawa alkaloid dengan KLT dua dimensi ditunjukkan pada Gambar 4.12.

Berdasarkan hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi pada gambar 4.12 diketahui bahwa dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007) senyawa yang terpisah atau terelusi menghasilkan noda tunggal.



Gambar 4.12 Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi dengan varian eluen kedua

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa ketika proses pengerokan pada KLT preparatif, isolat yang diperoleh benar-benar spot yang ingin dikerok dan tidak mengenai spot yang lain. Tetapi setelah dielusi kembali dengan menggunakan eluen lain yaitu kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

menghasilkan lebih dari satu noda, yang menunjukkan bahwa isolat belum murni. Karena menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Hasibuan (2007) yaitu untuk uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi menghasilkan satu noda setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff.

Tabel 4.11 Hasil jumlah spot noda akhir varian eluen pertama dan varian eluen kedua

Spot noda ke	Σ Spot noda akhir dari varian eluen pertama	Σ Spot noda akhir dari varian eluen kedua
8	2 noda	1 noda
9	5 noda	1 noda

Dari hasil varian eluen yaitu dengan menggunakan varian eluen pertama kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007) dan eluen kedua yaitu kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007) noda yang dihasilkan lebih dari satu. Sedangkan varian eluen kedua yaitu dengan eluen pertama kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007) dan eluen kedua kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007) diperoleh noda tunggal, sehingga varian eluen kedua lebih bagus daripada varian eluen pertama karena menghasilkan noda tunggal.

4.9 Pemanfaatan Tanaman Pulai dalam Perspektif Islam

Allah menciptakan alam beserta isinya tidaklah sia-sia. Semua ciptaan Allah dapat dimanfaatkan dan dieksplorasi jika manusia mau berfikir. Salah satu ciptaan yang memiliki banyak manfaat adalah tumbuh-tumbuhan, baik yang ada di darat maupun di laut.

Salah satu tumbuhan yang telah Allah SWT ciptakan ialah tumbuhan Pulai. Bagian dari tumbuhan Pulai seperti daun, kulit batang, akar dan bunga bisa

dimanfaatkan manusia sebagai tumbuhan obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Sebagaimana firman Allah dalam surat surat al An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ

النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا

أُثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

“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”

Dalam surat al An'am ayat 99 menjelaskan betapa besarnya kekuasaan Allah SWT jika kita memikirkannya. Semua yang diciptakan-Nya tidak ada yang sia-sia baik di langit maupun di bumi. Ciptaan Allah SWT memiliki maksud yang telah dijelaskan oleh al-Qur'an agar manusia dapat mengetahuinya. Allah SWT memberikan kesempatan yang seluas-luasnya kepada manusia untuk mengambil manfaat dari alam semesta, salah satunya dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat.

Al Quran menjadi pedoman bagi manusia untuk mencari jawaban atas penciptaan langit dan bumi dengan menggunakan akal pikirannya. Upaya manusia untuk mencari jawaban yang dimaksud merupakan awal mula timbulnya studi eksperimen dan penelitian terhadap alam sekitar agar mengetahui berbagai potensi

dan manfaat penciptaan alam semesta, karena sesungguhnya penciptaan alam beserta isinya tidaklah sia-sia.

Shihab (2002) menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan dari berbagai macam tumbuhan yang baik, yaitu subur dan bermanfaat, seperti halnya tumbuhan Pulai, khususnya bagian daun yang di dalamnya banyak manfaatnya bagi manusia, yaitu sebagai obat-obatan. Salah satu contoh nyata adalah tumbuhan Pulai yang mempunyai khasiat sebagai tumbuhan obat. Allah Swt. berfirman dalam Alquran Surat asy Syu'araa ayat 80:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Artinya: *“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku”* (QS. asy Syu'araa': 80).

Allah Swt. menciptakan penyakit pada manusia. Berdasarkan ayat diatas, Allah Swt. akan menyembuhkan seseorang ketika sakit, sehingga dengan izinNya, penyakit tersebut akan hilang.

Ayat di atas menjelaskan bahwa semuanya diciptakan oleh Allah SWT dengan ukuran sesuai dengan ketentuan-Nya, dan disertai dengan hikmah yaitu memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Salah satunya dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat. Sebagaimana memanfaatkannya tumbuhan Pulai khususnya daun Pulai sebagai tumbuhan obat. Rasulullah telah memberikan petunjuk tentang cara mengobati diri beliau sendiri, keluarganya dan para sahabat yaitu menggunakan jenis obat yang tidak ada campuran kimia.

Pengobatan Nabi menggunakan tiga jenis obat yaitu obat alamiah, obat ilahiyah dan kombinasi obat alamiah dan ilahiyah. Pengobatannya berdasarkan wahyu Allah SWT tentang apa yang bermanfaat dan yang tidak berbahaya,

misalnya melakukan pengobatan dengan tumbuh-tumbuhan. Pemanfaatan tanaman sebagai obat merupakan salah satu sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah SWT dan mencontoh serta meneladani cara pengobatan Nabi (al-Jauziyah, 2008).

Ilmu pengetahuan dan teknologi mendukung setiap manusia dalam menemukan dan memikirkan setiap hikmah dari apa yang telah diciptakan oleh Allah SWT, seperti tumbuhan yang bisa dimanfaatkan sebagai obat herbal. Diantara tumbuhan tersebut adalah tumbuhan Pulai. Dimana salah satu bagian dari tumbuhan ini yaitu daunnya telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Seperti diare, demam, batuk, kencing manis dan lain sebagainya.

Manfaat daun pulai dibuktikan dengan hasil penelitian optimalisasi penggunaan kromatografi lapis tipis pada pemisahan senyawa alkaloid daun pulai. Pada penelitian ini diperoleh berat ekstrak kasar alkaloid yaitu sebesar 0,5821 g. Sebagaiman firman Allah dalam surat Al Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: "Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran" (Q.S Al-Qamar:49).

Senyawa alkaloid yang diperoleh dioptimalisasi kembali sehingga menjadi lebih murni. Sebagaiman firman Allah SWT dalam surat Thaahaa ayat 75:

وَمَنْ يَأْتِهِ مُؤْمِنًا قَدْ عَمِلَ الصَّالِحَاتِ فَأُولَٰئِكَ لَهُمُ الدَّرَجَاتُ الْعُلَى

Artinya:” Dan barangsiapa datang kepada Tuhannya dalam keadaan beriman, lagi sungguh-sungguh telah beramal saleh, maka mereka itulah orang-orang yang memperoleh tempat-tempat yang tinggi (mulia)(Thaahaa:75).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam surat Thaahaa ayat 75 menunjukkan bahwa jika kita sungguh-sungguh dalam melakukan pekerjaan dan beramal saleh, maka Allah akan memberikan tempat yang tinggi untuknya. Sebagaimana pada penelitian tentang optimalisasi dalam pemisahan senyawa alkaloid ini yang mana manfaat alkaloid sangat banyak, salah satunya yaitu dalam pengobatan alkaloid memberikan efek fisiologis pada susunan syaraf pusat (obat anti rasa sakit dan obat tidur), dan sebagai obat antitoksoplasma. Tetapi pada penelitian ini setelah dilakukan uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi isolat yang diperoleh masih belum murni diakarenakan masih belum menghasilkan noda tunggal.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Profil hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai dengan KLT analitik pada eluen etil asetat : etanol : n-Heksan (2:1:30) diperoleh 4 noda, eluen kloroform : aseton : metanol (20:3:2) diperoleh 9 noda, eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) diperoleh 6 noda, eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) diperoleh 11 noda dan eluen kloroform : etil asetat (60:40) diperoleh 5 noda. Pada KLT analitik diperoleh eluen terbaik yaitu dengan variasi eluen kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007) dengan 11 noda.
2. Hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai dengan KLT preparatif diperoleh 13 noda dan pada noda 8 dan 9 dikerok untuk uji selanjutnya karena diduga menunjukkan adanya senyawa alkaloid dengan nilai Rf 0,655 (jingga) pada noda 8 dan Rf 0,822 (jingga) pada noda 9.
3. Profil hasil pemisahan senyawa alkaloid daun pulai dengan KLT dua dimensi yaitu isolat yang diperoleh masih belum murni dikarenakan masih belum menghasilkan noda tunggal.

5.2 Saran

1. Hasil uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi masih belum murni, karena masih belum menghasilkan noda tunggal. Sehingga perlu dilakukan uji kemurnian lagi dengan KLT dua dimensi menggunakan beberapa variasi eluen sampai menghasilkan noda tunggal.

2. Diperlukan identifikasi golongan senyawa aktif lebih spesifik dengan menggunakan bantuan instrumen agar struktur senyawa aktif yaitu alkaloid dalam ekstar daun pulai dapat diketahui.



DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, A. 2013. Uji Antitoksoplasma Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulau (*Alstonia Scholaris*, (L)R. Br) Terhadap Mencit (*Mu musculus*) BALB/C Yang Terinfeksi *Toxoplasma Gondi* Strain RH. *Tugas akhir/skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia UIN Malang.
- Achmad, S.A. 1986. *Buku Materi Pokok Kimia Organ Bahan Alam*. Jakarta: Karunika Universitas Terbuka.
- Al-Jauziyah, I. Q. 2008. *Praktek Kedokteran Nabi: Penyembuhan di Bawah Bimbingan Wahyu*. Jakarta: Hikam Pustaka.
- Al Maraghi, A.M. 1992. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi 7*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Ed ke-18. Washington DC: Assosiation of Official Analytical Chemistry.
- Apriyanti, T. 2002. Analisis Ekstraktif dan Fitokimia Kulit Kayu, Akar Serta Daun dari Jenis Pohon Pulau (*Alstonia Scholaris* L.R.Br) sebagai Bahan Obat-obatan. *Skripsi*. Samarinda: Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman.
- Arifin, H.; Anggraini, N.; Dian, H. dan Rasyid, R. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugina cumini* Merr. *Jurnal Chemistry*. Jakarta: Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi Diterbitkan*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Berkov, S., Chilpa, R.R., Codina, C., Viladomat, F., and Bastida J. 2007. Revised NMR Data for Incartine: an Alkaloid from *Galanthus elwesii*. *Molecules*. 12. Hal: 1430-1435.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 1*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Dey, A. 2011. *Alstonia scholaris* R.Br. (*Apocynaceae*): *Phytochemistry and pharmacology: A concise review*. Department of Botany, Presidency College, Kolkata, West Bengal, India.

- Djarwis, D. 2004. Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta.
- Farooqi, M.I.H. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam: Manfaat Tumbuhan Menurut Al-Qur'an dan Sunnah Nabi. Diterjemahkan oleh Ahmad Y. Sumantho*, Jakarta: Penerbit Hikmah (PT Mizan Publika). Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid 1*. UI Press. Jakarta.
- Fichera, M.E. dan Roos D.S. 1997. *A Plastid Organelle as A Drug Target In Apicomplexan Parasites*. Nature, 390, 407-409.
- Gandjar, I.G. dan Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan II. Yogyakarta: Pustaka pelajar.
- Gritter, R.J. dan Robbit M. Schwarting S.E. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hajar, Ibnu dan Noor Hidayah, 2008. *Pemanfaatan Pulai (Alstonia scholaris) sebagai Bahan Obat Tradisional*. Laboratorium Ekologi dan Dendrologi, Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Jl. Ki hajar Dewantara Kampm Gunung Kelua Samarinda.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB
- Hardiningtyas, S.D. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak Sarcophyton sp. Yang Difrakmentasi dan Tidak Difrakmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu*. Bogor: ITB
- Hasibuan. dan Anjelisa P.Z. Nainggolan M. 2007. Penentuan Sifat Kimia Fisika Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi Dari Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn). *Jurnal Penelitian MIPA* Vol 1. Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi USU.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Khyade. dan Vaikos. 2009. Phytochemical and antibacteria properties of leaves of *Alstonia scholaris* R.Br. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8 No. 22: 6434-6436.

- Kristanti, A.N. dkk. 2006. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kulsum, U. dan Gumailina. 2003. Tanaman Obat Asal Hutan sebagai Komoditi Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK) Potensial (Bagian 1). *Info Hasil Hutan* Vol. 10 No. 2, Hal 83-96. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Hasil Hutan.
- Kumolosasi, E. 1999. Efek Teratogenik Ekstrak Etanol Kulit Batang Pule (*Alstonia scholaris* R. Br) pada Tikus Wistar. *Jurnal Matematika dan Sains* Vol.9 No.2 Juni 2004. Departemen Farmasi FMIPA-ITB: Bandung.
- Kusrini, D. dan Muhammad T.B.M. Fachriyah E. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) *Stenis*). *Jurnal Chemistry* Vol 1. Jurusan Kimia FSM Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kusrini, D. dan Yazid M. Fachriyah E. 2013. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Chemistry* Vol 1. Jurusan Kimia FSM Universitas Diponegoro. Semarang.
- Lenny, S. 2006. *Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah (Graptophyllum pictum L. Griff) dengan Metode Uji Brine Shrimp*. Medan: USU.
- Lestari, S.M. 2012. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Tugas akhir/Skripsi* Tidak Diterbitkan. Jakarta: FMIPA Farmasi Universitas Indonesia.
- Luo, Xiao-Dong, Jian-Hua Shang, Xiang-Hai Cai, Tao Feng, Yun-Li, Kun-Wang Ji, Young Zhang. 2010. Pharmacological evaluation of *Alstonia scholaris*: Anti-inflammatory and analgesic effects. *Journal of Ethnopharmacology*. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China.
- Lusiana, Helen. 2009. Isolasi dan Uji Anti Plasmodium secara In Vitro Senyawa Alkaloid dari *Albertisia papuana* BECC. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. *Skripsi diterbitkan*.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) serta Uji aktivitasnya sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*, 1 (1): 23-29.
- Marliana, S.D., Suryanti, V. dan Suyono. 2005. Skrinning Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. Vol. 3. No.1. Surakarta: FMIPA Universitas Sebelas Maret
- Mc Murry, J. And Fay. 2004. *Chemistry 4th Edition*. Belmont: Pearson Education.
- Misra, C.S. dkk. 2011. *A comparative study on phytochemical screening and antibacterial activity of roots of Alstonia scholaris with the roots, leaves and stem bark*. School of Bio Sciences and Technology, VIT University, Vellore-632014, Tamil Nadu, India.
- Monzon, R.B. 1995. Traditional medicine in the treatment of parasitic diseases in the Philippines. Philippines: Southeast Asian *J. Trop. Med. Publ. Health*.
- Nur, M.A. dan Adjuwana H.A. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: ITB.
- Octavia, D.R. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (*Anredera corfolia* (Tenore) Steen) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrasil.). *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Sari, D.R. 2010. Pemisahan Senyawa Alkaloid (kafein) dari Daun Teh. *Laporan Praktikum* Tidak Diterbitkan. Bandung: Jurusan Kimia Institut Teknologi Bandung.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Savitri, E.S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Malang Press.
- Schunack, W. dan Mayer K. Haake M. 1990. *Senyawa Obat* (diterjemahkan oleh Joke R. Wattimena, M. Sc. Dr dan Sriwoelan Soebito, Dr) edisi 2 . Penerbit Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.

- Sempietro, D. dan Catalan C. Vattuone M. 2008. *Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Product*. USA: Science Publishers.
- Setiaji A. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil, Asetat dan Etanol, 70% Rhizoma Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 serta Skrining Fitokimianya. Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* Vol.7 dan 10. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Sinnamthambi, Arulmozhi, Papiya Mitra M, Lohidanas S, dan Purnima Ashok.11 2011. *Anti-arthitic and antioxidant activity of leaves of Alstonia scholaris Linn. R. Br.* European Journal of Integrative Medicine 3. Department of Pharmacology, Bharati Vidyapeeth University, Poona College of Pharmacy, Erandwane, Pune 411 038, Maharashtra, India.
- Sinnamthambi, Arulmozhi, Papiya Mitra M, Lohidanas S, Prasad T. 2010. *Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of leaves of Alstonia scholaris Linn. R. Br.* European Journal of Integrative Medicine 2. Department of Pharmacology, Bharati Vidyapeeth University, Poona College of Pharmacy, Erandwane, Pune 411 038, Maharashtra, India.
- Sirait, Median. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Soerianegara, L. dan Lemmens. 1994. *Plant Resources of South-East Asia 5, (1)*. Timber Trees: Major Commercial Timbers. Prosea. Bogor.
- Sriwahyuni, 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas dengan Menggunakan *Brine Shrimp*, Tugas akhir/skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia UIN Malang.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sumiwi, A.N. 1992. *Kromatografi Lapis Tipis Alkaloid dari Daun Kelor (Moringa oliefera Lamrk)*. Bogor: Universitas Padjajaran.
- Sutomo. dan Dyan M.S. 2005. *Alstonia scholaris L. Koleksi Kebun Raya "Eka Karya" Bali*. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya "Eka Karya" LIPI.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandhi, Apt. Yogyakarta: UGM press.
- Wall, Peter E. 2005. *Thin-Layer Chromagrophy. A Modem Practical Approach* UK: RSC.

Winarno FG, Fardiaz S dan Fardiaz D. 1973. *Ekstraksi, dan Kromatografi, Elektrophoresis*. Bogor: Fakultas Mekanisme dan Teknologi Pertanian

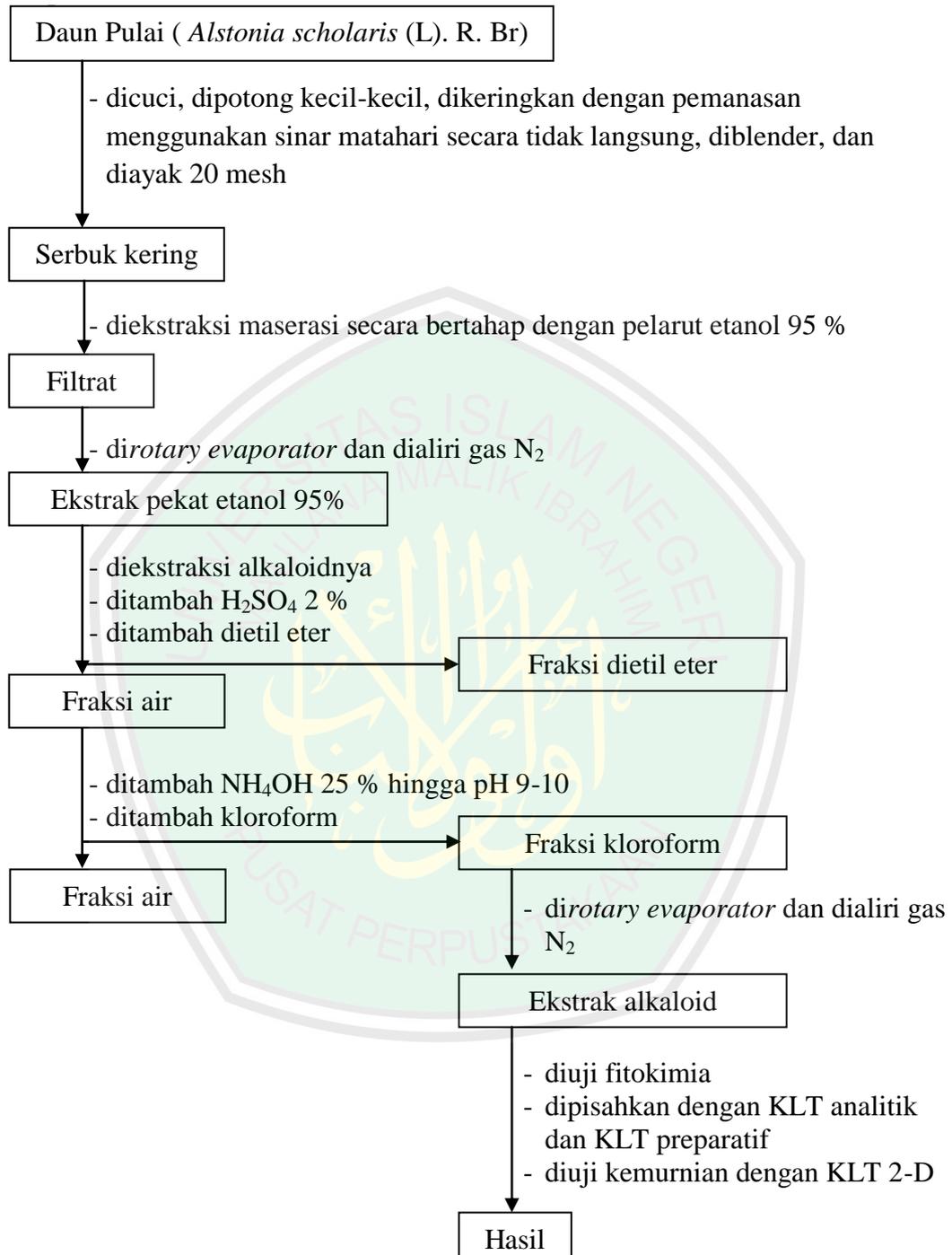
Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

Zuraidah., Efendy, Rachman., dan Lelana Leo Endra. 2010. *Prospek Pulai (Alstonia Sp) Sebagai Bahan Baku Industri Obat Anti Kolesterol*. Bogor: Program Intensiv Terapan.



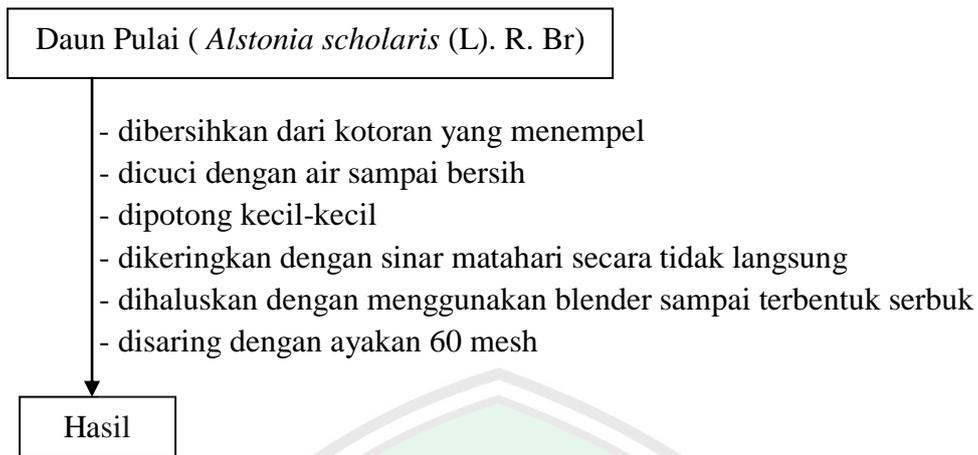
LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian

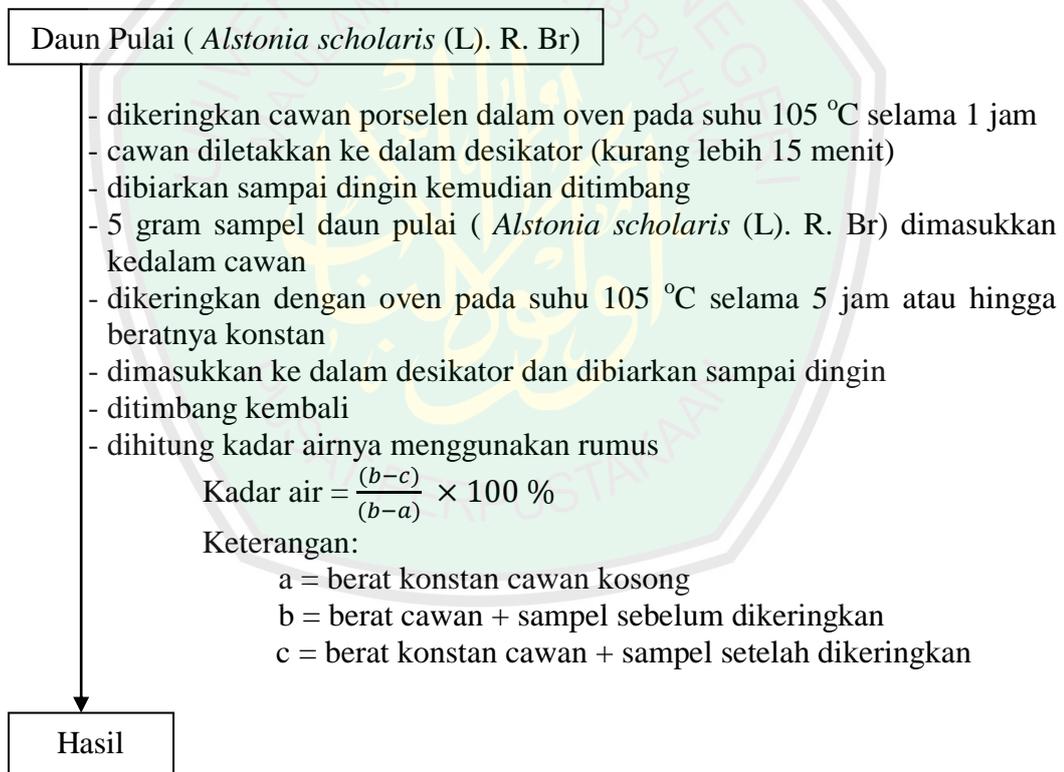


Lampiran 2 Skema Kerja

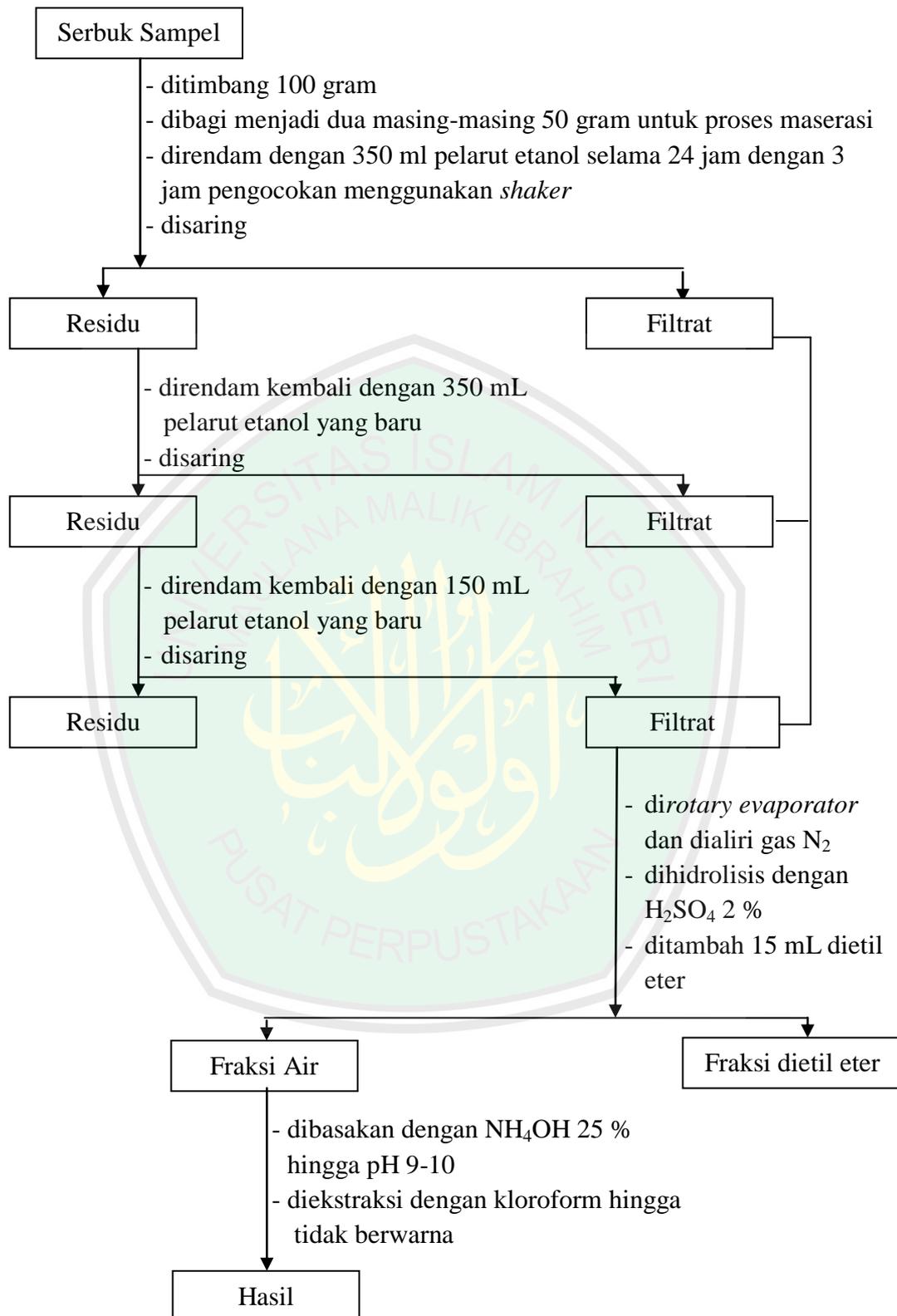
2.1 Preparasi Sampel



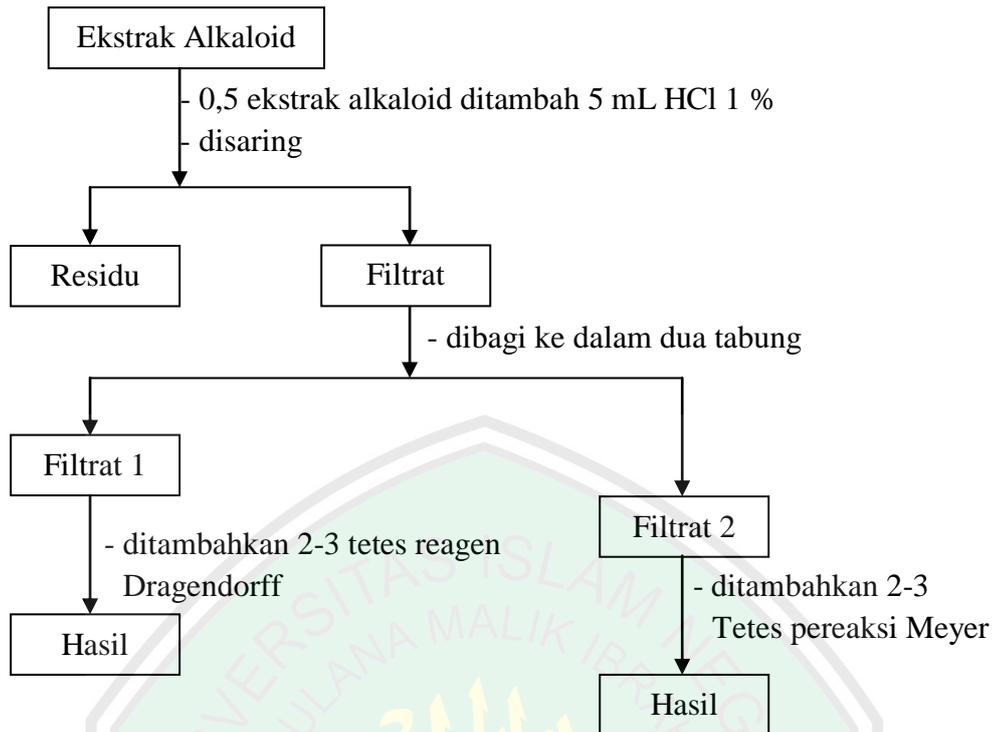
2.2 Analisis kadar air



2.3 Ekstraksi Alkaloid Secara Maserasi

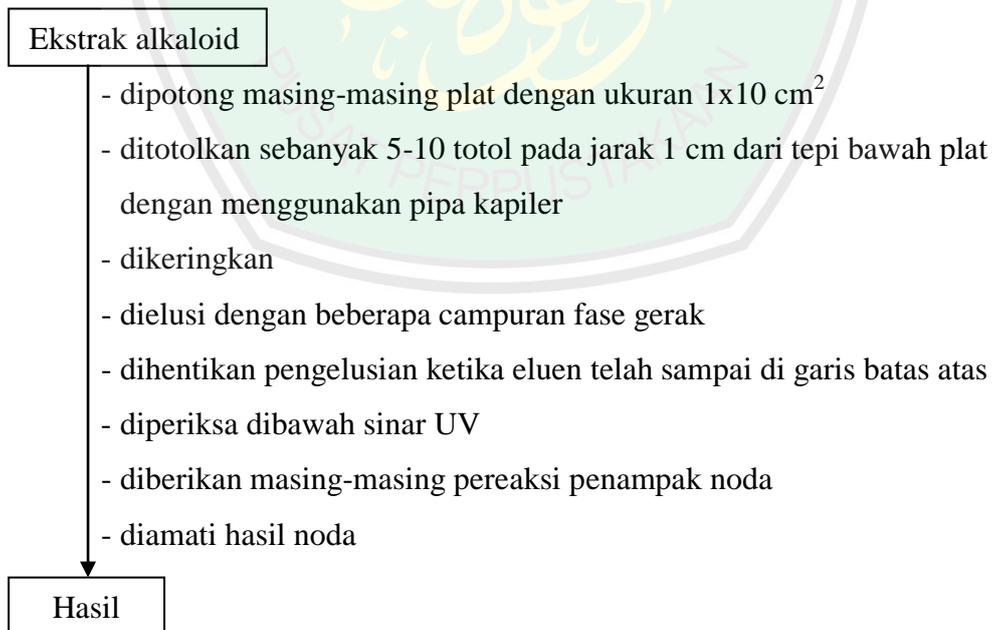


2.4 Uji Fitokimia

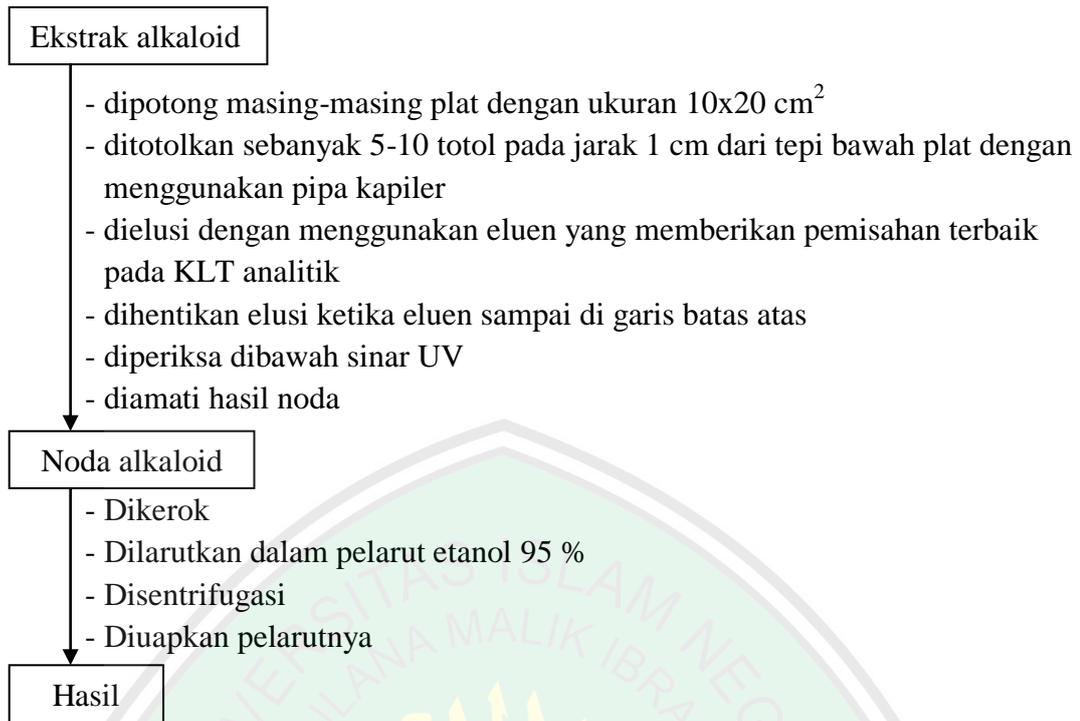


2.5 Pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT

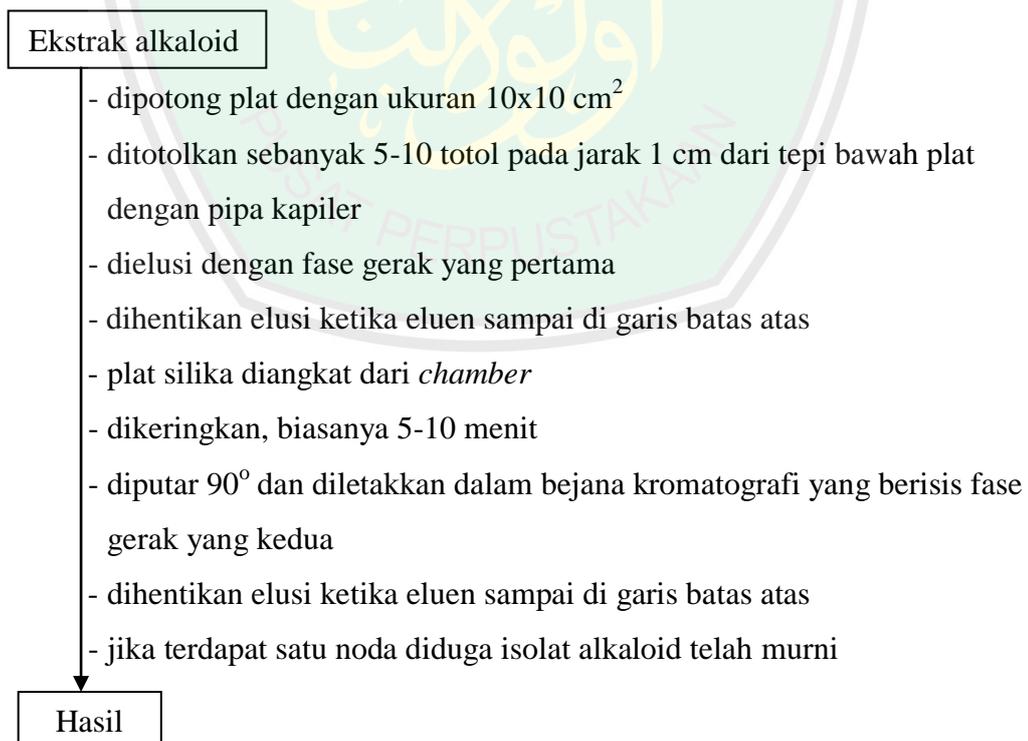
2.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Analitik



2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Preparatif



2.6 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dua Dimensi



Lampiran 3 Pembuatan Reagent dan Larutan

3.1 Pembuatan larutan etanol 95 %

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

$$99,8 \% \times V_1 = 95 \% \times 1000 \text{ mL}$$

$$V_1 = 952 \text{ mL}$$

Teknis pembuatan:

Cara pembuatan larutan etanol 95 % adalah dipipet larutan etanol pekat 99,8 % sebanyak 952 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 1000 mL, selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

3.2 Pembuatan HCl 1 %

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

$$37 \% \times V_1 = 1 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,27 \text{ mL}$$

Teknis Pembuatan:

Cara pembuatan larutan HCl 1 % adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,27 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

3.3 Pembuatan larutan H₂SO₄ 2 %

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

$$98 \% \times V_1 = 2 \% \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,04 \text{ mL}$$

Teknis Pembuatan:

Cara pembuatan larutan H_2SO_4 2 % adalah dipipet larutan H_2SO_4 pekat 98 % sebanyak 2,04 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi \pm 50 mL akuades. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

3.4 Pembuatan larutan NH_4OH 25 %

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

$$50 \% \times V_1 = 25 \% \times 50 \text{ mL}$$

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

Teknis Pembuatan:

Cara pembuatan larutan NH_4OH 25 % adalah dipipet larutan NH_4OH pekat 50 % sebanyak 25 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 mL yang berisi \pm 5 mL akuades. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

3.5 Pembuatan Reagen Dragendorff

I. 0,6 gram bismuth subnitrat dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O

II. 6 gram KI dalam 10 mL H_2O .

Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Harborne, 1987).

Teknis Pembuatan:

Sebanyak 0,6 gram bismuth subnitrat ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang pertama. Kemudian dipipet

sebanyak 10 mL H₂O dengan menggunakan pipet volume 10 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang kedua. Selanjutnya dipipet 2 ml HCl pekat dengan menggunakan pipet ukur 5 mL ke dalam beaker glass 25 mL yang kedua. Kemudian setelah bercampur, campuran larutan yang ada dalam beaker glass 25 mL yang kedua dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang pertama.

Sebanyak 6 gram KI ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Kemudian dipipet sebanyak 10 mL dengan menggunakan pipet volume 10 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL.

Selanjutnya dipipet sebanyak 15 mL H₂O dengan menggunakan pipet ukur 25 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang ketiga. Selanjutnya dipipet 7 mL HCl pekat dengan menggunakan pipet ukur 10 mL ke dalam beaker glass 25 mL yang ketiga. Kemudian setelah bercampur, campuran larutan yang ada dalam beaker glass 25 mL yang ketiga dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL.

3.6 Pembuatan Reagen Mayer

- | | |
|----------------------|------------|
| A. HgCl ₂ | 1,358 gram |
| Akuades | 60 mL |
| B. KI | 5 gram |
| Akuades | 10 mL |

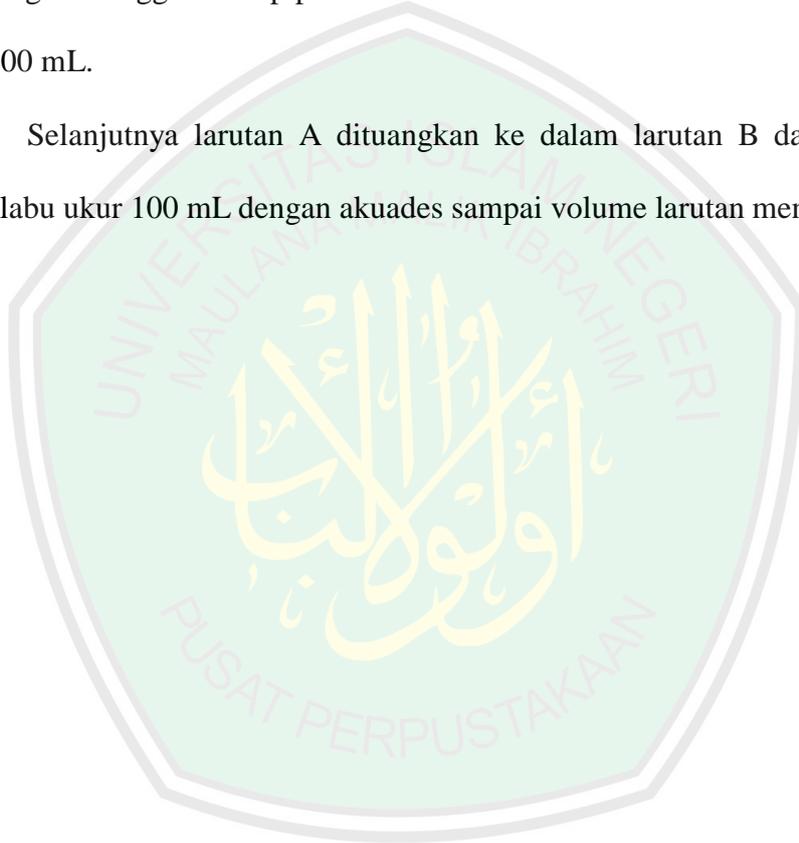
Cara membuatnya adalah dituangkan larutan A ke dalam larutan B, diencerkan dengan akuades sampai volume larutan menjadi 100 mL.

Teknis Pembuatan:

Larutan A: sebanyak 1,358 gram HgCl_2 ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian dipipet sebanyak 60 mL H_2O dengan menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL.

Larutan B: sebanyak 5 gram KI ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian dipipet sebanyak 10 mL H_2O dengan menggunakan pipet volume 10 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL.

Selanjutnya larutan A dituangkan ke dalam larutan B dan diencerkan dalam labu ukur 100 mL dengan akuades sampai volume larutan menjadi 100 mL.



Lampiran 4 Hasil Pengukuran Uji Kadar Air Daun Pulai

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

Keterangan: a = berat cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum di oven
c = berat cawan + sampel

4.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Daun Pulai Segar

1. Pengukuran Berat Cawan Sampai Konstan setelah dikeringkan

Ulangan	Berat cawan kosong (g)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	57,1432	55,3790	65,9272
Ulangan 2	57,1425	55,3779	65,9269

2. Pengukuran Berat Cawan + Sampel Daun Pulai Segar Sampai Konstan

Ulangan	Berat cawan kosong (g) + daun segar		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	62,1429	60,3780	70,9265
Ulangan 1	60,2262	58,5016	68,6171
Ulangan 2	59,4118	57,5087	67,7642
Ulangan 3	58,9243	57,0286	67,3126
Ulangan 4	58,6024	56,6550	67,1250
Ulangan 5	58,3773	56,6489	67,0779
Ulangan 6	58,3721	65,6457	67,0758
Ulangan 7	58,3678	56,6440	
Ulangan 8	58,3671		

$$\text{a. Kadar air cawan 1} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$$

$$= \frac{62,1429 - 58,3671}{62,1429 - 57,1425} \times 100 \%$$

$$= \frac{3,7758}{5,0004} \times 100 \%$$

$$= 0,7551 \times 100 \%$$

$$= 75,51 \%$$

a. Kadar air cawan 2 $= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$

$$= \frac{60,3780 - 56,6440}{60,3780 - 55,3790} \times 100 \%$$

$$= \frac{3,734}{4,999} \times 100 \%$$

$$= 0,7469 \times 100 \%$$

$$= 74,69 \%$$

b. Kadar air cawan 3 $= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$

$$= \frac{70,9265 - 67,0758}{70,9265 - 65,9269} \times 100 \%$$

$$= \frac{3,8507}{4,9996} \times 100 \%$$

$$= 0,7702 \times 100 \%$$

$$= 77,02 \%$$

➤ **Kadar air rata-rata** $= \frac{75,51 \% + 74,69 \% + 77,02 \%}{3}$

$$= \frac{227,22 \%}{3}$$

$$= 75,74 \%$$

4.2 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Daun Pulai Segar

1. Pengukuran Berat Cawan Sampai Konstan setelah dikeringkan

Ulangan	Berat cawan kosong (g)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	63,5234	60,0376	54,3239
Ulangan 2	63,5208	60,0316	54,3194
Ulangan 3		60,0310	54,3187

2. Pengukuran Berat Cawan + Sampel Daun Pulai Kering Sampai Konstan

Ulangan	Berat cawan kosong (g) + daun segar		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	68,5253	65,0316	59,3202
Ulangan 1	68,1343	64,6649	58,9374
Ulangan 2	68,1005	64,6458	58,9273
Ulangan 3	68,1298	64,6158	58,9186
Ulangan 4	68,1120	64,6333	58,9074
Ulangan 5	68,1143	64,6166	58,9093
Ulangan 6	68,1041	64,6117	58,9141
Ulangan 7	68,1047	64,6564	58,9408
Ulangan 8	68,1042	64,6380	58,9201
Ulangan 9		64,6248	58,9170
Ulangan 10		64,6398	58,9265
Ulangan 11		64,6264	58,9094
Ulangan 12		64,6370	58,9172
Ulangan 13		64,6285	58,9092
Ulangan 14		64,6370	58,9105
Ulangan 15		64,6239	58,8912
Ulangan 16		64,6291	58,9140
Ulangan 17		64,6323	58,8960
Ulangan 18		64,6202	58,9108
Ulangan 19		64,6316	58,9097
Ulangan 20		64,6353	
Ulangan 21		64,6344	

$$\begin{aligned}
 \text{a. Kadar air cawan 1} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{68,5253 - 68,1042}{68,5253 - 63,5208} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,4211}{5,0045} \times 100 \% \\
 &= 0,0841 \times 100 \% \\
 &= 8,41 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. Kadar air cawan 2} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{65,0316 - 64,6344}{65,0316 - 60,0310} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,4105}{5,0015} \times 100 \% \\
 &= 7,94 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. Kadar air cawan 3} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{59,3202 - 58,9097}{59,3202 - 54,3187} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,4105}{5,0015} \times 100 \% \\
 &= 0,0820 \times 100 \% \\
 &= 8,2 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{➤ Kadar air rata-rata} &= \frac{8,41 \% + 7,94 \% + 8,2}{3} \\
 &= \frac{24,54}{3} \\
 &= 8,18 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5 Hasil Rendemen

5.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 95 % Daun Pulai Setiap 50 g Sampel

1. Berat sampel serbuk = 50 g

Berat ekstrak pekat = 6,7641 g

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel serbuk}} \times 100 \%$$

$$= \frac{6,7641}{50} \times 100 \%$$

$$= 13,5282 \%$$

2. Berat sampel serbuk = 50 g

Berat ekstrak pekat = 6,9415 g

$$\text{Rendemen} = \frac{6,9415}{50} \times 100 \%$$

$$= 13,883 \%$$

3. Berat sampel serbuk = 50 g

Berat ekstrak pekat = 8,0813 g

$$\text{Rendemen} = \frac{8,0813}{50} \times 100 \%$$

$$= 16,1626 \%$$

5.2 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 95 % Daun Pulaui

Berat sampel serbuk = 150 g

Berat ekstrak pekat = 21,7869 g

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak sampel}}{\text{Berat sampel serbuk}} \times 100 \% \\ &= \frac{21,7869}{150} \times 100 \% \\ &= 14,5246 \%\end{aligned}$$

5.3 Hasil Rendemen Ekstrak Kasar Alkaloid daun Pulaui

Berat sampel serbuk = 150 g

Berat ekstrak pekat etanol 95 % = 21,7869

Berat ekstrak pekat yang diekstraksi = 20 g

Berat ekstrak kasar alkaloid pekat = 0,5821 g

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kasar alkaloid pekat}}{\text{Berat sampel serbuk}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,5821}{150} \times 100 \% \\ &= 0,388 \%\end{aligned}$$

Lampiran 6 Hasil Pengamatan Uji Fitokimia

6.1 Hasil Pengamatan Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 95 % Daun Pulai

No	Golongan Senyawa	Reagen	Hasil Reaksi Warna	Ket
1	Alkaloid	Dragendorff	Endapan jingga	++
		Meyer	Endapan Putih	++

6.2 Hasil Pengamatan Uji fitokimia Ekstrak Kasar Alkaloid daun Pulai

No	Golongan Senyawa	Reagen	Hasil Reaksi Warna	Ket
1	Alkaloid	Dragendorff	Endapan jingga	++
		Meyer	Endapan Putih	++



Lampiran 7. Perhitungan Nilai Rf

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

1. Hasil nilai Rf KLT analitik

a. Eluen 1 = Etil asetat : Etanol : n-Heksan (2:1:30) (Kusrini, 2013)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,6 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,188 \qquad \text{Rf noda 3} = \frac{3,9 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,458$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{2,1 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,247 \qquad \text{Rf noda 4} = \frac{4,3 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,505$$

b. Eluen 2 = Kloroform : Aseton : Metanol (20:3:2) (Kusrini, 2013)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,8 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,094 \qquad \text{Rf noda 6} = \frac{5,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,635$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{2 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,235 \qquad \text{Rf noda 7} = \frac{6 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,705$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{2,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,282 \qquad \text{Rf noda 8} = \frac{6,2 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,729$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{3,6 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,423 \qquad \text{Rf noda 9} = \frac{7,3 \text{ cm}}{8,9 \text{ cm}} = 0,858$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{4,8 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,564$$

c. Eluen 3 = Etil asetat : metanol : air (6:4:2) (Marliana, 2007)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,9 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,105 \qquad \text{Rf noda 4} = \frac{5 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,588$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,7 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,2 \qquad \text{Rf noda 5} = \frac{6,7 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,788$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{3,5 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,411 \qquad \text{Rf noda 6} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,894$$

d. Eluen 4 = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,3 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,152$$

$$\text{Rf noda 7} = \frac{6,1 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,717$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{2,7 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,317$$

$$\text{Rf noda 8} = \frac{6,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,752$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{3,7 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,435$$

$$\text{Rf noda 9} = \frac{6,9 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,811$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{4,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,517$$

$$\text{Rf noda 10} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,870$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{5 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,588$$

$$\text{Rf noda 11} = \frac{8,3 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,976$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{5,6 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,658$$

e. Eluen 5 = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,3 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,035$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{6,3 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,741$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{0,7 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,082$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{8 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,941$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{2,2 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,258$$

2. Hasil nilai Rf KLT preparatif

➤ Eluen terbaik dari hasil KLT analitik = Kloroform : metanol : amonia

(85:15:1) (Hasibuan, 2007)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,5 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,083$$

$$\text{Rf noda 8} = \frac{11,8 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,655$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{4,4 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,244$$

$$\text{Rf noda 9} = \frac{14,8 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,822$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{6,2 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,344$$

$$\text{Rf noda 10} = \frac{15,4 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,855$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{7,8 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,433$$

$$\text{Rf noda 11} = \frac{15,7 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,872$$

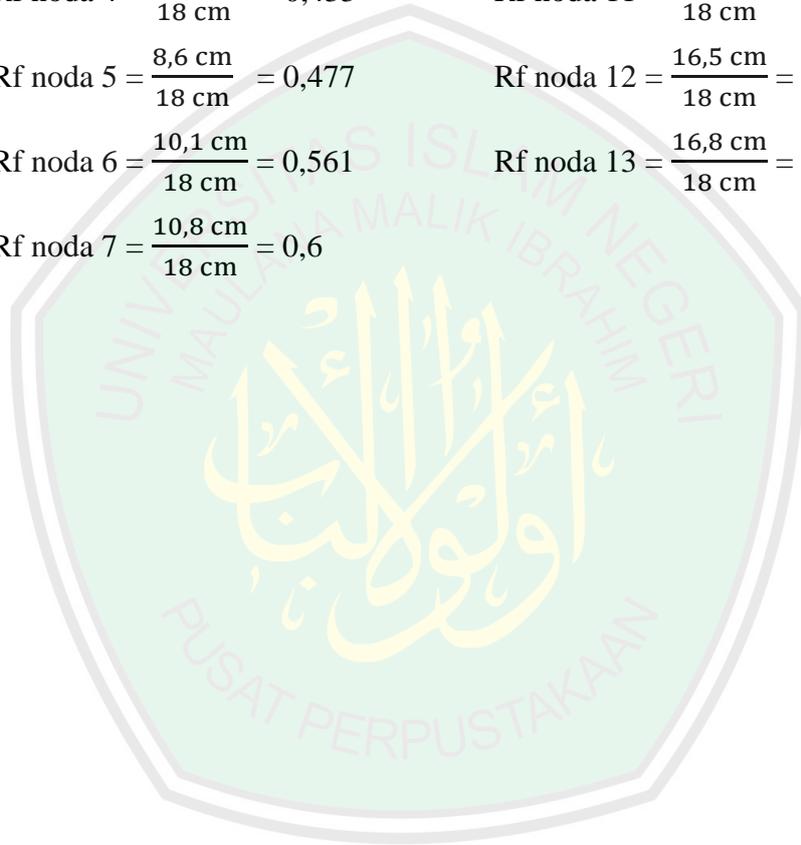
$$\text{Rf noda 5} = \frac{8,6 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,477$$

$$\text{Rf noda 12} = \frac{16,5 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,916$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{10,1 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,561$$

$$\text{Rf noda 13} = \frac{16,8 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,933$$

$$\text{Rf noda 7} = \frac{10,8 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,6$$



3. Hasil nilai Rf KLT dua dimensi

3.1 Uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi pada noda 8

a. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 8 pada saat elusi pertama

Eluen = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{8,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,98$$

b. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 8 pada saat elusi kedua

Eluen = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{3 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,35$$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,87$$

c. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 8 pada saat elusi pertama dan eluen dibalik

Eluen = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{0,2 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,02$$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,83$$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{2,9 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,34$$

d. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 8 pada saat elusi kedua dan eluen dibalik

Eluen = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,87$$

3.2 Uji kemurnian isolat alkaloid dengan KLT dua dimensi pada noda 8

a. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 9 pada saat elusi pertama

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{8,4 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,98$$

b. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 9 pada saat elusi kedua

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{0,5 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,05$$

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

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

$$Rf \text{ noda 5} = \frac{7,7 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,90$$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{3,6 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,42$$

c. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 9 pada saat elusi pertama dan eluen dibalik

Eluen = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{0,6 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,07$$

$$Rf \text{ noda 4} = \frac{5,9 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,69$$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{2,3 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,27$$

$$Rf \text{ noda 5} = \frac{7,9 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,92$$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{3,8 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,43$$

d. Uji kemurnian isolat alkaloid noda 9 pada saat elusi kedua dan eluen dibalik

Eluen = Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{8,1 \text{ cm}}{8,5 \text{ cm}} = 0,95$$

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

8.1 Preparasi Sampel Daun Pulai



Gambar 1. Daun Pulai



Gambar 2. Daun Pulai setelah dikeringkan



Gambar 3. Daun Pulai setelah dihaluskan

8.2 Ekstraksi Maserasi



Gambar 4. Daun Pulai setelah ditimbang



Gambar 5. Daun Pulai saat di shaker



Gambar 6. Filtrat daun pulai



Gambar 7. Pemekatan ekstrak daun pulai



Gambar 8. Ekstrak pekat etanol

8.3 Ekstraksi Alkaloid



Gambar 9. Ekstrak pekat setelah ditimbang sebanyak 20 g



Gambar 10. Campuran ekstrak pekat dengan H₂SO₄ 2 % setelah disaring



Gambar 11. Lart.asam + dietil eter sebelum dikocok



Gambar 12. Lart.asam + dietil eter sesudah dikocok



Gambar 13. Lart.asam + dietil eter sampai bening



Gambar 14. Fraksi dietil eter



Gambar 15. Fraksi asam



Gambar 16. Pembasaan dengan NH₄OH



Gambar 17. Pembasaan dengan NH₄OH dengan indikator pH



Gambar 18. Fraksi asam setelah dibasakan



Gambar 19. Lapisan air + klororom sebelum pengocokan



Gambar 20. Lapisan air + klororom setelah pengocokan



Gambar 21. Lapisan air + klororom sampai bening



Gambar 22. Fraksi kloroform



Gambar 23. Pemekatan ekstrak alkaloid



Gambar 24. Ekstrak pekat alkaloid

8.4 Hasil Uji Fitokimia (Uji Reagen)

8.4.1 Uji Fitokimia Ekstrak Peekat Etanol 95 % Daun Pulau



Gambar 25. Positif Alkaloid dengan Reagen Mayer



Gambar 26. Positif Alkaloid dengan Reagen Dragendorff

8.4.2 Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Alkaloid



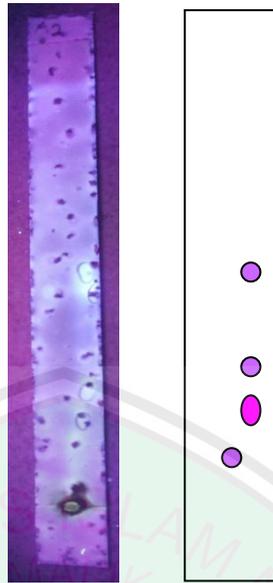
Gambar 27. Positif Alkaloid dengan Reagen Mayer



Gambar 28. Positif Alkaloid dengan Reagen Dragendorff

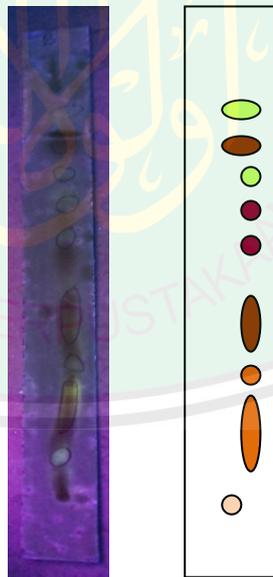
8.5 Hasil Identifikasi Senyawa Alkaloid dengan KLT Analitik

a.



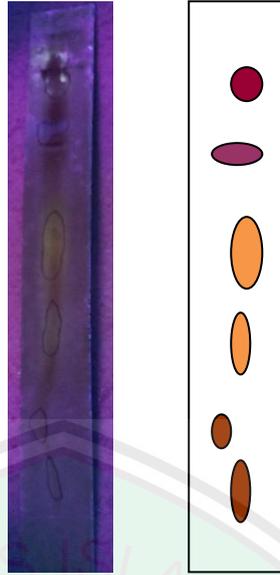
Gambar 29. Identifikasi dengan eluen Etil asetat : etanol : n-Heksan (2:1:30)
(Kusrini, 2013)

b.



Gambar.30 Identifikasi dengan eluen Kloroform : aseton : metanol (20:3:2)
(Kusrini, 2013)

c.



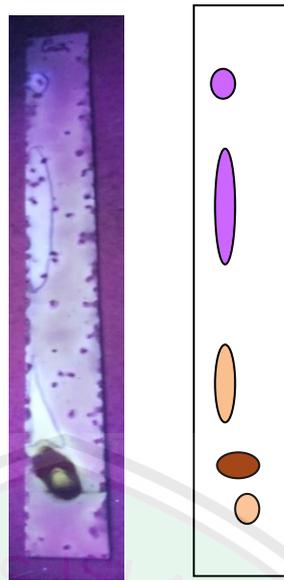
Gambar 31. Identifikasi dengan eluen Etil asetat : metanol : air (6:4:2) (Marliana, 2007)

d.



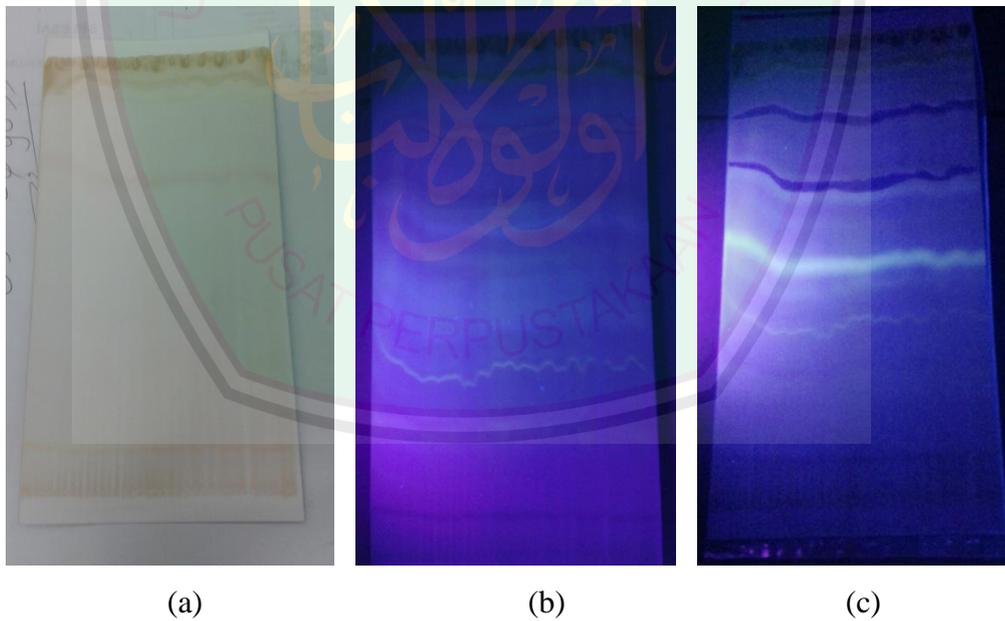
Gambar 32. Identifikasi dengan eluen Kloroform : metanol : amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

e.



Gambar 30. Identifikasi dengan eluen Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)

8.6 Hasil Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif

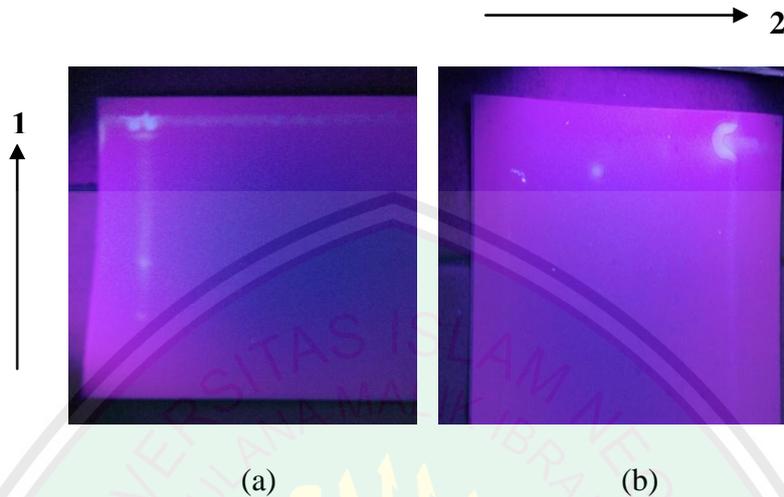


Gambar 31. Hasil Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif
Keterangan: a. Hasil pengamatan tanpa sinar UV
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV
c. Hasil pengamatan di bawah sinar UV setelah noda 8 dan 9 dikerok

8.7 Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT Dua Dimensi

8.7.1 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D) Pada Noda 8

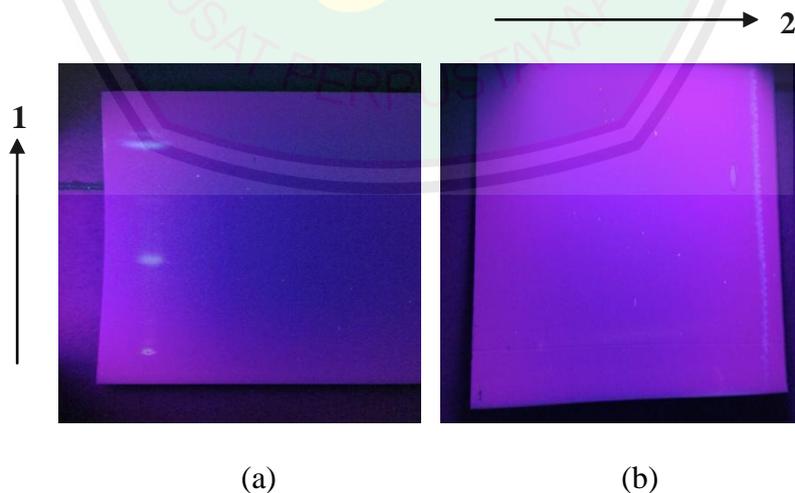
- a. Eluen Pertama = Kloroform : Metanol : Amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)
- b. Eluen Kedua = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)



Gambar 32. Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi dengan varian eluen pertama

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

- a. Eluen Pertama = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)
- b. Eluen Kedua = Kloroform : Metanol : Amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)

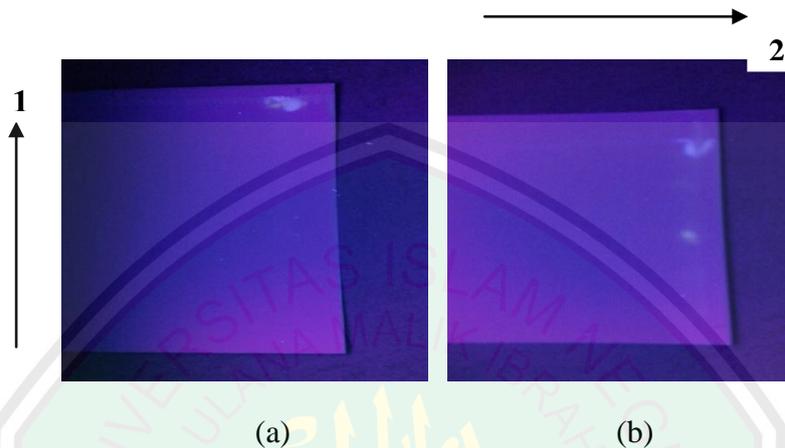


Gambar 33 Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi dengan varian eluen kedua

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

8.7.2 Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT 2-D) Pada Noda 9

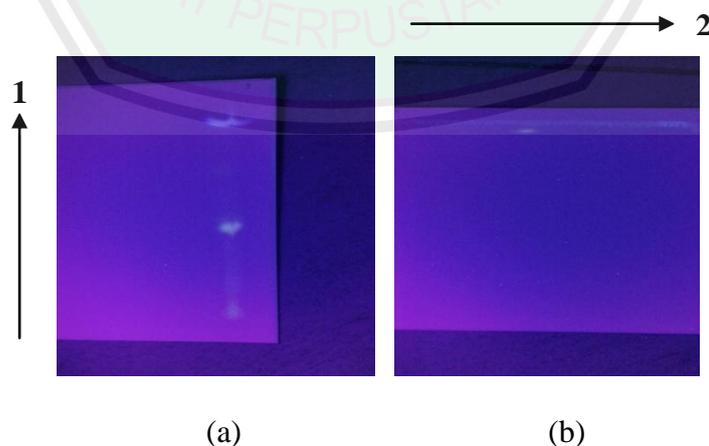
- a. Eluen Pertama = Kloroform : Metanol : Amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)
- b. Eluen Kedua = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)



Gambar 34. Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi varian eluen pertama

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

- a. Eluen Pertama = Kloroform : etil asetat (60:40) (Hasibuan, 2007)
- b. Eluen Kedua = Kloroform : Metanol : Amonia (85:15:1) (Hasibuan, 2007)



Gambar 35 Hasil Uji Kemurnian Isolat Alkaloid dengan KLT dua Dimensi dengan varian eluen kedua

Keterangan: a. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi pertama
b. Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada saat elusi kedua

