

**IDENTIFIKASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI
N-HEKSANA EKSTRAK RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile*
Brongn.) DENGAN METODE UPLC-MS**

SKRIPSI

Oleh:
RIZKI MAR'ATUS SHOLIKHAH
NIM. 11630060



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

**IDENTIFIKASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI
N-HEKSANA EKSTRAK RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile*
Brongn.) DENGAN METODE UPLC-MS**

SKRIPSI

**Oleh:
RIZKI MAR'ATUS SHOLIKHAH
NIM. 11630060**

**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
2016**

**IDENTIFIKASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI
N-HEKSANA EKSTRAK RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile
Brongn*) DENGAN METODE UPLC-MS**

SKRIPSI

**Oleh:
RIZKI MAR'ATUS SHOLIKHAH
NIM. 11630060**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 30 Desember 2016**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Nur Aini, M.Si
NIDT. 19840608201608012070



**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia**

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

**IDENTIFIKASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI
N-HEKSANA EKSTRAK RUMPUT BAMBU (*Lophatherum gracile*
Brongn) DENGAN METODE UPLC-MS**

SKRIPSI

**Oleh:
RIZKI MAR'ATUS SHOLIKHAH
NIM. 11630060**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 30 Desember 2016**

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

**Ketua Penguji : Roihatul Muti'ah, M. Kes,Apt
NIP. 19800203 200912 2 003**

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

**Anggota Penguji : Nur Aini, M.Si
NIDT.19840608201608012070**

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)



**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizki Mar'atus Sholikhah
NIM : 11630060
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Identifikasi Senyawa Triterpenoid Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Rumput Bambu (*Lophatherum Gracille* Brongn.) Dengan Metode UPLC-MS

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

Malang, 7 Januari 2017

Yang membuat pernyataan,



Rizki Mar'atus Sholikhah

NIM. 11630060

MOTTO

... إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّى يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ ...

... Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri ...

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan rasa syukur akhirnya saya persembahkan karya ini untuk orang-orang tersayang:

Bapak dan ibu tercinta, motivator sekaligus inspirator terbesar dalam hidup saya yang tanpa lelah memberikan doa serta kasih sayangnya. Terimakasih atas segala pengorbanan dan kesabaran untuk mengantarkan saya hingga sampai pada titik ini, tidak pernah cukup saya membalas cinta pada bapak dan ibu.

Kakak dan adik tersayang yang telah memberi semangat sekaligus menjadi teman bersaing untuk menjadi yang terbaik bagi bapak dan ibu.

Guru dan dosen serta seluruh sivitas akademik jurusan kimia UIN Malang yang telah memberikan pelajaran berarti dalam hidup saya.

Keluarga besar PPP. Al-Hikmah Al-Fathimiyah yang telah memberikan pelajaran, nasehat serta menjadi keluarga selama di Malang. Semoga segala nasehat dan berkah ilmu yang diberikan dapat saya jadikan bekal untuk menjalani hidup bermasyarakat.

Rekan-rekan penelitian fitofarmaka yang telah berkenan membagi ilmu, waktu, canda dan tawa dalam proses penyelesaian penelitian.

Dan tak lupa untuk seluruh sahabat-sahabat saya yang telah memberikan semangat dan bantuan hingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr.drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan kami serta memberikan motivasi demi terselesainya skripsi ini.
4. Ibu Roihatul Muti'ah, M.Kes,Apt selaku konsultan, ibu Nur Aini, M.Si selaku pembimbing agama serta ibu Suci Amalia, M.Sc selaku penguji yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan kami demi terselesainya skripsi ini.
5. Bapak dan ibu penulis tercinta yang telah memberikan dukungan moril maupun materiil dan tanpa selalu memberikan dukungan serta motivasi demi kelancaran penyusunan skripsi ini.
6. Kakak, adik beserta keluarga besar yang tiada henti memberi semangat dan selalu memotivasi untuk penyelesaian skripsi ini.
7. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia, seluruh dosen, staf administrasi dan laboran, terima kasih untuk segala bantuan hingga skripsi ini terselesaikan.
8. Teman-teman kimia angkatan 2011 yang telah memberi semangat dan berbagai bantuan.

9. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 7 Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
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	8
2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Perspektif Islam	8
2.2 Klasifikasi Tanaman Rumput Bambu (<i>Lophatherum Gracille B.</i>)	10
2.3 Standardisasi Tanaman Rumput Bambu (<i>Lophatherum Gracille B.</i>)	12
2.3.1 Uji Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Rumput Bambu	13
2.3.1.1 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Rumput Bambu	13
a. Flavonoid	13
b. Tanin	15
c. Alkaloid	17
d. Triterpenoid	20
e. Steroid	22

2.3.1.2 Pemisahan Golongan Senyawa Kimia dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	24
2.3.2 Uji Parameter non Spesifik Ekstrak Rumput Bambu	26
2.3.2.1 Penentuan Kadar Abu Tanaman Rumput Bambu	26
2.3.2.2 Penentuan Total Bakteri Ekstrak Rumput Bambu	27
2.3.2.4 Penentuan Kandungan Timbal (Pb)	27
2.4 Metode Ekstraksi Tanaman Rumput Bambu (<i>Lophatherum gracille B.</i>)	28
2.4.1 Maserasi	29
2.4.2 Ekstraksi Cair-Cair	32
2.5 Uraian Instrumen	33
2.5.1 Spektroskopi Serapan Atom	33
2.5.2 Liquid Cromatography Mass (LC-MS)	36
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	38
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	38
3.2 Alat dan Bahan	38
3.2.1 Alat	38
3.2.2 Bahan	38
3.3 Rancangan Penelitian	39
3.4 Tahapan Penelitian	39
3.5 Pelaksanaan Penelitian	40
3.5.1 Preparasi Sampel	40
3.5.2 Kadar Air	40
3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif	41
3.5.4 Identifikasi Senyawa Kimia dalam Ekstrak	42
3.5.4.1 Uji Fitokimia dengan Reagen	42
3.5.4.2 Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLTA	43
3.5.4.3 Pemisahan Senyawa Aktif Tanaman Rumput Bambu dengan KLTP	45
3.5.5 Pengujian Parameter non Spesifik	46
3.5.5.1 Penetapan Kadar Abu Total	46
3.5.5.2 Penentuan Total Bakteri	46
3.5.5.3 Penentuan Kandungan Timbal (Pb)	46
3.5 Analisis Data	47
BAB IV Hasil dan Pembahasan	49
4.1 Preparasi Sampel	49

4.2 Analisis Kadar Air.....	50
4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Tanaman Rumput Bambu (<i>Lophatherum gracille B.</i>)..	52
4.3.1 Maserasi	52
4.3.2 Ekstraksi Cair-Cair	55
4.4 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Reagen dan KLTA.....	56
4.4.1 Tanin.....	58
4.4.2 Triterpenoid	61
4.4.3 Steroid.....	65
4.5 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan KLTP	68
4.5.1 Tanin.....	69
4.5.2 Triterpenoid	70
4.5.3 Steroid.....	71
4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan UPLC-MS	72
4.7 Pengujian Parameter non Spesifik	75
4.7.1 Analisis Kadar Abu	75
4.7.2 Analisis Total Bakteri	76
4.7.3 Penentuan Kandungan Timbal (Pb).....	77
4.8 Pemanfaatan Tanaman Rumput Bambu (<i>Lophatherum gracille B.</i>) Sebagai Obat dalam Perspektif Islam	77
BAB V PENUTUP.....	81
5.1 Kesimpulan	81
5.2 Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN.....	90

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut	30
Tabel 2.2 Sifat dari larutan asam mineral pengoksidasi	35
Tabel 4.1 Hasil uji kandungan senyawa aktif ekstrak rumput bambu	57
Tabel 4.2 Data penampakan noda dugaan senyawa Tanin ekstrak n-heksana rumput bambu dengan beberapa variasi eluen pada $\lambda_{366\text{ nm}}$	59
Tabel 4.3 Dugaan senyawa Tanin ekstrak n-heksana dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2).....	61
Tabel 4.4 Data penampakan noda dugaan senyawa triterpenoid ekstrak n-heksana rumput bambu dengan variasi eluen.....	63
Tabel 4.5 Dugaan senyawa Triterpenoid ekstrak n-heksana dengan eluen benzene : Klorofom (3:7)	65
Tabel 4.6 Data penampakan noda dugaan senyawa Steroid ekstrak n-heksana rumput bambu dengan variasi eluen	66
Tabel 4.7 Dugaan senyawa Steroid ekstrak n-heksana dengan eluen n-heksana : aseton (7:3)	68
Tabel 4.8 Hasil pemisahan golongan senyawa Tanin ekstrak n-heksana dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2)	70
Tabel 4.9 Hasil pemisahan golongan senyawa Treiterpenoid ekstrak n-heksana dengan eluen benzene : klorofom (3:7)	70
Tabel 4.10 Hasil pemisahan senyawa steroid ekstrak n-heksana dengan eluen n- heksana : aseton (7:3)	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput Bambu (<i>Lophatherum gracille</i> B.).....	10
Gambar 2.2 Struktur Senyawa Flavonoid	14
Gambar 2.3 Reaksi dugaan antara Senyawa Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl Peekat.....	14
Gambar 2.4 Struktur Senyawa Tanin	16
Gambar 2.5 Reaksi dugaan antara senyawa Tanin dengan FeCl ₃	16
Gambar 2.6 Struktur Senyawa Alkaloid	18
Gambar 2.7 Reaksi dugaan antara senyawa alkaloid dengan pereaksi dragendorf	18
Gambar 2.8 Reaksi dugaan antara senyawa Alkaloid dengan pereaksi Mayer	19
Gambar 2.9 Struktur Senyawa Triterpenoid	21
Gambar 2.10 Struktur Senyawa Steroid	23
Gambar 2.11 Reaksi dugaan senyawa steroid dengan reagen Liberman Burchard	23
Gambar 4.1 Hasil pengamatan senyawa Tanin ekstrak n-heksana di bawah sinar UV	60
Gambar 4.2 Hasil pengamatan senyawa Triterpenoid ekstrak n-heksana di bawah sinar UV	64
Gambar 4.3 Hasil pengamatan senyawa steroid ekstrak n-heksana di bawah sinar UV	67
Gambar 4.4 Kromatogram UPLC isolate ke-4	73
Gambar 4.5 Spektra MS puncak dominan pada waktu retensi 3,89 menit	74
Gambar 4.6 Dugaan Fragmentasi Senyawa Friedelin	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	90
Lampiran 2. Diagram Alir.....	91
Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan	99
Lampiran 4. Perhitungan Hasil Penelitian	105
Lampiran 5. Dokumentasi.....	113

ABSTRAK

Rizki, M. S. 2016. Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile* Brongn) dengan Metode UPLC-MS.

Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Nur Aini, M.Si

Kata kunci : ekstrak rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn), fraksi n-heksana, triterpenoid, UPLC-MS

Firman Allah SWT dalam Q.S An-Nahl:11, telah disebutkan bahwa Allah telah menciptakan tumbuh-tumbuhan yang baik yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan obat. Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) merupakan tanaman gulma yang diduga memiliki manfaat sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis senyawa triterpenoid yang terdapat pada ekstrak sekaligus melakukan uji parameter non spesifik yang berpengaruh terhadap kondisi ekstrak.

Tanaman rumput bambu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80 % dan dipartisi dengan n-heksana. Ekstrak pekat yang diperoleh diuji fitokimia dengan reagen. Uji fitokimia meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid. Hasil uji positif dipisahkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Isolat hasil pemisahan dianalisa jenisnya menggunakan UPLC-MS. Pada penelitian ini juga dilakukan uji parameter non spesifik meliputi uji kadar abu, total bakteri, kandungan logam timbal (Pb) pada ekstrak.

Uji fitokimia pada ekstrak menunjukkan hasil positif pada senyawa tanin, triterpenoid, dan steroid. Pemisahan senyawa triterpenoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diperoleh lima noda dugaan senyawa triterpenoid. Hasil analisa isolat (noda) ke-4 menggunakan UPLC-MS pada senyawa triterpenoid dari fraksi n-heksana tanaman rumput bambu (*Lophatherum Gracile* B.) diperoleh dugaan senyawa dengan nilai m/z 411,2723 yang memiliki kemiripan dengan molekul senyawa friedelin. Hasil uji parameter non spesifik menunjukkan kadar abu ekstrak 6,418%, total bakteri ekstrak $0,018 \times 10^6$ koloni/g, dan kadar timbal pada ekstrak yaitu $2,67 \times 10^{-6}$ mg/kg. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak rumput bambu layak dan aman dikonsumsi sebagai obat.

ABSTRACT

Rizki. 2016. The Identification Triterpenoid Compounds of n-Hexane Fraction of Bamboo Grass Extracts (*Lophatherum gracile* Brongn) by UPLC-MS.

Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Advisor II: Nur Aini, M.Si

Keywords: bamboo grass extract (*Lophatherum gracile* Brongn), the fraction of n-hexane, triterpenoids, UPLC-MS

Derived from Quran Surah An-Nahl: 11, has been mentioned that Allah has created beneficial herbs as medicine. Bamboo Grass (*Lophatherum gracile* Brongn) is a weed plant that predicted to have anti-cancer benefits. This study aimed to determine the type of triterpenoids compound contained in the extract and conduct non-specific test parameters that affect the condition of the extract.

Bamboo grass plant has extracted by maceration method using ethanol 80% and partitioned with n-hexane. Concentrated extract was tested by phytochemical test using reagents. Phytochemical test include alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, triterpenoids and steroids. Positive results from phytochemical test are separated by Thin Layer Chromatography (TLC) and The Isolates of separation is analyzed using UPLC-MS. This study also tested the non-specific parameters include test ash content, total bacteria, the metal content of lead (Pb) in the extract.

Phytochemical test in the extracts showed positive results for tannins, triterpenoids and steroids. The separation of triterpenoid compound with Thin Layer Chromatography (TLC) obtained five alleged stain triterpenoid compounds. The results of analysis of isolates (stain) 4th using UPLC-MS on a triterpenoid compound of the fraction n-hexane bamboo grass plant (*Lophatherum gracile* B.) obtained the alleged compound with a value of m/z 411.2723 which has similarities with *friedelin* molecules compound. Non-specific parameter test results showed the water content of the extract by 7, 1577%, ash content of 6.418%, bacterial extract total $0,018 \times 10^6$ colonies / g, and the levels of lead in the extract that is 2.67×10^{-6} mg / kg. Based on these results, it can be seen that the extract of bamboo grass suitable for medicine.

مستخلص البحث

رزق، 2016، عزّف مستخضر n - هوكسنى من صحيفة العشب الحشيش بـUPLC-MS . المشرفة الاولى : ايلوك كاملة حياتي الماجستير. المشرفة الثانية : نور عين الماجستير.

الكلمات الأساسية: صحيفة العشب الحشيش، مستخضر n - هوكسنى، ترينرفنوئيد بـUPLC-MS.

كقوله تعالى في القرآن الكريم في السورة النحل : 11 يذكر ان الله يخلق النباتات المستخدمة لدواء. واما ان عشب الحشيش هو من النباتات التي تنفع لدواء وهو عدم الشرطان. واما الاهداف المرجوة من هذا البحث وهي لمعرفة جنسا من مستخضر ترينرفنوئيد في صحيفتها وتقييم التي تؤثر على حالة الصحيفة. انه تصحف بطريقة ماسرسي باستخدام مسيل اوتانول حولى 80% و تنقسام بـ n - هوكسنى. واما الصحيفة الخاترة تحصل باختبار الفيتوكيمياء بريكون. واما اختبار الفيتوكيمياء تتكون من الكالويد، فلفونويد، سافونين، تانين ترينرفنوئيد وسترويد. واما تفرق النتيجة بطريقة كروماتوغرافي صفيحة الرقيقة ، عملة معدنية على صحيفة.

واما اختبار الفيتوكيمياء على مستخضر وهو يدل على نتيجة ايجابية على تانين ترينرفنوئيد وسترويد. فرق مستخضر ترينرفنوئيد بكروماتوغرافي صفيحة الرقيقة تحصل خمس شائيات. واما النتيجة المحصولة من تحليل ايصولات الرابعة باستخدامUPLC-MS وهي اخذالا من المستخضرت حوالى 411,2723 m/z التي تشابهة بمستخضرت فريدلين. واما النتيجة من معيار غير الشائع وهي تدل على قدر الماء حوالى 7,1577%، قدر الرماد حوالى 6,418% ومجموعة من بكتيريا حوالى 0,018 x 10⁶ كولوني/g/ وقدر البادلة في المستخضر وهو 2,67 x 10⁶ mg/kg . وانطلاقا النتيجة الاعلى تعرف ان صحيفة العشب الحشيش يجوز لدواء.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan alam sangat beragam, termasuk bagian tumbuhan seperti bunga, kulit batang, daun, biji, akar, dan buah ketika diolah akan memberi manfaat yang besar bagi kehidupan manusia. Pemanfaatan tumbuhan merupakan suatu usaha lain yang dapat digunakan untuk pemeliharaan lingkungan sekaligus sebagai wujud rasa syukur atas nikmat Allah SWT. Sebagaimana Allah SWT telah menjelaskan dalam surat An-Nahl ayat 11 :

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: *“Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan”* (QS. An-Nahl:11)

Al Qarni (2008) menjelaskan ayat tersebut dalam tafsir Muyassar bahwa Allah telah menumbuhkan dengan air hujan itu pepohonan, seperti zaitun, kurma, dan anggur, dan semua jenis pepohonan lainnya, juga buah-buahan dan sayuran. Proses pertumbuhan, penyiraman dengan air, kemudian tumbuh dan berbuahnya pepohonan tersebut menunjukkan tanda-tanda yang jelas bagi orang-orang yang mau berfikir dan merenung supaya dia mau beriman. Manusia sebagai makhluk Tuhan yang paling

sempurna dibandingkan dengan makhluk yang lain, memiliki tanggung jawab dalam menjaga kelestarian lingkungan sekitar agar tetap aman dan nyaman.

Indonesia memiliki lebih dari 30.000 jenis tumbuhan dan lebih dari 1000 jenis tumbuhan obat yang telah dimanfaatkan dalam industri obat tradisional. Pemakaian bahan alam sebagai obat tradisional di masyarakat dijamin keamanannya oleh pemerintah dengan mengimplementasikan dalam Permenkes No.760/Menkes/Per/IX/1992, tentang obat tradisional dan fitofarmaka dimana setiap bahan alam harus melewati beberapa tahapan meliputi uji farmakologi eksperimental, uji toksisitas, uji klinis, uji kualitas dan pengujian lain sesuai persyaratan yang berlaku demi menjamin keamanan masyarakat dalam mengkonsumsinya.

Standardisasi ekstrak tumbuhan obat merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli Indonesia. Depkes RI (1995) menjelaskan tujuan dari standardisasi adalah untuk memperoleh bahan baku yang seragam dan akhirnya dapat menjamin efek farmakologi tanaman tersebut. Dengan adanya bahan baku yang terstandar dan proses yang terkontrol, maka akan diperoleh produk/bahan ekstrak yang mutunya terstandar. Standardisasi adalah rangkaian proses yang melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak alam. Standardisasi obat herbal meliputi dua aspek, yaitu aspek parameter spesifik dan aspek parameter non spesifik (Saifudin dkk, 2011).

Penentuan parameter spesifik merupakan penentuan kandungan senyawa kimiawi baik secara kualitatif maupun kuantitatif yang bertanggungjawab secara langsung pada aktivitas farmakologis suatu tanaman obat yang biasa disebut dengan

senyawa marker. Senyawa marker merupakan senyawa identitas yang aktif terhadap manfaat dari tanaman. Uji pendahuluan yang harus dilakukan sebelum menentukan senyawa marker baik secara kualitatif maupun kuantitatif adalah dengan mengidentifikasi senyawa kimia yang ada pada ekstrak dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Pada penelitian ini dilakukan pemisahan senyawa dengan metode KLT pada tanaman rumput bambu. Selanjutnya dilakukan analisis senyawa kimia yang lebih spesifik menggunakan instrumen LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*). Dari analisis menggunakan LC-MS diharapkan dapat diketahui senyawa yang ada pada ekstrak sehingga pada tahap selanjutnya dapat ditentukan kadar dari senyawa tersebut dalam tanaman. Penentuan kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman yang akan distandardisasi merupakan tahap yang penting untuk dilakukan mengingat tahap ini merupakan kunci dari proses standardisasi pada aspek parameter spesifik (Saifudin, 2011).

Parameter nonspesifik merupakan aspek yang tidak terkait dengan aktivitas farmakologis ekstrak. Menurut Saifudin, dkk (2011) parameter nonspesifik perlu ditentukan karena pengaruhnya terhadap aspek keamanan dan stabilitas ekstrak. Parameter non spesifik yang digunakan pada penelitian ini adalah penetapan kadar abu yang bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal, penentuan total bakteri yang bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung mikroba patogen maupun mikroba non patogen melebihi batas yang telah ditetapkan, serta penentuan cemaran logam timbal (Pb) yang bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam timbal (Pb) melebihi batas yang telah ditentukan karena sifatnya yang toksik.

Identifikasi senyawa dan penentuan parameter nonspesifik pada penelitian ini akan dilakukan pada jenis tanaman obat yaitu rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang berpotensi sebagai obat herbal. Tanaman rumput bambu dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan dan pencegahan penyakit-penyakit seperti antikanker. Akar rumput bambu merupakan bagian tubuh tumbuhan yang berfungsi sebagai penyerap sari-sari makanan dan berperan sebagai sistem pertahanan tubuh tumbuhan, sehingga dimungkinkan senyawa metabolit sekunder banyak terdapat pada bagian ini. Daun rumput bambu sendiri memiliki manfaat sebagai antikanker, mengatasi demam, infeksi saluran kemih, air kemih berdarah, buang air kecil tidak lancar dan terasa sakit, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan, dan gusi bengkak (Wijayakusuma, 2008 ; Kusumawati, 2003).

Penelitian Sari (2014) menyatakan golongan senyawa aktif ekstrak kasar etanol 80 % yang terkandung dalam ekstrak daun rumput bambu (*Lophatherium gracile* Brongn) adalah alkaloid, tanin dan triterpenoid. Nilai LC_{50} dari ekstrak n-heksana adalah 90,7896 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana bersifat toksik dan berpotensi sebagai bahan aktif antikanker. Sedangkan Hilda (2014) menyebutkan metabolit sekunder yang terkandung dalam akar rumput bambu adalah alkaloid dan steroid. Nilai LC_{50} pada pelarut n-heksana, 88,42 ppm. Nilai LC_{50} pada akar rumput bambu menunjukan ekstrak bersifat toksik sehingga dapat membunuh sel kanker, dan dimungkinkan senyawa aktif dalam ekstrak memiliki potensi sebagai antioksidan (Lisdawati, 2002).

Melihat potensi dari tanaman rumput bambu sebagai antikanker, selanjutnya dilakukan uji aktivitas antikanker pada akar rumput bambu oleh Anis (2015) dan

diketahui ekstrak dari fraksi n-heksana berpotensi sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} 65,461 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50 % dari populasi sel. Menurut Meiyanto, dkk (2008) nilai IC_{50} dibawah 100 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan adanya potensi ekstrak uji sebagai agen kemoprevensi, yang artinya kandungan senyawa dalam ekstrak dapat menghambat dan menekan proses karsinogenesis pada manusia sehingga pertumbuhan kanker dapat dicegah. Berdasarkan hasil uji fitokimia diketahui golongan metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi n-heksana akar rumput bambu adalah tanin dan triterpenoid. Menurut Crowell (1999) golongan terpenoid mempunyai aktivitas antikanker. Golongan senyawa triterpenoid (steroid) memiliki kemiripan dengan struktur membran molekul target sehingga memudahkan senyawa tersebut untuk melewati membran sel (Awad dan Fink, 2000).

Pada awal penelitian dilakukan ekstraksi maserasi tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn.) menggunakan pelarut etanol 80%. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan pelarut n-heksana dengan ekstraksi cair-cair. Keuntungan metode maserasi adalah untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari (Harbone, 1996), sedangkan keuntungan metode ekstraksi cair – cair ialah dapat memisahkan beberapa senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan identifikasi senyawa kimia pada tanaman rumput bambu sehingga selanjutnya dapat

dilakukan proses standardisasi untuk menjamin mutu dan kualitas dari tanaman obat tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

1. Jenis senyawa triterpenoid apa yang terdapat pada fraksi n-heksana ekstrak rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)?
2. Bagaimana hasil dari uji parameter nonspesifik ekstrak rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang meliputi penetapan kadar abu, penentuan total bakteri, serta penentuan kandungan timbal (Pb) pada ekstrak?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui jenis senyawa triterpenoid yang terdapat pada fraksi n-heksana ekstrak rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn).
2. Mengetahui hasil dari uji parameter nonspesifik ekstrak rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang meliputi penetapan kadar abu, penentuan total bakteri, serta penentuan kandungan timbal (Pb) pada ekstrak.

1.4 Batasan Masalah

1. Spesies yang akan diteliti adalah tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang diperoleh dari kota Malang.
2. Standardisasi dilakukan pada aspek parameter non spesifik berupa penetapan kadar abu, penentuan total bakteri, serta penentuan kandungan timbal (Pb) pada ekstrak.
3. Identifikasi senyawa dilakukan pada fraksi n-heksana ekstrak rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) menggunakan metode UPLC-MS.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian yang dilakukan dapat dijadikan sebagai salah satu upaya untuk mengembangkan tanaman obat yang layak dikonsumsi.
2. Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan salah satu referensi serta perbandingan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Al Quran telah menyebutkan tentang manfaat dari tanaman sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al Anam ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا
مُتْرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ
مُتَشَبِهٍ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

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

Surat al Anam ayat 99 telah menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap obyek yang disifati-Nya. Menurut Shihab (2002: 318) dalam tafsir al-Mishbah bahwa aneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya itu merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan lagi membuktikan betapa agung penciptanya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber pangan bagi manusia dan dapat diambil hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia.

Berdasarkan ayat di atas manusia memiliki kewajiban untuk mencari sekaligus mengamalkan ilmu dengan cara mengamati fenomena alam yang terjadi

untuk membuktikan betapa agung kuasa Allah SWT. Menurut imam al Ghazali jalan untuk mengenal Allah dan mengagungkanNya adalah memikirkan hikmah yang terkandung dalam setiap ciptaanNya. Memikirkan dan merenungkan keajaiban serta memahami hikmah yang terkandung dalam setiap segala yang ada. Allah memberikan gelar *Ulul Albab* pada orang yang berfikir melalui aspek mata akal (fikir dan nadzar), jalan observasi (pengamatan), mata hati (dzikir) dan intropeksi (muhasabah, penghayatan dan perenungan) (Syafuruddin dalam Ahmad, 2003). Sebagaimana firman Allah surat al Imran ayat 190 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal*” (QS. al Imran: 190).

Menurut al Maraghi (1992) *Ulul Albab* adalah orang – orang yang menggunakan pikirannya mengambil faedah serta hidayah dariNya, mau memikirkan tentang kejadian langit dan bumi beserta rahasia dan manfaat yang terkandung di dalamnya yang menunjukkan betapa sempurnanya ilmu Allah, serta mampu mengambil hikmah dari segala ciptaan Allah.

Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan (Savitri, 2008). Salah satu manfaat tumbuhan yang selama ini banyak dikenal dan dikembangkan adalah sebagai tanaman obat (herbal). Sebuah tanaman terdiri dari beberapa bagian, yakni daun, bunga, batang, biji dan akar. Seluruh bagian dari tanaman mempunyai kandungan yang berbeda sehingga potensinya sebagai obat

juga berbeda. Hasil penelitian eksplorasi keanekaragaman dan kandungan kimia tumbuhan obat di hutan tropis gunung arjuno menyatakan bahwa tanaman *Lophatherum gracile* Brongn merupakan salah satu dari tiga belas jenis tanaman yang sangat berpotensi untuk digunakan sebagai obat herbal penyembuh penyakit tertentu, seperti anti inflamasi maupun anti kanker (Kusumawati dkk, 2003). Rumput bambu juga memiliki beberapa manfaat lain sebagai obat untuk mengatasi kanker, buang air kecil tidak lancar dan terasa sakit, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan dan gusi bengkak (Wijayakusuma, 2005).

2.2 Klasifikasi Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)



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

Klasifikasi rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) (Cronquist, 1981) :

divisi	: <i>Spermatophyta</i>
sub Devisi	: <i>Angiosperma</i>
kelas	: <i>Monocotyledoneane</i>
bangsa	: <i>Poales</i>
suku	: <i>Poaceae</i>

marga : *Lophatherum*
jenis : *Lophatherum gracile* Brongn

Lophatherum gracile Brongn (Famili: Gramineae) merupakan rumput-rumputan yang menahun, tingginya 0,5 – 1,2 m bertangkai banyak, dengan rimpang pendek bercabang-cabang, berakar serabut yang tumbuh menjadi umbi-umbi. Tumbuh di atas 1500 m di atas permukaan laut di tempat yang senantiasa rindang, khususnya dalam hutan alam. Batang-batangnya tegak, mampat tidak berbulu, daun-daunnya bertangkai jelas, terbangun lancet garis, berurat melintang diantara lidinya yang membujur, lembut, berwarna hijau tua panjang 10 – 30 cm dan lebarnya 10 – 55 mm. Bunga majemuknya berupa sebuah malai bertangkai panjang dan terdiri atas bulir-bulir yang panjangnya 1 – 15 cm (Heyne, 1987).

Kandungan pada seluruh bagian tanaman ini antara lain akar, batang, dan daun mengandung triterpenoid dan steroid arundoin, cylindrin, friedelin, beta-sitosterol, stigmasterol, campesterol, taraxerol, asam amino, dan asam lemak. (Wijayakusuma, 2005). Penelitian farmakologi China menyatakan bahwa ekstrak daun *Lophatherum gracile* Brongn mengandung senyawa aktif flavonoid dan triterpenoid yang dapat dimanfaatkan sebagai antipiretik, diuretik, antibakteri, antitumor dan efek hiperglikemia (Jing, 2009).

Menurut Sari (2014) ekstrak daun tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) fraksi etanol mengandung tiga golongan senyawa yakni alkaloid, tanin dan triterpenoid. Hilda (2014) menyebutkan metabolit sekunder yang terkandung dalam akar rumput bambu adalah alkaloid dan steroid. Hasil penelitian lainnya menyebutkan tumbuhan ini juga mengandung flavonoid pada bagian daun dan steroid atau triterpenoid pada bagian akar (Kusumawati, 2003).

2.3 Standardisasi Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)

Standardisasi adalah metode untuk memastikan kadar minimum kandungan aktif dalam ekstrak. Standardisasi dapat diartikan sebagai penetapan mutu farmasetik yang dapat direproduksi dengan cara membandingkan suatu produk terhadap baku pembanding dan dengan menentukan jumlah minimum satu atau lebih senyawa atau kelompok senyawa (Heinrich dkk, 2009).

Standardisasi adalah rangkaian proses yang melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak alam. Standardisasi secara normatif ditujukan untuk memberikan efikasi yang terukur secara farmakologis dan menjamin keamanan konsumen.

Depkes RI, (2000) menyatakan bahwa pengertian standardisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk akhir berupa obat, ekstrak atau produk ekstrak mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu. Terdapat dua faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak yaitu faktor biologi dari bahan asal tumbuhan obat dan faktor kandungan kimia bahan obat tersebut. Standardisasi ekstrak terdiri dari parameter standar spesifik dan parameter standar non spesifik.

Aspek parameter spesifik berfokus pada senyawa atau golongan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis. Analisis kimia yang melibatkan ditujukan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif terhadap senyawa aktif. Sedangkan aspek parameter non spesifik berfokus pada aspek kimia, mikrobiologi dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan

stabilitas, misal kadar logam berat, aflatoksin, kadar air dan lain-lain (Saifudin dkk, 2011).

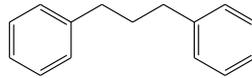
2.3.1 Uji kandungan senyawa kimia ekstrak Rumput Bambu

Secara kromatografi instrumental dapat dilakukan penetapan kadar kandungan senyawa identitas atau senyawa kimia utama ataupun kandungan kimia lainnya. Instrumen yang dapat digunakan adalah densitometri, kromatografi gas, KCKT atau instrumen yang sesuai. Tujuannya memberikan data kadar kandungan kimia tertentu sebagai senyawa identitas atau senyawa yang diduga bertanggung jawab pada efek farmakologi (Saifudin dkk, 2011).

2.3.1.1 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Rumput Bambu

a. Flavonoid

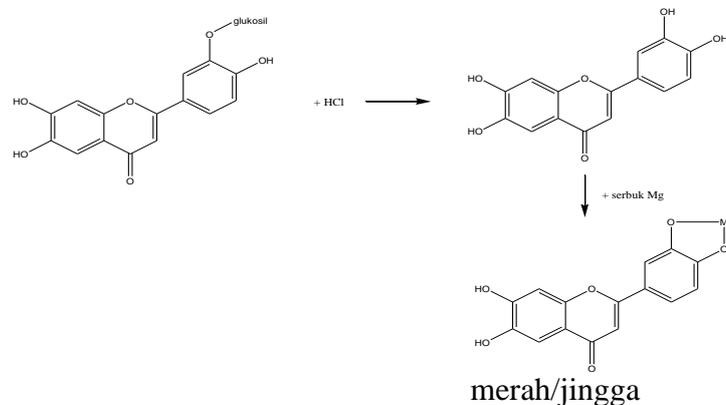
Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C_3 . Sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995). Harbone (1996) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid golongan utama berupa senyawa yang dapat larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70 % serta akan tetap larut dalam lapisan air jika diekstraksi atau difraksinasi dengan eter minyak bumi. Struktur senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur Senyawa Flavonoid (Kuersetin) (Robinson, 1995)

Uji fitokimia flavonoid dapat dilakukan dengan metode Wilstater yakni dengan melarutkan sejumlah ekstrak dengan metanol panas, ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga (flavon), merah tua (flavonol/flavonon), oranye, merah, kuning, hijau sampai biru (aglikon/glikosida) (Dermawan, 2012).

Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan santon (Robinson, 1995). Adapun contoh reaksi dugaan yang terjadi pada uji flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Reaksi dugaan antara Senyawa Flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Hidajat, 2005)

Purwaningsih (2003) menyatakan bahwa eluen terbaik untuk pemisahan flavonoid menggunakan KLT dari biji Kacang Tunggak (*Virga unguiculata* (L.) Walp.) adalah BAA atau campuran butanol-asam asetat-air (4:1:5), kemudian

diperiksa di bawah sinar UV akan berwarna biru dengan diuapi uap amoniak akan berwarna biru kehijauan dengan noda sebanyak 8 dengan Rf antara 0,14 – 0,94 cm.

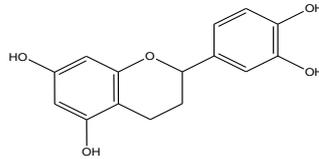
Milyasari (2010) melakukan identifikasi golongan flavonoid secara KLT dari ekstrak buah Belimbing Wuluh menggunakan eluen metanol-kloroform (1:9) di bawah sinar UV 254 nm dan diperoleh 1 noda berwarna lembayung dengan nilai Rf 0,70 cm setelah diuapi dengan amoniak. Wonohadi, dkk (2006) menyatakan bahwa hasil skrining kandungan kimia secara KLT fraksi kloroform ekstrak etanol daun Rimpang Putih Giring menunjukkan adanya golongan flavonoid yang berhasil dipisahkan menggunakan campuran eluen kloroform-etil asetat (60:40) dengan penampak noda pereaksi uap amoniak dan menghasilkan dua noda yaitu noda kuning (Rf 0,34 cm) dan noda kuning muda (Rf 0,51 cm).

Pemisahan flavonoid dengan KLT dapat menggunakan penyemprot amoniak/uap amoniak yang memberikan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung dan kuning kecoklatan (Halimah, 2010). Alasan penggunaan uap amoniak karena flavonoid merupakan senyawa fenol yang warnanya dapat berubah bila ditambah basa atau amoniak. Oleh karena itu golongan ini mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harbone, 1996).

b. Tanin

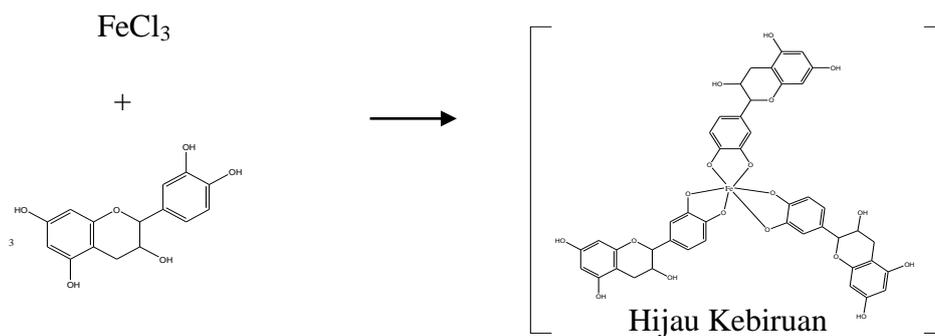
Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun atau buah yang belum matang. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat. Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti “*reverse*” transkriptase dan DNA

topoisomerase (Robinson, 1995). Struktur senyawa tanin ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Senyawa Tanin (Robinson, 1995)

Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah suatu bahan atau sampel tersebut mengandung gugus fenol. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tinta (Harbone, 1996). Kecenderungan Fe dalam pembentukan senyawa kompleks dapat mengikat 6 pasang elektron bebas. Ion Fe^{3+} dalam pembentukan senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk hibridisasi d^2sp^3 (Effendy, 2007) sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O pada tanin. Reaksi yang terjadi antara FeCl_3 dan Tanin ditunjukkan pada Gambar 2.5



Gambar 2.5 Reaksi dugaan antara Senyawa Tanin dengan FeCl_3 (Dermawan, 2012)

Pelarut yang digunakan untuk mendeteksi campuran tanin terkondensasi adalah butanol : asam asetat : air (14:1:5), diikuti dengan asam asetat 6 %

merupakan pelarut yang cukup baik. Bercak noda diperiksa dengan sinar UV lalu dengan penyemprot FeCl_3 menghasilkan warna lembayung (Harbone, 1996).

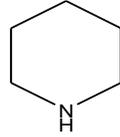
Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan tanin menggunakan KLT dari ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting menggunakan eluen butanol-asam asetat-air (14:1:5) menunjukkan 2 noda di bawah sinar UV 366 nm yang berwarna ungu (R_f 0,61 cm) dan ungu kehitaman (R_f 0,8 cm) setelah disemprot dengan FeCl_3 . Fitriyani (2011) mengidentifikasi senyawa tanin secara KLT menggunakan campuran eluen kloroform-metanol-air (7:3:0,4) dari ekstrak metanol daun Sirih Merah menghasilkan 1 noda berwarna hitam dengan nilai R_f 0,5 cm.

Yulia (2006) menyatakan bahwa untuk identifikasi golongan tanin menggunakan KLT dapat menggunakan eluen n-butanol-asam asetat-air (2:0,5:1,1) dari daun Teh Var. *Assamica* menunjukkan 8 noda yang berwarna lembayung dengan nilai R_f 0,6190 – 0,6548 cm. Mangunwardoyo, dkk (2009) melakukan identifikasi golongan senyawa tanin dari Herba Meniran dengan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) menghasilkan 11 noda, akan tetapi yang menunjukkan adanya golongan tanin adalah noda ke- 6 yang berwarna hijau kekuningan dengan nilai R_f sebesar 0,65 dengan pereaksi FeCl_3 .

c. Alkaloid

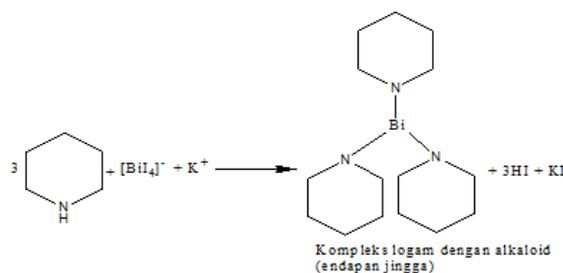
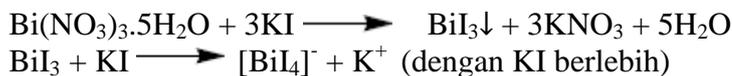
Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan

dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Struktur golongan senyawa alkaloid ditunjukkan pada Gambar 2.6.



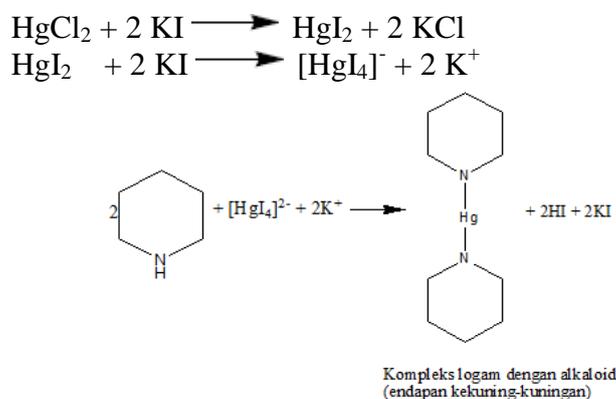
Gambar 2.6 Struktur Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silicotungstat 5 %, asam tanat 5 %, pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), dan iodoplatinat. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Reaksi dugaan senyawa alkaloid dengan pereaksi dragendorff ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Reaksi dugaan antara senyawa Alkaloid (contoh senyawa Piperidina) dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008)

Hasil positif alkaloid pada reagen Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah dengan kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah-merkuri(II) iodida. Jika kalium iodida ditambahkan secara berlebih maka akan berbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990). Reaksi dugaan antara senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer ditunjukkan pada gambar 2.8



Gambar 2.8 Reaksi dugaan antara senyawa Alkaloid (contoh senyawa Piperidina) dengan pereaksi Mayer (Lutfillah, 2008)

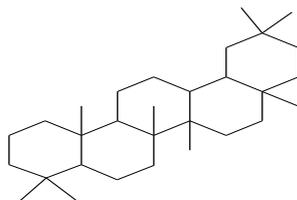
Sari (2010) melakukan pemisahan alkaloid (kafein) daun Teh. menggunakan eluen etil asetat-metanol (3:1) dengan penyemprot Dragendorf menghasilkan noda dengan Rf 0,62 (jingga tanpa sinar UV). Sedangkan Setiaji (2009) memisahkan senyawa alkaloid dari ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70 % rhizome Binahong dengan menggunakan eluen benzena: etil asetat (1:4) yang disemprot dengan penyemprot Dragendorff. Diperoleh hasil noda dengan Rf 0,83 (jingga dengan pereaksi penyemprot, berfluoresensi kuning pada UV 366 nm); sementara dengan eluen pengembang kloroform-metanol (1:4) diperoleh noda

dengan Rf 0,93 (jingga dengan pereaksi penyemprot, berfluoresensi kuning pada UV 366 nm).

Sriwahyuni (2010) melakukan identifikasi golongan alkaloid dari ekstrak etil asetat tanaman anting-anting dengan KLT menggunakan eluen kloroform : metanol (9,5:0,5) menunjukkan 5 noda yang berwarna ungu kecoklatan – jingga kecoklatan dengan nilai Rf 0,27 – 0,87. Pada Rf 0,78 (kuning pada pengamatan tanpa sinar UV, jingga kecoklatan tua pada UV 366nm). Sedangkan Lestari (2012) menggunakan eluen kloroform-metanol (8:3) lalu disemprot dengan pereaksi Dragendorff untuk mengidentifikasi alkaloid ekstrak n-butanol daun Sidaguri menghasilkan noda dengan Rf 0,59 (coklat jingga dengan latar belakang kuning).

d. Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1996). Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida. Golongan senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan ketika senyawa ditambahkan dengan asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi (Robinson, 1995). Struktur senyawa triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 2.9



Gambar 2.9 Struktur Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Listiana, dkk (2005) menyatakan bahwa eluen n-heksana : etil asetat dapat memisahkan ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) yang isolatnya positif mengandung triterpenoid. Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mendeteksi triterpenoid menghasilkan warna violet (Harbone, 1996). Bawa (2009) menyebutkan bahwa isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman - Burchard yaitu akan terjadi perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua.

Sriwahyuni (2010) melakukan uji fitokimia golongan triterpenoid dari ekstrak diklorometan dari tanaman anting-anting dan KLT menggunakan eluen benzena-kloroform (3:7) setelah disemprot reagen Liebermann Burchard di bawah sinar UV 366 nm menunjukkan 5 noda. Namun yang diasumsikan sebagai triterpenoid adalah noda ke- 1, 2, 4, dan 5 yang berwarna ungu tua, ungu muda, ungu dan merah keunguan dengan nilai Rf 0,16; 0,5; 0,7; dan 0,76. Sedangkan untuk eluen n-heksana : etil asetat (1:1) menunjukkan 7 noda. Noda ke- 1, 2, dan 3 menunjukkan warna ungu tua, noda ke- 4 berwarna ungu, noda ke- 5 dan 6 berwarna merah muda keunguan dan noda ke- 7 berwarna merah tua keunguan dengan nilai Rf 0,12 – 0,79.

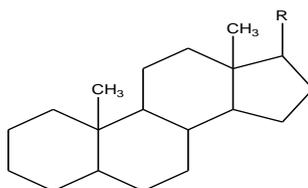
Reveny (2011), melakukan uji fitokimia golongan triterpenoid dan steroid dari daun Sirih Merah dengan KLT menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (8:2)

diperoleh Rf 0,41 dan 0,29 (ungu merah), dengan perbandingan (6:4) diperoleh Rf 0,84 dan 0,76 (ungu merah) dengan pereaksi Liebermann Burchard. Zahro (2011) melakukan pemisahan senyawa triterpenoid ekstrak tanaman anting-anting dengan menggunakan eluen n-heksana:kloroform (1:1). Noda yang terpisah sebanyak 8 noda, pada Rf 0,14;0,34;0,39;0,45;0,55;0,68;dan 0,80 berwarna merah keunguan.

e. Steroid

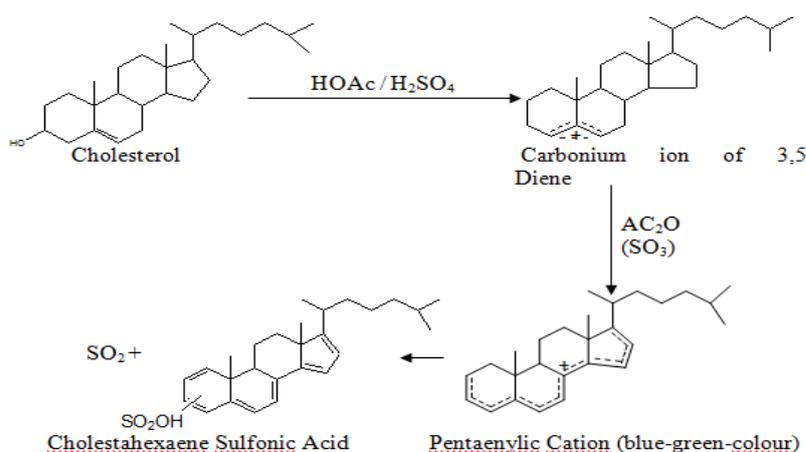
Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994).

Steroid tersusun dari isoprene-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non polar. Beberapa senyawaan steroid mengandung gugus -OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya cenderung lebih polar. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol. Beberapa senyawa ini jika terdapat dalam tumbuhan akan dapat berperan menjadi pelindung. Senyawa ini tidak hanya bekerja menolak beberapa serangga tetapi juga menarik beberapa serangga lain (Robinson, 1995). Struktur senyawa steroid ditunjukkan pada gambar 2.11



Gambar 2.11 Struktur senyawa Steroid (Robinson, 1995)

Reagen yang digunakan untuk uji fitokimia pada senyawa golongan steroid adalah dengan menggunakan pereagen Lieberman–Buchard yang menghasilkan warna hijau biru. Reagen yang lain adalah dengan menggunakan pereagen Brieskorn dan Briner (asam klorosulfat dan Sesolvan NK) yang menghasilkan warna coklat (Robinson, 1995). Reaksi dugaan senyawa steroid dengan reagen Liebermen-Burchard ditunjukkan pada Gambar 2.12



Gambar 2.12 Reaksi dugaan senyawa steroid (contoh senyawa kolesterol) dengan reagen Liebermann Burchard (Burke, 1974)

Reveny (2011) menyatakan bahwa untuk identifikasi golongan triterpenoid/steroid menggunakan KLT dari daun Sirih Merah menggunakan fase gerak n-heksana-etil asetat (8:2) diperoleh Rf 0,41 cm dan 0,29 cm (ungu merah), dengan perbandingan (6:4) diperoleh Rf 0,84 cm dan 0,76 cm (ungu merah) dengan pereaksi Liebermann Burchard. Gunawan, *et al.*, (2008) menyatakan bahwa identifikasi golongan steroid secara KLT menggunakan campuran eluen kloroform-metanol (3:7) pada ekstrak herba meniran dengan menghasilkan 1 noda berwarna ungu muda dengan nilai Rf 0,58 cm. Halimah (2010) mengidentifikasi golongan senyawa steroid secara KLT menggunakan eluen n-heksana-etil asetat

(7:3) pada ekstrak kloroform tanaman anting-anting menghasilkan 4 noda yang menghasilkan warna secara berurutan yaitu hijau terang, hijau kekuningan, dan hijau kecoklatan dengan nilai Rf 0,57; 0,76; 0,94; dan 0,96 cm.

2.3.1.2 Pemisahan Golongan Senyawa Kimia dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Prinsip pemisahan dengan kromatografi lapis tipis menurut Hendayana (2006) adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi, fase diam).

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap yang berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10–30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiennya dan resolusinya (Gandjar dan Rohman, 2007). Fase diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau aluminium. Jika fase diamnya berupa silika gel maka bersifat asam, jika fase diamnya berupa alumina maka bersifat basa (Gritter dkk, 1991).

Fase gerak atau larutan pengembang biasanya digunakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik-anorganik (Gritter dkk, 1991). Sistem yang paling sederhana ialah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Gandjar dan Rohman, 2007) .

Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan plat silika gel F₂₅₄ dengan menggunakan eluen terbaik untuk masing-masing senyawa. Plat KLT ini dilengkapi dengan indikator fluoresensi pada sinar UV yang bergelombang pendek. Pengamatan plat di bawah lampu UV yang dipasang panjang gelombang emisi 254 nm atau 366 nm untuk menampakkan komponen senyawanya sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam (Griter dkk, 1991).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah dari lapisan tipis menggunakan harga Rf (*Reterdation Factor*). Harga Rf didefinisikan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 2007) :

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

Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standart. Harga-harga Rf yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan (Sastrohamidjojo, 2007).

Halimah (2010) melakukan pemisahan senyawa golongan triterpenoid ekstrak etanol dan n-heksan tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) secara KLT dengan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (2:8). Pemisahan senyawa triterpenoid dari tumbuhan perdu tersebut menghasilkan 7 noda untuk ekstrak etanol dengan 4 noda positif golongan senyawa triterpenoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah keunguan, coklat, merah keunguan dan kecoklatan setelah dideteksi dengan reagen Lieberman-Burchard dan disinari di bawah sinar UV pada λ 366 nm. Sedangkan, pada ekstrak n-heksana

menghasilkan 3 noda dengan dua noda positif golongan triterpenoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah keunguan dan kecoklatan setelah dideteksi dengan reagen Lieberman-Burchard dan disinari di bawah sinar UV pada λ 366 nm.

Sriwahyuni (2010) melakukan pemisahan senyawa triterpenoid pada ekstrak diklorometan anting-anting dengan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (1:1) menghasilkan tujuh noda yang positif senyawa triterpenoid setelah dideteksi dengan reagen Lieberman-Burchard dan disinari di bawah sinar UV pada λ 366 nm yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu, ungu tua, merah keunguan.

2.3.2 Uji Parameter Non Spesifik Ekstrak Rumput Bambu

Penentuan parameter non spesifik ekstrak yaitu penentuan aspek kimia, mikrobiologi dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas (Saifudin dkk, 2011). Parameter non spesifik ekstrak meliputi (Depkes RI, 2000):

2.3.2.1 Penentuan Kadar abu Ekstrak Rumput Bambu

Penentuan kadar abu dilakukan dengan memanaskan bahan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan organik yang memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Parameter kadar abu ini terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu ekstrak (Musfiroh dkk,).

Arifin (2006) melakukan penentuan kadar abu pada ekstrak etanol daun juwet dan diperoleh hasil untuk kadar abu ekstrak $2,9\% \pm 1,127$ dan kadar abu yang tidak larut asam $0,13\% \pm 0,058$.

2.3.2.2 Penentuan Total Bakteri Ekstrak Rumput Bambu

Penentuan cemaran mikroba adalah penentuan adanya mikroba yang patogen secara analisis mikrobiologis. Tujuannya adalah memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba non patogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan berbahaya (toksik) bagi kesehatan (Depkes RI, 2000).

2.3.2.3 Penentuan Kandungan Timbal (Pb) Ekstrak Rumput Bambu

Penentuan kandungan timbal (Pb) pada ekstrak berguna untuk dapat menjamin bahwa ekstrak tidak mengandung timbal melebihi batas yang ditetapkan karena bersifat toksik terhadap tubuh (Arifin dkk, 2006). Logam Timbal dipilih sebagai logam berat yang akan dianalisa kadar cemarannya karena logam berat tersebut merupakan logam berat yang berbahaya terhadap kesehatan khususnya pada wanita. Timbal pada wanita hamil, dapat melewati plasenta dan kemudian akan ikut masuk dalam sistem peredaran darah janin dan selanjutnya setelah bayi lahir, timbal akan dikeluarkan bersama air susu ibu (Istarani & Ellina, 2012).

Keracunan akut akibat makanan, injeksi larutan atau penyerapan cepat komponen timbal dapat menimbulkan gejala sakit perut, muntah, diare, oliguria, pingsan, dan koma. Keracunan kronis umumnya disertai gejala awal seperti kehilangan nafsu makan, berat badan menurun, konstipasi, lesu, muntah, mudah

lelah, sakit kepala, lemah dan anemia. Keracunan timbal parah dapat menyebabkan muntah, ataksia, stupor atau letargi, gangguan penglihatan, peningkatan tekanan darah, paalisis saraf kranial, delirium, konvulsi, dan koma (Dreisbach dan Robertson, 1994).

Agar didapat hasil yang valid maka dianalisa menggunakan menggunakan metoda spektrofotometri serapan atom. Penetapan kadar logam Timbal (Pb) dengan metode AAS (*Atomic Absorption Spechtrophotometer*) karena waktu pengerjaan yang cepat, sensitif, dan sangat spesifik untuk unsur yang akan dianalisis (Durotul, 2014). SK Dirjen POM No 03725/SK/VII/89 tentang batas maksimum cemaran logam dalam makanan menyatakan bahwa batas maksimum cemaran logam timbal pada rempah-rempah sebesar 10mg/kg.

2.4 Metode Ekstraksi Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile B.*)

Ekstraksi adalah proses penarikan suatu zat terlarut dari larutannya di dalam air oleh suatu pelarut lain yang tidak dapat bercampur dengan air. Tujuan ekstraksi adalah memisahkan suatu komponen dari campurannya menggunakan pelarut tertentu (Soebagio, 2003). Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua cara yaitu ; cara dingin dan cara panas. Cara dingin terbagi menjadi dua yaitu; maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas terbagi menjadi empat jenis yaitu; refluks, soxhlet, digesti, infus dan dekok (Depkes RI, 2000).

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (Depkes RI, 2000). Maserasi merupakan cara ekstraksi yang

paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang, upaya pengocokan ini dapat menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat di dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigt, 1994).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Baraja, 2008).

Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dalam perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik, ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Guenther, 1987).

Pemilihan pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji dkk, 2003).

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Heksana	1,9	TL	68,7
Kloroform	4,81	S	61,3
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi

Sumber: Sax dan Lewis (1998), Fesenden dan Fesenden (1997), dan Mulyono (2009)

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 80%. Penggunaan pelarut organik etanol 80% pada ekstrak akar rumput bambu ini bertujuan untuk melarutkan senyawa organik yang cenderung bersifat polar. Pelarut etanol dipilih sebagai cairan penyari karena senyawa yang akan diekstraksi adalah senyawa fenolik. Ekstraksi senyawa fenolik dari jaringan tumbuhan dalam bentuk glikosida menggunakan pelarut metanol atau etanol pada suhu kamar dengan cara maserasi. Selain itu, etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena lebih selektif, kapang sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan, memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan, dan zat pengganggu yang larut terbatas. (Andersen, 2006; Markham, 1988).

Selina (2010) melakukan ekstraksi maserasi daun rumput bambu menggunakan pelarut n-heksana, kloroform dan etanol 80%. Rendemen ekstrak

sampel daun rumput bambu yang terbesar adalah ekstrak etanol 80 % karena kandungan senyawa polar dalam sampel daun rumput bambu lebih banyak daripada senyawa non polar dan semipolar. Senyawa yang bersifat semipolar dan nonpolar yang terikat pada ikatan glikosida akan bersifat polar sehingga pelarut etanol mampu mengekstrak senyawa tersebut. Affandi (2006) menjelaskan bahwa pelarut etanol memiliki dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Adanya dua gugus tersebut menyebabkan senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran berbeda dapat terekstrak oleh etanol.

Setelah dilakukan maserasi, untuk menghilangkan pelarut dilakukan penguapan. Penguapan pada *rotary evaporator vakum* dilakukan pada tekanan rendah atau dengan kenaikan temperatur dan kecepatan terbesar pada titik didih larutan. Cairan organik yang memiliki titik didih rendah, tekanan permukaan akan rendah. Labu evaporator dipanaskan pada temperatur tertentu di atas *waterbath* dan diputar selama evaporasi, sehingga terjadi pencampuran yang sempurna, mencegah *bumping*, dan juga akan memiliki permukaan yang relatif lebih kuat. Pelarut menguap dari campuran kemudian terkondensasi oleh erlenmeyer dan jatuh pada labu penampung (Vogel, 1978).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Ada beberapa jenis ekstrak yakni; ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa

dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voigt, 1994).

2.4.2 Ekstraksi Cair – Cair (Partisi)

Ekstraksi cair – cair ditentukan oleh *distribusi Nerst* atau hukum partisi yang menyatakan bahwa “ Pada konsentrasi dan tekanan yang konstan, analit akan terdistribusi dalam proporsi yang selalu sama diantara dua pelarut yang saling tidak campur”. Analit – analit yang mudah terekstrak dalam pelarut organik adalah molekul – molekul netral yang berikatan secara kovalen dengan substituent yang bersifat nonpolar atau agak polar. Sementara itu, senyawa – senyawa polar dan juga senyawa – senyawa yang mudah mengalami ionisasi akan tertahan dalam fase air (Rohman dan Gandjar, 2007), dengan prinsip *like dissolve like* dimana senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar, sedangkan senyawa polar akan larut dalam pelarut polar.

Pelarut organik yang dipilih untuk ekstraksi pelarut yang mempunyai kelarutan rendah dalam air (< 10 %), dapat menguap sehingga memudahkan penghilangan pelarut organik setelah dilakukan ekstraksi, dan mempunyai kemurnian yang tinggi untuk meminimalkan adanya kontaminasi sampel (Rohman dan Gandjar, 2007). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah n-heksana yang bersifat nonpolar. Selain itu pelarut n-heksana memiliki titik didih yang rendah, pelarut ini memiliki nilai kelarutan rendah pada air yaitu 3,9 dan 2 % dalam air sehingga memungkinkan mendapatkan senyawa murni. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Bawa (2009) tentang melakukan ekstraksi

maserasi daging buah pare dengan pelarut metanol lalu di partisi dengan pelarut N-heksana mendapatkan nilai rendemen 1,031 %.

2.5 Uraian Instrumen

2.5.1 Spektroskopi Serapan Atom

Spektrometri merupakan suatu metode analisis kuantitatif yang pengukurannya berdasarkan banyaknya radiasi yang dihasilkan atau yang diserap oleh spesi atom atau molekul analit. Salah satu bagian dari spektrometri ialah spektrometri serapan atom (SSA), merupakan metode analisis unsur secara kuantitatif yang pengukurannya berdasarkan penyerapan cahaya dengan panjang gelombang tertentu oleh atom logam dalam keadaan bebas (Skoog dkk, 2004 dalam Khaironi, 2013).

Apabila cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada suatu sel yang mengandung atom-atom bebas yang bersangkutan maka sebagian cahaya tersebut akan diserap dan intensitas penyerapan akan berbanding lurus dengan banyaknya atom bebas logam yang berada dalam sel (Underwood & Day, 2002). Pada alat SSA terdapat dua bagian utama yaitu suatu sel atom yang menghasilkan atom-atom gas bebas dalam keadaan dasarnya dan suatu sistem optik untuk pengukuran sinyal (Willard dkk, 1988).

Pada prinsipnya mekanisme kerja dari SSA ini adalah atom-atom suatu logam diuapkan dalam suatu nyala dan serapannya pada suatu pita radiasi sempit yang dihasilkan oleh suatu lampu katode rongga. Kemudian, dilapisi dengan logam tertentu yang sedang ditentukan, setelah itu diukur (Watson, 2010).

Dalam metode SSA, sebagaimana dalam metode spektrometri atomik lain, contoh harus diubah ke dalam bentuk uap atom. Proses pengubahan ini dikenal

dengan istilah atomisasi, pada proses ini sampel diuapkan dan didekomposisi untuk membentuk atom dalam bentuk uap. Secara umum pembentukan atom bebas dalam keadaan gas melalui tahapan-tahapan sebagai berikut (Basset dkk, 1994):

- a. Pengisatan pelarut, pada tahap ini pelarut akan teruap dan meninggalkan residu padat
- b. Penguapan zat padat, zat padat ini terdisosiasi menjadi atom-atom penyusunnya yang mula-mula akan berada dalam keadaan dasar.

Beberapa atom akan mengalami eksitasi ke tingkatan energi yang lebih tinggi dan akan mencapai kondisi dimana atom-atom tersebut mampu memancarkan energi (Basset dkk, 1994).

Aplikasi dalam penetapan kadar dengan menggunakan SSA ini, terutama sering digunakan dalam uji batas untuk logam-logam di dalam obat sebelum dimasukkan ke dalam formulasi. Sampel biasanya dilarutkan dalam asam nitrat 0,1 M untuk menghindari pembentukan hidroksida logam dari logam berat, yang relative non volatil dan menekan hasil bacaan SSA (Watson, 2010).

Preparasi sampel dilakukan dengan menggunakan metode destruksi. Destruksi berfungsi untuk memutus ikatan antara senyawa organik dengan logam yang akan dianalisis. Agar unsur-unsur tersebut tidak saling mengganggu, maka salah satu unurnya harus dihilangka, dengan adanya proses destruksi maka yang diharapkan tertinggal hanya logam (Dewi, 2012). Destruksi yang digunakan yaitu destruksi basah karena dapat menentukan unsur-unsur dengan konsentrasi yang rendah (Wulandari & Sukaesih, 2013). Destruksi basah dapat menguraikan bahan

organik dalam sampel dengan bantuan asam pengoksidasi pekat dan panas. Asam pengoksidasi pekat dapat digunakan tunggal atau campuran.

Destruksi basah adalah perombakan sampel dengan asam-asam kuat baik tunggal maupun campuran, kemudian dioksidasi dengan menggunakan zat oksidator. Pelarut-pelarut yang dapat digunakan untuk destruksi basah antara lain asam nitrat, asam sulfat, asam perklorat, dan asam klorida. Semua pelarut tersebut dapat digunakan baik tunggal maupun campuran. Kesempurnaan destruksi ditandai dengan diperolehnya larutan jernih pada larutan destruksi, yang menunjukkan bahwa semua konstituen yang ada telah larut sempurna atau perombakan senyawa-senyawa organik telah berjalan dengan baik. Senyawa-senyawa garam yang terbentuk setelah destruksi merupakan senyawa garam yang stabil dan disimpan selama beberapa hari. Pada umumnya pelaksanaan kerja destruksi basah dilakukan secara metode Kjeldhal. Dalam usaha pengembangan metode telah dilakukan modifikasi dari peralatan yang digunakan (Raimon, 1993).

Larutan asam nitrat pekat merupakan asam yang paling efektif dan paling sering digunakan dalam destruksi basah karena dapat memecah sampel menjadi senyawa yang mudah terurai dan larutan asam nitrat sendiri sukar menguap (Dewi, 2011).

Tabel 2.2 Sifat Dari Larutan Asam Mineral Pengoksidasi

Sifat	HCl	HNO₃	H₂SO₄	NCIO₄	HF
Berat Molekul	36,46	63,01	98,08	100,46	20,01
Molaritas	12,0	14,2	18,0	9,9	28,9
Titik Didih (°C)	110	122	338	203	112

[Sumber: Namik, 2006]

Terdapat beberapa keuntungan menggunakan destruksi basah. Mineral biasanya tetap berada dalam larutan, sehingga hanya sedikit bagian yang hilang

saat penguapan karena menggunakan temperatur yang rendah. Waktu oksidasi cepat (Nielsen, 2010).

Terdapat dua sistem dalam destruksi basah yaitu sistem tertutup dan sistem terbuka. Sistem destruksi basah terbuka yaitu campuran sampel dan reagen asam dipanaskan secara terbuka dengan *hot plate*. Sedangkan destruksi basah tertutup reaksi pelarutan dan pemecahan dilakukan dalam wadah tertutup yang lebih aman terhadap penguapan dan pemuaiian dari bahan (Nammik, 2006).

2.5.2 Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)

Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS) merupakan gabungan dari Komatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan *Mass Spectrometer* (MS). Kegunaan umum dari KCKT adalah untuk memisahkan dan pemurnian senyawa obat serta untuk analisis kuantitatif senyawa obat dalam sediaan farmasetika. KCKT juga dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif senyawa obat dengan mendasarkan pada parameter waktu retensi senyawa obat standar dan senyawa obat dalam sampel (Gandjar, 2012).

Mass Spectrometer (MS) merupakan alat yang dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul dan struktur senyawa organik. Selain itu alat ini juga dapat mengidentifikasi dan menentukan komponen-komponen suatu senyawa. Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi. Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion (*ion souce*) yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa (*mass analyzer*) yang mneseleksi ion. Sistem LC-MS/MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa.

Pada LC-MS, sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik (Karisma, 2012).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Oktober 2015 sampai Juni 2016.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, blender, neraca analitik, bola hisap, pisau, kertas saring, lemari asam, corong *buchner*, desikator, *vacuum rotary evaporator*, *shaker incubator*, labu destilasi, oven, *hot plate*, botol larutan, cawan petri, mikropipet, termometer, vortex, ayakan 60 mesh, Plat KLT, *Atomic Absorption Spechtometer (AAS)*. LC-MS.

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman rumput bambu (*Lophaterium gracile* Brongn) yang diperoleh dari kota Malang. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi : etanol 80%, Kloroform, n-heksana, etanol 96%, FeCl₃ 1%, HCl 2%, HCl pekat, HNO₃ pekat, H₂SO₄ pekat, H₂SO₄ encer, Asam asetat unhidrat, Etil Asetat, Benzena, Butanol, media NA (*Nutrient Agar*), pereaksi Mayer, Dragendorff, aquabides, asam perklorat, Pereaksi Libermann Burchard dan serbuk logam Mg.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel yang digunakan adalah tanaman rumput bambu (*L. gracile* B.). Tahapan penelitian yang pertama adalah preparasi sampel, kemudian ditentukan kadar air sampel kering. Langkah selanjutnya adalah serbuk sampel diambil sebanyak 60 g untuk diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80% selama 24 jam dan dishaker selama 3 jam dan dilakukan remaserasi sampai tiga kali. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat dipisahkan senyawa metabolit sekundernya berdasarkan sifat kepolarannya dengan ekstraksi cair-cair dengan pelarut N-heksana dan dipekatkan lagi menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh dihitung rendemennya.

Setelah itu, dilakukan uji fitokimia dengan penambahan reagen dan dilakukan pemisahan senyawa aktif dengan KLT preparatif. Kemudian dilanjutkan identifikasi menggunakan LC-MS untuk mengetahui jenis golongan senyawa aktif. Selain identifikasi senyawa aktif dilakukan juga pengujian parameter non spesifik untuk mengetahui beberapa faktor eksternal yang berpengaruh terhadap kondisi sampel seperti kadar abu, cemaran bakteri, serta kandungan logam timbal pada ekstrak.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air
3. Ekstraksi senyawa aktif.
4. Uji fitokimia golongan senyawa aktif dengan penambahan reagen.

5. Pemisahan senyawa aktif dengan KLT preparatif.
6. Identifikasi golongan senyawa aktif LC-MS.
7. Uji parameter standardisasi nonspesifik.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Daun rumput bambu dicuci dengan air lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar hingga bobot menyusut \pm 80-90 % dari bobot semula, kemudian sampel diserbukkan, serbuk yang diperoleh disaring menggunakan ayakan 60 mesh. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian (Sari, 2014).

3.5.2 Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode *gravimetri* yaitu dengan pemanasan (Helrich, 1984). Analisis ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Sebelumnya, cawan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator \pm 10 menit. Selanjutnya cawan tersebut ditimbang dan dilakukan pengulangan sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel kering ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam cawan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 100-105°C selama \pm 30 menit untuk menghilangkan kadar air. Selanjutnya sampel disimpan dalam desikator selama \pm 15 menit dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai didapat berat sampel konstan. Kadar air dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – Faktor koreksi

3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

Serbuk simplisia tanaman rumput bambu sebanyak 60 gram dimaserasi menggunakan etanol 80% selama 24 jam dan pada 3 jam pertama sekali-sekali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring dan residu dimaserasi kembali. Filtrat yang diperoleh disatukan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C - 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak pekat etanol kemudian dipartisi dengan pelarut N- Heksana. Ditambahkan dalam 100 mL pelarutnya dan N-heksana (1:1) dalam corong pisah. Kemudian dikocok selama 15 menit dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 4 kali sampai lapisan atas (fraksi n-heksana berwarna bening). Fraksi N-heksana dikumpulkan menjadi satu, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* hingga diperoleh ekstrak cukup kental. Randemen ekstrak kemudian dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Barat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

3.5.4 Identifikasi Senyawa Kimia dalam Ekstrak

3.5.4.1 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen (Indrayani, dkk., 2006; Halimah, 2010)

1. Alkaloid

Ekstrak daun rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendorf) dan endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan reagen Meyer) menunjukkan adanya alkaloid (Indrayani, dkk., 2006).

2. Flavonoid

Ekstrak daun rumput bambu diambil 1 mg dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi diuapkan sampai kering. Kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Indrayani, dkk., 2006).

3. Tanin (Uji dengan FeCl_3)

Ekstrak daun rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika larutan menghasilkan warna biru kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol (Halimah, 2010).

4. Steroid/Triterpenoid

Ekstrak daun rumput bambu sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Hayati, 2010).

3.5.4.2 Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLTA

Plat KLT yang digunakan adalah plat silika gel dengan ukuran 60 mesh yang mampu berfluorosensi dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm (silika G₆₀F₂₅₄) (Merck). Plat KLT disiapkan dengan melapiskan diatas permukaan lapisan kaca ketebalan 250 μ m, dibuat ukuran 1 cm x 10 cm dengan pensil, penggaris dan cutter. Selanjutnya garis digambar dengan pensil pada bagian bawah plat (1 cm dari tepi bawah dan 0,5 cm dari tepi atas plat), lalu diberi penandaan pada garis di bagian bawah plat untuk menunjukkan posisi awal totolan. Plat KLT silika gel GF₂₅₄ diaktifasi dengan cara dioven pada suhu 100°C selama 1 jam untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT.

Setiap golongan memiliki campuran fase gerak yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan dalam *great chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 30 menit. Penjenuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

Ekstrak pekat tanaman rumput bambu dilarutkan dengan pelarutnya (dibuat konsentrasi 10.000 ppm atau 100 mg dalam 10 mL pelarutnya). Kemudian ditotolkan ekstrak sebanyak 10 totolan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat

dengan menggunakan pipa kapiler. Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Plat dimasukkan dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, diletakkan setinggi 1 cm dari dasar plat, kemudian *great chamber* ditutup rapat dan dielusidasi hingga fase gerak mencapai jarak ± 1 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan.

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika gel G₆₀F₂₅₄ kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, disemprot dengan penampak noda (reagen semprot), dikering-anginkan, kemudian diamati masing-masing noda yang terbentuk. Pengamatan noda meliputi jumlah noda, warna noda dan penghitungan nilai R_f noda.

Eluen masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut:

- 1) **Golongan senyawa tanin:** digunakan eluen pengembang campuran butanol: asam asetat:air (14:1:5) (Sriwahyuni, 2010), kloroform:metanol:air (7:3:0,4) (Fitriyani, dkk., 2011), butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Nahari, 2015), butanol:asam asetat:air (4:1:2) (Purwitasari, 2014), n-heksana:etil asetat (3:2) (Mangunwardoyo, dkk., 2009). Noda disemprot dengan pereaksi FeCl₃ menghasilkan noda berwarna ungu, ungu kehitaman, lembayung, hitam, kemerahan, lembayung, dan hijau kekuningan.
- 2) **Golongan senyawa triterpenoid:** digunakan pengembang eluen campuran n-heksana:etil asetat (6:4) (Purwitasari, 2014), n-heksana:etil asetat (2:8) (Suyoso, 2011), benzena : kloroform (3:7) (Sriwahyuni, 2010), n-heksana : kloroform (8:2) (Reveny, 2011), n-heksana:etil asetat (17:3) (Zahro, 2011)

dengan pereaksi Liebermann Burchard akan terbentuk noda yang berwarna ungu, ungu tua, merah keunguan, merah muda keunguan dan ungu muda.

- 3) **Golongan senyawa steroid:** digunakan pengembang eluen campuran n-heksana:etil asetat (6:4) (Laila, 2014), n-heksana:etil asetat (3,5:1,5) (Desianti, 2014), n-heksan : aseton (7:3) (Anggraini, 2014), n-heksana:etil asetat (7:3) (Masroh, 2009), n-heksana:etil asetat (8:2) (Reveny, 2011) dengan pereaksi Liebermann Burchard akan terbentuk noda yang berwarna hijau, biru, ungu sampai coklat.

3.5.4.3 Pemisahan Senyawa Aktif Tanaman Rumput Bambu dengan KLT

Pemisahan dengan KLT preparatif dilakukan dengan silika gel F₂₅₄ dengan ukuran 20 cm × 20 cm. Plat diaktivasi terlebih dahulu dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100 °C selama ± 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat. Ekstrak pekat dilarutkan dalam pelarutnya, kemudian ditotolkan sebanyak 7 totolan pada sepanjang garis batas bawah menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya dielusi menggunakan eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik pada KLT analitik. Elusi dihentikan setelah larutan pengembang mencapai garis batas. Plat hasil elusi dikeringkan dan noda yang terbentuk diamati menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Noda yang terbentuk dihitung R_fnya dan dibandingkan dengan R_f hasil KLT analitik. Noda yang diduga merupakan golongan senyawa aktif dikerok dan dilarutkan dalam pelarutnya. Dilakukan sentrifugasi untuk mengendapkan silika sehingga endapan silika berwarna putih, sedangkan supernatan yang diperoleh diuapkan pelarutnya hingga pelarut habis menguap sehingga diperoleh isolat

pekat dari masing-masing noda. Isolat yang diperoleh diidentifikasi menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS).

3.5.5 Pengujian Parameter Non Spesifik

3.5.5.1 Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 1 gram ekstrak ditimbang (W1) dimasukkan dalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditimbang (W0). Setelah itu ekstrak dipijar dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan (dengan suhu dinaikkan secara bertahap hingga 600 ± 25 °C hingga arang habis. Kemudian ditimbang hingga bobot tetap (W2) (Depkes RI, 1980 dalam Khoirani, 2013).

$$\% \text{ Kadar Abu Total} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = bobot cawan kosong (gram)

W1 = bobot ekstrak awal (gram)

W2 = bobot cawan + ekstrak setelah diabukan (gram)

3.5.5.2 Penentuan Total Bakteri

Dipipet dengan pipet steril 1 ml ekstrak dari pengenceran 10^{-4} ditanam pada media NA (*Nutrien Agar*), lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kemudian diamati dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh dan dikalikan dengan faktor pengenceran.

3.5.5.3 Penentuan Kandungan Timbal (Pb)

Penetapan batas cemaran logam Timbal (Pb) menggunakan alat *Atomic Absorption Spechtrophotometer* (AAS). Pembuatan kurva kalibrasi diawali

dengan pembuatan beberapa larutan standar timbal dari larutan induk 1000 ppm. Larutan induk 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 5,00 ppm dan selanjutnya dibuat konsentrasi 0,10 ppm; 0,30 ppm; 0,50 ppm; 1,00 ppm; dan 3,00 ppm dalam labu ukur 50 ml. Pemilihan konsentrasi kurva kalibrasi berdasarkan batas persyaratan cemaran logam berat. Pemilihan konsentrasi ini agar serapan sampel berada dalam rentang kurva kalibrasi (Durotul, 2014).

Pengukuran serapan kurva kalibrasi menggunakan spektrofotometri serapan atom dengan panjang gelombang yang spesifik untuk timbal pada panjang gelombang 283,3 nm (Dewi, 2012). Lalu hasil pengukuran serapan diplot menjadi kurva kalibrasi dan memperoleh persamaan kurva baku $Y=BX + A$ dengan koefisien korelasi (r) mendekati 1.

Penetapan kadar logam berat dilakukan dengan cara destruksi basah. Ditimbang 1 gram ekstrak, ditambahkan 10 ml HNO_3 pekat dan 5 ml asam perklorat, kemudian dipanaskan hingga kental (warna larutan bening). Selanjutnya dinginkan pada suhu kamar dan disaring dengan kertas whatman 42 ke labu ukur 10 ml. Filtrat yang diperoleh diencerkan dengan HNO_3 0,5 M dan diukur absorbansinya dengan AAS pada panjang gelombang 217 nm untuk timbal (Durotul, 2014). Batas maksimal residu logam berat timbal (Pb) tidak melebihi 10 mg/kg ekstrak (Saifudin dkk, 2011).

3.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan data yang diperoleh dari uji parameter non spesifik dengan standar yang telah ditetapkan. Identifikasi senyawa kimia pada tanaman rumput bambu (*L. gracile* B.) dilakukan secara kualitatif melalui uji reagen dan

pemisahan senyawa aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa identitas dalam ekstrak yang diduga berpotensi sebagai antikanker dan antioksidan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan suatu tahapan dalam analisis bahan alam yang terdiri dari proses pencucian, pengeringan dan penyerbukan sampel. Baraja (2008) menjelaskan, pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah yang menempel pada tanaman rumput bambu. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air dalam tanaman rumput bambu, meminimalkan kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme/tumbuhnya jamur, dan sampel akan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama.

Pengeringan sampel tanaman rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) dilakukan dengan cara diangin-anginkan dengan tujuan agar tidak merusak kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman tersebut khususnya senyawa yang memiliki titik didih rendah. Penggunaan pengeringan dengan diangin-anginkan dijelaskan oleh Hernani dan Nurdjanah (2009) bahwasanya dalam tumbuhan obat yang tidak tahan panas untuk mempertahankan metabolit sekunder sebaiknya dikeringkan dengan udara, bukan 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 sampel rumput bambu dilakukan selama ± 7 hari sampai tanaman benar-benar kering.

Sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan penggilingan 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 sehingga terjadinya kontak dengan pelarut dalam proses ekstraksi akan semakin besar dan proses ekstraksi akan semakin cepat. Serbuk simplisia yang telah halus selanjutnya diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Tujuan dari pengayakan adalah untuk menseragamkan ukuran serbuk sehingga pelarut mudah teradsorpsi dalam seluruh bagian sel terutama dinding sel sehingga memudahkan meresapnya pelarut dan meminimalkan penguapan zat ekstraktif selama proses ekstraksi (Dewi, 2007). Diperoleh serbuk halus dengan ukuran yang relatif sama dan seragam dengan berat ± 75 gram. Serbuk inilah yang selanjutnya dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80 %.

4.2 Analisis Kadar Air

Pengukuran kadar air dalam suatu sampel sangat diperlukan sebagai tahap awal dalam melakukan sebuah penelitian bahan alam. Jika kadar air terlalu tinggi maka jamur akan mudah mengkontaminasi sampel dan menghalangi masuknya pelarut ke dalam sampel. Apabila pelarut yang digunakan tidak dapat bercampur dengan air maka pelarut tidak akan bisa masuk ke dalam dinding sel. Tingginya kadar air sampel juga dapat berakibat tumbuhnya jamur-jamur penghasil mikotoksin (racun) yang dapat menyebabkan data yang tidak akurat pada uji aktivitas sebab kematian sel kanker bukan dikarenakan ekstrak melainkan karena jamur-jamur yang tumbuh.

Penentuan kadar air dilakukan untuk menentukan kesegaran dan daya tahan suatu sampel, apabila kadar air kecil maka kestabilan optimum suatu bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat terhindari (Winarno, 2002). Analisis kadar air pada penelitian ini dilakukan pada sampel yang telah dikeringkan. Analisis kadar air dilakukan dengan mengeringkan serbuk simplisia pada suhu 100 - 105 °C agar air yang terikat secara fisik dapat teruapkan (Harjadi, 1993).

Prinsip pengukuran kadar air adalah penghilangan air yang terdapat dalam sampel dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 105°C selama waktu tertentu. Kadar air dapat ditentukan dari selisih berat cawan isi sebelum pemanasan dan berat cawan isi setelah pemanasan. Metode yang digunakan pada pengukuran kadar air adalah metode thermogravimetri. Sampel dipanaskan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama 30 menit bertujuan untuk menghilangkan kadar air dan proses tersebut diulangi sampai memperoleh berat konstan. Data yang dihasilkan dari analisis kadar air sampel kering menunjukkan kandungan air pada sampel tanaman rumput bambu setelah dikeringkan sebesar 7,1577 % (b/b).

Menurut Setyowati (2009) kadar air maksimum yang disyaratkan untuk proses ekstraksi agar dapat berlangsung dengan cepat yaitu sebesar 10 %. Sehingga dari pernyataan tersebut, dapat diketahui bahwa kandungan air pada sampel kering tanaman rumput bambu tidak melebihi batas maksimum yang telah ditentukan.

4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* Brongn.)

4.3.1 Maserasi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut (Khopkar, 2008). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dan ekstraksi cair-cair.

Ekstraksi tanaman rumput bambu menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Menurut Baraja (2008) prinsip dari metode maserasi adalah terdapat waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan sampel yang diekstrak, dengan demikian pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel.

Serbuk tanaman rumput bambu sebanyak 60 gram dibagi menjadi dua masing-masing \pm 30 gram. Tujuan dari pembagian serbuk untuk meningkatkan efisiensi proses maserasi dan untuk memaksimalkan komponen senyawa kimia yang terekstrak dalam pelarut. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam serbuk sampel ke dalam etanol 80 % selama 24 jam dalam suhu ruang dan terlindung dari cahaya matahari secara langsung. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya degradasi komponen-komponen senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk sampel yang tidak tahan terhadap cahaya langsung (Ansel, 1989).

Pemilihan etanol 80 % sebagai pelarut karena etanol memiliki titik didih yang cukup rendah, pelarut dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 1987). Menurut Effendi (2006) pelarut polar seperti etanol memiliki dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Adanya dua gugus tersebut menyebabkan senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran berbeda (bersifat polar, semi polar dan non polar) dapat terekstrak oleh etanol. Adanya ikatan glikosida yang mengandung banyak gugus -OH pada suatu senyawa organik menyebabkan senyawa tersebut bersifat lebih polar, sehingga pada proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder lebih terekstrak pada pelarut etanol.

Merujuk pada penelitian yang telah dilakukan oleh Sari (2014) menunjukkan hasil randemen tertinggi terdapat pada ekstrak etanol yaitu 6,35%, sedangkan randemen untuk ekstrak kloroform, dan n-heksana adalah 2,63 % dan 2,30 %.

Pada saat maserasi dilakukan perendaman selama 24 jam dan pengadukan dengan *shaker* berkecepatan 150 rpm selama 3 jam. Tujuannya agar kejenuhan pelarut terjadi lebih cepat dan ekstrak yang diperoleh lebih homogen (Vogel, 1978). Proses maserasi diulang sampai tiga kali hingga diperoleh filtrat bening yang mengindikasikan senyawa telah terekstrak secara maksimal (Voight, 1995). Filtrat yang didapatkan berwarna hijau tua pekat menjadi hijau tua.

Filtrat dan residunya dipisahkan dengan cara disaring menggunakan corong *Buchner* dan kertas saring. Prinsip penyaringan dengan corong *Buchner* adalah penyaringan secara mekanis berdasarkan ukuran molekul, sehingga molekul yang

berukuran lebih besar akan tertahan pada kertas saring (Vogel, 1978). Pompa vakum akan memperkecil tekanan dalam erlenmeyer yang secara otomatis akan memperbesar tekanan diluar (sekitar erlenmeyer), sehingga tekanan diluar akan mendorong filtrat masuk kedalam erlenmeyer.

Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*. Proses ini dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes lagi pada labu alas bulat. Prinsip utama *rotary evaporator* adalah adanya penurunan tekanan dan dipercepatnya putaran labu alas bulat sehingga pelarut akan menguap pada suhu dibawah titik didih pelarut (Vogel, 1978). Pelarut yang menguap lebih dahulu di bawah titik didihnya dikarenakan adanya pompa vakum yang berfungsi untuk menurunkan tekanan. Penurunan tekanan menyebabkan titik didih pelarut menjadi turun sehingga pelarut akan lebih mudah menguap. Pelarut yang terkena panas dari *waterbath* dibawah suhu titik didihnya akan menguap, uap dari pelarut akan terkondensasi menjadi wujud cair yang tertampung dalam labu destilat, sedangkan ekstrak tertampung dalam labu alas bulat (Abraham, 2013; A'ilah, 2015). Proses pemekatan dihentikan ketika ekstrak yang diperoleh cukup pekat dan ditandai dengan berhentinya penetesan pelarut pada labu alas bulat. Pelarut yang masih bersisa dalam ekstrak diuapkan dengan gas N_2 . Ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi tanaman rumput bambu yaitu 8,3692 gram sehingga diperoleh randemen ekstrak sebesar 13,949%.

4.3.2 Ekstraksi Cair-Cair

Setelah maserasi dilakukan ekstraksi cair-cair (partisi) pada ekstrak kasar etanol 80% rumput bambu menggunakan pelarut n-heksana. Tujuan proses ekstraksi cair-cair ini adalah untuk mendapatkan ekstrak yang lebih spesifik sifat kepolarannya. Prinsip dari ekstraksi cair-cair ini adalah adanya distribusi komponen target pada dua pelarut yang tidak saling larut. Sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (Khopkar, 2008).

Ekstraksi cair-cair dilakukan pada ekstrak kasar yang telah dilarutkan dalam pelarut etanol 80% dan n-heksana dengan perbandingan pelarut 1:1. Pada tahap ini dilakukan pengocokan selama ± 15 menit agar pelarut n-heksana mengalami kontak yang sempurna dengan larutan ekstrak pekat, sehingga senyawa terdistribusi sesuai sifat kepolarannya. Pengocokan dilakukan secara searah dan dihentikan ketika gas di dalam corong pisah sudah habis terbuang. Setelah pengocokan selesai corong pisah diletakkan dalam posisi tergantung pada statif dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan.

Corong pisah didiamkan selama ± 10 menit hingga terbentuk 2 lapisan yang tidak saling campur. Lapisan bawah adalah fraksi etanol-air (hijau pekat) dan lapisan atas adalah fraksi n-heksana (hijau bening). Massa jenis pelarut n-heksana (0,6603 g/mL) lebih kecil dari pada masa jenis etanol (0,7893 g/mL) sehingga fraksi n-heksana berada diatas. Selain itu terbentuknya dua lapisan ini juga disebabkan adanya perbedaan konstanta dielektrikum dari etanol dengan n-heksana. Adapun nilai konstanta dielektrikum etanol 80% adalah 36 dan n-heksana adalah 1,89. Semakin besar konstanta dielektrikum maka sifat kepolaran dari suatu zat juga semakin tinggi.

Perbedaan konstanta dielektrikum yang cukup jauh antara etanol dengan n-heksana mengakibatkan kedua zat tersebut tidak saling bercampur (Mulyawati, 2010).

Proses ekstraksi cair-cair (partisi) dengan pelarut n-heksana diulangi sebanyak 4 kali pengulangan hingga fraksi n-heksana berwarna bening, hal ini menandakan bahwa senyawa yang memiliki kepolaran mirip dengan pelarut n-heksana telah terekstrak secara maksimal. Selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator vakum* hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair adalah 0,4850 gram sehingga randemen yang diperoleh yaitu 0,808%. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji fitokimia dengan uji reagen, dipisahkan senyawa kimia yang terkandung dalam sampel serta dilakukan uji parameter non spesifik yang telah ditentukan.

4.4 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen dan KLTA (Kromatografi Lapis Tipis Analitik)

Uji reagen dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak rumput bambu. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin dan tanin. Uji reagen dilakukan pada ekstrak hasil partisi n-heksana. Hasil dari identifikasi kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak rumput bambu ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil uji kandungan golongan senyawa aktif ekstrak rumput bambu

Golongan senyawa	Ekstrak n-heksana		Keterangan hasil positif
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	
Alkaloid			
- Mayer	-	-	-
- Dragendorf	-	-	-
Flavonoid	-	-	-
Tanin	+++	+++	Hijau kehitaman
Saponin	-	-	-
Triterpenoid	+++	+++	Terbentuk cincin kecoklatan
Steroid	++	++	Hijau kebiruan

Keterangan :tanda +++ : terkandung senyawa lebih banyak/warna sangat pekat
tanda ++ : terkandung senyawa lebih /warna cukup pekat
tanda + : terkandung senyawa/warna muda
tanda- : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna

Berdasarkan hasil pengamatan uji reagen pada Tabel 4.1, diketahui bahwa ekstrak n-heksana mengandung senyawa tanin, steroid dan triterpenoid. Ekstrak yang positif mengandung tanin, triterpenoid dan steroid pada uji fitokimia diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA). Kromatografi Lapis Tipis merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi senyawa ke dalam fasa diam dan fasa gerak. KLTA dilakukan untuk mendukung data uji fitokimia menggunakan reagen dengan melihat pola spot dan warna yang dihasilkan. Identifikasi dengan KLTA dapat digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang digunakan dalam pemisahan senyawa. Harborne (1987) menjelaskan, eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam bentuk noda dengan jumlah yang banyak. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas.

Pemisahan menggunakan KLTA diperoleh nilai R_f (*retardation factor*) yang menunjukkan kecepatan elusi dari suatu senyawa dalam spot/noda. Nilai R_f dihitung dengan membagi jarak titik tengah noda dari titik awal dengan jarak tempuh eluen. Nilai R_f berbeda-beda tergantung sifat eluen yang digunakan dan senyawa yang dipisahkan. Senyawa yang dipisahkan akan terpisah berdasarkan distribusi senyawa terhadap fase diam atau fase geraknya.

4.4.1 Tanin

Uji fitokimia senyawa golongan tanin dilakukan dengan cara menambah ekstrak dengan reagen FeCl_3 1 %. FeCl_3 1 % digunakan untuk menentukan adanya gugus fenol dalam sampel. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tinta (Harborne, 1987). Menurut Effendy (2007) warna yang terbentuk disebabkan karena tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . Hasil uji senyawa tanin ekstrak n-heksana menggunakan FeCl_3 1 % memberikan hasil positif, dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak.

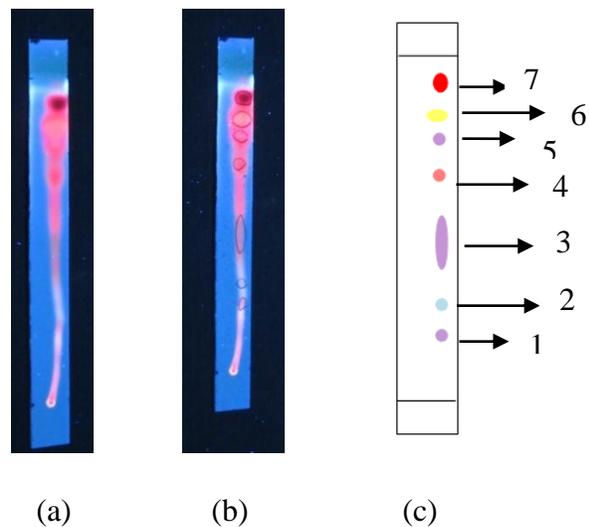
Identifikasi golongan senyawa aktif tanin ekstrak n-heksana rumput bambu diperkuat dengan metode KLTA menggunakan lima variasi eluen yang memiliki kepolaran berbeda. Noda-noda yang dihasilkan dideteksi dengan reagen FeCl_3 untuk memastikan adanya senyawa golongan tanin. Noda yang terbentuk diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm. Noda yang diduga golongan senyawa tanin adalah noda dengan warna ungu setelah disemprot reagen FeCl_3 . Hal ini sesuai dengan penelitian Sriwahyuni (2010) yang mengidentifikasi senyawa tanin menggunakan eluen etil asetat : n-heksana (6:4) menunjukkan noda di bawah sinar UV

366 nm yang berwarna ungu dan ungu kehitaman setelah disemprot dengan FeCl_3 . Hasil identifikasi senyawa tanin dari fraksi n-heksana ekstrak rumput bambu ditunjukkan dengan beberapa variasi eluen pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Data penampakan noda dugaan senyawa tanin ekstrak n-heksana rumput bambu dengan beberapa variasi eluen pada $\lambda_{366 \text{ nm}}$

No.	Eluen	Ekstrak n-heksana		
		Jumlah noda	Nilai Rf	Keterangan
1.	Butanol : asam asetat : air (14:1:5)	1	0,92	Tidak Terpisah
2.	Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	1	0,79	Tidak Terpisah
3.	n-heksana : etil asetat (3:2)	7	0,24; 0,31; 0,48; 0,71; 0,81; 0,87; 0,94	Terpisah baik
4.	Kloroform: Metanol:air (7:3:0,4)	1	0,98	Tidak Terpisah
5.	Butanol : asam asetat : air (4:1:2)	1	0,93	Tidak Terpisah

Tabel 4.2 menunjukkan eluen terbaik yang dapat digunakan untuk memisahkan senyawa tanin dari ekstrak n-heksana yaitu n-heksana : Etil asetat (3:2) karena jumlah noda yang berhasil dipisahkan menggunakan eluen tersebut sebanyak 7 noda. Pemisahan dikatakan baik apabila menghasilkan komponen senyawa berupa noda yang banyak, noda yang terbentuk bulat tidak berekor, dan pemisahan nodanya jelas (Gandjar dan Rohman, 2007). Noda yang terbentuk pada plat selanjutnya diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Penampakan noda hasil pemisahan dengan eluen n-heksana:etil asetat (3:2) ditunjukkan pada gambar 4.1



Gambar 4.1 a) Pengamatan noda dugaan senyawa tanin sebelum disemprot pereaksi FeCl_3 dibawah lampu UV 366 nm
 b) Pengamatan noda dugaan senyawa tanin setelah disemprot pereaksi FeCl_3 dibawah lampu UV 366 nm
 c) Sketsa pola dan warna noda

Gambar 4.1 menunjukkan hasil pemisahan senyawa tanin dengan eluen n-heksana:etil asetat (3:2) sebanyak 7 noda. Hasil pemisahan pada node ke-3 memiliki bentuk ekor (*Tailing*) yang diduga disebabkan proses penotolan yang kurang baik sehingga proses elusi kurang maksimal. Bentuk *tailing* disebabkan karena kemungkinan ada dua atau lebih noda yang menumpuk yang tidak dapat terpisah secara baik. Adapun hasil identifikasi senyawa tanin menggunakan reagen FeCl_3 ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Identifikasi senyawa Tanin dengan pereaksi FeCl₃

Rf	Warna noda		Dugaan positif Tanin
	Sebelum disemprot	Sesudah disemprot	
0,24	Ungu	Ungu	Tanin
0,31	Biru	Biru	-
0,48	Ungu	Ungu	Tanin
0,70	Merah muda	Merah muda	-
0,81	Ungu	Ungu	Tanin
0,87	Kuning	Kuning	-
0,93	Merah	Merah	-

Tabel 4.3 menunjukkan dugaan senyawa tanin yang berhasil dipisahkan adalah noda dengan warna ungu pada pengamatan dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm. Harbone (1996) menyatakan tanin dapat dideteksi dengan sinar UV pendek berupa bercak lembayung. Adapun perbedaan letak antara noda satu dengan yang lain diduga karena jenis tanin dari setiap noda berbeda. Warna yang muncul pada plat diduga karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor pada noda. Kromofor adalah senyawa organik yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat menyerap warna.

4.4.2 Triterpenoid

Uji fitokimia senyawa triterpenoid dilakukan dengan penambahan kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat. Kloroform berfungsi sebagai pelarut senyawa triterpenoid karena memiliki kepolaran yang sama (nonpolar), selanjutnya ditambahkan asam asetat anhidrat untuk membentuk turunan asetil dalam kloroform. Penambahan H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi mengakibatkan terjadinya

reaksi antara anhidrida asetat dengan asam sehingga atom C pada anhidrida membentuk karbokation. Karbokation yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus -OH yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat. Hal ini dapat di buktikan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut yang menunjukkan senyawa triterpenoid (Afif, 2013). Hasil pengamatan menunjukkan ekstrak n-heksana rumput bambu menghasilkan cincin berwarna kecoklatan yang menunjukan adanya golongan senyawa triterpenoid. Senyawa triterpenoid cenderung bersifat non polar atau semi polar sehingga dapat terekstrak maksimal dalam pelarut n-heksana.

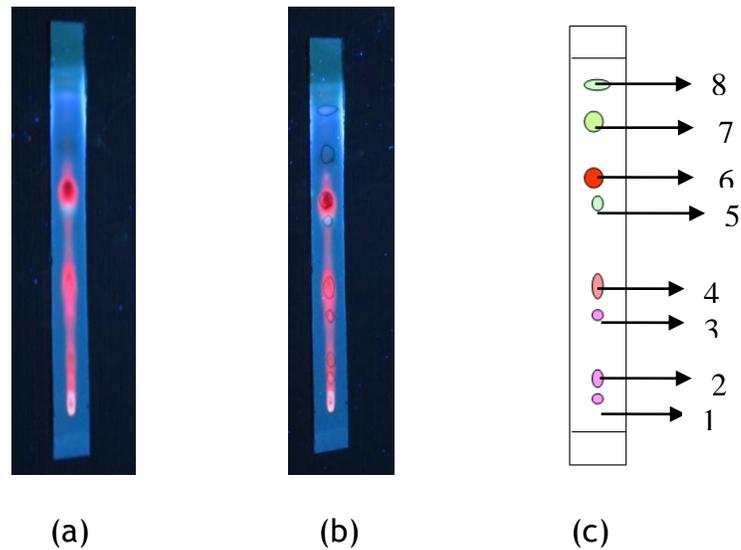
Identifikasi golongan senyawa aktif triterpenoid fraksi n-heksana ekstrak rumput bambu diperkuat dengan metode KLTA menggunakan lima variasi eluen dengan kepolaran berbeda. Noda-noda yang terbentuk dideteksi dengan reagen Liberman-Burchard dan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda yang diduga sebagai senyawa triterpenoid adalah noda dengan warna ungu atau merah setelah dideteksi dengan pereaksi Liberman-Burchard. Hal ini didukung oleh penelitian Reveny (2011) yang berhasil memisahkan senyawa triterpenoid dengan warna noda ungu dan merah. Hasil identifikasi golongan senyawa triterpenoid fraksi n-heksana ekstrak rumput bambu disajikan dalam Tabel 4.4

Tabel 4.4 Data penampakan noda dugaan senyawa triterpenoid ekstrak n-heksana rumput bambu dengan lima variasi eluen pada $\lambda_{366 \text{ nm}}$

No	Eluen	Ekstrak n-heksana		
		Jumlah noda	Nilai Rf	Keterangan
1.	Benzena:Kloroform (3:7)	8	0,11; 0,17; 0,3; 0,39; 0,59; 0,71; 0,79; 0,91	Terpisah
2.	n-heksana: etil asetat (2:8)	5	0,73; 0,81; 0,89; 0,93; 0,97	Terpisah
3.	n-heksana: etil asetat (6:4)	6	0,13; 0,23; 0,70; 0,92; 0,96; 1,00	Terpisah
4.	n-heksana: etil asetat (17:3)	9	0,04; 0,09; 0,11; 0,19; 0,30; 0,47; 0,52; 0,59; 0,79	Terpisah
5.	n-heksana: kloroform (8:2)	1	0,06	Tidak Terpisah

Tabel 4.4 menunjukkan eluen terbaik untuk memisahkan senyawa triterpenoid dari ekstrak fraksi n-heksana menggunakan benzena:kloroform (3:7) dengan jumlah noda yang berhasil dipisahkan sebanyak 8 noda. Eluen benzene : kloroform (3:7) dipilih sebagai eluen terbaik karena dapat memisahkan setiap noda dengan bentuk bulat dan tidak berekor (bentuk noda jelas). Sedangkan eluen n-heksana etil asetat (17:3) tidak dipilih sebagai eluen terbaik untuk pemisahan senyawa triterpenoid meskipun jumlah noda yang dipisahkan banyak yaitu 9 noda karena bentuk noda yang dipisahkan tidak terlalu baik dan terjadi *tailing* (noda berekor). Noda yang berekor diduga disebabkan karena proses penotolan yang kurang baik ataupun eluen kurang mampu memisahkan senyawa secara maksimal sehingga masih ada noda yang dimungkinkan menumpuk. Noda yang terbentuk pada plat selanjutnya diamati

dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Penampakan noda hasil pemisahan dengan eluen benzene:kloroform (3:7) ditunjukkan pada gambar 4.2



Gambar 4.2 a) Pengamatan noda dugaan senyawa tanin sebelum disemprot pereaksi Liberman-Burchard dibawah lampu UV 366 nm
 b) Pengamatan noda dugaan senyawa tanin setelah disemprot pereaksi Liberman-Burchard dibawah lampu UV 366 nm
 c) Sketsa pola dan warna noda

Gambar 4.2 menunjukkan hasil pemisahan senyawa triterpenoid dengan eluen benzene:kloroform (3:7) sebanyak 8 noda. Dugaan senyawa triterpenoid ditunjukkan pada noda ke 1,2,3,4 dan 6 yang merupakan noda dengan warna ungu, merah dan merah keunguan. Hal ini sesuai dengan penelitian Sriwahyuni (2010) yang mengidentifikasi senyawa triterpenoid menggunakan eluen yang sama dan diperoleh hasil berupa noda dengan warna ungu tua, ungu muda, ungu dan merah keunguan yang diasumsikan sebagai senyawa triterpenoid. Hasil identifikasi senyawa triterpenoid menggunakan reagen Liberman-Burchard ditunjukkan pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Identifikasi senyawa triterpenoid dengan pereaksi Liberman-Burchard

Rf Ekstrak n-heksana	Warna noda		Dugaan positif Triterpenoid
	Sebelum disemprot	Sesudah disemprot	
0,11	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,17	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,30	Ungu	Ungu	Triterpenoid
0,39	Merah muda	Merah muda	Triterpenoid
0,59	Biru	Biru	-
0,71	Merah	Merah	Triterpenoid
0,79	Hijau	Hijau	-
0,91	Biru	Biru	-

Hasil pemisahan golongan senyawa triterpenoid ekstrak n-heksana dengan benzene : kloroform (3:7) menghasilkan pemisahan yang baik dengan hasil 8 noda yang jelas. Eluen yang digunakan pada pemisahan senyawa triterpenoid ini bersifat non polar, sedangkan plat silika bersifat polar. Senyawa triterpenoid cenderung bersifat non polar sehingga dapat terpisah dengan baik pada eluen yang memiliki kepolaran sama. Dugaan senyawa triterpenoid adalah noda dengan warna ungu, merah sampai merah keunguan. Munculnya warna merah-ungu diduga karena adanya perpanjangan konjugasi yang disebabkan lepasnya gugus hidrogen pada saat senyawa triterpenoid bereaksi dengan reagen Liberman-Burchard (Siadi, 2010).

4.4.3 Steroid

Uji fitokimia senyawa steroid dilakukan dengan penambahan kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat melalui dinding tabung reaksi. Penambahan kloroform bertujuan untuk melarutkan senyawa steroid pada sampel. Senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam sulfat pekat dan membentuk ion yang

memberikan sejumlah reaksi warna. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya reaksi oksidasi pada golongan steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Zamroni, 2011). Hasil pengamatan menunjukkan ekstrak n-heksana rumput bambu mengandung golongan senyawa steroid dengan warna ekstrak berubah menjadi hijau kebiruan.

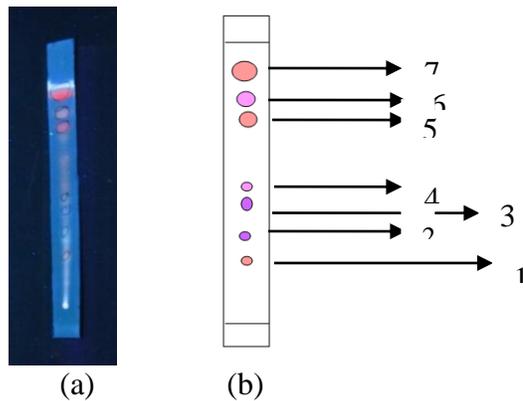
Identifikasi golongan senyawa aktif steroid fraksi n-heksana ekstrak rumput bambu diperkuat dengan metode KLTA menggunakan lima variasi eluen dengan kepolaran berbeda. Noda-noda yang terbentuk dideteksi dengan reagen Liberman-Burchard dan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil identifikasi senyawa steroid menggunakan beberapa variasi eluen seperti yang terlihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Data penampakan noda dugaan senyawa steroid ekstrak n-heksana rumput bambu dengan beberapa variasi eluen

No	Eluen	Ekstrak n-heksana		
		Jumlah noda	Nilai Rf	Keterangan
1.	n-heksana: etil asetat (3,5:1,5)	8	0,61; 0,64; 0,69; 0,77; 0,81; 0,88; 0,91; 0,95	Terpisah
2.	n-heksana: etil asetat (7:3)	9	0,2; 0,25; 0,46; 0,6; 0,67; 0,77; 0,80; 0,89; 0,93	Terpisah
3.	n-heksana: etil asetat (6:4)	3	0,29; 0,78; 0,80	Terpisah
4.	n-heksana: etil asetat (8:2)	4	0,1; 0,21; 0,33; 0,61	Terpisah
5.	n-heksana: aseton (7:3)	7	0,21; 0,31; 0,4; 0,46; 0,76; 0,81; 0,9	Terpisah

Tabel 4.6 menunjukan eluen terbaik untuk memisahkan senyawa steroid dari ekstrak fraksi n-heksana menggunakan n-heksana:aseton (7:3) dengan jumlah noda

yang berhasil dipisahkan sebanyak 7 noda. N-heksana:aseton (7:3) dipilih sebagai eluen terbaik karena dapat memisahkan setiap noda dengan bentuk bulat dan tidak berekor (bentuk noda jelas). Noda yang terbentuk pada plat selanjutnya diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Penampakan noda hasil pemisahan dengan eluen n-heksana:aseton (7:3) ditunjukkan pada gambar 4.3



Gambar 4.3 a) Pengamatan noda dugaan senyawa tanin setelah disemprot pereaksi Liberman-Burchard dibawah lampu UV 366 nm
b) Sketsa pola dan warna noda

Pemisahan terbaik senyawa steroid pada ekstrak n-heksana rumput bambu menggunakan eluen n-heksana : aseton (7:3) dengan hasil pemisahan berupa 7 noda. Noda yang dihasilkan diduga merupakan senyawa steroid yang ditunjukkan dengan warna merah muda hingga ungu. Hal ini sesuai dengan penelitian Syamsudin dkk (2007) yang menunjukkan hasil KLT golongan senyawa steroid menghasilkan noda biru, ungu, sampai coklat setelah disemprot pereaksi Liebermann-Burchard dan dideteksi di bawah lampu UV 366 nm. Dugaan senyawa steroid pada identifikasi dengan reagen Lieberman-Burchard ditunjukkan pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Identifikasi senyawa steroid dengan pereaksi Liberman-Burchard

Rf	Warna noda dibawah lampu UV pada λ 366 nm		Dugaan positif steroid
	Sebelum disemprot	Sesudah disemprot	
0,21	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,31	Ungu	Ungu	Steroid
0,40	Ungu	Ungu	Steroid
0,46	Ungu	Ungu	Steroid
0,76	Merah muda	Merah muda	Steroid
0,81	Ungu	Ungu	Steroid
0,90	Merah muda	Merah muda	Steroid

Hasil pemisahan senyawa steroid dengan eluen n-heksana : aseton (7:3) menunjukkan adanya 7 noda yang terpisah. Munculnya warna merah-ungu diduga karena adanya perpanjangan konjugasi yang disebabkan lepasnya gugus hidrogen pada reaksi dengan reagen Liberman-Burchard (Siadi, 2010). Eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa steroid ini bersifat non polar, sedangkan plat silika bersifat polar. Senyawa triterpenoid cenderung bersifat non polar sehingga dapat terpisah dengan baik pada eluen yang memiliki kepolaran sama.

4.5 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

KLT merupakan salah satu metode pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa, yakni fasa diam dan fasa gerak. Fasa diamnya berupa plat KLT G₆₀F₂₅₄ yang terbuat dari silika gel dengan ukuran 10 x 20 cm. Plat silika digunakan karena mengandung indikator fluoresensi yang dapat penampakan bercak tanpa warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Selain itu, bahan silika pada umumnya

dapat memisahkan asam-asam amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid.

Pemisahan senyawa aktif dilakukan ketika plat KLT telah diaktifasi pada suhu 100 °C selama 30 menit yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat yang dapat mempengaruhi proses elusidasi. Eluen yang digunakan adalah eluen terbaik yang mampu memisahkan senyawa secara maksimal pada KLTA. Identifikasi golongan senyawa pada noda yang terbentuk dilakukan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Penampakan noda pada panjang gelombang 254 nm digunakan untuk menampakan eluen yang digunakan sebagai bercak gelap, dikarenakan adanya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada plat. Pada panjang gelombang 366 nm digunakan untuk menampakan bercak berfluoresensi yang disebabkan oleh gugus kromofor yang mengabsorpsi sinar UV sehingga memberikan warna yang khas (Gritter, 1991). Pemisahan senyawa aktif dengan KLTP ini bertujuan untuk memperoleh isolat yang lebih banyak.

4.5.1 Tanin

Pemisahan golongan senyawa tanin menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (3:2) yang merupakan eluen terbaik pada uji KLTA senyawa tanin. Hasil pemisahan dengan KLTP di bawah sinar UV 366 nm disajikan pada Tabel 4.8

Tabel 4.8 Hasil pemisahan golongan Senyawa Tanin dari fraksi n-heksana rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan eluen n-heksana : etil asetat (3:2)

Noda	Nilai Rf	Warna Noda	Dugaan Senyawa
1	0,22	Ungu pudar	Tanin
2	0,55	Ungu kebiruan	Tanin
3	0,60	Ungu	Tanin
4	0,78	Ungu	Tanin
5	0,83	Ungu kehitaman	Tanin

Hasil penelitian Yulia (2006) menunjukkan 8 noda yang berwarna ungu. Berdasarkan hasil tersebut dugaan senyawa tanin pada ekstrak n-heksana tanaman rumput bambu adalah pada noda dengan warna ungu dengan nilai Rf 0,22 – 0,83.

4.5.2 Triterpenoid

Pemisahan golongan senyawa triterpenoid menggunakan eluen benzena : kloroform (3:7) yang merupakan eluen terbaik yang diperoleh dari KLTA. Dugaan senyawa triterpenoid hasil pemisahan dengan KLTP di bawah sinar UV 366 nm ditunjukkan pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Hasil pemisahan golongan Senyawa Triterpenoid dari fraksi n-heksana rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan eluen benzena : kloroform (3:7)

Noda	Nilai Rf	Warna noda	Dugaan senyawa
1	0,107	Ungu	Triterpenoid
2	0,137	Lembayung	Triterpenoid
3	0,190	Ungu	Triterpenoid
4	0,250	Ungu tua	Triterpenoid
5	0,452	Ungu kehitaman	Triterpenoid

Penelitian Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan triterpenoid menggunakan eluen benzena : kloroform (3:7) terbentuk 5 noda yang berwarna merah keunguan (lembayung), ungu tua dan ungu muda. Berdasarkan hasil tersebut dugaan senyawa triterpenoid dari ekstrak n-heksana tanaman rumput bambu pada noda dengan warna ungu, lembayung, sampai ungu tua dengan nilai Rf 0,107 - 0,452.

Noda yang muncul selanjutnya dikerok dan dilarutkan dalam etanol 80%. Isolat yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi menggunakan UPLC-MS untuk mengetahui jenis senyawa triterpenoid yang ada di dalamnya. Identifikasi senyawa dilakukan pada isolat nomor empat yang diduga sebagai senyawa triterpenoid dengan warna spotnya yaitu ungu tua.

4.5.3 Steroid

Pemisahan golongan senyawa steroid menggunakan eluen n-heksana:aseton (7:3) yang merupakan eluen terbaik yang diperoleh dari KLTA. Dugaan senyawa steroid hasil pemisahan dengan KLTP di bawah sinar UV 366 nm disajikan pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid dari fraksi n-heksana rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan eluen n-heksana:aseton (7:3)

Noda	Nilai Rf	Warna noda	Dugaan senyawa
1	0,675	Hijau kebiruan	Steroid
2	0,775	Merah muda pudar	Steroid
3	0,875	Biru muda	Steroid

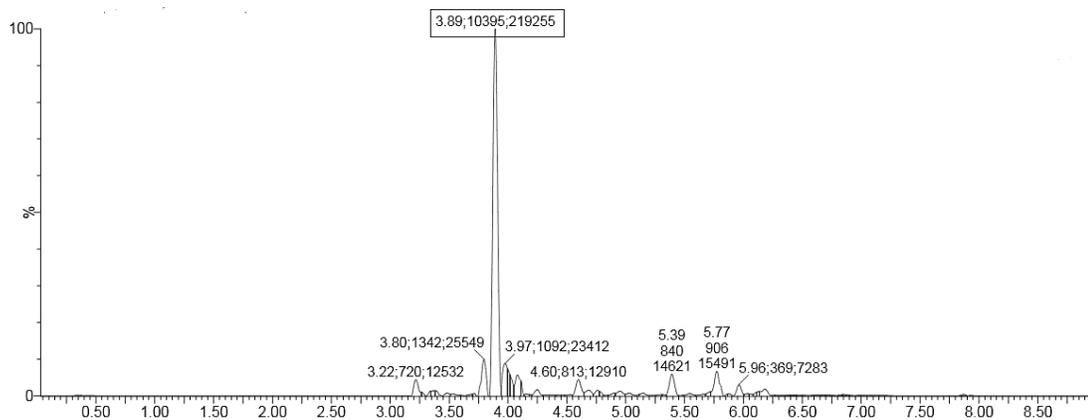
Berdasarkan hasil penelitian dugaan senyawa steroid ekstrak n-heksana tanaman rumput bambu terdapat pada noda dengan warna hijau, merah muda dan biru dengan nilai Rf 0,675-0,875. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Hayati (2012) yang melakukan pemisahan senyawa steroid pada tanaman anting-anting dan diperoleh dugaan senyawa steroid dengan warna noda hijau, merah muda dan biru.

4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan UPLC-MS (*Ultra Performance Liquid Chromatography Mass Spectroscopy*)

Identifikasi senyawa yang berpotensi sebagai antikanker dilakukan pada isolat triterpenoid isolat keempat dengan warna noda ungu tua. Isolat keempat dipilih berdasarkan hasil penelitian Sriwahyuni (2010) yang menyatakan bahwa warna dari senyawa triterpenoid adalah ungu tua. Pemisahan senyawa menggunakan UPLC bertujuan untuk identifikasi kualitatif senyawa dengan mendasarkan pada parameter waktu retensi (Gandjar, 2012). Sedangkan MS merupakan alat yang dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul.

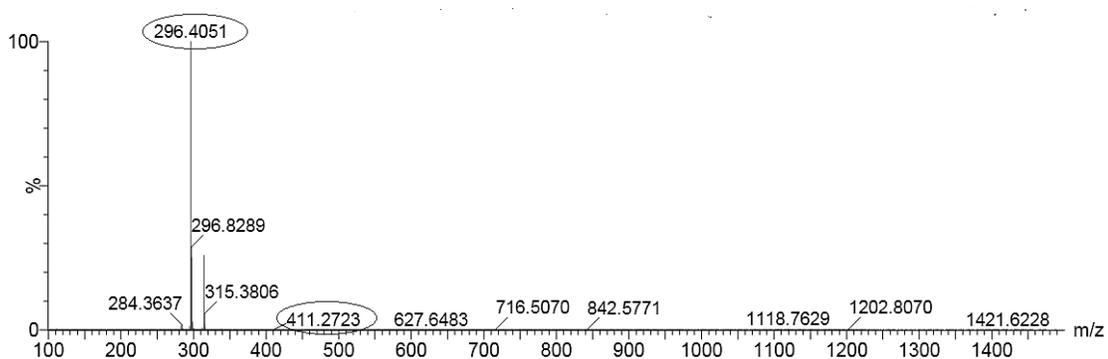
Penelitian ini menggunakan fasa diam berupa kolom Sunfire C18. Kolom C18 merupakan kolom dengan fasa terbalik dimana fasa diam C18 bersifat non polar dan fasa gerak bersifat polar. Kolom pengaman atau pra-kolom (*guard column*) yang digunakan berukuran 1,7 μ m dengan diameter 2,1 x 50 mm. Kolom pengaman ini memiliki fungsi untuk menyaring kotoran yang terbawa dalam fasa diam serta untuk menjenuhkan fasa diam dalam rangka menghindarkan terjadinya erosi fasa diam oleh aliran pelarut (Hendayana, 2006).

Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini berupa 2 campuran yakni A= air (H_2O) dengan 0,1 % asam format ($HCOOH$), B = asetonitril (CH_3CN) dengan 0,1 % asam format ($HCOOH$). Elusi digunakan dengan metode gradien dimana komposisi eluen berubah-ubah selama proses elusi. Tujuan dari perubahan komposisi eluen adalah untuk memisahkan senyawa dengan kepolaran yang luas. Fase gerak yang digunakan memiliki kemurnian yang sangat tinggi dan telah dilakukan penyaringan dengan saringan $0,45 \mu m$. Menurut Hendayana (2006) tujuan penyaringan dengan pompa vakum adalah untuk menyaring partikel kotoran yang kecil sekaligus menghilangkan gas dari pelarut karena gas dapat mengganggu *base line*. Penyaringan partikel kotoran ini dimaksudkan agar tidak terjadi gangguan pada sistem kromatografi, sebab adanya partikel kecil dapat terkumpul dalam kolom sehingga dapat mengakibatkan suatu kekosongan pada kolom (Gandjar dan Rohman, 2008). Puncak yang dihasilkan dari pemisahan isolat triterpenoid ekstrak rumput bambu menggunakan UPLC adalah ± 18 puncak yang terdeteksi pada rentang waktu 3-6,5 menit. Hasil pemisahan UPLC ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Kromatogram UPLC isolat ke-4

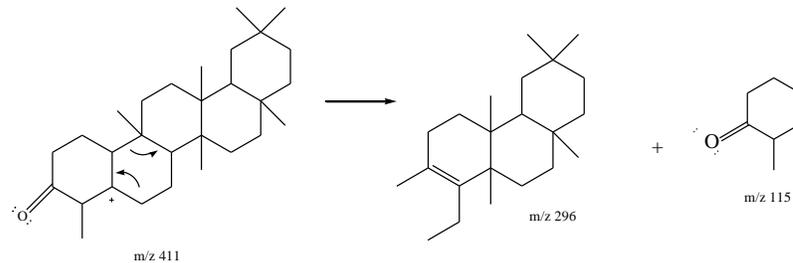
Berdasarkan hasil analisa UPLC diketahui senyawa yang dapat dipisahkan sekitar 18 senyawa. Gambar 4.4 menunjukkan puncak utama yang merupakan puncak tertinggi dengan kelimpahan terbesar yaitu 10.395 dan muncul pada waktu retensi 3,89 menit. Senyawa dengan puncak tertinggi diduga merupakan senyawa triterpenoid dengan sifatnya yang nonpolar. Hal ini dapat dilihat berdasarkan distribusi senyawa yang tidak terlalu terbawa pada fase gerak yang bersifat polar. Senyawa pada puncak tertinggi muncul pada waktu retensi akhir karena lebih tertahan di fase diamnya yang bersifat nonpolar. Berdasarkan hasil tersebut selanjutnya puncak tertinggi difraksinasi menggunakan MS untuk mengidentifikasi senyawa berdasarkan berat molekulnya. Hasil fragmentasi dari MS ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Spektra MS puncak dominan pada waktu retensi 3,89 menit

Gambar 4.5 menunjukkan spektra massa puncak dominan (*base peak*) pada m/z 296,4051 dengan waktu retensi 3,89 menit. Dugaan ion molekul berada pada puncak 411 m/z dimana berat molekul senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan

senyawa friedelin. Adapun dugaan fragmentasi senyawa friedelin ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Dugaan fragmentasi senyawa friedelin dengan berat molekul 411 m/z

Wijayakusuma (2005) menyatakan bahwa salah satu senyawa yang ada pada tanaman rumput bambu adalah senyawa friedelin. Senyawa friedelin merupakan turunan senyawa triterpenoid yang terdapat pada tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracille* B.) yang bermanfaat sebagai antikanker.

4.7 Pengujian Parameter Non Spesifik

4.7.1 Analisis Kadar Abu

Kadar abu merupakan ukuran dari jumlah total mineral yang terdapat dalam suatu tumbuhan. Penentuan kadar abu dilakukan untuk memberi gambaran mineral internal dan eksternal yang ada pada ekstrak yang terbentuk dari awal proses sampai terbentuk ekstrak. Pada tahap ini ekstrak di tanur pada suhu 600 ± 25 °C (612 °C). Tujuan proses ini agar senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap hingga tersisa unsur mineral dan anorganik. Ketika suatu sampel dipanaskan dalam suhu yang sangat tinggi (di atas 600 °C), maka zat-zat organik akan hilang karena zat organik pada umumnya akan menguap pada suhu dibawah 600 °C sedangkan zat

anorganik tetap tertinggal pada sampel karena titik uap mineral pada umumnya lebih tinggi dari 600 °C.

Metode pengabuan kering sebagai penetapan kadar mineral yang dilakukan merupakan prosedur yang berdasarkan SNI nomor 3148.2 tahun 2009 yang mengacu pada AOAC 2005, AOAC Official Method 942.15, serta tercantum dalam Penentuan Standar Umum EKstrak Tumbuhan oleh Dirjen POM Depkes RI (2000). Hasil abu yang baik yaitu berwarna putih keabu-abuan. Analisis kadar abu dilakukan pada 0,2 gram ekstrak dengan lama waktu pemanasan (tannur) yaitu 30 menit. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kadar abu dari ekstrak yaitu 6,418%. Nilai kadar abu dari ekstrak rumput bambu menunjukkan kandungan mineral dari ekstrak.

4.7.2 Analisis Total Bakteri

Analisis total bakteri merupakan salah satu syarat kemurnian ekstrak. Pengujian ini dilakukan untuk menentukan jumlah mikroorganisme yang diperbolehkan ada dalam ekstrak. Pengujian total bakteri pada ekstrak dilakukan pada ekstrak dengan konsentrasi 10^{-2} ppm yang diencerkan menggunakan air dan diperoleh nilai total bakteri yang ada pada ekstrak rumput bambu yaitu $0,018 \times 10^6$ koloni/g. Total bakteri pada ekstrak berada dibawah batas maksimum cemaran bakteri menurut SK Dirjen Pom No:03726/B/SK/VII/89 yaitu 10^6 koloni/g. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa ekstrak tidak mengandung mikroba melebihi batas yang ditetapkan sehingga tidak berpengaruh pada stabilitas ekstrak.

4.7.3 Analisis Kadar Logam Timbal (Pb)

Penentuan kandungan logam timbal (Pb) pada ekstrak bertujuan untuk menjamin bahwa ekstrak tidak mengandung timbal melebihi batas yang telah ditetapkan karena sifatnya yang toksik terhadap tubuh. Pada penentuan kandungan timbal digunakan 1 gram sampel yang ditambahkan 10 ml HNO₃ pekat dan HClO₄ 5 ml, kemudian dipanaskan pada suhu 100° C hingga larutan bening dan kental. Tujuan dari proses pemanasan adalah untuk mendestruksi senyawa organik yang ada pada ekstrak. Adapun tujuan dari destruksi adalah untuk memutus logam yang terikat pada senyawa organik sehingga bisa terbaca oleh AAS. Pada proses destruksi digunakan asam nitrat pekat karena dapat memecah sampel menjadi senyawa yang mudah terurai dan larutan asam nitrat sendiri sukar menguap (Dewi, 2011). Selanjutnya absorbansi logam Pb diukur menggunakan AAS pada panjang gelombang 217 nm. Berdasarkan pengukuran yang telah dilakukan diperoleh kadar logam Pb pada ekstrak rumput bambu sebesar $2,67 \times 10^{-6}$ mg/kg. Hasil ini tidak melebihi batas maksimum cemaran logam timbal pada rempah-rempah sesuai dengan SK Dirjen POM No. 03725/B/SK/VII/89 yang menyatakan bahwa batas maksimum cemaran logam timbal sebesar atau sama dengan 10 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa kadar Pb dalam sampel tidak melebihi ambang batas dan aman bagi kesehatan.

4.8 Pemanfaatan Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile*B.) sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile*B.) yang memiliki

potensi sebagai antikanker. Penelitian merupakan salah satu bentuk ibadah kepada Allah SWT yakni menjalankan perintahNya untuk mencari sekaligus mengamalkan ilmu dengan cara mengamati fenomena alam yang terjadi serta menggambarkan kebesaran dan kekuasaan Allah atas segala yang telah diciptakan. Rumput bambu sendiri merupakan salah satu dari sekian banyak ciptaan Allah yang perlu dipelajari serta digali potensinya sebagai tanaman obat. Sebagaimana firman Allah dalam surat al Imran ayat 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya : “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka” (QS. al Imran: 191).

Surat al Imran ayat 191 menjelaskan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah tidak ada yang sia-sia. Seperti halnya tanaman rumput bambu yang dianggap sebagai tanaman pengganggu dan biasa digunakan sebagai pakan ternak, akan tetapi dengan adanya penelitian pada tanaman rumput bambu dapat diketahui bahwa tanaman ini dapat digunakan sebagai obat. Hilda (2014) menyatakan bahwa akar rumput bambu memiliki bioaktifitas baik dengan nilai $LC_{50} < 100$ ppm yang artinya berpotensi sebagai antikanker. Anis (2015) menyatakan fraksi n-heksana dari akar rumput bambu memiliki nilai IC_{50} 65,461 $\mu\text{g/mL}$ yang menunjukkan tanaman tersebut baik sebagai penghambat sel kanker. Sedangkan dugaan jenis senyawa yang terkandung dalam tanaman rumput bambu adalah senyawa friedelin yang merupakan

turunan metabolit sekunder triterpenoid yang memiliki manfaat sebagai antibakteri, antideuretik, antiinflamasi, dan antikanker (Uma, dkk., 2011). Adapun hasil pengujian pada beberapa aspek non spesifik menunjukkan kadar abu ekstrak 6,418%, total bakteri $0,018 \times 10^6$ koloni/g, dan kadar timbal pada ekstrak yaitu $2,67 \times 10^{-6}$ mg/kg. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak rumput bambu layak dan aman dikonsumsi sebagai obat.

Pemanfaatan tanaman rumput bambu sebagai obat merupakan wujud syukur manusia atas segala nikmat dari Allah SWT dimana tidak ada yang dapat memberikan kesembuhan dari suatu penyakit kecuali Allah. Allah SWT berfirman dalam surat asy Syu'araa ayat 80 yang berbunyi:

وَإِذَا مَرَضْتُ فَبُهِرْتُ بِشِفَائِهِ

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

Surat asy Syu'araa ayat 80 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. Ayat di atas menjelaskan bahwa semua makhluk diciptakan oleh Allah SWT dengan ukuran sesuai dengan ketentuan-Nya, dan disertai dengan hikmah yaitu memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Selain itu, ayat tersebut menjelaskan bahwa sebagai seorang muslim dalam mencari kesembuhan dari suatu penyakit melalui pengobatan harus didasarkan kepada aqidah yang besar yakni meyakini bahwa penyembuhan

hanya dari Allah sedangkan obat hanya sebagai perantara (Muhadi dan Muadzin, 2010).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Uji fitokimia pada ekstrak menunjukkan hasil positif pada senyawa tanin, triterpenoid, dan steroid. Pemisahan senyawa triterpenoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diperoleh lima noda dugaan senyawa triterpenoid. Hasil analisa isolate (noda) ke-4 menggunakan UPLC-MS pada senyawa triterpenoid dari fraksi n-heksana tanaman rumput bambu (*Lophatherum Gracile B.*) diperoleh dugaan senyawa dengan nilai m/z 411,2723 yang memiliki kemiripan dengan molekul senyawa friedelin.
2. Hasil pengujian pada beberapa parameter non spesifik menunjukkan kadar abu ekstrak 6,418%, total bakteri ekstrak $0,018 \times 10^6$ koloni/g dengan batas maksimum yang disyaratkan yaitu 10^6 koloni/g, dan kadar timbal pada ekstrak yaitu $2,67 \times 10^{-6}$ mg/Kg dengan batas maksimum yaitu 10 mg/Kg. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak rumput bambu layak dikonsumsi sebagai obat.

5.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi senyawa triterpenoid pada ekstrak n-heksana rumput bambu menggunakan UV-VIS, FTIR dan NMR untuk mengetahui jenis dan bentuk struktur dari senyawa triterpenoid pada ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, A. 2013. Uji Antitoksoplasma Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulau (*Alstonia scholaris*, L.R.Br) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Balb/C Yang Terinfeksi *Toxoplasma Gondii* strain RH. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Saintek UIN Malang.
- Afif, S. 2013. Ekstraksi Uji toksisitas dengan Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (*eucheuma Spinosum*) dari perairan Sumenep Madura. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ahmad, I. 2003. *Peringatan Bagi Ulul Albab ()Reminders For People of Understanding*. Diterjemahkan oleh Ismail Umar dan Titie Wibipriatno. Madinah: Imtiaz Ahamd corp.
- Al Maraghi, A.M. 1992. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi 7*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Anggraeni, O. N. 2014. Uji Aktifitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Anis, F. A. 2015. Uji Aktifitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.). *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk sediaan Farmasi Edisi 4*. Jakarta: UI Press.
- Arishandy, D.N.A.T., Hayati., E.K dan Fasya. A.G. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Sirih (*Piper betle* L. var *Rubrum*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Saintek UIN Malang.
- Baraja, M. 2008. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastica Nois ex Blume terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. [Skripsi]*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Basset, J. 1994. *Buku Ajaran Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik edisi 4*. PT. Kalman Media Pustaka.
- Bawa, I. G. A. G. 2009. *Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (Momordica charantia L.)*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. *Jurnal Kimia* 3(2). ISSN 1907-9850: 1117-124.

- Burke, R.W. Diamondstone, B.A. Velapoidi. R.A. Menis O. 1974. *Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol. Clinical Chemistry Journal*. Washington D.C : Analytical Chemistry Division, Institute for Materials Research, National Bureau of Standards. Vol.20. No.7.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dermawan, R. 2012. *Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. Makalah Kimia Organik Analisis*. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
- Desianti, N. 2014. Uji Toksisitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp. Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Dewi, L.K. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Biji Rekek (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata L.*) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Dewi, S., Rahman, F., Handayani, N., dan Rahmawati, R. 2012. Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam*). *Jurnal Kimia*. Lampung: Universitas Lampung.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*. Malang: Bayu Media Publishing.
- Fessenden, R. J dan Fessenden, J. S. 1997. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga. Jilid 2. Erlangga.
- Fitriani. S. 2011. *Promosi Kesehatan. Ed 1*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Fitriyani, A. Winarti, L. Muslichah, S dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. Fakultas Farmasi Universitas Jember. Vol. 16(1): 34-42.

- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2012. *Analisis Obat*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R. J., J. M. Robbit dan S. E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jakarta : Universitas Jakarta.
- Gunawan, I.W.G., Bawa, I.G.G., dan Sutrisnayanti, N.L. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Akif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.). *Jurnal Kimia*. Vol. 2 No. 1, hal: 31 – 39.
- Halimah, N. 2010. *Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) terhadap Larva Udang Artemia salina Leach*. Skripsi Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan Kedua*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: ITB.
- Harjadi, W. 1993. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta : Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hayati, E.K dan Halimah, N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethally Test Against *Artemia salina* Leach Anting-anting (*Achalypha indica* Linn.) Plant Ekstract. *ALCHEMY*. Vol. 2: 53-103.
- Helrich, K. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Henrich, B. G dan Wiliamson. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta :EGC.
- Hernani dan Nurdjanah. 2009. Aspek Pengeringan dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder pada Tanaman Obat. Bogor: Perkembangan Teknologi Tro. Vol. 21 No. 2: 33-39.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid I dan II*. Jakarta : Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan.

- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak*. Artikel Kimia. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Hilda, 2014. Uji Sitotoksik Akar Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.) Dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maliki Malang.
- Indrayani, L., Soetjipto, H dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal fakultas sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. 2009. *Chemical Constituents from the Leaves of Lophatherum gracile*. China. *Chinesse Journal of Natural Medicines*, 7(6): 428-431.
- Karisma, M. G. 2012. Validasi Metode LC-MS/MS untuk Penentuan Senyawa Asam Trans, Trans-Mukonat, Asam Hippurat, Asam 2-Metil Hippurat, Asam 3-Metil Hippurat, Asam 4-Metil Hippurat Sebagai Biomarker Paparan Benzena, Toluena, dan Xilena. Skripsi. Depok: Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Khoirani, N. 2013. Karakterisasi Simplisia dan Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum Americanum* L. *Skripsi*. Jakarta : Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. Studiawan, H., Ekasari, W. 2003. Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di Hutan Tropis Gunung Arjuno. *Jurnal Bahan Alam Indonesian* ISSN 1412- 2855. Volume 2, Nomor 3.
- Laila, N. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah Tidak Diterbitkan. Medan: MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lestari dan Edward. 2012. Dampak Pencemaran Logam Berat Terhadap Kualitas Air Laut dan Sumberdaya Perikanan (Studi Kasus Kematian Masal Ikan-Ikan di Teluk Jakarta). *Makara Sains* Vol. 8, No. 2 : 52-58.

- Lisdawati V., 2002. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), Bioassay Antikanker In Vitro dengan Sel Leukimia L1210, dan Isolasi Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia Dari Buah Mahkota Dewa. Tesis. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia: Jakarta.
- Listiani, L. I. Fidrianny dan Sukrasno. 2005. Telaah Kandungan Kimia Daun KUCAI (*Allium schoenoprasum L., Liliaceae*). Bandung: Jurnal Sekolah Farmasi ITB.
- 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.
- Mangunwardoyo, W., Cahyaningsing, E dan Usia, T. 2009. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (*Phyllanthus niruri L.*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 7(2): 57-63.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Masroh, L.F. 2009. Isolasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytharpeta jamaicensis L.Vahl*) sebagai Antikanker. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Menteri Kesehatan. 1992. Peraturan Menteri Kesehatan Nasional Republik Indonesia Nomor 760/MENKES/PER/IX/1992 tentang Fitofarmaka. Jakarta: MenKes Republik Indonesia.
- Milyasari, C. 2010. *Isolasi Senyawa Antibakteri Staphylococcus aureus dan E.coli Dari Ekstrak Buah Blimbing Wuluh (Averrhoa blimbi. L)*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Milyasari, C. 2010. *Isolasi Senyawa Antibakteri Staphylococcus aureus dan E.coli dari Ekstrak Buah Blimbing Wuluh (Averrhoa blimbi. L)*. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Muhadi dan Muadzlin. 2010. Semua Penyakit Ada Obatnya, Menyembuhkan Penyakit Ala Rasulullah. Yogyakarta: Mutuara Media.
- Nahari, D. S. 2015. Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dan Penentuan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) serta Efek Terapinya terhadap Aktivitas *Superoksida Dismutase* Hati Tikus Diabetes. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Namik, K. A. dan Ataman, Y. 2006. *Trace Element Analysis of Food and Diet*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

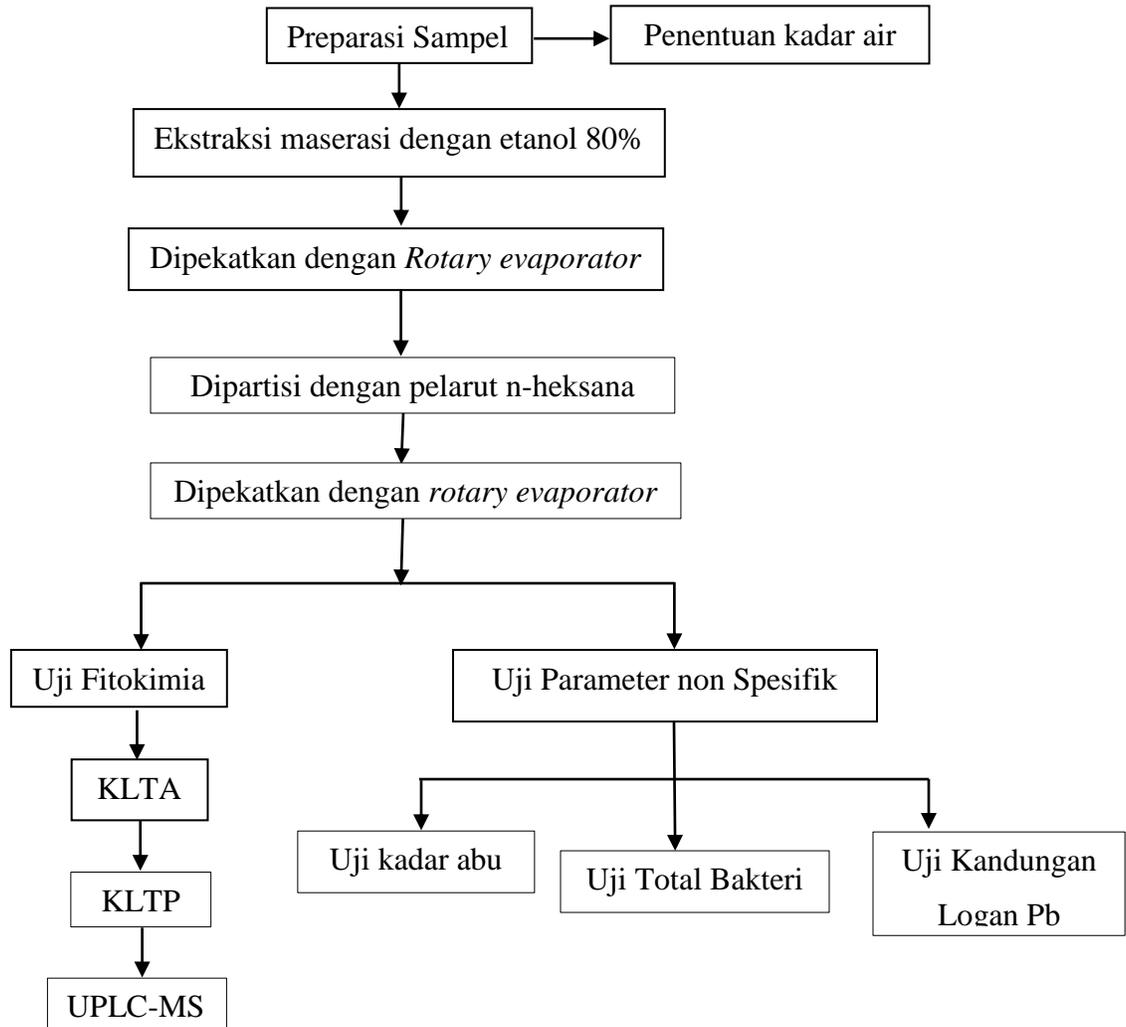
- Nielsen, S. S. 2010. *Food Analysis Fourth Edition*. London: Springer.
- Poedjiadi, A. Dan F. M. T. Supriyanti. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Purwaningsih, Y. 2003. Isolasi dan Identifikasi Senyawa flavonoid dari Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata L. Walp*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Brawijaya.
- Purwitasari. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lopatherum Gracile B.*) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina Leach* Dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Qarni, A. 2008. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Raimon. 1993. *Perbandingan Metoda Destruksi Basah dan Kering Secara Spektrofotometri Serapan Atom*. Yogyakarta: Lokakarya Nasional. Jaringan Kerjasama Kimia Analitik Indonesia.
- Reveny, J. 2011. *Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle L.)*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara. *Jurnal Ilmu Dasar* .Vol.12 No.1. hal 6-12.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Saidi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida Yang Efektif Dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA 35 (1)*
- Saifudin. A., Rahayu, & Teruna. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Sari, D.R. 2010. *Pemisahan senyawa Organik. Laporan Praktikum*. Bandung: Program Studi Kimia FMIPA Institut Teknologi Bogor.
- Sari, S. P. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lopatherum gracile B.*) terhadap Larva Udang *Artemia salina leach* dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya.[Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Savitri, E.S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Press.

- Setiaji, R.F.C. 2009. Sitotoksitas Fraksi Aktif Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni*) pada Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Setyowati R, Dwi S, & Sri R. 2008. Pengaruh Penambahan Bekatul terhadap Kadar serat Kasar, Sifat Organoleptik dan Daya Terima Pada Pembuatan Tempe Kedelai (*Glycine max (L) Merrill*). *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 9 (1):52 -6.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* Vol.7 dan 10. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Sriwahyuni, I. 2010. *Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha Indica Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (Artemia salina Leach)*. *Skripsi*. Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Standar Nasional Indonesia. 2009. SK Dirjen POM No. 03726/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimal Cemar Logam Berat dalam Pangan. SNI.
- Sudarmadji, S.B., Haryonodan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suyoso, H. C. 2011. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Tanaman Anting- Anting. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Svehla, G. (1990), Vogel Buku Teks Analisa Kuantitatif Anorganik. Edisi V. Jakarta: Kalman Media Pustaka.
- Syamsudin, S., Tjokrosonto., Wahyuono dan Mustofa. 2007. *Aktivitas Antiplasmodium dari Dua Fraksi Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Asam Kandis (Garcinia parvifolia Miq)*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta.
- Underwood, A. L & RA. Day. Jr. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi 6. Terjemahan dari Quantitative Analysis*.
- Vogel. 1978. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro Edisi kelima*. Jakarta : Kalman Pustaka
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, N.S., Yogyakarta: Gajahmada University Press.

- Watson, David G. 2010. *Analisis Farmasi Buku ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*. Fakarta : EGC.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- Willard., Merritt., Dean., & Settle. 1988. *Instrumental Methods of Analysis 7th Edition*. California : Wdswordth publishing Company.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wonohadi, E., Ayu, D.P., Agustin, D.B., Liasthirani dan Melani. 2006. Identifikasi Senyawa Antimikroba Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana Val & Van Zijp*) Secara Bioautografi. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol.3(2): 89-96.
- Yulia, E. 2006. *Antifungal Activity of Plant Oils and Extract from the Zingiberaceae and Poaceae againt Pestalotiopsis Versicolor Causes of Leaf Blight disease on Cinnamon (Cinnamomum Zeilanicum)*. *Agricultura* 17 : 224-231.
- Yusuf, S. 2010. Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Triterpenoid dari Kulit Batang Kayu Api-Api Betina (*Avicennia Marina Neesh*). *Jurnal Penelitian Sains*. Vol. 13 No. 2© 13205. Sumatera Selatan: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya.
- Zahro, I. M. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak n-heksana Tanaman Anting-Anting (*Acalipha indica* Linn.) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

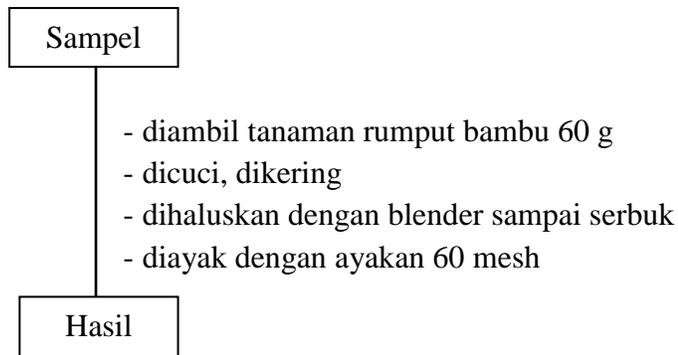
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



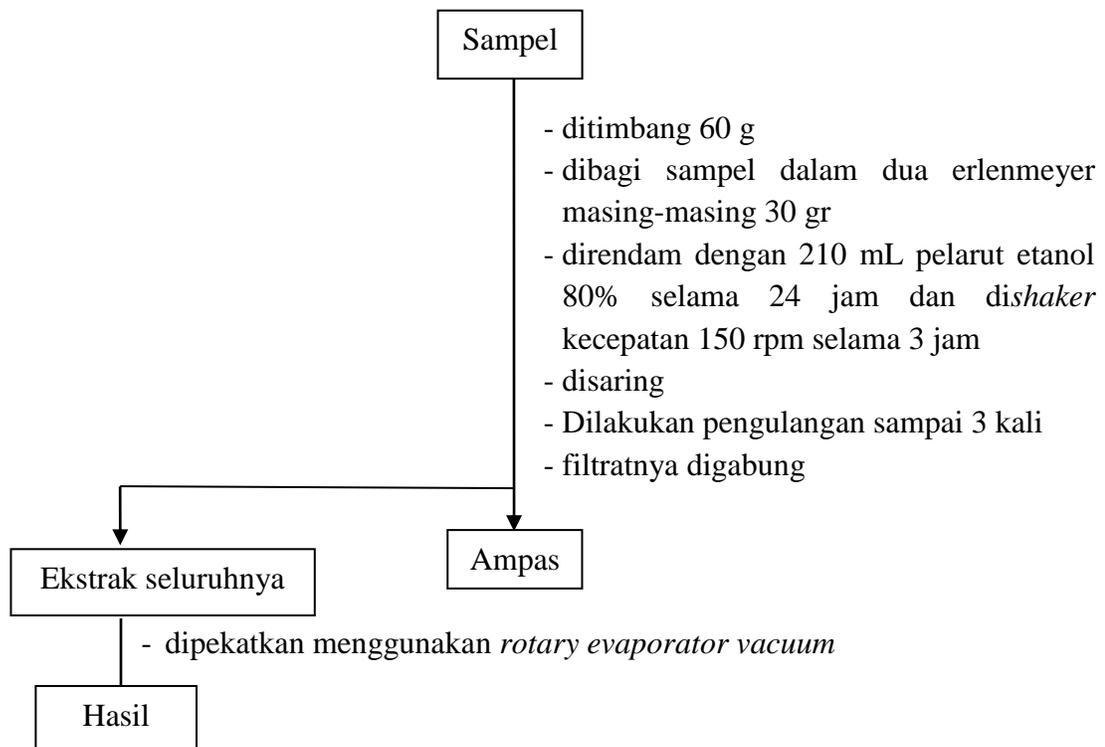
Lampiran 2. Diagram Alir

L.2.1 Preparasi Sampel

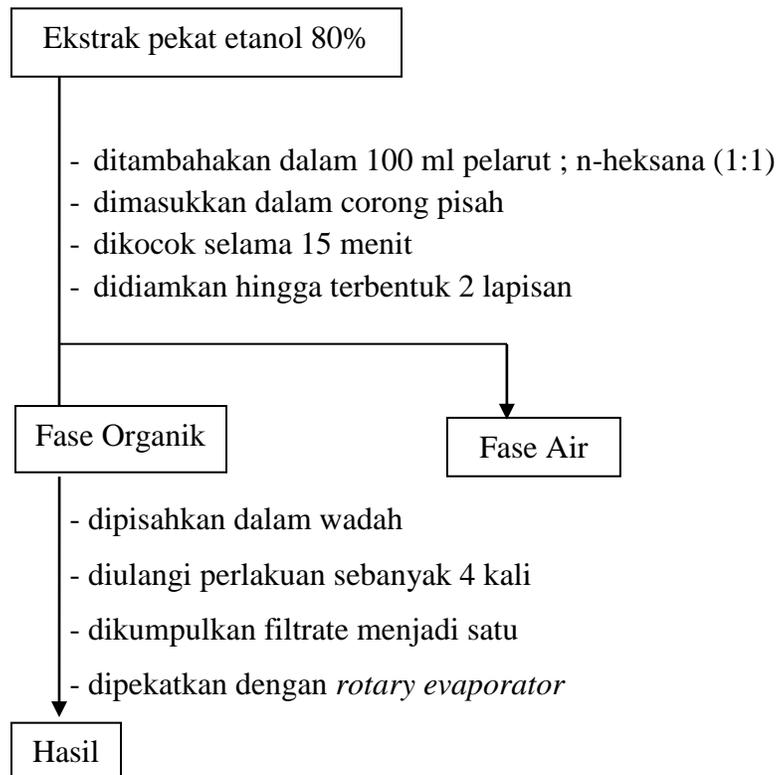


L.2.2 Ekstraksi Komponen Aktif

a. Ekstraksi Maserasi

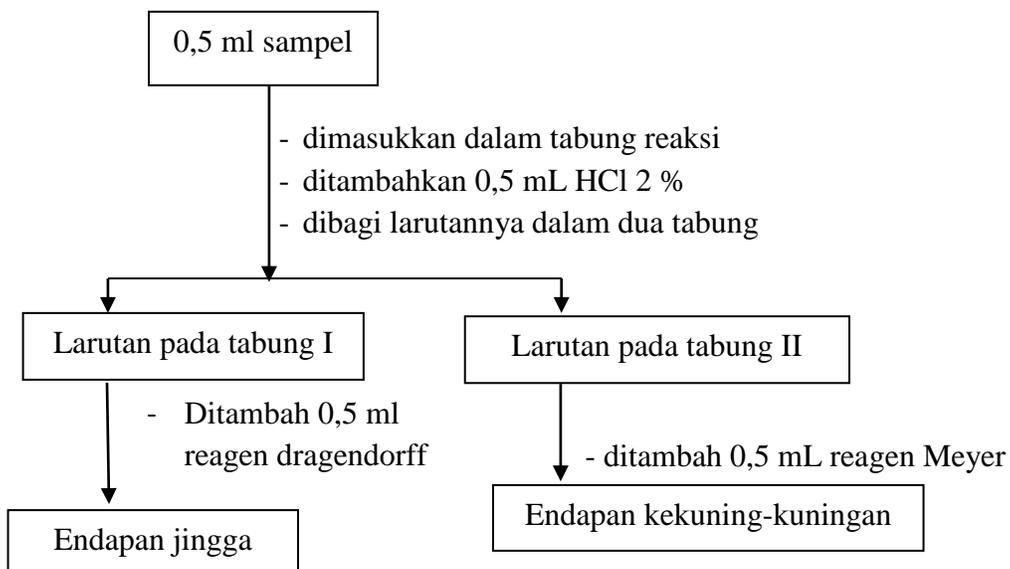


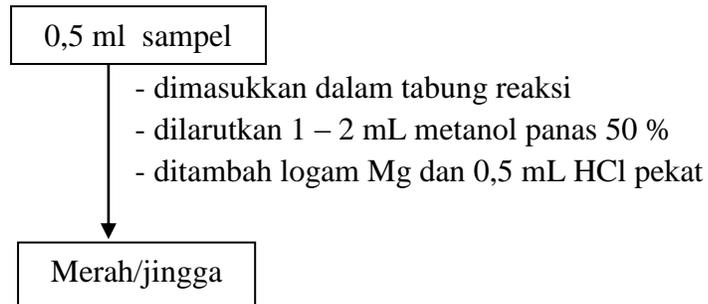
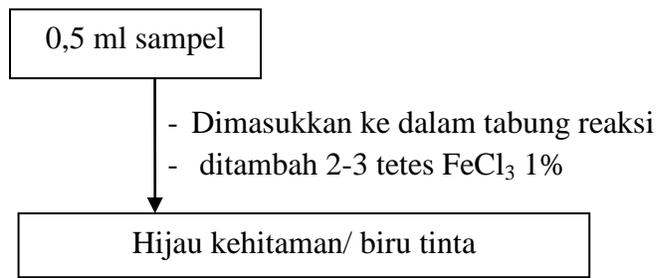
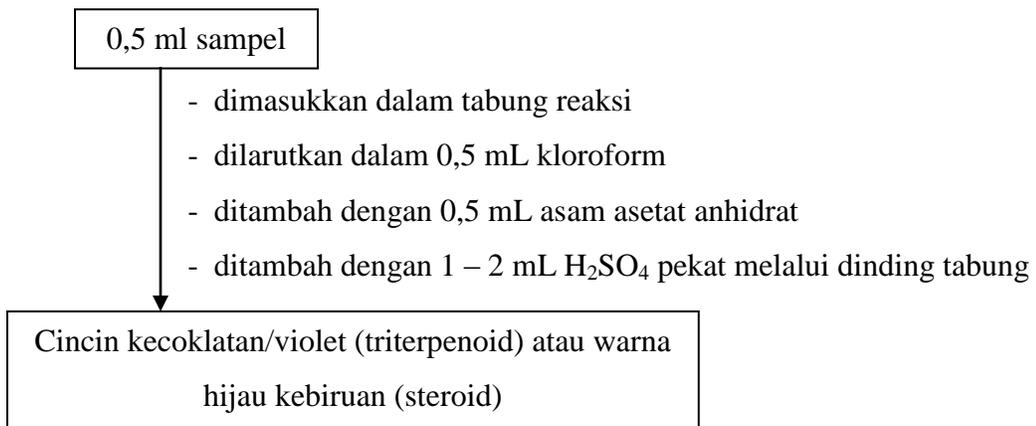
b. Partisi dengan N-Heksana



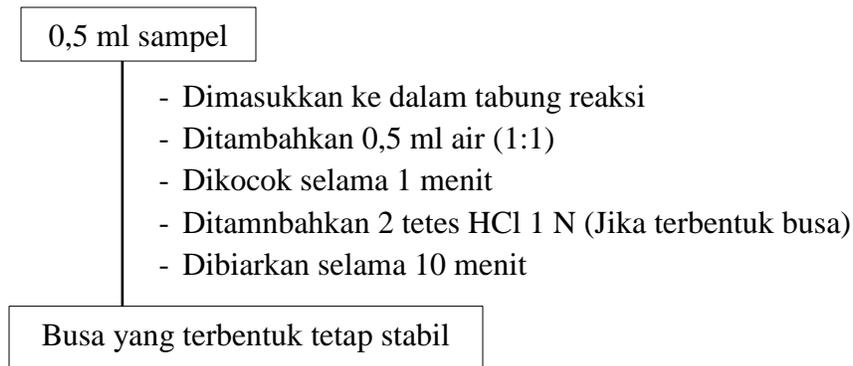
L.2.3 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

a. Uji Alkaloid



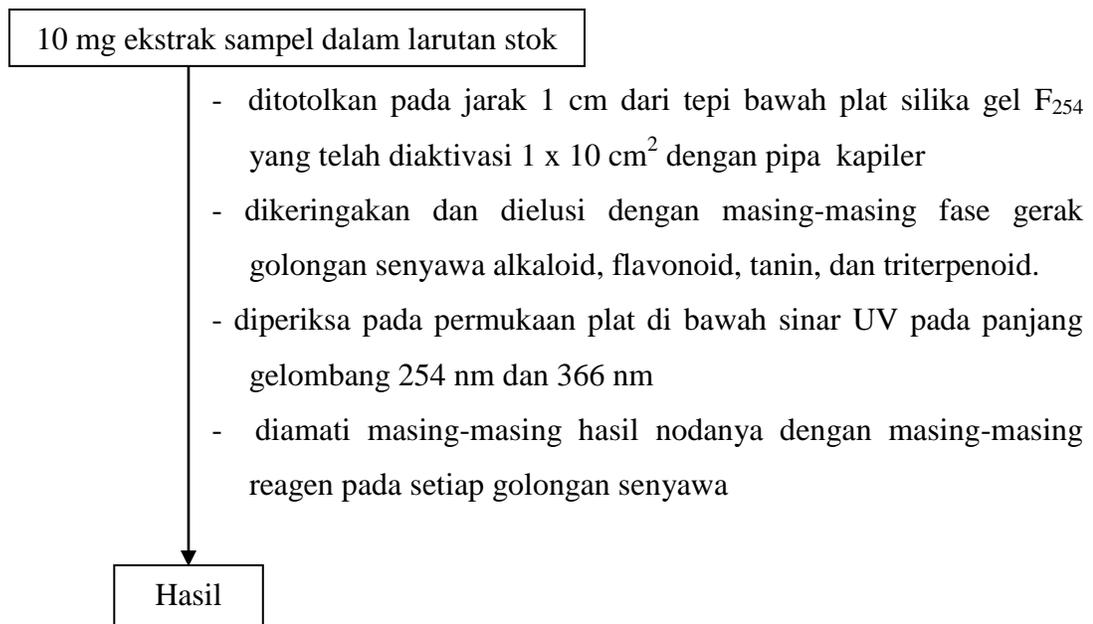
b. Uji Flavonoid**c. Uji Tanin dengan FeCl₃****d. Uji Triterpenoid/Steroid**

e. Saponin



L.2.4 Identifikasi eluen terbaik dengan KLTA

Pemilihan eluen terbaik dengan KLTA dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji fitokimia dengan uji reagen.

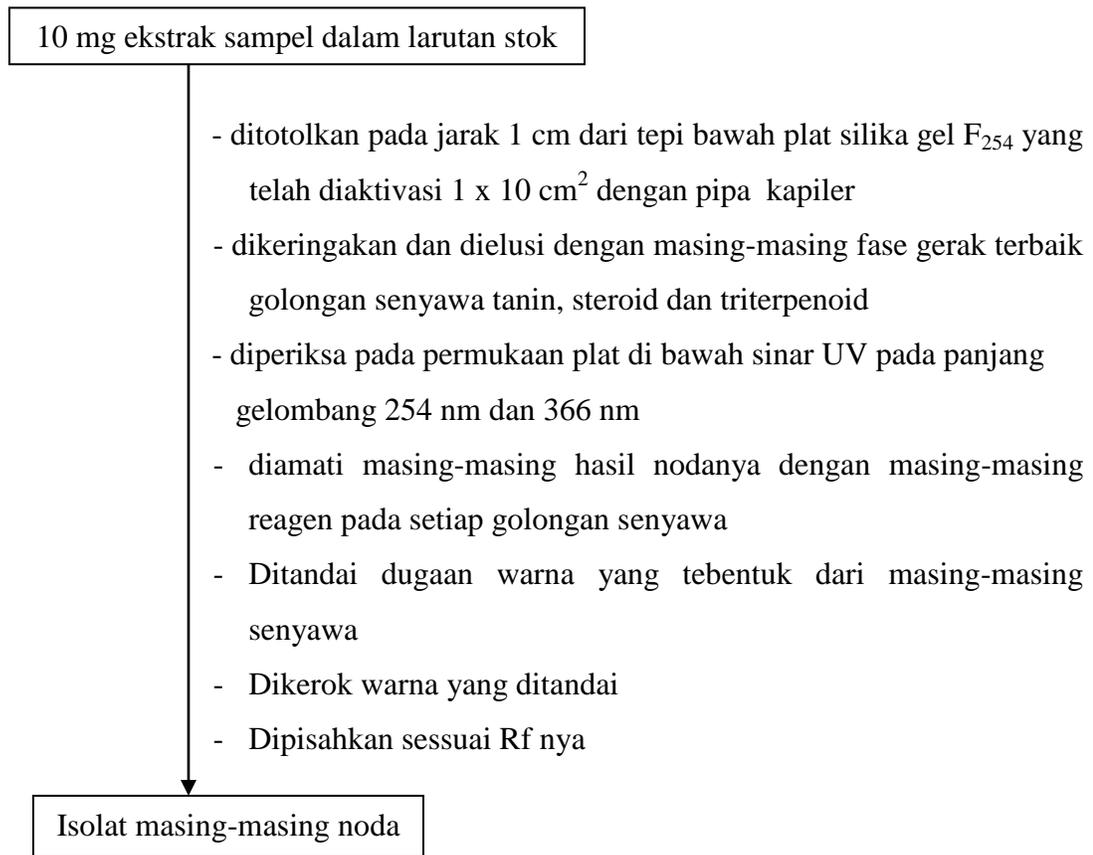


Tabel 1. Jenis-jenis fase gerak dan pendeteksi uji KLT untuk metabolit sekunder

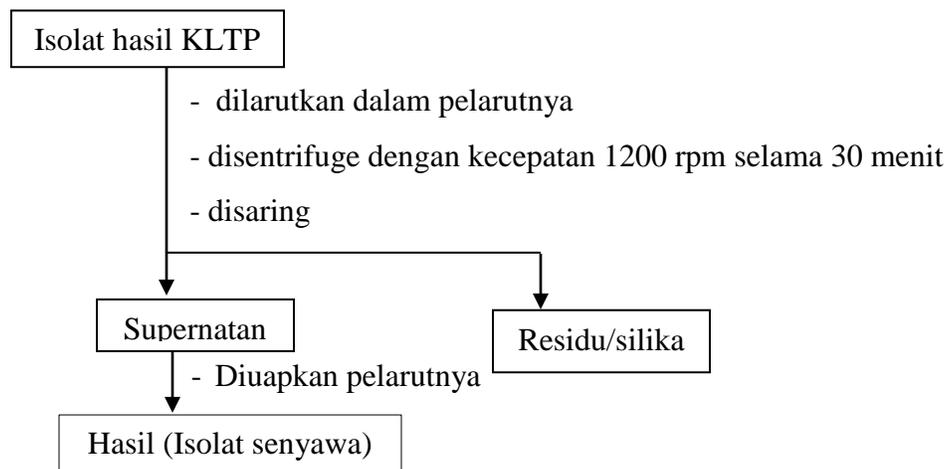
Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Tanin	<ol style="list-style-type: none"> 1. butanol : asam asetat : air (14:1:5) 2. butanol : asam asetat : air (4:1:5) 3. kloroform-metanol-air (7:3:0,4) 4. butanol : asam asetat : air (4:1:2) 5. n-heksan : etil asetat (3:2) 	Pereaksi FeCl_3	Ungu,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

L.2.5 Pemisahan senyawa metabolit sekunder dengan KLTP

Pemisahan golongan senyawa dengan KLTP dilakukan menggunakan eluen terbaik yang diperoleh dari KLTA.

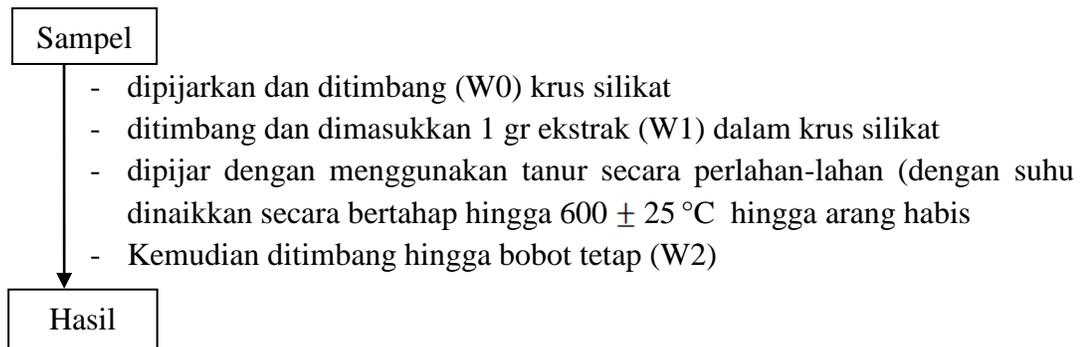


L.2.6 Identifikasi Jenis Senyawa Metabolit Sekunder dengan UPLC-MS

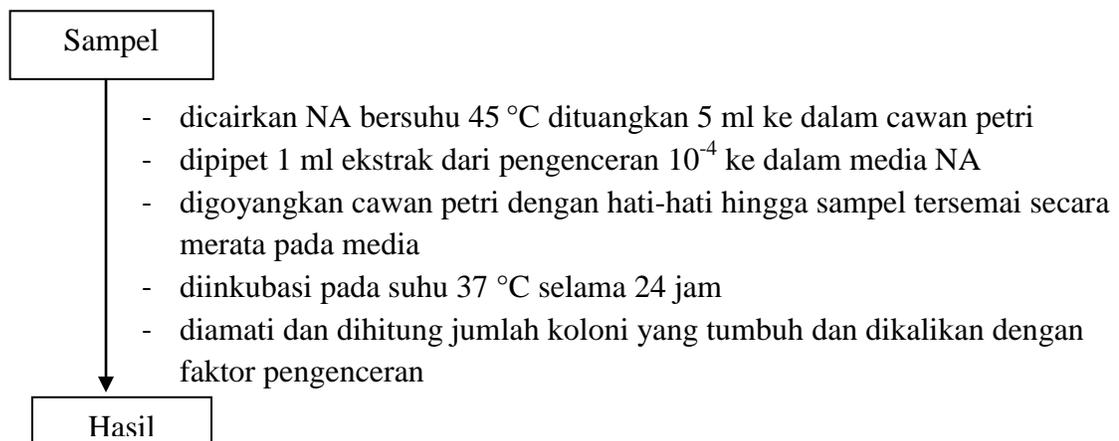


L.2.7 Uji Parameter Non Spesifik

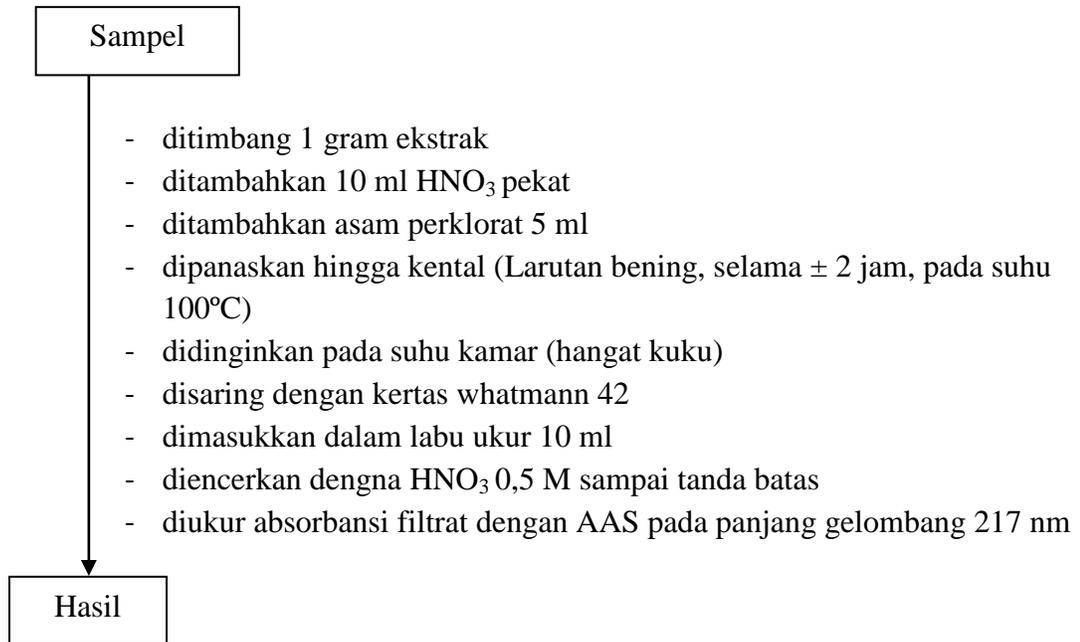
a. Analisis Kadar Abu



b. Total Bakteri



c. Penentuan Kandungan Cemaran Logam Timbal (Pb) dengan Destruksi Basah Terbuka



Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan

L.3.1 Pembuatan Larutan HCl 2 N

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

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

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

L.3.2 Pembuatan HCl 2%

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 37\% \times V_1 &= 2\% \times 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 0,54 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

L.3.3 Pembuatan Reagen Dragendorff

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

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H₂O.

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 g Bi(NH₃)₃ dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 g KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL aquades ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H₂O (Wagner, dkk., 2001).

L.3.4 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl₂ 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl₂ 1,358 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kemudian larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Selanjutnya diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

L.3.5 Pembuatan Reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat = 5 mL

Anhidrida asetat = 5 mL

Etanol absolut = 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat diambil sebanyak 5 mL dengan pipet volume 5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam. Setelah itu

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

L.3.6 Pembuatan Metanol 50%

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

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

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

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

L.3.7 Pembuatan FeCl₃ 1 %

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

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

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

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

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

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

L.3.8 Pembuatan Larutan Ekstrak 10.000 ppm

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$= \frac{\text{mg}}{0,01 \text{ L}}$$

ppm = 100 mg dalam 10 ml pelarut

L.3.9 Pengenceran Larutan

$$M_{99\%} = \frac{\text{Massa Jenis} \times 10 \times \%}{Mr}$$

$$= \frac{0,8 \times 10 \times 99}{46,0} = 17,191$$

$$M_{80\%} = \frac{\text{Massa jenis} \times 10 \times \%}{Mr}$$

$$= \frac{0,8 \times 10 \times 80}{46,07} = 13,891$$

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

$$17,191 \times V_1 = 13,891 \times 1000 \text{ ml}$$

$$V_1 = 808,039 \text{ ml}$$

L.3.10 Pembuatan Eluen

a. Tanin

1. N-Heksana : Etil Asetat (3:2)
 - N-Heksana = $3/5 \times 5 = 3 \text{ ml}$
 - Etil Asetat = $2/5 \times 5 = 2 \text{ ml}$
2. Butanol : Asam Asetat : Air (14:1:5)
 - Butanol = $14/20 \times 5 = 3,5 \text{ ml}$
 - Asam Asetat = $1/20 \times 5 = 0,25 \text{ ml}$
 - Air = $5/20 \times 5 = 1,25 \text{ ml}$
3. Klorofom : Metanol : Air (7:3:0,4)
 - Klorofom = $7/10,4 \times 5 = 3,37 \text{ ml}$
 - Metanol = $3/10,4 \times 5 = 1,44 \text{ ml}$
 - Air = $0,4/10,4 \times 5 = 0,19 \text{ ml}$
4. Butanol : Asam Asetat : Air (4:1:5)
 - Butanol = $4/10 \times 5 = 2 \text{ ml}$
 - Asam Asetat = $1/10 \times 5 = 0,5 \text{ ml}$
 - Air = $5/10 \times 5 = 2,5 \text{ ml}$
5. Butanol : Asam Asetat : Air (4:1:2)
 - Butanol = $4/7 \times 5 = 2,85 \text{ ml}$
 - Asam Asetat = $1/7 \times 5 = 0,72 \text{ ml}$
 - Air = $2/7 \times 5 = 1,43 \text{ ml}$

b. Steroid

1. N-Heksana : Etil Asetat (6:4)
 $N\text{-Heksana} = 6/10 \times 5 = 3 \text{ ml}$
 $\text{Etil Asetat} = 4/10 \times 5 = 2 \text{ ml}$
2. N-Heksana : Etil Asetat (3,5:1,5)
 $N\text{-Heksana} = 3,5/5 \times 5 = 3,5 \text{ ml}$
 $\text{Etil Asetat} = 1,5/5 \times 5 = 1,5 \text{ ml}$
3. N-Heksana : Aseton (7:3)
 $N\text{-Heksana} = 7/10 \times 5 = 3,5 \text{ ml}$
 $\text{Aseton} = 3/10 \times 5 = 1,5 \text{ ml}$
4. N-Heksana : Etil Asetat (7:3)
 $N\text{-Heksana} = 7/10 \times 5 = 3,5 \text{ ml}$
 $\text{Etil Asetat} = 3/10 \times 5 = 1,5 \text{ ml}$
5. N-Heksana : Etil Asetat (8:2)
 $N\text{-Heksana} = 8/10 \times 5 = 4 \text{ ml}$
 $\text{Etil Asetat} = 2/10 \times 5 = 1 \text{ ml}$

c. Triterpenoid

1. N-Heksana : Etil Asetat (6:4)
 $N\text{-Heksana} = 6/10 \times 5 = 3 \text{ ml}$
 $\text{Etil Asetat} = 4/10 \times 5 = 2 \text{ ml}$
2. N-Heksana : Etil Asetat (2 :8)
 $N\text{-Heksana} = 2/10 \times 5 = 1 \text{ ml}$
 $\text{Etil Asetat} = 8/10 \times 5 = 4 \text{ ml}$
3. N-Heksana : Etil Asetat (17:3)
 $N\text{-Heksana} = 17/20 \times 5 = 4,25 \text{ ml}$
 $\text{Etil Asetat} = 3/20 \times 5 = 0,75 \text{ ml}$
4. N-Heksana : Klorofom (8:2)
 $N\text{-Heksana} = 8/10 \times 5 = 4 \text{ ml}$
 $\text{Klorofom} = 2/10 \times 5 = 1 \text{ ml}$
5. Benzena : Klorofom (3:7)
 $\text{Benzena} = 3/10 \times 5 = 1,5 \text{ ml}$
 $\text{Klorofom} = 7/10 \times 5 = 3,5 \text{ ml}$

L.3.11 Pengenceran Sampel Uji Bakteri

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml} \\V_1 &= 1 \text{ ml sampel dalam 10 ml pelarut}\end{aligned}$$

L.3.12 Pengenceran HNO₃ 0,5 M

$$\text{HNO}_3 \text{ 65\%} = \frac{\text{Massa Jenis} \times 10 \times \%}{Mr} = \frac{1,39 \times 10 \times 65}{63} = 14,34 \text{ M}$$

Lampiran 4 Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Rendemen Ekstrak rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.)

1. Rendemen Ekstrak kasar etanol 80% rumput bambu

Perhitungan rendemen ekstrak etanol 80% hasil maserasi adalah sebagai berikut:

$$\text{Rendemen: } \frac{\text{massa ekstrak yang dipwroleh}}{\text{massa sampel yang diekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen: } \frac{8,3692 \text{ gram}}{60 \text{ gram}} \times 100\% = 13,949\%$$

2. Rendemen Ekstrak hasil partisi n-heksana rumput bambu

Perhitungan rendemen ekstrak partisi n-heksana adalah sebagai berikut:

$$\text{Rendemen: } \frac{\text{massa ekstrak yang diperoleh}}{\text{massa sampel yang diekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen: } \frac{0,4850 \text{ gram}}{8,3692 \text{ gram}} \times 100\% = 5,7950\%$$

L.4.2 Perhitungan Rf senyawa hasil Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

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

1. Penentuan Rf Senyawa Tanin

a. Butanol:Asam Asetat:Air (14:1:5)

$$1. Rf = \frac{7,28}{8} = 0,91$$

b. Butanol:Asam Asetat:Air (4:1:5)

$$1. Rf = \frac{6,32}{8} = 0,79$$

$$2. Rf = \frac{7,68}{8} = 0,96$$

c. Butanol:Asam Asetat:Air (4:1:2)

$$1. Rf = \frac{7,36}{8} = 0,92$$

d. N-Heksana:Etil Asetat (3:2)

$$1. Rf = \frac{1,92}{8} = 0,24$$

$$2. Rf = \frac{2,48}{8} = 0,31$$

$$3. Rf = \frac{3,84}{8} = 0,48$$

$$4. Rf = \frac{5,60}{8} = 0,70$$

$$5. Rf = \frac{6,48}{8} = 0,81$$

$$6. Rf = \frac{6,96}{8} = 0,87$$

$$7. Rf = \frac{7,44}{8} = 0,93$$

e. Klorofom:Metanol:Air (7:3:0,4)

$$1. Rf = \frac{7,84}{8} = 0,98$$

2. Penentuan Rf Senyawa Triterpenoid

a. N-Heksana : Klorofom (8:2)

$$1. Rf = \frac{0,48}{8} = 0,06$$

b. N-Heksana : Etil Asetat (2:8)

$$1. Rf = \frac{5,84}{8} = 0,73$$

$$2. Rf = \frac{6,48}{8} = 0,81$$

$$3. Rf = \frac{7,12}{8} = 0,89$$

$$4. Rf = \frac{7,44}{8} = 0,93$$

$$5. Rf = \frac{7,76}{8} = 0,97$$

c. N-Heksana : Etil Asetat (6:4)

$$1. Rf = \frac{1,04}{8} = 0,013$$

$$2. Rf = \frac{1,84}{8} = 0,23$$

$$3. Rf = \frac{5,60}{8} = 0,70$$

$$4. Rf = \frac{7,36}{8} = 0,92$$

$$5. Rf = \frac{7,68}{8} = 0,96$$

$$6. Rf = \frac{8}{8} = 1$$

d. N-Heksana : Etil Asetat (17:3)

$$1. Rf = \frac{0,32}{8} = 0,04$$

$$2. Rf = \frac{0,72}{8} = 0,09$$

$$3. Rf = \frac{0,88}{8} = 0,11$$

$$4. Rf = \frac{1,52}{8} = 0,19$$

$$5. Rf = \frac{2,40}{8} = 0,30$$

$$6. Rf = \frac{3,76}{8} = 0,47$$

$$7. Rf = \frac{4,16}{8} = 0,52$$

$$8. Rf = \frac{4,72}{8} = 0,59$$

$$9. Rf = \frac{6,32}{8} = 0,79$$

e. Benzena : Klorofom (3:7)

$$1. Rf = \frac{0,88}{8} = 0,11$$

$$2. Rf = \frac{1,36}{8} = 0,17$$

$$3. Rf = \frac{2,40}{8} = 0,30$$

$$4. Rf = \frac{3,12}{8} = 0,39$$

$$5. Rf = \frac{4,72}{8} = 0,59$$

$$6. Rf = \frac{5,68}{8} = 0,71$$

$$7. Rf = \frac{6,32}{8} = 0,79$$

$$8. Rf = \frac{7,28}{8} = 0,91$$

3. Penentuan Rf Senyawa Steroid

a. N-Heksana : Etil Asetat (3,5:1,5)

$$1. Rf = \frac{4,88}{8} = 0,61$$

$$2. Rf = \frac{5,12}{8} = 0,64$$

$$3. Rf = \frac{5,52}{8} = 0,69$$

$$4. Rf = \frac{6,16}{8} = 0,77$$

$$5. Rf = \frac{6,48}{8} = 0,81$$

$$6. Rf = \frac{7,04}{8} = 0,88$$

$$7. Rf = \frac{7,28}{8} = 0,91$$

$$8. Rf = \frac{7,60}{8} = 0,95$$

b. N-Heksana : Etil Asetat (7:3)

$$1. Rf = \frac{1,60}{8} = 0,20$$

$$2. Rf = \frac{2,0}{8} = 0,25$$

$$3. Rf = \frac{3,68}{8} = 0,46$$

$$4. Rf = \frac{4,80}{8} = 0,60$$

$$5. Rf = \frac{5,36}{8} = 0,67$$

$$6. Rf = \frac{6,16}{8} = 0,77$$

$$7. Rf = \frac{6,40}{8} = 0,80$$

$$8. Rf = \frac{7,12}{8} = 0,89$$

$$9. Rf = \frac{7,44}{8} = 0,93$$

c. N-Heksana : Etil Asetat (6:4)

$$1. Rf = \frac{2,32}{8} = 0,29$$

$$2. Rf = \frac{6,24}{8} = 0,78$$

$$3. Rf = \frac{6,40}{8} = 0,80$$

d. N-Heksana : Etil Asetat (8:2)

$$1. Rf = \frac{0,8}{8} = 0,10$$

$$2. Rf = \frac{1,68}{8} = 0,21$$

$$3. Rf = \frac{2,64}{8} = 0,33$$

$$4. Rf = \frac{4,88}{8} = 0,61$$

e. N-Heksana : Aseton (7:3)

$$1. Rf = \frac{1,68}{8} = 0,21$$

$$2. Rf = \frac{2,48}{8} = 0,31$$

$$3. Rf = \frac{3,20}{8} = 0,40$$

$$4. Rf = \frac{3,68}{8} = 0,46$$

$$5. Rf = \frac{6,08}{8} = 0,76$$

$$6. Rf = \frac{6,48}{8} = 0,81$$

$$7. Rf = \frac{7,20}{8} = 0,90$$

L.4.3 Perhitungan Rf senyawa hasil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

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

1. Penentuan Rf Senyawa Tanin

$$1. Rf = \frac{1,8}{8} = 0,225$$

$$2. Rf = \frac{4,4}{8} = 0,55$$

$$3. Rf = \frac{4,8}{8} = 0,6$$

$$4. Rf = \frac{6,2}{8} = 0,775$$

$$5. Rf = \frac{6,7}{8} = 0,8375$$

2. Penentuan Rf Senyawa Triterpenoid

$$1. Rf = \frac{0,9}{8} = 0,107$$

$$2. Rf = \frac{1,15}{8} = 0,137$$

3. $Rf = \frac{1,6}{8} = 0,190$
4. $Rf = \frac{2,1}{8} = 0,25$
5. $Rf = \frac{2,8}{8} = 0,333$
6. $Rf = \frac{3,8}{8} = 0,452$

3. Penentuan Rf Senyawa Steroid

1. $Rf = \frac{5,4}{8} = 0,675$
2. $Rf = \frac{6,2}{8} = 0,775$
3. $Rf = \frac{7}{8} = 0,875$

L.4.4 Perhitungan Parameter Non-Spesifik Ekstrak Rumput Bambu

1. Uji Kadar Air

Hasil penimbangan dan perhitungan kadar air dalam ekstrak:

No.	Penimbangan	I	II	III
1	Bobot Cawan Konstan (A)	53,8271	58,1733	65,5052
2	Bobot Cawan dan ekstrak awal (B)	58,8253	63,1736	70,5034

Bobot ekstrak dalam cawan setelah pemanasan (Konstan) dalam oven (C)

No.	Waktu	I	II	III
1	30 menit	58,4048	62,7775	70,1073
2	60 menit	58,4161	62,7496	70,0981
3	90 menit	58,4159	62,7604	70,0828
4	120 menit		62,7593	70,0898
5	150 menit			70,0920
6	180 menit			70,0902

$$\% \text{ kadar air dalam ekstrak} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = bobot cawan kosong konstan (gram)

B = bobot cawan + ekstrak mula-mula ($\pm 0,5$ gram)

C = bobot cawan + residu setelah pemanasan (gram)

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{100}{100 - \% KA}$$

$$\% KA \text{ Terkoreksi} = KA - Fk$$

a. Cawan I

$$\% \text{ kadar air} = \frac{58,8253 - 58,4159}{58,8253 - 53,8271} \times 100\% = 8,1909\%$$

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{100}{100 - 8,1909} = 1,0892$$

$$\% \text{ KA Terkoreksi} = 8,1909 - 1,0892 = 7,1017\%$$

b. Cawan II

$$\% \text{ kadar air} = \frac{63,1736 - 62,7593}{63,1736 - 58,1733} \times 100\% = 8,285\%$$

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{100}{100 - 8,285} = 1,0903$$

$$\% \text{ KA Terkoreksi} = 8,285 - 1,0903 = 7,1947\%$$

c. Cawan III

$$\% \text{ kadar air} = \frac{70,5034 - 70,0902}{70,5034 - 65,5052} \times 100\% = 8,267\%$$

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{100}{100 - 8,267} = 1,0901$$

$$\% \text{ KA Terkoreksi} = 8,267 - 1,0901 = 7,1769\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{7,1017\% + 7,1947\% + 7,1769\%}{3} = 7,1577\%$$

2. Uji Kadar Abu

Hasil penimbangan dan perhitungan kadar abu dalam ekstrak:

No.	Penimbangan	Bobot (gram)
1	Bobot Cawan Konstan (W0)	65,8961
2	Bobot sampel awal (W1)	0,201
3	Bobot setelah tanur (W2)	65,9090

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\% = \frac{65,9090 - 65,8961}{0,201} \times 100\% = 6,418\%$$

Keterangan:

W2 = bobot residu (abu) dalam cawan setelah ditanur (gram)

W1 = bobot ekstrak mula-mula (gram)

W0 = bobot cawan kosong konstan (gram)

3. Total Bakteri

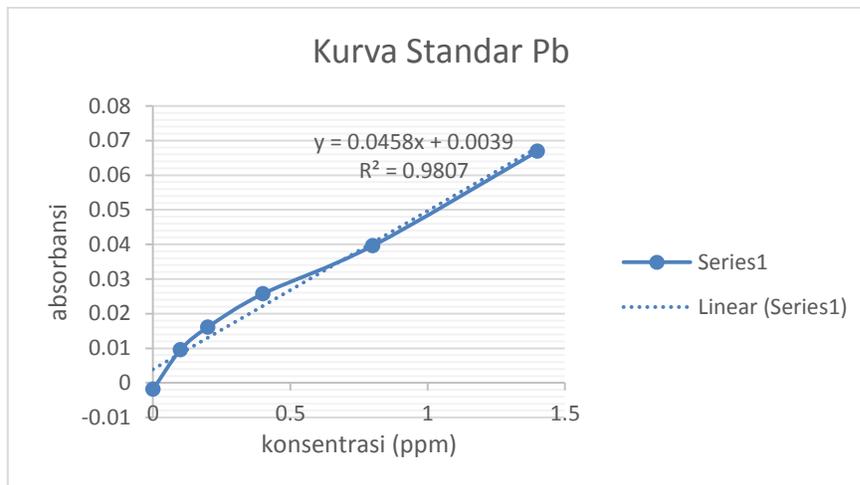
$$\begin{aligned} \text{Angka Lempeng Total (ALT)} &= \frac{\sum \text{Koloni rata - rata}}{\text{Faktor Pengenceran} \times \text{Berat Sampel}} \\ &= \frac{15+14+25}{0,01 \times 0,1} \\ &= 18.000 = 0,018 \times 10^6 \text{ koloni/g} \end{aligned}$$

4. Kadar Cemar Logam Timbal (Pb)

Hasil pengukuran standar timbal (Pb) didapatkan data sebagai berikut:

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	0,00	-0,0019
2	0,10	0,0095
3	0,20	0,0161
4	0,40	0,0257
5	0,80	0,0396
6	1,40	0,0669

Data dimasukkan dalam Ms.excel dan diperoleh kurva kalibrasi sebagai berikut:



Persamaan linear yang diperoleh dari kurva standar adalah:

$$\mathbf{Y = 0,0458X + 0,0039}$$

$$\begin{aligned} Y &= 0,0458X + 0,0039 \\ 0,040 &= 0,0458X + 0,0039 \\ 0,0458X &= 0,040 - 0,0039 \end{aligned}$$

$$X = \frac{0,0361}{0,0458} = 0,788 \text{ ppm} \rightarrow \text{mg/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar logam Pb} &= \frac{\text{konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{volume akhir (L)}}{\text{berat sampel awal (gram)}} \\ &= \frac{0,788 \times 0,0034}{1,0024} = 0,00267 \text{ mg/gram} \\ &= 2,67 \times 10^{-6} \text{ mg/Kg} = 2,67 \text{ } \mu\text{g/Kg} \end{aligned}$$

Lampiran 5. Dokumentasi

L. 5.1 Preparasi Sampel



Pengeringan tanaman rumput bambu



Serbuk akar



Serbuk daun



Serbuk batang

L.5.2 Analisis Kadar air



Serbuk rumput bambu



Penguapan kadar air dalam oven



sampel setelah dioven

L.5.3 Penyiapan Ekstrak



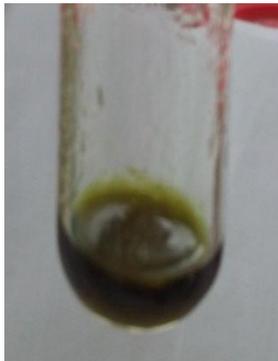
Ekstraksi Maserasi



Partisi n-heksana

L.5.4 Uji Fitokimia dengan reagen

a. Saponin



b. Tanin



c. Flavonoid



d. Alkaloid Dragendorff



e. Alkaloid Mayer



f. Steroid dan Triterpenid

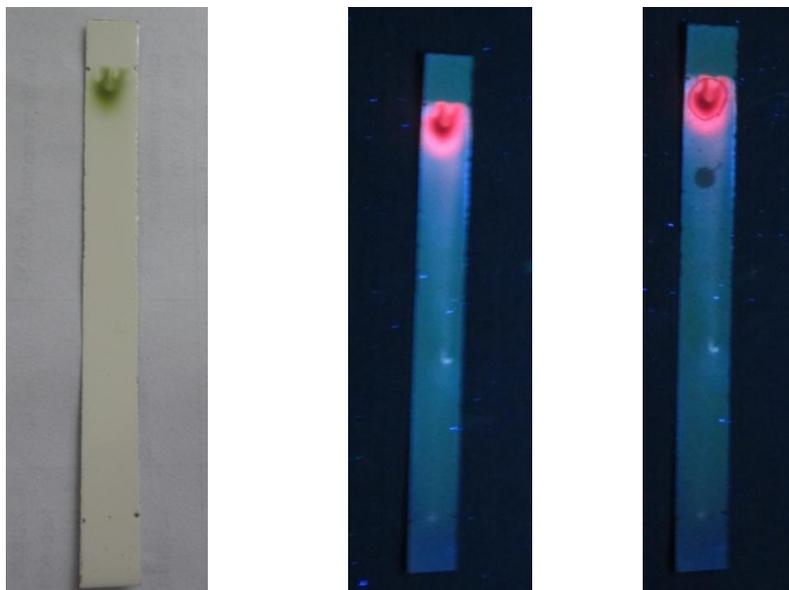
**L.5.5 Pemilihan Eluen Terbaik dengan KLTA**

a. Tanin

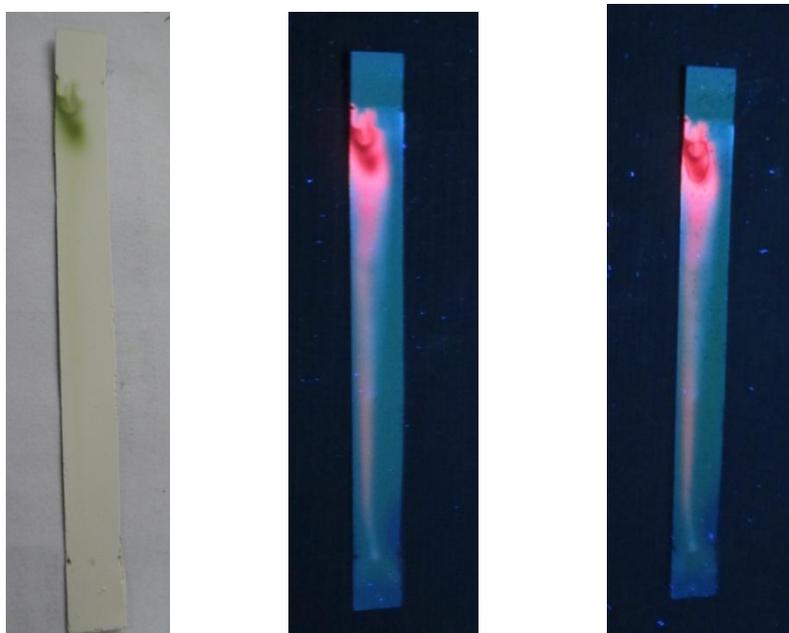
1. Butanol : asam asetat : air (14:1:5)



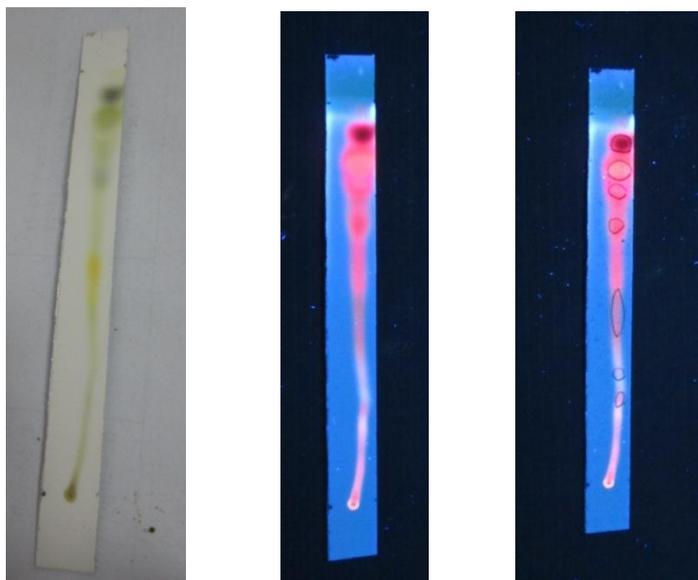
2. Butanol : asam asetat : air (4:1:5)



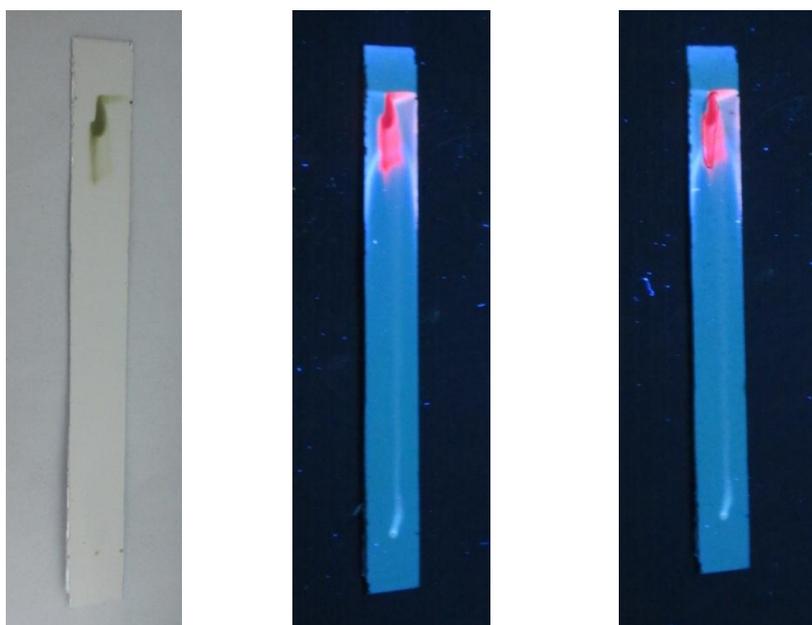
3. Butanol : asam asetat : air (4:1:2)



4. N-Heksana : EtiL asetat (3:2)



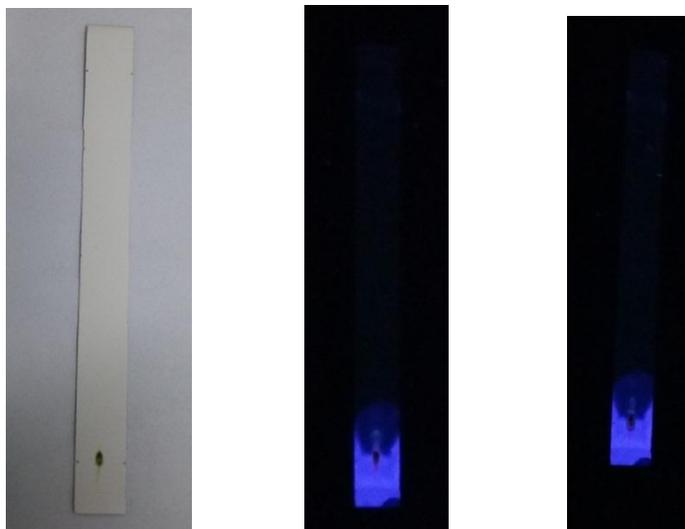
5. Kloroform : methanol : air (7:3:0,4)



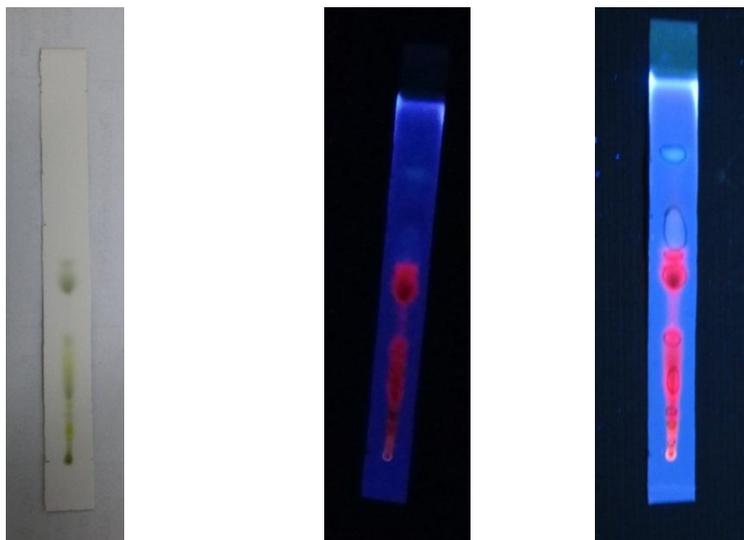
Eluen	Jumlah spot	Nilai Rf	Warna Spot	Keterangan
Butanol:As.Asetat:Air (14:1:5)	1	0,91	Merah muda	tidak terpisah
Butanol:As. Asetat: Air (4:1:5)	2	0,79; 0,96	Hitam, merah muda	Tidak terpisah
Butanol: As. Asetat:Air (4:1:2)	1	0,92	Merah muda	Tidak terpisah
N-heksana:Etil Asetat (3:2)	7	0,24; 0,31; 0,48; 0,70; 0,81; 0,87; 0,93	Jingga, jingga, jingga, merah muda, merah muda, merah muda, hitam	Terpisah
Kloroform: Metanol:air (7:3:0,4)	1	0,98	Merah muda	Tidak terpisah

b. Triterpenoid

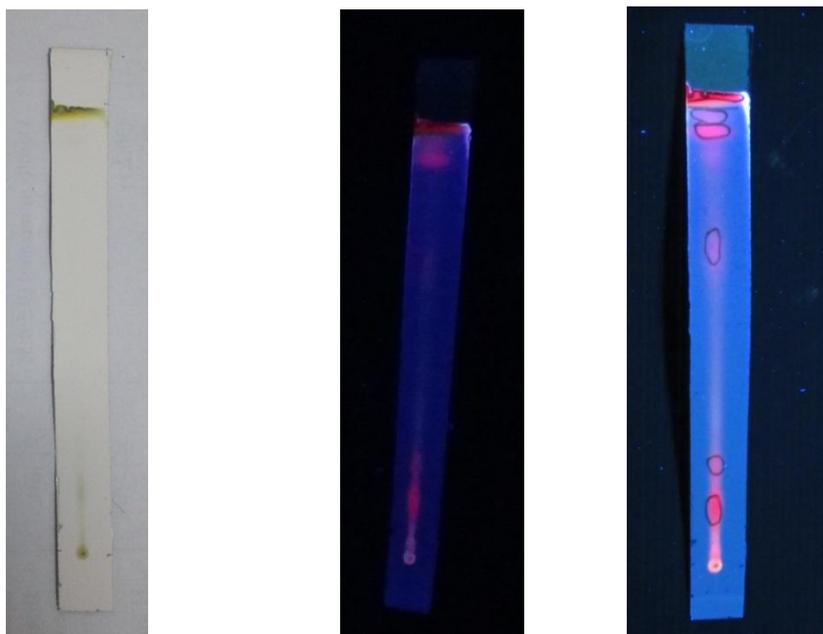
1. N-Heksana : Kloroform (8:2)



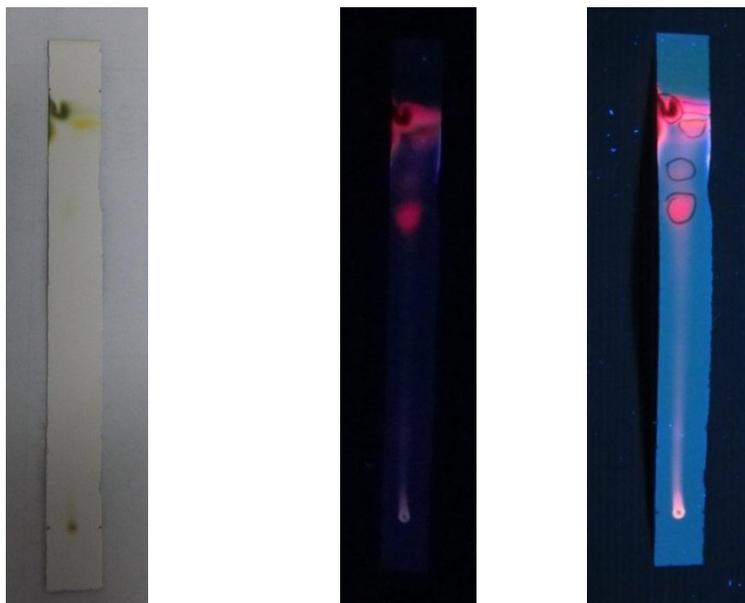
2. N-Heksana : Etil asetat (17:3)



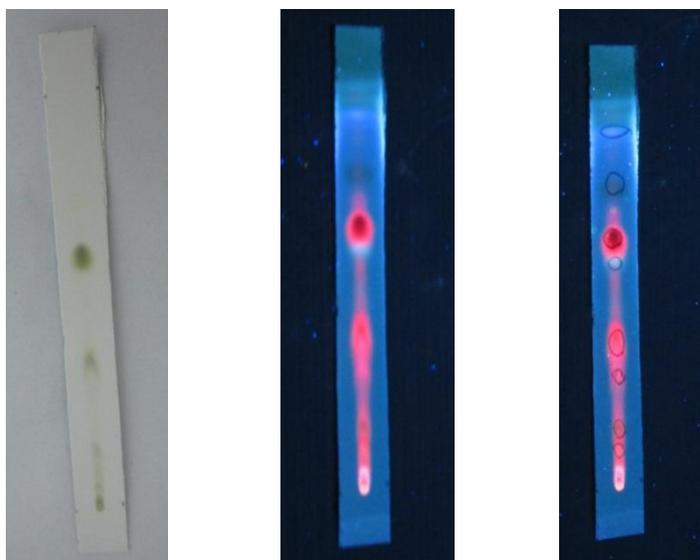
3. N-Heksana : Etil asetat (6:4)



4. N-Heksana : Etil asetat (2:8)



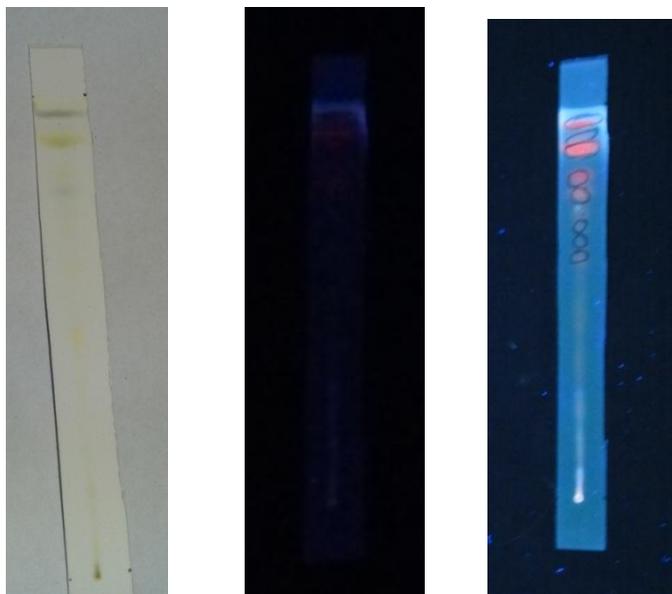
5. Benzena : Klorofom(3:7)



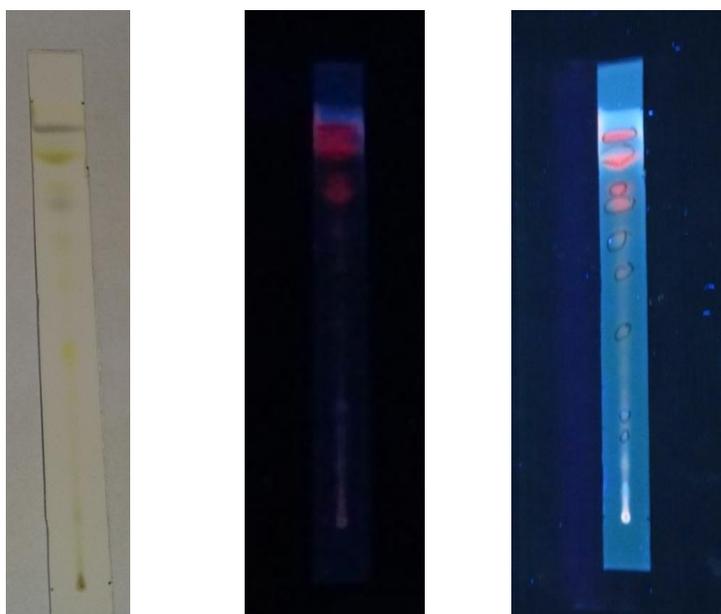
Eluen	Jumlah spot	Nilai Rf	Warna Spot	Keterangan
N-heksana:Klorofom (8:2)	1	0,06	Hijau	Tidak terpisah
N-heksana:Etil asetat (2:8)	5	0,73; 0,81; 0,89; 0,93; 0,97	Lembayung, ungu, ungu, hijau, hitam	terpisah
N-heksana:Etil Asetat (6:4)	6	0,13; 0,23; 0,7; 0,92; 0,96; 1	Lembayung, lembayung, ungu, merah muda, ungu, merah muda	terpisah
N-heksana:Etil Asetat (17:3)	9	0,04; 0,09; 0,11; 0,19; 0,30; 0,47; 0,52; 0,59; 0,79	Lembayung, lembayung, lembayung, merah muda, merah muda, merah muda kehitaman, merah muda, biru, hijau	terpisah
Benzena:Klorofom (3:7)	8	0,11; 0,17; 0,3; 0,39; 0,59; 0,71; 0,79; 0,91	Lembayung, lembayung, lembayung, merah muda, hijau, merah muda kehitaman, hijau, biru	Terpisah

c. Steroid

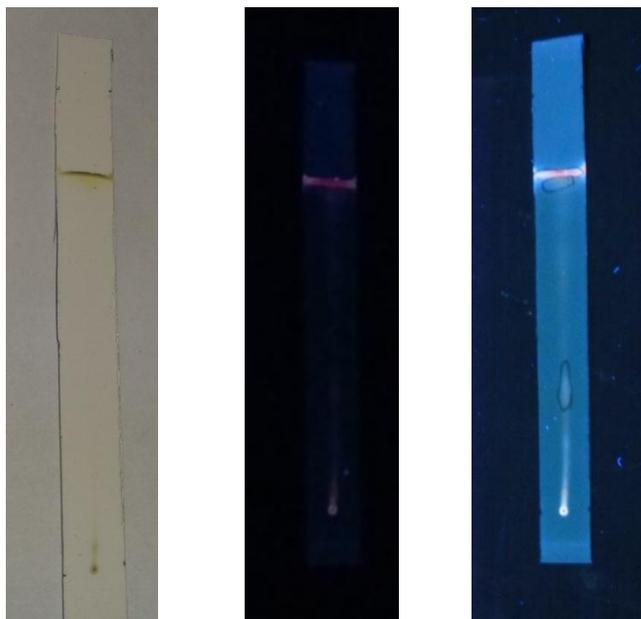
1. N-Heksana : Etil asetat (3,5:1,5)



2. N-Heksana : Etil asetat (7:3)



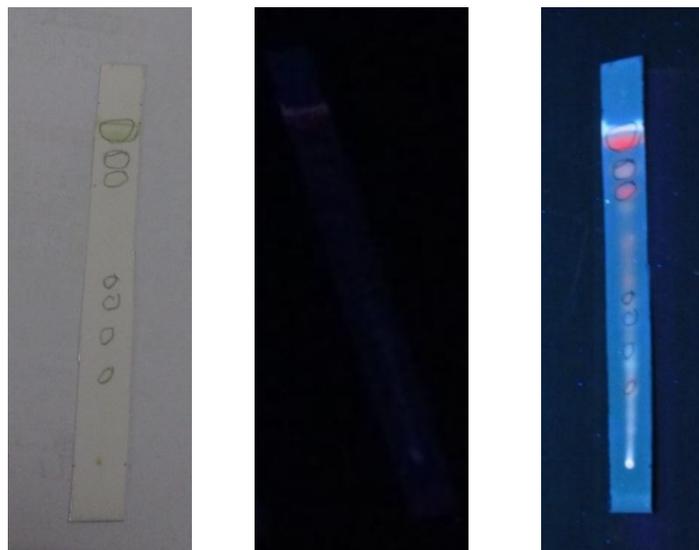
3. N-Heksana : Etil asetat (6:4)



4. N-Heksana : Etil asetat (8:2)



5. N-Heksana : Aseton (7:3)

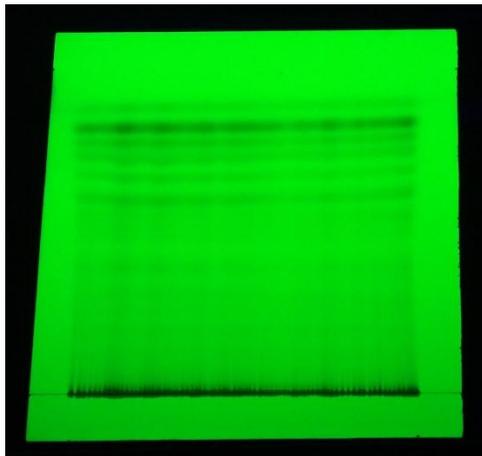


Eluen	Jumlah spot	Nilai Rf	Warna Spot	Keterangan
N-heksana:Etil Asetat (3,5:1,5)	8	0,61; 0,64; 0,69; 0,77; 0,81; 0,88; 0,91; 0,95	Merah muda, ungu, lembayung, merah muda, merah muda, merah muda, merah muda	Tidak terpisah
N-heksana:Etil asetat (7:3)	9	0,2; 0,25; 0,46; 0,6; 0,67; 0,77; 0,80; 0,89; 0,93	Ungu, ungu, ungu, lembayung, lembayung, merah muda, merah muda, merah muda	terpisah
N-heksana:Etil Asetat (6:4)	3	0,29; 0,78; 0,80	Ungu, ungu, merah muda	terpisah
N-heksana:Etil Asetat (8:2)	4	0,1; 0,21; 0,33; 0,61	Merah muda, merah muda, merah, merah muda	terpisah
N-	7	0,21; 0,31;	Merah muda,	Terpisah

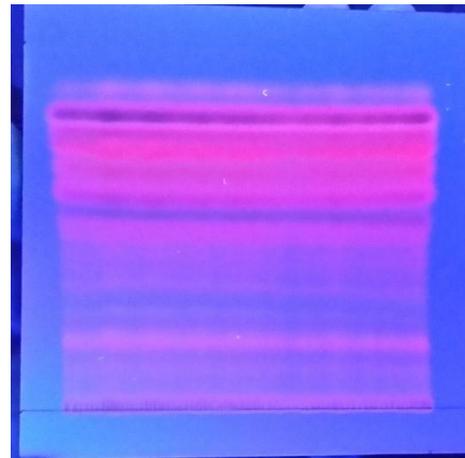
heksana:Aseton (7:3)		0,4; 0,46; 0,76; 0,81; 0,9	ungu, ungu, merah muda, merah muda, merah muda, merah muda	
-------------------------	--	----------------------------------	--	--

L.5.6 Pemisahan Senyawa dengan KLTP

a. Tanin eluen N-heksana:Etil Asetat(3:2)

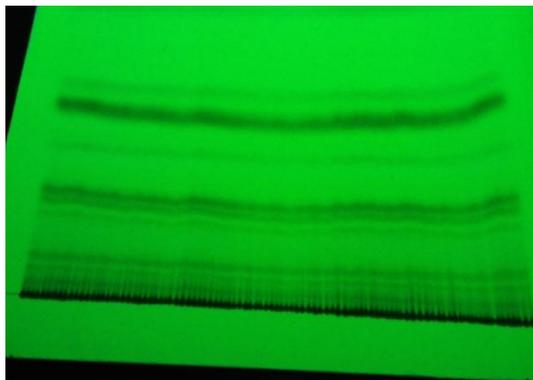


Pengamatan noda pada λ 254 nm

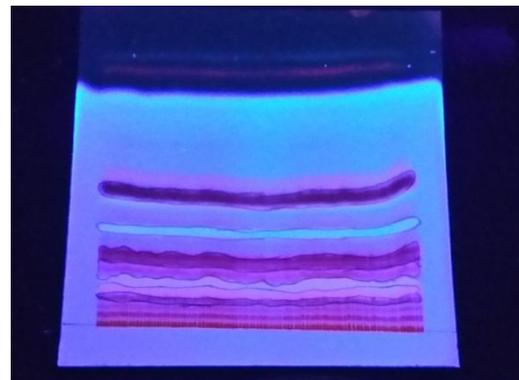


Pengamatan noda pad λ 366 nm

b. Triterpenoid eluen Benzena:Kloroform (3:7)

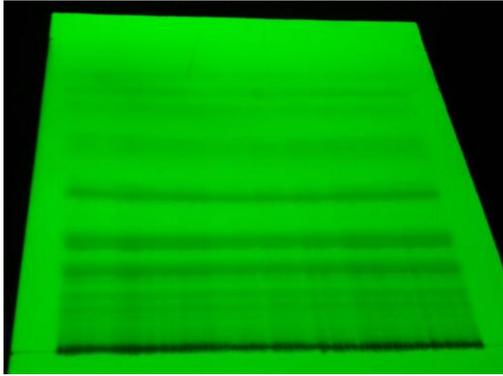
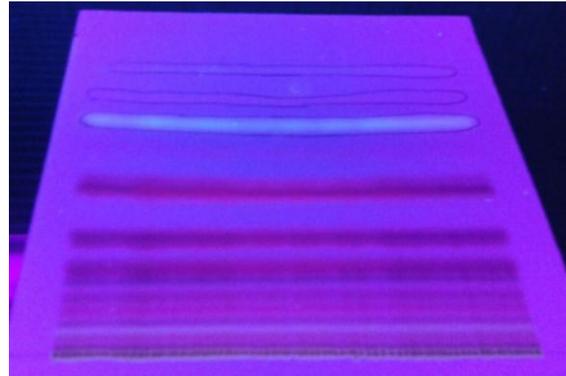


Pengamatan noda pada λ 254 nm



Pengamatan noda pad λ 366 nm

c. Steroid eluen N-heksana:Aseton (7:3)

Pengamatan noda pada λ 254 nmPengamatan noda pada λ 366 nm

L.5.7 Penentuan Kadar Abu



Proses Tanur



Mendinginkan

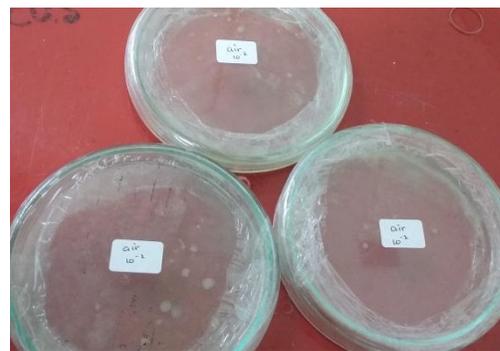


Penimbangan

L.5.8 Penentuan Total Bakteri



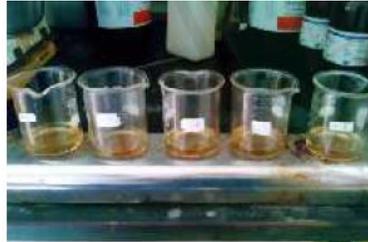
Cawan Kontrol

Bakteri pada ekstrak 10^{-2}

L.5.9 Penentuan Kandungan Logam Timbal (Pb)



Destruksi Basah
Terbuka



Hasil Destruksi



Penyaringan



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

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

KARTU KONSULTASI PENELITIAN

Nama : RIZKI MAR'ATUS SHOULKHAH
NIM : 11630060
Judul Skripsi : STANDAR DISASI EKSTRAK ETANOL TANAMAN RUMPUT BARBU
 (Latharum Gracie B.)
Pembimbing Utama : Elok Kamilah Hayati, M. Si
Pembimbing Agama : Nur Aini, M. Si
Konsultan : Ro'ihatul Muli'ah, M. Kes, Apt

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (ditulis tangan)	Tanda tangan (Pembimbing)
	16/06/2015	Bab I, ii, iii	metode kadar air gravimetri, analisis logam berat, Profil KLT	
	17/06/2015	Bab I, ii	Hasil penelitian tanaman lain KLT	
	31/03/2015	BAB I + Judul	Revisi Bab I	
		BAB I	Revisi Bab I	
		BAB ii	Revisi Bab ii	
	15/06/2015	BAB ii + Revisi Bab I	Revisi bab ii	
	27/06/2015	BAB iii	Revisi Bab iii	
	07/08	BAB iii	ACC	
	07/15	All	ACC	
	24/10/15	Revisi Bab I + Bab ii + Bab iii		
	27/10/15	Revisi Bab I + ii + iii (Bu Ikha)	Bahas Bab iu	
	29/09/15	Bab iu (Bu Elok)	Lanjutan Bahas Hasil LCMS	
	13/10/15	Bab iu (Bu Elok)	fragmentasi LCMS	
	28/09/16	Bab I, ii, iu (Bu Aini)	Atur Ulang Naskah	
	13/10/16	Bab I, ii, iu (Bu Aini)	Koreksi Penulisan	
	14/10/16	Bab iu (Bu Ikha)	revisi bab iu	
	18/10/16	Integrasi (Bu Aini)		
	19/10/16	BAB iu (Bu Ikha)	revisi Bab iu	
	24/10/16	BAB iu (Bu Ikha)	Cari Senyawa lain BM 296	
	26/10/16	ACC (Bu Aini)	ACC	