

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN ANALISISNYA MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS DAN FTIR

SKRIPSI

oleh:

KHOIRUL ANAM

NIM. 10630073



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

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN ANALISISNYA MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS DAN FTIR

SKRIPSI

Oleh:
KHOIRUL ANAM
NIM. 10630073

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

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

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN ANALISISNYA MENGGUNAKAN SPEKTRFOTOMETER UV-VIS DAN FTIR

SKRIPSI

Oleh:
KHOIRUL ANAM
NIM. 10630073

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal : 06 Januari 2015

Pembimbing I

Pembimbing II

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

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

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

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

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN ANALISISNYA MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS DAN FTIR

SKRIPSI

Oleh:
KHOIRUL ANAM
NIM. 10630073

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 06 Januari 2015

Penguji Utama	: Tri Kustono Adi, M.Sc NIP. 19710311 200312 1 002	(.....)
Ketua Penguji	: Eny Yulianti, M.Si NIP. 19760611 200501 2 006	(.....)
Sekretaris Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)
Anggota Penguji	: Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19761003 200312 1 004	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia

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

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamin. Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufik dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Karya ini penulis persembahkan untuk :

Kedua orang tua dan orang-orang yang senantiasa memberikan do'anya.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Khoirul Anam

NIM : 10630073

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (Eucheuma cottonii) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

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

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai peraturan yang berlaku

Malang, 12 Januari 2015
Yang Membuat Pernyataan,

Khoirul Anam
10630073

KATA PENGANTAR

بسم الله الرحمن الرحيم

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, hidayah dan InayahNya atas terselesaikan skripsi dengan judul: **“Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisnya Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) dengan semaksimal mungkin.

Shalawat serta salam semoga senantiasa terlimpahkan kepada junjungan kita, Nabi Agung Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita dari zaman jahiliyah menuju ke zaman yang terang benerang, yang diridhai Allah SWT yakni ad-Diinul Islam. Semoga Allah melimpahkan atas beliau, rahmat sebagai pahala atas amal perbuatan beliau, serta kepada semua keluarga, sahabat dan para pengikut yang senantiasa meneruskan perjuangan sampai saat ini hingga akhir zaman.

Seiring dengan terselesaikannya penulisan skripsi ini, dengan penuh rasa hormat dan kerendahan hati, patutlah kiranya penulis mengucapkan terimakasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang telah banyak memberikan bantuan dan dukungannya selama dibangku kuliah sampai penulisan skripsi ini selesai, yaitu kepada :

1. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. A. Ghanaim Fasya, M.Si, selaku Pembimbing Utama Suci Amalia, M.Sc, selaku Konsultan Skripsi. Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku Pembimbing Agama terima kasih banyak penulis haturkan yang dengan sabar dan ikhlas banyak meluangkan waktu sibuknya memberikan bimbingan, pengarahan dan masukan pada penulis mulai awal hingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga ilmu yang disampaikan bisa bermanfa'at dan barokah fiddini waddunyaa wal akhirah.
5. Tri Kustono Adi, M.Sc dan Eny Yulianti, M.Si selaku dewan penguji skripsi. Terimakasih atas waktu, masukan, kritik dan saran demi kesempurnaan isi skripsi ini.
6. Seluruh dosen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mendidik, membimbing, mengamalkan serta membagi banyak ilmunya, pengalaman, wacana dan wawasannya dengan ikhlas dan sabar, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis. Semoga Allah selalu membalas jasa-jasa luhur beliau semua.
7. Kedua orang tuaku yang selalu menyayangiku, memotivasiku. Do'a dan pengorbananmu yang tulus selalu mengiringi langkahku. Beribu terimakasih saya haturkan atas apa yang kau berikan padaku selama ini, semoga Allah memberikan ridho dan pahala yang lebih baik kepadamu.
8. Keluarga dan kerabat yang telah memotivasiku. Semoga dibalas oleh Allah SWT sebagai amal yang baik.

9. Seluruh sahabat, teman dan saudara seperjuangan jurusan kimia angkatan 2010 Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberi motivasi, informasi, masukan dan senyumannya pada penulis.
10. Seluruh dulur-dulur di UNIOR UIN Maliki Malang yang telah memberikan dukungan motivasi maupun moral.
11. Semua pihak dan rekan-rekan yang ikut terlibat dan berpartisipasi dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan pada penulis, mendapatkan balasan yang jauh lebih baik dari Allah SWT. Penulis sangat menyadari banyaknya kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini.

Semoga apa yang penulis persembahkan ini memberikan manfaat bagi semua pembaca umumnya dan bagi diri sendiri khususnya dan semoga penyusunan skripsi ini mendapatkan ridho dari Allah SWT. Amiin yaa Rabbal'alamin.

Malang, 12 Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga (Rumput Laut) Merah	7
2.2 Ekstraksi Maserasi	10
2.3 Senyawa Triterpenoid	11
2.3.1 Triterpena	15
2.3.2 Steroid	17
2.3.3 Saponin	18
2.3.4 Glikosida Jantung	19
2.4 Kromatografi	20
2.4.1 Kromatografi Kertas (KKt) dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
2.4.2 Kromatografi Kolom	21
2.4.3 Kromatografi Gas Cair (KGC)	21
2.4.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	22
2.5 Pemisahan Senyawa Triterpenoid Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	22
2.6 Prinsip Penampakan Noda pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	24
2.6.1 Lampu UV 254 nm	24
2.6.2 Lampu UV 366 nm	25
2.7 Analisa Senyawa Triterpenoid	25
2.7.1 Analisa Senyawa Triterpenoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	25
2.7.2 Analisa Senyawa Triterpenoid Menggunakan Spektrofotometer FTIR	27
 BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	30
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	30

3.2.1	Alat Penelitian.....	30
3.2.2	Bahan Penelitian.....	30
3.3	Rancangan Penelitian.....	31
3.4	Tahapan Penelitian.....	31
3.5	Pelaksanaan Penelitian.....	32
3.5.1	Preparasi Sampel.....	32
3.5.2	Analisis Kadar Air.....	32
3.5.3	Ekstraksi Tanaman Alga Merah <i>Eucheuma Cottonii</i>	33
3.5.4	Uji Fitokimia.....	34
3.5.5	Pemisahan Senyawa Triterpenoid dengan KLT.....	34
3.5.5.1	Pemisahan Senyawa Triterpenoid dengan KLT Analitik.....	34
3.5.5.2	Pemisahan Senyawa Triterpenoid dengan KLT Preparatif....	36
3.5.6	Analisis Senyawa Triterpenoid.....	36
3.5.6.1	Analisis dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	36
3.5.6.2	Analisis dengan Spektrofotometer FTIR.....	37
3.6	Analisis Data.....	37
3.7	Jadwal Penelitian.....	38
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Preparasi Sampel.....	39
4.2	Analisis Kadar Air.....	39
4.3	Ekstraksi.....	41
4.4	Identifikasi dengan Uji Reagen.....	43
4.5	Kromatografi Lapis Tipis.....	44
4.5.1	Kromatografi Lapis Tipis Analitik.....	44
4.5.2	Kromatografi Lapis Tipis Preparatif.....	48
4.6	Analisa Senyawa Triterpenoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.....	49
4.7	Pemanfaatan Tanaman Alga Merah dalam Perspektif Islam.....	53
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan.....	55
5.2	Saran.....	55
 DAFTAR PUSTAKA.....		
LAMPIRAN – LAMPIRAN.....		62

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Kandungan air pada alga merah <i>Eucheuma cottonii</i>	40
Tabel 4.2 Variasi eluen dan jumlah noda pada KLTA.....	46
Tabel 4.3 Hasil KLTA eluen n-heksana : etil asetat (7:3)	47
Tabel 4.4 Hasil KLTP eluen n-heksana : etil asetat (7:3).....	49
Tabel 4.5 Data λ max isolat 10	51
Tabel 4.6 Interpretasi Spektra FTIR isolat 10	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Alga merah <i>Eucheuma cottonii</i>	7
Gambar 2.2 Struktur isoprena	11
Gambar 2.3 Struktur skualena.....	12
Gambar 2.4 Struktur azadiraktol.....	12
Gambar 2.5 Struktur kukurbitasin E	13
Gambar 2.6 Struktur korollatadiol	13
Gambar 2.7 Struktur lanosterol	13
Gambar 2.8 Struktur hopan-22-ol	14
Gambar 2.9 Struktur lupeol.....	14
Gambar 2.10 Struktur β -amirin.....	14
Gambar 2.11 Struktur asam fusidat.....	15
Gambar 2.12 Struktur α -amirin.....	16
Gambar 2.13 Struktur Limonin	16
Gambar 2.14 Struktur inti senyawa steroid.....	17
Gambar 2.15 Struktur stigmasterol	17
Gambar 2.16 Struktur inti senyawa saponin	18
Gambar 2.17 Inti steroid dan cincin lakton kardenolida dan bufadienolida	19
Gambar 2.18 Struktur strophanthidin.....	20
Gambar 4.1 Dugaan Reaksi pemutusan ikatan glikosida.....	42
Gambar 4.2 Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat	42
Gambar 4.3 Spektra UV-Vis isolat 10	50
Gambar 4.4 Spektra FTIR isolat 10	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja	62
Lampiran 2 Perhitungan Kadar Air.....	67
Lampiran 3 Perhitungan Rendemen.....	74
Lampiran 4 Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan	75
Lampiran 5 Dugaan Mekanisme Reaksi Triterpenoid pada Uji reagen.....	76
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian.....	77



ABSTRAK

Anam, K. 2015. **Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.**
Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si.; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd.; Konsultan: Suci Amalia, M.Sc.

Kata Kunci : Alga merah (*Eucheuma cottoni*), Isolasi Triterpenoid, KLT, UV-Vis, FTIR

Indonesia memiliki ribuan pulau dengan garis pantai yang sangat panjang dan memiliki berbagai komunitas hayati tropis yang khas, salah satunya alga merah (*Eucheuma cottonii*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui eluen terbaik untuk memisahkan senyawa triterpenoid menggunakan kromatografi lapis tipis dan analisisnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

Ekstraksi senyawa aktif alga merah (*Eucheuma cottonii*) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak pekat metanol kemudian dihidrolisis dengan HCl 2 N dan dinetralkan dengan natrium bikarbonat, kemudian diekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat. Pemisahan senyawa triterpenoid dilakukan menggunakan metode KLT analitik untuk mencari eluen terbaik dengan variasi eluen yaitu n-heksana : kloroform (1:1), n-heksana : etil asetat (1:1), n-heksana : aseton (7:3), n-heksana : kloroform (2:1), metanol : kloroform (7:3), metanol : kloroform (5:2), metanol : kloroform (1:2), n-heksana : diklorometana (1:9), n-heksana : etil asetat (12:1) dan n-heksana : etil asetat (7:3).

Penelitian ini menunjukkan bahwa eluen n-heksana : etil asetat (7:3) merupakan eluen terbaik. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid tersebut memiliki panjang gelombang 253,50 nm dan 238,50 nm. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid tersebut mempunyai gugus fungsi C-H, C-OH 1°, C=O dan C-O.

ABSTRACT

Anam, K. 2015. **Isolation Triterpenoid Compounds of Red Algae (*Eucheuma cottonii*) Using Thin Layer Chromatography (TLC) and analysis Using a Spectrophotometer UV-Vis and FTIR.** Supervisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Si. ; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M.Pd. ; Consultant: Suci Amalia, M.Sc.

Keywords: Red algae (*Eucheuma cottonii*), Isolation Triterpenoid, TLC, UV-Vis, FTIR

Indonesia has thousands of islands with a very long coastline and variety of tropical biological communities, such as red algae (*Eucheuma cottonii*). This study aims to determine the best eluent to separate the triterpenoid compounds using thin layer chromatography and analysis using UV-Vis spetrofotometer and FTIR.

Extraction maceration of the red algae (*Eucheuma cottonii*) was conducted using methanol. The crude extract obtained was hydrolyzed using HCl 2 N, neutralized with sodium bicarbonate and liquid extracted using ethyl acetate solvent. Separation of triterpenoid compounds was performed using analytical TLC method to find the best eluent. From the variations of n-hexane eluent: klorofotm (1: 1), n-hexane: ethyl acetate (1: 1), n-hexane: acetone (7: 3), n-hexane: chloroform (2: 1), methanol: chloroform (7: 3), methanol: chloroform (5: 2), methanol: chloroform (1: 2), n-hexane: dichloromethane (1: 9), n -heksana: ethyl acetate (12: 1) and n-hexane: ethyl acetate (7: 3).

The study showed that, the best eluent for separation of triterpenoid was n-hexane : ethyl acetate (7:3). The UV-Vis analysis of the suspected spot indicated that the compound had λ_{max} of 238.5 nm and 253.5 nm. The FTIR analysis showed that the compound had groups of C-H, C-OH 1°, C=O and C-O.

خلاصة

الأنام، خ. ٢٠١٥. عزل تريترفنيد من الطحالب الحمراء (اييو جيوما قطنى) عن طريق اللوني طبقة رقيقة (TLC) والتحليل باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-vis و FTIR. المشرف الأول : أحمد غنائم فشا، ماجستير.؛ المشرف الثاني : أحمد أبطخي، ماجستير.؛ مستشار:سوجي أماليا، ماجستير.

كلمات البحث: الطحالب الحمراء (اييو جيوما قطنى)، عزل تريترفنيد ، TLC ، UV-vis ، FTIR

ويوجد في اندونيسيا الآلاف من الجزر ولها ساحل طويل جدا ولها مجموعة متنوعة من المجتمعات البيولوجية فريدة نموذجي الاستوائية، والطحالب الحمراء واحد (اييو جيوما قطنى). هدف هذه الدراسة إلى تحديد أفضل شاطئ لفصل المركبات تريترفنيد باستخدام رقيقة اللوني طبقة والتحليل باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-vis و FTIR.

استخراج المركبات النشطة من الطحالب الحمراء (اييو جيوما قطنى) الذي قام به طريقة النقع باستخدام الميثانول. مستخلص الميثانول ثم تحلل مع حمض الهيدروكلوريك 2 N ومتعادلة مع بيكربونات الصوديوم، تم استخراج السائل حلاصة باستخدام خلاات الإيثيل المذيبات واختبارها باستخدام الكواشف ليبرمان-بورشار كاشف. تم تنفيذ الفصل بين المركبات تريترفنيد باستخدام طريقة TLC التحليلي للعثور على أفضل شاطئ مع الاختلافات التي شاطئ ن الهكسين: الكلوروفورم (١ : ١)، ن-الهكسان: خلاات الإيثيل (١ : ١)، ن-الهكسان: الأسيتون (٧ : ٣)، ن-الهكسان: الكلوروفورم (٢ : ١)، والميثانول: الكلوروفورم (٧ : ٣)، والميثانول: الكلوروفورم (٥ : ٢)، والميثانول: الكلوروفورم (١ : ٢)، ن-الهكسان: ثنائي كلورو ميثان (١ : ٩)، ن-الهكسان: خلاات الإيثيل (١٢ : ١) و ن-الهكسان: خلاات الإيثيل (٧ : ٣).

هذه الدراسة يدل النتائج أن شاطئ ن الهكسان: خلاات الإيثيل (٧ : ٣) أفضل شاطئ. أظهرت نتائج UV-Vis يدل أن المركب الواردة في مصنع تريترفنيد له طول موجة من ٢٥٣.٥٠ نانومتر و ٢٣٨.٥٠ نانومتر. أظهرت نتائج ويعتقد FTIR أن يكون المجموعات الوظيفية C-H, C-OH 1°, C=O, C-O.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara kepulauan yang sebagian besar wilayahnya adalah lautan. Menurut Bengen (2001), Indonesia memiliki pantai dengan panjang 81.000 Km yang memiliki potensi alga sangat tinggi. Tercatat sedikitnya ada 555 jenis alga di perairan Indonesia. Dari 555 jenis alga tersebut ada 4 suku alga yang dikenal, yakni alga biru (Cyanophyceae), alga hijau (Chlorophyceae), alga coklat (Phaeophyceae) dan alga merah (Rhodophyceae).

Alga merupakan salah satu sumberdaya alam yang memiliki tingkat keanekaragaman yang tinggi. Menurut Soenardjo (2011), alga merupakan tumbuhan laut yang tidak dapat dibedakan antara akar, daun dan batang, sehingga seluruh tubuhnya disebut thallus. Sebagaimana dalam firman Allah SWT dalam surat As Syuara' ayat 7 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. As-Syuara' : 7).

Alga merah (*Eucheuma cottonii*) banyak ditemukan tersebar di daerah pantai Jumiang Pamekasan, pantai Tanjung Sumenep dan daerah-daerah lain di perairan Madura. Hampir seluruh hasil produksinya yang jumlahnya mencapai puluhan ton pertahun diekspor dan sebagian besar dijadikan bahan makanan (Hayati dkk., 2006).

Alga merah adalah salah satu tumbuhan laut yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Menurut Afif (2012), alga merah jenis *Eucheuma cottonii* mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yakni, flavonoid, triterpenoid, dan alkaloid. Adapun fungsi dari metabolit sekunder yakni untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit. Tingkat toksisitas senyawa metabolit sekunder pada alga merah untuk ekstrak etil asetat dengan pelarut metanol menghasilkan nilai LC_{50} 143,43 ppm. Menurut Nurhayati dkk (2006), alga merah bersifat toksik terhadap *Artemia*, dengan nilai LC_{50} sebesar 23,3346 ppm yang menggunakan pelarut metanol.

Alga merah jenis *Eucheuma cottonii* memiliki kandungan senyawa polar yang lebih banyak dibandingkan senyawa nonpolar. Menurut Muhibah (2013), ekstrak metanol dan etil asetat dari alga merah jenis *Eucheuma cottonii* mengandung senyawa triterpenoid. Muhibah (2012) menyatakan, bahwa ekstrak metanol *Eucheuma cottonii* dari pesisir Lobuk Sumenep mengandung senyawa golongan triterpenoid. Penelitian Afif (2012), menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *Eucheuma cottonii* dari Sumenep mengandung senyawa triterpenoid. Meyer (2009) menyatakan, bahwa uji golongan fitokimia senyawa ekstrak metanol Alga merah dan coklat mengandung beberapa senyawa di antaranya flavonoid, flavon, alkaloid, triterpenoid dan steroid.

Triterpenoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri dan antioksidan. Menurut Ismarti (2011), hasil isolasi triterpenoid dari kulit batang meranti merah menggunakan fraksi etil asetat berfungsi sebagai antioksidan, dengan DPPH memberikan nilai EC_{50} sebesar 82 ppm dan menurut Sukadana

(2008), isolat triterpenoid dari biji pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 1000 ppm, dengan daerah hambat pada tiap bakteri secara berturut-turut yakni 10 mm dan 7 mm.

Segala sesuatu yang diciptakan di bumi pasti memiliki nilai guna, meskipun hal tersebut berupa penyakit. Karena dengan keberadaan penyakit itu, manusia akan mencari cara agar bisa mencegah maupun mengatasi penyakit tersebut. Namun dalam hal ini, Allah SWT lah yang akan menentukan apakah penyakit itu bisa cegah ataupun diatasi, karena manusia hanya bisa berusaha. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat As Syuara' ayat 80 :

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

“dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku” (QS. As-Syuara' : 80)

Keberadaan penyakit merupakan salah satu bentuk dinamika kehidupan yang diciptakan Allah. Ketika seseorang jatuh sakit, sesuatu yang amat didambakan adalah nikmatnya kesehatan. Untuk ini, ada proses berikutnya, yaitu perintah untuk berobat. Obat penawar setiap penyakit sudah disediakan Allah seperti dalam firmanNya:

وَنُنَزِّلُ مِنَ الْقُرْآنِ مَا هُوَ شِفَاءٌ وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ وَلَا يَزِيدُ الظَّالِمِينَ إِلَّا خَسَارًا ﴿٨٢﴾

“dan Kami turunkan dari Al Quran suatu yang menjadi penawar dan rahmat bagi orang-orang yang beriman dan Al Quran itu tidaklah menambah kepada orang-orang yang zalim selain kerugian” (QS. Al-Isra' : 82).

Triterpenoid merupakan famili terbesar ketiga dari terpenoid. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Senyawa tersebut dapat dijumpai pada bagian akar, batang, daun, buah maupun biji tanaman. Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik yang umum terdapat dalam tanaman berbiji (Felicia, 2009).

Triterpenoid dapat diisolasi dari berbagai tanaman menggunakan metode maserasi dan salah satu cara terbaik untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa triterpenoid adalah dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Harborne, 1987). Pemisahan senyawa golongan triterpenoid dengan KLT dapat menggunakan beberapa variasi eluen. Eluen-eluen yang akan digunakan adalah eluen yang memang khusus memisahkan senyawa-senyawa triterpenoid. Eluen ini diambil dari penelitian-penelitian terdahulu tentang pemisahan senyawa triterpenoid. Komposisi dari masing-masing eluen yang akan digunakan sudah cukup mewakili dari kepolaran senyawa triterpenoid.

Pentingnya senyawa triterpenoid dalam kehidupan, membuat penulis ingin melakukan isolasi senyawa triterpenoid dari alga merah. Penelitian ini diawali dengan mengekstrak alga merah menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol kemudian diekstrak dengan etil asetat dan diidentifikasi dengan reagen kimia, setelah itu diisolasi menggunakan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA) untuk mengetahui eluen terbaik dan dilanjutkan isolasi senyawa triterpenoid

menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), isolat yang diperoleh dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektroskopi FTIR.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apa eluen terbaik untuk memisahkan senyawa triterpenoid dari alga merah (*Eucheuma cottonii*) menggunakan metode KLTA ?
2. Bagaimana hasil analisis senyawa triterpenoid yang terdapat dalam alga merah (*Eucheuma cottonii*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR ?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa triterpenoid dari alga merah (*Eucheuma cottonii*) menggunakan metode KLTA
2. Menganalisis senyawa triterpenoid yang terdapat dalam tanaman alga merah (*Eucheuma cottonii*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah yang diambil dari sekitar perairan laut Sumenep, Madura
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut metanol dan diekstrak dengan etil asetat
3. Pemisahan triterpenoid dari alga merah menggunakan metode kromatografi lapis tipis

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah, bahwa ekstrak metanol alga merah yang dipartisi dengan etil asetat mengandung senyawa triterpenoid.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga (Rumput Laut) Merah

Alga (jamak *Algae*) adalah biota laut yang umumnya tumbuh melekat pada substrat tertentu, tidak mempunyai akar, batang maupun daun sejati tetapi hanya menyerupai batang yang disebut *thallus*. Alga tumbuh dengan mendekatkan dirinya pada karang lumpur, pasir, batu dan tumbuhan lain secara spesifik (Anggadiredja dkk., 2006).



Gambar 2.1 Alga merah (*Eucheuma cottonii*)

Menurut Doty (1985), *Eucheuma cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*Rhodophyceae*) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karaginan yang dihasilkan termasuk fraksi kappa-karaginan. Maka jenis ini secara taksonomi disebut *Kappaphycus alvarezii*.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Solieracea

Genus : *Eucheuma*

Species : *Eucheuma alvarezii* (*Eucheuma cottonii*)

Nama daerah '*cottonii*' umumnya lebih dikenal dan biasa dipakai dalam dunia perdagangan nasional maupun internasional.

Ciri fisik *Eucheuma cottonii* adalah mempunyai thallus silindris, permukaan licin, dan cartilogeneus (menyerupai tulang rawan/muda). Keadaan warna tidak selalu tetap, kadang-kadang berwarna hijau, hijau kuning, abu-abu atau merah. Perubahan warna sering terjadi hanya karena faktor lingkungan (Aslan, 1998).

Setiap jenis alga mempunyai perbedaan dalam proses metabolismenya. Pertumbuhan alga yang mempunyai perbedaan dalam kesesuaian faktor fisika dan kimia dapat dijelaskan dalam firman Allah SWT surat al Furqon ayat 53 :

وَهُوَ الَّذِي مَرَجَ الْبَحْرَيْنِ هَذَا عَذْبٌ فُرَاتٌ وَهَذَا مِلْحٌ أُجَاجٌ وَجَعَلَ بَيْنَهُمَا بَرْزَخًا وَحِجْرًا
مَّحْجُورًا

”Dan Dialah yang membiarkan dua laut yang mengalir (berdampingan); yang ini tawar lagi segar dan yang lain asin lagi pahit; dan Dia jadikan antara keduanya dinding dan batas yang menghalangi“(QS.25:53)”.

Ayat di atas menjelaskan bahwa dua lautan yang bertemu dan dipisahkan oleh dinding batas. Akibat adanya batas ini, menjadikan laut yang satu mempunyai karakter yang berbeda, yaitu dalam suhu, kadar keasinan (salinitas), berat jenis, dan tekanan dengan laut yang berdampingan dengannya, oleh karenanya, makhluk hidup seperti alga mempunyai karakter yang berbeda pula antara jenis satu dengan lainnya ataupun dari tempat satu dengan lainnya.

Alga merah memiliki pigmen fikoeretrin (*phycoerethrin*) dan fikosianin (*phycocyanin*) yang struktur dasarnya pirol dan berprotein. Fikoeretrin adalah

pigmen yang berwarna merah cerah dan memancarkan warna oranye, sedangkan fikosianin berwarna biru dan memancarkan warna merah tua. Alga merah mempunyai sifat adaptik kromatik, yaitu mempunyai penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan sehingga pada kenyataan di alam, alga merah menunjukkan variasi warna lain seperti pirang, violet, merah tua, merah muda, cokelat, kuning dan hijau (Atmadja dkk., 1996).

Fikosianin merupakan salah satu dari tiga pigmen (klorofil, fikosianin dan karotenoid) yang mampu menangkap radiasi yang tersedia dari matahari paling efisien. Fikosianin bermanfaat dalam proses fotosintesis karena merupakan prekursor bagi klorofil dan hemoglobin dengan kandungan magnesium dan besi (Suhartono dan Angka, 2000).

Perbedaan warna yang didasarkan atas perbedaan kandungan pigmen tersebut telah dijelaskan dalam surat az Zumar ayat 21 tentang tanaman yang memiliki bermacam-macam warna:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنْبِيعٌ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا
أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهَيِّجُ فَتَرَهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَمًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿٢١﴾

“Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa Sesungguhnya Allah SWT menurunkan air dari langit, Maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal.” “(QS.39:21)”.

Pada ayat diatas, Allah SWT telah menunjukkan kekuatan besarNya dalam menciptakan dua unsur yang berbeda, bagaimana Dia telah menciptakan dua laut (jenis air). Laut, segar lezat (jenis air) yang masing-masing mempunyai sifat yang

berbeda, ada yang berasa manis, pahit dan asin. Dan laut merupakan karunia Allah SWT yang sangat besar untuk dimanfaatkan dan disyukuri, salah satu cara mensyukuri nikmat tersebut dengan melakukan telaah ilmu dan penelitian kelautan.

Ayat ini menyebutkan proses terjadinya mutiara, serta pemanfaatan hewan dan tumbuhan laut untuk dijadikan obat dan makanan bagi manusia, salah satunya yaitu rumput laut yang mempunyai manfaat yang sangat banyak bagi kebutuhan manusia. Sehingga dari nikmat yang besar ini, manusia diwajibkan bersukur karena Allah SWT telah menciptakan lautan dan isinya yang sangat kompleks dan beragam untuk dimanfaatkan secara luas. Dan semua ini dengan kasih karunia dan rahmatNya.

2.2 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan metode perendaman sampel dengan pelarut organik pada perlakuan temperatur ruangan yang akan mudah pelarut terdistribusi ke dalam sel tumbuhan. Secara umum ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari seluruh bagian tumbuhan seperti bunga, buah, daun, kulit batang dan akar menggunakan metode maserasi (Lenny, 2006).

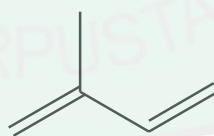
Proses maserasi ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik, dan

ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Metode maserasi ini sangat menguntungkan karena pengaruh suhu dapat dihindari, suhu yang tinggi kemungkinan akan mengakibatkan terdegradasinya senyawa-senyawa metabolit sekunder (Widodo, 2007).

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut etanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Darwis, 2000).

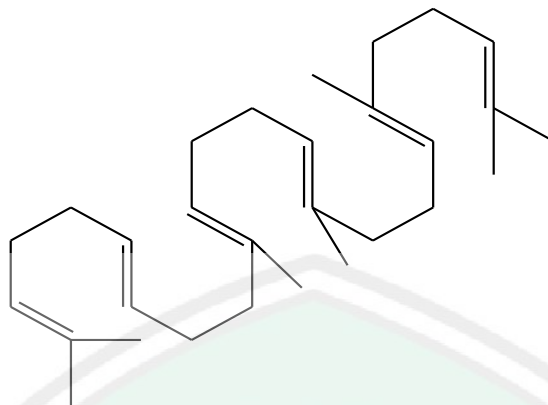
2.3 Senyawa Triterpenoid

Terpena merupakan senyawa organik bahan alam yang terdapat dalam metabolit sekunder tanaman, mencakup mono, seskui, di, tri dan senyawa politerpena. Senyawa terpena dikaitkan terhadap bentuk strukturnya yang merupakan kelipatan satuan lima atom karbon (isoprena) (Sastrohamidjojo, 1996).



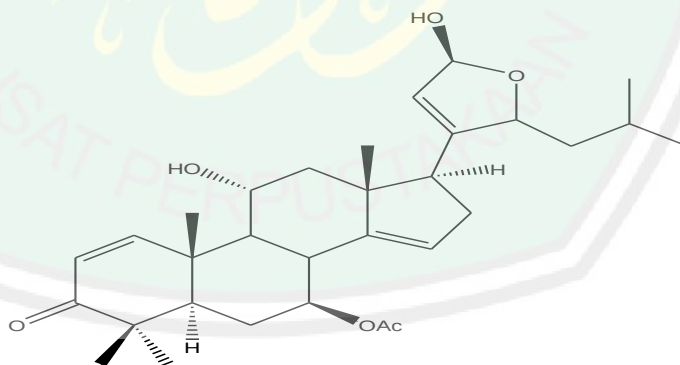
Gambar 2.2 Struktur isoprena (Sirait, 2007)

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, 1987).

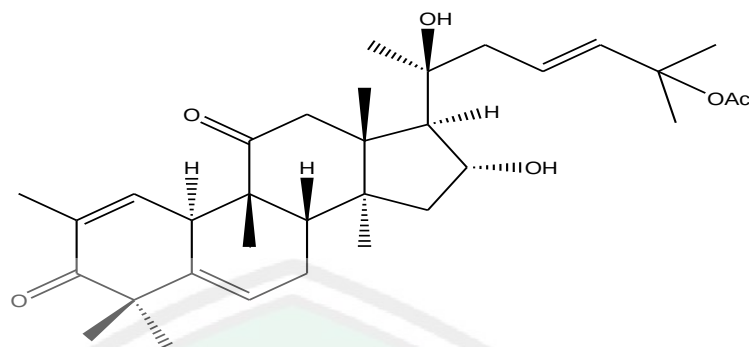


Gambar 2.3 Struktur skualena (Sirait, 2007)

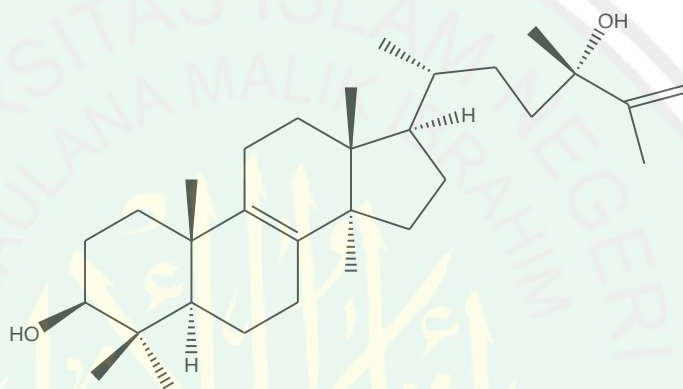
Skualen induk semua triterpenoid, merupakan senyawa asiklik linier. Kebanyakan triterpenoid berada dalam bentuk siklik, triterpen tetra dan penta siklik merupakan jenis yang paling banyak. Adanya triterpen siklik ini, menyebabkan adanya variasi yang nyata pada sejumlah kelompok struktur triterpenoid. Beberapa struktur utama triterpenoid tetrasiklik ditunjukkan pada gambar di bawah ini (Sarker dan Nahar, 2009) :



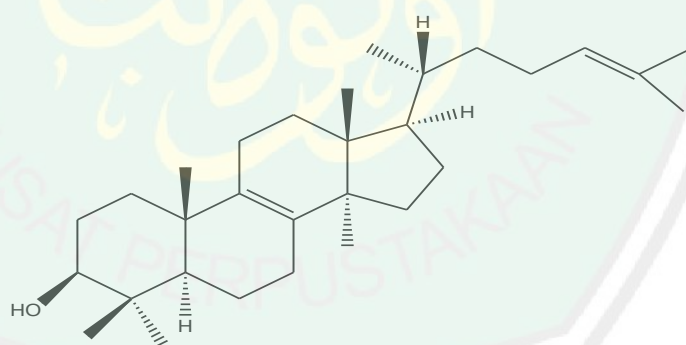
Gambar 2.4 Struktur azadiraktol



Gambar 2.5 Struktur kukurbitasin E

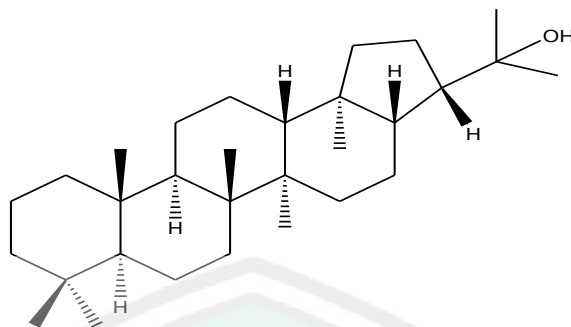


Gambar 2.6 Struktur korolladiol

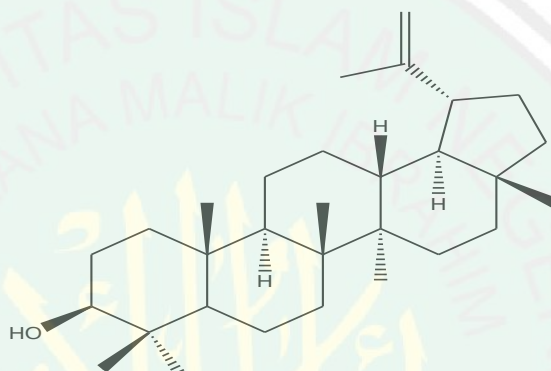


Gambar 2.7 Struktur lanosterol

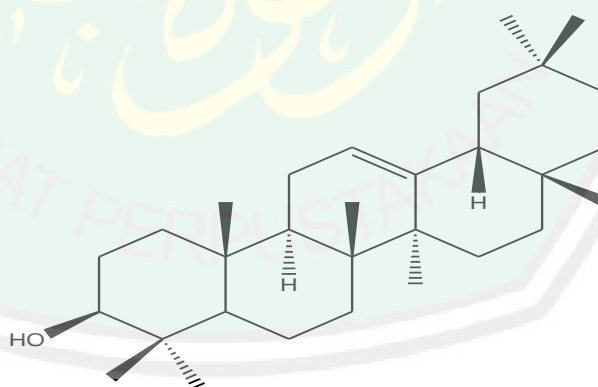
Jenis struktur utama triterpenoid pentasiklik ditunjukkan pada gambar di bawah ini (Sarker dan Nahar, 2009):



Gambar 2.8 Struktur hopan-22-ol



Gambar 2.9 Struktur lupeol

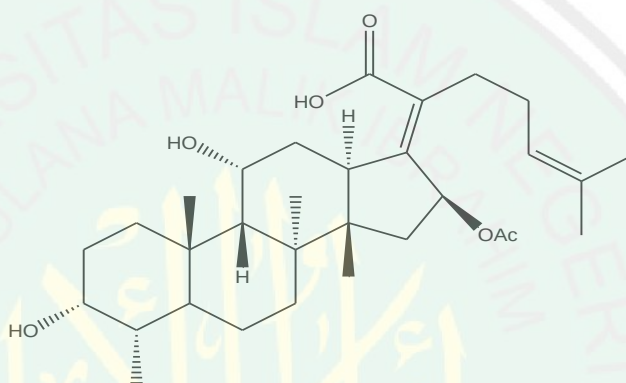


Gambar 2.10 Struktur β -amirin

Triterpenoid dapat dibagi atas 4 kelompok senyawa, yaitu triterpen sebenarnya, steroid, saponin dan glikosida jantung. Kedua kelompok terakhir

disebut triterpen esensial atau steroid yang umumnya terdapat dalam tanaman sebagai glikosida (Sirait, 2007).

Sejumlah triterpenoid merupakan senyawa-senyawa bioaktif dan digunakan dalam pengobatan. Sebagai contoh, asam fusidat merupakan suatu metabolit fungi yang bereaksi sebagai anti-mikroba, yang diisolasi dari *Fusidium coccineum* (Sarker dan Nahar, 2009).



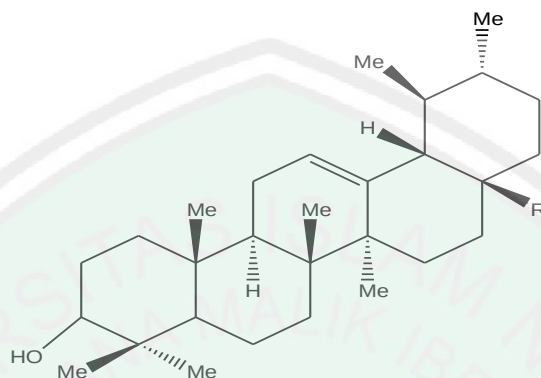
Gambar 2.11 Struktur asam fusidat

2.3.1 Triterpena

Senyawa triterpena terdapat dalam bentuk asiklik maupun siklik. Banyak triterpena dikenal dalam tumbuhan dan secara berkala senyawa baru ditemukan dan dicirikan. Sampai saat ini hanya beberapa saja yang diketahui tersebar luas yaitu triterpena pentasiklik α -amirin dan β -amirin serta asam turunannya, yaitu asam ursolat dan asam uleanolat. Triterpena tertentu terkenal karena rasanya, terutama kepahitannya, misalnya limonin. Senyawa ini termasuk dalam triterpena pentasiklik sebagai limonoid dan kuasinoid (Harborne, 1987).

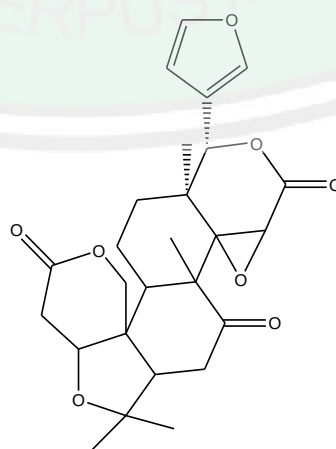
Menurut Zetra dan Prasetya (2007), ekstrak dari kulit batang tumbuhan *Beilschmiedia Roxburghiana* setelah dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis, inframerah, C-NMR dan H-NMR menunjukkan bahwa senyawa yang

diperoleh merupakan suatu triterpenoid pentasiklik dengan nama senyawa α -amirin dengan kerangka dasar ursan.



Gambar 2.12 Struktur α -amirin

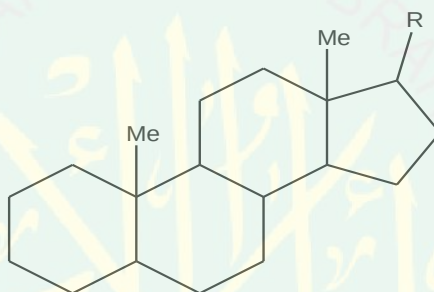
Triterpenoid merupakan senyawa yang berwarna, kristalinn mempunyai titik lebur tinggi dan umumnya sulit untuk dikarakterisasi karena secara kimia tidak reaktif. Uji reagen yang sering digunakan yakni dengan Liebrmann-Burchad (asam asetat anhidrida- H_2SO_4 pekat) yang membentuk warna biru hijau untuk sebagian besar triterpen (Sirait, 2007).



Gambar 2.13 Struktur Limonin

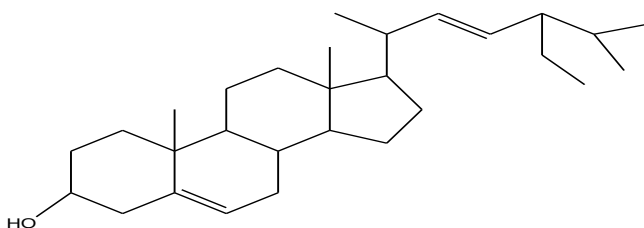
2.3.2 Steroid

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. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid (Poedjiadi, 1994).



Gambar 2.14 Struktur inti senyawa steroid

Inti steroid dasar sama dengan inti lanosterol dan triterpenoid tetrasiklik lain, tetapi hanya pada dua gugus metil yang terikat pada sistem cincin, pada posisi 10 dan 13. Nama “sterol” dipakai khusus untuk steroid alkohol, tetapi karena praktis semua steroid tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksil C-3, sering kali semuanya disebut sterol (Robinson, 1995).



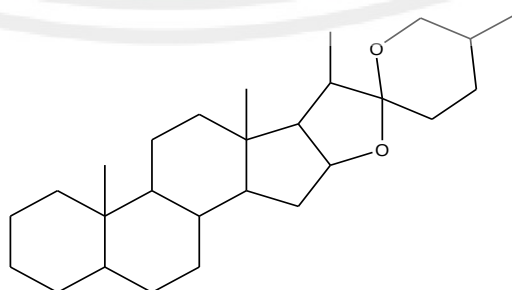
Gambar 2.15 Struktur stigmasterol (Sirait, 2007)

Masroh (2010) menyatakan, bahwa senyawa yang terkandung dalam daun pecut kuda merupakan golongan senyawa steroid berdasarkan hasil uji fitokimianya. Karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer inframerah dan spektrofotometer UV-Vis diperkirakan senyawa yang terkandung dalam daun pecut kuda itu diduga senyawa stigmasterol yang termasuk golongan steroid.

2.3.3 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Cheeke, 2004).

Saponin dibedakan sebagai saponin triterpenoid dan saponin steroid. Saponin triterpenoid umumnya tersusun dari sistem cincin oleanana dan ursana. Glikosidanya mengandung 1-6 unit monosakarida (glukosa, galaktosa, ramnosa) dan aglikonnya disebut sapogenin yang mengandung satu atau dua gugus karboksil. Saponin triterpenoid ini dapat menghemolisis sel darah merah, sedangkan saponin steroid mempunyai gugus gula lebih sedikit dan tidak dapat menghemolisis sel darah merah. Sapogenin steroid tidak mengikat gugus hidroksil (Louis, 2004).



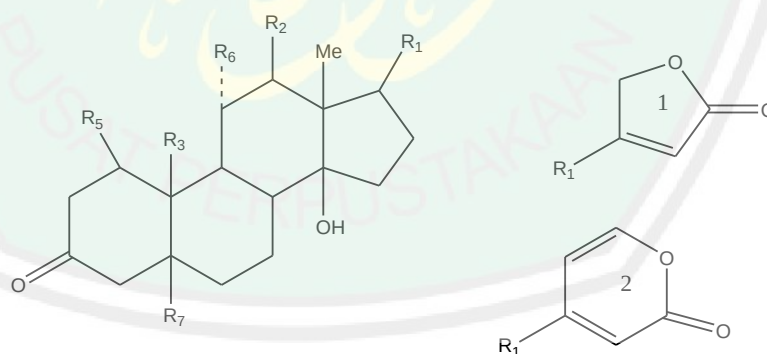
Gambar 2.16 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

Saponin bila terhidrolisis akan menghasilkan aglikon yang disebut sapogenin. Ini merupakan suatu senyawa yang mudah dikristalkan lewat asetilasi sehingga dapat dimurnikan dan dipelajari lebih lanjut. Saponin yang berpotensi keras atau beracun seringkali disebut sebagai saptotoksin (Najib, 2006).

2.3.4 Glikosida Jantung

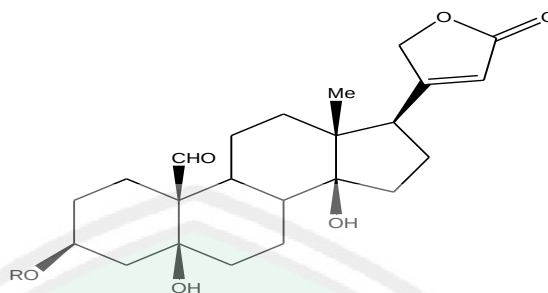
Glikosida jantung adalah salah satu golongan triterpenoida, dimana kerangka dasarnya sama dengan triterpenoid dan steroid, akan tetapi pada atom C17 berikatan langsung dengan senyawa glikosida atau senyawa turunan furan. Senyawa glikosida jantung ini sukar dihidrolisa sebab ikatan glikosidanya tidak sama dengan ikatan glikosida pada senyawa saponin (Najib, 2006).

Secara kimiawi bentuk struktur glikosida jantung sangat mirip dengan asam empedu yaitu bagian gula yang menempel pada posisi tiga dari inti steroid dan bagian aglikonnya berupa steroid yang terdiri dari dua tipe yaitu tipe kardenolida dan tipe bufadienolida (Najib, 2006).



Gambar 2.17 Inti steroid dan cincin lakton kardenolida (1) dan bufadienolida (2) (Winnicka *et al*, 2006)

Matsufuji *et al.* (2001) menyatakan, bahwa pada tanaman *Corchorus olitorius* terdapat suatu senyawa yang sangat penting dalam bidang farmasi yaitu senyawa strophanthidin yang terkandung dalam biji tanaman tersebut.



Gambar 2.18 Struktur Strophanthidin

2.4 Kromatografi

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) (Gandjar dan Rahman, 2008).

Metode pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan terutama dilakukan dengan menggunakan salah satu dari empat teknik atau gabungan teknik tersebut (Harborne, 1987).

2.4.1 Kromatografi Kertas (KKt) dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT),

Kedua cara ini serupa dalam hal fase diamnya berupa lapisan tipis dan fase geraknya mengalir karena kerja kapiler. Perbedaannya dalam sifat dan fungsi fase diam (Gritter, 1991).

1. Kromatografi Kertas

Proses isolasi yang terjadi berdasarkan adsorpsi dan partisi. Adsorpsi adalah senyawa kimia dapat terpisah-pisah disebabkan oleh daya serap adsorban terhadap tiap-tiap komponen kimia tidak sama, sedangkan partisi adalah kelarutan tiap-tiap komponen kimia dalam cairan pengelusi (eluen) tidak sama dimana arah gerakan

eluen disebabkan oleh gaya sentrifugal sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda-beda yang menyebabkan terjadi pemisahan (Hostettmann dkk., 1995).

2. Kromatografi Lapis Tipis

Proses isolasi yang terjadi berdasarkan perbedaan daya serap dan daya partisi serta kelarutan dari komponen-komponen kimia yang akan bergerak mengikuti kepolaran eluen, oleh karena daya serap adsorben terhadap komponen kimia tidak sama, maka komponen bergerak dengan kecepatan yang berbeda sehingga hal inilah yang menyebabkan pemisahan (Hostettmann dkk., 1995).

2.4.2 Kromatografi Kolom

Pelarut (fase gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan oleh gaya berat atau didorong dengan tekanan. Pita senyawa linarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah dan dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari alas kolom (Gritter, 1991).

2.4.3. Kromatografi Gas Cair (KGC)

Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solute dengan fase diam. Fase diam berupa gas akan mengelusi solute dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detector. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi (Gandjar dan Rahman, 2008) :

Ada 2 jenis kromatografi gas :

1. Kromatografi gas-cair (KGC), Pada KGC fase diam yang digunakan adalah cairan yang diikatkan pada suatu pendukung sehingga solute akan terlarut dalam fase diam. Mekanisme sorpsi-nya adalah partisi.
2. Kromatografi gas-padat (KGP), pada KGP digunakan fase diam padatan (kadang-kadang polimerik). Mekanisme sorpsi-nya adalah adsorpsi.

2.4.4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

KCKT dapat disamakan dengan KGC dalam hal kepekaan dan kemampuan menghasilkan data kualitatif dan kuantitatif dengan sekali kerja saja. Perbedaannya adalah fase diam yang terikat pada polimer berpori terdapat pada kolom baja tahan karat yang bergaris tengah kecil dan fase gerak cair mengalir akibat tekanan yang besar. Maka dari berbagai kromatografi diatas, penggunaan untuk kualitatif dapat digunakan KKt dan KLT serta KGC dan KCKT. Untuk penggunaan kuantitatif dan untuk pemurnian (isolasi) maka dapat dipertimbangkan penggunaan beberapa metode berikut, yaitu (Harborne, 1987) :

1. KLT preparatif
2. Kromatografi kolom (termasuk kromatografi gas dan kromatografi cair kinerja tinggi).

2.5 Pemisahan Senyawa Triterpenoid Menggunakan Kromatografi Lapis

Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan dan uji senyawa kimia secara kualitatif dan kuantitatif. Gritter dkk (1991) menyatakan, bahwa kromatografi lapis tipis (KLT) pada hakikatnya melibatkan 2 perubah yaitu sifat

fasa diam atau sifat lapisan dan sifat fasa gerak atau campuran pelarut pengembang.

Fase diam dalam KLT merupakan suatu lapisan dibuat dari bahan-bahan berbutir halus yang ditempatkan pada suatu lempengan yang berfungsi sebagai permukaan penyerap (Sastrohamidjojo, 1991). Silika gel GF₂₅₄ merupakan fase diam yang paling sering digunakan (Octavia, 2009).

Pendeteksian bercak hasil pemisahan dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu dengan pereaksi kimia dan sinar lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Octavia, 2009). Parameter dalam kromatografi lapis tipis adalah faktor retensi (Rf), merupakan perbandingan jarak yang ditempuh solut dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Adapun rumusnya sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}} \quad (2.1)$$

Jarak yang ditempuh eluen

Harga Rf komponen murni dapat dibandingkan dengan harga Rf senyawa standar, karena pada kondisi tertentu suatu senyawa akan memiliki harga Rf yang sama. Faktor-faktor yang mempengaruhi harga Rf antara lain: tebal lapisan penyerap, kadar air, jenis eluen, suhu, tingkat kejenuhan bejana oleh uap eluen dan ukuran partikel (Octavia, 2009).

Triterpenoid dapat dipisahkan dengan KLT memakai pengembang seperti heksana : etil asetat (1:1) dan kloroform : metanol (10:1) dengan pendeteksi antimon klorida dalam kloroform akan tetapi, beberapa campuran triterpenoid tidak mudah dipisahkan seperti α -amirin. Senyawa α -amirin hanya dapat dipisahkan dengan baik jika dikromatografi memakai n-butanol : NH₄OH 2M

(1:1) (Harborne, 1987). Zetra dan Prasetya (2007) menyatakan, bahwa senyawa α -amirin dapat dipisahkan dengan campuran eluen n-heksana : diklorometana (1:9) dan dengan pereaksi Lieberman-Burchard menghasilkan warna merah pada isolasi senyawa α -amirin dari tumbuhan *Beilschmiedia Roxburghiana*.

Eluen kloroform : metanol (3:7) dengan pereaksi Lieberman-Burchard dapat memisahkan ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) yang isolatnya positif mengandung triterpenoid dengan menghasilkan warna ungu muda (Gunawan, dkk., 2008). Eluen kloroform : metanol (10:1) dengan pereaksi Carr-Price (larutan antimon klorida 20% dalam kloroform) dapat memisahkan isolat yang mengandung triterpenoid (Harborne, 1987).

2.6 Prinsip Penampakan Noda Pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lapisan tipis sering mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator fluoresensi ialah senyawa yang memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar UV. Jadi, lapisan yang mengandung indikator fluoresensi akan bersinar jika disinari pada panjang gelombang yang tepat. Sinar uv yang digunakan biasanya pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

2.6.1 UV 254 nm

Pada UV 254 nm lempeng akan berfluoresensi, sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat

energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi (Sudarmadji, 1996).

Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik jenis apa saja, sinar UV yang mengeksitasi tidak dapat mencapai indikator fluoresensi, dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya ialah bercak gelap dengan latar belakang yang bersinar (Gritter dkk., 1991).

2.6.2 UV 366 nm

Pada UV 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak pada lampu UV 366 terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Sudarmadji, 1996).

2.7 Analisa Senyawa Triterpenoid

2.7.1 Analisa Senyawa Triterpenoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah absorpsi sinar UV-Vis oleh molekul/atom yang disebabkan promosi elektron dari keadaan elektronik dasar ke keadaan tereksitasi. Spektrum yang diabsorpsi oleh suatu senyawa adalah sejumlah sinar yang diserap oleh satu senyawa pada panjang gelombang tertentu.

Untuk senyawa berwarna akan memiliki satu atau lebih penyerapan spektrum yang tertinggi di daerah spektrum tampak (400-700 nm). Spektrum yang terserap pada ultra violet (200-400 nm) dan daerah nampak terjadi karena adanya perubahan energi elektron terluar dari molekul yang disebabkan adanya ikatan atau bukan ikatan. Umumnya elektron yang berpindah tempat ini disebabkan adanya ikatan rangkap karbon-karbon atau pasangan nitrogen dengan oksigen (Sudarmadji, 1996).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum UV-Vis tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektrum UV-Vis dari senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi elektron diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Tetapi dalam praktek, UV-Vis digunakan terbatas pada sistem-sistem terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 2001). Transisi yang penting pada daerah ultraviolet dan tampak yaitu transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$, sedangkan transisi $n \rightarrow \sigma^*$ jarang terjadi (Fessenden dan Fessenden, 1999).

Sukadana dkk (2008) menyatakan, bahwa hasil identifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dalam biji pepaya menunjukkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 228,5 nm yang kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron $n - \sigma^*$ dari kromofor C=O dan juga serapan yang landai pada panjang gelombang 287,7 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektronik $n - \pi^*$ dari ikatan rangkap C=O. Hasil serapan ini didukung dengan data dari spektroskopi inframerah kemungkinan merupakan senyawa golongan triterpenoid aldehida. Rita (2010) menyatakan, bahwa senyawa golongan

triterpenoid asam karboksilat pada rimpang temu putih juga mempunyai transisi elektron yang sama dengan triterpenoid aldehida pada biji pepaya. Munculnya serapan maksimum pada panjang gelombang 242 nm diduga diakibatkan oleh adanya transisi elektron dari $n \rightarrow \sigma^*$ yang disebabkan oleh adanya suatu kromofor $C=O$. Serapan landai pada panjang gelombang 280 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron dari $n \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap $C=O$.

2.7.2 Analisa Senyawa Triterpenoid Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Pada dasarnya Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) adalah sama dengan Spektrofotometer IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra merah melewati sampel. Spektrofotometer IR dispersi menggunakan prisma (grating) sebagai pengisolasi radiasi, sedangkan spektrofotometer FTIR menggunakan interferometer yang dikontrol secara otomatis dengan komputer. Jika sinar inframerah dilewatkan melalui sampel senyawa organik, maka terdapat sejumlah frekuensi yang diserap dan ada yang diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Serapan cahaya oleh molekul tergantung pada struktur pada struktur elektronik dari molekul tersebut. Molekul yang menyerap energi tersebut terjadi perubahan energi vibrasi dan perubahan tingkat energi rotasi (Suseno dan Firdausi, 2008). Spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif (Hayati, 2007).

Spektroskopi inframerah adalah suatu metoda analisis yang didasarkan pada penyerapan sinar inframerah. Fungsi utama dari spektroskopi inframerah adalah untuk mengenal struktur molekul (gugus fungsional). Spektroskopi

inframerah adalah grafik dari persentase transmitansi dengan panjang gelombang atau penurunan frekuensi. Tiap lekukan yang disebut gelombang atau puncak menunjukkan adsorpsi dari radiasi inframerah oleh cuplikan pada frekuensi tersebut (Iskandar, 2007). Kegunaan paling penting dari spektroskopi inframerah adalah untuk identifikasi senyawa organik, karena spektrumnya sangat kompleks dan terdiri dari banyak puncak-puncak. Spektrum inframerah mempunyai sifat fisik dan karakteristik yang khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektrum yang berbeda (Hayati, 2007).

Sukadana dkk (2007) menyatakan, bahwa hasil identifikasi dalam ekstrak kental n-heksana dari batang brotowali menunjukkan bahwa kemungkinan termasuk senyawa golongan triterpenoid. Data spektrum inframerah isolat menunjukkan terjadi serapan melebar dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $3435,9\text{ cm}^{-1}$ yang diduga serapan untuk gugus O-H dan didukung dengan adanya serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $1241,2\text{ cm}^{-1}$ dan $1108,1\text{ cm}^{-1}$ yang diduga merupakan gugus C-O *stretching*. Adanya pita tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $2921,3\text{ cm}^{-1}$ dan $2850,3\text{ cm}^{-1}$ diduga menunjukkan adanya gugus C-H *stretching* alifatik yang didukung oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang $1495,9\text{ cm}^{-1}$ dan $1457,3\text{ cm}^{-1}$ yang diduga menunjukkan adanya gugus C-H *bending* alifatik. Serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $1717,7\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=O *stretching*. Adanya serapan pada daerah bilangan gelombang $1654,4\text{ cm}^{-1}$ diduga dari gugus C=C *stretching* alifatik.

Rita (2010) menyatakan, bahwa dalam ekstrak rimpang temu putih menunjukkan bahwa isolat kemungkinan termasuk senyawa golongan triterpenoid asam karboksilat. Data spektrum inframerah isolat triterpenoid menunjukkan adanya pita serapan melebar dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $3425,58\text{ cm}^{-1}$ yang diduga serapan dari gugus -OH terikat. Adanya gugus -OH ini didukung dengan munculnya serapan kuat pada bilangan gelombang $1242,16\text{ cm}^{-1}$ dari C-O alkohol. Pita serapan yang tajam dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang $2924,09\text{ cm}^{-1}$ dan $2854,65\text{ cm}^{-1}$ diduga mengandung gugus -CH alifatik *stretching*. Dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang $1450,47\text{ cm}^{-1}$ dan $1381,03\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan dari -CH_2 dan -CH_3 *bending*. Serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $1728,22\text{ cm}^{-1}$ diduga karena adanya gugus fungsi C=O dari suatu asam karboksilat, sedangkan munculnya pita serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $1620,21\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus fungsi -C=C alifatik *stretching*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari 2014 sampai bulan April 2014 di Laboratorium Kimia Organik, Kimia Analitik, Bioteknologi Jurusan Kimia, Bioteknologi Jurusan Biologi dan Laboratorium Instrumentasi UV-Vis dan FTIR Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim (MALIKI) Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan 80-100 mesh, *hot plate*, pisau, *blender*, *aluminium foil*, *desikator*, *oven*, cawan penguap, kaca arloji, timbangan analitik, gelas ukur, *erlenmeyer*, pengaduk kaca, penyaring *buchner*, *shakker*, *rotary evaporator*, *beaker glass*, pipa kapiler, bola hisap, pipet tetes, pipet ukur, pipet mikro, labu ukur, plat silika gel GF₂₅₄, lampu UV 254 nm dan 366 nm seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis merk varian cary 50 conc dan spektrofotometer FTIR merk varian tipe FT 1000.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian tanaman alga merah jenis *Eucheuma cottonii* yang diperoleh dari sekitar perairan laut Sumenep, Madura.

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: aseton, asam sulfat pekat, HCl 2 N, kloroform p.a, natrium bikarbonat, etil asetat p.a, metanol p.a, aquades, n-heksana, diklorometana, asam asetat anhidrat, etanol dan KBr.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel yang diambil adalah Alga merah jenis *Eucheuma cottonii*. Tahap pertama dilakukan preparasi sampel dan dilanjutkan dengan penentuan kadar air, kemudian serbuk sampel diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol sehingga diperoleh ekstrak cair dari tanaman alga merah. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak tersebut dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan dinetralkan menggunakan natrium bikarbonat kemudian dipartisi dengan etil asetat. Kemudian ekstrak tersebut diidentifikasi dengan uji reagen. Selanjutnya dilakukan pemisahan terhadap senyawa triterpenoid dengan KLTA berdasarkan berbagai campuran eluen. Eluen yang memberikan pemisahan paling baik pada KLTA digunakan untuk memisahkan senyawa triterpenoid dengan KLTP. Selanjutnya Isolat triterpenoid dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Preparasi Sampel,
2. Analisis Kadar Air,

3. Ekstraksi komponen aktif dari tanaman alga merah menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol dilanjutkan dengan hidrolisis menggunakan larutan HCl 2 N dan dipartisi dengan etil asetat,
4. Identifikasi senyawa triterpenoid dengan uji reagen
5. Pemisahan senyawa triterpenoid menggunakan metode KLTA dan dilanjutkan pemisahan senyawa triterpenoid menggunakan metode KLTP,
6. Analisis golongan triterpenoid :
 - 7.2 Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis
 - 7.2 Analisis dengan spektrofotometer FTIR
7. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel tanaman alga merah yaitu seluruh bagian tanaman diambil sebanyak 5 Kg, kemudian dicuci dan dikeringanginkan. Selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu sekitar 38 °C selama 24 jam, kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan mesin penghalus dan blender sampai terbentuk serbuk, diayak dengan ukuran 80-100 mesh.

3.5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan pada semua bagian alga merah. Cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-150 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Serbuk alga merah dimasukkan

ke dalam cawan yang telah diketahui berat konstannya sebanyak 5 gram dan dikeringkan kedalam oven pada suhu 100-105 °C selama 15 menit, kemudian sampel disimpan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven selama 15 menit, disimpan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan.

Kadar air dalam tubuh alga merah dihitung menggunakan Persamaan 3.1 :

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \text{ (AOAC, 1984)} \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan : a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \dots\dots\dots(3.2)$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \dots\dots\dots(3.3)$$

3.5.3 Ekstraksi Tanaman Alga merah (*Eucheuma cottonii*)

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman dengan pelarut metanol. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan karena dimungkinkan bahwa kandungan senyawa pada tanaman sudah cukup banyak yang terekstrak pada masing-masing tahapnya. Serbuk tanaman alga merah ditimbang sebanyak 120 gram dan diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol 600 mL di dalam erlenmeyer dan diaduk dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) selama 3 jam. Kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama sampai 3 kali pengulangan sampai diperoleh filtrat yang cukup bening. Selanjutnya ketiga filtrat yang diperoleh kemudian digabung menjadi satu.

Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C dan tekanan -750 Hpa, sampai diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak pekat tersebut dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan dinetralkan dengan natrium bikarbonat, kemudian dipartisi dengan etil asetat sehingga menghasilkan fase organik dan fase air. Fase organik yang diperoleh diuapkan pelarutnya sampai pelarutnya habis menguap.

3.5.4 Uji fitokimia

Uji fitokimia isolat terpenoid dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol, kloroform dan metanol dari tanaman alga merah dilarutkan dengan masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji triterpenoid (Indrayani dkk., 2006).

Isolat triterpenoid dari tanaman alga merah 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 tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid.

3.5.5 Pemisahan Senyawa Triterpenoid dengan KLT

3.5.5.1 Pemisahan Senyawa Triterpenoid dengan KLT Analitik

Pada pemisahan dengan KLT digunakan plat silika gel GF₂₅₄ yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60-70 °C selama 10 menit. Masing-masing plat dengan ukuran 1x10 cm. Ekstrak tanaman alga merah ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan beberapa campuran fase gerak. Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda-noda pada

permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya. Selanjutnya dengan memperhatikan bentuk noda pada berbagai larutan pengembang ditentukan perbandingan larutan pengembang yang paling baik untuk keperluan preparatif. Pengembang dan reagen penguji masing-masing golongan senyawa triterpenoid adalah sebagai berikut:

1. Eluen n-heksana : etil asetat (1:1) dengan pereaksi Lieberman-Burchard (Rita, 2010) dan pereaksi H_2SO_4 pekat 10 % dalam metanol akan menghasilkan warna merah (Arifin dkk., 2006).
2. Eluen n-heksana : etil asetat (7:3) dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna hijau kebiruan (Masroh, 2010).
3. Eluen n-heksana : etil asetat (12:1) dengan pereaksi vanilin-asam sulfat akan menghasilkan warna ungu dan ungu kemerahan (Nisa' dkk., 2006).
4. Eluen n-heksana : aseton (7:3) dengan pereaksi H_2SO_4 10 % dalam metanol dan pereaksi Lieberman-Burchard menghasilkan warna biru keunguan sampai coklat (Syamsudin dkk., 2007).
5. Eluen n-heksana : kloroform (2:1) dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna merah ungu (Sukadana dkk., 2007).
6. Eluen n-heksana : kloroform (1:1) dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna merah ungu (Sukadana dkk., 2007).
7. Eluen metanol : kloroform (5:2) dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna merah ungu (Sukadana dkk., 2007).
8. Eluen metanol : kloroform (1:2) dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna merah ungu (Sukadana dkk., 2007).

9. Eluen metanol : kloroform (7:3) dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna ungu muda (Gunawan dkk., 2008).

10. Eluen n-heksana : diklorometana (1:9) dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna merah (Zetra dan Prasetya, 2007).

Bercak noda yang dihasilkan pada masing-masing plat KLT selanjutnya dihitung nilai Rf-nya. Eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik selanjutnya digunakan untuk KLTP.

3.5.5.2 Pemisahan Senyawa Triterpenoid dengan KLT Preparatif

Pada pemisahan dengan KLTP digunakan plat silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran 10 x 20 cm. Ekstrak pekat hasil ekstraksi ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada KLTA. Noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya.

Noda yang diduga merupakan senyawa golongan triterpenoid dikerok kemudian dilarutkan dalam pelarut metanol selanjutnya disentrifuge untuk mengendapkan silikanya. Masing-masing supernatan yang diperoleh diuapkan pelarutnya hingga habis menguap sehingga diperoleh isolat pekat dari masing-masing noda.

3.5.6 Analisis Senyawa Triterpenoid

3.5.6.1 Analisis dengan Spektrofotometer UV-Vis

Isolat yang diperoleh dari hasil KLTP yang diduga senyawa triterpenoid dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 2 mL isolat triterpenoid hasil pemisahan dengan KLTP dilarutkan dalam metanol dimasukkan ke dalam

kuvet hingga sepertiganya dan dianalisis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm. Pada blanko, pelarut metanol dimasukkan ke dalam kuvet setengahnya dan dianalisis dengan spektrofotometer pada rentang panjang gelombang 200-800 nm, data disimpan. Spektra yang terbentuk diamati dan dicatat panjang gelombang serta absorbansi pada puncak yang terbentuk.

3.5.6.2 Analisis dengan Spektrofotometer FTIR

Isolat hasil KLTP yang diduga senyawa triterpenoid dianalisis dengan spektrofotometer FTIR. Isolat dioleskan pada NaCl *window* kemudian kedua NaCl *window* ditekan sehingga tidak ada gelembung diantara keduanya, kemudian dianalisis dengan spektrofotometer FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yaitu dengan memperhatikan pola pemisahan dan kenampakan noda pada kromatogram, dari berbagai eluen yang digunakan. Analisa senyawa triterpenoid dilakukan dengan memperhatikan bentuk umum spektrum UV-Vis sampel dalam metanol, Analisis juga didukung dari spektrum FTIR untuk mengetahui gugus-gugus fungsional yang menyusun suatu struktur senyawa tersebut.

3.7 Jadwal Penelitian

No.	Rencana Penelitian	Bulan																							
		Januari				Februari				Maret				April				Mei				Juni			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Proposal																								
2	Preparasi sampel dan analisis kadar air																								
3	Ekstraksi sampel dan uji fitokimia																								
4	Pemisahan dengan KLT																								
5	Analisis menggunakan spektrofotometer UV-vis dan FTIR																								
6	Analisis Data																								
7.	Pembuatan Laporan																								

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan cara pencucian, pengeringan dan pembuatan serbuk sampel. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran yang berupa lumpur atau pasir yang menempel pada *thallus* alga kemudian dikeringanginkan agar sisa air hasil pencucian dapat kering. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan airnya dan juga untuk proses penyimpanan agar kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme dapat diminimalkan serta mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan tidak merusak komposisi kimia di dalamnya (Baraja, 2008). Pembuatan serbuk sampel dilakukan dengan cara memblender sampel kering hingga halus kemudian diayak dengan ukuran 80-100 mesh. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan sampel dengan luas permukaan yang besar dan beragam sehingga memudahkan kontak antara pelarut dan sampel pada saat maserasi. Hasil yang diperoleh dari proses ini menunjukkan bahwa dari 5 Kg sampel basah didapatkan serbuk alga merah (*Eucheuma cottonii*) sebanyak 250 gram yang berwarna coklat dan berbau amis.

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air dalam sampel alga (*Eucheuma cottonii*). Penentuan kadar air ini dilakukan dengan metode pengeringan menggunakan oven pada temperatur 105 °C hingga berat

sampel konstan. Hal ini dilakukan agar air yang terkandung dalam sampel dapat menguap. Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang diuapkan. Kandungan air pada alga merah (*Eucheuma cottonii*) ditunjukkan dalam Tabel 4.1 :

Tabel 4.1 Kandungan air pada alga merah *Eucheuma cottonii*

Alga merah <i>E. cottonii</i>	Kadar air (%)
Basah (segar)	91,39 %
Kering	8,06 %

Kandungan air pada alga kering lebih rendah dari pada alga basah, hal ini karena alga kering sudah kehilangan kandungan airnya akibat pengeringan sampel saat preparasi. Kandungan air pada rumput laut segar umumnya sama seperti pada tanaman yang berkisar antara 80 – 90 % (Atmadja dkk., 1996).

Kadar air sampel kering alga merah (*Eucheuma cottonii*) sebesar 8,06 % menunjukkan nilai yang cukup baik, karena menurut Winarno (1992), sampel akan baik dalam penyimpanannya jika memiliki kadar air kering kurang dari 10 %. Menurut Legowo (2004), sampel yang memiliki kadar air tinggi umumnya akan cepat mengalami kerusakan, baik akibat pertumbuhan mikroba pembusuk maupun akibat terjadinya reaksi kimia tertentu. Kadar air sampel kering yang digunakan dalam penelitian ini cukup baik untuk ekstraksi karena nilainya lebih rendah daripada kadar air maksimum yang disyaratkan. Sulistijowati (2001) menyatakan bahwa kadar air maksimum yang disyaratkan agar proses ekstraksi dapat berjalan lancar yaitu sebesar 11 %.

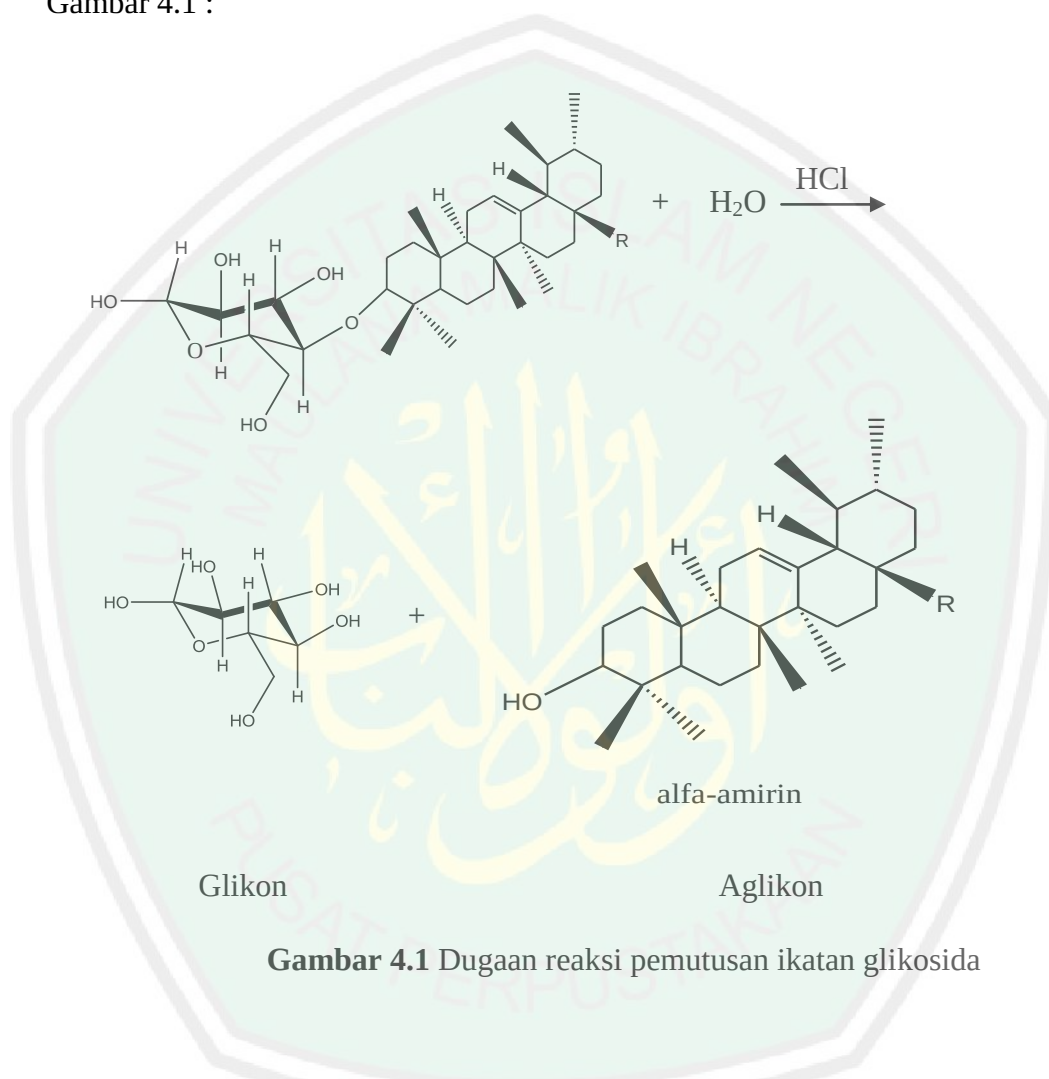
4.3 Ekstraksi

Ekstraksi sampel alga merah (*Eucheuma cottonii*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel, menyebabkan larutan yang terpekat didesak keluar (Ahmad, 2006). Metode maserasi dipilih agar senyawa yang terkandung dalam sampel tidak rusak akibat pemanasan. Maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol karena menurut Cannell (1998), metabolit primer dan metabolit sekunder lebih banyak dan lebih beragam ketika maserasi menggunakan pelarut metanol karena penetrasinya ke dalam dinding sel lebih efisien.

Prinsip utama dalam maserasi adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarutnya atau dikenal dengan istilah *like dissolves like* (Khopkar, 2003). Sampel yang dimaserasi sebanyak 120 gram dan direndam dalam 600 mL pelarut metanol. Perendaman dilakukan selama 24 jam dan dikocok menggunakan shaker. Pengocokan sampel berfungsi untuk mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut agar ekstraksi lebih maksimal. Maserat yang telah homogen disaring menggunakan corong *Buchner* untuk memisahkan filtrat dan residunya. Filtrat yang telah diperoleh dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, proses pemekatan dihentikan saat pelarut sudah tidak menetes lagi pada labu alas bulat.

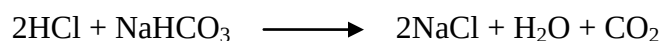
Ekstrak pekat dihidrolisis dengan 10 mL HCl 2 N selama 1 jam. Hal ini dilakukan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder yang umumnya dalam

bentuk glikosida menjadi glikon dan aglikonnya. Nihlati (2008) menyebutkan, bahwa senyawa yang terikat dengan glikosida dapat dihidrolisis menggunakan asam kuat HCl 2 N. Reaksi pemutusan ikatan glikosida dapat disajikan dalam Gambar 4.1 :



Gambar 4.1 Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida

Larutan selanjutnya dinetralkan menggunakan natrium bikarbonat untuk mentralkan pH. Reaksi netralisasi ditunjukkan dalam Gambar 4.2 :



Gambar 4.2 Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat

Ekstrak pekat yang telah dihidrolisis, kemudian diekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut etil asetat untuk memisahkan senyawa senyawa semi polar yang kemungkinan larut dalam pelarut polar, pelarut ini dipilih karena menurut Afif (2012), alga merah (*Eucheuma cottonii*) teridentifikasi kandungan triterpenoidnya ketika menggunakan pelarut etil asetat. Pada saat pencampuran antara ekstrak metanol dengan etil asetat terjadi perubahan distribusi ekstrak, yaitu ekstrak meninggalkan pelarut yang pertama (metanol) dan masuk ke dalam pelarut kedua (etil asetat).

Hasil ekstrak pekat metanol yang diperoleh digunakan untuk pengujian selanjutnya. Uji yang dilakukan adalah pemisahan senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA) yang dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), identifikasi UV-Vis dan FTIR pada isolat hasil pemisahan senyawa aktif dengan KLTP.

4.4 Identifikasi dengan Uji Reagen

Golongan senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan reaksi terbentuknya cincin kecoklatan ketika senyawa ini ditetesi asam sulfat pekat melalui dindingnya (Robinson, 1995). Anhidrida asetat akan bereaksi dengan atom O pada gugus -OH yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi yang terjadi merupakan reaksi esterifikasi, dimana senyawa ester dibentuk oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat. Mekanisme reaksi anhidrida asetat dengan triterpenoid ditunjukkan pada Lampiran 5.

4.5 Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan senyawa triterpenoid pada tanaman alga merah dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fase diam pada plat yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 1 cm x 10 cm G60 F₂₅₄ (Merck). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan senyawa asam-asam amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Plat KLT silika G60 F₂₅₄ diaktifasi pada suhu 105 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007).

4.5.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik

KLT analitik ini digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa triterpenoid. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya banyak noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987). Penggunaan beberapa eluen diharapkan mampu memisahkan komponen senyawa triterpenoid yang terdapat dalam ekstrak tanaman alga merah dengan baik. Noda yang dihasilkan selanjutnya dideteksi dengan pereaksi sesuai golongan senyawanya, kemudian diamati di bawah lampu UV. Pereaksi ini digunakan untuk menambah kepekaan deteksi dan menghasilkan perubahan warna yang ada kaitannya dengan struktur senyawa yang bersangkutan (Markham, 1988).

Pemisahan senyawa triterpenoid dengan KLT menggunakan 10 variasi eluen dan larutan pendeteksi. Variasi eluen tersebut dianggap sudah cukup untuk

mewakili kepolaran dari setiap senyawa yang akan dipisahkan yaitu ada campuran variasi yang berkecenderungan kearah lebih polar dan ada yang berkecenderungan lebih nonpolar. Pengamatan plat di bawah lampu UV yang dipasang panjang gelombang emisi 254 nm dan 366 nm bertujuan untuk menampakkan komponen senyawanya sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluorosensi terang pada dasar yang berfluorosensi seragam (Gritter, 1991).

Pengamatan lampu UV dengan λ 254 nm, tidak terdapat noda yang dapat diamati, sedangkan pada λ 366 nm terlihat beberapa pemisahan komponen senyawa aktif sebagai bercak yang berfluorosensi terang dengan warna spot berbeda di atas background gelap yang dapat diamati. Pada lampu UV λ 254 nm tidak tampak noda disebabkan noda yang tampak pada lampu UV λ 254 nm merupakan golongan khas dari aromatik, α dan β karbonil tak jenuh dan juga sistem terkonjugasi (Kvangarsnes, 2009), sedangkan senyawa triterpenoid bukan merupakan hidrokarbon aromatik dan juga bukan merupakan sistem yang terkonjugasi.

Setiap eluen yang digunakan memiliki pemisahan yang berbeda antara campuran eluen satu dengan campuran eluen lainnya, karena antara campuran eluen yang satu dengan campuran eluen lainnya mewakili tingkat kepolaran masing-masing sehingga jumlah noda yang dihasilkan pun berbeda. Pada Tabel 4.2, eluen n-heksana : etil asetat (7:3) menghasilkan 10 noda dan menghasilkan pemisahan yang baik, hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik (tidak berekor). Noda-noda ini terpisah berdasarkan kepolarannya. Noda yang mempunyai harga R_f lebih rendah cenderung memiliki kepolaran yang lebih tinggi karena lebih terdistribusi ke fase diam yang bersifat polar,

dibandingkan noda yang mempunyai harga R_f lebih besar karena lebih terdistribusi ke dalam fase gerak. Adapun hasil pemisahan dengan KLTA dapat disajikan dalam Tabel 4.2 :

Tabel 4.2 Variasi eluen dan jumlah noda pada KLTA

No.	Eluen-eluen	Jumlah noda
1	n-heksana : kloroform (2:1)	2
2	n-heksana : etil asetat (1:1)	4
3	n-heksana : etil asetat (12:1)	5
4	n-heksana : kloroform (1:1)	6
5	n-heksana : etil asetat (7:3)	10
6	n-heksana : diklorometana (1:9)	9
7	n-heksana : aseton (7:3)	6
8	metanol : kloroform (1:2)	4
9	metanol : kloroform (7:3)	4
10	metanol : kloroform (5:2)	3

Pada Tabel 4.2, 10 variasi eluen tersebut menghasilkan jumlah noda sesuai dengan tingkat kepolaran. Tingkat kepolaran dari suatu molekul dapat dilihat dari nilai konstanta dielektrikunya. Menurut Sampietro dkk (2008), nilai konstanta dielektrikum pada molekul n-heksana, kloroform, etil asetat, diklorometana, aseton dan metanol secara berturut-turut yakni 2; 4,8; 6; 9,1; 21 dan 33. Eluen yang bersifat non polar memiliki jumlah noda yang sedikit, seperti yang ditunjukkan pada komposisi eluen no.1, 2 dan 3, begitupun dengan eluen yang bersifat polar, seperti yang ditunjukkan pada komposisi eluen no.10, 9 dan 8 yang memiliki jumlah noda sedikit. Eluen n-heksana : etil asetat (7:3) dan n-heksana : diklorometana (1:9) memiliki jumlah noda secara berturut-turut 10 dan 9. Namun eluen yang diasumsikan sebagai eluen terbaik pada KLTA yakni eluen n-heksana : etil asetat (7:3), karena pemisahan pada eluen n-heksana : diklorometana (1:9) kurang sempurna, seperti pada foto di lampiran 6. Jadi, eluen yang bersifat semi

polar lah yang memiliki banyak noda, seperti yang ditunjukkan pada no.5, eluen n-heksana : etil asetat (7:3).

Golongan senyawa triterpenoid hasil KLT analitik setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna coklat, hijau tua sampai ungu tua (Bawa, 2009), merah ungu dan ungu (Rita, 2010). Pada eluen n-heksana : etil asetat (7:3) menghasilkan Rf antara 0,125-0,95 dengan menghasilkan 10 noda di bawah pengamatan sinar UV λ 366 nm. Pemisahan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (7:3) bisa dikatakan merupakan pemisahan yang cukup baik, karena menurut Rohman (2007), Pemisahan yang baik mempunyai harga Rf antara 0,15-0,2 cm antara noda 1 dengan yang lainnya. Adapun hasil KLT analitik eluen n-heksana : etil asetat (7:3) dapat disajikan dalam Tabel 4.3 :

Tabel 4.3 Hasil KLTA eluen n-heksana : etil asetat (7:3)

Rf tiap noda	Warna noda tanpa sinar UV pada λ 366	Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366	
	Sebelum di semprot reagen Lieberman-Burcard	Sebelum di semprot reagen Lieberman-Burcard	Setelah di semprot reagen Lieberman- Burcard
0,125	Kuning	Orange	Orange
0,25	Tidak Berwarna	Pink	Pink
0,375	Tidak Berwarna	Ungu	Hijau
0,537	Tidak Berwarna	Ungu	Pink
0,65	Tidak Berwarna	Ungu	Pink
0,7	Tidak Berwarna	Ungu	Pink
0,787	Tidak Berwarna	Pink	Ungu
0,837	Coklat	Merah	Merah
0,887	Kuning	Kuning	Kuning
0,95	Coklat	Hijau	Hijau

Hasil yang diperoleh dari KLT analitik ini yang berupa eluen terbaik dalam pemisahan senyawa triterpenoid selanjutnya dapat digunakan untuk analisa yang lebih lanjut pada KLT preparatif

4.5.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Kromatografi lapis tipis preparatif merupakan suatu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar (Townshend, 1995). Hasil pemisahan dengan KLT preparatif hampir sama dengan KLT analitik hanya berbeda pada jumlah ekstrak yang ditotolkan pada plat dan ukuran plat KLT yang digunakan. Ekstrak pekat hasil ekstraksi ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah. Selanjutnya dikeringanginkan dan ditotolkan kembali ekstrak metanol tanaman alga merah sampai 2 kali penotolan. Plat yang digunakan pada KLT preparatif adalah plat KLT silika gel G60 F₂₅₄ dengan ukuran yang lebih besar yaitu 10 x 20 cm. Eluen yang digunakan pada pemisahan KLT preparatif adalah eluen terbaik hasil pemisahan pada KLT analitik yaitu n-heksana : etil asetat dengan perbandingan (7:3). Hasil pemisahan KLTP dan nilai R_f eluen n-heksana : etil asetat dengan perbandingan (7:3) ditunjukkan pada Tabel 4.4 :

Dugaan sementara yang didapat dari hasil pemisahan kromatografi lapis tipis pada eluen n-heksana : etil asetat (7:3) berdasarkan kenampakan noda, bahwasanya senyawa golongan triterpenoid terkandung dalam isolat 10. Noda yang dihasilkan dari KLTP yang termasuk triterpenoid selanjutnya dikerok dan dilarutkan dalam pelarut etil asetat, kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

Tabel 4.4 Hasil KLTP eluen n-heksana : etil asetat (7:3)

Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366	
	Sebelum di semprot reagen Lieberman-Burcard	Setelah di semprot reagen Lieberman-Burcard
0,07	Hitam	Orange
0,13	Hitam	Pink
0,29	Tidak berwarna	Ungu
0,73	Merah	Merah
0,83	Hijau	Pink
0,86	Hijau	Hijau kekuningan
0,88	Merah kekuningan	Orange
0,90	Coklat	Hijau kebiruan
0,93	Coklat	Coklat kekuningan
0,96	Hijau	Hijau

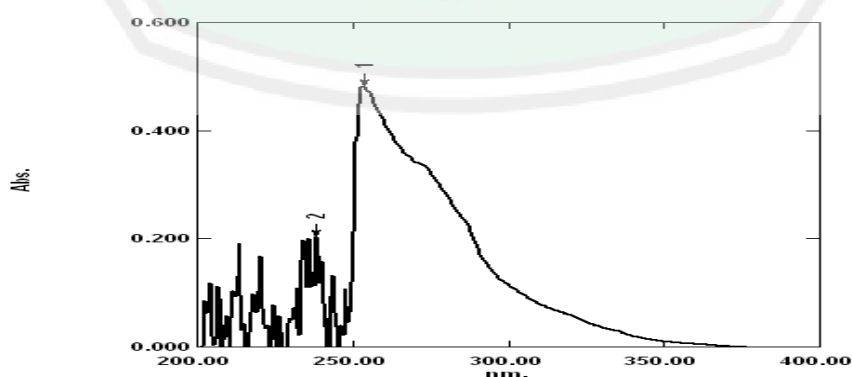
4.6 Analisa Senyawa Triterpenoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

Data kromatogram yang dihasilkan memberikan dugaan sementara senyawa triterpenoid yang ada pada masing-masing noda. Oleh sebab itu, untuk memastikan dugaan tersebut dan menentukan struktur senyawa golongan triterpenoid yang terkandung dalam setiap isolat diperlukan tambahan data spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu analisis berdasarkan atas pengukuran serapan suatu larutan yang dilalui radiasi monokromatis. Penyerapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet bergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektrum ultraviolet dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik (Sastrohamidjojo, 1998). Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode identifikasi struktur dari suatu senyawa.

Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan secara deskriptif senyawa triterpenoid yang didapat dari hasil pemisahan senyawa dengan KLT preparatif.

Spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk menentukan gugus-gugus fungsi yang terdapat pada suatu senyawa, sehingga serapan yang dihasilkan pada spektrum FTIR dapat memperkuat dugaan bahwa isolat tersebut merupakan senyawa triterpenoid. Hasil spektra dari FTIR dapat mendukung dari hasil serapan spektrofotometer UV-Vis.

Serapan yang dihasilkan oleh senyawa triterpenoid terdapat pada rentang panjang gelombang ultraviolet yaitu 180-380 nm karena senyawa triterpenoid merupakan senyawa yang tidak berwarna (Harborne, 1987). Dalam molekul yang memiliki ikatan rangkap tak terkonjugasi, mengakibatkan penyerapan sinar UV-Vis terjadi pada panjang gelombang yang lebih pendek daripada yang dialami sistem terkonjugasi. Makin banyak ikatan rangkap tak terkonjugasi, maka makin besar energi yang diperlukan untuk mengalami transisi, sehingga absorpsi akan semakin bergeser ke panjang gelombang yang lebih kecil (Fessenden dan Fessenden, 1999).



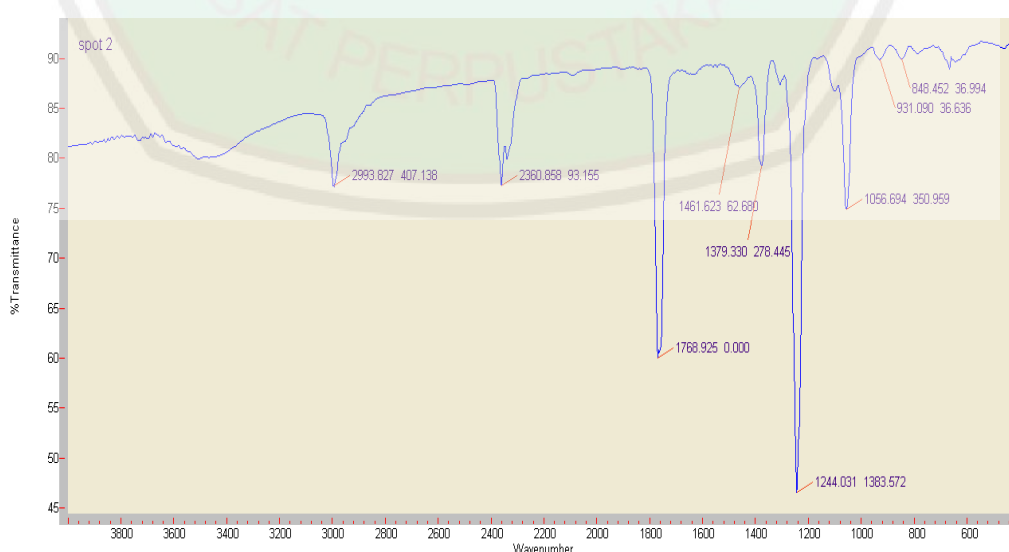
Gambar 4.2 spektra UV-Vis isolat 10

Tabel 4.5 Data λ max isolat 10

No	Wavelength (nm)	Abs
1	253.50	0.482
2	238.50	0.204

Berdasarkan data spektra UV-Vis yang ditunjukkan pada Tabel 4.5, isolat 10 mempunyai serapan panjang gelombang 253.50, dan 238.50 nm. Serapan-serapan tersebut memungkinkan isolat ini termasuk dalam senyawa golongan triterpenoid, begitu juga dengan hasil kenampakan noda pada kromatogram juga mendukung hal tersebut. Menurut Napu dkk (2012), terpen pada dari biji tumbuhan jarak kepyar memiliki panjang gelombang 253, 218,5 dan 201,5 nm, dan diduga mempunyai gugus fungsi O-H, C-H aromatik, C=C dan C-OH siklik.

Adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 253.50, dan 238.50 nm diduga diakibatkan oleh adanya transisi elektron dari $n - \pi^*$ yang disebabkan oleh adanya suatu kromofor C=O. Hal ini didukung dari hasil analisis spektrofotometer FTIR yang menunjukkan bahwa isolat 10 mempunyai gugus fungsi C=O pada daerah bilangan gelombang $1768,925 \text{ cm}^{-1}$.

**Gambar 4.3** spektra FTIR isolat 10

Tabel 4.6 Interpretasi Spektra FTIR isolat 10

Puncak	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Jenis Vibrasi	Intensitas Referensi
	Isolat 8	Range Pustaka (Socrates, 1994)		
1	2993.827	3000-2975	Rentangan –CH alifatik	m
2	2360.858	2500-2000	Rentangan (X≡Y, X=Y=Z)	
3	1768.925	1790-1765	Rentangan C=O	s
4	1461.623	1465-1440	Bengkokan –CH ₂	m
5	1379.330	1490-1150	Bengkokan –CH ₃	m
6	1244.031	1275-1185	Rentangan C-O	s
7	1056.694	1085-1030	Rentangan C-OH alkohol 1 ⁰	s
8	931.090	675-995	Rentangan C-H	s
9	848.452			

Keterangan : s=strong=kuat; m=medium=sedang; w=weak=lemah

Hasil analisis pola serapan FTIR yang didapat dari isolat 10 menunjukkan adanya gugus fungsi C-H yang ditunjukkan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 2993,827 cm⁻¹, hal ini memberi petunjuk kemungkinan adanya gugus metil (CH₃) dan metilena (CH₂) (Socrates, 1994). Dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1461,623 dan 1379,330 cm⁻¹ yang merupakan serapan dari bengkokan –CH₂ dan CH₃ yang mengindikasikan adanya gugus gem dimetil sebagai ciri khas senyawa triterpenoid (Mathias *et al.* 2000). Pada daerah bilangan gelombang 931,090 dan 848,452 cm⁻¹ merupakan serapan dengan intensitas kuat dari rentangan C-H pada gugus alkena (Skoog dkk., 1998).

Gugus karbonil dapat ditunjukkan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 1768,809 cm⁻¹, yang juga diperkuat dengan adanya ikatan C-O pada gugus ester pada bilangan gelombang 1244,031 cm⁻¹ dan vibrasi yang terjadi pada bilangan gelombang 1056,620 cm⁻¹, disebabkan adanya gugus alkohol primer.

4.7 Pemanfaatan Tanaman Alga merah dalam Perspektif Islam

Manusia sebagai makhluk sempurna mempunyai derajat paling tinggi dibandingkan dengan makhluk yang lain, diberi kesempatan oleh Allah SWT agar menggunakan akalnya untuk memikirkan alam sekitarnya serta memanfaatkan nikmatNya berupa kekayaan alam semesta sebagaimana mestinya. Berbagai macam nikmat yang diberikan oleh Allah SWT perlu dimanfaatkan secara optimal. Salah satu nikmat yang diberikan melalui alam semesta ini ialah kekayaan laut yang memiliki keanekaragaman komunitas hayati seperti terumbu karang, hutan bakau, berbagai macam jenis ikan, rumput laut dan lain sebagainya.

Rumput laut merupakan salah satu dari jutaan jenis tumbuhan dilaut yang memiliki beraneka ragam kandungan senyawa metabolit sekunder. Jika dianalisis dan diteliti lebih lanjut, senyawa metabolit tersebut pasti memiliki kadar atau ukuran. Sebagaimana dengan dengan firman Allah SWT dalam surat al Qomar ayat 49 :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

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

Ayat tersebut melukiskan keteraturan penciptaan segala sesuatu yaitu dengan ketentuan yang berupa ukuran. Dalam suatu riwayat disebutkan bahwa turunnya ayat ini berkenaan dengan bantahan kaum musyrikin quraisy terhadap penjelasan Rasulullah SAW tentang takdir.

Pada dasarnya ayat tersebutlah yang mendasari perlakuan para ahli kimia dalam menangani proses-proses alamiah. Mereka selalu menentukan ukuran terhadap jumlah komponen beserta kadar senyawa yang terdapat dalam suatu hal

yang hendak mereka teliti, dengan pengetahuan tersebut maka segala sesuatu yang sudah diteliti akan lebih efisien dalam pemanfaatannya.

Al-Qur'an dalam ayat-ayatnya telah memberikan petunjuk kepada manusia hal-hal yang berkaitan dengan alam yang merupakan obyek dalam penelitian-penelitian para kimiawan. Penelitian yang dilakukan oleh para kimiawan tersebut merupakan bentuk penafsiran terhadap ayat-ayat tersebut secara praktis.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Eluen yang terbaik untuk pemisahan senyawa triterpenoid dari ekstrak metanol tanaman alga merah *Eucheuma cottonii* dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) adalah eluen n-heksana : etil asetat (7:3).
2. Hasil analisis senyawa triterpenoid dari tanaman alga merah *Eucheuma cottonii* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR, menunjukkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 253,50 nm dan 238,50 nm serta dugaan keberadaan gugus fungsi C-H alifatik, C=O, C-O dan C-OH 1 °.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan menguji aktifitas lain, sehingga dapat menambah informasi tentang keaktifan dari isolat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afif, S. 2013. Ekstraksi, Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah *Eucheuma cottonii* dari Perairan Sumenep Madura. *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Al-Qarni, A. 2007. *Tafsir Muyassar Jilid 3*. Terjemahan : Tim Qisthi Press. Jakarta: Qisthi Press
- Anggadiredja, J.T., Zalnika, A., Purwoto, H., dan Istini, S. 2006. *Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya. Guether, E., 1987. *Minyak Atsiri*. Jakarta: Universitas Jakarta
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Inc. Washington DC, p 185-189
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan Rasyid, R. 2006. *Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia Cumini Merr*. Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas
- Aslan, M. 1998. *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta: Kanisius
- Atmadja, W.S., Kadi, A., Sulistijo., dan Rachmaniar. 1996. *Pengenalan Jenis Rumput Laut Indonesia*. PusLitBang Oseanologi-LIPI, Jakarta
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- 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
- Bengen, D.G. 2001. *Sinopsis Ekosistem dan Sumberdaya Alam Pesisir dan Laut*. Bogor: Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan Institut Pertanian Bogor
- Cannell, R. J.P. (Ed). 1998. How to approach the isolation of a natural product. In R.J. P. Cannell (Ed.). *Methods in Biotechnology*. Vol. 4: Natural Products Isolation, Humana, Totowa, NJ, pp. 1-51.
- Cheeke, R.P. 2004. *Saponin : Surprising Benefits of Desert Plants*. UAS : Linus Pailing Institute

- Darwis, D. 2000. *Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati*, Workshop Pengembangan Sumber Daya Alam Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati, FMIPA Universitas Andalas Padang
- Deny, Rudiyanasyah, Puji, A. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Kloroform Kulit Batang Durian Kura (D. testudinarum Becc.). *Skripsi* tidak diterbitkan. Tanjungpura: Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura
- Doty, M.S. 1985. *Eucheuma alvarezii* sp.nov (Gigartinales, Rhodophyta) from Malaysia. Di dalam: Abbot IA, Norris JN (editors). *Taxonomy of Economic Seaweeds*. California Sea Grant College Program
- Felicia. 2009. *Efek Neuroterapi Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica L.) Terhadap Saraf M. Gastrocnemius Katak*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S. 1999. *Kimia Organik, Jilid 2*. Jakarta: Erlangga
- Fried, B., dan Sherma, J. 1999. *Thin Layer Chromatography*. 4th Edition, Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker. Inc
- Gandjar, I.G., dan Rahman, A. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R.J., Robbit, J.M., dan Schwarting, S.E. 1991. *Pengantar Kromatografi. Terbitan kedua*, Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB
- Gunawan, I.W.G., Bawa, I.G.A.G., dan Sutrisnayanti, N.L. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (Phyllanthus niruri Linn)*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB
- Hayati, E.K. 2007. *Dasar-Dasar Analisis Spektroskopi*. Malang: UIN Malang
- Hayati N.A., Nurlita Abdul P., dan Febrianto, G. 2006. *Uji Toksisitas Ekstrak Eucheuma Alvarezii terhadap Artemia Salina sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker*. Surabaya: Insitut Teknik Sepuluh November (ITS)
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., dan Marston, A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif*. Bandung: Penerbit ITB

- 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
- Iskandar, Y. 2007. Karakterisasi Zat Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Bunga Krisan (*Chrysanthemum inderariaefolium*) Sebagai Bahan Pembuatan Biopestisida. *Skripsi* Diterbitkan. Semarang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
- Ismarti. 2011. Isolasi Triterpenoid dan uji Antioksidan Dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Meranti Merah (*Shorea singkawang* (Miq).Miq). *Artikel*. Padang
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Terjemahan A. Saptorahardjo. Jakarta: UI Press
- Kvangarsnes, S.K. 2009. Phytochemical Observations on European Mistletoe (*Viscum album* L.). *Thesis* for the Master Degree in Pharmacy. Norway: University of Bergen
- Legowo A. M. dan Nurwantoro. 2004. *Diktat Kuliah Analisis Pangan*. Semarang: Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Medan: USU
- Markham, R.K. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB
- Masroh, L.F. 2010. Isolasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak Heksana Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.Vahl). *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Matsufuji, H., Shinobu, S., Makoto, C., Yukihiro, G., Masatake, T dan Mitsuharu, T. 2001. Relationship Between Cardiac Glycoside Contents and Color of *Corchorus olitorius* Seeds. *Journal of Health Science*, Japan
- Meyer, B. N, Ferrigni, N. R, Putnam, J. E, Jacobsen, L. B, Nichols, D. E, McLaughlin, J. L. 2009. *Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents*. *Planta Med* [serial online] 1982 May [cited 2009 January 22]; 45(5): 31-4
- Muhibah, S.R.N. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan Uji Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah *Eucheuma cottonii* Pantai Lobuk Madura. *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Najib, A. 2006. *Ringkasan Materi Fitokimia*. Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia
- Napu, D. D. Dkk. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Kandungan Senyawa Aktif Antifeedant dari Biji Tumbuhan Jarak Kepyar (Ricinus Communis Linn.)*. Gorontalo: FMIPA Universitas Negeri Gorontalo
- Nisa', K., Damayanti, E., Wheni, A., Maryana, R., dan Krido, S. 2006. *Kinetika Penghambatan Oleh Ekstrak Biji Mimba (Azadirachta indica A.Juss) Pada Pertumbuhan Jamur Alternaria porii Penyebab Penyakit Tanaman Bawang Merah*. Yogyakarta: UPT BPPTK LIPI YOGYAKARTA, Gading, Playen, Gunung Kidul
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., dan Febrianto, R. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Eucheuma Alvarezii terhadap Artemia Salina sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Skripsi* tidak diterbitkan. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Octavia, D.R. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Rita, W.S. 2010. Isolasi, Identifikasi, Dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe). *Jurnal Kimia* 4 (1). ISSN 1907-9850: 20-26. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB
- Sarker, S.D., dan Nahar, L. 2009. *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: FMIPA Universitas Gadjah Mada, Gadjah Mada University Press
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta
- Sirait, M. 2007. *Penuntuk Fitokimia Dalam Farmasi*. Bandung: ITB
- Socrates, G. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts*. Newyork: John Wiley and Sons

- Soenardjo, N. 2011. Aplikasi Budidaya Rumput Laut *Eucheuma cottonii* (Weber van Bosse) Dengan Metode Jaring Lepas Dasar (Net Bag) Model Cidaun. *Skripsi* tidak diterbitkan. Semarang: Universitas Diponegoro Semarang
- Sudarmadji, S. 1996. *Teknik Analisis Biokimia*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta
- Suhartono, M.T., Angka, S.L. 2000. *Bioteknologi Hasil Laut*. Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan. IPB. Cetakan I
- Sukadana, I.M., Rita, W.S. dan Koreh, F.R. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antimakan Dari Batang Tumbuhan Brotowali (*Tinosporatu berculata* B.). *Jurnal Kimia* 1 (1): 55-61. ISSN 1907-9850. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana
- Sukadana, I.M., Sri Rahayu Santi dan Juliarti, N.K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Kimia*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana
- Sulistijowati, S dan D. Gunawan. 2001. *Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (Tithonia diversifolia A. Gray) Terhadap Candida albicans Serta Profil Kromatografinya*. Jakarta: Pusat Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan
- Suseno, J.E., dan Firdausi, K. S. 2008. Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi. *Jurnal Fisika* Vol 11 No.1: 23-28
- Syamsudin, S. Tjokrosonto., S. Wahyuono dan Mustofa. 2007. *Aktivitas Antiplasmodium Dari Dua Fraksi Ekstrak N-Heksana Kulit Batang Asam Kandis (Garcinia parvifolia Miq)*. Jakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jakarta
- Townshend, A. 1995. *Encyclopedia of Analytical Science*, Vol. 2. London: Academic Press Inc.
- Wall, P. E. 2005. *Thin-Layer Chromagrophy, A Modem Practical Approach* UK: RSC
- Widodo, N. 2007. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Yang Terkandung Dalam Jamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus)*. Semarang: FMIPA Universitas Negeri Semarang
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama
- Winnicka, K., Bielawski, K., dan Bielawska, A. 2006. *Cardiac Glycosides In Cancer Research And Cancer Therapy*. Medical University of Bialystok.

Poland : Department of Pharmaceutical Technology, Department of Medicinal Chemistry and Drug Technology. Drug Research, Vol. 63 No. 2 pp. 109n115

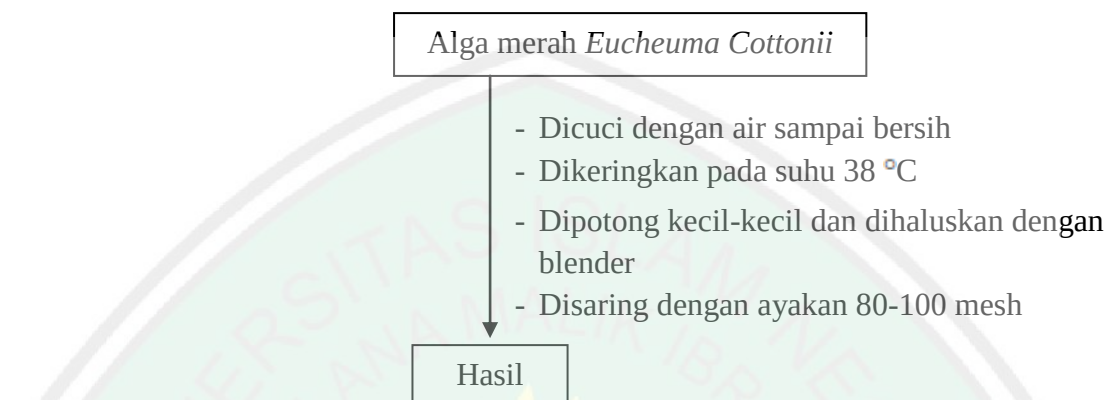
Zetra, Y., dan Prasetya, P. 2007. Isolasi Senyawa α -Amirin Dari Tumbuhan *Beilschmiedia Roxburghiana* (Medang) dan Uji Bioaktivitasnya. *Skripsi*: Tidak diterbitkan. Surabaya: Jurusan Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Kampus ITS Keputih



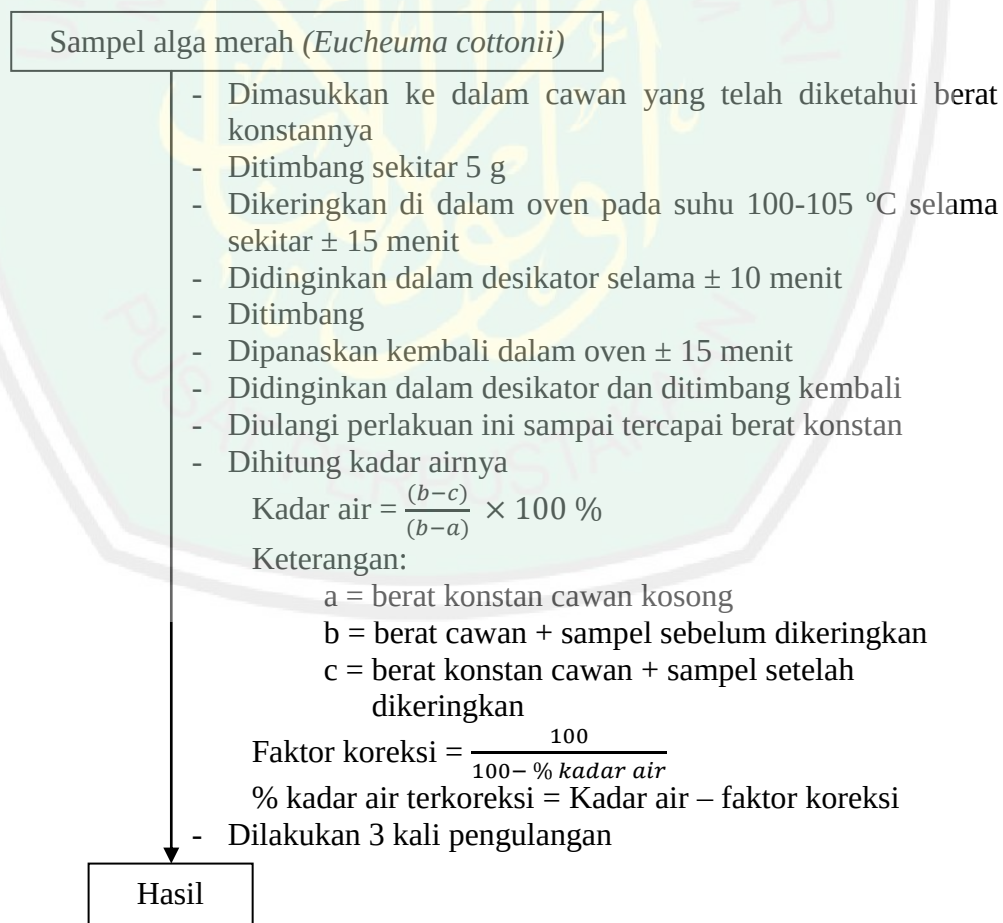
LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja

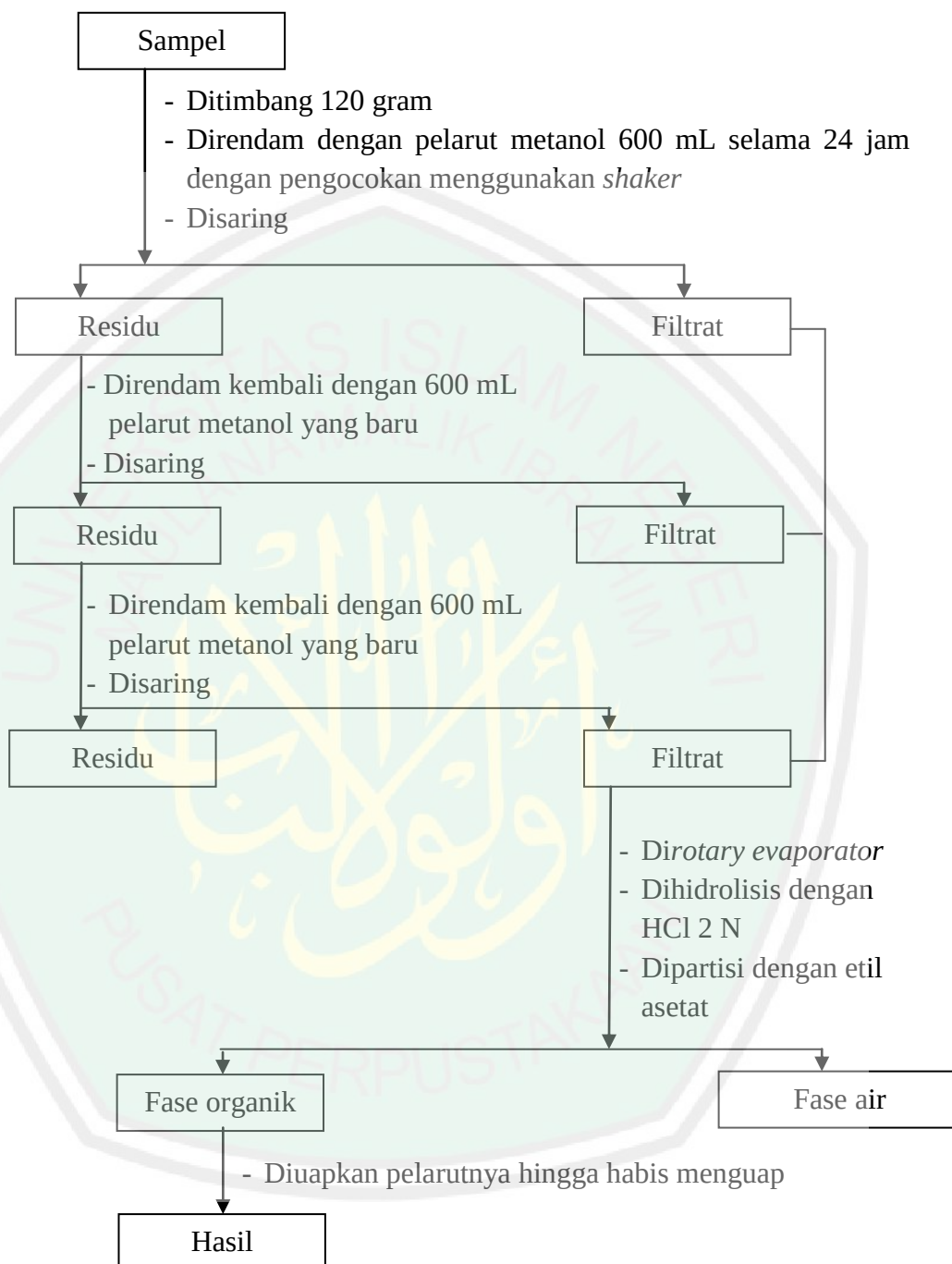
1.1 Preparasi Sampel



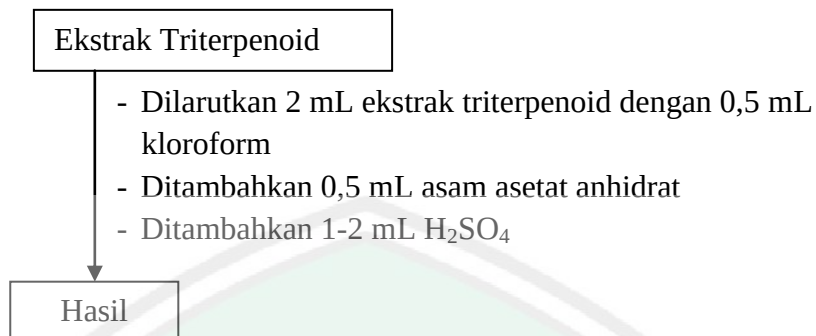
1.2 Analisis kadar air



1.3 Ekstraksi Triterpenoid

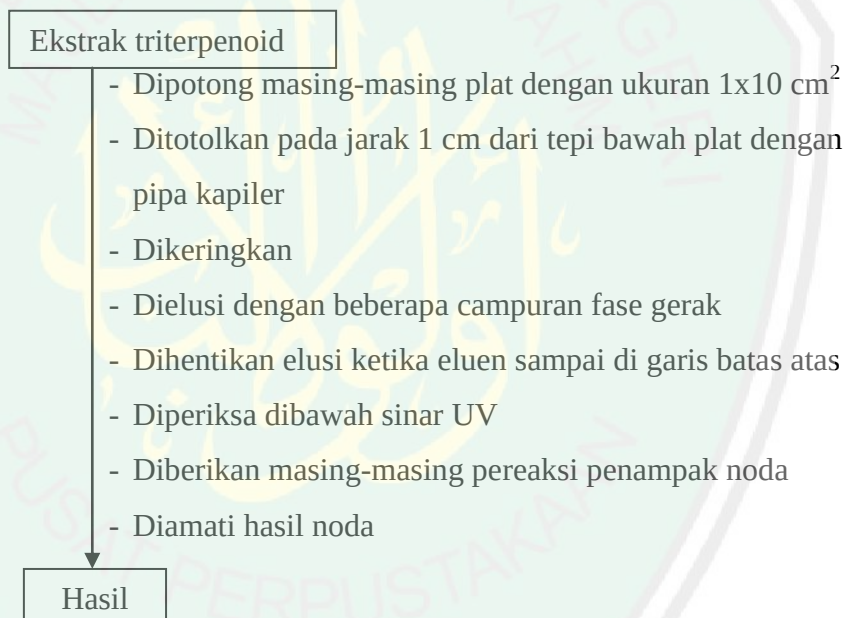


1.4 Uji Fitokimia

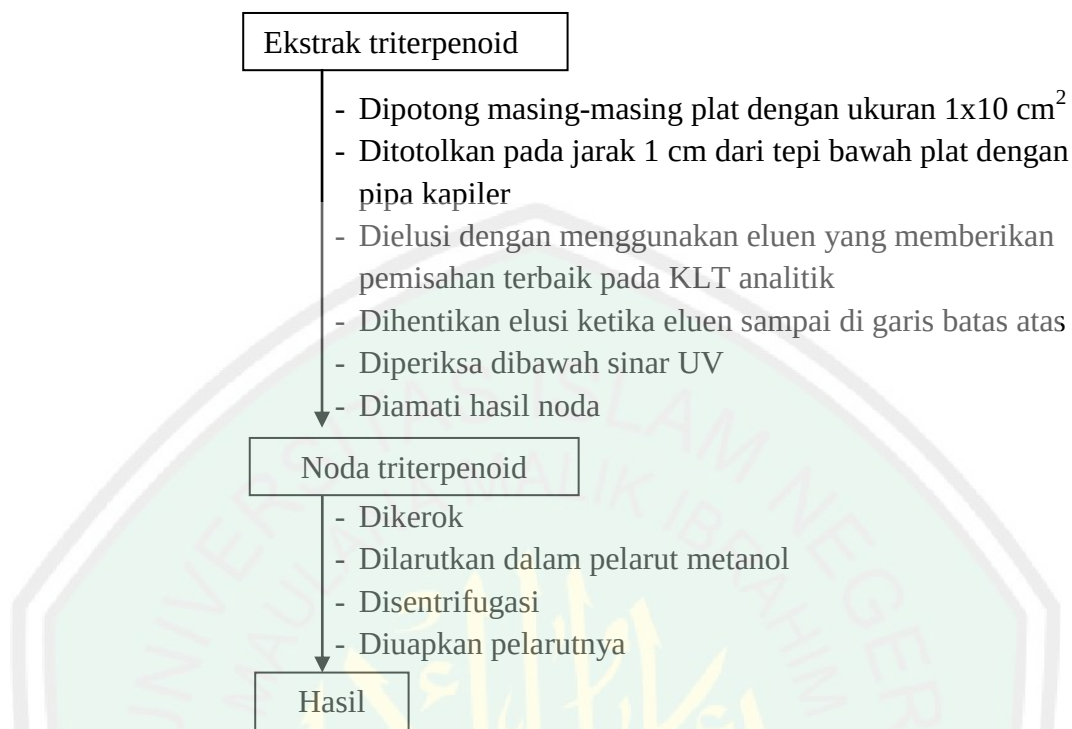


1.5 Pemisahan senyawa triterpenoid dengan KLT

1.5.1 KLT Analitik

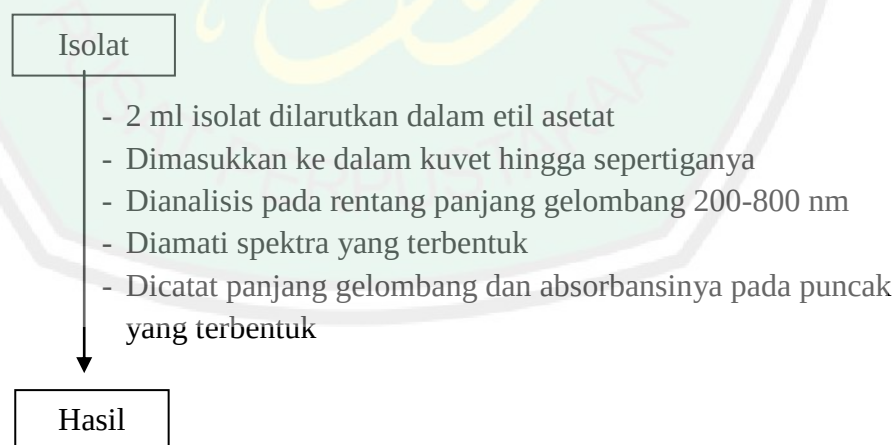


1.5.2 KLT Preparatif

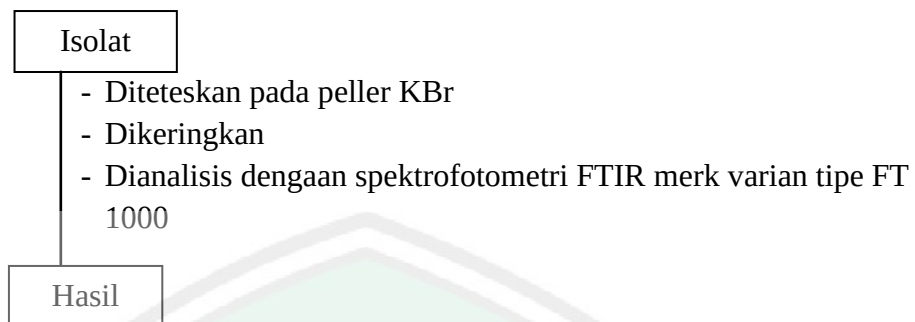


1.6 Analisis Senyawa Triterpenoid

1.6.1 Analisis Senyawa triterpenoid dengan Spektrofotometer UV-Vis



1.6.2 Analisis senyawa Triterpenoid dengan Spektrofotometer FTIR



Lampiran 2. Perhitungan Kadar Air

2.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *E. cottonii* Basah

Cawan	Berat cawan kosong (g)				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Rata-rata
1	58,6612	58,6571	58,6557	58,6557	58,6586
2	57,4404	57,4369	57,4362	57,4361	57,4384
3	56,8877	56,8840	56,8831	56,8830	56,8855

Sampel	Berat cawan + sampel sebelum dioven (g)				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Rata-rata
1	63,6664	63,6664	63,6664	63,6664	63,6664
2	62,0842	62,0842	62,0842	62,0842	62,0842
3	61,8995	61,8995	61,8995	61,8995	61,8995

Sampel	Berat cawan + sampel setelah dioven (g)			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
1	59,0791	59,0754	59,0753	59,0766
2	57,8548	57,8536	57,8536	57,854
3	57,3137	57,3121	57,3120	57,3126

2.2 Perhitungan kadar air sampel basah

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

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

Keterangan :

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

1. Perhitungan kadar air sampel basah

a. Ulangan ke 1

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(63,6664 - 59,0766)}{(63,6664 - 58,6586)} \times 100\% \\ &= \frac{(4,5898)}{(5,0078)} \times 100\% \\ &= 0,9165 \times 100 \% = 91,65 \%\end{aligned}$$

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

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 \% - 91,65 \%}$$

$$\text{Faktor koreksi} = 11,97 \%$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 91,65 \% - 11,97 \% \\ &= 79,68 \%\end{aligned}$$

b. Ulangan ke 2

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(62,0842 - 57,854)}{(62,0842 - 57,4384)} \times 100\% \\ &= \frac{(4,2302)}{(4,6458)} \times 100\% \\ &= 0,9105 \times 100 \% = 91,05 \%\end{aligned}$$

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

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 \% - 91,05 \%}$$

$$\text{Faktor koreksi} = 11,17 \%$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 91,05 \% - 11,17 \% \\
 &= 79,88 \%
 \end{aligned}$$

c. Ulangan ke 3

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(61,8995 - 57,3126)}{(61,8995 - 56,8855)} \times 100\% \\
 &= \frac{(4,5869)}{(5,014)} \times 100\% \\
 &= 0,9148 \times 100 \% = 91,48 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus faktor koreksi} &= \frac{100 \%}{100 \% - \text{kadar air}} \\
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 \% - 91,48 \%} \\
 \text{Faktor koreksi} &= 11,73 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 91,48 \% - 11,73 \% \\
 &= 79,75 \%
 \end{aligned}$$

a. Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned}
 \text{Rata - rata kadar air} &= \frac{91,65 \% + 91,05 \% + 91,48 \%}{3} \\
 &= 91,39 \%
 \end{aligned}$$

b. Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned}
 \text{Rata - rata faktor koreksi} &= \frac{11,97 \% + 11,17 \% + 11,73 \%}{3} \\
 &= 11,62 \%
 \end{aligned}$$

- c. Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata kadar air terkoreksi} &= \frac{79,68 \% + 79,88 \% + 79,75 \%}{3} \\ &= 79.77 \% \end{aligned}$$

2.3 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *E. cottonii* Kering

Cawan	Berat cawan kosong (g)				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Rata-rata
1	51,7745	51,7739	51,7736	51,7736	51,7739
2	55,0536	55,0524	55,0520	55,0518	55,0524
3	53,8135	53,8132	53,8128	53,8127	53,8130

Sampel	Berat cawan + sampel sebelum dioven (g)				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Rata-rata
1	56,7723	56,7723	56,7723	56,7723	56,7723
2	60,0505	60,0505	60,0505	60,0505	60,0505
3	58,9236	58,9236	58,9236	58,9236	58,9236

Sampel	Berat cawan + sampel setelah dioven (g)			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
1	56,3629	56,3626	56,3626	56,3627
2	59,6996	59,6992	59,6991	59,6993
3	58,4631	58,4627	58,4626	58,4628

2.4 Perhitungan kadar air sampel kering

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

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

Keterangan :

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

1. Perhitungan kadar air sampel kering

a. Ulangan ke 1

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(56,7723 - 56,3627)}{(56,7723 - 51,7739)} \times 100\% \\ &= \frac{(0,4096)}{(4,9984)} \times 100\% \\ &= 0,0819 \times 100 \% = 8,19 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rumus faktor koreksi} &= \frac{100 \%}{100 \% - \text{kadar air}} \\ \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 \% - 8,19 \%} \\ \text{Faktor koreksi} &= 1,08 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 8,19 \% - 1,08 \% \\ &= 7,11 \%\end{aligned}$$

b. Ulangan ke 2

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(60,0505 - 59,6993)}{(60,0505 - 55,0524)} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3512)}{(4,9981)} \times 100\% \\ &= 0,070 \times 100 \% = 7,0 \%\end{aligned}$$

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

$$Faktor\ koreksi = \frac{100}{100\% - 7,0\%}$$

$$Faktor\ koreksi = 1,07\%$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 7,0\% - 1,07\% \\ &= 5,93\%\end{aligned}$$

c. Ulangan ke 3

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\ &= \frac{(58,9236 - 58,4628)}{(58,9236 - 53,8130)} \times 100\% \\ &= \frac{(0,4608)}{(5,1106)} \times 100\% \\ &= 0,0901 \times 100\% = 9,01\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rumus faktor koreksi} &= \frac{100\%}{100\% - \text{kadar air}} \\ Faktor\ koreksi &= \frac{100}{100\% - 9,01\%} \\ Faktor\ koreksi &= 1,09\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 9,01\% - 1,09\% \\ &= 7,92\%\end{aligned}$$

a. Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata kadar air} &= \frac{8,19\% + 7\% + 9,01}{3} \\ &= 8,06\%\end{aligned}$$

b. Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\text{Rata - rata faktor koreksi} = \frac{1,08\% + 1,07\% + 1,09\%}{3}$$

$$= 1,08 \%$$

- c. Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata kadar air terkoreksi} &= \frac{7,11 \% + 5,93 \% + 7,92 \%}{3} \\ &= 6,98 \% \end{aligned}$$



Lampiran 3 Perhitungan Rendemen

3.1 Rendemen Ekstrak Metanol *E. cottonii* Menggunakan Metode Maserasi

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 70,2470 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 85,0999 gram

Berat ekstrak pekat = 14,8529 gram

Berat sampel = 120 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{14,8529 \text{ gram}}{120 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 12,37 \%\end{aligned}$$

3.2 Rendemen Ekstrak Etil Asetat *E. cottonii* Menggunakan Metode Partisi

Diketahui:

Berat beaker glass kosong = 9,801 gram

Berat beaker glass + ekstrak kasar triterpenoid = 10,934 gram

Berat sampel = 14 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak kasar triterpenoid}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,133 \text{ gram}}{14 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 8,09 \%\end{aligned}$$

Lampiran 4 Pembuatan Larutan

4.1 Pembuatan HCl 2 N

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

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

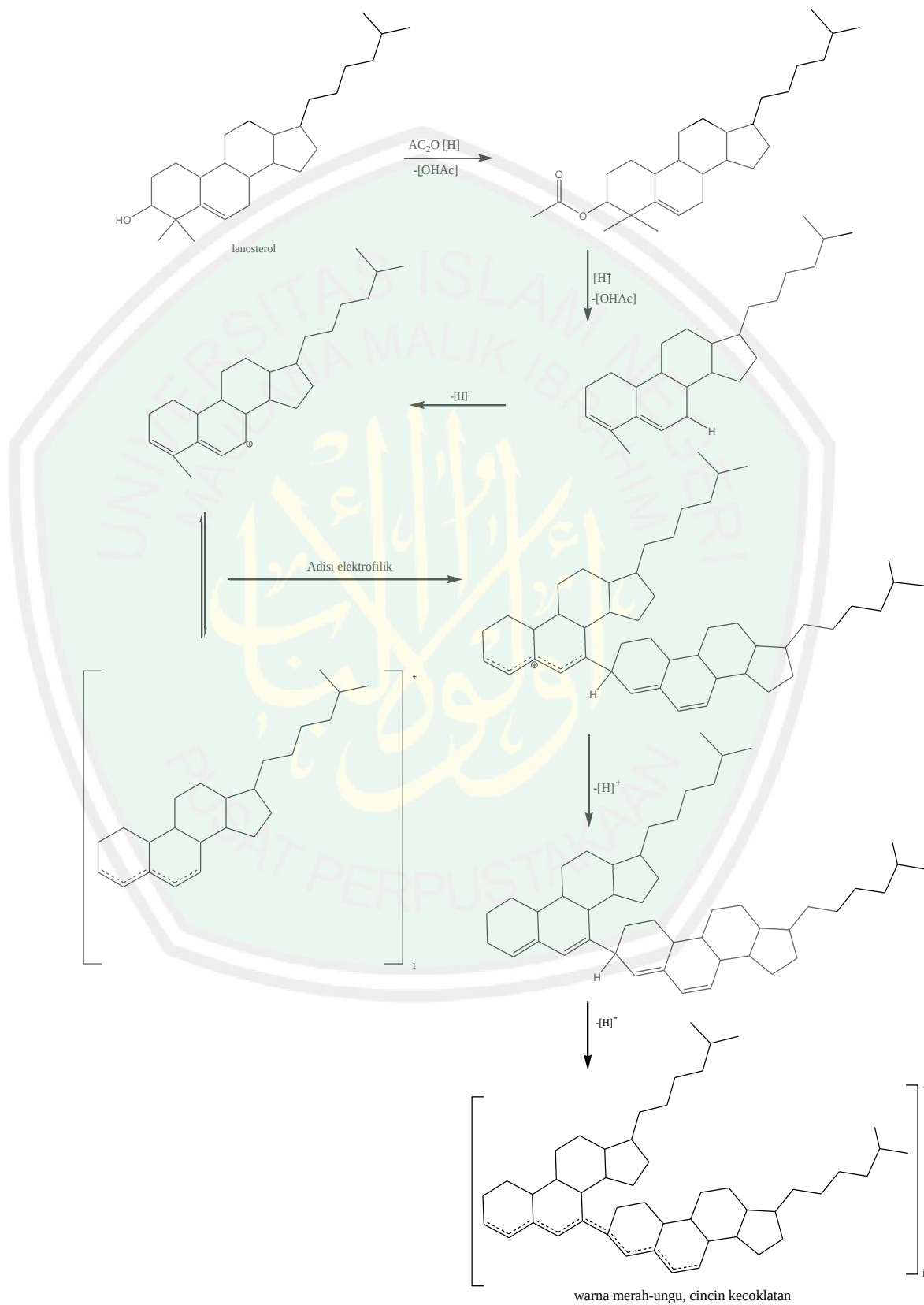
$$V_1 = 0,54 \text{ mL}$$

Cara pembuatan larutan HCl 2 N adalah dipipet 5 mL akuades dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,54 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL yang berisi akuades 5 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

4.2 Pembuatan larutan NaHCO_3 5 % (b/v) dalam 100 mL

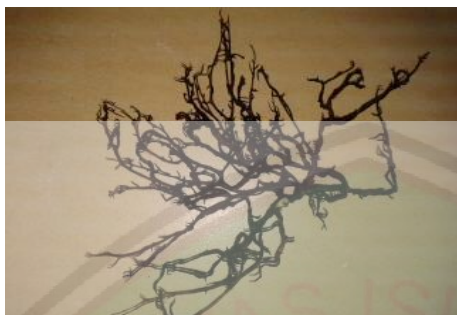
Natrium bikarbonat ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan dilarutkan dengan akuades hingga tanda batas.

Lampiran 5 Dugaan Mekanisme Reaksi Triterpenoid pada Uji Triterpenoid



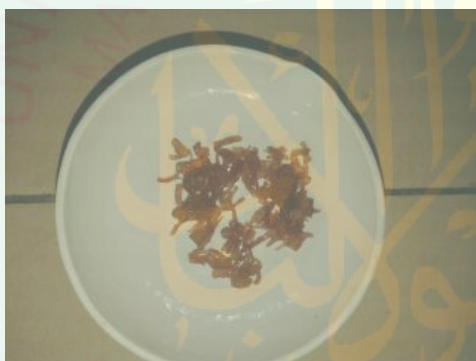
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

➤ Preparasi Sampel



Gambar 1. Sampel kering yang sudah dioven

➤ Penentuan Kadar Air



Gambar 2. Sampel basah



Gambar 3. Sampel kering

➤ Ekstraksi Sampel



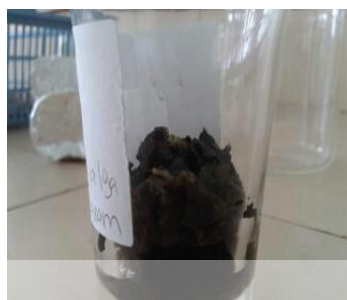
Gambar 4. Ekstraksi maserasi pelarut methanol



Gambar 5. Pengocokan dengan shaker



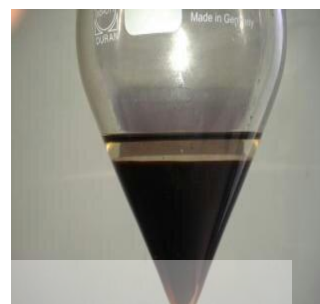
Gambar 6. Penguapan pelarut dengan rotary evaporator



Gambar 7. Ekstrak Pekat Metanol

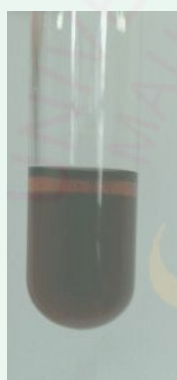


Gambar 8. Hidrolisis Ekstrak pekat Metanol



Gambar 9. Ekstraksi Cair-cair dengan pelarut etil asetat

➤ Uji Fitokimia dan KLT



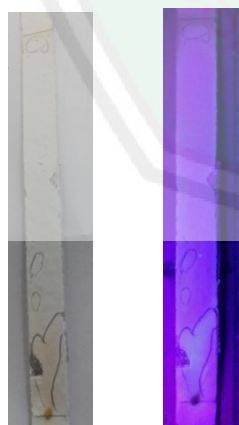
Gambar 10. Uji reagen dengan Lieberman Burchard



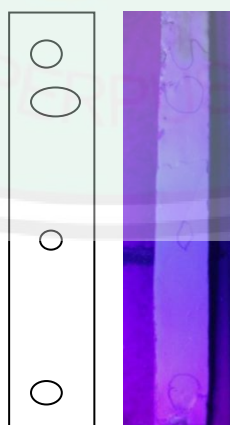
Gambar 11. Hasil KLTP eluen eluen n-heksana : etil asetat (7:3)



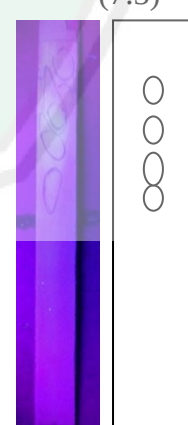
Gambar 12. Hasil KLTA eluen n-heksana : etil asetat (7:3)



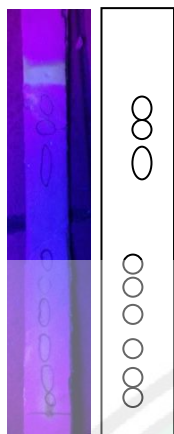
Gambar 13. Hasil KLTA eluen n-heksana : etil asetat (1:1)



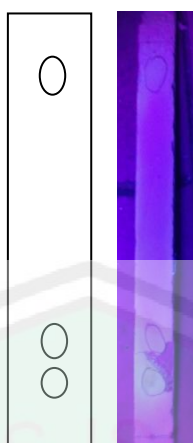
Gambar 14. Hasil KLTA eluen Metanol : Klorofom (1:2)



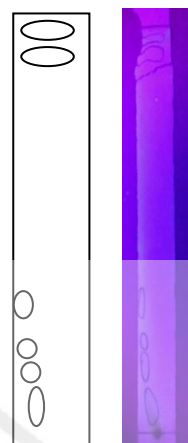
Gambar 15. Hasil KLTA eluen Metanol : Klorofom (7:3)



Gambar 16. Hasil KLTA eluen n-heksana : diklorometana (1:9)



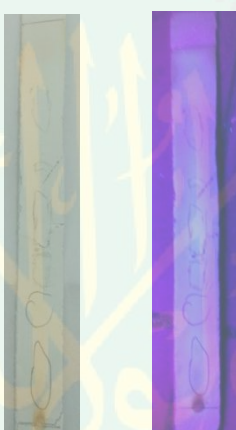
Gambar 17. Hasil KLTA eluen metanol : klorofom (5:2)



Gambar 18. Hasil KLTA eluen n-heksana : Klorofom (1:1)



Gambar 19. Hasil KLTA eluen n-heksana : Klorofom (2:1)



Gambar 20. Hasil KLTA eluen n-heksana : aseton (7:3)



Gambar 21. Hasil KLTA eluen n-heksana : etil asetat (12:1)