

# **SKRIPSI**

## **ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA DARI EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar*)**

## **ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MARKER COMPOUND FROM BANGLE RHIZOME EXTRACT (*Zingiber cassumunar*)**

Disusun dan diajukan oleh

**RAHMAT SETIAWAN**

**N111 16 331**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA DARI EKSTRAK  
RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar*)**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MARKER COMPOUND  
FROM BANGLE RHIZOME EXTRACT (*Zingiber cassumunar*)**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**RAHMAT SETIAWAN**

**N111 16 331**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA  
DARI EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar*)

RAHMAT SETIAWAN

N111 16 331

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing pendamping,



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.  
NIP. 19641231 199002 1 005



Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.  
NIP. 19900528 201504 1 001

Pada tanggal :

2022

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA  
DARI EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar*)

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MARKER COMPOUND  
FROM BANGLE RHIZOME EXTRACT (*Zingiber cassumunar*)

Disusun dan diajukan oleh :

**RAHMAT SETIAWAN**  
N111 16 331

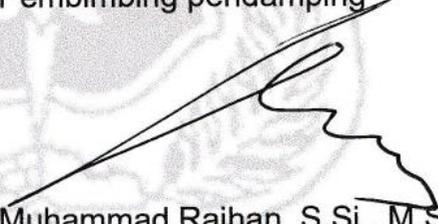
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Sarjana Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 2022  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing pendamping

  
Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.  
NIP. 19641231 199002 1 005

  
Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.  
NIP. 19900528 201504 1 001

Pt. Ketua Program Studi S1 Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Firzan Naimu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19820610 200801 1 012

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Rahmat Setiawan

NIM : N111 16 331

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Penanda dari Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*)" adalah karya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar,

Yang Menyatakan



Rahmat Setiawan

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur kepada sumber segala kebenaran dan sumber ilmu pengetahuan, Allah Subhana Wa Ta'ala. Salawat serta salam kepada Rasulullah Sallallahu 'Alaihi Wasallam yang telah membawa dan menuntun kita pada kebenaran Islam.

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah karena dengan pertolonganNya dan pertolongan orang-orang yang terlibat, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Penanda dari Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*)".

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana (S1) pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan karena menyadari segala keterbatasan yang ada. Demi kesempurnaan skripsi ini, penulis sangat mengharapkan dukungan dan sumbangsih pikiran baik berupa saran ataupun kritikan yang bersifat membangun.

Skripsi ini penulis persembahkan kepada kedua orang tua ayahanda Saffari S.Pd. dan ibunda Asliah Rahim S.Sos., M.Si. yang tiada henti memberikan motivasi, kasih sayang, dukungan, dorongan dan nasihat serta doa tulus ikhlas yang tentu takkan bisa penulis balas. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan kesehatan, rejeki, pahala dan perlindungan atas segala pengorbanan yang di berikan selama ini.

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

1. Ibu Rina Agustina, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. dan Ibu Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt. selaku Dosen Penasehat Akademik yang telah memberikan banyak nasihat dan arahan dari awal semester hingga akhir semester selama menempuh pendidikan di Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu memberi dukungan, saran, arahan dan bimbingannya selama penyusunan dan penulisan skripsi.
3. Bapak Prof. Subehan S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku tim penguji yang telah memberikan saran dan koreksinya sebagai penguji dalam penyempurnaan penulisan dan penyusunan skripsi ini.
4. Dekan dan Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan dan mengajarkan banyak ilmu, membagi pengalaman yang bermanfaat kepada penulis selama masa perkuliahan dan ijin dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat selama masa perkuliahan.

6. Teman-teman Neos Boys Army yang telah menemani penulis selama masa perkuliahan baik di ruangan kelas, laboratorium, hingga akhir penyusunan skripsi.
7. Teman Angkatan 2016 (NEOSTIGMINE) dan Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH) yang telah memberi pengalaman, dukungan, dan saran kepada penulis.
8. Teman-teman penelitian Fitokimia, Iswanto, Dini Ayu Zhafira, Darwis, Sri Novianti, dan Mustika yang telah berjuang bersama pagi hingga sore di laboratorium dan membantu selama proses penyusunan skripsi.

Akhirnya, penulis berharap semoga bantuan yang telah diberikan mendapat balasan dari Allah SWT dengan pahala yang berlipat ganda. Dengan segala kerendahan hati penulis senantiasa mengharapkan saran yang membangun sehingga penulis dapat berkarya lebih baik lagi di masa mendatang.. Kiranya skripsi ini dapat memberikan manfaat dan masukan bagi pembaca.

Makassar, Januari 2022



Rahmat Setiawan

## ABSTRAK

**RAHMAT SETIAWAN.** *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Penanda dari Ekstrak Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar)* (dibimbing oleh Prof. Gemini Alam dan Muhammad Raihan).

Tanaman bangle atau *Zingiber cassumunar* merupakan salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional. Dalam penelitian ini telah dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa marker dari tanaman bangle (*Z. cassumunar*), dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, partisi ekstrak cair-cair, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis preparatif, dan karakterisasi menggunakan instrumen Spektrofotometer UV/Vis, Spektrofotometer IR. Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai Rf senyawa standar yaitu 0,125 cm, berupa ekstrak etanol sebanyak 5,4 gram (rendemen 1,57%), 25 fraksi, 2 isolat (isolat A 0,02 gram dan isolat B 0,08 gram). Kemudian dilakukan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV/Vis diperoleh absorpsi senyawa isolat A pada panjang gelombang maksimum 231 nm dan isolat B pada panjang gelombang maksimum 229 nm. Selain itu, dilakukan analisis FT-IR diperoleh isolat A yang mengandung gugus fungsi OH ( $3491\text{ cm}^{-1}$ ), CH alifatik ( $2927\text{ cm}^{-1}$  dan  $2841\text{ cm}^{-1}$ ), CH aromatik ( $3072\text{ cm}^{-1}$  dan  $2725\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1730\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1674\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1263\text{ cm}^{-1}$ ). Isolat B mengandung gugus fungsi OH ( $3441\text{ cm}^{-1}$ ), CH alifatik ( $2924\text{ cm}^{-1}$  dan  $2852\text{ cm}^{-1}$ ), CH aromatik ( $3070\text{ cm}^{-1}$ ,  $2731\text{ cm}^{-1}$ ,  $2596\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1722\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1597\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1134\text{ cm}^{-1}$ ) yang mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan golongan fenolik. Meskipun demikian, diperlukan elucidasi struktur menggunakan instrumen NMR dan LC-MS.

Kata Kunci : Fenolik, FT-IR, Isolasi, Spektrofotometri Uv-vis, *Zingiber cassumunar*

## ABSTRACT

**RAHMAT SETIAWAN.** *Isolation and Characterization of Marker Compounds from Bangle Rhizome Extract (Zingiber cassumunar)* (supervised by Prof. Gemini Alam and Muhammad Raihan).

The Bangle plant or *Zingiber cassumunar* is one of the plants that has the potential to be developed as traditional medicine. In this study, the isolation and characterization of marker compounds from the bangle plant (*Z. cassumunar*), with extraction methods using 96% ethanol as solvent, liquid-liquid extract partition, thin layer chromatography, column chromatography, preparative thin layer chromatography, and characterization using instruments UV/Vis Spectrophotometer, IR Spectrophotometer. The results obtained showed that the R<sub>f</sub> value of the standard compound was 0.125 cm, in the form of 5.4 grams of ethanol extract (1.57% yield), 25 fractions, 2 isolates (0.02 grams of isolate A and 0.08 grams of isolate B). Then characterization was carried out using a UV/Vis spectrophotometer to obtain the absorption of isolate A at a maximum wavelength of 231 nm and isolate B at a maximum wavelength of 229 nm. In addition, FT-IR analysis was performed to obtain isolate A containing OH functional groups (3491 cm<sup>-1</sup>), aliphatic CH (2927 cm<sup>-1</sup> and 2841 cm<sup>-1</sup>), aromatic CH (3072 cm<sup>-1</sup> and 2725 cm<sup>-1</sup>), C=O (1730 cm<sup>-1</sup>), C=C (1674 cm<sup>-1</sup>), CO (1263 cm<sup>-1</sup>). Isolate B contained functional groups OH (3441 cm<sup>-1</sup>), aliphatic CH (2924 cm<sup>-1</sup> and 2852 cm<sup>-1</sup>), aromatic CH (3070 cm<sup>-1</sup>, 2731 cm<sup>-1</sup>, 2596 cm<sup>-1</sup>), C=O (1722 cm<sup>-1</sup>), C=C (1597 cm<sup>-1</sup>), CO (1134 cm<sup>-1</sup>) which indicated that the isolated compound was a phenolic group. However, structural elucidation using NMR and LC-MS instruments is required.

Keywords: Phenolic, FT-IR, Isolation, Uv-vis Spectrophotometry, *Zingiber cassumunar*

## DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN KEASLIAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	1
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> )	4
II.1.1 Taksonomi Tanaman	4
II.1.2 Morfologi Tumbuhan	5
II.2 Simplisia	6
II.2.1 Pengertian Simplisia	6
II.2.2 Jenis Simplisia	6
II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam	7
II.3.1 Pengertian Ekstraksi	7
II.3.2 Tujuan Ekstraksi	7
II.3.3 Metode-metode ekstraksi	8
II.3.3.1 Cara Dingin	8
II.3.3.2 Cara Panas	9
II.3.4 Ekstrak	11
II.3.4.1 Pengertian Ekstrak	11

II.3.5 Senyawa Penanda/Biomarker Pada Tanaman	11
II.3.6 Fenolik dan Turunannya	12
II.3.6.1 Flavonoid	12
II.3.6.2 Terpenoid	13
II.3.7 Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi	15
II.3.7.1 Kromatografi Lapis Tipis	15
II.3.7.2 Kromatografi Kolom	16
II.3.7.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)	17
II.3.7.4 Spektrofotometri UV/Vis	18
II.3.7.5 Spektrofotometer FT-IR	20
BAB III METODE KERJA	23
III.1 Alat dan Bahan	23
III.2 Metode Penelitian	23
III.2.1 Penyiapan Ekstrak	23
III.2.1.1 Penyiapan Sampel	23
III.2.1.2 Ekstraksi Sampel	23
III.2.2 Penentuan Senyawa Penanda	24
III.2.3 Partisi Ekstrak	24
III.2.4 Kromatografi Lapis Tipis	25
III.2.5 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Kolom	25
III.2.5.1 Penyiapan Kromatografi Kolom	25
III.2.5.2 Penyiapan Sampel Kromatografi Kolom	25
III.2.6 Fraksinasi	26
III.2.7 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	26
III.2.8 Uji Kemurnian Isolat	26
III.2.9 Identifikasi Golongan Senyawa	27
III.2.10 Karakterisasi	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
BAB V PENUTUP	29
V.1 Kesimpulan	29

V.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	300
LAMPIRAN	34

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Macam-macam kromofor dan panjang gelombang maksimal	20
2. Frekuensi inframerah pada beberapa jenis ikatan	22

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> )	5
2. Struktur kimia senyawa golongan flavonoid	13
3. Struktur kimia senyawa golongan terpenoid	14
4. Skema alat spektrofotometri UV/Vis	19
5. Diagram alur kerja spektrofotometer FT-IR	21
6. Simplisia bangle	34
7. Proses maserasi	34
8. Proses penguapan pelarut	34
9. Penyiapan ekstrak untuk partisi	34
10. Proses partisi (ECC)	34
11. Proses fraksinasi	34
12. Hasil fraksinasi	35

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Dokumentasi penelitian	34

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Tanaman bangle atau nama ilmiah *Zingiber cassumunar* adalah salah satu tanaman yang sering dijadikan sebagai obat herbal oleh masyarakat. Tanaman ini mudah ditemukan dan dibudidayakan, sehingga merupakan obat tradisional yang cukup potensial untuk dieksplorasi manfaat yang terkandung didalamnya. Bagian tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat adalah rimpangnya.

Rimpang bangle mengandung senyawa golongan flavonoid, kuinon, steroid dan triterpenoid (Tirtaningrum, 2014). Senyawa golongan flavonoid yaitu katekin asal tanaman bangle merupakan senyawa peluruh lemak melalui aktivitas lipase (Darusman et al., 2001). Berdasarkan penelitian Buldani, dkk. (2017), dilaporkan bahwa ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar*) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*. Bahwa ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar*) pada konsentrasi 100 % memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat yang sedang. Senyawa kimia tersebut antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Efek bakteriostatik dari senyawa kimia ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar*) bersifat *concentration dependent*.

Berdasarkan penelitian Alam, dkk (2012), dilaporkan bahwa ekstrak n-heksan rimpang bangle (*Z. cassumunar*) memiliki efek mukolitik yang potensial

Hasil penelitian Isrul et al (2017), menyatakan bahwa fraksi methanol dari rimpang bangle (*Z. cassumunar*) dengan konsentrasi 100 ppm menunjukkan aktivitas anti *Mycobacterium tuberculosis*, hasil skrining senyawa kimia dari fraksi menunjukkan bahwa fraksi mengandung senyawa flavonoid dan terpen yang berdasarkan literatur telah terbukti sebagai agen anti *Mycobacterium tuberculosis*. . Berdasarkan penelitian Wulansari, dkk (2018), dilaporkan bahwa ekstrak etanolik rimpang bangle (*Z. cassumunar*) yang mengandung senyawa golongan terpenoid dan beberapa senyawa yang bersifat meredam radikal bebas, dapat memberikan aktivitas antiinflamasi topical Hasil penelitian Susanti, dkk (2015), melaporkan bahwa ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar*) pada dosis 85,1301 mg/kgBB memiliki efek anthelmintic.

Sampai saat ini sudah banyak dilakukan penelitian dari ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar*) yang memiliki senyawa senyawa kimia dengan berbagai manfaat. Akan tetapi, belum ada penelitian yang meneliti tentang senyawa penanda dari rimpang bangle (*Z. cassumunar*).

Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa penanda rimpang bangle (*Z. cassumunar*) sebagai salah satu bahan alam obat tradisional. Senyawa utama ini selanjutnya dapat digunakan sebagai

senyawa penanda dalam standardisasi ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar*) sebagai bahan baku obat tradisional

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah komponen utama dari rimpang ekstrak tanaman bangle (*Z. cassumunar*) yang diisolasi pada penelitian ini dapat dijadikan sebagai senyawa penanda dan bagaimana karakteristik senyawa tersebut?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan isolasi dan karakterisasi komponen utama dari rimpang ekstrak tanaman bangle (*Z. cassumunar*) Sebagai senyawa penanda.

## **BAB II**

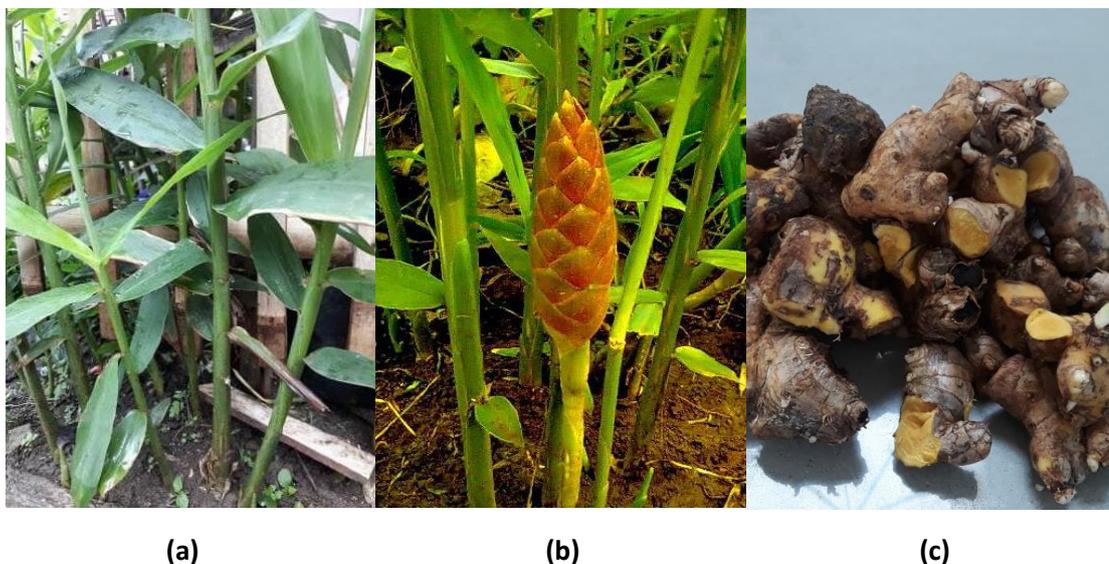
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Bangle (*Zingiber cassumunar*)**

Tanaman bangle (Gambar 1) merupakan herba berumur tahunan. Tanaman bangle bersifat adaptif, dapat hidup di dataran rendah hingga daerah dengan ketinggian 1.300 m di atas permukaan laut. Bangle dapat dibudidayakan di pekarangan yang cukup terkena sinar matahari. Bangle untuk pertumbuhannya memerlukan tanah yang subur, gembur, cukup sinar matahari, dan memerlukan jarak tanam yang cukup luas yaitu 50x50 cm (Muhlisah, 2011).

##### **II.1.1 Taksonomi Tanaman**

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Bangsa	: <i>Zingiberales</i>
Suku	: <i>Zingiberaceae</i>
Marga	: <i>Zingiber</i>
Jenis	: <i>Zingiber cassumunar</i>



Gambar 1. Tanaman Bangle (*Z. cassumunar*). (a) tanaman bangle; (b) bunga bangle; (c) rimpang bangle

(sumber : koleksi pribadi)

### II.1.2 Morfologi Tumbuhan

Batang bangle tumbuh tegak dan memiliki rumpun yang rapat. Tinggi tanaman bangle dapat mencapai 1,2-1,8 m. Batang semu bangle tersusun atas kumpulan dari pelepah daun. Meskipun daun bangle berpelepah, daun bangle tidak memiliki tangkai, atau disebut daun duduk. Letak daun bangle tersusun secara menyirip berseling. Bentuk daun bangle lanset ramping, meruncing ke ujung, dan mengecil ke pangkal. Panjang daun bangle mencapai 23-53 cm dan lebar daun 2-3,2 cm. Permukaan daun bangle lemas, tipis, dan licin tidak berbulu, tetapi punggung daun bangle berbulu halus (Muhlisah, 2011).

Bunga bangle muncul dari permukaan tanah, berasal dari rimpang samping, dan bukan dari tengah-tengah rumpun. Bunga bangle berbentuk gelendong, dan tangkai bunga merupakan tangkai semu yang tersusun dari

tumpukan daun penumpu bunga. Daun penumpu bunga tersusun seperti sisik ikan, bentuknya kaku, tebal, dan berwarna merah atau hijau kecoklatan. Benang sari bunga bangle berwarna putih kekuningan dan ujungnya berbentuk keriting. Buah bangle berbentuk bulat, kecil, dan hanya berukuran sekitar 17 mm. Kulit buah bangle tipis, berbiji banyak, berwarna ungu, dan ukuran bijinya kecil, Bentuk rimpang bangle agak bulat pendek dan tidak banyak bercabang dengan kulit luar berwarna coklat muda dan daging rimpang berwarna oranye tua atau kecoklatan. (Muhlisah, 2011).

## **II.2 Simplisia**

### **II.2.1 Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican atau mineral. (Depkes RI, 1985).

### **II.2.2 Jenis Simplisia**

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Yang dimaksud dengan eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya.

Simplisia hewani ialah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.

Simplisia pelikan atau mineral ialah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. (Depkes RI 1985)

### **II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam**

#### **II.3.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses yang dilakukan oleh cairan penyari untuk menarik keluar zat aktif yang terdapat pada tanaman obat. Zat aktif tersebut berada di dalam sel, sehingga untuk mengeluarkannya dari dalam sel diperlukan suatu cairan penyari atau pelarut tertentu. Cairan penyari yang biasa digunakan adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, dan benzena (Najib, 2018).

#### **II.3.2 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi berdasarkan kemampuan pelarut untuk menarik senyawa terlarut dari dalam sel karena adanya perbedaan tekanan didalam dengan di luar sel. Proses ini terjadi terus-menerus hingga terjadi kesetimbangan zat aktif di dalam dan di luar sel (Depkes RI, 1986).

### **II.3.3 Metode-Metode Ekstraksi**

#### **II.3.3.1 Cara Dingin**

##### **1. Maserasi**

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi, terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2015). Proses maserasi dilakukan dengan merendam simplisia menggunakan pelarut yang cocok, dan kemudian dibantu dengan pengadukan sesekali untuk mempercepat proses ekstraksi hingga terjadi keseimbangan konsentrasi didalam dan diluar sel simplisia. Keuntungan proses maserasi diantaranya adalah proses ekstraksi yang sederhana dan tidak memerlukan peralatan khusus. Selain itu, cocok dilakukan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil (Sarker, dkk. 2006). Sedangkan kerugian proses maserasi adalah memerlukan waktu ekstraksi yang dibutuhkan lebih lama dan efisiensi ekstraksi yang rendah. (Cujic, dkk. 2016).

##### **2. Perkolasi**

Perkolasi merupakan salah satu metode ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan cara mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa tersari sempurna. Metode ini memerlukan waktu yang lebih lama dan pelarut yang lebih banyak (Hanani, 2015).

Perkolasi lebih efisien dibanding dengan maserasi karena proses perkolasi yang berkelanjutan dimana pelarut jenuh terus-menerus digantikan oleh pelarut segar (Zhang H, dkk. 2014).

### **II.3.3.2 Cara Panas**

#### **1. Refluks**

Refluks adalah metode ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang terbatas yang relatif konstan dengan adanya kondensor. Refluks umumnya dilakukan berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama (Hanani, 2015).

Ekstraksi menggunakan metode refluks lebih efisien dibandingkan perkolasi atau maserasi. Selain itu pelarut dan waktu ekstraksi yang dibutuhkan lebih sedikit. Metode ini tidak dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa alam yang termolabil (Kongkiatpaiboon, dkk. 2013).

#### **2. Soxhletasi**

Soxhletasi merupakan cara ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan soxhlet. Pada soxhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada labu yang berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap masuk dalam labu pendingin. Hasil kondensasi akan jatuh pada bagian simplisia sehingga ekstraksi berlangsung secara terus menerus dengan jumlah pelarut relatif konstan (Hanani, 2015). Keuntungan utama dari ekstraksi Soxhlet adalah proses yang berkelanjutan membuat ekstraksi Soxhlet lebih sedikit memakan waktu dan pelarut daripada maserasi atau perkolasi. Namun,

kelemahan utama Soxhlet Ekstraksi adalah bahwa ekstrak secara konstan dengan metode dipanaskan pada titik didih pelarut yang digunakan dapat merusak senyawa termolabil dan/atau memulai pembentukan artefak (Sarker, dkk. 2006)

### 3. Infusa

Infusa adalah cara ekstrak dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 960C - 980C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu 960C tercapai). Bejana infusa tercelup dalam tangas air. Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2015).

### 4. Dekok

Dekok adalah cara ekstraksi yang mirip dengan infusa, hanya saja waktu ekstraksinya lebih lama yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air (Hanani, 2015). Metode dekok biasanya digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang bersifat keras seperti batang, kayu, dan akar. Salah satu contoh yaitu metode dekok dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa antioksidan yang terdapat pada suatu tanaman obat (Chen, dkk. 2014)

### 1. Destilasi

Destilasi merupakan proses pemisahan senyawa, dengan menggunakan suhu pada waktu tertentu, karena adanya perbedaan titik didih komponen, sehingga memungkinkan terjadinya pemisahan senyawa dari simplisia (Zereshki, 2012). Destilasi dapat dilakukan langsung pada bahan tanaman atau setelah penambahan air. Metode ini biasanya

digunakan untuk mengekstraksi senyawa berupa minyak atsiri.(Chen, dkk. 2014). simplisia kering atau segar ditambahkan pelarut air dalam tabung yang terhubung ke kondensor. Setelah dipanaskan, uap (campuran minyak atsiri dan air) mengembun kemudian distilat (dipisahkan menjadi dua lapisan yang tidak larut) dikumpulkan dalam tabung bertingkat yang terhubung ke kondensor (Sarker, dkk. 2006)

### **II.3.4 Ekstrak**

#### **II.3.4.1 Pengertian Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan cair, kental atau kering yang merupakan hasil proses ekstraksi atau penyarian suatu matriks atau simplisia menurut cara yang sesuai. Sedangkan menurut Farmakope Indonesia Edisi Ketiga, ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak diperoleh dari ekstraksi yang masih mengandung sebagian besar cairan penyari. Ekstrak kental akan diperoleh ketika sebagian besar penyari telah diuapkan, dan ekstrak kering merupakan ekstrak yang sudah tidak mengandung cairan penyari (Hanani, 2015 ; Depkes RI, 1979).

#### **II.3.5 Senyawa Penanda/Biomarker Pada Tanaman**

Senyawa marker adalah suatu senyawa kimia yang dapat mengidentifikasi suatu kandungan dari produk tradisional yang memiliki efek farmakologi ataupun tidak dan biasanya digunakan untuk

keperluan quality control (Rasheed, 2012). Senyawa penanda dapat digunakan sebagai senyawa identitas suatu simplisia tanaman tertentu, dan juga dibutuhkan untuk menjadi pengontrol kualitas lebih lanjut selain karakteristik tanaman seperti morfologi. Untuk memenuhi syarat ini, zat atau senyawa tersebut tidak dimiliki oleh simplisia tanaman lain (Sutrisno, 1986).

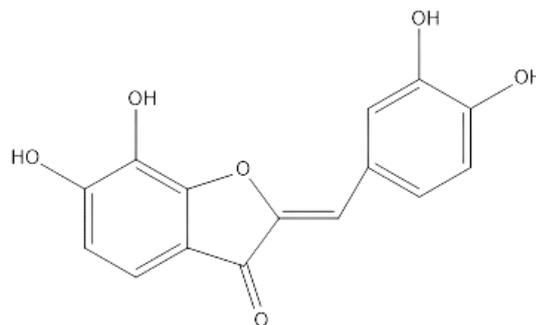
Adapun syarat-syarat senyawa penanda adalah bersifat khas, mempunyai struktur kimia yang jelas, dapat diukur kadarnya dengan metode analisis yang biasa digunakan, bersifat stabil, tersedia dan dapat diisolasi dengan berbagai pelarut (Purnomo, 2008). Senyawa penanda dapat digolongkan menjadi empat golongan, meliputi senyawa aktif, senyawa utama, senyawa identitas, dan senyawa aktual. (Depkes RI, 1995., Depkes RI, 2008., Saifuddin, 2011) Contoh senyawa penanda yang telah dilaporkan yaitu kurkumin pada kunyit, gingerol dan shogaol pada jahe, dan skopoletin pada buah mengkudu.

### **II.3.6 Metabolit Sekunder Pada Tanaman**

#### **II.3.6.1 Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok senyawa dengan berat molekul rendah berbasis inti 2-fenil-kromon yang merupakan biosintesis dari turunan asam asetat/fenilalanin menggunakan jalur asam shikimat. Ada beberapa subkelas flavonoid, diantaranya flavanols, flavanon, flavon, isoflavon, anthocyanidins, dan flavonol. Pembagian dalam subkelas flavonoid didasarkan pada sifat-sifat struktural. Flavon dan flavonol

mengandung jumlah terbesar senyawa, mewakili sebagian kecil flavonoid, yaitu kategori 2-benzo- $\gamma$ -pyron. Kuersetin merupakan salah satu golongan flavonol. Flavanon dan flavonol memiliki ikatan jenuh C. Flavanon adalah senyawa yang tan berwarna yang tak dapat dideteksi pada pemeriksaan kromatografi kecuali bila menggunakan penyemprot kromogen. Flavanon biasanya lebih mudah terbentuk dalam suasana asam sedangkan calkon lebih mudah didapatkan dalam suasana basa (Arifin dan Ibrahim, 2018). Contoh senyawa flavonoid yang terdapat pada bangle ialah 6,7,3',4'-tetrahidroksiauron (maritimetin) (Rissanti, dkk, 2014).

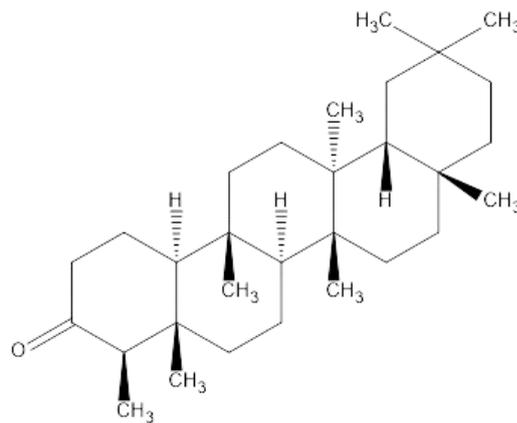


Gambar 2. Struktur kimia senyawa 6,7,3',4'-tetrahidroksiauron (maritimetin) (Rissanti, dkk, 2014)

### II.3.6.2 Terpenoid

Terpenoid merupakan kelompok senyawa kimia yang berasal dari isopren ( $C_5H_8$ ). Berbagai jenis terpen memiliki sifat yang berbeda. Monoterpen bersifat mudah menguap, diterpen lebih sulit menguap, dan juga senyawa golongan triterpen dan sterol yang sulit menguap. (Hanani, 2015). Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terletak

di dalam sitoplasma sel tanaman. Minyak atsiri kadang-kadang terdapat pada kelenjar khusus. Sel-sel pada permukaan daun, sementara karotenoid berada pada kloroplas di daun dan dengan kromoplas di kelopak. Terpenoid biasanya diekstraksi dari jaringan tanaman dengan eter atau kloroform dan dapat dipisahkan dengan kromatografi pada silika gel atau alumina menggunakan pelarut yang sama. Namun, sering kali kesulitan dalam mendeteksi pada skala mikro, karena hampir semua dari senyawa ini (kecuali karotenoid) tidak berwarna dan tidak ada yang sensitif reagen kromogenik universal untuk mereka (Harborne, 1973). Contoh senyawa terpenoid yang terdapat pada bangle ialah Friedelen-3-on. (Rosyid, dkk, 2016)



Gambar 3. Struktur kimia senyawa Terpenoid Friedelen-3-on. (Rosyid, dkk, 2016)

## **II.3.7 Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi**

### **II.3.7.1 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis merupakan metoda kromatografi cair yang melibatkan dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fasa geraknya berupa campuran pelarut pengembang dan fasa diamnya dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penyerap (kromatografi cair-padat) atau berfungsi sebagai penyangga untuk lapisan zat cair (kromatografi cair-cair). Fasa diam (adsorben) yang sering digunakan adalah serbuk silika gel, alumina dan selulosa yang mempunyai ukuran butir sangat kecil, yaitu 0,063-0,125 mm. Fasa diam yang umum digunakan adalah silika gel yang dapat dipakai untuk memisahkan campuran senyawa lipofil maupun campuran senyawa hidrofili (Hostettman dkk., 1995).

KLT memiliki kelebihan yaitu serbaguna, kecepatan dan kepekaannya apabila dibandingkan dengan kromatografi kertas. Keserbagunaan kromatografi lapis tipis yaitu dapat menggunakan berbagai penjerap seperti silika gel, aluminium oksida, kiselgur dan selulosa. Silika gel adalah penjerap yang paling sering digunakan karena memiliki pemisahan yang baik (Rohman, 2009). Dibandingkan dengan kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis hanya membutuhkan penjerap dan cuplikan yang sedikit, serta noda-noda yang terpisahkan dapat terlihat pada plat, kemudian setelah pemisahan dapat diperoleh senyawa-

senyawa yang terpisah secara individu dengan cara mengeruk lalu dikumpulkan tiap pemisahannya (Harbone, 1973).

Komponen yang terlarut akan terbawa fase diam (penjerap) dengan kecepatan Bergeraknya komponen terlarut dalam fase gerak (pelarut) adalah dasar untuk mengidentifikasi komponen yang dipisahkan. Perbandingan kecepatan ini dinyatakan dengan *Rf* (*Retardation factor*) dengan persamaan (Lipsy, 2010) :

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

### II.3.7.2 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan dan memurnikan komponen senyawa. Fase diam dapat berupa adsorptif atau padatan inert, biasanya berpori, atau dapat berupa resin penukar ion atau gel. Fase diam berupa adsorben bubuk silica ditempatkan dalam kolom kaca vertikal. Campuran yang akan dianalisis dimuat di atas kolom ini. Fase gerak berupa pelarut yang dituangkan di atas kolom yang dimuat. Pelarut mengalir ke bawah kolom, menyebabkan komponen-komponen campuran terdistribusi antara fase diam dan pelarut, sehingga memisahkan komponen-komponen campuran ketika pelarut mengalir keluar bagian bawah kolom (Hajnos dan Sherma, 2010). Substansi yang akan dipisahkan harus memiliki afinitas relatif yang berbeda untuk fase diam dan bergerak. Dengan demikian, zat dengan afinitas yang relatif lebih tinggi untuk fase diam bergerak dengan kecepatan lebih rendah melalui sistem kromatografi daripada zat dengan afinitas yang lebih rendah.

Perbedaan dalam kecepatan migrasi ini pada akhirnya menyebabkan pemisahan fisik komponen dalam sampel (Jonsson, 1987).

### **II.3.7.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)**

Kromatografi lapis tipis preparatif merupakan cara yang ideal untuk pemisahan cuplikan kecil (50 mg sampai 1 mg) dari senyawa yang kurang atsiri. Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam KLTP yakni (Hostetmann dan Marston, 1985) :

#### **1. Penjerap (adsorben)**

Ketebalan penjerap berpengaruh terhadap kualitas pemisahan, ketebalan yang paling sering digunakan adalah 0,5-2 mm. Penjerap yang paling umum digunakan adalah silika gel.

#### **2. Penotolan cuplikan**

Cuplikan ditotolkan berupa pita sesempit mungkin karena pemisahan bergantung pada lebar pita. Untuk pita yang lebar, dapat dilakukan pemekatan dengan cara pengembangan menggunakan pelarut polar sampai kira-kira 2 cm diatas tempat penotolan.

#### **3. Memilih fase gerak dan mengembangkan plat KLTP**

Pemilihan pelarut berdasarkan pemeriksaan pendahuluan memakai KLT analitik. Penambahan senyawa asam asetat atau dietilamin berguna untuk memisahkan berturut-turut senyawa asam dan senyawa basa.

#### 4. Penampakan pita

Penampakan pita yang mengandung cuplikan pada kromatogram preparatif untuk senyawa yang mempunyai ikatan rangkap menggunakan sinar UV pada lapisan yang mengandung indikator fluoresensi.

#### 5. Mendapatkan kembali cuplikan

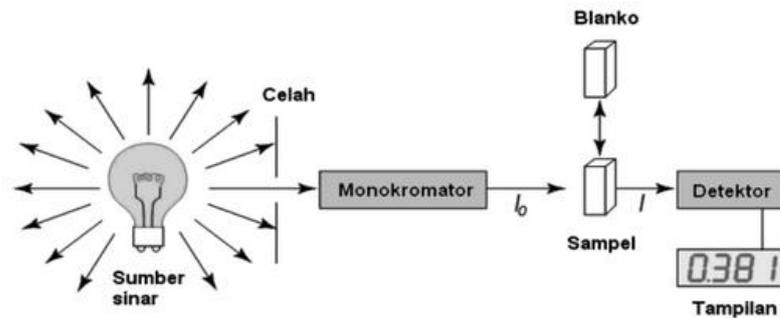
Pita yang kedudukannya telah diketahui dikerok dari plat dengan spatula, lalu diekstraksi beberapa kali dengan pelarut yang cocok. Pelarut harus cukup polar untuk mengekstraksi cuplikan.

### **II.3.8 Spektrofotometri UV/Vis**

Spektrofotometri UV didasari pada interaksi sampel dengan sinar UV yang memiliki panjang gelombang 190-380 nm. Sumber sinar UV dapat diperoleh dari lampu deuterium. Sementara, spektrofotometri vis, merupakan spektrofotometri yang sumber cahayanya menggunakan cahaya tampak (visibel), yang memiliki panjang gelombang 380-750 nm. Sumber sinar tampak yang umumnya digunakan yaitu lampu tungsten (Nazar,2018).

Prinsip kerja spektroskopi UV/Vis yaitu cahaya yang berasal dari lampu *deuterium* ataupun *wolfram* yang bersifat polikromatis akan diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat. Sehingga, akan terdapat cahaya yang diserap dan cahaya yang dilewatkan. Cahaya yang

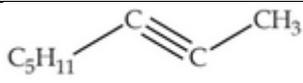
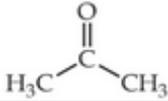
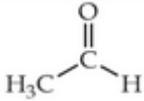
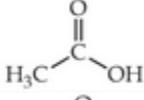
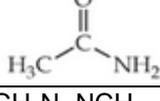
dilewatkan akan diterima oleh detektor. Detektor kemudian akan menghitung cahaya yang diterima serta cahaya yang diserap oleh sampel (Skoog and West, 1971).



Gambar 4. Skema alat spektrofotometri UV-Vis  
(Gandjar dan Rohman, 2018)

Semua gugus atau gugusan atom yang mengabsorpsi radiasi UV-Vis yang disebut sebagai kromofor. Pada senyawa organik dikenal pula gugus auksokrom yang merupakan gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas seperti  $-\text{OH}$  ;  $\text{O}-\text{NH}_2$  dan  $\text{O}-\text{CH}_3$  . Terikatnya gugus auksokrom oleh gugus kromofor akan mengakibatkan pergeseran pita absorpsi menuju ke panjang gelombang yang lebih panjang (pergeseran merah = batokromik) disertai peningkatan intensitas (efek hiperkromik) (Mulja, 1995).

Tabel 1. Macam-macam kromofor dan panjang gelombang maksimal

Kromofor	Contoh	Pelarut	$\lambda$ maks (nm)	$\epsilon$ maks	Jenis transisi
alkena	$C_6H_{13}CH=CH_2$	n-heptan	177	13.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alkin		n-heptan	178	10.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2.000	-
			225	160	-
karbonil		n-heksan	186	1.000	$n \rightarrow \delta^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
		n-heksan	180	.luas	$n \rightarrow \delta^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
karboksil		etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido		air	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$CH_3N=NCH_3$	etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	$CH_3NO_2$	isooktan	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	$C_4H_9NO$	Etil eter	300	100	$n \rightarrow \pi^*$
			665	20	-
Nitrat	$C_2H_5ONO_2$	Dioksan	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

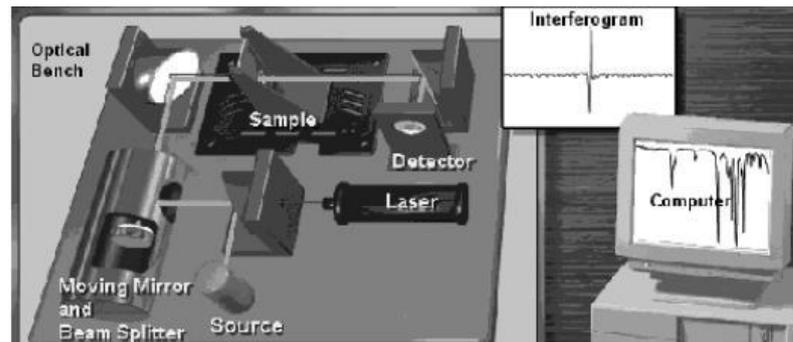
Sumber : Pavia, D.L., Lampmann, G.M., dan Kriz, G.S. *Introduction to Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry*. Saunders College Publishing. Washington. 1979.

### II.3.9 Spektrofotometri FT-IR

Spektrofotometri inframerah (IR) merupakan salah satu alat yang dapat digunakan dalam menganalisis senyawa kimia. Spektra inframerah dapat memberikan gambaran dan struktur molekul suatu senyawa. Spektra IR dapat dihasilkan dengan mengukur absorpsi radiasi, refleksi atau emisi di daerah inframerah.

Daerah inframerah terbagi tiga yaitu, daerah inframerah dekat (400-10  $cm^{-1}$ ) digunakan untuk menganalisis molekul yang mengandung atom-atom berat seperti senyawa anorganik, namun membutuhkan teknik khusus yang lebih baik. Daerah inframerah sedang (4000-400  $cm^{-1}$ ) berkaitan

dengan transisi energi vibrasi dari molekul yang memberikan informasi mengenai gugus-gugus fungsi dalam molekul tersebut. Sedangkan, daerah inframerah jauh ( $12.000-4000\text{ cm}^{-1}$ ) yang peka terhadap vibrasi overtone (Tahid.1994)



Gambar 5. Diagram alur kerja Spektrofotometer Infra Merah (Pavia, 1979)

**Tabel 2. Frekuensi inframerah khas beberapa golongan senyawa alam**

Jenis ikatan	Tipe Vibrasi	Frekuensi (cm <sup>-1</sup> )
C-H	alkana	3000-2850 cm <sup>-1</sup>
	-CH <sub>3</sub>	1450-1375 cm <sup>-1</sup>
	-CH <sub>2</sub> -	1465 cm <sup>-1</sup>
	aldehid	2900-2800 cm <sup>-1</sup>
C=C	Alkena	1680- 1600 cm <sup>-1</sup>
	aromatic	1600 dan 1475 cm <sup>-1</sup>
C≡C	alkyn	2250-2100 cm <sup>-1</sup>
C=O	Aldehid	1740-1720 cm <sup>-1</sup>
	Keton	1725-1705 cm <sup>-1</sup>
	Asam karboksilat	1725-1700 cm <sup>-1</sup>
	ester	1750-1730 cm <sup>-1</sup>
	amida	1700-1640 cm <sup>-1</sup>
	anhidrida	1810 dan 1760 cm <sup>-1</sup>
C-O	Asam klorida	1800 cm <sup>-1</sup>
	Alkohol, eter, ester, asam karboksilat, amhidrida	1300-1000 cm <sup>-1</sup>
O-H	Alkohol, fenolik	3650-3200 cm <sup>-1</sup>
N-H	Amin dan amida	3500-3100 cm <sup>-1</sup>
C-N	Amin	1350-1000 cm <sup>-1</sup>
C=N	Imines dan Oximes	1690-1640 cm <sup>-1</sup>
C≡N	Nitril	2260-2240 cm <sup>-1</sup>
X=C=Y	Allen, ketenes, isosianat, isotiosianat	2270-1940 cm <sup>-1</sup>
N=O	Nitro (R-NO <sub>2</sub> )	1550 dan 1350 cm <sup>-1</sup>
S-H	mercaptans	2550 cm <sup>-1</sup>
S=O	Sulfoksida	1050 cm <sup>-1</sup>
	Sulfon, sulfonil klorida, sulfat, dan sulfonamide	1375-1300 cm <sup>-1</sup>
		1350-1140 cm <sup>-1</sup>
C-X	Fluorida	1400-1000 cm <sup>-1</sup>
	Klorida	785-540 cm <sup>-1</sup>

Sumber : Pavia, D.L., Lampmann, G.M., dan Kriz, G.S. *Introduction to Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry*. Saunders College Publishing. Washington. 1979