

SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA DARI EKSTRAK DAUN PARE (*Momordica charantia*)

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MARKER COMPOUND FROM BITTER MELON (*Momordica charantia*) LEAVES EXTRACT

Disusun dan diajukan oleh

ISWANTO

N111 16 335



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

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA
DARI EKSTRAK DAUN PARE (*Momordica charantia*)**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MARKER COMPOUND
FROM BITTER MELON (*Momordica charantia*) LEAVES EXTRACT**

SKRIPSI

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

ISWANTO

N111 16 335

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

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA
DARI EKSTRAK DAUN PARE (*Momordica charantia*)

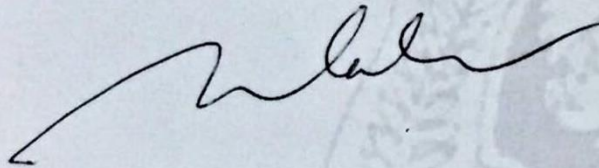
ISWANTO

N111 16 335

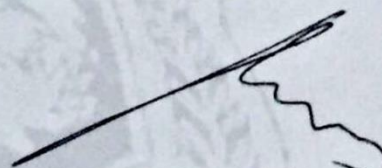
Disetujui oleh :

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 : 31 Januari, 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENANDA
DARI EKSTRAK DAUN PARE (*Momordica charantia*)

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MARKER COMPOUND
FROM BITTER MELON (*Momordica charantia*) LEAVES EXTRACT

Disusun dan diajukan oleh :

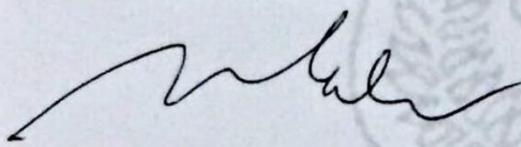
ISWANTO
N111 16 335

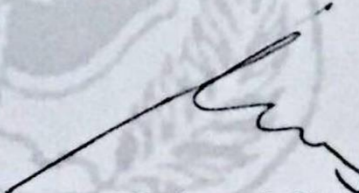
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Sarjana Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 26/01/2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

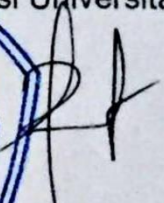
Pembimbing pendamping


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

Plt. Ketua Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin




Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19620610 200801 1 012

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Iswanto

NIM : N111 16 335

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

"Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Penanda dari
Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*)"

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 26 Januari 2022

Yang menyatakan



Iswanto

N111 16 335

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillaahirrahmaanirrahiim, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Penanda dari Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*)”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabat-sahabatnya dan kepada seluruh umatnya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih sangat jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari pembaca demi terciptanya suatu karya yang lebih baik.

Perjuangan yang panjang untuk menyelesaikan skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak, terkhusus orang-orang terdekat penulis. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Ismail dan Ibu Saiba yang telah memberikan banyak kasih sayang, doa, motivasi, dan dukungannya baik dalam bentuk materi maupun non materi kepada penulis. Penulis juga ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada adik tercinta Randy Maulana dan nenek Cinang yang juga selalu memberikan doa dan motivasi kepada penulis.

Pada kesempatan ini penulis juga ingin mengucapkan terima kasih dengan hormat dan tulus kepada berbagai pihak, terutama kepada:

1. 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 waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, saran serta bantuan yang sangat bermanfaat buat penulis.
2. Bapak Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Ibu Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm Sci, Apt. selaku penguji yang dengan baik hati memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Andi Affandi, M.Sc., Apt. dan Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen penasehat akademik yang senantiasa memberi motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di jenjang perguruan tinggi.
4. Dekan dan Wakil Dekan beserta jajarannya yang selalu memberikan kontribusi dalam hal peningkatan mutu dan kualitas Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin sehingga kami dapat menikmati hasil terbaik dari kerja keras mereka.
5. Bapak dan Ibu dosen, kepala laboratorium, pranata laboratorium dan seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan dan mengajarkan banyak ilmu, serta memberikan banyak

bantuan dari awal penulis menyanggah status mahasiswa Farmasi Unhas hingga saat ini.

6. Korps Asisten Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia khususnya kakak-kakak yang sudah berbaik hati memberikan ilmunya dan membantu penulis, Satria Astazaury Awal, Darwis, Andi Aditya Natsir, Muh. Lahamuddin, Ade Irma Sudirman, Muh. Irfan dan Jumasna.
7. Teman-temanku Neost16mine, pengurus BEM KEMAFAR-UH periode 2018-2019, UKM Redaksi Lege Artis dan Pharmacinema yang memberikan banyak pengalaman dan dukungan kepada penulis.
8. Teman-teman penelitian di lab Fitokimia, Dini Ayu Zhafira, Rahmat Setiawan, Sri Novianti dan Mustika yang selalu kebersamai penulis untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi.
9. Teman-teman dekat penulis yang selalu memberikan motivasi, saran dan doa dalam penyelesaian skripsi ini, Adhi Putra Bahar, Firdaus Fahkar, dan Latifa Baharuddin.

Penulis tidak akan pernah bisa membalas segala dukungan dan doa yang mereka berikan. Semoga Allah SWT membalas kebaikan mereka dengan hal-hal yang jauh lebih baik, Aamiin. Akhir kata, penulis ingin menyampaikan bahwa “skripsi yang baik adalah skripsi yang dikerjakan dan diselesaikan”.

Makassar, Januari 2022

Iswanto

ABSTRAK

ISWANTO. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Penanda dari Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) (Dibimbing oleh Prof. Gemini Alam dan Muhammad Raihan).

Tanaman Pare (*Momordica charantia*) merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai bahan baku obat tradisional khususnya pada bagian daunnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa penanda dari ekstrak daun pare (*M. charantia*). Penelitian ini dilakukan dengan metode ekstraksi, penentuan senyawa penanda, partisi ekstrak cair-cair, kromatografi kolom cair vakum, kromatografi lapis tipis preparatif, identifikasi golongan senyawa dan karakterisasi menggunakan instrumen spektrofotometer Uv-Vis dan spektrofotometer infra merah. Hasil yang diperoleh berupa ekstrak etanol 96% 34,65 gram (rendemen 17,32%); dan isolat 0,0167 gram. Analisis menggunakan spektrofotometer Uv-Vis diperoleh absorpsi senyawa pada panjang gelombang maksimum 219 nm. Analisis menggunakan spektrofotometer infra merah diketahui bahwa isolat mengandung gugus fungsi -OH (3442 cm^{-1}); C-H alifatik (2954 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} , dan 1462 cm^{-1}); C=O (1724 cm^{-1}); dan C=C (1620 cm^{-1} dan 1645 cm^{-1}).

Kata Kunci : Daun Pare (*Momordica charantia*), Isolasi, Karakterisasi, Spektrofotometri Infra Merah, Spektrofotometri Uv-Vis.

ABSTRACT

ISWANTO. Isolation and Characterization Marker Compound from Bitter Melon (*Momordica charantia*) Leaves Extract (Supervised by Prof. Gemini Alam and Muhammad Raihan).

Bitter melon (*Momordica charantia*) has been widely used as a raw material for traditional medicine, especially for the leaves. The purpose of this research was to isolated and characterized the marker compound from bitter melon (*M. charantia*) leaves extract. This research was carried out by extraction, determination of the marker compound, liquid-liquid partition, vacuum-liquid column chromatography, preparative thin layer chromatography, identification of the compound classification and characterization using Uv-Vis spectrophotometer and infrared spectrophotometer. The results of the extraction process was 34,65 grams of ethanol 96% extract (17.32 % yield); and 0.0167 grams of isolated compound. Analysis using a Uv-Vis spectrophotometer resulted in the absorption of the compound at a maximum wavelength of 219 nm. Analysis using infrared spectrophotometer obtained isolated containing -OH functional group (3442 cm^{-1}); aliphatic C-H (2954 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} , 1462 cm^{-1}); C=O (1724 cm^{-1}); and C=C (1620 cm^{-1} and 1645 cm^{-1}).

Keywords: Bitter Melon (*Momordica charantia*) Leaves, Isolation, Characterization, Infrared Spectrophotometry, Uv-Vis Spectrophotometry.

DAFTAR ISI

	halaman
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	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman	4
II.1.1 Klasifikasi	4
II.1.2 Morfologi Tanaman	5
II.1.3 Kandungan Kimia	5
II.1.4 Kegunaan	6
II.1.4.1 Aktivitas Hipoglikemik	6
II.1.4.2 Aktivitas Antioksidan	7
II.1.4.3 Aktivitas Antimikroba	8

II.1.4.4 Aktivitas Analgesik dan Anti Inflamasi	8
II.1.4.5 Aktivitas Penyembuhan Pada Luka	8
II.2 Simplisia	9
II.3 Senyawa Penanda	9
II.4 Ekstraksi	10
II.4.1 Metode-Metode Ekstraksi	11
II.4.1.1 Cara Dingin	12
II.4.1.2 Cara Panas	13
II.5 Metabolit Sekunder Tanaman	14
II.5.1 Alkaloid	16
II.5.2 Terpenoid	17
II.5.3 Saponin	18
II.5.4 Fenolik dan Turunannya	18
II.5.4.1 Flavonoid	19
II.5.4.2 Tanin	19
II.5.4.3 Lignan	20
II.6 Pemisahan Senyawa Dengan Kromatografi	21
II.6.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	21
II.6.2 Kromatografi Kolom Konvensional	22
II.6.3 Kromatografi Kolom Cair Vakum	23
II.6.4 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	23
II.7 Spektrofotometri Uv-Vis	23
II.8 Spektrofotometri Infra Merah	25

BAB III METODE PENELITIAN	27
III.1 Alat dan Bahan	27
III.2 Metode Kerja	27
III.2.1 Penyiapan Sampel	27
III.2.2 Ekstraksi	28
III.2.3 Partisi Ekstrak	28
III.2.4 Penentuan Senyawa Penanda	29
III.2.5 Fraksinasi	29
III.2.5.1 Penyiapan Kromatografi Kolom Cair Vakum	29
III.2.5.2 Penyiapan Sampel dan Fraksinasi	30
III.2.5.3 KLT Hasil Fraksinasi	30
III.2.6 Purifikasi	31
III.2.6.1 Partisi Cair-Cair	31
III.2.6.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)	31
III.2.7 Uji Kemurnian Isolat	32
III.2.8 Identifikasi Golongan Senyawa	32
III.2.9 Karakterisasi	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	34
V.1 Kesimpulan	34
V.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Frekuensi infra merah pada beberapa jenis ikatan	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i>)	4
2. Struktur kimia senyawa visin (glikoalkaloid)	16
3. Struktur kimia senyawa charantal (triterpen aglikon)	17
4. Struktur kimia senyawa charantin (saponin steroid)	18
5. Struktur kimia senyawa 5, 3', 4' – trihidroksi flavonol	19
6. Struktur kimia asam tanat	20
7. Struktur kimia senyawa fenilpropanoid	20
8. Ekstraksi dengan metode maserasi	39
9. Penyaringan menggunakan vakum	39
10. Penguapan menggunakan <i>rotary evaporator</i>	39
11. Partisi ekstrak cair-cair	39
12. Pengelusian untuk penentuan senyawa penanda	39
13. Kromatografi kolom cair vakum	39
14. Pengelusian hasil kromatografi kolom cair vakum	40
15. Pengelusian KLTP	40
16. Penimbangan isolat	40
17. Identifikasi golongan senyawa	40
18. Spektrofotometer Uv-Vis	40
19. Spektrofotometer Infra Merah	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi penelitian	39

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tanaman pare (*Momordica charantia*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis. Pare adalah tanaman semusim yang tumbuh menjalar atau merambat dengan menggunakan sulur yang panjang. Pare dikenal dengan rasanya yang pahit serta bau yang khas. Di balik rasa pahitnya, terkandung khasiat sebagai obat untuk berbagai jenis penyakit (Subahar dan Lentera, 2004).

Tanaman pare (*M. charantia*) dapat digunakan sebagai obat dan memiliki efek menghilangkan panas, mencerahkan mata, dan digunakan sebagai pengobatan disentri dan nyeri mata (Ng *et al*, 1992). Pare (*M. charantia*) juga memiliki aktivitas hipoglikemik, antivirus dan antineoplastic (Basch *et al*, 2003), antidiabetes, antibakteri, antikanker, antifertilitas, antiulcer, antelmintik, antimalaria, imunomodulator, antipsoriasis, analgesik, antiinflamasi, dan antioksidan (Grover dan Yadav, 2004).

Tanaman pare (*M. charantia*) memiliki kandungan kimia yang banyak, diantaranya momordicin, momordicinin, momordicilin, momor-denol, momordol (Begum *et al*, 1997); momordicin I, momordicin II, momordicin III, momordicoside A, momordicoside B, momordicoside C, momordicoside D, momordicoside F1, momordicoside F2, momordicoside G, momordicoside I, momordicoside K, momordicoside L (Raman dan Lau, 1996); para-

methoxybenzoic acid, charantin (Harinantenaina *et al*, 2006); flavonoid, saponin, dan polifenol (Yuda dkk, 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rachmawati dkk. (2001), terkait uji penapisan kandungan kimia daun pare didapatkan hasil yakni fraksi n-heksan mengandung senyawa terpen. Pada fraksi kloroform dan metanol didapatkan alkaloid. Sedangkan kandungan senyawa saponin, gula, dan tanin teridentifikasi dalam fraksi metanol dan air (Rachmawati dkk, 2001). Daun pare mengandung flavonoid, tanin, saponin, fenolik, polifenol, dan alkaloid (Mutiara dan Wildan, 2014). Penelitian lain terkait skrining fitokimia daun pare dilakukan oleh Azizah dan Wati (2018), dengan hasil yakni ekstrak etanol daun pare mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin.

Meskipun demikian, belum banyak data yang menunjukkan senyawa yang telah diisolasi dapat dijadikan sebagai senyawa penanda. Pada pustaka umum yang sering digunakan sebagai acuan untuk standardisasi yakni Farmakope Herbal Indonesia (edisi I tahun 2008 dan edisi II tahun 2017) terdapat monografi untuk buah pare (*M. charantia*) dengan senyawa identitas momordisin dan memiliki kandungan kimia β -sitosterol. Sedangkan untuk monografi daun pare (*M. charantia*) tidak terdapat pada Farmakope Herbal Indonesia. Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi komponen utama dari daun pare (*M. charantia*). Komponen utama ini selanjutnya dapat digunakan sebagai senyawa penanda dalam standardisasi ekstrak daun pare (*M. charantia*) sebagai bahan baku obat tradisional.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah komponen utama dari ekstrak daun pare (*M. charantia*) yang diisolasi pada penelitian ini dapat dijadikan sebagai senyawa penanda dan bagaimana karakteristik senyawa tersebut?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan isolasi dan karakterisasi komponen utama dari ekstrak daun pare (*M. charantia*) yang dijadikan sebagai senyawa penanda.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Violales

Keluarga : Cucurbitaceae

Genus : Momordica

Spesies : *Momordica charantia* (Upadhyay et al, 2015)



(a)



(b)

Gambar 1. Tanaman Pare (*Momordica charantia*)
(a) Tanaman Pare (b) Daun Pare
(Sumber: Koleksi Pribadi)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Secara morfologi, tumbuhan pare memiliki batang dengan struktur tidak berkayu, berwarna hijau dengan permukaan batang tegaknya berusuk lima. Panjang batang tanaman pare kurang lebih 2-5 m, memiliki banyak cabang tanaman muda berambut rapat, namun akan menghilang setelah tua. Akar tanaman pare berupa akar tunggang yang berbentuk kerucut dan bercabang-cabang. Akar tanaman pare berwarna putih kekuningan (Maghfoer dkk, 2019).

Tanaman pare berdaun tunggal, bertangkai panjang mulai dari 1,5-5,3 cm, kedudukannya berseling, berbentuk bulat panjang, helai daun berbagi 5-7, pangkal daun berbentuk jantung dengan panjang kurang lebih 3,5-8,5 cm, lebar 2,5-6 cm berwarna hijau tua. Bunga tanaman pare bertipe tunggal, memiliki 2 kelamin dalam satu pohon yaitu bunga jantan dan bunga betina. Tangkai bunga jantan panjangnya sekitar 2-5,5 cm, sementara bunga betina panjangnya 1-10 cm. Kelopak bunganya berbentuk seperti lonceng dan mahkota bunganya berwarna kuning. Buah pare berwarna hijau sampai jingga tua, bentuk bulat memanjang dengan 8-10 rusuk, permukaan buah berbintil-bintil tidak beraturan, panjang 8-30 cm, bila dikonsumsi rasanya pahit. Dalam satu buah pare memiliki banyak biji, berwarna coklat kekuningan, bentuk pipih memanjang dan keras (Maghfoer dkk, 2019).

II.1.3 Kandungan Kimia

Tanaman pare (*M. charantia*) seringkali dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional. Tanaman pare memiliki kandungan kimia yang banyak,

diantaranya momordicin, momordicinin, momordicilin, momor-denol, momordol (Begum *et al*, 1997); momordicin I, momordicin II, momordicin III, momordicoside A, momordicoside B, momordicoside C, momordicoside D, momordicoside F1, momordicoside F2, momordicoside G, momordicoside I, momordicoside K, momordicoside L (Raman dan Lau, 1996); paramethoxybenzoic acid, charantin (Harinantenaina *et al*, 2006); flavonoid, saponin dan polifenol (Yuda dkk, 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rachmawati dkk. (2001), terkait uji penapisan kandungan kimia daun pare didapatkan hasil yakni fraksi n-heksan mengandung senyawa terpen. Pada fraksi kloroform dan metanol didapatkan senyawa alkaloid. Sedangkan kandungan senyawa saponin, gula, dan tanin teridentifikasi dalam fraksi metanol dan air (Rachmawati dkk, 2001). Daun pare mengandung flavonoid, tanin, saponin, fenolik, polifenol, dan alkaloid (Mutiarra dan Wildan, 2014). Penelitian lain terkait skrining fitokimia daun pare dilakukan oleh Azizah dan Wati (2018), dengan hasil yakni ekstrak etanol daun pare mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Selain itu, *M. charantia* juga mengandung β -momorcharin, visin, fenol, polipeptida-p dan karotenoid (Upadhyay *et al*, 2015).

II.1.4 Kegunaan

II.1.4.1 Aktivitas Hipoglikemik

Ekstrak tanaman pare yang secara tradisional digunakan sebagai insulin nabati memiliki aktivitas hipoglikemik, antioksidan dan antidiabetik yang berguna dalam pengobatan diabetes. Efek hipoglikemik ekstrak telah

teruji dengan baik pada hewan dan manusia. Salah satu studi menyebutkan bahwa ada peningkatan yang signifikan dalam jumlah sel di pankreas tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin setelah 8 minggu pengobatan jus buah pare. *M. charantia* memiliki manfaat yang luar biasa dalam pengobatan diabetes melitus. Ekstrak air buah pare memiliki peran yang signifikan dalam mengobati kerusakan ginjal pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin. Pare secara efektif mengobati hiperglikemia yang diberi perlakuan diet fruktosa, hiperleptinemia, hiperinsulinemia dan hipertrigliseridemia serta menurunkan kadar *Free Fatty Acid* (FFA) (Upadhyay *et al*, 2015).

II.1.4.2 Aktivitas Antioksidan

M. charantia memiliki kandungan kimia yang banyak, salah satunya adalah karotenoid. Sifat antioksidan karotenoid yang melindungi tanaman selama fotosintesis juga dapat melindungi manusia dari karsinogen dan mengurangi efek radikal bebas yang terkait dengan penyakit jantung. Antioksidan alami, terutama fenolik tanaman dan senyawa polifenol merupakan alternatif pengganti antioksidan sintetis untuk mengurangi kerusakan oksidatif pada buah. Senyawa fenolik tanaman berpotensi menjadi sumber antioksidan alami yang sangat baik, mengingat kemampuannya untuk mengurangi kolesterol total/trigliserida, tekanan darah dan penyakit kardiovaskular (Upadhyay *et al*, 2015).

II.1.4.3 Aktivitas Antimikroba

Ekstrak daun pare (*M. charantia*) memiliki aktivitas antimikroba terutama terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptobacillus* dan *Streptococcus*. Secara umum, ekstrak buah *M. charantia* telah menunjukkan aktivitas melawan tuberkulosis dan bakteri penyebab tukak lambung *Helicobacter pylori*. Ekstrak air biji *M. charantia* menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak petroleum eter, metanol dan etanolnya terhadap *Staphylococcus aureus*. Selain itu, aktivitas antimikroba ekstrak biji *M. charantia* dapat melawan patogen pada mamalia dan unggas (Upadhyay *et al*, 2015).

II.1.4.4 Aktivitas Analgesik dan Anti Inflamasi

Ekstrak buah *M. charantia* memiliki aktivitas analgesik dan anti inflamasi. Uji menggeliat yang diinduksi asam asetat dan uji perendaman ekor pada mencit digunakan untuk mempelajari efek analgesik, sedangkan efek ekstrak terhadap inflamasi akut diteliti dengan edema kaki yang diinduksi karagenan pada tikus. Pemberian oral ekstrak *M. charantia* hingga 2 g/kg pada tikus ditemukan aman. Ekstrak secara signifikan menghambat proses menggeliat yang diinduksi asam asetat dan uji perendaman ekor yang diinduksi nyeri pada dosis 500 mg/kg. Ekstrak etanol menunjukkan efek anti inflamasi 42,10% pada dosis 500 mg/kg (Upadhyay *et al*, 2015).

II.1.4.5 Aktivitas Penyembuhan Pada Luka

Ekstrak buah *M. charantia* yang dibuat dalam bentuk salep (ekstrak kering 10% b/b dalam basis salep sederhana) menunjukkan respon yang

signifikan secara statik dalam hal kemampuan kontraksi luka, waktu penutupan luka, periode epitelisasi, kekuatan tarik luka dan regenerasi jaringan di lokasi luka jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan hasil ini sebanding dengan referensi obat salep povidone iodine dalam model luka eksisi, insisi dan ruang mati pada tikus (Upadhyay *et al*, 2015).

II.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-anginkan, atau menggunakan oven (kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60° C (Depkes RI, 2017). Simplisia terbagi atas tiga, yaitu (Depkes RI, 1989) :

1. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman.
2. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.
3. Simplisia pelikan (mineral) merupakan simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

II.3 Senyawa Penanda

Senyawa penanda atau senyawa *marker* adalah senyawa yang berkontribusi terhadap khasiat atau senyawa yang terdapat pada bahan alam

atau produk herbal tanpa memperhatikan aktivitas terapeutiknya. Ada 2 kategori senyawa *marker* yakni *analytical marker* (senyawa yang bertujuan semata-mata hanya untuk tujuan analisis) dan *active marker* (senyawa yang memiliki aktivitas terapeutik) (EMA, 2008). Senyawa penanda dapat digunakan pada tujuan identifikasi untuk memastikan bahwa ekstrak yang dianalisis merupakan ekstrak yang memiliki kandungan yang sama dengan senyawa penanda yang dimaksud. Senyawa penanda harus mudah diidentifikasi menggunakan reagen penampak bercak (Najib, 2018). Menurut Saifudin dkk. (2011) senyawa penanda setidaknya memiliki salah satu dari kriteria berikut ini:

1. Senyawa aktif adalah senyawa yang langsung bertanggung jawab terhadap aktivitas tanaman obat.
2. Senyawa utama atau disebut juga senyawa mayor adalah senyawa yang secara kuantitatif dominan di dalam suatu tanaman obat.
3. Senyawa identitas adalah senyawa yang khas, unik, eksklusif hanya terdapat pada suatu tanaman obat.
4. Senyawa aktual adalah senyawa apapun yang terdapat dalam tanaman yang dianalisis.

II.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah langkah pertama untuk memisahkan produk alami yang diinginkan dari bahan baku (Zhang *et al*, 2018). Ekstraksi atau penyarian merupakan proses yang dilakukan dengan tujuan memisahkan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang

sesuai. Ekstraksi memiliki peran penting dalam analisis fitokimia karena pada proses analisis diawali dengan ekstraksi (Hanani, 2015). Proses ekstraksi berlangsung melalui tahapan berikut: (1) pelarut menembus ke dalam sel bahan baku yang diekstraksi; (2) zat terlarut yang ada dalam sel akan larut dalam pelarut; (3) zat terlarut berdifusi keluar dari sel bahan baku yang diekstraksi; (4) zat terlarut yang telah berdifusi dikumpulkan (Zhang *et al*, 2018).

Efisiensi dari proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti ukuran partikel bahan baku, suhu ekstraksi, dan waktu ekstraksi (Zhang *et al*, 2018). Selain itu, prinsip pemisahan pada ekstraksi didasarkan pada kemampuan atau daya larut senyawa pada pelarut tertentu, sehingga pelarut yang digunakan harus mampu dengan maksimal menarik komponen senyawa dari sampel yang diekstraksi (Leba, 2017).

Pemilihan pelarut sangat penting untuk proses ekstraksi. Kelarutan, biaya dan keamanan harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut. Berdasarkan hukum "*like dissolve like*", pelarut dengan nilai polaritas dekat dengan polaritas zat terlarut cenderung memiliki kinerja lebih baik begitupun sebaliknya. Etanol dan metanol merupakan pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi (Zhang *et al*, 2018).

II.4.1 Metode-Metode Ekstraksi

Pada umumnya, pemilihan metode ekstraksi dapat dilihat dari dua aspek. Aspek pertama dengan melihat tekstur dari sampel yang akan disari. Bagi sampel yang memiliki tekstur keras dapat digunakan ekstraksi dengan

metode panas, sedangkan untuk sampel yang memiliki tekstur lunak dapat digunakan ekstraksi dengan metode dingin (Najib, 2018).

Selain itu, pemilihan metode ekstraksi dapat didasarkan pada sifat polaritas senyawa yang akan disari. Pelarut-pelarut dengan sifat kepolaran yang tinggi akan menarik komponen polar, sedangkan pelarut dengan tingkat kepolaran yang rendah akan menarik komponen nonpolar. Prinsip ini sering dinamakan dengan "*like dissolve like*". Prinsip ini mengacu pada polaritas pelarut dan zat terlarut (Najib, 2018), pelarut dengan nilai polaritas dekat dengan polaritas zat terlarut cenderung memiliki kinerja lebih baik begitupun sebaliknya (Zhang *et al*, 2018).

II.4.1.1 Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi simplisia dengan cara merendam simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif (Najib, 2018). Pada maserasi akan terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel sehingga perlu pergantian pelarut secara berulang dan dilakukan pengadukan yang konstan (Hanani, 2015).

Keuntungan dari metode ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana (Najib, 2018). Selain itu, metode ini juga dapat digunakan untuk senyawa yang tahan terhadap pemanasan (Leba, 2017) maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan (Zhang *et al*, 2018). Namun

kekurangannya yaitu waktu ekstraksi yang lama dan efisiensi ekstraksi yang rendah (Darusman dan Batubara, 2019).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan salah satu teknik untuk mengesktrak bahan aktif dari bagian tanaman dengan proses berkelanjutan karena pelarut akan jenuh terus-menerus dan diganti dengan pelarut segar (Zhang *et al*, 2018). Kelebihan dari metode perkolasi adalah tidak perlu melakukan proses penyaringan. Sementara kekurangannya adalah waktu kontak antara bahan dan pelarut yang terbatas serta suhu yang digunakan rendah sehingga kemungkinan komponen tidak terekstrak sempurna (Yasni, 2013).

II.4.1.2 Cara Panas

1. Sokhletasi

Sokhletasi adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan terhadap pemanasan (Najib, 2018). Pada sokhletasi, simplisia dan pelarut berada pada labu berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap masuk dalam labu pendingin (Hanani, 2015).

Kelebihan dari metode ini yaitu menggunakan pelarut yang lebih sedikit. Sementara kekurangannya adalah ekstrak terus menerus berada dalam labu didih sehingga memungkinkan terjadi penguraian (Darusman dan Batubara, 2019).

2. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dari jumlah pelarut terbatas yang relatif

konstan dengan adanya pendingin balik (Prayoga dan Lisnawati, 2020). Refluks lebih efisien daripada perkolasi atau maserasi karena membutuhkan waktu ekstraksi dan pelarut yang lebih sedikit (Zhang *et al*, 2018).

Kelebihan dari metode ini adalah cocok digunakan untuk mengekstraksi sampel dengan tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Namun membutuhkan volume total pelarut besar dan energi untuk proses pemanasan (Darusman dan Batubara, 2019).

3. Infusa

Infusa adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut air (bejana infusa tercelup dalam tangas air) pada suhu 96°- 98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96°C). Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani,2015).

4. Dekok

Dekok adalah metode ekstraksi yang mirip infusa, hanya saja memerlukan waktu yang lebih lama yakni sekitar 30 menit dan temperatur sampai titik didih air (Prayoga dan Lisnawati, 2020). Ekstrak hasil dekok mengandung sejumlah besar kotoran yang larut dalam air. Dekok tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang termolabil dan mudah menguap (Zhang *et al*, 2018).

II.5 Metabolit Sekunder Tanaman

Metabolit sekunder tumbuhan adalah senyawa kimia yang diproduksi oleh sel tumbuhan melalui jalur metabolisme yang berasal dari jalur metabolisme primer. Metabolit sekunder telah terbukti memiliki berbagai efek

biologis yang menjadi dasar ilmiah untuk penggunaan herbal dalam pengobatan tradisional, diantaranya sebagai antibiotik, antijamur dan antivirus serta mampu melindungi tanaman dari patogen (Hussein dan El-Anssary, 2019). Di bidang farmasi secara khusus, metabolit sekunder digunakan dan dipelajari sebagai kandidat obat atau senyawa penuntun untuk melakukan optimasi agar diperoleh senyawa yang lebih berpotensi dengan toksisitas minimal (Saifudin, 2014). Metabolit sekunder memiliki peran untuk melindungi tanaman dari serangga, herbivora, dan patogen. Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan dalam dunia pengobatan, makanan, dan bahan kimia sehingga dilakukan rekayasa untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder (Tiwari dan Rana, 2015).

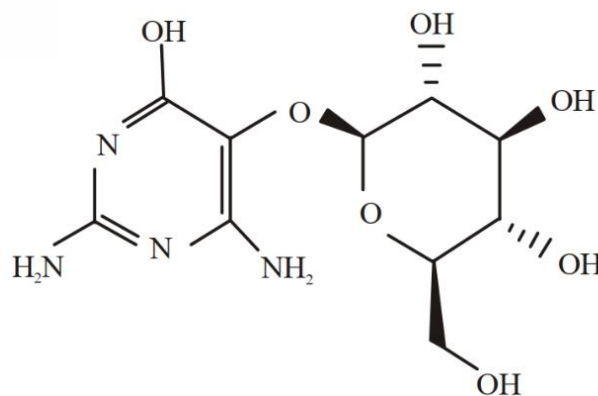
Metabolit sekunder memiliki ciri-ciri sebagai berikut (Saifudin, 2014):

1. Tidak terlibat langsung dalam metabolisme/kehidupan dasar: pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi.
2. Tidak esensial, ketiadaan jangka pendek tidak berakibat kematian. Ketidadaan jangka panjang mengakibatkan kelemahan dalam pertahanan diri.
3. Seringkali berperan di dalam pertahanan terhadap musuh.
4. Senyawa organik dengan berat molekul 50-1500 Dalton. Sehingga disebut mikro molekul.
5. Pemanfaatan oleh manusia: untuk obat, parfum, aroma, bumbu, bahan rekreasi dan relaksasi.

6. Golongan metabolit sekunder didistribusi pada spesies dan/atau pada famili tertentu.

II.5.1 Alkaloid

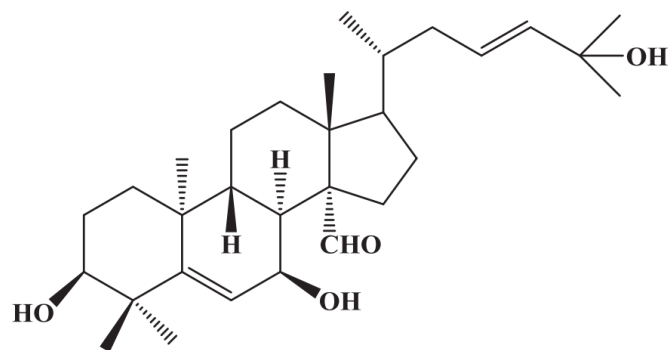
Alkaloid merupakan suatu senyawa yang mengandung setidaknya 1 atom nitrogen (N) dalam cincin heterosiklik. Alkaloid memiliki beragam aktivitas farmakologis seperti analgesia, anestesi lokal, stimulasi jantung, stimulasi dan relaksasi pernapasan, vasokonstriksi, relaksasi otot, serta sifat antineoplastik (Hussein dan El-Anssary, 2019). Alkaloid dalam tumbuhan umumnya berbentuk garam, yaitu berikatan dengan asam-asam organik yang terdapat dalam tumbuhan, seperti asam suksinat, maleat, dan bersifat larut dalam pelarut polar seperti etanol maupun air. Dalam bentuk basa, alkaloid lebih larut dalam pelarut nonpolar seperti eter, benzena, toluen, dan kloroform (Hanani, 2015). Berikut contoh senyawa alkaloid yang ditemukan di *M. charantia* yang diidentifikasi dengan nama visin (glikoalkaloid):



Gambar 2. Struktur kimia senyawa visin (glikoalkaloid) (Upadhyay *et al*, 2015)

II.5.2 Terpenoid

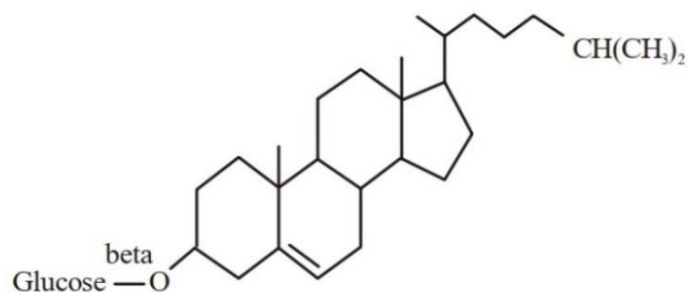
Terpenoid merupakan senyawa yang tersusun dari kerangka isopren (C₅), yakni rantai yang memiliki lima karbon bercabang metil pada karbon nomor 2 atau kelipatannya. Senyawa-senyawa seskuiterpen, asam ursolat yang terdapat dalam berbagai tanaman dan bersifat penghambat kanker dan menurunkan gula darah, asam betulinat yang terkandung dalam berbagai tanaman termasuk buah kayu putih yang bersifat antidiabetes, azadiraktin dari biji mimba (*Azadirachta indica*) sebagai pestisida merupakan senyawa terpenoid (Saifudin, 2014). Kelompok terpenoid memiliki berbagai fungsi, mengingat berbagai jumlah dan rangkaian isopren yang membentuknya. Berdasarkan jumlah unit isopren yang membentuknya, senyawa terpen digolongkan menjadi beberapa jenis, antara lain monoterpen (C-10), seskuiterpen (C-15), diterpen (C-20), dan triterpen (C-30) (Hanani, 2015). Berikut contoh senyawa terpenoid (triterpen aglikon) yang ditemukan di *M. charantia* yang diidentifikasi dengan nama senyawa charantal:



Gambar 3. Struktur kimia senyawa charantal (triterpen aglikon) (Shivanagoudra *et al*, 2019)

II.5.3 Saponin

Saponin adalah senyawa yang memiliki ikatan aglikon polisiklik dengan steroid (saponin steroid) atau triterpenoid (saponin triterpenoidal) yang melekat pada karbohidrat (monosakarida atau rantai oligosakarida). Bagian aglikon dari molekul saponin disebut genin atau sapogenin. Saponin tersebar luas di antara tumbuhan, dilaporkan lebih dari 500 tanaman dari setidaknya 90 famili yang berbeda. Saponin telah menunjukkan banyak sifat farmakologis, diantaranya antitumor, ekspektoran, sifat analgetik, dan anti inflamasi (Hussein dan El-Anssary, 2019). Berikut contoh senyawa saponin (saponin steroid) yang ditemukan di *M. charantia* yang diidentifikasi dengan nama senyawa charantin:



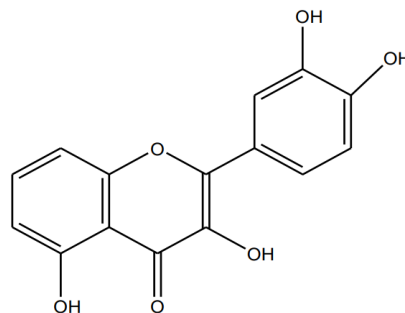
Gambar 4. Struktur kimia senyawa charantin (saponin steroid) (Upadhyay *et al*, 2015)

II.5.4 Fenolik dan Turunannya

Fenolik merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder tumbuhan. Fenolik memiliki satu atau lebih gugus fenol sebagai karakteristik dari struktur sederhana dengan satu cincin aromatik hingga zat polimer yang sangat kompleks (Hussein dan El-Anssary, 2019).

II.5.4.1 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa fenol alami yang terbesar. Terdapat lebih dari 2000 senyawa yang telah diketahui dan sekitar 500 diantaranya dalam keadaan bebas. Flavonoid memiliki struktur yakni, cincin aromatik pada posisi 2, 3 atau 4. Flavonoid terbagi dalam beberapa kelas berdasarkan tingkat oksidasi dari cincin pusat (cincin C) (Hussein dan El-Anssary, 2019). Flavonoid biasanya ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti metanol dan etanol. Beberapa flavonoid yang bersifat kurang polar (flavonon, isoflavon, dan flavonol) dapat diekstraksi menggunakan pelarut dengan polaritas rendah, seperti kloroform dan eter (Hanani, 2015). Berikut contoh senyawa flavonoid yang ditemukan di *M. charantia* dengan struktur inti flavonol (5, 3', 4' – trihidroksi flavonol).

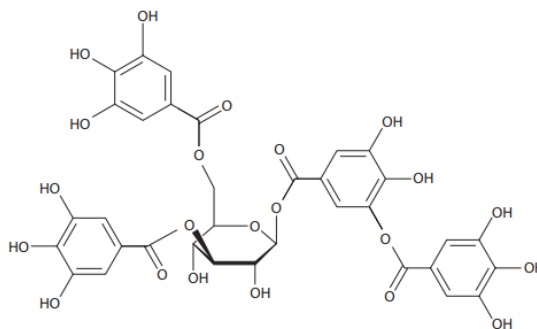


Gambar 5. Struktur kimia senyawa 5, 3', 4' – trihidroksi flavonol (Mutiara dan Wildan, 2014)

II.5.4.2 Tanin

Tanin merupakan polifenol yang memiliki kemampuan untuk mengendapkan protein. Tanin terbagi menjadi dua jenis yakni tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis terbentuk dari

beberapa molekul asam fenolat seperti asam galat dan asam heksahidroksidifenik yang disatukan oleh ikatan ester ke molekul glukosa pusat. Jenis dari tanin terhidrolisis adalah galotannin dan ellagitannin, yang masing-masing tersusun atas asam galat dan asam ellagit (Hussein dan El-Anssary, 2019). Berikut adalah struktur dari kimia asam tanat:

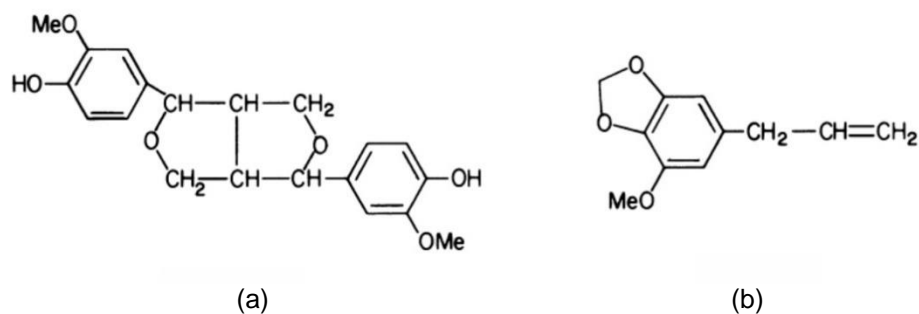


Gambar 6. Struktur kimia asam tanat (Cooper dan Nicola, 2014)

II.5.4.3 Lignan

Lignan adalah senyawa dimer yang pada dasarnya dibentuk oleh penyatuan dua molekul turunan fenilpropanoid. Banyak dari senyawa ini menunjukkan aktivitas antimikroba dan antijamur, selain itu juga menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik (Hussein dan El-Anssary, 2019).

Berikut beberapa contoh struktur fenilpropanoid pada tumbuhan:



Gambar 7. Struktur kimia senyawa fenilpropanoid (Harborne, 1984)
(a) Pinoresinol; (b) Miristicin

II.6 Pemisahan Senyawa Dengan Kromatografi

II.6.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif senyawa organik, dan isolasi senyawa tunggal dari gabungan beberapa komponen. Dalam banyak kasus, teknik ini memiliki keunggulan dibanding teknik pemisahan yang lainnya (Waksmundzka-Hajnos *et al*, 2008). Jika dibandingkan dengan kromatografi kertas, KLT memiliki kelebihan khusus seperti fleksibilitas, kecepatan dan sensitivitas. Fleksibilitas dari KLT disebabkan karena dapat digunakan beberapa penjerap seperti silka gel, aluminium oksida, kalsium hidroksida, magnesium posfat, dan selulosa (Harborne, 1984). Dari segi kecepatan, proses KLT hanya membutuhkan waktu setengah jam saja. Sedangkan pemisahan yang umum pada kromatografi kertas membutuhkan waktu beberapa jam (Day dan Underwood, 2002).

Identifikasi senyawa-senyawa hasil pemisalahan KLT dapat dijelaskan dengan bantuan faktor retardasi (Rf). Hal ini didefinisikan sebagai hasil bagi yang diperoleh dengan membagi jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak (Hahn-Deinstrop, 2007). Nilai Rf dapat dinyatakan dalam persamaan berikut ini:

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Dari rumus ini, diperoleh nilai Rf yang menggambarkan posisi titik dalam kromatogram dengan cara numerik sederhana. Nilai Rf bervariasi mulai dari 0 hingga 1 (Sherma dan Fried, 2003).

Dalam KLT memungkinkan untuk menggunakan lebih dari 1 sistem fase gerak atau disebut KLT multi eluen. Penggunaan lebih dari 1 sistem fase gerak yang berbeda memungkinkan untuk melakukan pemisahan senyawa yang mempunyai tingkat polaritas yang berbeda (Gandjar dan Rohman, 2007).

Variasi dalam prosedur pengembangan KLT serta adanya fase-fase diam yang telah dikembangkan bertujuan untuk meningkatkan resolusi, sensitivitas, kecepatan, reproduktibilitas, dan selektivitas dari KLT (Gandjar dan Rohman, 2007). Salah satu jenis variasi pengembangan KLT adalah KLT 2 dimensi yang merupakan metode identifikasi dalam fitokimia yang biasanya memiliki komposisi kompleks (Hahn-Deinstrop, 2007). KLT 2 dimensi bertujuan untuk meningkatkan resolusi sampel dari komponen-komponen solut yang memiliki karakteristik kimia yang hampir sama, sehingga nilai R_f juga hampir sama (Gandjar dan Rohman, 2007).

Sampel ditotolkan pada lempeng kemudian dielusi dengan satu sistem fase gerak sehingga akan terjadi pemisahan. Lempeng kemudian diangkat, dikeringkan, diputar 90° , dan dielusi kembali menggunakan sistem fase gerak yang kedua. Komponen yang terpisah dapat terdapat dimana saja di dalam lempeng (Gandjar dan Rohman, 2007).

II.6.2 Kromatografi Kolom Konvensional

Pemisahan dengan kromatografi kolom didasarkan pada prinsip adsorpsi dan partisi. Proses adsorpsi melibatkan beberapa interaksi seperti ikatan hidrogen, gaya dipol-dipol, dan permeasi antara senyawa-senyawa dalam

campuran dengan fase diam. Senyawa yang dapat berinteraksi dengan fase diam akan tertahan sedangkan senyawa yang tidak dapat berinteraksi dengan fase diam akan bergerak mengikuti fase gerak dan terelusi terlebih dahulu (Leba, 2017).

II.6.3 Kromatografi Kolom Cair Vakum

Kromatografi kolom cair vakum memiliki prinsip kerja yakni penyerapan senyawa yang didasarkan pada kepolaran senyawa. Prinsip ini sama dengan isolasi senyawa menggunakan kromatografi kolom. Perbedaannya hanya ada pada ukuran silika gel (yaitu silika gel P60 yang memiliki ukuran partikel lebih kecil) serta pergerakan sampel dan eluen didasarkan pada pompa vakum (Saidi dkk, 2018).

II.6.4 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Kromatografi lapis tipis preparatif (KLT preparatif) adalah teknik kromatografi untuk pemurnian senyawa. Penggunaan cara ini sebaiknya dilakukan jika jumlah senyawa dalam sampel sudah tidak terlalu banyak (2 atau 3 senyawa), sehingga pemisahan senyawa satu dan yang lain akan lebih mudah (Saidi dkk, 2018).

II.7 Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri Uv-Vis adalah salah satu teknik analisis spektroskopi menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat dan sinar tampak dengan memakai instrumen spektrofotometer (Noviyanto, 2020). Spektrofotometri Uv-Vis biasanya berlaku untuk radiasi dengan panjang

gelombang dalam kisaran 200-800 nm (Anderson *et al*, 2004). Sinar ultraviolet dekat berada pada rentang panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada rentang panjang gelombang 400-800 nm (Yadav, 2005).

Prinsip kerja spektrofotometer Uv-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016). Penyerapan sinar ultraviolet dan sinar tampak pada umumnya dihasilkan oleh eksitasi elektron-elektron, sehingga panjang gelombang pita yang mengabsorpsi dapat dihubungkan dengan ikatan yang mungkin ada dalam suatu molekul (Gandjar dan Rohman, 2007).

Pelarut yang sering digunakan untuk spektroskopi Uv adalah etanol 95% karena sebagian besar kelas senyawa menunjukkan kelarutan di dalamnya. Beberapa pelarut yang juga sering digunakan adalah air, metanol, heksan dan eter (Harborne, 1984).

Ketika zat yang diisolasi berbentuk kristal dan berat molekulnya diketahui atau dapat ditentukan, maka intensitas panjang gelombang biasanya dicatat dalam $\log \epsilon$, dimana $\epsilon = A/Cl$ (A = absorbansi, C = konsentrasi dalam g mol/liter, l = panjang jalur sel dalam cm, biasanya 1). Sedangkan ketika senyawa tidak diketahui berat molekulnya, nilai absorbansi harus digunakan (Harborne, 1984).

II.8 Spektrofotometri Infra Merah

Spektrofotometri infra merah merupakan salah satu metode yang dapat digunakan dalam menganalisis senyawa kimia. Spektrofotometri infra merah merupakan metode yang sederhana dan dapat menentukan golongan senyawa karena banyak gugus fungsi dapat diidentifikasi dari karakteristik frekuensi getaran. Spektrofotometri infra merah dapat digunakan pada penjelasan struktural, ketika senyawa baru ditemukan pada tanaman (Harborne, 1984).

Analisis dengan spektrofotometri infra merah menggunakan penyerapan molekul radiasi. Gelombang radiasi infra merah dianggap melewati suatu molekul ketika atom tunggal atau gugus fungsi bebas untuk bergerak, melenturkan, atau bergetar di sekitar ikatan molekulnya. Dengan cara ini, gerakan atom dalam molekul akan bergetar pada frekuensi tertentu. Molekul akan bergetar di sekitar ikatan molekul karena dipol elektromagnetik yang ada dalam molekul, akibatnya dipol ini membentuk atom dengan massa yang berbeda. Jika panjang gelombang radiasi infra merah bertepatan dengan frekuensi getaran ikatan molekul, maka akan terjadi resonansi antara ikatan dan penyerapan radiasi. Saat ini terjadi, energi bisa diberikan dari radiasi ke molekul. Frekuensi getaran molekul tidak diubah sebagai energi yang diserap, meskipun amplitudo getaran molekuler berubah. Setiap gerakan melibatkan getaran pada frekuensi tertentu, sehingga penyerapan dapat membantu mencirikan jenis getaran molekul dan seringkali gugus fungsi hadir dalam sebuah molekul (Higson, 2004).

Tabel 1. Frekuensi infra merah pada beberapa jenis ikatan

No.	Ikatan Kimia	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
1	C-H	Alkana	2850–2970 dan 1340–1470
2	C-H	Alkena	3010–3095 dan 675–995
3	C-H	Alkuna	3300
4	C-H	Cincin aromatik	3010–3100 dan 690–900
5	O-H	Alkohol monomerik dan fenol	3590–3650
6	O-H	Asam karboksilat monomerik	3500–3650
7	O-H	Ikatan hydrogen asam karboksilat	2500–2700
8	N-H	Amina dan amida	3300–3500
9	C=C	Alkena	1610–1680
10	-C≡C-	Alkuna	2100–2260
11	-C-N	Amina dan amida	1180–1360
12	-C≡N	Nitril	2210–2280
13	$\begin{array}{c} \\ -C-O \\ \end{array}$	Alkohol, asam karboksilat, eter, dan ester	1050–1300
14	$\begin{array}{c} -C=O \\ \end{array}$	Aldehida, ketone, asam karboksilat, dan ester	1690–1760
15	-NO ₂	Gugus nitrat	1500–1570 dan 1300–1370

Sumber: Higson, S. 2004. *Analytical Chemistry*. Oxford University Press.

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat standar yang digunakan di laboratorium, botol coklat, *chamber*, cawan porselen, corong pisah 500 mL, eksikator, *hot plate*, labu tentukur, oven simplisia, penggaris, pensil, pipa kapiler, *rotary evaporator* (Heidolp®), seperangkat alat gelas (Pyrex®), seperangkat alat kromatografi kolom cair vakum, saringan vakum, seperangkat alat maserasi, seperangkat lampu UV, spektrofotometer IR, spektrofotometer Uv-Vis, vial, dan *waterbath*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aseton, aquadest, etanol 70%, etanol 96%, etil asetat, whatman *filter paper*, kertas saring, kloroform, lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄, metanol p.a, metanol 80%, n-heksan, reagen AlCl₃, reagen Dragendorff, reagen FeCl₃, reagen H₂SO₄ 10%, reagen vanilin-asam sulfat, simplisia daun pare (*Momordica charantia*), silika gel PF₂₅₄, dan silika gel P60.

III.2 Metode Kerja

III.2.1 Penyiapan Sampel

Sampel segar daun pare (*M. charantia*) yang diperoleh dari Kabupaten Bantaeng, Sulawesi Selatan dikeringkan menggunakan oven simplisia dengan suhu 50°C sehingga diperoleh simplisia daun pare.