

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOMPONEN UTAMA
DARI EKSTRAK DAUN BENALU (*Macrosolen
cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) DENGAN INANG
POHON MANGGA (*Mangifera indica* L.)**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION MAIN COMPOUNDS
FROM MISTLETOE LEAF EXTRACT (*Macrosolen
cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) GROWS ON MANGO
TREE (*Mangifera indica* L.)**

AYU FIRMATA SARI

N111 16 014



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOMPONEN UTAMA DARI EKSTRAK
DAUN BENALU (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh)
DENGAN INANG POHON MANGGA (*Mangifera indica* L.)**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION MAIN COMPOUNDS FROM MISTLETOE
LEAF EXTRACT (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) GROWS ON
MANGO TREE (*Mangifera indica* L.)**

SKRIPSI

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

AYU FIRMATA SARI

N111 16 014

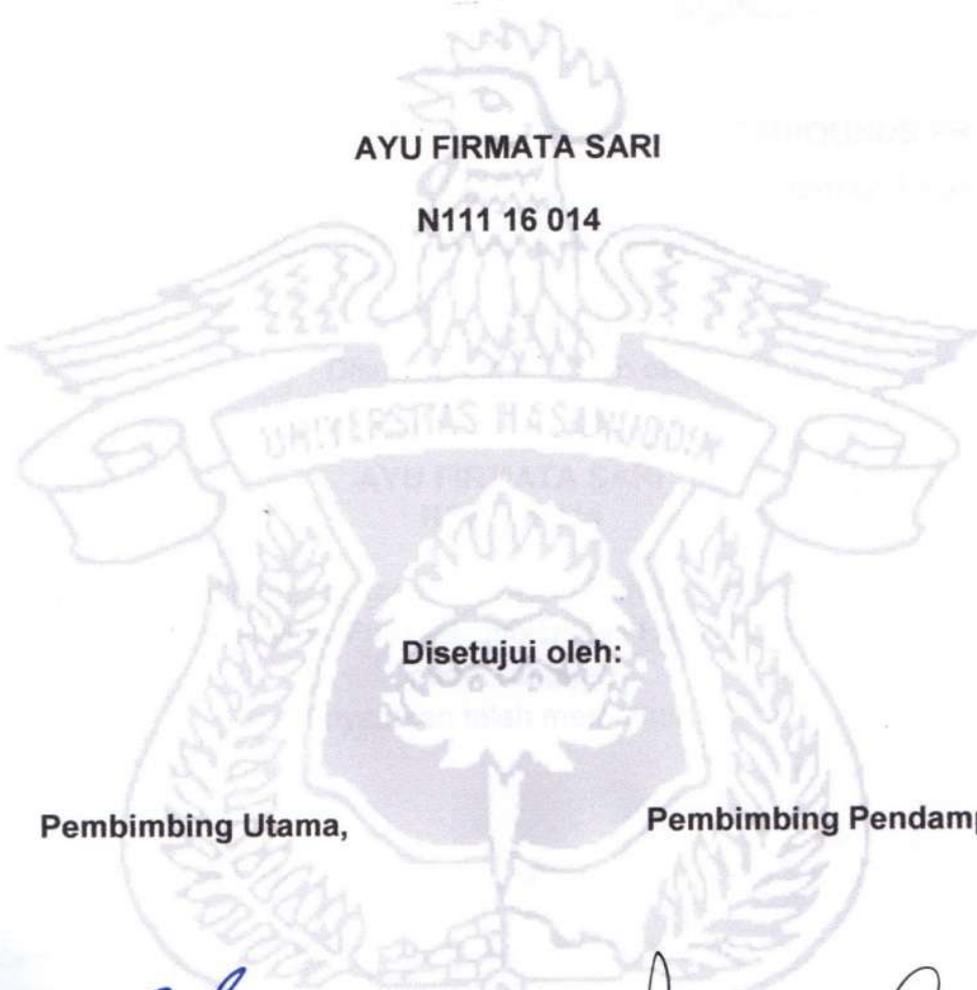


**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOMPONEN UTAMA DARI EKSTRAK
DAUN BENALU (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh)
DENGAN INANG POHON MANGGA (*Mangifera indica* L.)**

AYU FIRMATA SARI

N111 16 014



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

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

**Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt.
NIP. 19480727 197903 1 001**

Pada tanggal, Agustus 2020



SKRIPSI

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOMPONEN UTAMA DARI EKSTRAK
DAUN BENALU (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh)
DENGAN INANG POHON MANGGA (*Mangifera indica* L.)**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION MAIN COMPOUNDS FROM
MISTLETOE LEAF EXTRACT (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van
Tiegh) GROWS ON MANGO TREE (*Mangifera indica* L.)**

Disusun dan diajukan oleh:

**AYU FIRMATA SARI
N111 16 014**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada Tanggal,
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

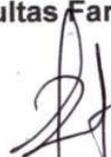
Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
2. Sekretaris : Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt.
3. Anggota : Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt.
4. Anggota : Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt.



Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



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



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan sebelumnya untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, Agustus 2020

Yang menyatakan



Ayu Firmata Sari
N111 16 014



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil 'alamiin segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, berupa kesehatan, kekuatan ilmu yang sempurna dan waktu yang begitu berharga sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kesulitan yang dihadapi, dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dukungan dari berbagai pihak. Peneliti banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak baik yang bersifat moral maupun material. Rasa syukur, ucapan terima kasih yang sebesar – besarnya dan penghargaan setinggi - tingginya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, serta bantuan yang sudah tidak bisa penulis ungkapkan dengan kata-kata.
2. Ibu Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt. dan Bapak Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt. selaku penguji yang dengan baik hati

berikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.

n, Wakil Dekan serta Bapak/ Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan yang diberikan selama masa



studi S1 juga kepada seluruh staf atas segala fasilitas dan pelayanan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

4. Sahabat-sahabat penulis, Nurjumiah, Hajrah, Dwi Pratiwi, Hastuti Rahmasari, Esti Ramadayanti, Irma wahyuni, Yusnidar, Wahyuni, Inna Baraling dan Devi.
5. Teman seperjuangan penelitian Isolasi dan Karakterisasi, Ade Irma Sudirman, Dwi Yulianggraeni Saputri.
6. Korps Asisten Farmakognosi-Fitokimia yang sudah berbaik hati memberikan ilmunya dan membantu penulis, khususnya kanda Satria Astazaury, Naufal Taqwa, Darwis, Muh. Lahamuddin.
7. Teman-teman UKM PRC-FF UH terkhusus Anugerah Yunianti, Rika Astina, Adhi Putra Bahar, Siti khadijah Kartika Putri, Sri Novianti, Sri Wahyuni, Suryaningsih Saputri, dan Aqidatul Cahya.
8. Teman-teman NEOSTIGMINE yang sudah menemani dan memberi support selama menjadi mahasiswa di fakultas farmasi ini.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada kedua orang tua penulis yaitu Bapak Aras dan Ibu Hj. Nuraini yang selalu memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis dan adik penulis satu-satunya Sri Ningsi Agustia.

Makassar, Agustus 2020

Ayu Firmata Sari



ABSTRAK

AYU FIRMATA SARI. Isolasi dan Karakterisasi Komponen Utama Dari Ekstrak Daun Benalu (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) dengan Inang Pohon Mangga (*Mangifera indica* L.). (Dibimbing oleh Prof. Gemini Alam dan Burhanuddin Taebe).

Tumbuhan benalu (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) merupakan suku Loranthaceae yang secara tradisional digunakan sebagai obat diabetes, hiperglikemia, diuretik dan juga kanker. Sebanyak 1,4 kg daun benalu di ekstraksi secara maserasi menggunakan cairan penyari Etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh diisolasi dengan metode partisi ekstrak cair-cair. Selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum dan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) menggunakan pelarut yang sesuai. Proses karakterisasi isolat dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV/Vis dan inframerah. Hasil ekstraksi simplisia daun *M. cochinchinensis* yang diperoleh berupa ekstrak etanol 65,73 gram (rendemen 4,69%). Hasil isolasi komponen kimia diperoleh dua isolat, yaitu isolat A dan B. Analisis KLT menunjukkan Isolat A memiliki Rf 0,41 dan berwarna coklat dan isolat B memiliki nilai Rf 0,58 dan berwarna ungu. Analisis menggunakan spektrofotometer UV/Vis terhadap isolat A yang memiliki panjang gelombang maksimum 222 nm yang menandakan adanya ikatan rangkap diena terkonjugasi dari transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, dan isolat B pada panjang gelombang 273 yang menandakan adanya gugus yang mengandung salah satu atom dari atom N, S atau O, dan mengakibatkan terjadinya transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$. Analisis FT-IR, isolat A mengandung gugus fungsi $-OH$ (3444 cm^{-1}), C-H alifatik (2922 cm^{-1} , 2852 cm^{-1}), C=O (1735 cm^{-1}), C=C (1633 cm^{-1}) dan C-H₃ (1463 cm^{-1}). Isolat B mengandung gugus fungsi $-OH$ (3446 cm^{-1}), C-H alifatik (2922 cm^{-1} , 2852 cm^{-1}), C-H aromatik (1786 cm^{-1}), C=O (1737 cm^{-1}), C=C (1643 cm^{-1}) dan CH₃ (1463 cm^{-1} , 1415 cm^{-1}). Isolat A dan B termasuk kedalam golongan senyawa Fenolik. Elusidasi struktur isolat A dan B masih perlu instrumen NMR dan MS.

Kata kunci: Benalu (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh), isolasi, karakterisasi.



ABSTRACT

AYU FIRMATA SARI. Isolation and Characterization Main Compounds Mistletoe Leaf Extract (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) Grows on Mango Tree (*Mangifera indica* L.). (Supervised by Prof. Gemini Alam and Burhanuddin Taebe)

The mistletoe plant (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) Is a Loranthaceae family that has traditionally been used for diabetes, hyperglycemia, diuretics, and also cancer. A total of 1.4 kg of mistletoe leaves were extracted by maceration using Ethanol 96%. The extract obtained was partition by the liquid-liquid extraction method. Furthermore, it is fractionated using the vacuum liquid chromatography method and preparative thin layer chromatography (TLC) using an appropriate solvent. The isolation characterization process was carried out using UV / Vis and Infrared spectrophotometer instruments. The amount of ethanolic extract was 65,73 g (yield 4,69%). The results of the isolation of the chemical components were obtained by two isolates, namely isolates A and B. TLC analysis showed that isolate A had Rf 0.41 and was brown and isolate B had an Rf value of 0.58 and was purple. Analysis using a UV / Vis spectrophotometer for isolate A which has a maximum wavelength of 222 nm which indicates the presence of a double conjugated diene bond conjugated fromand isolate B at a wavelength of 273 indicating a group containing one atom of N, S or O atoms , and this causes an electron transition $n \rightarrow \pi^*$. FT-IR analysis obtained isolate A containing the functional group -OH (3444 cm^{-1}), aliphatic C-H (2922 cm^{-1} , 2852 cm^{-1}), C=O (1735 cm^{-1}), C=C (1633 cm^{-1}) and C-O (1166 cm^{-1}). FT-IR analysis obtained isolate B containing -OH functional group (3446 cm^{-1}), aliphatic C-H (2922 cm^{-1} , 2852 cm^{-1}), aromatic C-H (2065 cm^{-1}), C=O (1737 cm^{-1}), C=C (1643 cm^{-1}) and C-O (1282 cm^{-1}). Isolates A and B belong to the group of phenolic compounds. Elucidation of isolates A and B still needs NMR and MS instruments

Keywords: Mango Mistletoes (*Macrosolen cochinchinensis*), isolation, characterization.



DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	ixiii
DAFTAR GAMBAR	ixiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Benalu (<i>Macrosolen cochinchinensis</i> (Lour.) Van Tiegh)	5
II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan	5
II.1.2 Morfologi	5
II.1.3 Tempat Tumbuh	6
II.1.4 Kandungan	6
II.1.5 Manfaat	7
II.2 Metabolit Sekunder Tanaman	8
II.2.1 Alkaloid	8
II.2.2 Flavonoid	8
II.2.3 Saponin	9
II.2.4 Terpenoid	10
II.2.5 Asam Lemak Dan Ekstraksi	12



II.3.1 Definisi Ekstrak	12
II.3.2 Metode Ekstraksi	12
II.3.2.1 Maserasi	13
II.3.2.2 Perkolasi	14
II.3.2.3 Refluks	14
II.3.2.4 Sokhletasi	14
II.3.2.5 Infusa	15
II.3.2.6 Dekok	15
II.3.2.7 Destilasi	16
II.3.2.8 Lawan arah	16
II.3.2.9 Ultrasonik	17
II.4 Eksraksi Cair-Cair	17
II.5 Kromatografi Lapis Tipis	18
II.6 Kromatografi Kolom	19
II.7 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	20
II.8 Spektrofotometri UV/Vis	21
II.9 Spektrofotometri Inframerah	14
BAB III METODE KERJA	27
III.1 Alat dan Bahan	27
III.2 Metode Kerja	27
III.2.1 Penyiapan Ekstrak	27
III.2.1.1 Penyiapan Sampel	27
III.2.1.2 Ekstraksi Sampel	27
III.2.2 Kromatografi Lapis Tipis	28
III.2.3 Partisi Ekstrak	28
III.2.4 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Kolom	29
III.2.4.1 Penyiapan Kromatografi Kolom	29
III.2.4.2 Fraksinasi	29
Kemurnian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	29
Karakterisasi	30
Karakterisasi Dengan Pereaksi Semprot	30



III.2.6.2 Karakterisasi Dengan Spektrofotometri UV/Vis	30
III.2.6.3 Karakterisasi Dengan Spektrofotometer IR	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
IV.1 Hasil Ekstraksi	31
IV.2 Hasil Partisi	32
IV.3 Kromatografi Lapis Tipis	32
IV.4 Pemisahan Senyawa secara Kromatografi Kolom	34
IV.5 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	35
IV.6 Karakterisasi Dengan menggunakan Reagen Semprot	36
IV.5 Karakterisasi Spektrofotometer UV/Vis	39
IV.6 Karakterisasi Spektrofotometer Inframerah	40
BAB V PENUTUP	43
V.1 Kesimpulan	43
V.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	48



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penggolongan terpenoid	12
2. Macam-macam Kromofor dan Panjang gelombang	24
3. Senyawa dan bilangan gelombang pada spektrum inframerah	26
4. Hasil Ekstraksi Sampel	31
5. Nilai Rf dari ekstrak lapisan atas yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak etanol daun benalu mangga	34
6. Hasil Fraksinasi dari ekstrak etanol lapisan atas yang Diperoleh dari hasil partisi ekstrak etanol daun benalu Mangga	35
7. Hasil pengukuran instrumen FT-IR pada isolat A	40
8. Hasil pengukuran instrumen FT-IR pada isolat B	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan Benalu (<i>Macrosolen cochinchinensis</i>)	5
2. Struktur kimia senyawa alkaloid	8
3. Struktur kimia senyawa flavonoid	9
4. Struktur kimia senyawa tanin	10
5. Struktur kimia senyawa terpenoid	11
6. Skema alat spektrofotometri UV-Vis	22
7. Diagram alur kerja spektroskopi inframerah	25
8. Profil KLT ekstrak etanol daun benalu yang di partisi	33
9. Profil KLT beberapa fraksi dari hasil fraksinasi	34
10. Profil hasil KLTP fraksi B	36
11. Profil KLT Isolat A dan B	36
12. Perbandingan profil KLT dari ekstrak berbeda dan isolat	37
13. Profil KLT dari fraksi B yang telah disemprot reagen kimia	38
14. Simplisia Benalu (<i>Macrosolen cochinchinensis</i>)	51
15. Proses maserasi	51
16. Proses Penguapan Pelarut (<i>Rotary evaporator</i>)	51
17. Penyiapan Ekstrak untuk Partisi	51
18. Proses Partisi ECC	51
19. Proses Fraksinasi	52
20. Hasil Fraksinasi	52
21. Profil KLT Hasil Fraksinasi	52
22. Hasil Penggabungan Beberapa Fraksi	52
23. Proses pengelusian KLTP	52
24. Profil Spektrofotometri UV/Vis Isolat A	53
25. Profil Spektrofotometri UV/Vis Isolat B	53
26. Profil Spektrofotometri FT-IR Isolat A	54
27. Profil Spektrofotometri FT-IR Isolat B	54



DAFTAR SINGKATAN

C	= Karbon
ECC	= Ekstraksi Cair-Cair
ECP	= Ekstraksi Cair-Padat
FT-IR	= <i>Fourier Transform-Infra Red</i>
GF ₂₅₄	= <i>Gypsum Fluoresence 254 nm</i>
KBr	= Kalium Bromida
KCV	= Kromatografi Cair Vakum
K _D	= Koefisien Distribusi
KHZ	= Kilohertz
KK	= Kromatografi Kolom
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
KLTP	= Kromatografi Lapis Tipis Preparatif
LB	= <i>Liebermann Bouchard</i>
LC-MS	= <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>
LC50	= <i>Lethal Concentration 50</i>
MCF-7	= <i>Michigan Cancer Foundation-7</i>
N	= Nitrogen
Nm	= nanometer
NMR	= <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
O	= Oksigen
p.a.	= Pro Analisis
R _f	= <i>Retardation factor</i>
S	= Sulfur
UV	= Ultra Violet
Vis	= <i>Visible</i>



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Umum	48
2. Dokumentasi Penelitian	51
3. Data Spektrofotometer UV/Vis	53
4. Data Spektrofotometer FT-IR	54



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tumbuhan benalu (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) merupakan salah satu tumbuhan semiparasit dari suku Loranthaceae yang dapat tumbuh pada tumbuhan lain sebagai inangnya (Van Steenis, 1975). Secara umum, benalu dapat dengan mudah tumbuh pada tumbuhan tropis, setidaknya telah diteliti bahwa tumbuhan benalu dapat ditemui pada 24 suku dan sekitar lebih dari 40 genus tumbuhan yang dijadikan sebagai inang atau tempat tumbuh dari tumbuhan tersebut (Start, 2011). Biasanya penyebutan nama dari benalu akan sesuai dengan inangnya, seperti benalu mangga, benalu kedondong, benalu srikaya, benalu cengkeh, dan lain-lain. Inang dari benalu juga akan mempengaruhi senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan benalu (Artanti, dkk. 2012). Salah satu benalu yang dapat dengan mudah ditemui yaitu tumbuhan benalu dengan inang pohon mangga. Walaupun dianggap merugikan, namun tumbuhan benalu (*Dendrophthoe pentandra*) memiliki khasiat sebagai obat tradisional yang digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti diabetes, hiperglikemia, dan diuretik (Hasan, dkk. 2018). Selain itu, menurut penelitian Pakki, dkk. (2018), Tumbuhan *M. cochinchinensis* dengan inang pohon mangga merupakan salah satu dari tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai antikanker, dimana



bagian yang paling sering digunakan yaitu pada bagian daun *M. cochinchinensis*.

Berdasarkan penelitian Endharti, dkk. (2016), ekstrak etanol daun benalu (*D. pentandra*) dengan pemberian 125 mg/kg berat badan pada tikus, dapat mencegah proliferasi dengan menghambat fase S melalui penginduksi ekspresi P53 yang merupakan protein penekan tumor. Kuersetin (*Quercetin-3-O-rhamnoside*) merupakan antioksidan aktif yang terdapat pada ekstrak daun benalu (Artanti, dkk. 2006).

Rahman, dkk. (2012) telah melaporkan bahwa ekstrak etanol dari *M. cochinchinensis* memiliki efek antiproliferasi yang baik dan juga kandungan antioksidan yang baik yang dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional. Lim, dkk. (2017) juga melaporkan bahwa pada komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan benalu famili Loranthaceae berupa Flavonol (kuersetin dan 4''-O-Acetylquercitrin), Alkaloid, Tanin, Terpenoid, asam galat, dan Loranthin

Analisis fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun benalu (*D. pentandra*) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid, dimana total tertinggi kandungan fenolik yaitu $471,63 \pm 2,02$ mg GAE / g dan nilai LC50 terendah yaitu $2,74 \pm 1,23$ ppm dalam ekstrak metanol daun benalu (*D. pentandra*). Selain senyawa tersebut, Asam heksadekanoat yang memiliki sifat sebagai antikanker, metil ester yang

aktivitas antioksidan dan 9,12,15-asam Oktadekatrienat yang berperan terhadap pencegahan kanker, antiinflamasi,



hipokolesterolemia, hepatoprotektif, antiartritik, dan antikoroner telah diteliti juga terkandung dalam ekstrak metanol daun benalu (*D. pentandra*) (Zainuddin dan Sul'ain, 2014).

Selain senyawa tersebut telah dilaporkan pula senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak *M. cochinchinensis* diantaranya kuersetin, asam galat, orientin, rutin, *quercetin-3-O-apiosyl(1→2)-[rhamnosyl (1→6)]-glucoside*, dan *Vicenin-II* (Qing, dkk. 1996).

Ada beberapa perbedaan kandungan dari daun benalu (*D. pentandra*) yang tumbuh pada inang pohon Jati dan pada inang pohon mangga, dimana telah dilaporkan bahwa senyawa yang terdapat pada benalu (*D. pentandra*) inang pohon Jati diantaranya Skleropentasida F, *Butane-2,3-diol 2-(6'-O-galloyl)-O-β-glukopiranosida*, *benzyl-O-β-β-glukopiranosida*, *benzyl-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-β-glucopyranside*, *benzyl-O-β-β-apiofuranosyl-(1→6)-β-β-glucopyranoside*, *methylgallate 3-O-(6'-O-galloyl)-β-β-glucopyranoside*, *catechin*, *procyanidin B-1*, *procyanidin B-3*, *bridelionoside A*, dan *kiwiionoside*. Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun benalu (*D. pentandra*) dengan inang mangga yaitu Skleropentasida F, *benzyl-O-β-β-glukopiranosida*, *benzyl-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-β-glucopyranside*, *benzyl-O-β-β-apiofuranosyl-(1→6)-β-β-glucopyranoside*, *methylgallate 3-O-(6'-O-galloyl)-β-β-glucopyranoside*, *catechin*, dan *procyanidin B-1*. (Sahakitpichan, dkk. 2017).



Berdasarkan uraian data tersebut, maka perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi komponen utama dari tumbuhan daun *M. cochinchinensis* sebagai salah satu bahan alam obat tradisional, dimana senyawa utama tersebut dapat digunakan sebagai senyawa penanda atau marker dari tumbuhan *M. cochinchinensis* sebagai bahan obat tradisional.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah senyawa komponen utama dari daun benalu (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh) bisa diisolasi hingga memperoleh isolat murni dan bagaimana karakteristik senyawa tersebut?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan isolasi dan karakterisasi senyawa yang merupakan senyawa komponen utama dari daun benalu (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Benalu

II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Loranthales
Suku	: Loranthaceae
Marga	: Macrosolen
Jenis	: <i>Macrosolen cochinchinensis</i> (Lour.) Van Tiegh



Gambar 1. Tumbuhan Benalu (*Macrosolen cochinchinensis*)
(Lim, dkk. 2017)

II.1.2 Morfologi Tumbuhan



Macrosolen cochinchinensis memiliki panjang tangkai daun 3 – 10 cm, tangkai daunnya tumpul hingga runcing sampai meruncing namun kadangkadang tumpul,

permukaan atas agak mengkilap dan permukaan bawah suram; pertulangan menyirip dengan tulang tengah nyata pada kedua sisi. Perbungaan muncul pada ruas-ruas, agak memayung atau tandan membulir dengan 2 – 7 pasang yang saling berhadapan, panjang sumbu perbungaan 5 – 20 mm. Bunga dengan 3 braktea pada pangkalnya, biseksual, diklamid, panjang pedisel 1- 6 mm; mahkota bunga 6 merus, panjang 8 – 23 mm, secara perlahan-lahan melebar keatas, dekat dibagian tengah bersayap, bersudut, ujung menggada dan menumpul, kuning atau hijau, kadang-kadang kuning kehijauan, panjang tabung mahkota bunga 5 – 14 mm; kepala sari panjang 0,5 – 2 mm dan runcing; tangkai putik dengan kepala putik yang membintul. Buah agak bulat, kuning – orange; berbiji 1 dan ditutupi oleh lapisan yang lengket (Sunaryo dan Uji, 2010)

II.1.3 Tempat Tumbuh

Menurut Sunaryo dan Uji (2010), tumbuhan *M. cochinchinensis* memiliki daerah persebaran yaitu pada Asia bagian selatan dari Himalaya kearah timur sampai Cina bagian selatan dan Indo Cina. Selain itu tersebar dari Semenanjung Malaysia sampai Nugini. Habitat berada pada hutan-hutan basah dan terbuka, umumnya di dataran rendah tetapi kadang-kadang sampai pada ketinggian 2270 m dpl.

II.1.4 Kandungan Tumbuhan

Tumbuhan Benalu (*M. cochinchinensis*) banyak memiliki khasiat mengobati beberapa penyakit, hal ini dapat disebabkan adanya



senyawa atau kandungan yang terdapat dalam ekstrak daun benalu (*M. cochinchinensis*). Beberapa senyawa yang terkandung dalam ekstrak *M. cochinchinensis* diantaranya yaitu flavonoid (Sitompul dan Debora, 2016).

Selain senyawa tersebut telah diisolasi pula senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak *M. cochinchinensis* berupa kuersetin, asam galat, orientin, rutin, *quercetin-3-O-apiosyl(1→2)-[rhamnosyl (1→6)]-glucoside*, dan *Vicenin-II* (Qing, dkk. 1996).

II.1.5 Manfaat Tumbuhan

Daun benalu (*M. cochinchinensis*) merupakan tumbuhan semiparasit yang dapat dengan mudah tumbuh pada tumbuhan tropis di Indonesia, walaupun dianggap merugikan, tumbuhan ini memiliki banyak manfaat yang biasa digunakan untuk mengobati beberapa penyakit, diantaranya ekstrak dari daun (*M. cochinchinensis*), mengandung antioksidan tinggi dan bersifat tidak toksik berdasarkan uji bioaktivitas dan BSLT (Artanti dan Darmawan, 2009). Ekstrak *M. cochinchinensis* memiliki efek sitotoksik pada sel kanker pada payudara (MCF-7) (Sodde, dkk. 2015).

Hermawan dan Artanti (2011) telah melakukan penelitian mengenai ekstrak air dari *M. cochinchinensis*, terhadap efek histopatologi mencit yang diinduksi dengan 7,12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA), dan hasil menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan profil histopatologi hati

pemberian ekstrak *M. cochinchinensis* dengan kontrol yang diinduksi dengan DMBA.

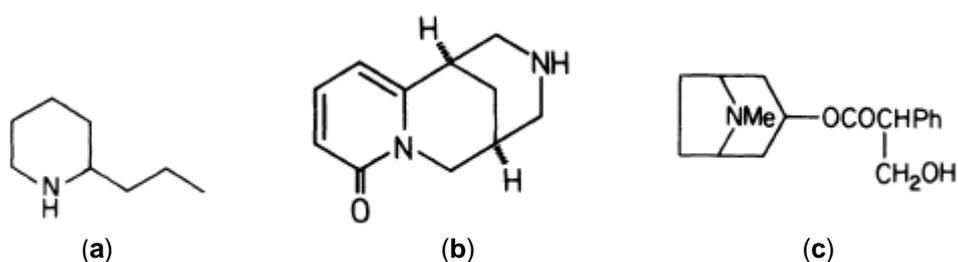


Rahman, dkk. (2012) telah melaporkan bahwa ekstrak etanol dari *M. cochinchinensis* memiliki efek antinosiseptif yang baik dan juga kandungan antioksidan yang baik yang dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional.

II.2 Metabolit Sekunder Tanaman

II.2.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan termasuk dalam sistem siklik. Sebagai basa, alkaloid biasanya diekstraksi dengan menggunakan pelarut alkohol yang bersifat asam lemah (HCl 1M atau asam asetat 10%) dan selanjutnya diendapkan dengan menggunakan amonia pekat. Alkaloid tertentu dapat dideteksi dengan mengukur spektrum UV dengan panjang gelombang maksimum berkisar antara 250 nm sampai 303 nm (Harborne, 1973). Berikut beberapa contoh struktur senyawa alkaloid pada tumbuhan:



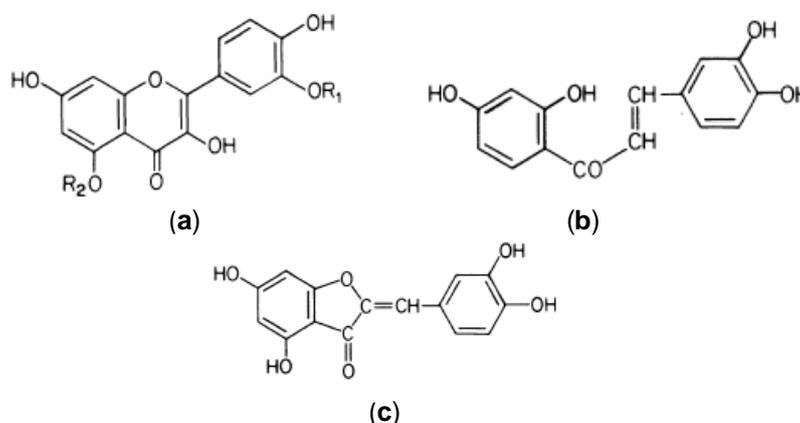
Gambar 2. Struktur kimia senyawa alkaloid (Harborne, 1973).
 (a)Koniin; (b)Sitsin; (c) Atropin

II.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa dengan berat molekul rendah yang 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-pyron. Kuersetin merupakan salah satu golongan flavonol. Flavanon dan flavonol memiliki ikatan jenuh C. Flavanon adalah senyawa yang tak berwarna yang tak dapat dideteksi pada pemeriksaan kromatografi kecuali bila menggunakan penyemprot kromogen. Flavanon biasanya lebih mudah terbentuk dalam suasana asam sedangkan kalkon lebih mudah didapatkan dalam suasana basa (Arifin dan Ibrahim, 2018).



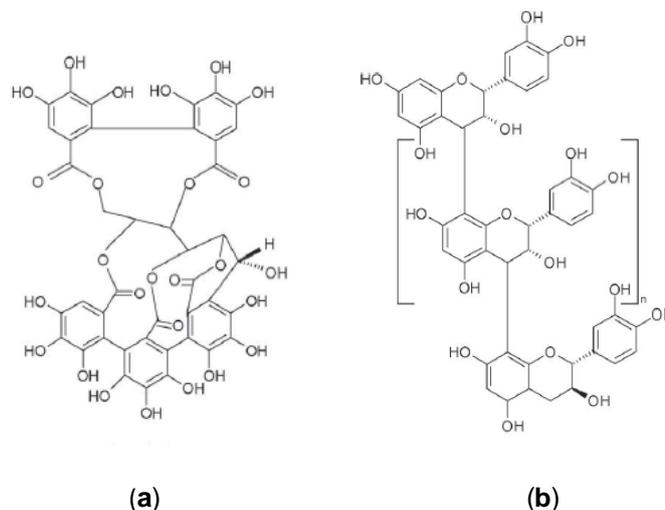
Gambar 3. Struktur kimia senyawa Flavonoid (Harborne, 1973).
(a) kuersetin; (b) Butein; (c) Aureusidin

II.2.3 Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Tanin berbentuk amorf yang mengakibatkan terjadinya penggumpalan dalam air, memiliki rasa sepat, dengan protein membentuk endapan. Tanin menghambat kerja enzim proteolitik. Tanin dapat dikategorikan



menjadi dua kelompok utama yaitu tanin terhidrolisis, terdiri dari inti sentral karbohidrat dimana asam fenolik karboksilat diikat oleh ester dan tanin terkondensasi, atau proanthocyanidin, yang terdiri dari oligomer dari dua atau lebih flavan-3-ols, seperti katekin, epikatekin, atau yang sesuai galokatekin. Tanin memiliki afinitas yang sangat tinggi untuk protein dan membentuk kompleks protein-tanin. Konsumsi tanaman yang mengandung kondensasi tanin mengurangi pemanfaatan nutrisi, protein dipengaruhi sebagian besar, dan mengurangi asupan pakan. Di sisi lain, tanin terhidrolisis berpotensi beracun bagi hewan. Konsumsi pakan yang mengandung kadar tinggi tanin terhidrolisis menyebabkan toksisitas hati dan ginjal dan menyebabkan kematian binatang (Makkar, dkk. 2007).



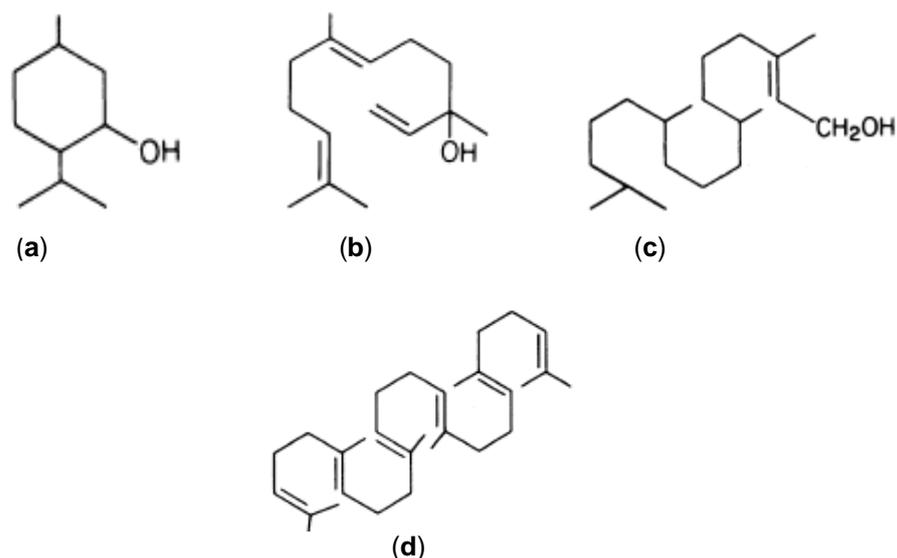
Gambar 4. Struktur kimia senyawa Tanin (Harborne, 1973).
(a)kastalagin; (b)Sorghumprosiandin

II.2.4 Terpenoid

Terpenoid merupakan kelompok senyawa kimia yang berasal dari (C₅H₈). Berbagai jenis terpen memiliki sifat yang berbeda. Terpen 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).



Gambar 5. Struktur kimia senyawa Terpenoid (Harborne, 1973).
 (a)mentol ; (b)Nerolidal; (c)pital; (d) Skualen



Tabel 1. Penggolongan terpenoid berdasarkan jumlah unit isopren yang terikat

Jumlah unit isopren	Jumlah karbon/ nama golongan	Contoh
1	5/isopren/hemiterpen	Iso-valeraldehid, isoamil alkohol
2	10/monoterpen	Komponen dalam minyak atsiri, contohnya mentol, eugenol
3	15/seskuiterpen	Komponen utama minyak atsiri contohnya bisabolen, Zingiberen
4	20/diterpen	Giberelin, asam abietat
6	30/triterpen	β - amirin, diosgenin
8	40/triterpen	Karotenoid
n	n/politerpen	Getah karet

Sumber: Hanani, Endang. *Analisis Fitokimia*. EGC. Jakarta. 2015

II.3 Ekstrak dan Ekstraksi

II.3.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan cair, kental atau kering yang merupakan hasil proses ekstraksi atau penyarian suatu matriks atau simplisia menurut cara yang sesuai. 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).

II.3.2 Metode Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan senyawa matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai, tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik atau memisahkan



senyawa dari campurannya dan memperoleh semua metabolit sekunder dari suatu bagian tanaman dengan spesies tertentu (Hanani, 2015). Ekstraksi adalah langkah pertama untuk menyelidiki unsur-unsur kimia dari bahan alami. Penerapan metode ekstraksi yang memadai tidak hanya menjamin bahan target untuk diekstraksi, tetapi juga menyederhanakan pekerjaan pemisahan selanjutnya. Dalam beberapa kasus, satu langkah ekstraksi dapat menghasilkan senyawa murni (Xu, dkk. 2010).

II.3.2.1 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. Sedangkan kerugian proses maserasi adalah memerlukan waktu yang cukup lama, berkisar beberapa jam hingga beberapa minggu,

nya proses maserasi juga membutuhkan pelarut dalam jumlah (arker, dkk. 2006)



II.3.2.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia, sehingga senyawa dapat tersari dengan sempurna. Cara ini memerlukan waktu yang lebih lama dan pelarut yang lebih banyak. Untuk meyakinkan perkolasi sudah sempurna, perkolat dapat diuji adanya metabolit dengan pereaksi yang spesifik. Keuntungan utama dari metode ini yaitu kemungkinan untuk memilih suhu pada proses dapat dilakukan dan selain itu tidak perlu dilakukan penyaringan (Rostago dan Frado, 2013).

II.3.2.3 Refluks

Refluks adalah cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biasanya refluks dilakukan berulang-ulang sebanyak 3-6 kali sehingga diperoleh hasil penyarian yang sempurna (Hanani, 2015). Dalam ekstraksi dengan refluks, bahan tanaman direndam dalam pelarut dalam labu alas bulat, yang terhubung ke kondensor. Pelarutnya selanjutnya dipanaskan sampai mencapai titik didihnya. Saat uap terkondensasi, pelarut akan kembali ke labu dan digunakan kembali untuk menyari matriks sel (Sarker, dkk. 2006).

II.3.2.4 Soxhletasi

Soxhletasi merupakan cara ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan soxhlet. Pada simplisia, 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)

II.3.2.5 Infusa

Infusa adalah cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98°C. Selama 15-20 (dihitung setelah suhu 96°C tercapai). Bejana infusa tercelup dalam tangas air (Hanani, 2015). Metode infusa ini merupakan metode ekstraksi secara tradisional yang biasa digunakan untuk untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun dan bahan herbal lainnya (Czygan, dkk. 2004)

II.3.2.6 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

ekstraksi bahan-bahan yang bersifat keras seperti batang, kayu, dan salah satu contoh yaitu metode dekok dapat digunakan untuk



mengekstraksi senyawa antioksidan yang terdapat pada suatu tanaman obat (Chen, dkk. 2014)

II.3.2.7 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). simplisiakering 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.3.2.8 Lawan Arah (*Counter current*)

Ekstraksi lawan arah merupakan teknik ekstraksi pelarut dimana kedua cairan yang tidak dapat campur bergerak dengan arah yang berlawanan dalam suatu kontak berkesinambungan satu sama lain sehingga zat-zat terlarut dapat terpisah. Beberapa keuntungan dari ekstraksi ini yaitu jumlah satuan bahan tanaman dapat diekstraksi dengan volume pelarut yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan metode lain

naserasi, rebusan, dan perkolasi. Selain itu ekstraksi ini umumnya



dilakukan pada suhu kamar, yang menghasilkan konstituen termolabil (Day dan Underwood, 1998)

II.3.2.9 Ultrasonik

metode ini merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dimana ekstraksi menggunakan ultrasound (frekuensi tinggi, 20 kHz). Bubuk tanaman ditempatkan di dalam wadah. wadah ditempatkan di bak ultrasonik, dan ultrasonik digunakan untuk menginduksi tekanan mekanis pada sel melalui produksi kavitasi dalam sampel. Meningkatnya pelarutan metabolit dalam pelarut akan meningkatkan hasil ekstraksi. Efisiensi ekstraksi tergantung pada frekuensi instrumen, dan panjang serta suhu sonication. Ultrasonifikasi jarang diterapkan pada ekstraksi skala besar; sebagian besar digunakan untuk ekstraksi bahan dengan skala kecil. (Sarker, dkk. 2006).

II.4 Ekstraksi Cair-Cair (ECC)

Pemisahan secara ekstraksi cair-cair merupakan teknik pemisahan senyawa yang berdasarkan polaritasnya dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak dapat bercampur. Kebanyakan prosedur ECC melibatkan ekstraksi analit dari fase air ke dalam pelarut organik yang bersifat nonpolar atau agak polar seperti n-heksan, metil benzen atau diklorometana. Analit-analit yang mudah terekstraksi dalam pelarut organik adalah molekul–molekul netral yang berikatan secara kovalen

subtituen yang bersifat nonpolar atau agak polar. Sementara itu,



senyawa-senyawa polar dan juga senyawa-senyawa yang mudah mengalami ionisasi akan tertahan dalam fase air (Rohman, 2014).

Dalam ekstraksi cair-cair, analit dengan sendirinya akan terdistribusi diantara dua cairan yang tidak saling bercampur sesuai dengan kelarutan relatif senyawa dalam tiap pelarut. ECC ditentukan oleh distribusi Nerst atau hukum partisi yang menyatakan bahwa pada konsentrasi dan tekanan yang konstan, analit akan terdistribusi dalam proporsi yang selalu sama diantara dua pelarut yang saling tidak bercampur. Perbandingan konsentrasi pada keadaan setimbang didalam dua fase disebut dengan koefisien distribusi atau koefisien partisi (K_D). (Rohman, 2014)

II.5 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi planar. Pada umumnya, KLT digunakan untuk tujuan identifikasi karena cara ini sederhana dan mudah serta memberikan pilihan fase gerak yang lebih beragam. Pemisahan yang terjadi pada kromatografi lapis tipis (KLT) berdasarkan pada adsorpsi, partisi atau kombinasi kedua efek, tergantung pada jenis lempeng, fase diam dan gerak yang digunakan. Manfaat lain dari KLT adalah untuk analisis secara kuantitatif dan isolasi skala preparatif (Hanani, 2015).

Fenomena yang terjadi pada KLT adalah berdasar pada prinsip

. Konsep pemisahan yang terjadi berdasarkan metode pemisahan
ia, dimana komponen akan terdistribusi diantara dua fase, yaitu



fase diam dan fase gerak. Sifat fisikokimia dari senyawa akan mempengaruhi pemisahan komponen, dimana senyawa yang memiliki kepolaran rendah akan terelusi lebih cepat daripada senyawa-senyawa polar karena senyawa polar terikat lebih kuat pada bahan silika (Fried dan Sherma, 1996).

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* (*Retention factor*) dengan persamaan (Lipsy, 2010) :

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

II.6 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 silika 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

menyebabkan komponen-komponen campuran ketika pelarut mengalir ke bagian bawah kolom (Hajnos dan Sherma, 2010). Substansi yang 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.7 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

KLTP merupakan salah satu metode pemisahan yang dilakukan untuk pemurnian senyawa. Sebaiknya penggunaan cara ini dilakukan jika jumlah senyawa dalam sampel sudah tidak terlalu banyak (2 atau 3 senyawa), sehingga pemisahan senyawa satu dan yang lain akan lebih mudah. Hasil kromatografi kolom yang mengandung dua atau tiga senyawa dapat dilakukan dengan metode ini (Saidi, dkk. 2018)

plat yang tersedia memiliki dimensi 20x20 cm atau 20x40 cm. masalah umum yang biasa terjadi yaitu silika yang biasa digunakan untuk pemisahan preparatif memiliki ukuran partikel yang sangat kasar (rata-rata -25 mikrometer) dan distribusinya terlalu lebar (5-40 mikrometer), namun saat ini belum tersedia ukuran partikel yang lebih kecil. Sampel yang ingin ditotolkan harus dilarutkan dalam pelarut yang nonpolar dan mudah menguap pada konsentrasi tertentu sehingga komponen sampel dapat diserap di seluruh ketebalan lapisan, tidak hanya pada permukaannya. untuk pengaplikasiannya plat kaca yang memiliki ketebalan 2 mm maka

gunakan 1 g sampel fase padat (termasuk dukungan inert) dan



lapisan dengan ketebalan 1 mm untuk sampel 0,5 g untuk lapisan dengan ketebalan 1 mm (Sherma dan Fried, 2003).

II.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).

Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron nonikatan (elektron bebas). Sinar ultra lembayung dan sinar tampak merupakan energi, yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, eksitasi elektron-elektron ini, direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang

absorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi
n (Suhartati, 2017)





Gambar 6. Skema alat spektrofotometri UV-Vis
(Gandjar dan Rohman, 2018)

Penyerapan atau absorpsi sinar uv dan sinar tampak pada umumnya dihasilkan oleh eksitasi elektron-elektron ikatan. Akibatnya, panjang gelombang pita yang mengabsorpsi dapat dihubungkan dengan ikatan yang mungkin ada dalam suatu molekul. Dalam kebanyakan molekul organik, elektron yang terlibat pada penyerapan radiasi uv-vis ini ada tiga, yaitu elektron sigma (δ), elektron phi (π) dan nonbonding elektron. Elektron sigma (δ) merupakan elektron yang membentuk ikatan tunggal seperti ikatan-ikatan antara C dan H dalam alkana. Banyaknya energi yang diperlukan untuk mengeksitasi elektron dalam ikatan δ biasanya di luar kisaran energi uv (<200 nm). Contoh senyawa alkana yang tidak menyerap uv adalah heksana (Gandjar dan Rohman, 2018)

Elektron phi (π) terdapat dalam ikatan rangkap, baik rangkap dua dalam alkena atau ikatan rangkap tiga seperti alkuna atau nitril. Molekul organik yang berikatan rangkap, terdapat dua macam orbital yaitu orbital δ yang mengandung sepasang elektron orbital phi



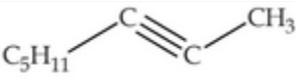
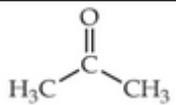
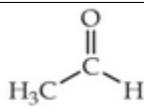
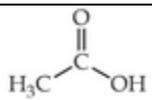
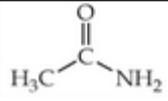
yang mempunyai sepasang elektron. Contoh senyawa-senyawa yang mempunyai ikatan π adalah alkena, alkuna, olefin terkonjugasi, dan senyawa-senyawa aromatik. Elektron-elektron dalam ikatan π relatif mudah mengalami eksitasi. Senyawa-senyawa ini umumnya mampu menyerap didaerah ultraviolet ataupun didaerah visibel/tampak (Gandjar dan Rohman, 2018).

Sementara itu, elektron bukan ikatan (elektron $n =$ nonbonding elektron) merupakan elektron yang tidak ikut serta dalam pembentukan ikatan kimia pada suatu molekul. Dalam hidrokarbon jenuh, elektron kulit terluar pada karbon dan hidrogen semuanya terlibat dalam ikatan kimia, sehingga senyawa-senyawa seperti ini tidak mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Molekul organik yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan biasanya mempunyai atom N, O, S dan halogen. Transisi-transisi elektron yang terjadi diantara tingkat-tingkat energi didalam suatu molekul ada 4, yaitu transisi sigma-sigma star ($\sigma \rightarrow \sigma^*$) yang melibatkan elektron sigma, transisi n-sigma star ($n \rightarrow \sigma^*$) dan transisi n-phi star ($n \rightarrow \pi^*$) yang melibatkan elektron tidak berpasangan, serta transisi phi-phi star ($\pi \rightarrow \pi^*$) yang melibatkan elektron phi (Gandjar dan Rohman, 2018).

Suatu senyawa obat mampu menyerap sinar uv-vis ketika senyawa mengandung gugus yang mampu menyerap sinar uv-vis. Gugus ini disebut gugus kromofor. Kromofor merupakan semua gugus atau atom senyawa organik yang mampu menyerap sinar ultraviolet dan sinar (Gandjar dan Rohman, 2018).



Tabel 2. Macam-macam kromofor dan panjang gelombang maksimal

Kromofor	Contoh	Pelarut	λ maks (nm)	ϵ 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.9 Spektrofotometri Infra merah

Bila sinar inframerah dilewatkan melalui cuplikan senyawa organik, maka sejumlah frekuensi diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan/ditransmisikan tanpa diserap. Sehingga jika digambarkan antara persen absorptansi atau persen transmitansi lawan frekuensi maka

asilkan suatu spektrum inframerah (Sastrohamidjojo, 1991).



Penyerapan radiasi inframerah, sama seperti proses penyerapan spektrofotometer lainnya, yaitu proses terkuantisasi. Molekul hanya menyerap frekuensi (energi) radiasi infra merah tertentu. Penyerapan radiasi inframerah sesuai dengan perubahan energi pada urutan 8 hingga 40 kJ / mol. Radiasi dalam rentang energi ini sesuai dengan kisaran yang mencakup peregangan dan tekukan frekuensi getaran ikatan di sebagian besar molekul kovalen (Pavia, dkk. 1979).



Gambar 7. Diagram alur kerja Spektrofotometer Infra Merah (Pavia, dkk. 1979)

Penggunaan spektrokopi inframerah pada bidang kimia organik hampir menggunakan daerah dari $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ($15,4\text{-}2,5\text{ }\mu\text{m}$). daerah dengan frekuensi lebih rendah dari 650 cm^{-1} disebut inframerah jauh, dan daerah dengan frekuensi lebih tinggi dari 4000 cm^{-1} , disebut inframerah dekat. Masing-masing daerah tersebut lebih jauh dan lebih dekat dengan spektrum tampak. Inframerah jauh mengandung sedikit serapan yang bermanfaat bagi orang-orang organik dan serapan tersebut dikaitkan

perubahan-perubahan rotasi dalam molekul. Inframerah dekat menunjukkan serapan-serapan dari vibrasi pokok yang terdapat daerah "normal" (Sastrohamidjojo, 1991).



Tabel 3. Beberapa senyawa dan bilangan gelombang pada spektrum inframerah

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

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



BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah lampu UV, cawan porselen, *waterbath*, alat *vacuum*, alat kromatografi kolom, chamber, corong pisah, *rotary evaporator* (Heidolph®), seperangkat alat gelas (Pyrex®), seperangkat alat maserasi.

Bahan yang digunakan adalah aquadest, n-heksan, etil aseat, kloroform, etanol 96%, aseton, metanol, asam sulfat 10%, Lempeng KLT *Silica Gel GF₂₅₄*, Daun Benalu Mangga (*M. cochinchinensis*), metanol p.a

III.2 Metode Kerja

III.2.1 Penyiapan Ekstrak

III.2.1.1 Penyiapan Sampel

Sampel *M. cochinchinensis* diperoleh dari kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan selanjutnya dikeringkan menggunakan oven simplisia dengan suhu 50°C selama tiga hari sehingga diperoleh simplisia daun *M. cochinchinensis*. Simplisia diserbukkan menggunakan blender untuk mendapatkan serbuk simplisia.

III.2.1.2 Ekstraksi sampel

Simplisia sebanyak 1400 gram diekstraksi sebanyak satu kali dan remaserasi menggunakan pelarut etanol 96% hingga sampel



terendam dengan penyari etanol, kemudian diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental.

III.2.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak etanol yang diperoleh dimasukkan ke dalam vial dan dilarutkan menggunakan aseton dan air. Setelah semua larut, ditotol diatas lempeng dan dielusi menggunakan heksan:etil asetat (4:1). Sehingga diperoleh profil kromatogram dan diamati dibawah sinar uv 254 dan 366 nm. Selanjutnya untuk memperjelas bercak yang terbentuk disemprot dengan H_2SO_4 10% dan dipanaskan diatas *hotplate*.

III.2.3 Partisi

Ekstrak etanol kering ditimbang sebanyak 50 g dilarutkan dengan n-heksan 100 ml, kemudian masukkan kedalam corong pisah kemudian ditambahkan pelarut metanol:air dengan perbandingan 4:1 sebanyak 100 ml kemudian dimasukkan dalam corong pisah yang berisi ekstrak dan gojok selama 5 menit hingga terbentuk 2 fase, kemudian pisahkan fase atas dan fase bawah, dan diulangi sebanyak 2 kali. Selanjutnya hasil partisi ditampung kedalam cawan porselen dan diuapkan hingga kental. Hasil partisi kemudian dilihat profil KLT dengan menggunakan fase diam berupa lempeng KLT *Silica Gel GF₂₅₄* dan eluen heksan:etil asetat (4,5:1) kemudian diamati dibawah sinar UV 254 dan 366 nm.



III.2.4 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Kolom

III.2.4.1 Penyiapan Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom dibilas terlebih dahulu menggunakan kloroform:metanol (1:1), kemudian dikeringkan. Selanjutnya, suspensikan silika gel dengan heksan dan dimasukkan kedalam kromatografi kolom hingga mampat.

III.2.4.2 Fraksinasi

Ekstrak etanol sebanyak 2 gram, dilarutkan dengan aseton dan dicampur dengan silika gel secukupnya hingga menjadi serbuk dan selanjutnya difraksinasi menggunakan kromatografi kolom. Eluen yang digunakan yaitu heksan 100 ml, Heksan:Etil asetat (5:1), Heksan:Etil asetat (4:1), Heksan:Etil asetat (2:1), Heksan:Etil asetat (1:1), Etil asetat 100 ml, metanol 100 ml, dan Kloroform:metanol (1:1). Hasil fraksinasi kemudian diuapkan diatas waterbath.

Hasil fraksi ditotolkan lempeng KLT dengan jarak 1 cm dari garis bawah menggunakan pipa kapiler dengan eluen n-heksan:etil asetat (4,5:1). Kemudian diamati dibawah UV 254 dan 366 nm. Dan dilakukan penyemprotan H_2SO_4 10% dan dipanaskan untuk memperjelas bercak yang terbentuk.

III.2.5 Pemurnian Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Fraksi yang dianggap mengandung senyawa yang dominan,

nya dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis

if dengan menggunakan perbandingan eluen Heksan:etil asetat



(4,5:1). Selanjutnya pita dikerok dan dilarutkan menggunakan kloroform:metanol (1:1), selanjutnya disaring dan diuapkan hingga kering sehingga diperoleh isolat murni.

III.2.6 Karakterisasi

III.2.6.1 Karakterisasi dengan Pereaksi Semprot

Plat KLT dipotong sebanyak 5 buah dengan ukuran 1x7 cm. Isolat ditotolkan pada masing-masing plat KLT dan dielusi dengan kloroform. Plat KLT yang telah dielusi direaksikan dengan pereaksi semprot dan diamati perubahan warna yang terjadi.

III.2.6.2 Karakterisasi dengan Spektrofotometri UV-VIS

Isolat 5 mg dilarutkan dengan metanol 10 mL sehingga diperoleh larutan stok 500 ppm lalu diuji pada spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan panjang gelombangnya.

III.2.6.3 Karakterisasi Isolat dengan Spektrofotometri FT-IR

Campuran sampel padat dengan serbuk KBr (5 – 10 % sampel dalam serbuk KBr). Campuran yang sudah homogen kemudian dibuat pellet KBr (pil KBr) dengan alat *Mini Hand Press*. Setelah terbentuk pil KBr siap untuk dianalisis.

Isolat sebanyak 2 mg diletakkan diatas plat optik untuk wadah cuplikan, lalu diidentifikasi gugus fungsinya berdasarkan data spektrum yang direkam oleh detektor Spektrofotometer FT-IR.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Ekstraksi Sampel

Tabel 4. Hasil Ekstraksi Sampel

No.	Bobot Simplisia kering	Jenis Ekstrak	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1	1400 gram	Ekstrak kental	65,7367	4,7

Pada proses ekstraksi sampel, daun benalu mangga (*M. cochinchinensis*) yang telah kering diblender hingga diperoleh serbuk simplisia yang selanjutnya diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan menggunakan penyari yaitu etanol 96%, hingga terendam dengan larutan penyari, proses maserasi dilakukan selama 3 kali 24 jam, sambil dilakukan pengadukan sekali-sekali. Hasil dari maserasi selanjutnya disaring dan residu dari hasil saringannya dilakukan remaserasi kembali dengan menggunakan pelarut yang sama untuk memperoleh ekstrak sebanyak-banyaknya, proses remaserasi dilakukan selama 24 jam dan selanjutnya disaring

Ekstrak etanol cair yang telah diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Alat ini memiliki prinsip yaitu menarik pelarut agar terpisah dari senyawa aktifnya dengan bantuan pemanasan pada suhu

dan labu yang berotasi sehingga mempercepat proses

an. Suhu alat *rotary evaporator* disesuaikan dengan titik didih dari

