

**SKRIPSI**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI PRODUK HASIL  
ASETILASI SENYAWA CURCUMINOID DALAM  
EKSTRAK RIMPANG *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF  
CURCUMINOIS ACETYLATION PRODUCTS IN THE  
EXTRACT OF *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.  
RHIZOME**

Disusun dan diajukan oleh

**ASMA ARIS**

**N011 17 1026**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI PRODUK HASIL ASETILASI  
SENYAWA CURCUMINOID DALAM EKSTRAK RIMPANG  
*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CURCUMINOIS  
ACETYLATION PRODUCTS IN THE EXTRACT OF  
*Curcuma xanthorrhiza* Roxb. RHIZOME**

SKRIPSI

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

**ASMA ARIS**

**N011 17 1026**

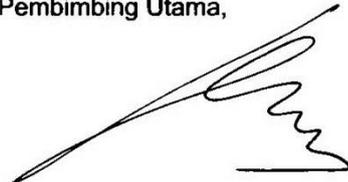
**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI PRODUK HASIL ASETILASI  
SENYAWA CURCUMINOID DALAM EKSTRAK RIMPANG  
*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.**

**ASMA ARIS  
N011 17 1026**

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pendamping,



Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.  
NIP. 19561011 198603 2 002

Pada Tanggal: 10 Juni 2021

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**  
**ISOLASI DAN KARAKTERISASI PRODUK HASIL ASETILASI**  
**SENYAWA CURCUMINOID DALAM EKSTRAK RIMPANG**  
*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CURCUMINOIS**  
**ACETYLATION PRODUCTS IN THE EXTRACT OF**  
*Curcuma xanthorrhiza* Roxb. RHIZOME

Disusun dan diajukan oleh:

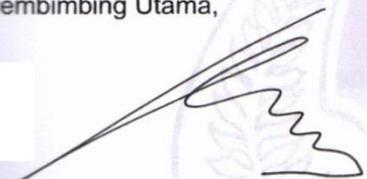
**ASMA ARIS**  
**N011 17 1026**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 10 Juni 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

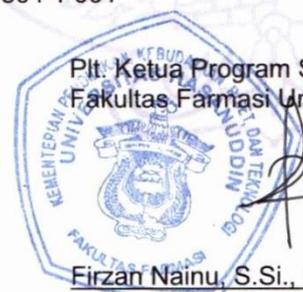
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

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

  
Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.  
NIP. 19561011 198603 2 002

  
Plt. Ketua Program Studi S1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

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

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Asma Aris  
Nim : N011 17 1026  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Isolasi Dan Karakterisasi Produk Hasil Asetilasi Senyawa Curcuminoid  
Dalam Ekstrak Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis 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, 10 Juni 2021

Yang menyatakan,



Asma Aris

## 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 Muhammad Raihan, S.Si., Msc. Stud., Apt selaku pembimbing utama dan Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan ilmu-Nya dalam memberikan bimbingan, arahan dan saran-saran kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini sampai akhir.
2. Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt dan Ibu Sandra Aulia Mardikasari, S.Si., M.Farm., Apt selaku penguji yang dengan baik hati memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.

3. Dekan, Wakil Dekan, serta staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan, dan dukungan yang diberikan selama menumpuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Bapak Dr. A. Ilham Makhmud, MM., Dip.Sc., Apt selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Seluruh Laboran Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, yang senantiasa membantu penulis dalam mengerjakan penelitian.
6. Sahabat-sahabat penulis, Shafa Haura Suharto, Andi Dalauleng, Andi Nur Aulia Elfirman, Rusmainnah, Adelia Dwidayanti, Aprilia Holi Ta'bi, Geo Tudingan, Sri Mailani, Aisyah Andiani, Elma Pebryna Putri, Cahya Ningrum, Islamiaty Burhanuddin, Putri Alifyani, Novira Mustika, Kak Isna Lestari, dan Zulfadly untuk setiap dukungan, membantu penulis dan doa yang diberikan kepada penulis.
7. Teman seperjuangan penelitian asetilasi, Hasriani dan Meliani.
8. Korps Asisten Farmakognosi-Fitokimia yang sudah berbaik hati memberikan ilmunya dan membantu penulis, khususnya Delli Cipta Lestari, Andharini Rusmana P, Zainah Aura Hatifah, Megawati Akram, Munawara, Laelatul Khusna, dan Zilfrida Aura.

9. Teman-teman angkatan "CLOSTRIDIUM" yang telah bersama-sama dengan penulis dari awal dan sama-sama berjuang untuk meraih mimpi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
10. Teman-Teman UKM Kelimuan dan Penalaran Ilmiah Universitas Hasanuddin yang telah memberikan pengalaman organisasi berharga bagi penulis dan memberi dukungan kepada penulis.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada orang tua penulis yaitu Bapak Muhammad Aris, Ibu Rosmini (Alm.) dan Ibu Sumriani Patiroi yang selalu memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis. Saudara kembar penulis, Asmi Aris dan adik, Nurul Inayah yang selalu memberikan motivasi dan hiburan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih terdapat banyak kesalahan yang tidak disadari oleh penulis. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembangunan dan pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang Farmasi. Aamiin.

Makassar, 10 Juni 2021



Asma Aris

## ABSTRAK

**ASMA ARIS.** Isolasi dan Karakterisasi Produk Hasil Asetilasi Senyawa Curcuminoid Dalam Ekstrak Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (Dibimbing oleh Muhammad Raihan dan Rosany Tayeb).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa asetilasi kurkumin dari ekstrak temulawak. Proses isolasi dilakukan dengan metode ekstraksi, partisi ekstrak cair-cair, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, karakterisasi dilakukan dengan menggunakan instrument spektrofotometer UV/Vis, spektrofotometer IR, dan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR). Hasil yang diperoleh ekstrak etanol 15,94 gram (rendemen 10,62%), isolat kurkumin 0,20 gram, diasetil kurkumin 0,10 gram, diasetil kurkumin dari temulawak 0,19 gram, diasetil kurkumin ekstrak temulawak 0,04 gram (rendemen 3,2%). Analisis menggunakan spektrofotometer UV/Vis diperoleh absorpsi senyawa pada panjang gelombang kurkumin baku 423 nm, kurkumin temulawak 422 nm, diasetilasi kurkumin baku 396,50 nm, diasetilasi kurkumin ekstrak temulawak yaitu 394,50 nm dan diasetilasi kurkumin temulawak 396,80 yang menandakan adanya ikatan senyawa karbonil yang mengandung gugus fungsi C=O dan ikatan rangkap dua terkonjugasi (alkena terkonjugasi). Analisis FT-IR diperoleh isolat asetil kurkumin yang mengandung gugus fungsi –OH ( $3510,45\text{ cm}^{-1}$ ) dengan intensitas yang kuat. Sedangkan pada produk asetilasi ekstrak temulawak dan isolat diasetil kurkumin dari temulawak terlihat adanya puncak pada  $3496,94\text{ cm}^{-1}$  dan  $3493,09\text{ cm}^{-1}$ ,  $3446,79\text{ cm}^{-1}$  dengan intensitas lemah. Analisis  $^1\text{H-NMR}$  terdapat nilai pergeseran kimia  $\delta 2,02\text{-}2,58\text{ ppm}$  yang menunjukkan adanya perubahan gugus fungsi hidroksil menjadi asetil. Analisis  $^{13}\text{C-NMR}$  pergeseran kimia  $\delta 168,81\text{ ppm}$  dan  $169,67\text{ ppm}$  yang menunjukkan penambahan gugus karbonil dari molekul asetilasi dan pergeseran kimia  $^{13}\text{C-NMR}$  tidak terdeteksi pada kurkumin. Dari hasil dapat dikatakan bahwa diasetil kurkumin dapat diisolasi dan dikarakterisasi dari proses asetilasi ekstrak rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

Kata Kunci : Temulawak, Kurkumin, Asetilasi

## ABSTRACT

**ASMA ARIS.** Isolation and Characterization of Curcuminoid Acetylation Products In The Extract of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Rhizome. (Supervised by Muhammad Raihan and Rosany Tayeb).

This research aims to isolate and characterize the product of acetylation from temulawak extract. The isolation process was carried out by plant extraction, liquid-liquid extract partitioning, thin layer chromatography, column chromatography, characterization was performed by using UV/Vis spectrophotometer instruments, IR spectrophotometers, and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. The results obtained were 15,94 grams of ethanol extract (10,62% yield), 0,20 grams of curcumin isolate, 0,10 grams of diacetylcurcumin, 0,19 grams of diacetylcurcumin from temulawak, 0,04 grams of diacetylcurcumin of temulawak extract (3,2% yield). Analysis using a UV/Vis spectrophotometer obtained the absorption of compounds at a wavelength of 423 nm of standard curcumin, 422 nm of curcumin from *Curcuma xanthorrhiza*, 396,50 nm of acetylated curcumin, 394,50 nm of acetylated curcumin extract, and 396,80 nm acetylated curcumin from *Curcuma xanthorrhiza*, which indicates the presence of carbonyl compounds containing functional group C=O and conjugated double bond (conjugated alkenes). FT-IR analysis showed that acetylated curcumin indicated the presence of OH functional group ( $3510,45\text{ cm}^{-1}$ ) with strong intensity. Meanwhile, the acetylated extract and isolated diacetylcurcumin from temulawak show signals at  $3496,94\text{ cm}^{-1}$ , and  $3493,09\text{ cm}^{-1}$ ,  $3446,79\text{ cm}^{-1}$  with weak intensity were found. The  $^1\text{H-NMR}$  analysis showed a chemical shift value of  $\delta 2,02\text{-}2,58\text{ ppm}$  which indicates a change in the hydroxyl functional group to acetyl.  $^{13}\text{C-NMR}$  analysis of chemical shifts of  $\delta 168,81\text{ ppm}$  and  $169,67\text{ ppm}$  showed the edition of a carbonyl group from the acetylation molecule and  $^{13}\text{C-NMR}$  chemical shifts were not detected in curcumin. From the results, it can be concluded that diacetylcurcumin can be isolated and characterized from the acetylation process of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. rhizome extract.

Keywords: Temulawak, Curcumin, Acetylation

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| UCAPAN TERIMA KASIH                            | vii     |
| ABSTRAK  | x       |
| ABSTRACT                                       | xi      |
| DAFTAR ISI                                     | xii     |
| DAFTAR TABEL                                   | xiv     |
| DAFTAR GAMBAR                                  | xv      |
| DAFTAR SINGKATAN                               | xvii    |
| DAFTAR LAMPIRAN                                | xviii   |
| 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 Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> ) | 4       |
| II.2 Simplisia                                 | 7       |
| II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam               | 8       |
| II.4 Ekstraksi Cair-Cair (ECC)                 | 11      |
| II.5 Kurkuminoid                               | 12      |
| II.6 Pemisahan Senyawa Dengan Kromatografi     | 13      |
| II.7 Karakterisasi Senyawa Hasil Purifikasi    | 15      |

|   |    |
|---|----|
| BAB III METODE PENELITIAN   | 23 |
| III.1 Alat dan Bahan  | 23 |
| III.2 Penyiapan Simplisia   | 23 |
| III.3 Ekstraksi   | 23 |
| III.4 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Kolom Konvensional    | 24 |
| III.5 Isolasi Kurkumin dari Ekstrak Temulawak dan Asetil Kurkumin | 24 |
| III.6 Asetil Ekstrak Temulawak                                    | 26 |
| III.7 Kromatografi Lapis Tipis                                    | 27 |
| III.8 Karakterisasi Hasil Senyawa Sintesis                        | 27 |
| BAB IV Hasil Dan Pembahasan                                       | 29 |
| IV.1 Eksraksi, Asetilasi dan Partisi                              | 29 |
| IV.2 Fraksinasi dan Produk Asetil Ekstrak Temulawak               | 30 |
| IV.3 Fraksinasi dan Produk Kurkumin dari Temulawak                | 31 |
| IV.4 Produk Asetil Kurukumin Temulawak dan Asetil Kurkumin Baku   | 32 |
| IV.5 Spektrofotometer UV/Vis                                      | 33 |
| IV.6 Spektrofotometer FT-IR                                       | 34 |
| IV.7 Spektrofotometer <sup>1</sup> H-NMR                          | 37 |
| IV.8 Spektrofotometer <sup>13</sup> C-NMR                         | 40 |
| BAB V PENUTUP   | 43 |
| V.1 Kesimpulan  | 44 |
| V.2 Saran   | 44 |
| DAFTAR PUSTAKA  | 45 |
| LAMPIRAN  | 48 |

## DAFTAR TABEL

| Tabel   | Halaman |
|---|---------|
| 1. Komposisi Temulawak  | 6       |
| 2. Macam-macam kromofor dan panjang gelombang maksimal                  | 17      |
| 3. Frekuensi inframerah beberapa golongan senyawa                       | 19      |
| 4. Nilai Rf dari hasil fraksi asetilasi                                 | 31      |
| 5. Hasil pengukuran FT-IR   | 35      |
| 6. Hasil pengukuran $^1\text{H-NMR}$ Kurkumin Baku                      | 37      |
| 7. Hasil pengukuran $^1\text{H-NMR}$ Asetil Kurkumin Baku               | 38      |
| 8. Hasil pengukuran $^1\text{H-NMR}$ Asetil Ekstrak Temulawak           | 39      |
| 9. Hasil pengukuran $^{13}\text{C-NMR}$ Kurkumin Baku                   | 40      |
| 10. Hasil $^{13}\text{C-NMR}$ asetil kurkumin dan produk asetil ekstrak | 41      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar  | Halaman |
|---|---------|
| 1. Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) | 4       |
| 2. Struktur golongan kurkuminoid                          | 12      |
| 3. Struktur <i>acetylcurcumin</i>                         | 13      |
| 4. Skema alat spektrofotometer UV-Vis                     | 15      |
| 5. Diagram Tingkat Energi Elektronik                      | 16      |
| 6. Diagram alur kerja spektrofotometer infra merah        | 18      |
| 7. Mekanisme Reaksi Asetil Kurkumin                       | 30      |
| 8. Profil KLT hasil fraksinasi asetil ekstrak temulawak   | 31      |
| 9. Profil KLT hasil fraksinasi kurkumin dari temulawak    | 32      |
| 10. Profil KLT produk asetil kurkumin temulawak           | 33      |
| 11. Struktur kurkumin baku                                | 37      |
| 12. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Kurkumin Baku             | 37      |
| 13. Struktur hasil reaksi kurkumin baku                   | 38      |
| 14. Spektrum hasil reaksi kurkumin baku                   | 38      |
| 15. Struktur asetil ekstrak temulawak                     | 39      |
| 16. Spektrum hasil reaksi ekstrak temulawak               | 39      |
| 17. Struktur kurkumin baku                                | 40      |
| 18. Struktur hasil reaksi kurkumin baku                   | 40      |
| 19. Kurkumin dari Ekstrak Temulawak                       | 49      |
| 20. Asetil Ekstrak Temulawak                              | 49      |
| 21. Asetil Kurkumin Temulawak                             | 49      |

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 22. Asetil Kurkumin Baku       | 49 |
| 23. Proses Pembuatan Temulawak | 49 |
| 24. Simplisia Temulawak        | 49 |
| 25. Proses Soxletasi           | 49 |
| 26. Eksraksi Cair-Cair         | 50 |
| 27. Proses Fraksinasi          | 50 |
| 28. Rotavapor Fraksi Asetilasi | 50 |

## DAFTAR SINGKATAN

|                   |  |
|-------------------|--|
| C                 | = Karbon   |
| ECC               | = Ekstraksi Cair-Cair                            |
| FT-IR             | = <i>Fourier Transform-Infra Red</i>             |
| GF <sub>254</sub> | = <i>Gypsum Fluoresence 254 nm</i>               |
| H                 | = Hidrogen                                       |
| KK                | = Kromatografi Kolom                             |
| KLT               | = Kromatografi Lapis Tipis                       |
| LC-MS             | = <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> |
| nm                | = nanometer                                      |
| NMR               | = <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>              |
| O                 | = Oksigen  |
| p.a.              | = Pro Analisis                                   |
| Rf                | = <i>Reterdation factor</i>                      |
| UV                | = Ultra Violet                                   |
| Vis               | = <i>Visible</i>                                 |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran  | Halaman |
|---|---------|
| 1. Skema kerja asetilasi temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) | 48      |
| 2. Dokumentasi Penelitian   | 49      |
| 3. Data spektra spektrofotometer UV/Vis                                 | 51      |
| 4. Data spektra FT-IR   | 52      |
| 5. Data spektra <sup>13</sup> C-NMR                                     | 55      |
| 6. Perhitungan  | 57      |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Kurkumin merupakan senyawa aktif yang terkandung dalam rimpang *Curcuma xanthorrhiza* (zingiberaceae). Dalam literatur, kurkumin telah dilaporkan memiliki potensi sebagai farmakologis seperti antioksidan, antiradang, antikanker, antidiabetes, antibakteri (Zorofchian Moghadamtousi *et al.*, 2014), antiviral (Zorofchian Moghadamtousi *et al.*, 2014), antinflamasi (Farhood *et al.*, 2019), dan antioksidan (Sokmen dan Akram Khan, 2016). Evaluasi kandungan kurkumin dan bioaktivitas *Curcuma xanthorrhiza* masih belum dieksplorasi dan terbatas (Nurcholis *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa isolasi kurkuminoid pada ekstrak temulawak meliputi 61,09-71,21% kurkumin, 17,09-25,00% *demethoxycurcumin* dan 6,3-15,29% *bisdemethoxycurcumin* (Cahyono *et al.*, 2019). Sedangkan pada ekstrak kunyit memiliki kadar *curcuminoid* 77%, *demethoxycurcumin* 17% dan *bisdemethoxycurcumin* 3% (Kocaadam dan Sanlier, 2017). Ekstrak aseton *Curcuma longa* L. menunjukkan kadar *curcuminoid* 22,8%, *demethoxycurcumin* 14,2 % dan *bisdemethoxycurcumin* 6,5% (Revathy *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian Mishra, *et al* (2008) menyatakan bahwa analog kurkumin dapat meningkatkan potensi sebagai agen antimalaria.

Asetilasi kurkumin merupakan salah satu bentuk analog kurkumin dengan memodifikasi struktur kurkumin yang dilakukan dengan reaksi asetilasi. Sehingga diasetil kurkumin memiliki aktivitas antimalaria (Mishra et al., 2008). Diasetil kurkumin dapat menurunkan aktivitas antioksidan tetapi dapat meningkatkan aktivitas antitumor (Priyadarsini, 2013)

Selain itu kurkuminoid merupakan senyawa aktif yang dimanfaatkan sebagai agen antibakteri. Akan tetapi, kurkuminoid memiliki aktivitas antibakteri yang rendah. Hal ini disebabkan adanya gugus fenol sehingga lipofilisitas dan bioavailabilitas rendah. Salah satu cara untuk meningkatkan aktivitas antibakteri pada kurkuminoid dengan mengganti atom hidrogen pada gugus fenol menjadi asetil. Penelitian Fadhkurrahman, 2020 menyatakan bahwa asetilasi kurkuminoid meningkatkan aktivitas antibakteri sebesar 2,4 kali lipat terhadap Gram-positif *S. aureus* dan 1,6 kali lipat melawan bakteri Gram-negatif *E. coli*. Sehingga diacetyl curcumin menunjukkan zona hambat yang lebih tinggi daripada kurkuminoid pada *E. coli* maupun *S. aureus* (Fadhkurrahma et al., 2020).

Asetilasi kurkumin juga dianggap sebagai salah satu upaya yang baik dalam meningkatkan pelepasan obat dalam suatu bentuk sediaan. Liposom nanopartikel senyawa asetil kurkumin dilaporkan menunjukkan waktu pelepasan yang lebih panjang dibandingkan dengan liposom nanopartikel yang diinkorporasi dengan senyawa kurkumin (Reddy et al., 2019)

Sebagai salah satu sumber kurkumin yang cukup melimpah, temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam proses asetilasi senyawa kurkumin yang dilakukan langsung pada ekstraknya. Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilakukan asetilasi, isolasi dan karakterisasi produk hasil asetilasi senyawa kurkumin yang terkandung dalam ekstrak rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah produk hasil isolat kurkumin ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dapat diasetilasi dan bagaimana karakteristik senyawa tersebut?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan upaya isolasi dan asetilasi serta karakterisasi dari produk isolat kurkumin ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

##### II.1.1 Taksonomi Tanaman

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Sub Divisio : Angiospermae
- Class : Monocotyledonae
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae
- Genus : *Curcuma*
- Spesies : *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (Dwimas Anggoro et al., 2015)



**Gambar 1. Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**  
(Sumber. Nugroho, B., B. P. Malau, 2008)

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) salah satu tanaman asli Indonesia, tinggi tanaman bisa mencapai 2 m. Rimpang terdiri atas rimpang induk (empu) yang berbentuk jorong (gelendong) berwarna kuning tua atau cokelat kemerahan (bagian dalam berwarna jingga cokelat) dan

rimpang cabang yang keluar dari rimpang induk, ukurannya lebih kecil dan tumbuh menyamping (warnanya lebih muda) (Khamidah *et al.*, 2017).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan salah satu tumbuhan obat famili *Zingiberaceae* yang banyak tumbuh di Indonesia. Temulawak satu dari 19 jenis temu-temuan keluarga *Zingiberaceae* yang paling banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Tanaman ini tumbuh liar di hutan hutan, ditanam di ladang dan pekarangan rumah (Retno Mashita, 2017). Rimpang tanaman ini diketahui mengandung senyawa terpenoid dan kurkuminoid. Sifat menguntungkan dari kurkuminoid, seperti efek antioksidan, anti-inflamasi, antitumor, dan antikanker. (Diastuti *et al.*, 2014)

### **II.1.2 Morfologi Tumbuhan**

Secara morfologi tanaman temulawak sepintas hampir serupa dengan temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.). Hanya, warna bunga dan rimpangnya berbeda. Warna bunga temulawak putih kuning atau kuning muda. Rimpang temulawak berwarna jingga kecoklatan. Temulawak merupakan terna tahunan, berbatang semu, berwarna hijau dan coklat gelap. Tinggi batangnya antara 1,5 cm sampai 2,0 cm. Daunnya berbentuk seperti mata lembing joron agak melonjong. Telapak daunnya berwarna hijau tua, bergaris-garis coklat lebarnya antara 1 cm sampai 2,5 cm, berbintik-bintik jernih hijau muda. Akar temulawak terdiri dari umbi akar yang berbentuk telur, dengan diameter sampai 6 cm. Akar yang dipunyai adalah rimpang. Rimpang temulawak berukuran paling besar di

antara semua genus *Curcuma*. Rimpang temulawak terdiri dari rimpang induk (empu) dan rimpang anakan (cabang). Bagian dalamnya berwarna jingga kecoklatan. Dari rimpang induk ini keluar rimpang kedua yang lebih kecil. Arah pertumbuhannya kesamping, berwarna lebih muda dengan bentuk bermacam-macam, jumlahnya sekitar 3-7 buah. Ujung rimpang cabang membengkak menjad umbi kecil. Rimpang ini baunya harum dan rasanya pahit agak pedas (Afifah, 2003).

### II.1.3 Kandungan Senyawa

Rimpang temulawak mengandung zat kuning kurkumin, minyak asiri, pati, protein, lemak (*fixed oil*), selulosa, dan mineral. Di antara komponen tersebut yang paling banyak kegunaannya dalah pati, kurkuminoid, dan minyak asiri.

**Tabel 1. Komposisi Temulawak**

| No. | Komponen    | Besaran   |
|-----|-------------|-----------|
| 1.  | Abu         | 0,37 %    |
| 2.  | Protein     | 1,52 %    |
| 3.  | Lemak       | 1,35 %    |
| 4.  | Sarat Kasar | 0,80 %    |
| 5.  | Karbohidrat | 79,96 %   |
| 6.  | Kurkumin    | 15,00 ppm |
| 7.  | K           | 11,45 ppm |
| 8.  | Na          | 6,38 ppm  |
| 9.  | Ca          | 19,07 ppm |
| 10. | Mg          | 12,72 ppm |
| 11. | Fe          | 6,68 ppm  |
| 12. | Mn          | 0,82 ppm  |
| 13. | Cd          | 0,02 ppm  |

Kurkuminoid pada temulawak terdiri dari kurkumin dan desmetoksikurkumin. Berbeda dengan kurkuminoid pada rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Vahl.), yang disamping mengandung dua komponen

di atas, juga mengandung bisdemetoksikurkumin. Kerena kurkuminoid rimpang temulawak lebih efektif untuk sekresi empedu dibandingkan dengan rimpang kunyit. Hal ini disebabkan aktivitas kerja bisdemetoksikurkumin untuk sekresi empedu berlawanan atau antagonis dengan aktivitas kerja kurkumin dan demetoksikurkumin (Afifah, 2003).

#### **II.1.4 Kegunaan**

Temulawak dapat dimanfaatkan sebagai obat, sumber karbohidrat, bahan penyedap masakan dan minuman, serta pewarna alami untuk makanan dan kosmetika. Khasiat temulawak telah banyak diketahui berdasarkan pengalaman (empiris) dan hasil penelitian. Berdasarkan penelitian dan pengalaman, temulawak telah terbukti berkhasiat dalam menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Misalnya digunakan untuk pengobatan gangguan fungsi hati (lever), baik pada hepatitis maupun pada perlemakan hati (Afifah, 2003).

Temulawak dapat digunakan sebagai obat anti-inflamasi atau antiradang. Melalui aktivitas anti-inflamasinya, temulawak efektif untuk mengobati penyakit radang sendi, rematik, atau artritis rematik. Temulawak juga mempunyai sifat fungistatik atau antijamur. Selain bersifat fungistatik, temulawak juga bersifat bakterostatik atau antibakteri pada mikroba *staphylococcus* dan *salmonella* (Afifah, 2003).

#### **II.2 Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan

lain. Berupa bahan yang telah dikeringan. Simplisia dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1983).

1. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya.

2. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan atau belum berupa bahan kimia murni.

3. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni.

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

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

Ekstraksi merupakan proses yang dilakukan oleh cairan penyari untuk menarik keluar zat aktif yang beberapa terdapat pada tanaman obat. Zat aktif berada dalam sel sehingga untuk dapat mengeluarkan zat aktif dari dalam sel diperlukannya suatu cairan penyari atau pelarut tertentu. Cairan penyari yang biasa digunakan adalah methanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzene dan etil asetat (Najib, 2018).

Tujuan ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia (Hanani, 2015)

## **II.3.2 Metode-Metode Ekstraksi**

### **II.3.2.1 Cara Dingin**

#### **1. Maserasi**

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2015). 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. Kerugian proses maserasi adalah memerlukan waktu yang cukup lama dan proses maserasi juga membutuhkan pelarut dalam jumlah besar (Sarker, S.D., Latif., dan Gray, 2006)

#### **2. Perkolasi**

Perkolasi adalah cara ekstraksi dengan simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia

sehingga senyawa tersari sempurna. Keuntungan dari metode ini yaitu dapat memilih suhu pada proses ekstraksi yang dilakukan dan tidak perlu dilakukan penyaringan. Sedangkan, Kekurangan dari metode perkolasi yaitu memerlukan waktu lebih lama dan pelarut yang lebih banyak (Hanani, 2015)

### **II.3.2.2 Cara Panas**

#### **1. 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. Agar hasil penyarian lebih baik atau sempurna, refluks umumnya dilakukan berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama (Hanani, 2015). Ekstraksi dengan refluks, sampel 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, S.D., Latif., dan Gray, 2006)

#### **2. Soxhletasi**

Soxhletasi adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet. Pada soxhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada labu berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap masuk dalam labu pendingin (Hanani, 2015). Keuntungan ekstraksi soxhlet yaitu proses yang berkelanjutan

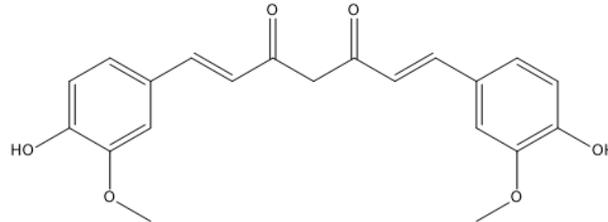
membuat ekstraksi soxhlet lebih membutuhkan waktu yang sedikit dan pelarut sedikit. Namun, kelemahan dari ekstraksi soxhlet yaitu ekstrak secara konstan dengan metode dipanaskan pada titik didih pelarut yang digunakan dapat merusak senyawa termolabil (Sarker, S.D., Latif., dan Gray, 2006)

#### **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 kedalam 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 dengan substituen yang bersifat nonpolar atau agak polar. Sementara itu, senyawa-senyawa polar dan juga senyawa-senyawa yang mudah mengalami ionisasi akan tertahan dalam fase air (Rochman, M., 2014).

Ekstraksi cair-cair, analit 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 (Rochman, M., 2014).

## II.5 Kurkuminoid



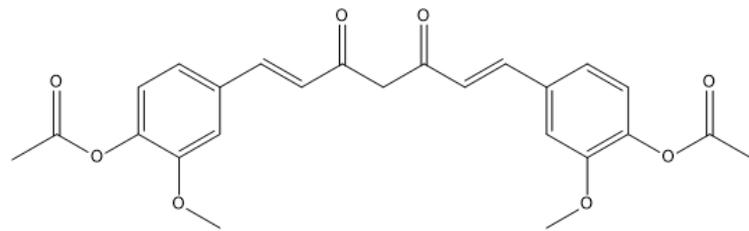
**Gambar 2. Struktur golongan kurkuminoid, yaitu kurkumin, desmetoksikurkumin dan bisdesmetoksikurkumin (Nihayati, 2016)**

Kurkuminoid merupakan senyawa sekunder kelompok fenol pada tanaman *Curcuma*, terbentuk melalui jalur asam shikimat dan asam malonate dari precursor karbohidrat sederhana fosfoenol piruvat dan eritrosit 4 posfat menjadi asam amino aromatik. Fenil-alanin merupakan salah satu asam amino aromatik yang banyak ditemukan pada tanaman tinggi, senyawa ini diproses menjadi trans-asam sinamat dengan mengeliminasi amoniak menggunakan katalis fenilalanin-amonik-lyase, menghasilkan fenol sederhana dan fenol kompleks (Nihayati, 2016).

Pembentukan kerangka kurkumin dapat melalui salah satu dari dua jalur. Jalur pertama (a) melibatkan siklisasi rantai poliketida yang terdiri dari uni-unit fenilpropanoid dan lima unit  $C_2$  yang berasal dari asam malonat atau melalui melonil CoA untuk meghasilkan cicin aromatik ke dua. Jalur (b) melibatkan kondensasi dua fenilpropanoid pada karbon pusat yang diberikan oleh molekul asam malonat (Nihayati, 2016).

*Acetylcurcumin* atau *Diacetylcurcumin* merupakan senyawa turunan dari kurkumin yang disintesis melalui reaksi asetilasi. Asetilasi kurkumin dianggap sebagai salah satu upaya yang baik dalam meningkatkan

pelepasan obat dalam suatu bentuk sediaan. Liposom nanopartikel senyawa asetil kurkumin menunjukkan waktu pelepasan yang lebih panjang dibandingkan dengan liposom nanopartikel dari senyawa kurkumin (Reddy et al., 2019).



Gambar 3. Struktur *acetylcurcumin* (Reddy et al., 2019)

## II.6 Pemisahan Senyawa Dengan Kromatografi

### II.6.1 Kromatografi Lapis Tipis

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. Pada umumnya KLT lebih banyak digunakan untuk tujuan identifikasi karena cara ini sederhana dan mudah, serta memberikan pilihan fase gerak yang lebih beragam. Manfaat lain dari KLT adalah untuk analisis kuantitatif dan isolasi skala preparatif (Hanani, 2015)

Kromatogram pada KLT merupakan bercak-bercak yang terpisah setelah visualis dengan atau tanpa pereaksi deteksi (penyemprotan) pada sinar tampak atau ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Jarak rambat senyawa pada kromatogram dinyatakan dengan nilai  $R_f$  (*retardation factor*). Nilai  $R_f$  diperoleh dengan mengukur jarak rambat

senyawa dari titik awal hingga pusat bercak dibagi dengan jarak rambat fase gerak hingga garis depan (Hanani, 2015)

$$R_f = \frac{\text{Jarak rambat senyawa dari titik awal penotolan hingga pusat bercak}}{\text{Jarak rambat fase gerak dari titik awal penotolan hingga garis depan}}$$

Beberapa keuntungan kromatografi planar adalah (Gandjar, G.I., dan Rohman, 2007):

1. Kromatografi lapis tipis banyak digunakan untuk tujuan analisi
2. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet
3. Dapat dilakukan elusi secara mania (ascending), menurun (descending). Atau dengan cara elusi 2 dimensi
4. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak.

## II.6.2 Kromatografi Kolom

Pemisahan menggunakan kromatografi kolom atau disebut juga kolom terbuka, dilakukan berdasarkan adsorpsi senyawa-senyawa dari suatu campuran yang memiliki afinitas berbeda-beda pada permukaan fase diam atau penjerap. Fase gerak yang dialirkan akan melarutkan dan membawa komponen-komponen dalam campuran dengan kecepatan yang berbeda-beda sesuai dengan afinitas terhadap penjerap. Kromatografi kolom umumnya digunakan untuk memisahkan suatu campuran senyawa dalam jumlah relatif banyak, tergantung pada diameter dan panjang kolom yang digunakan. Ukuran partikel fase diam,

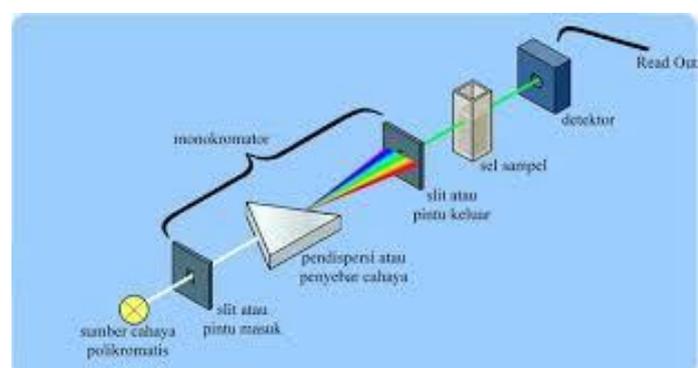
tingkat aktivitas penjerap perlu diperhatikan karena hal tersebut memengaruhi hasil pemisahan (Hanani, 2015).

## II.7 Karakterisasi Senyawa Hasil Purifikasi

### II.7.1 Spektrofotometer UV-VIS

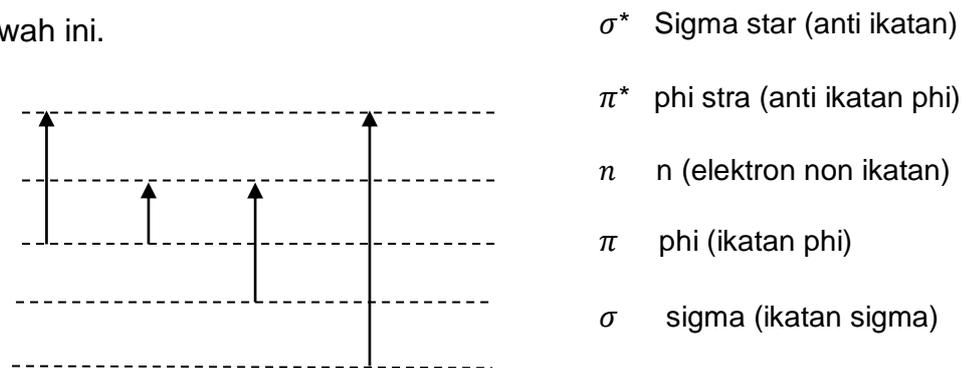
Spektrofotometer Ultraviolet-Visible merupakan salah satu metode dalam analisis yang digunakan pada pengukuran sampel berdasarkan pada interaksi antara radiasi elektromagnetik dari sumber cahaya dengan material sampel berupa molekul. Radiasi elektromagnetik, yang mana sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan salah satunya, dapat dianggap sebagai energi yang merambat dalam bentuk gelombang. Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm (Gandjar, G.I., dan Rohman, 2007).

Panjang gelombang serapan maksimum dan minimum pada spectrum serapan yang diperoleh direkam (dalam nm), demikian juga kekuatan absorbansi (keterserapan) (atau kerapatan optik) pada maksimal dan minimal yang khas (Hanani, 2015) ( $\sigma \rightarrow \pi^*$ )



Gambar 4. Skema alat spektrofotometer UV-Vis (Tahid, 1994)

Transisi-transisi elektronik yang terjadi diantara tingkat-tingkat energi didalam suatu molekul ada 4, yaitu transisi sigma-sigma antibonding ( $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ); transisi n-sigma star ( $n \rightarrow \sigma^*$ ); transisi n-phi star ( $n \rightarrow \pi^*$ ) dan transisi phi-phi star ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) sebagaimana ditunjukkan oleh gambar dibawah ini.



Gambar 5. Diagram tingkat energi elektronik

**a. Transisi sigma - sigma star ( $\sigma \rightarrow \sigma^*$ )**

Energi yang diperlukan untuk transisi ini besarnya sesuai dengan energi sinar yang frekuensinya terletak diantara UV vakum (kurang dari 180 nm). Contoh:

- Metana, yang hanya mempunyai jenis ikatan –C-H, mempunyai pita serapan elektron sigma pada panjang gelombang 125 nm.

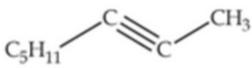
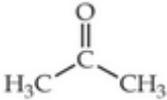
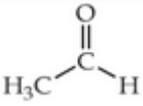
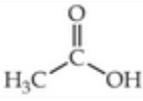
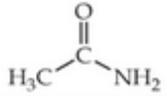
**b. Transisi *non bonding electron* - sigma star ( $n \rightarrow \sigma^*$ )**

Jenis transisi ini terjadi pada senyawa organik jenuh yang mengandung atom-atom yang memiliki elektron bukan ikatan (elektron n). Energi yang diperlukan untuk transisi jenis ini lebih kecil dibandingkan transisi sigma-sigma star sehingga sinar yang diserappun mempunyai panjang gelombang lebih panjang, yakni sekitar 150-250 nm.

### c. Transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$

Jenis transisi ini merupakan transisi yang cocok untuk analisis sebab sesuai dengan panjang gelombang antara 200-700 nm, dan panjang gelombang ini secara teknis dapat diaplikasikan pada spektrofotometer.

**Tabel 2. Macam-macam kromofor dan panjang gelombang maksimal**

| Kromofor    | Contoh  | Pelarut   | $\lambda$ maks<br>(nm) | $\epsilon_{\text{maks}}$ | Jenis<br>transisi        |
|-------------|---|-----------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Alkena      | $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$                                      | n-heptana | 177                    | 13.000                   | $\pi \rightarrow \pi^*$  |
| Alkuna      |    | n-heptana | 178                    | 10.000                   | $\pi \rightarrow \pi^*$  |
|             |   |           | 196                    | 2.000                    | -                        |
|             |   |           | 225                    | 160                      | -                        |
| Karbonil    |  | n-heksan  | 186                    | 1.000                    | $n \rightarrow \sigma^*$ |
|             |   |           | 280                    | 16                       | $n \rightarrow \pi^*$    |
| Karboksilat |  | n-heksan  | 180                    | Luas                     | $n \rightarrow \sigma^*$ |
|             |   |           | 293                    | 12                       | $n \rightarrow \pi^*$    |
| Karboksilat |  | Etanol    | 204                    | 41                       | $n \rightarrow \pi^*$    |
| Amida       |  | air       | 214                    | 60                       | $n \rightarrow \pi^*$    |
| Azo         | $\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$  | Etanol    | 339                    | 5                        | $n \rightarrow \pi^*$    |
| Nitro       | $\text{CH}_3\text{NO}_2$  | isooktan  | 280                    | 22                       | $n \rightarrow \pi^*$    |
| Nitroso     | $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$   | Etil eter | 300                    | 100                      | $n \rightarrow \pi^*$    |
|             |   |           | 665                    | 20                       | -                        |
| Nitrat      | $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONO}_2$  | Dioksan   | 270                    | 12                       | $n \rightarrow \pi^*$    |

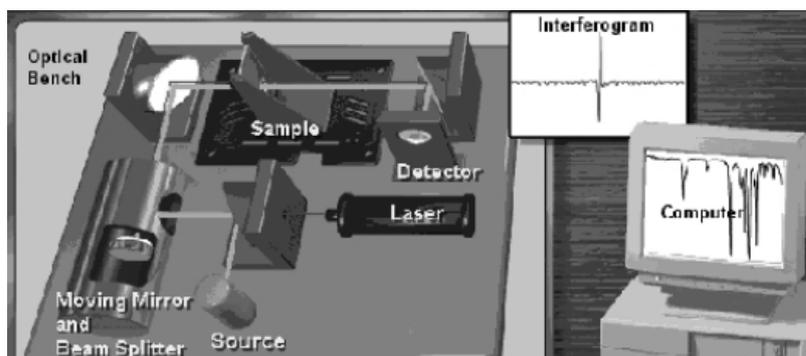
Sumber : Gandjar, G.I., dan Rohman, 2007

## II.7.2 Spektrofotometer FT-IR

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, D.L., Lampmann, G.M., dan Kriz, 1979)

Spektrum inframerah suatu senyawa merupakan sidik jari molekul senyawa tersebut. Suatu senyawa memiliki ikatan dan frekuensi vibrasi yang berbeda sehingga menimbulkan spektrum yang spesifik untuk setiap senyawa. Pengukuran spektrum inframerah dilakukan bentuk padat dalam campuran dengan kalium bromide atau bentuk cair dalam kloroform. Pembentukan cakram tipis dilakukan dengan alat cetakan khusus dengan pengempa. Skrining dilakukan pada bilangan gelombang 4000 hingga 667  $\text{cm}^{-1}$  (2,5 15 nm). Spektrum sidik jari senyawa terletak pada daerah dibawah 1.200  $\text{cm}^{-1}$ , ditimbulkan dari getaran seluruh molekul, sedangkan getaran gugus fungsi atau ikatan kimia terjadi pada spektrum diatas 1.200  $\text{cm}^{-1}$ . Manfaat spektrum inframerah, yakni banyak gugus fungsi yang memiliki ferkuensi getaran pada bilangan gelombang khusus seperti melihat frekuensi getaran pada bilangan gelombang khusus (Hanani, 2015).



Gambar 6. Diagram alur kerja Spektrofotometer Infra Merah (Pavia, D., et al. 1979)  
Tabel 3. Frekuensi inframerah beberapa golongan senyawa

| Jenis ikatan | Tipe Vibrasi                                      | Frekuensi ( $\text{cm}^{-1}$ ) |
|--------------|---|--------------------------------|
| C-H          | Alkana  | 3000-2850 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | -CH <sub>3</sub>                                  | 1450-1375 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | -CH <sub>2</sub> -                                | 1465 $\text{cm}^{-1}$          |
|              | Aldehid   | 2900-2800 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Aromatic  | 3150-3050 $\text{cm}^{-1}$     |
| C=C          | Alkena  | 1680- 1600 $\text{cm}^{-1}$    |
|              | Aromatic  | 1600 dan 1475 $\text{cm}^{-1}$ |
| C≡C          | Alkuna  | 2250-2100 $\text{cm}^{-1}$     |
| C=O          | Aldehid   | 1740-1720 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Keton   | 1725-1705 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Asam karboksilat                                  | 1725-1700 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Ester   | 1750-1730 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Amida   | 1700-1640 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Anhidrida   | 1810 dan 1760 $\text{cm}^{-1}$ |
|              | Asam klorida                                      | 1800 $\text{cm}^{-1}$          |
| C-O          | Alkohol, eter, ester, asam karboksilat, amhidrida | 1300-1000 $\text{cm}^{-1}$     |
| O-H          | Alkohol, fenolik                                  | 3650-3200 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Asam Karboksilat                                  | 3400-2400 $\text{cm}^{-1}$     |
| N-H          | Amin dan amida                                    | 3500-3100 $\text{cm}^{-1}$     |
| C-N          | Amin  | 1350-1000 $\text{cm}^{-1}$     |
| C=N          | Imines dan Oximes                                 | 1690-1640 $\text{cm}^{-1}$     |
| C≡N          | Nitril  | 2260-2240 $\text{cm}^{-1}$     |
| X=C=Y        | Allen, ketenes, isosianat, isotiosianat           | 2270-1940 $\text{cm}^{-1}$     |
| N=O          | Nitro (R-NO <sub>2</sub> )                        | 1550 dan 1350 $\text{cm}^{-1}$ |
| S-H          | Mercaptans  | 2550 $\text{cm}^{-1}$          |
| S=O          | Sulfoksida  | 1050 $\text{cm}^{-1}$          |
|              | Sulfon, sulfonil klorida, sulfat, dan sulfonamide | 1375-1300 $\text{cm}^{-1}$     |
|              |   | 1350-1140 $\text{cm}^{-1}$     |
| C-X          | Fluorida  | 1400-1000 $\text{cm}^{-1}$     |
|              | Klorida   | 785-540 $\text{cm}^{-1}$       |
|              | Bromisa, Iodida                                   | <667 $\text{cm}^{-1}$          |

Sumber: Pavia, D.L., Lampmann, G.M., dan Kriz, 1979

Spektrum inframerah senyawa tumbuhan dapat diukur dengan spektrofotometer inframerah yang merekam secara otomatis dalam bentuk larutan (dalam kloroform, klorotetrafluorida, 1-5%), campuran dengan kalium bromide. Spektroskopi inframerah dapat juga memberi sumbangan yang berguna bagi penentuan struktur bila dijumpai senyawa baru dalam tumbuhan (Harborne, 1987).

### II.7.3 Spektrofotometer NMR

Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) merupakan inti atom tertentu berkerja seolah-olah inti berputar dan hal ini memberikan sifat-sifat suatu vector magnetic pada inti-inti tersebut. Inti-inti umum yang memiliki sifat ini adalah  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{29}\text{Si}$ , dan  $^{31}\text{P}$ . Jika ditempatkan di dalam suatu medan magnet inti tersebut cenderung akan sejajar dengan medan. Perbedaan energi antara spin yang sejajar dengan medan dan melawan medan bergantung pada kekuatan medan magnet yang digunakan. Semakin ini besar kekuatan medan, semakin besar perbedaan energy  $\Delta E$  (Watson, 2007).

Spektrum resonansi magnetik inti menggambarkan banyaknya jenis lingkungan atom hidrogen yang berbeda dalam satu molekul, jumlah atom hidrogen pada masing-masing jenis lingkungan hidrogen, serta jumlah atom hidrogen yang terdapat pada atom karbon tetangga. Sinyal resonansi yang timbul merupakan akibat dari proton suatu senyawa dalam lingkungan kimia yang berbeda, dan antar sinyal dipisahkan dengan geseran kimia (*chemical shift*). Sinyal yang keluar dapat berupa garis

tunggal atau *singlet* (s), *doublet* (d), *triplet* (t), dan seterusnya, mengikuti pola *splitting* spesifik yang disebabkan interaksi magnetik antara suatu inti dengan inti lainnya (Hanani, 2015).

### II.7.3.1 Spektrofotometer $^1\text{H}$ -NMR

Spektroskopi  $^1\text{H}$  NMR atau biasa disebut Spektroskopi proton adalah NMR yang paling banyak digunakan karena kepekaannya dan banyaknya informasi struktur yang dihasilkan. Serapan atau frekuensi resonansi yang pasti pada suatu proton bergantung pada lingkungannya. Contohnya, satu proton yang melekat pada atom karbon tersebut tempat proton ditempelkan dengan satu ikatan atau paling sedikit dua ikatan. Pergeseran kimia suatu proton ditentukan berkaitan dengan proton-proton tetrametilsilan, yang secara bebas ditentukan suatu pergeseran 0 ppm. Nilai-nilai pergeseran untuk masing-masing proton dalam suatu molekul dinyatakan dalam ppm dan nilai 1 ppm dalam Hertz bergantung pada kekuatan medan magnet yang digunakan, yang menentukan energi yang diperlukan untuk mengeksitasi proton. Misalnya, pada kekuatan medan 100MHz, pergeseran 1 ppm = 100 Hz. Pergeseran proton pada senyawa-senyawa organik berkisar dari sedikit di bawah 0 ppm sampai 14 ppm, yaitu dari nilai  $\delta$  sedikit kurang dari 0 sampai  $\delta$  nilai 14 (Watson, 2007).

### II.7.3.2 Spektrofotometer $^{13}\text{C}$ -NMR

Inti-inti selain  $^1\text{H}$  menghasilkan spektrum-spektrum resonansi magnetik inti. Salah satu inti yang paling bermanfaat adalah  $^{13}\text{C}$ , karena kelimpahan alami  $^{13}\text{C}$  hanya sebesar 1,1% dari  $^{12}\text{C}$ , resonansi  $^{13}\text{C}$  relatif lemah. Resonansi  $^{13}\text{C}$  terjadi pada frekuensi  $\pm 25,1$  MHz jika resonansi proton terjadi  $\pm 100$  MHz (yaitu pada 2,33 Tesla). Jadi, resonansi tersebut terjadi pada energi yang lebih rendah daripada resonansi proton dan sebesaran resonansi untuk  $^{13}\text{C}$  lebih dari  $\pm 180$  bpj; maka, kecil kemungkinan garis-garis bertumpang tindih dalam  $^{13}\text{C}$  NMR. Suatu atom  $^{13}\text{C}$  akan berkopel dengan proton-proton yang menempel padanya, misalnya karbon dengan proton yang menempel akan tampak sebagai doublet; untuk mendapatkan informasi paling banyak dari spektrum karbon lemah, kopling ini lebih baik dihilangkan (Watson, 2007).

