

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

Tanaman salam merupakan tanaman berkayu yang biasanya dimanfaatkan daunnya. Tanaman salam sudah dikenal sejak lama sebagai bumbu masakan. Tanaman salam dapat dimanfaatkan sebagai ramuan obat tradisional. Tanaman salam memiliki khasiat pengobatan yang luar biasa yang biasanya digunakan untuk pengobatan hipertensi, diabetes melitus, asam urat, diare, maag, katarak, mabuk akibat alkohol, sakit gigi, kudis dan gatal-gatal karena memiliki sifat kimia yang berguna dalam bidang medis (Sudirman, 2014: 6).



Gambar 2.1. Tanaman Salam (Doc : Holo,2018)

2.1.1. Penyebaran Tanaman Salam

Tanaman salam menyebar di asia tenggara, mulai dari Burma, Indocina, Thailand, Semenanjung Malaya, Sumatra, Kalimantan, Jawa, Ambon, NTT, dan Manado. Pohon ini ditemukan tumbuh liar di hutan-hutan primer dan sekunde, mulai

dari tepi pantai hingga ketinggian 1000m (di Jawa), 1200m (di Sabah), 1300m (di Thailand). Disamping itu tanaman salam ditanam di kebun-kebun pekarangan dan lahan-lahan wanatani yang lain, terutama untuk diambil daunnya.

2.1.2. Taksonomi tanaman salam

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Sub divisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Myrtales
 Family : Myrtaceae
 Genus : Syzygium
 Spesies : *Syzygium polyanthum*

Sumber (Mahardianti,2014)

2.1.3. Penamaan Tanaman Salam

Salam memiliki banyak nama yaitu:

Tabel 2.1. Penamaan Tanaman Salam

NO	DAERAH	NAMA
1	Madura	Salam
2	Makasar	Salam
3	Bugis	Salam
4	Kupang	Salam
5	Bajawa	Salam
6	Melayu	Ubar serai
7	Jawa	Manting
8	Sunda	Gowok
9	Sumenep	Kastolam
10	Sumatera	Meselangan

Sumber (Sudirman, 2014)

2.1.4. Morfologi Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

2.1.4.1. Akar

Tanaman salam memiliki akar tunggang, berbentuk sebagai tombak karna pangkalnya besar dan meruncing ke ujung dengan serabut-serabut akar sebagai percabangan atau biasa disebut akar tombak (Mahardianti, 2014)



Gambar 2.2 Akar Tanaman Salam (Doc: Holo, 2018)

2.1.4.2. Batang

Tanaman salam memiliki batang tegak lurus dengan bentuk batang bulat dan permukaan yang beralur, batang berkayu keras dan kuat. Percabangannya monopodia, batang pokok selalu tampak jelas, memiliki arah tumbuh cabang yang tegak (Mahardianti, 2014).



Gambar 2.3 Batang Tanaman Salam (Doc : Holo, 2018)

2.1.4.3. Daun

Tanaman salam memiliki bentuk daun yang lonjong sampai elip atau bundar telur sungsang dengan pangkal lancip, sedangkan ujungnya lancip sampai tumpul dengan panjang 50mm sampai 150mm, lebar 35 mm sampai 65mm, dan terdapat 6 sampai 10 urat daun lateral. Panjang tangkai daun 5 mm sampai 12 mm. Daun salam merupakan daun tunggal yang letaknya berhadapan. Permukaan daunnya licin dan berwarna hijau muda dan jika diremas berbau harum (Mahardianti, 2014).



Gambar 2.4 Daun Tanaman Salam (Doc : Holo, 2018)

2.1.4.4. Bunga

Bunga tanaman salam kebanyakan memiliki bunga banci dengan kelopak dan mahkota masing-masing terdiri atas 4-5 daun kelopak dan jumlah daun mahkota sama, kadang-kadang berlekatan. Bunganya memiliki banyak benang sari, kelopak berhadapan dengan daun-daun mahkota. Tangkai sari berwarna cerah, yang kadang-kadang menjadi bagian bunga, bakal buah tenggelam dan mempunyai 1 tangkai putik (Mahardianti, 2014).



Gambar 2.5 Bunga Tanaman Salam (Doc : Holo, 2018)

2.1.4.5. Buah

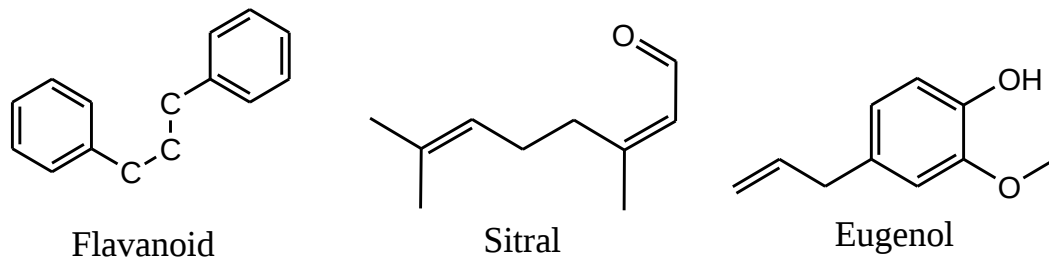
Buah tanaman salam termasuk buah buni dengan diameter 8-9 mm. buah yang masih muda berwarna hijau dan setelah masak menjadi merah gelap, dan memiliki rasa agak sepat (Mahardianti, 2014).



Gambar 2.6 Buah Tanaman Salam (Doc : Holo, 2018)

2.1.5. Kandungan Kimia Tanaman Salam

Beberapa penelitian disebutkan bahwa *Eugenia polyantha wight* memiliki kandungan kimia antara lain minyak atsiri (0,05%) yaitu sitral, eugenol, tanin dan flavonoid.



Gambar 2.7 Kandungan Senyawa Dalam Daun Salam

2.1.6. Manfaat Tanaman Salam

Tanaman salam digunakan terutama sebagai rempah pengharum masakan di sejumlah negara Asia Tenggara, baik untuk masakan daging, ikan, sayur mayur, maupun nasi. Daun ini dicampur dalam keadaan utuh, kering ataupun segar dan turut dimasak hingga masakan matang. Rempah ini memberikan aroma yang khas. Kayunya berwarna coklat jingga kemerahan dan berualitas menengah. Kayu yang tergolong dalam kelat (nama dalam perdagangan) dapat digunakan sebagai bahan bangunan dan perabot rumah tangga. Kulit batang mengandung tannin, masyarakat sering menggunakannya sebagai ubar (mewarnai dan pengawetan) jala dan anyaman dari bambu.

Daun salam efektif menurunkan kadar gula darah, menurunkan tekanan darah, menurunkan kadar kolestrol darah, menurunkan kadar asam urat, mengobati sakit maag (gastritis), gatal-gatal (pruritis), kudis (scabies), dan eksim. Selain daunnya, kulit batang atau kulit pohon dan buah salam juga dapat digunakan sebagai obat antidiare. Buah salam dapat menetralisasi efek mabuk karena mengkonsumsi alkohol terlalu banyak (Enda, 2009)

2.2. Tanaman sambiloto



Gambar 2.8 Tanaman Sambiloto (Doc : Holo,2018)

2.2.1. Penyebaran tanaman sambiloto

Tanaman sambiloto banyak terdapat di Asia Tenggara seperti India, Sri Lanka, Pakistan, Malaysia dan Indonesia. Juga dibudidayakan secara luas di India, China dan Thailand (Jarukamjorn dan Nemoto, 2008).

Tanaman sambiloto tumbuh ditempat terbuka seperti kebun, pinggir jalan, tebing, sungai dan semak belukar. Tanaman sambiloto tumbuh pada curah hujan 2000-3000 mm per tahun, suhu udara 25-32⁰C serta kelembapan udara yang dibutuhkan 70-90%. Tanaman sambiloto dapat tumbuh pada semua jenis tanah yang subur, mengandung banyak humus, tata udara dan pengairan yang baik. Tanaman sambiloto tumbuh optimal pada pH tanah 5,5-6,5 (Kurdi, 2010).

2.2.2. Taksonomi Tanaman Sambiloto

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Solanaeaceae

Famili : Acanthaceae

Genus : Andographis

Spesies : *Andographis paniculata*

(Ratnani,dkk.,2012)

2.2.3. Penamaan Tanaman Sambiloto

Tabel 2.2 penamaan tanaman sambiloto

NO	Daerah/Negara	Nama
1	Kupang	Samboloto
2	Bajawa	Sambiroto
3	Jawa tengah	Sandiloto
4	Jawa barat	Ki oray, Ki peraut
5	Sumatra	Pepaitan
6	Bali	Samiroto
7	Cina	chuan xin lian
8	Arab	Quasabhuva
9	Inggris	The Creat
10	Persia	Nainehavandi
11	India	Kirayat
12	Kanada	Nelrebu

(Sikumalay, A., *et al.*, 2016).

2.2.4. Morfologi Tanaman Sambiloto

2.2.4.1. Akar

Akar tanaman sambiloto memiliki akar tunggang dan berwarna putih kecoklatan

(Pujiasmanto dkk, 2007).



Gambar 2.9 Akar Tanaman Sambiloto (Doc : Holo,2018)

2.2.4.2. Batang

Tanaman sambiloto memiliki batang kayu berbentuk bulat atau segi empat. Batang sambiloto yang berwarna hijau ini memiliki banyak cabang (Pujiasmanto dkk, 2007).



Gambar 2.10 batang tanaman sambiloto (Dok : Holo,2018)

2.2.4.3. Daun

Daun tanaman sambiloto memiliki daun tunggal dan letaknya saling berhadap-hadapan. Bentuk daunnya menyerupai pedang (lanset) sampai bentuk lidah tombak dengan bagian tepi daun merata (integer) dan permukaanya halus. Daun sambiloto berwarna hijau dan mempunyai panjang kurang lebih 2-7 cm dengan lebar 1,5-3 cm (Pujiasmanto dkk, 2007).



Gambar 2.11 Daun Tanaman Sambiloto (Doc : Holo,2018)

2.2.4.4. Bunga

Bunga tanaman sambiloto tegak bercabang, gagang bunga 3 – 7 mm, panjang kelopak bunga 3 – 4 mm. Bibir bunga bentuk tabung, panjang 6 mm, bibir bunga bagian atas berwarna putih dengan warna kuning dibagian atasnya, bibir bunga bawah lebar, berwarna ungu (Jarukamjorn dan Nemoto, 2008).



Gambar 2.12 bunga tanaman sambiloto (Doc : Holo,2018)

2.2.5. Kandungan kimia tanaman sambiloto

Secara kimia tanaman sambiloto mengandung diterpen, flavonoid, stigmasterol, alkana, keton, aldehyd dan mineral (Kalsium, Natrium, dan Kalium) komponen utamanya adalah andrografolid yang merupakan senyawa diterpen lakton. Kandungan utama tanaman sambiloto antara lain, seperti laktone yaitu deoxy-

androgropholide, andrographolide (zat pahit), neoandrographolide, dan 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide. Disamping itu, tanaman sambiloto mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, dan tannin. Kandungan kimia lain dari sambiloto adalah paniculin dan kalmegin (Nugroho dkk, 2016).

Diterpen

α -lakton

β -lakton

γ -lakton

Flavanoid

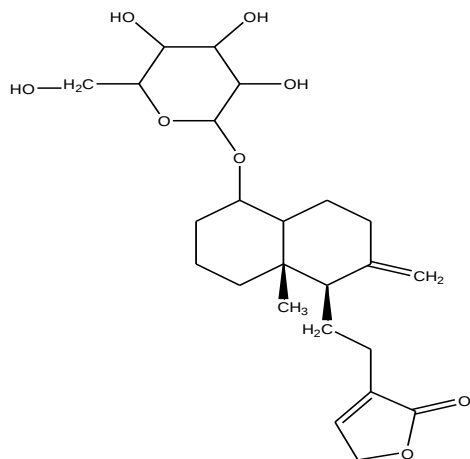
Alkana

Keton

Aldehid

deoxy-andrographolide

andrographolide



neoandrographolide

14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide

Saponin steroid

Saponin terpenoid

Alkaloid

Tanin terhidrolisis

Tanin terkondensasi

Gambar 2.13 Struktur Kimia Senyawa yang Terkandung Pada Tanaman Sambiloto (ChemBioDraw Ultra 8.0, Jarukamjorn dan Nemoto, 2008)

2.2.6. Manfaat tanaman sambiloto

Tanaman sambiloto secara farmakologis berfungsi sebagai anti radang, analgesik. Antiinflamsi, antibakteri, antimalaria, hepatoprotektif, penawar racun, menstimulasi sistem imun, menghambat sel tumor. Serta pengobatan antara lain, pengobatan hepatitis, radang paru-paru, asam urat, TBC, kencing nanah, dan tipus abdominalis (Nugroho, dkk, 2016)

2.3. Senyawa-Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna,

racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya. Golongan senyawa metabolit sekunder adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan triterpenoid (Baud, dkk, 2014 : 107).

2.3.1. Alkaloid

2.3.1.1. Konsep Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan hewan dan tumbuhan. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Alkaloida umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Ningrum *et al.*, 2016)

2.3.1.2. Sumber Dan Klasifikasi Alkaloid

2.3.1.2.1. Sumber Alkaloid

Sumber utama alkaloid adalah pada tumbuhan angiospermae dan gimnospermae. Famili terpenting penghasil alkaloid adalah *Litiaceae*, *Amarylidaceae*, *Asteraceae*, *Papaveracea*, *Leguminosa*, *Rutaceae*, *Solanaceae* dan *Rubiaceae* (Robinson, 1995 : 281).

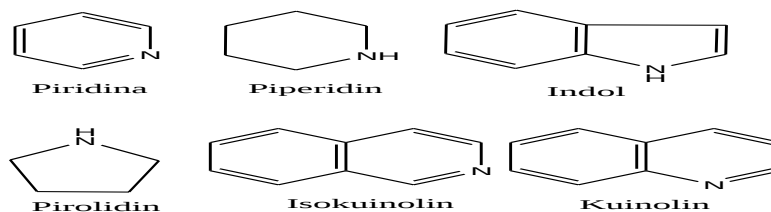
2.3.1.2.2. Klasifikasi Alkaloid

Alkaloid memiliki berbagai jenis struktur, sehingga sangat sukar dibedakan antara satu jenis dengan jenis lainnya. Adapun beberapa cara yang dapat digunakan untuk membedakan jenis alkaloid yakni:

1. Didasarkan pada jenis cincin heterosiklik nitrogen yang merupakan bagian dari struktur molekul alkaloid.
2. Atas dasar jenis tumbuhan dimana alkaloid ditemukan
3. Alkaloid juga dapat diklasifikasikan berdasarkan asal usul biogenetic (Achmad, 1986 : 48-49).

Senyawa alkaloid diklasifikasi berdasarkan asal usul biogenetiknya yakni dari asam-asam amino alifatik dan asam-asam amino aromatik antara lain alkaloid alisiklik dan alkaloid aromatik. Semua alkaloid mengandung paling sedikit sebuah atom nitrogen yang bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Atom nitrogen alkaloid selalu berada dalam bentuk gugus amin ($-NR_2$) atau gugus amida ($-CO-NR_2$) dan tidak pernah dalam gugus nitro ($-NO_2$) dan gugus diazo ($-N=N-$) (Achmad, 1986 : 49).

Beberapa struktur senyawa alkaloid disajikan pada gambar berikut ini:



Gambar 2.14 Struktur Beberapa Senyawa Alkaloid (Achmad, 1986 : 48)

2.3.1.3. Sifat Fisika Dan Kimia Alkaloid

Senyawa alkaloid lebih umum ditemukan dalam tumbuhan tertentu yang memiliki sifat fisika dan sifat kimia, antara lain:

2.3.1.3.1. Sifat Fisika Alkaloid

Beberapa senyawa alkaloid yang telah diisolasi mempunyai sifat fisika yang berbeda dan berupa padatan kristal garam dan titik lebur tertentu, misalnya kokain dengan titik lebur 98°C . ada senyawa alkaloid yang tidak mempunyai bentuk yang teratur (amorf) dan ada yang berupa cairan seperti nikotin dan konim. Pada senyawa alkaloid kebanyakan tidak berwarna tetapi ada senyawa alkaloid yang kompleks mempunyai warna, misalnya berberin berwarna kuning dan betanin berwarna merah.

Pada umumnya, senyawa alkaloid hanya dapat larut dalam pelarut organik. Meskipun beberapa pseudoalkaloid larut dalam air (Beleh, 2010 : 9).

2.3.1.3.2. Sifat Kimia Alkaloid

Kebanyakan senyawa alkaloid bersifat basa, tergantung adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen, jika suatu gugus fungsional yang posisinya berdekatan dengan atom nitrogen bersifat melepaskan elektron, misalnya gugus alkil, elektron pada atom nitrogen akan menarik senyawa alkil sehingga senyawa nitrogen lebih bersifat basa. Sebaliknya jika suatu gugus fungsional yang berdekatan dengan atom nitrogen bersifat menarik elektron, misalnya gugus karbonil, maka kesediaan elektron berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan adalah alkaloid dapat bersifat netral atau bahkan bersifat asam.

Kebasaan senyawa alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat mudah mengalami dekomposisi, terutama oleh panas sinar matahari dengan adanya oksigen. Hasil dari reaksi ini sering berupa N-oksidasi. Pembentukan garam dengan senyawa

organik seperti tartarat, sitrat, atau senyawa anorganik seperti asam hidroklorida atau sulfat sering mencegah dekomposisi (Robinson, 1995 :284-285).

2.3.1.4 Manfaat Alkaloid

Alkaloid berfungsi sebagai hasil buangan nitrogen seperti urea dan asam urat dalam hewan. Alkaloid dapat melindungi tumbuhan dari serangan parasit atau pemangsa tumbuhan. Alkaloid sebagai pengatur tumbuh karena dari segi struktur, beberapa alkaloid merangsang perkecambahan (Robinson,1995 : 281).

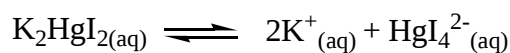
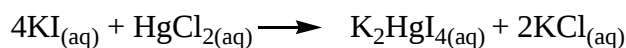
2.3.1.5. Identifikasi Alkaloid

Pengujian untuk mengetahui senyawa alkaloid pada suatu ekstrak menggunakan beberapa reagen seperti reagen Mayer dan reagen Wagner.

1. Reagen Mayer

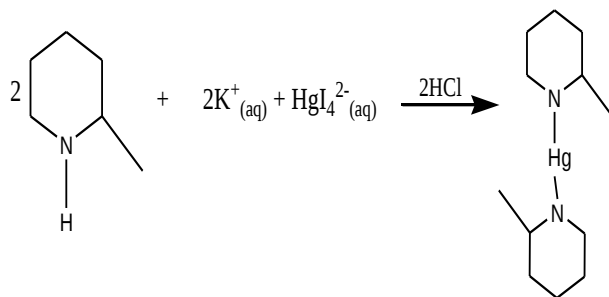
Reagen Mayer dalam pembuatannya menggunakan KI 6 gram yang dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 mL dan HgCl₂ 1,358 gram yang dilarutkan dalam 60 mL aquades, kemudian direaksikan dengan larutan KI dan HgCl₂ lalu tambahkan aquades hingga volume larutan 100 mL.

Reaksi kimia reagen Mayer:



Hasil reaksi menunjukan positif mengandung alkaloid apabila terdapat endapan putih dalam suasana sedikit asam (Mulyono, 2005 : 71).

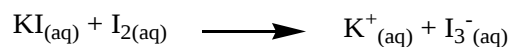
Reaksi alkaloid dengan reagen Mayer sebagai berikut:



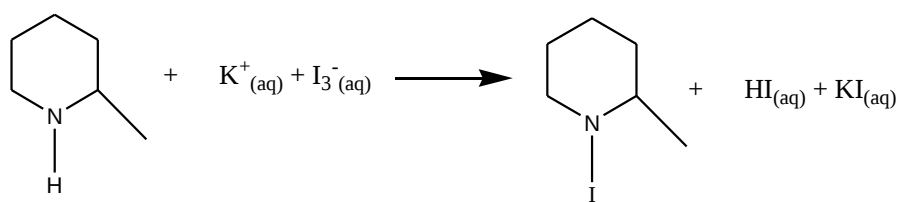
Endapan Putih (Merkuri Alkaloida)

2. Reagen Wagner

Reagen Wagner dalam pembuatannya menggunakan KI sebanyak 5 gram dan serbuk I_2 sebanyak 4 gram yang dilarutkan dalam aquades 100 mL. Reaksi kimia reagen Wagner sebagai berikut:



Hasil reaksi menunjukan positif mengandung senyawa alkaloid apabila terdapat endapan coklat dalam suasana sedikit asam (Mulyono, 2005 : 65). Reaksi alkaloid dengan reagen Wagner sebagai berikut:



Endapan Coklat

2.3.2 Flavonoid

2.3.2.1 Konsep Flavonoid

Flavonoid merupakan jenis senyawa yang mengandung fenol yang banyak ditemukan di alam pada tanaman tingkat tinggi. Flavonoid banyak ditemukan pada

bagian tumbuhan seperti bunga, daun, ranting, buah, kayu, kulit kayu, dan akar. Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C_6) terikat pada suatu rantai propane (C_3) sehingga membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan 3 jenis struktur yakni 1,3 diarilpropana (flavonoid), 1,2 diarilpropana (isoflavonoid) dan 1,1 diarilpropana (neoflavonoid) (Robinson 1995 : 191 ; Achmad, 1986 : 2-3).

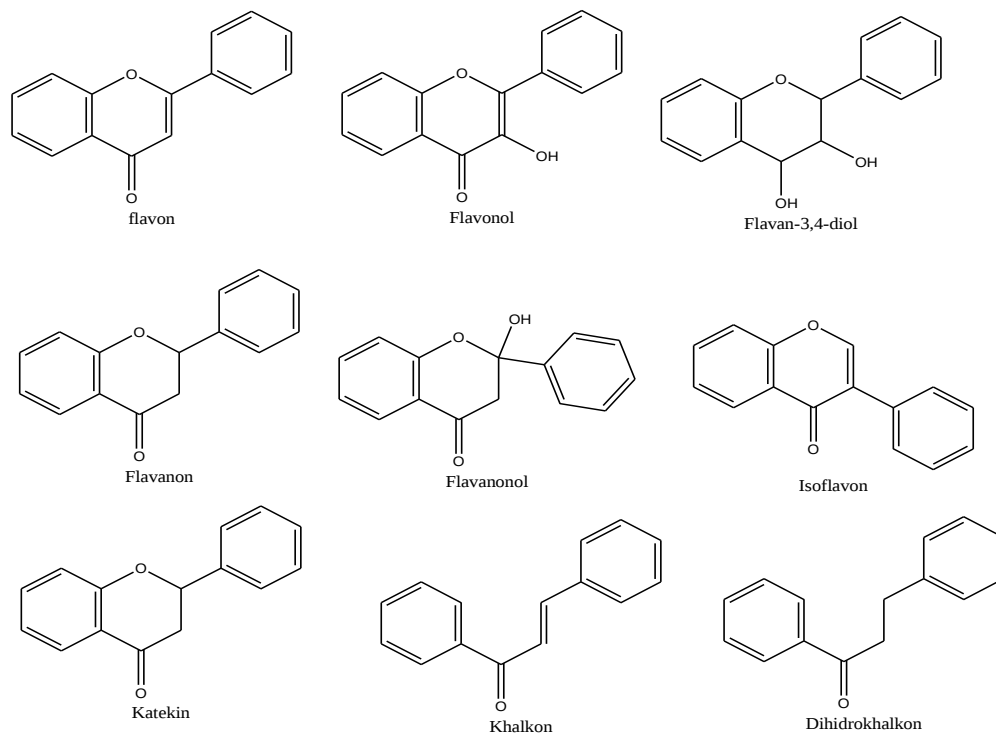
2.3.2.2. Sumber dan Klasifikasi Flavonoid

2.3.2.2.1. Sumber Flavonoid

Flavonoid terdapat pada seluruh tumbuhan mulai dari gugus sampai angiospermae. Pada tumbuhan tinggi, flavonoid terdapat sebagai bagian vegetative maupun dalam bunga (Robinson, 1995 : 191).

2.3.2.2.2. Klasifikasi Flavonoid

Senyawa flavonoid memiliki beberapa turunan yang sangat bergantung pada tingkat oksidasi rantai propana diantaranya flavonon, flavanonol, flavon, flavonol, isoflavon, kalkon, dan sebagainya. Beberapa jenis flavonoid serta struktur dasar dan masing-masing jenis disajikan pada gambar berikut ini.



Gambar 2.15 Struktur Beberapa Jenis Flavonoid (Achmad, 1986: 16)

2.3.2.3. Sifat Fisika dan Kimia Flavonoid

2.3.2.3.1. Sifat Fisika Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan. Flavonoid larut dalam air, eter, dan kloroform (Achmad, 1986 : 17).

2.3.2.3.2. Sifat Kimia Flavonoid

Pada umumnya flavonoid ditemukan sebagai glikosida dan bersifat basa apabila bereaksi dengan asam mineral menghasilkan garam flavilium yang berwarna (Achmad, 1986 : 17).

2.3.2.4. Manfaat Flavonoid

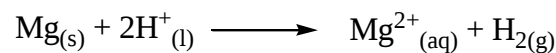
Manfaat flavonoid pada tumbuhan adalah sebagai pengatur tumbuh, pengatur fotosintesis, anti mikroba dan anti virus. Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak sehingga tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak digunakan pada pengobatan tradisional. Flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan untuk mengobati gangguan fungsi hati sebagai antioksidan dan berfungsi menetralkan radikal bebas dan dengan demikian meminimalkan efek kerusakan pada sel dan jaringan tubuh. (Robinson, 1995 : 191, 193).

2.3.2.5. Identifikasi Flavonoid

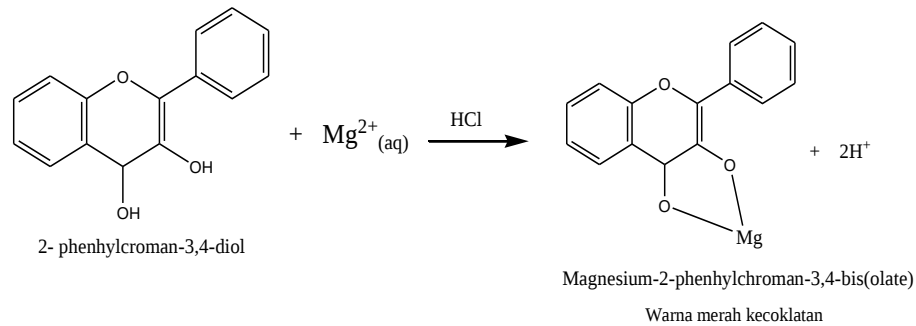
Analisis flavonoid menggunakan pereaksi-pereaksi antara lain:

1. Reagen Wilsater Sianidin

Reagen Wilsater Sianidin dibuat menggunakan larutan HCl dan serbuk magnesium (Mg). Hasil reaksi menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid apabila terdapat warna merah, kuning, orange. Reaksi yang terjadi antara serbuk magnesium dengan larutan HCl sebagai berikut:



Reaksi flavonoid dengan reagen Wilsater Sianidin sebagai berikut:



2. Jika tercampur dengan pigmen lain, flavonoid dapat dideteksi dengan uap amonia dan akan memberikan warna spesifik untuk masing-masing golongan. Falavon dan flavonol akan memberikan warna kuning sampai kuning kemerahan. Antosianin berwarna merah biru sedangkan flavonol menimbulkan warna orange dan coklat.
3. Pereaksi alumunium klorida dapat membentuk kompleks dengan flavonoid menimbulkan warna kuning. Reaksi antara AlCl_3 dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga atau dengan gugus hidroksil yang saling bertetangga.

2.3.3. Saponin

2.3.3.1 Konsep Saponin

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang terikat dengan steroid atau triterpenoid. Senyawa saponin tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin diberi nama demikian karena sifatnya yang menyerupai sabun atau “sapo” (Robinson, 1995 : 157).

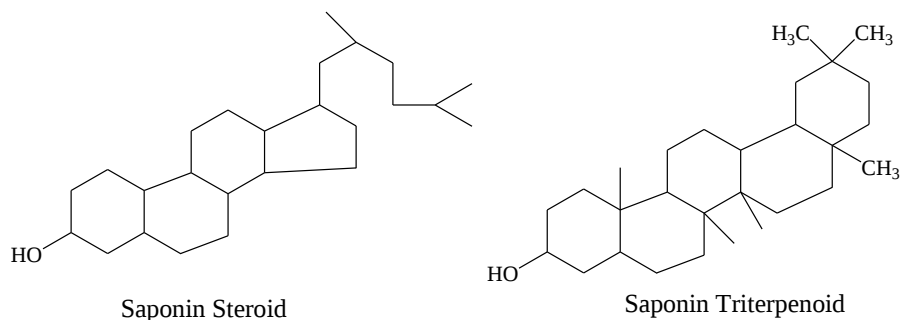
2.3.3.2. Sumber dan Klasifikasi Saponin

2.3.3.2.1. Sumber Saponin

Senyawa saponin banyak ditemukan pada tanaman. Saponin juga ditemukan dalam *Gymnostemma Pentaphyllum* (Genus *Gymnostemma*, Family Cucurbitaceae) seperti Gipenosida, dan ginseng (Genus *Panax*, Famili Araliaceae) seperti ginsenosida. Di dalam keluarga-keluarga tersebut, golongan senyawa saponin dijumpai dalam berbagai bagian tanaman antara lain daun, batang, akar, biji, bunga dan buah (Robinson, 1995 : 157).

2.3.3.2.2. Klasifikasi Saponin

Saponin dibedakan atas dua jenis yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C_{27}) dengan molekul karbohidrat. Saponin steroid dihidrolisis menghasilkan satu aglikon yang dikenal sebagai sapogenin. Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat, dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin.



Gambar 2.16 Struktur Dasar Senyawa Saponin Steroid dan Triterpenoid (Robinson, 1995 : 157)

2.3.3.3. Sifat Fisik dan Kimia Saponin

2.3.3.3.1. Sifat Fisika Saponin

Mempunyai rasa pahit, dalam air membentuk busa yang stabil.

2.3.3.3.2. Sifat Kimia Saponin

Menghemolisa eritrosit, merupakan racun kuat untuk ikan dan amfibi, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksi steroid (Robinson, 1995 : 157).

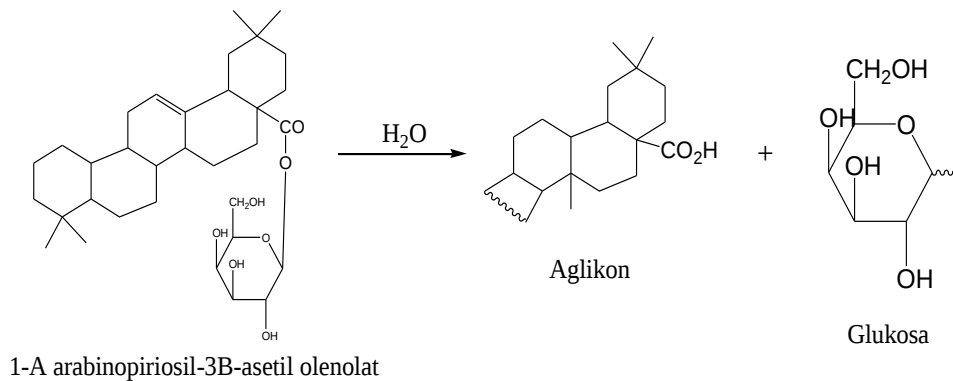
2.3.3.4. Manfaat Saponin

Manfaat saponin sebagai berikut:

1. Menghilangkan kolesterol di usus besar sebelum terserap ke dalam aliran darah.
2. Berfungsi sebagai pembersih sekaligus antiseptic.
3. Mampu mengikat kolesterol dalam darah (Robinson, 1995 : 157).

2.3.3.5. Identifikasi Saponin

Uji saponin dilakukan dengan metode Forth yaitu dengan cara memasukan sampel ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan aquades lalu dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin. Timbulnya busa pada uji Forth menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Robinson, 1986 : 157). Reaksi kimianya disajikan pada bab berikut.



Gambar 2.17 Reaksi Senyawa Saponin dan Air (Robinson, 1983 : 158)

2.3.4. Tanin

2.3.4.1. Konsep Tanin

Tanin merupakan bagian yang tersebar luas dalam tanaman, seperti daun, buah yang belum matang, batang dan kulit kayu. Pada buah yang belum matang, tanin digunakan sebagai energi dalam proses metabolisme dalam bentuk oksidasi tanin. Tanin dapat dikatakan sebagai sumber asam pada buah (Robinson, 1995:71).

2.3.4.2. Sumber dan Klasifikasi Tanin

2.3.4.2.1. Sumber Tanin

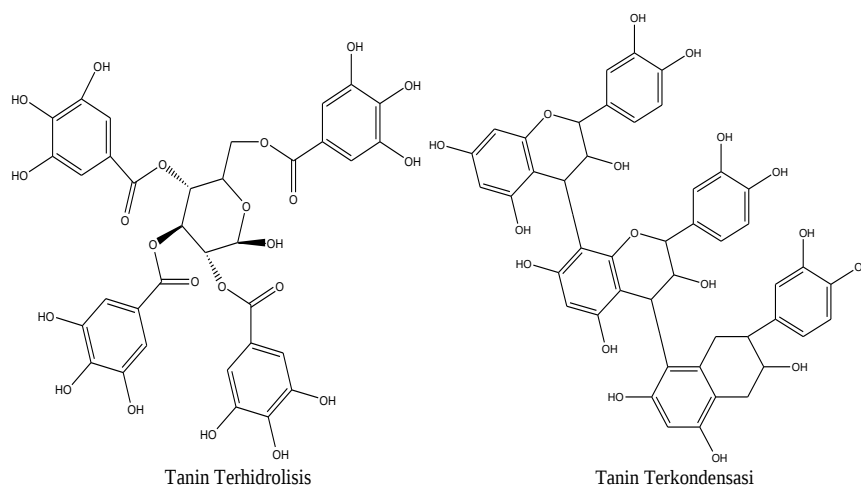
Tanin tersebar hampir pada seluruh bagian tumbuhan, seperti pada daun, batang kulit kayu dan buah. Distribusi tanin hampir diseluruh spesies tanaman dan biasanya ditemukan pada gymnospermae dan angiospermae. Tanin terletak pada vakuola atau bagian permukaan tanaman (Robinson, 1995:71).

2.3.4.2.2. Klasifikasi Tanin

Tanin pada tanaman dikalsifikasikan sebagai tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis

jika dididihkan dalam asam klorida encer. Hasil hidrolisis dari ester adalah gula sederhana seperti glukosa dan asam polifenolat seperti asam kuinat, asam fenolat dan asam galat (Robinson, 1995:71).

Tanin terkondensasi atau disebut proantosianidin, merupakan polimer dari katekin (*flavan-3-ol*) dan leukoantosianidin (*flavan-3,4-diol*). Senyawa-senyawa ini termasuk kelompok senyawa flavanoid yang tersebar luas di alam, dimana struktur senyawanya dapat disajikan pada gambar berikut ini (Robinson, 1995:193).



Gambar 2.18 Struktur Senyawa Tanin Terhidrolisis dan Tanin Terkondensasi (Robinson,1995 : 73, 193)

2.3.4.3. Sifat Fisika dan Kimia Tanin

2.3.4.3.1. Sifat Fisika Tanin

Sifat fisika tanin sebagai berikut:

1. Merupakan senyawa kompleks dalam bentuk campuran polifenol yang sukar dipisahkan sehingga sukar mengkristal.
2. Tanin dapat diidentifikasi dengan kromatografi.

3. Senyawa fenol dari tanin mempunyai aksi adstringensia, anti septik dan pemberi warna.

2.3.4.3.2. Sifat Kimia Tanin

Sifat kimia tanin sabagai berikut:

1. Apabila dilarutkan kedalam air, tanin akan membentuk koloid yang memiliki rasa asam dan sepat.
2. Mengendapkan larutan alkaloid.
3. Larutan alkali tanin mampu mengoksidasi oksigen.
4. Mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut sehingga tidak dipengaruhi oleh enzim protiolitik.

2.3.4.4. Manfaat Tanin

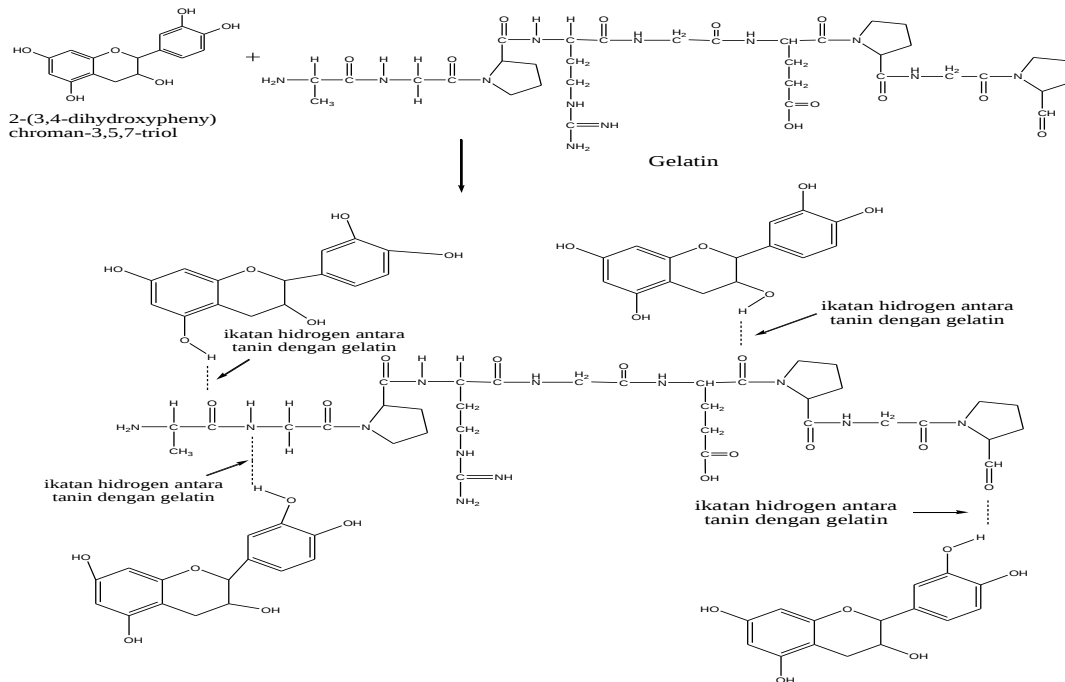
Manfaat tanin antara lain:

1. Sebagai pelindung pada tumbuhan pada saat masa pertumbuhan bagian tertentu pada tanaman, misaknya buah yang belum matang, pada saat matang taninnya hilang.
2. Sebagai anti hama bagi tanaman sehingga mencegah serangga dan fungi.
3. Digunakan dalam proses metabolisme pada bagian tertentu tanaman.
4. Efek terapinya sebagai adstringensia jaringan hidup misaknya pada gastrointestinal kulit.
5. Efek terapi yang lain sebagai anti septik pada jaringan luka, misalnya luka bakar, dengan cara mengendapkan protein.

6. Sebagai pengawet dan penyamak kulit.
7. Regensia dilaboratorium untuk deteksi gelatin, protein dan alkaloid.
8. Sebagai antidotum (keracunan alkaloid) dengan cara mengeluarkan asam tamak yang tidak larut.

2.3.4.5. Identifikasi Tanin

Analisis tanin dilakukan dengan menggunakan gelatin. Tanin dapat mengendapkan gelatin (protein). Hasil reaksi menunjukkan positif mengandung senyawa tanin apabila terdapat endapan coklat (Harborne. 1987:133). Reaksi senyawa tanin dan gelatin dapat dilihat pada gambar berikut ini.



Gambar 2.19 Reaksi Senyawa Tanin dan Gelatin (Harbone, 1987 :133)

2.3.5 Triterpenoid dan Steroid

2.3.5.1. Konsep Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid merupakan senyawa dengan kerangka karbon yang tersusun dari 6 unit isoprena dan dibuat secara biosintesis dari skeluen, suatu C_{30} hidrokarbon asiklik. Senyawa tersebut mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehid atau asam karboksilat (Robinson, 1991:152).

Sterol merupakan triterpen dengan strukturnya berdasarkan sistem cincin siklopentana perhidro fenantren (Sirait, 2007:214). Nama sterol dipakai khusus untuk steroid alkohol. Oleh karena steroid tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksil pada C-3, sering kali semuanya disebut sterol (Robinson, 1991:154)

2.3.5.2. Sumber dan Klasifikasi Triterpenoid dan Steroid

2.3.5.2.1. Sumber Triterpenoid dan Steroid

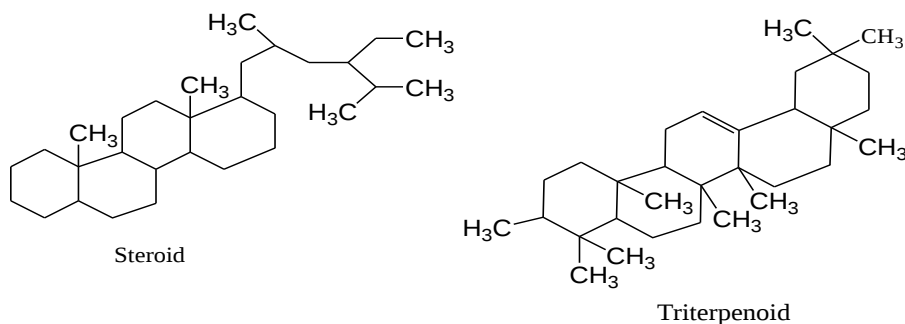
Triterpenoid terdapat dalam damar, gabus, dan kutin tumbuhan. Triterpenoid asiklik yang penting hanya hidrokarbon skualena yang diisolasi untuk pertama kali dari minyak hati ikan hiu, juga ditemukan dalam minyak nabati (minyak zaitun). Senyawa triterpenoid yang paling dikenal antara lain lanosterol terdapat dalam lemak wol, khamir dan beberapa senyawa tumbuhan tinggi. Steroid banyak terdapat di alam dalam jumlah yang terbatas (Robinson, 1991:154,156).

2.3.5.2.2. Klasifikasi Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid dapat dibedakan atas 4 kelompok senyawa yaitu triterpen sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida jantung. Menurut asalnya senyawa steroid dibedakan atas:

1. Zoosterol, yaitu steroid yang berasal dari hewan misalnya kolesterol.
2. Fitosterol, yaitu steroid yang berasal dari tumbuhan misalnya sitosterol dan stigmasterol (Harbone, 1987 : 148-149).

Adapun struktur dasar steroid dan triterpenoid dapat disajikan pada gambar berikut ini.



Gambar 2.20 Struktur Senyawa Steroid dan Triterpenoid

2.3.5.3. Sifat Fisika dan Kimia Triterpenoid dan Steroid

2.3.5.3.1. Sifat Fisika Triterpenoid dan Steroid

Pada temperatur kamar, triterpenoid dan steroid merupakan cairan tidak berwarna, jika teroksidasi warna triterpenoid akan berubah menjadi gelap. Triterpenoid dan steroid mempunyai bau yang khas, indeks bias tinggi, kebanyakan merupakan senyawa optik aktif, kerapatan lebih kecil dari air, larut dalam pelarut organik seperti eter dan alkohol (Sirait, 2007:213).

2.3.5.3.2 Sifat Kimia Triterpenoid dan Steroid

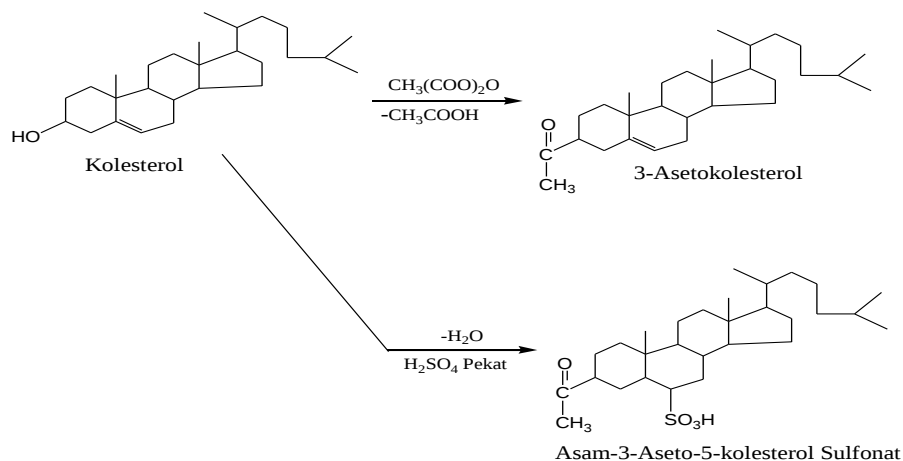
Triterpenoid dan steroid merupakan senyawa tidak jenuh (rantai terbuka ataupun siklik). Isoprenoid kebanyakan bentuknya kiral dan berbentuk enantiomer (Sirait, 2007:213).

2.3.5.4. Manfaat Triterpenoid dan Steroid

Berbagai macam aktivitas fisiologi yang menarik ditunjukkan oleh beberapa triterpenoid. Senyawa triterpenoid dan steroid memiliki komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati, dan malaria (Robinson, 1983:154).

2.3.5.5. Identifikasi Triterpenoid dan Steroid

Analisis triterpenoid dan steroid banyak digunakan reaksi Lieberman-Burchard (anhidrat asetat- H_2SO_4 pekat), dengan kebanyakan triterpena dan sterol memberikan warna hijau-biru (Sirait, 2007:213). Reaksi kimianya disajikan pada gambar berikut ini.



Gambar 2.21 Reaksi Lieberman-Burchard (Sirait, 2007 : 213)

2.4. Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi menggunakan pelarut pada suhu kamar selama beberapa waktu. Pelarut yang digunakan akan menentukan efisiensi proses penarikan zat berkhasiat dari bahan alam (Agoes, 2009:32).

Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder.

Rumus untuk menghitung rendemen (Agoes, 2009:32)

$$\% \text{ rendamen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak hasil ekstraksi}}{\text{berat awal simplisia}} \times 100\%$$

2.4.1. Keuntungan Metode Maserasi:

1. Alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendam
2. Biaya operasionalnya relative rendah
3. Tanpa pemanasan.

2.4.2. Kelemahan Metode Maserasi

1. Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja.
2. Prosesnya lama, butuh bebarapa hari (Ibrahim dan Sitorus, 2013:16).

2.5. Sifat Fisiko-kimia

2.5.1. Massa Jenis

Zat didefinisikan sebagai sesuatu yang memiliki massa dan mempunyai ruang. Berdasarkan wujudnya, zat dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu zat padat, zat cair dan zat gas. Setiap zat baik padat, cair maupun gas mempunyai massa jenis tertentu. Massa jenis diartikan sebagai perbandingan antara massa zat dan volumenya. Nilai dari massa jenis zat hanya bergantung pada jenis zat, tidak bergantung pada volume ataupun massa suatu zat. Jadi, meskipun massa ataupun volume pada suatu zat berbeda dengan yang lain, akan tetapi massa jenisnya tetap sama.

Menentukan volume benda dapat dilakukan berbagai macam cara sesuai dengan bentuk bendanya. Untuk benda yang beraturan, pengukuran dapat dilakukan dengan rumus yang sesuai. Sedangkan untuk benda yang tidak beraturan, pengukuran volume dilakukan dengan cara memasukan benda tersebut kedalam gelas ukur yang sudah diisi dengan air pada volume tertentu, kemudian diamati selisih volumenya. Massa jenis suatu bahan secara matematis dirumuskan :

$$\rho = \frac{\text{massa benda}}{\text{Volume benda}} = \frac{m}{V},$$

Dimana:

ρ : massa jenis

M : massa zat

V : volume zat (Douglas, 1998 : 325)

2.5.2. Titik leleh

Titik leleh adalah suhu dimana fase zat padat berubah menjadi zat cair pada tekanan 1 atm. Dengan kata lain, titik leleh merupakan suhu ketika fase padat dan cair sama-sama berada dalam kesetimbangan. Pada umumnya titik leleh senyawa organik mudah diamati sebab tempertatur dimana pelelehan mulai terjadi hampir sama dengan temperatur dimana zat telah meleleh semuanya. Pengaruh ikatan hidrogen terhadap titik leleh tidak begitu besar karena pada wujud padat jarak antar molekul cukup berdekatan dan yang paling berperan terhadap titik leleh adalah berat molekul zat dan bentuk simetris molekul. Pada unsur alkali memiliki satu elektron ikatan dan bertambah lemah jika jari-jari bertambah besar, hal ini menyebabkan titik leleh berkurang dari atas ke bawah dalam satu golongan. Unsur halogen terikat oleh gaya Van Der Wals yang lemah, gaya ini bertambah besar jika jari-jari bertambah besar sehingga titik leleh bertambah besar dari atas ke bawah dalam satu golongan. Adapun faktor yang mempengaruhi cepat atau lambatnya zat meleleh antara lain ukuran kristal, banyaknya sampel, dan pengemasan dalam kapiler.

2.5.3. Kelarutan

Kelarutan merupakan keadaan suatu senyawa baik padat, cair, ataupun gas yang akan membentuk larutan homogen. Di bidang farmasi, kelarutan memiliki peran penting untuk menentukan konsentrasi yang dicapai pada sirkulasi sistemik untuk menghasilkan respon farmakologi. Faktor-faktor yang mempengaruhi kelarutan adalah temperatur, struktur molekul zat terlarut, sifat pelarut, sifat kristal, ujuan

partikel zat padat, pH, pembentukan kompleks dan sifat kepolaran (Deshmukh *et al.*,2017).

2.5.4. Putar Optik

Polarimeter adalah alat untuk mempolarisasikan cahaya dengan mengatur sudut rotasi bidang polarisasi cahaya oleh senyawa aktif optis engan prinsip kerjanya didasarkan pada pemutaran bidang polarisasi (Fessenden, 1982 : 141).

Prinsip kerja polarimeter sebagai berikut, zat bersifat optis aktif ditempatkan di antara *polarizer* dan *analizer*. Sinar yang datang dari sumber cahaya (misalnya lampu natrium) akan dilewatkan melalui prisma terpolarisasi (*polarizer*), kemudian ke sel yang berisi larutan. Pada akhirnya menuju prisma terpolarisasi kedua (*analizer*). Analyzer dapat diatur atau diputar sesuai keinginan hingga menunjukkan sumber cahaya yang tampak jelas (Fessenden, 1982 : 141-142; Hart, 1987 :117).

Jika senyawa bersifat optis tak aktif maka tidak akan terjadi suatu apapun (pandangan akan tetap gelap). Tetapi jika senyawa yang dianalisis bersifat optis aktif akan memutar bidang polarisasi dan sebagian cahaya dapat dlewatkan kepada pengamat dengan memutar prisma analisis searah jarum jam atau sebaliknya.

Ada 2 macam sudut putar pada Polarimeter, yaitu :

1. Dexro rotary (+), jika letak gugus setelah gugus fungsi berada disebelah kanan, arah putarnya ke kanan atau sesuai putaran jarum jam.
2. Levo rotary (-), jika letak gugus setelah gugus fungsi berada disebelah kiri, arah putarnya ke kiri atau berlawanan dengan putaran jarum jam (Sastrohamidjoyo, 2005: 5).

Besarnya putaran yang teramati tergantung dari jumlah factor keadaan senyawa, konsentrasi dari larutan, panjang sel, panjang gelombang, temperatur, dan pelarut untuk membangkitkan harga dari pengukuran, putaran yang diamati diubah menjadi putaran spesifik $[\alpha]_D^T$, dimana D menunjukkan panjang gelombang (garis-D Natrium, 589,3 nm) dan T menunjukkan temperatur. Putaran spesifik dengan persamaan sebagai berikut (Fessenden and Fessenden, 1997:222).

$$\text{Rotasi spesifik } [\alpha]_D^T = \frac{\alpha}{\ell \times M}$$

Dimana:

α : sudut putar berdasarkan pengamatan di polarimeter

ℓ : panjang dari sel sampel dalam cm ($1 \text{ dm} = 0,01 \text{ m}$)

M : konsentrasi larutan (g/mL)

Komponen-komponen alat polarimeter adalah :

1. Sumber Cahaya Monokromatis

Sumber cahaya monokromatis yaitu sinar yang dapat memancarkan sinar monokromatis. Sumber cahaya yang digunakan biasanya lampu Natrium dengan panjang gelombang 589,3 nm. Selain itu juga dapat digunakan lampu uap raksa dengan panjang gelombang 546 nm.

2. Polarisator dan Analisator

Polarisator berfungsi untuk menghasilkan sinar terpolarisir sedangkan analisator berfungsi untuk menganalisis sudut yang terpolarisasi. Yang digunakan sebagai polarisator dan analisator adalah prisma nikol.

3. Prisma Setengah Nikol

Merupakan alat untuk menghasilkan bayangan setengah yaitu bayangan gelap dan gelap terang.

4. Skala Lingkar

Merupakan skala yang bentuknya melingkar dan pembacaan skalanya dilakukan jika telah didapatkan pengamatan yang tepat.

5. Wadah Sampel/tabung Polarimeter

Wadah sampel berbentuk silinder yang terbuat dari kaca yang tertutup dikedua ujungnya berukuran 5, 10, 20 cm. Wadah sampel dibersihkan secara hati-hati dan tidak boleh ada gelembung udara yang terperangkap didalamnya.

6. Detektor

Pada polarimeter manual yang digunakan sebagai detektor adalah mata, sedangkan polarimeter lain dapat digunakan detektor fotoelektrik.

Prinsip kerja polarimeter adalah sebagai berikut :

1. Sinar manokromatis dari sumber cahaya lampu natrium akan melewati lensa kolimator sehingga berkas sinar yang dihasilkan akan disejajarkan arah rambatnya.
2. Dari lensa terus ke polarisator untuk mendapatkan berkas cahaya yang terpolarisasi.
3. Cahaya terpolarisasi akan terus ke prisma/nikol untuk mendapatkan bayangan gelap dan terang, kemudian melewati larutan senyawa optis aktif yang berada dalam tabung polarimeter.



Gambar 2.22 Polarimeter

(Sumber : <http://www.google.co.id/gambar-polarimeter.htm>)

2.6. Analisis Komponen Senyawa Kimia

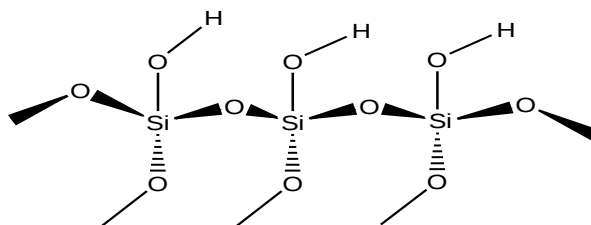
2.6.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan campuran analit dengan mengelusi analit melalui lempeng kromatografi kemudian melihat komponen-komponen analit yang terpisah dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultraviolet (Gandjar dan Rohman, 2012 : 329-330). Dalam bentuk yang sederhana, lempeng-lempeng kromatografi lapis tipis dapat disiapkan di laboratorium, lalu lempeng diletakan pada wadah dengan ukuran yang sesuai. Selanjutnya kromatogram hasil dapat discnanning dengan visual. Dalam bentuk yang lebih canggih, terdapat berbagai jenis lempeng kromatografi lapis tipis. Teknik penotolan sampel, termasuk alat penotolan sampel yang diotomatisasi, tempat pengemban, alat pendeteksi, serta penyerap (fase diam). Pada kromatografi lapis tipis fase diam berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, allumunium, atau lempeng plastic. Fase gerak sebagai pelarut pengemban akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada

pengemban secara mekanik, atau karena pengaruh gravitasi pada pengemban secara menurun. Beberapa keuntungan kromatografi lapis tipis sebagai berikut :

1. Kromatografi lapis tipis banyak digunakan untuk tujuan analisis.
2. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan cara radiasi menggunakan sinar UV.
3. Dapat dilakukan elusi secara ke atas, ke bawah atau dengan cara elusi dua dimensi.
4. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Gandjar dan Rohman, 2012 : 329).

Struktur kimia KLT sebagai berikut:



Gambar 2.23 Struktur Kimia KLT

Komponen-komponen yang terdapat dalam kromatografi lapis tipis (KLT), antara lain:

2.6.1.1. Fase Diam atau Penjerap

Fase diam yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam,

maka semakin baik kinerja kromatografi lapis tipis (KLT) dalam hal efisiensi dan resolusinya (Sudjadi, 2007 : 354).

Penjerap yang paling sering digunakan adalah silica, serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama adalah partisi dan adsorpsi (Sudjadi, 2007 : 354). Beberapa fase diam yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis antara lain (Gandjar dan Rohman, 2012 : 335-341).

1. Silika Gel

Silika gel merupakan penyerap yang paling sering digunakan dalam kromatografi lapis tipis (KLT). Silika gel disiapkan dengan hidrolisis natrium silikat dengan asam polisilikat yang mengalami kondensasi dan polimerisasi lebih lanjut menghasilkan bahan silika gel.

Daya pisah dan efisiensi pemisahan yang diperoleh tergantung pada ukuran dan distribusi ukuran partikel. Daya pisah akan meningkat seiring dengan semakin seragam dan kecilnya ukuran partikel. Lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel yang beredar di pasaran mempunyai rata-rata ukuran partikel 10 μm dengan kisaran ukuran partikel yang lebih sempit. Lempeng-lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) tersedia dengan indikator fluoresen (bahan yang berfluoresensi atau berpendar), yang biasanya berupa seng silikat atau fosfor yang diaktivasi oleh mangan, yang akan mengemisikan suatu fluoresensi hijau ketika diradiasi/disinari dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Senyawa-senyawa yang mampu menyerap sinar UV akan muncul sebagai bercak-bercak.

2. Keislguhr (Celit)

Keislguhr (Celit) merupakan tanah yang tersusun atas organisme laut mikroskopik yang kaya akan silica dan disebut dengan diatom. Bahan ini mempunyai polaritas dan luas permukaan yang besar. Keislguhr sendiri tidak mempunyai sifat absorpsi yang kuat, tetapi keislguhr dapat dilapiskan pada fase diam cair berlilin; karena alasan inilah maka bahan ini digunakan sebagai pendukung fase diam dalam kromatografi partisi. Keislguhr (Celit) yang dilapiskan dengan cairan parafin digunakan dalam uji farmakope untuk trigliserida dan asam-asam lemak dalam minyak.

3. Alumina

Alumina (aluminium oksida) dapat disintesis dengan tingkatan kemurnian dan spesifikasi yang sama dengan silica gel dengan serangkaian proses dehidrasi tidak seragam terhadap berbagai modifikasi Kristal aluminium hidroksida. Alumina merupakan penyerap yang kuat untuk hidrokarbon-hidrokarbon tidak jenuh dan aromatis, karotenoid, steroid, alkaloid dan senyawa alami lainnya.

4. Serbuk Selulosa

Lapisan-lapisan serbuk selulosa merupakan agregasi partikel-partikel dengan ukuran yang sangat kecil. Sebagai konsekuensinya, diperlukan aliran fase gerak yang lebih banyak dengan difusi senyawa-senyawa terlarut yang kecil. Bahan-bahan selulosa hampir digunakan secara eksklusif untuk pemisahan senyawa-senyawa hidrofolik seperti asam amino dan gula.

2.6.1.2 Fase Gerak atau Pelarut Pengembang

Pemisahan pada kromatografi lapis tipis (KLT) dikendalikan oleh rasio distribusi komponen dalam sistem fase diam dan eluen tertentu. Profil pada pemisahan kromatografi lapis tipis (KLT) dapat dimodifikasi dengan mengubah rasio distribusi dengan mengubah komposisi fase gerak dengan memperhatikan polaritas dan kekuatan elusinya (Gandjar dan Rohman, 2012:345). Sistem yang paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut tersebut dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Sudjadi, 2007:359).

Berikut ini adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak, antara lain (Gandjar dan Rohman, 2012:342):

1. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik yang sangat sensitif.
2. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
3. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika, gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f .
4. Solut-solut ionik dan solut-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya seperti campuran air dan metanol dengan perbandingan tertentu.

2.6.1.3 Aplikasi atau Penotolan Sampel

Suatu sampel ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT). Lempeng kromatografi lapis Tipis (KLT) tidak boleh rusak selama penotolan sampel. Biasanya ditotolkan 1-10 μl larutan. Untuk menotolkan disarankan agar menggunakan mikropipet berujung runcing, khusus berskala 1 μl dan bervolume 10 μl (Stahl, 1985:10).

Pemisahan pada kromatografi lapis tipis akan lebih optimal jika sampel yang ditotolkan berada dalam bercak yang sekecil dan sesempit mungkin. Apabila sampel yang ditotolkan terlalu banyak maka akan menurunkan resolusi (Gandjar dan Rohman, 2012:345).

2.6.1.4 Pengembangan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengembangan adalah proses pemisahan senyawa akibat pelarut pengembang merambat naik dalam lempeng kromatografi lapis tipis (KLT). Pemisahan senyawa dilakukan dalam suatu bejana kromatografi (*Chamber*) yang telah dijenuhkan dengan uap eluen. Tujuan penjenuhan bejana kromatografi adalah untuk memperoleh homogenitas atmosfer dalam bejana, sehingga dapat meminimalisir penguapan pelarut pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) selama dalam pengembangan (Stahl, 1985:11).

Bejana kromatografi harus dalam keadaan tertutup setelah eluen dimasukkan dan saat lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) dimasukkan setelah penotolan, bejana tidak boleh dibiarkan terbuka terlalu lama lama, karena jika terbuka lama maka dapat menyebabkan penyebaran elusi tidak merata atau tidak horisontal. Pada

saat dimasukkan ke dalam bejana, lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) yang telah ditotoli harus tercelup kurang lebih 0,5,1 cm. Tinggi eluen dalam bejana harus berada di bawah totolan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) (Gandjar dan Rohman, 2012:346).

2.6.1.5 Deteksi Bercak (Spot)

Bercak pemisahan pada kromatografi lapis tipis (KLT) umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna, sehingga untuk penentuannya dapat dilakukan dengan cara kimia maupun fisika. Secara kimia dapat dilakukan dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi tertentu melalui penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas yang menunjukkan adanya suatu kelompok senyawa tertentu. Cara fisika yang dilakukan adalah dengan proses radioaktif dan fluoresensi dibawa sinar ultraviolet (UV) dengan panjang gelombang 254 atau 366 nm (Gandjar dan Rohman, 2012:351).

Dalam kromatografi lapis tipis dan kromatografi kertas, hasil yang diperoleh digambarkan dengan mencantumkan nilai R_f yang merujuk pada migrasi relatif analit terhadap ujung depan fase gerak atau eluen. Nilai R_f dapat didefinisikan sebagai:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh solut}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Pemisahan kromatografi lapis tipis dikendalikan oleh rasio distribusi komponen dalam sistem fase diam penyerap dan elen tertentu. Pemisahan pada kromatografi lapis tipis dapat dimodifikasi dengan mengubah rasio distribusi dengan

mengubah komponen fase gerak dengan memperhatikan polaritas dan kekuatan elusinya. Berikut adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimalkan fase gerak:

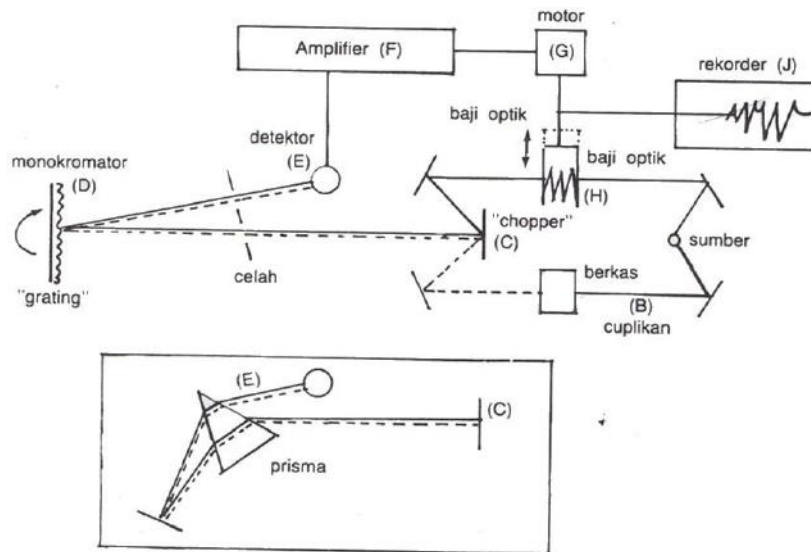
1. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena kromatografi lapis tipis merupakan teknik yang sensitive.
2. Daya elusi gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
3. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polarisasi fase gerak akan menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzene akan meningkatkan R_f secara signifikan.
4. Solut-solut ionik dan solut-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya seperti campuran air dan metanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau ammonia masing-masing akan meningkatkan solut-solut bersifat basa dan asam (Gandjar dan Rohman, 2012:342).

2.6.2 Instrumen Infra Merah

Spektroskopi infra merah merupakan teknik analisis yang sangat populer untuk analisis berbagai jenis sampel, baik sampel produk farmasetik, makanan, cairan biologis, maupun sampel lingkungan. Spektroskopi infra merah merupakan jenis spektroskopi yang bersifat: (1) spesifik terhadap suatu molekul; yang akan memberikan informasi yang menyatu (inheren) tentang gugus – gugus fungsional

yang ada dalam molekul, termasuk macamnya, interaksi – interaksinya dan orientasi – orientasinya; (2) selektif terhadap isomer, yang disebabkan oleh adanya kisaran daerah sidik jari (*fingerprint*); (3) bersifat kuantitatif dan non-destruktif (tidak merusak), bahkan terhadap senyawa–senyawa yang sangat labil dengan kisaran kerja yang utama antara 0,1–100%; dan (4) bersifat universal, dalam persyaratan pengambilan sampelnya baik sampel padat, cair, gas, sampel antara padat dan cair atau gas, sampel permukaan, maupun sampel ruahan (*bulk*) (Gandjar, 2013 : 156).

Penggunaan spektrum infra merah untuk penentuan struktur senyawa organik biasanya antara $650 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ($15,4 - 2,5 \text{ }\mu\text{m}$). Daerah di bawah frekuensi 650 cm^{-1} dinamakan inframerah jauh dan daerah di atas frekuensi 4.000 cm^{-1} dinamakan inframerah dekat. Spektrometer inframerah biasanya merupakan spektrofotometer berkas ganda dan terdiri dari 4 bagian utama yaitu sumber radiasi, daerah cuplikan (tempat sampel), kisi difraksi (monokromator), dan detektor (Sudjadi, 1987 : 202).



Gambar 2.24 Bagan Spektroskopi Inframerah (Sudjadi, 1987 :203)

2.6.2.1 Sumber Radiasi

Pancaran infra merah dihasilkan oleh sebuah sumber yang dipanaskan dengan listrik sampai $1000-1800^{\circ}\text{C}$, sumber itu berupa filamen Nernst atau Globar. Filamen Nernst dibuat dari sebuah pengikat dan oksida-oksida zirkonium, torium dan serium. Globar adalah sebuah batang kecil silikon karbida yang dipanaskan dengan listrik mencapai suhu 1.200°C , sehingga memancarkan radiasi kontinyu pada daerah $4.000-100\text{ cm}^{-1}$. Globar merupakan sumber radiasi yang sangat stabil. Pijar Nernst merupakan batang cekung dari sirkonium dan litium oksida yang dipanaskan hingga suhu 1.500°C dengan arus listrik. Sumber ini memancarkan radiasi antara $200-40\text{ cm}^{-1}$ dan kurang stabil jika dibandingkan dengan Globar, tetapi Globar memerlukan pendinginan air (Sudjadi, 1985 : 203).

2.6.2.2. Tempat Sampel

Tempat sampel tergantung pada jenis sampel. Untuk sampel berbentuk gas digunakan sel gas dengan lebar sel atau panjang berkas radiasi 40 mm. tempat sampel untuk sampel cair umumnya mempunyai panjang berkas radiasi kurang dari 1 mm dan biasanya dibuat lapisan tipis (film) diantara dua keeping senyawa yang transparan terhadap radiasi infra merah. Senyawa yang biasa digunakan adalah NaCl, CaF₂ dan CaI₂. Wadah sampel untuk larutan disebut sampel larutan. Sampel dilarutkan ke dalam pelarut organik dengan konsentrasi 1-5%. Pelarut organik yang biasa dipakai adalah CCl₄, CS₂, dan CHCl₃. Wadah sampel untuk sampel padat mempunyai panjang berkas radiasi kurang dari 1 mm.

2.6.2.3. Monokromator

Monokromator ini terdiri dari sistem celah masuk dan celah keluar, alat pendispersi yang berupa kisi difraksi atau prisma, dan beberapa cermin untuk memantulkan dan memfokuskan berkas sinar.

Bahan yang lazim digunakan untuk prisma adalah Natrium Klorida, Natrium Bromida, Cesium Bromida, dan Litium Florida. Prisma Natrium Klorida paling banyak digunakan untuk monokromator infra merah, karena dispersinya tinggi untuk daerah antara 16.000-500 cm⁻¹, tetapi dispersinya kurang baik antara 500-100 cm⁻¹..

2.6.2.4. Detektor

Setelah radiasi infrah merah melewati monokromator, kemudian berkas radiasi ini dipantulkan oleh cermin dan akhirnya ditangkap oleh detector. Sebagian besar alat modern menggunakan detektor panas. Detektor panas untuk mendeteksi

sinar infra merah yaitu termokopel, bolometer dan sel golay. Ketiga detektor ini bekerja berdasarkan efek pemanasan yang ditimbulkan oleh sinar infra merah (Sudjadi, 1985 : 204).

2.6.3 Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS)

Saat ini, kromatografi gas (KG) telah dihubungkan dengan spektrometer massa (sebagai detektor) yang mana gabungan ini biasa disebut dengan GC-MS yang merupakan singkatan dari *gas chromatography-mass spectrometry*. Pada teknik ini, eluen yang keluar dari kolom GC selanjutnya akan masuk ke MS untuk menghasilkan profil spektrum massa untuk tiap komponen. Teknik ini memberikan keuntungan diperolehnya berat molekul komponen yang keluar.

Teknik ini digunakan sangat luas karena mampu menawarkan batas deteksi yang lebih kecil (lebih sensitif). Spektrometer massa jika digunakan sebagai detektor, maka akan mampu memberikan informasi data struktur kimia senyawa yang tidak diketahui. Dengan menggunakan spektrometer massa untuk memonitor ion tunggal atau beberapa ion yang karakteristik dalam analit, maka batas deteksi ion-ion ini akan ditingkatkan (Gandjar, 2013 : 407-408).

2.6.3.1. Kromatografi Gas

Kromatografi gas merupakan metode yang dinamis untuk pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa organik yang mudah menguap dan senyawa-senyawa gas anorganik dalam suatu campuran. Kegunaan umum kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa-senyawa

organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi gas dapat bersifat destruktif dan dapat bersifat non-destruktif tergantung pada detektor yang digunakan (Gandjar, 2013 : 363).

Mekanisme kerja kromatografi gas sebagai berikut, gas dalam silinder baja bertekanan tinggi dialirkan melalui kolom yang berisi fasa diam. Cuplikan berupa campuran yang akan dipisahkan, biasanya dalam bentuk larutan, disuntikkan ke dalam aliran gas tersebut. Kemudian cuplikan dibawa oleh gas pembawa ke dalam kolom dan di dalam kolom terjadi proses pemisahan. Komponen-komponen campuran yang telah terpisahkan satu persatu meninggalkan kolom. Suatu detektor diletakkan di ujung kolom untuk mendeteksi jenis maupun jumlah tiap komponen campuran. Hasil pendeteksian direkam dengan rekorder dan dinamakan kromatogram yang terdiri dari beberapa peak. Jumlah peak yang dihasilkan menyatakan jumlah komponen (senyawa) yang terdapat dalam campuran. Bila suatu kromatogram terdiri dari 5 peak maka terdapat 5 senyawa atau 5 komponen dalam campuran tersebut. Sedangkan luas peak bergantung kepada kuantitas suatu komponen dalam campuran (Hendayana, 2006 : 32-33).

2.6.3.2. Komponen–Komponen Instrumentasi Kromatografi Gas

2.6.3.2.1. Gas Pembawa

Gas yang dapat digunakan sebagai fasa gerak dalam kromatografi gas harus bersifat inert (tidak bereaksi) dengan cuplikan maupun fasa diam. Gas–gas yang biasa digunakan adalah gas helium, argon, nitrogen dan hidrogen. Gas-gas tersebut pada

suhu dan tekanan yang normal tidak reaktif dan tidak berbahaya kecuali gas hidrogen yang mudah terbakar (Sastrohamidjojo, 1997 :65), Karena gas disimpan dalam silinder baja bertekanan tinggi maka gas tersebut akan mengalir dengan sendirinya secara cepat sambil membawa komponen-komponen campuran yang akan atau yang sudah dipisahkan (Hendayana, 2006 : 33).

2.6.3.2.2. Tempat Pemasukan Sampel (Injektor)

Sampel yang ideal dalam kromatografi gas adalah sampel yang hanya mengandung senyawa yang akan dipisahkan dalam kolom, sampel harus diberikan dalam waktu yang singkat dengan volume yang sekecil mungkin. Injektor harus dipanaskan lebih dahulu agar sampel yang berupa cairan dapat segera menguap dan dalam banyak hal juga pelarut yang mudah menguap yang melarutkan sampel tersebut. Walaupun cairan yang mudah menguap (tidak dalam larutan) serta zat padat yang mudah menguap dapat langsung disuntikkan, tetapi kebanyakan sampel dilarutkan terlebih dahulu dalam pelarut organik baru kemudian disuntikkan. Konsentrasi sampel biasanya berkisar antara 1-10%. Komponen yang tidak mudah menguap atau tingkat menguapnya rendah tidak boleh ada dalam sampel, karena komponen ini akan tertinggal di ruang suntik yang pada akhirnya akan mengurangi kinerja kolom (Gandjar, 2013 : 371).

2.6.3.2.3. Kolom

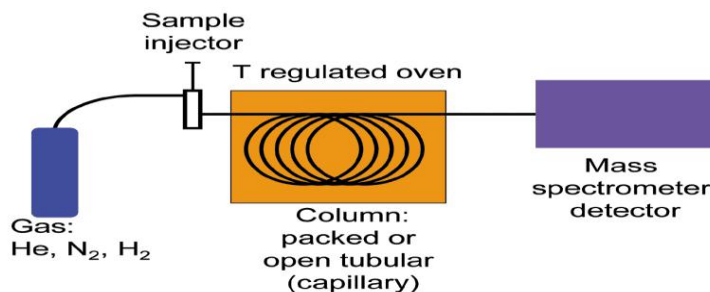
Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan campuran analit. Di dalam kolom inilah sampel yang dianalisis yang umumnya terdiri dari beberapa

komponen dapat dipisahkan sehingga dapat terelusi pada waktu yang berbeda (Gandjar,2013 : 376-377).

Bergantung keperluan, beberapa kolom dapat dipilih untuk keperluan preparatif digunakan kolom pak (*packed column*) sedangkan untuk keperluan analisis digunakan kolom terbuka (*open tubular column*). Oleh karena rancangannya, kolom terbuka dapat dibuat sepanjang mungkin sampai 100 m sedangkan kolom pak paling panjang 5 m. Didalam kolom terdapat zat padat pendukung berupa partikel halus yang dilapisi zat cair yang berperan sebagai fasa diam (Hendayana, 2006 : 50).

2.6.3.2.4. Detektor Spektroskopi Massa

Detektor jenis ini merupakan jenis detektor paling terkenal dan mutakhir dalam kromatografi gas. Spektrometer massa disambungkan dengan keluaran kromatografi gas. Ketika gas solut memasuki spektrometer massa maka molekul senyawa organik ditembak dengan elektron berenergi tinggi sehingga molekul tersebut pecah menjadi molekul-molekul yang lebih kecil. Pecahan molekul terdeteksi berdasarkan massanya yang digambarkan sebagai spektra massa. Setiap komponen campuran yang telah terpisahkan dengan kromatografi gas akan tergambar dalam suatu spektra massa. Contoh, kalau cuplikan terdiri dari 3 komponen maka akan dihasilkan tiga spektra massa. Kombinasi kromatografi gas dan spektroskopi massa ini dikenal dengan sebutan GC-MS (Hendayana, 2006 : 49-50).



Gambar 2.25 Skema Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa

(sumber: <http://www.google.co.id/GC-MS.jpg>)

2.7. Penelitian Relavan

Hasil penelitian yang relavan dengan penelitian ini antara lain :

1. Puspitasari, 2018 menunjukan adanya kandungan flvonoid,saponin tannin, alkaloid, steroid dan minyak atsiri
2. Kumala, 2017 menunjukan adanya kandungan fenol, flavonoid dan alkaloid

2.8. Kerangka Konseptual

Metode identifikasi diperlukan untuk mengetahui jenis senyawa yang ada dalam simplisia. Identifikasi suatu kandungan senyawa dalam tumbuhan dilakukan setelah didapatkan hasil ekstrak melalui proses ekstraksi. Identifikasi lengkap dalam golongan senyawa bergantung pada pengukuran sifat fisikokimia, kelompok senyawa fitokimia dan komponen senyawa kimia yang kemudian di bandingkan dengan data dalam pustaka (Malo, 2015:1).

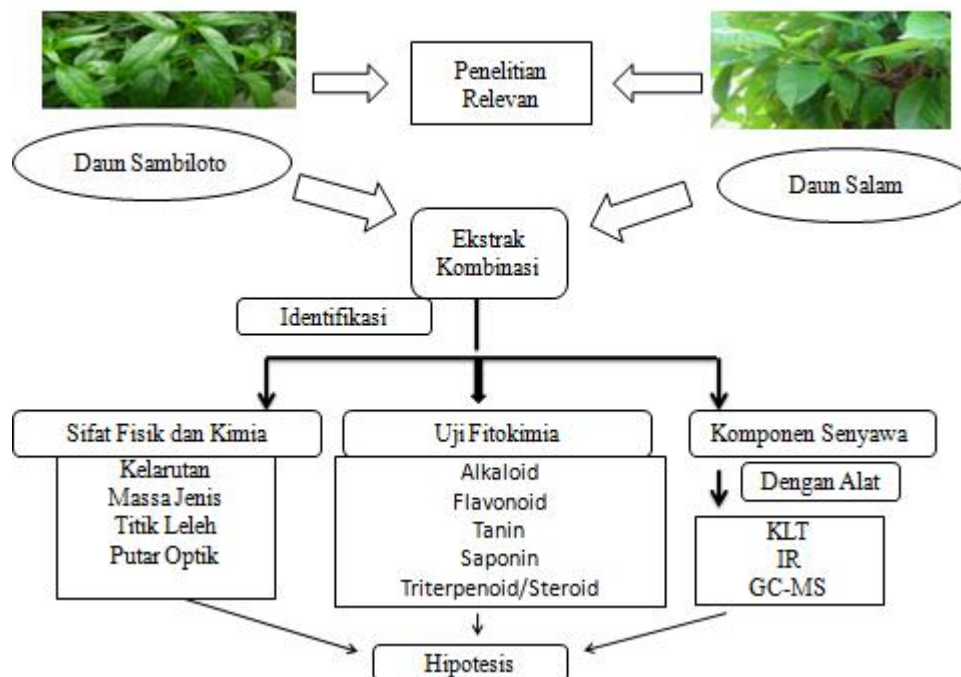
Berbagai jenis tumbuhan yang ada disekitar kita dapat digunakan sebagai obatt tradisional. Definisi obat tradisional adalah obat yang berasal dari bahan tumbuhan, hewan, mineral, atau sediaan genetiknya atau campuran dari bahan-bahan

tersebut yang mempunyai data klinis yang dipergunakan sebagai usaha pengobatan sebagai suatu pengalaman. Sampai sekarang masyarakat lebih gemar menggunakan obat tradisional ini, mengingat obat tradisional mempunyai efek samping yang jauh lebih kecil daripada obat-obatan sintetik. Ada berbagai macam tanaman obat yang ada di sekitar kita, beberapa jenisnya memiliki efek positif terhadap penanganan berbagai penyakit seperti daun salam dan sambiloto

Daun salam dan sambiloto merupakan tanaman multiguna yang bermanfaat bagi manusia, mengandung kelompok senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai senyawa aktif seperti flavonoid, minyak atsiri, diterpen, flavonoid, stigmasterol, alkana, keton, aldehyd dan mineral (Kalsium, Natrium, dan Kalium) komponen utamanya adalah andrografolid.

Kandungan kimia yang terdapat pada tumbuhan dapat dianalisis dengan menggunakan uji fitokimia, kromatografi lapis tipis, spektroskopi infra merah, kromatografi gas-spektroskopi massa dan sebagainya. Kromatografi lapis tipis, spektroskopi infra merah dan kromatografi gas-spektroskopi massa merupakan alat yang menggunakan metode kromatografi dalam menganalisis kandungan kimia. Kromatografi lapis tipis merupakan jenis kromatografi yang paling sederhana dan mudah digunakan yang memberikan hasil yang cukup memuaskan, spektroskopi infra merah merupakan teknik analisis yang sangat populer untuk analisis berbagai jenis sampel, baik sampel produk farmasetik, makanan, cairan biologis, maupun sampel lingkungan dan kromatografi gas-spektrometer massa dengan tehnik, eluen yang keluar dari kolom GC selanjutnya akan masuk ke MS untuk menghasilkan profil

spektrum massa untuk tiap komponen. Teknik ini memberikan keuntungan diperolehnya berat molekul komponen yang keluar. Dan juga perlu dilakukan uji fisiko-kimia, seperti massa jenis, uji kelarutan, penetapan titik didih, penetapan putaran optik.



Gambar 2.26 Kerangka Konseptual Penelitian

2.9. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kajian pustaka dan kerangka konseptual, hipotesis penelitian ini sebagai berikut:

1. Ekstrak kombinasi daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki sifat fisiko kimia antara lain kelarutan, titik leleh, massa jenis, dan putaran optik yang tertentu.

2. Ekstrak kombinasi daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki kandungan kelompok senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid
3. Ekstrak kombinasi daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki komponen senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid