

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI
EKSTRAK METANOL FRAKSI N-
HEKSANA DAUN JAMBU SEMARANG
(*SyzygiumSamarangense (BL.) Merr
et. Perry*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Guna Memperoleh Gelar Sarjana S1
Dalam Ilmu Kimia



Oleh:

HILMY AGUNG NUGROHO

NIM : 1508036026

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2022**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Hilmy Agung Nugroho

NIM : 1508036026

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

Identifikasi dan Karakterisasi Ekstrak Metanol

Fraksi N-Heksana Daun Jambu Air Semarang

(*Syzygium Samarangense* (bl.) Merr et. Perry)

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 21 Maret 2022

Pembuat Pernyataan,



Hilmy Agung Nugroho

NIM 1508036026



PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Identifikasi dan Karakterisasi Ekstrak Metanol
Fraksi n-Heksana Daun Jambu Semarang
(*Syzygium Samarangense* (BL.) Merr et. Perry)
Penulis : Hilmy Agung Nugroho
NIM : 1508036026
Program Studi : Kimia

Telah diujikan dalam sidang *munaqasah* oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains dalam bidang Ilmu Kimia.

Semarang, Juni 2022

DEWAN PENGUJI

Ketua/Penguji I,

Ratih Rizqi Nirwana, M.Pd.
NIP 198104142005012003

Sekretaris/Penguji II,

Zidni Azizati, M.Sc.
NIP 199011172018012001

Penguji III,

Mulyatun, M.Si.
NIP 198305042011012008



Penguji IV,

Rais Nur Latifah, M.Si.
NIP 199203042019032019

Pembimbing I,

Ratih Rizqi Nirwana, M.Pd.
NIP 198104142005012003

Pembimbing II,

Ana Mardiyah, M.Si.
NIP 198905252019032019

NOTA DINAS

Semarang, Maret 2022

Yth.

Ketua Program Studi Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Identifikasi dan Karakterisasi Ekstrak Metanol Fraksi N-Heksana Daun Jambu Air Semarang (*Syzygium Samarangense* (bl.) Merr et. Perry)**

Nama : Hilmy Agung Nugroho

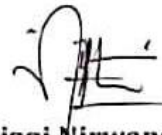
NIM : 1508036026

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqasyah.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing I,



Ratih Rizqi Nirwana, M.Pd.

NIP. 198104142005012003

NOTA DINAS

Semarang, Maret 2022

Yth.
Ketua Program Studi Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Identifikasi dan Karakterisasi Ekstrak Metanol Fraksi N-Heksana Daun Jambu Air Semarang (*Syzygium Samarangense (bl.) Merr et. Perry*)**

Nama : Hilmy Agung Nugroho

NIM : 1508036026

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqasyah.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing II,



Ana Mardiyah, M.Si.

NIP. 198905252019032019

ABSTRAK

Judul : Identifikasi dan Karakterisasi Ekstrak
Metanol Fraksi N-Heksana Daun Jambu Air
Semarang (*Syzygium Samarangense* (bl.)
Merr et. Perry)

Nama : Hilmy Agung Nugroho

NIM : 1508036026

Syzygium samarangense (bl.) Merr et. Perry memiliki bioaktivitas yang kuat seperti sitotoksisitas, antidiabetes, antioksidan serta anti mikroba. Golongan senyawa steroid banyak dimanfaatkan di bidang medis. γ -sitosterol berpotensi sebagai antidiabetes, antioksidan dan antikanker. Penelitian dilakukan untuk memperoleh senyawa steroid dari fraksi n-heksana daun jambu Semarang. Alur penelitian dilakukan dengan maserasi berbantu gelombang ultrasonik, ekstrak metanol difraksinasi dengan n-heksana dan kemudian difraksinasi dengan kromatografi vakum cair (KVC) dan dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Noda tunggal yang dihasilkan selanjutnya dianalisis dengan GC-MS. Senyawa steroid yang berhasil diidentifikasi dengan analisis GC-MS adalah γ -sitosterol.

Kata kunci: *Syzygium samarangense*, γ – sitosterol

KATA PENGANTAR

Puji syukur *alhamdulillah* kehadirat Allah SWT atas segala nikmat, rahmat, hidayah serta inayahNya, sehingga skripsi yang berjudul Identifikasi dan Karakterisasi Ekstrak Metanol Fraksi N-Heksana Daun Jambu Air Semarang (*Syzygium Samarangense* (bl.) Merr et. Perry) dapat diselesaikan dengan lancar.

Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada beliau Nabi Muhammad SAW, yang membawa umatnya dari zaman kebodohan menuju zaman yang penuh akan ilmu. Semoga kelak mendapatkan syafaat di hari kebangkitan nanti.

Penelitian ini tidak mungkin selesai tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, beribu terima kasih diucapkan kepada:

1. Dr. H. Ismail, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.
2. Hj Malikhatul Hidayah, S.T., M.Pd., selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN walisongo Semarang.
3. Mulyatun, M.Si., selaku Sekretaris Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

4. Ratih Rizqi Nirwana, M.Pd., dan Ana Mardiyah, M.Si., selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan bimbingan, arahan, dan saran selama penyusunan skripsi ini.
5. Seluruh dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan motivasi selama menempuh pendidikan.
6. Anita Karunia Z., S.Si., Ahmad Mughis, S.Pd., yang memberikan arahan selama di laboratorium.
7. Bapak dan Ibu tercinta, H. Asep Jauharudin S.H., dan Hj. Amaliyah S.Pd., Terima kasih atas segala kasih sayang, kesabaran, perjuangan, bekal ilmu yang ditanamkan sejak kecil, serta doanya sehingga dapat melanjutkan pendidikan hingga perguruan tinggi.
8. Keluargaku yang selalu mendukung dan mendoakan dalam meraih kesuksesan.
9. Istriku Tercinta Devi Nuraini. Terima kasih atas segala perhatian, kasih sayang, semangat dan doanya
10. Sahabatku Ashari Fathul Amry dan A. Syarifudin serta teman-teman Kontrakan yang telah memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi.

11. Keluarga besar Kimia terkhusus kelas Kimia 2015.
Terima kasih atas pengalaman, kasih sayang dan rasa kekeluargaan selama menempuh perkuliahan.
12. Teman-teman PKL PT. Armio, KKN Posko 42 Sidorejo, UKM Saintek Sport. Terima kasih telah berjuang bersama.
13. Terima kasih juga kepada semua pihak yang terlibat dalam proses penyusunan skripsi yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penelitian ini tidak terlepas dari kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari semua pihak sangat diharapkan dalam kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada peneliti dan semua pihak yang membaca. Terima kasih

Semarang, Maret 2022

Peneliti,



Hilmy Agung Nugroho

NIM 1508036026

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN.....	ii
PENGESAHAN.....	iii
NOTA PEMBIMBING.....	iv
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II. LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA	
A. Landasan Teori	7
1. Daun Jambu Semarang.....	7
2. Manfaat Daun Jambu Semarang	9
3. Senyawa Metabolit Sekunder	10
4. Alkaloid	10
5. Terpenoid	11
6. Steroid	13
7. Fenol.....	18

8. Preparasi Sampel	19
9. Pemilihan Pelarut.....	21
10. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder	23
11. GC-MS.....	31
B. Kajian Pustaka.....	32
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Alat dan Bahan	36
B. Metode Penelitian.....	36
BAB IV. DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA	
A. Deskripsi Data	48
1. Penyiapan Simplisia	48
2. Maserasi	48
3. Penapisan Fitokimia.....	48
4. Hidrolisis dan Partisi	50
5. Penentuan Eluen Terbaik.....	51
6. Kromatografi Vakum Cair	51
7. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif.....	51
8. Instrumentasi dengan GC-MS.....	51
B. Analisis Data.....	52
BAB V. PENUTUP	
A. Kesimpulan.....	77
B. Saran	77

DAFTAR PUSTAKA
RIWAYAT HIDUP
LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Jambu Semarang.....	8
Gambar 2.2 Struktur Terpenoid.....	13
Gambar 2.3 Struktur Testeron.....	15
Gambar 2.4 Struktur Progesteron.....	17
Gambar 2.5 Struktur Esgosteron	17
Gambar 2.6 Struktur Flavonoid.....	19
Gambar 2.7 GC-MS.....	32
Gambar 3.1. Sonikator	38
Gambar 4.1 Reaksi Hidrolisis Saponin dengan air.....	57
Gambar 4.2. Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Uji Hager....	58
Gambar 4.3. Reaksi Senyawa Steroid dengan Pereaksi <i>LB</i> .	59
Gambar 4.4 Reaksi Uji Senyawa Glikosida.....	59
Gambar 4.5 Dugaan Reaksi Pemutusan Ikatan Glikosida	61
Gambar 4.6 Penentuan Pelarut Terbaik	64
Gambar 4.7 Hasil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif.....	68
Gambar 4.8 Kromatogram GC-MS	70
Gambar 4.9 Spektrogram Massa Waktu Retensi 19.605.....	71
Gambar 4.10 truktur kimia γ -sitosterol.....	72
Gambar 4.11. Struktur senyawa <i>2-pentadecanone, 6, 10,14-</i> <i>trimethyl</i>	73
Gambar 4.12. Struktur senyawa <i>Cyclohexadecane, 1,2-diethyl</i>	73

Gambar 4.13. Rumus senyawa <i>2-hexadecene-1-ol-3,7,11,15-</i> <i>tetramethyl</i>	74
Gambar 4.14. Struktur senyawa <i>13-Docosenoic acid</i>	75
Gambar 4.15. struktur senyawa lupeol.....	75

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia adalah negara tropis yang mempunyai beranekaragam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan, baik sebagai bahan pangan ataupun sebagai media pengobatan (Thomas, 1993). *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa pemanfaatan ketersediaan hayati sangat besar yaitu mencapai 80%, khususnya pada negara yang masih memanfaatkan tumbuhan sebagai bahan obat (Khasanah, 2016). Balai besar penelitian dan pengembangan tanaman dan obat tradisional-badan litbang-Kementrian Kesehatan RI pada tahun 2012 melakukan riset tentang tumbuhan obat dan jamu yang menunjukkan bahwa famili *myrtaceae* (jambu-jambuan) berpotensi sebagai tanaman obat (Kumoro, 2015).

Genus *Syzygium* (*myrtaceae*) terdiri sekitar 500 spesies, diantaranya tersebar di daerah tropis dan subtropis. Sebagian besar genus *Syzygium* telah digunakan sebagai tanaman obat di Asia Tenggara (Li *et al.*, 2015). *Syzygium samarangense* (BL.) Merr. Et Perry, merupakan tanaman yang tumbuh di Asia Tenggara

seperti Malaysia, Thailand, Indonesia dan Taiwan (Khandaker *et al.*, 2015). Tanaman ini merupakan tanaman hasil introduksi yang telah dilepas menjadi varietas pada tahun 2012 (Tarigan *et al.*, 2015), yang telah digunakan dibidang kesehatan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti diabetes, batuk, disentri, inflamasi, kurap dan demam (Samy *et al.*, 2014). Ekstrak dan konstituen tanaman ini menunjukkan bioaktivitas yang kuat seperti sitoksisitas, antidiabetes (Zeng *et al.*, 2018), antioksidan (Majumder *et al.*, 2017), antimikroba (Ragasa, 2014).

Perawatan yang dilakukan untuk tumbuhan jambu Semarang yaitu dengan memangkas bagian daun yang terlalu lebat sehingga buah yang didapatkan maksimal. Daun hasil pemangkasan tersebut selama ini hanya dibuang begitu saja, padahal daun jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (BL.) Merr. Et Perry) memiliki kandungan fitokimia seperti flavonoid, tannin, chalcone (Fatkhy, 2016), terpenoid dan steroid (Raga *et al.*, 2011). Steroid adalah salah satu senyawa yang pengaruh dibidang kesehatan, lebih dari 150 jenis golongan steroid telah terdaftar sebagai obat (National nutrition food association, 2001). Senyawa stigmasterol dapat

mengurangi kolesterol darah, mengurangi penyerapan kolesterol usus sehingga bisa menghambat perkembangan kanker usus besar dan menekan kolesterol hati (Jones et al., 2000). Steroid dalam bentuk garam empedu (garam *deoxycholic* dan asam kolat) dapat memudahkan proses pencernaan. Steroid sintetik seperti *glucocorticosteroids*, *estrogens*, *corticosteroids*, *squalamine* dan *hydrocortisone* digunakan untuk berbagai penyakit seperti radang sendi, reaksi alergi serta defisiensi hormon (Samejo, 2013).

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Pemilihan metode maserasi didasarkan pada metode dan peralatan yang digunakan sederhana, tidak ada proses pemanasan dalam metode ini sehingga bahan alam tidak terurai dan memungkinkan banyak senyawa yang terekstrak (Nurhasnawati, Handayani, & Samarinda, 2017). Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam, ketika perendaman sampel, maka terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan yang ada didalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik. (Veronita, Wijayati, & Mursiti, 2017). Namun demikian metode maserasi mempunyai beberapa kelemahan, seperti waktu yang

digunakan untuk mengekstrak lumayan lama dan memerlukan pelarut yang relatif banyak, sehingga diperlukan metode yang lebih efisien, diantaranya maserasi dengan bantuan ultrasonik (Djaeni, *et al.*, 2016). Proses metode maserasi dengan bantuan ultrasonik merupakan solusi cerdas dalam penerapan prinsip *green chemistry* yaitu dengan meminimalisir penggunaan pelarut dalam mengekstrak senyawa fitokimia pada tanaman daun jambu Semarang.

Allah SWT befirman dalam Q.S. Ali Imran ayat 191 yang menjabarkan bahwa segala sesuatu yang ada di bumi memberikan tujuan dan manfaat.

كَذَّابٍ أَلٍ فِرْعَوْنُ وَالَّذِينَ مِنْ قَبْلِهِمْ كَذَّبُوا بِآيَاتِنَا
فَأَخَذَهُمُ اللَّهُ بِذُنُوبِهِمْ وَاللَّهُ شَدِيدُ الْعِقَابِ

Artinya:

"orang-orang yang mengingat Allah dengan berdiri atau duduk ataupun dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang diciptakannya langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (Q.S. Ali Imran : 191) "

Penelitian yang dilakukan merupakan aplikasi dari Q.S. Ali Imran:191, yaitu identifikasi dan karakterisasi senyawa steroid dari fraksi n-heksana daun jambu Semarang yang berbasis pada kearifan lokal. Studi mendalam tentang senyawa steroid diharapkan mampu memberikan pengembangan sumber daya alam dan peluang di bidang kesehatan serta dapat memberikan kemanfaatan dalam perkembangan kimia bahan alam terkait tanaman yang mengandung senyawa steroid.

B. Perumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian yang dilakukan adalah bagaimana identifikasi dan karakterisasi senyawa steroid fraksi n-heksana daun jambu Semarang (*Syzygium Samarangense*)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui identifikasi dan karakterisasi senyawa steroid fraksi n-Heksana daun jambu Semarang (*Syzygium Samarangense*).

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian yang dilakukan adalah:

- a. Menambah wawasan tentang ilmu kimia hasil alam yang berkaitan identifikasi dan karakterisasi senyawa steroid daun jambu Semarang (*Syzygium samarangense*)
- b. Memberikan informasi terkait cara identifikasi senyawa steroid yang terkandung dalam daun jambu Semarang (*Syzygium samarangense*).
- c. Menambah khasanah ilmu pengetahuan

BAB II

LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Daun Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (BL.) Merr. et Perry)

Nama *Syzygium samarangense* memiliki beberapa sinonim, yaitu: *Syzygium samarangense* (BL.) Merr. et Perry & L.M Perry, *Eugenia javanica* Lam., *Eugenia javanica* varietas *parviflora*, *Eugenia javanica* varietas *roxburghina*, *Eugenia samarangensis* (Blume) O. Berg, *Jambosa Javanica* (Lam) K. Schum. & Lauterb., *Jambosa samarangensis* (Blume) DC., *Myrtus samarangensis* Blume, dan *Syzygium samarangense* varietas *parviflorum* (Alamendah, 2014).

Tinggi pohon jambu Semarang antara 5-15 meter dengan ranting melebar tidak beraturan. Batang pendek dan bengkok-bengkok dengan diameter 25-50 cm. Daun menyirip, tunggal, berhadapan, dengan ukuran panjang 10-25 cm dan lebar 5-12 cm, berbintik tembus cahaya, serta berbau khas apabila diremas. Daun memiliki tangkai sepanjang 3-5 cm. Karangan bunga muncul di ujung ranting atau diketiak daun yang telah gugur. Bunga

bergerombol dalam karangan bunga yang berisikan 3-30 kuntum. Diameter kuntum bunga sekitar 3-4 cm, berbentuk bundar dan sedikit mengerucut dan berwarna kuning keputihan. Terdapat banyak benang sari yang mudah berguguran. Gambar pohon jambu Semarang bisa dilihat dalam gambar 2.1.



Gambar 2.1 Pohon jambu Semarang
Sumber : dokumen pribadi

Buah jambu Semarang berbentuk bulat tetapi melebar dengan lekuk atau alur-alur dangkal membujur di sisinya. Bermahkotakan kelopak berdaging dengan cuping melekuk kedalam, berukuran antara 3,5-5,5 cm x 4,5-5,5 cm. Bagian luar buah mengkilap. Warna kulit buah bervariasi dari merah tua, merah, kehijauan, sampai putih, sesuai

dengan kultivarnya. Daging buah seperti spon berwarna putih, mengandung banyak air, aromatik, dan berasa manis. Biji berjumlah 0-2 butir, berbentuk bulat, berdiameter 8 mm (Alamendah, 2014).

Klasifikasi jambu biji Semarang adalah sebagai berikut:

Domain	: Eukariotik
Kingdom	: Plantae
Filum	: Spermatophyta
Subfilum	: Angiospermae
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Famili	: <i>Myrtaceae</i>
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>Syzygium samarangense</i>

(Tabassum, 2013)

2. Manfaat Daun Jambu Semarang

Daun jambu Semarang (*Syzygium samarangense*) memiliki efek sensitivitas insulin, meningkatkan proliferasi sel β -pankreas, bekerja sebagai inhibitor enzim α -glucosidase serta sebagai antioksidan terhadap kerusakan pankreas akibat radikal bebas (Fatkhya, 2016).

3. Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder ialah senyawa yang disintesis oleh makhluk, tumbuhan, mikroba, atau hewan melewati proses biosintesis yang dijadikan untuk kegunaan kehidupan namun tidak vital (yang tidak berdampak kematian ketika tidak ada senyawa tersebut) sebagaimana glukosa, asam amino, dan asam lemak. Senyawa metabolit sekunder memiliki aktivitas farmakologi dan biologi (Saifudin, 2013). Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa non nutrisi (bukan merupakan sumber makanan). Secara umum, metabolit sekunder digolongkan dalam tiga jenis kelompok besar, yaitu: alkaloid, terpenoid dan fenol (Sastrahidayat, 2014).

4. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat alkali dan mengandung atom nitrogen. Sebagian besar alkaloid terbentuk dari asam amino seperti lisin, tirosin, triptofan, histidin dan ornitin (Sastrahidayat, 2014). Beberapa alkaloid memiliki jalur biosintesis yang berasal dari prekursor yang tidak mengandung gugus N. Gugus N yang berasal dari asam amino akan digabungkan pada tahap akhir melalui proses aminasi

atau transaminasi. Kerangka karbonnya dapat berasal dari metabolit lain seperti poliketida (asam asetat), asam amino lain seperti fenil alanin, terpenoid dan steroid (Raharjo, 2013).

Alkaloid sering dimanfaatkan sebagai sumber obat dalam bidang farmakologis. Sifat fisiko-kimia yang bersifat semipolar dan mampu berinteraksi dengan membran sel serta dengan kontribusi atom N di dalam struktur memberikan efektifitas interaksi kimiawi dengan reseptor. Secara farmakologis, alkaloid yang bersifat lemah bermanfaat sebagai zat rekresional, misalnya kafein dalam teh dan kopi. Alkaloid yang berefek kuat bersifat *blocker* atau *stimulant* berbagai reseptor atau protein fungsional. Beberapa senyawa alkaloid yang dimanfaatkan sebagai obat adalah kodein (obat batuk kering, neurotransmitter emosi dan memori), Nikotin (*stimulant*), salbutamol (anti asma sintetis). Beberapa alkaloid bersifat toksik, contohnya adalah alkaloid yang berasal dari katak (Saifudin Aziz, 2014).

5. Terpenoid

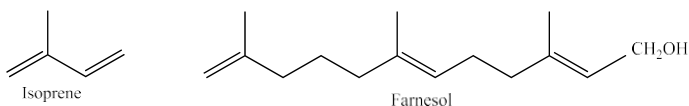
Terpenoid merupakan kelompok derivat dari asam mevalonat. Struktur terpenoid merupakan satu

unit isopren (C_5H_8) atau gabungan lebih dari satu unit isopren (Sastrahidayat, 2014). Beberapa terpenoid dilaporkan mempunyai aktivitas biologis antara lain senyawa diterpena ginkgolida sebagai inhibitor PAF (*platelet activating factor*), giberelin sebagai hormon pertumbuhan tanaman, plasitaksel berperan sebagai antikanker.

Triterpena merupakan kelompok terpenoid yang terdiri atas kelompok triterpena dan steroid. Triterpena dibentuk melalui penggabungan ekor-ekor farnesil difosfat (FDP) yang menghasilkan squalena. Siklisasi squalena menghasilkan terpenoid pentasiklik dan tetrasiklik. Modifikasi struktur tetrasiklik diantaranya membentuk steroid. Kelompok steroid ini meliputi hormon, vitamin, saponin, dan glikosida.

Triterpenoid pentasiklik seringkali ditemukan dalam bentuk saponin. Saponin merupakan glikosida yang mempunyai sifat fisik seperti surfaktan sehingga mampu membentuk busa sekalipun dalam konsentrasi yang rendah. Senyawa saponin juga dapat menyebabkan haemolisis (lisis sel darah merah) dengan meningkatkan permeabilitas membran plasma. Hal ini yang menjadikan senyawa ini sangat

toksik (Raharjo, 2013). Beberapa senyawa terpenoid dapat ditunjukkan pada gambar 2.2



Gambar 2.2. terpenoid asiklik
Sumber: Heras et al. 2003

6. Steroid

Steroid merupakan *massanger* kimia atau juga dikenal sebagai hormon. Steroid disintesis dalam kelenjar dan dihantarkan oleh aliran darah ke jaringan target untuk merangsang atau menghambat suatu proses.

a. Struktur steroid

Struktural steroid merupakan suatu lipid yang dicirikan dengan suatu kerangka karbon dengan 4 cincin yang melebur jadi satu. Semua steroid berasal dari jalur biosistesis asetil CoA. Steroid mempunyai struktur cincin yang bersifat basa, tiga cincin sikloheksana yang bergabung bersama-sama dengan bagian fenantren, yang dihubungkan melalui suatu

sistem cincin siklopentana, yang dikenal sebagai siklopentafenantren.

Semua steroid paling sedikit mempunyai 17 karbon. Beberapa steroid memiliki hidoksil alkaloid yang terikat pada sistem cincin dan dikenal dengan sterol. Sterol yang paling umum adalah kolesterol (Sarker dan Nahar, 2009).

b. Fungsi steroid

Fungsi steroid yang paling vital adalah sebagai hormon. Hormon adrenokortikoid berperan dalam mengatur sejumlah proses metabolisme. Hormon ini dihasilkan dalam kelenjar adrenal. Hormon mineralokortikoid yang penting adalah aldosteron. Hormon ini berperan dalam penyerapan kembali (reabsorpsi) ion natrium dan klorida dalam ginjal. Aldosteron disekresikan jika level ion natrium darah terlalu rendah sehingga menyebabkan ginjal menahan ion-ion natrium. Jika level natrium meningkat, maka aldosteron tidak disekresikan dengan demikian natrium akan dibuang dalam urin dan air. Aldosteron juga mengontrol pembengkakan jaringan. Kortisol atau hidrokortison berfungsi

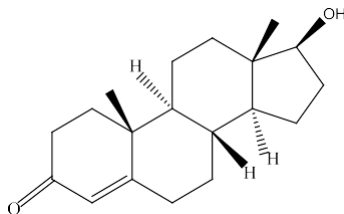
meningkatkan konsentrasi glukosa dan glikogen dalam tubuh (Sarker dan Nahar, 2009).

c. Jenis-jenis steroid

Berdasarkan pada fungsi fisiologisnya, steroid dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1) Steroid anabolik atau steroid androgenik anabolik

Steroid ini merupakan kelompok steroid alami atau sintetis yang berinteraksi dengan reseptor androgen untuk mendorong pertumbuhan dan pembelahan sel yang menghasilkan pertumbuhan berbagai macam jaringan, terutama jaringan otot dan tulang. Beberapa contoh steroid alami dan sintetis adalah testosteron, nandrolon, dan metandrostebolon. Molekul testosteron dapat dilihat pada gambar 2.3



Testosteron

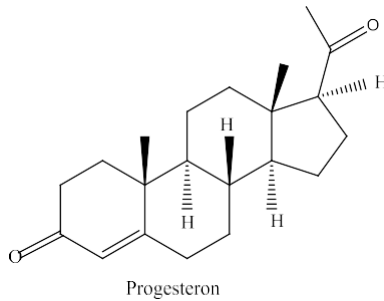
Gambar 2.3. Molekul testosteron
Sumber : Sumbono, 2015

2) Kortikosteroid (glukokortikoid dan mineralokortikoid)

Glukokortikoid merupakan sekelompok hormon steroid yang dicirikan dengan kemampuannya berikatan dengan reseptor kortisol dan merangsang efek yang serupa. Glukokortikoid mengatur beberapa aspek fungsi metabolisme dan fungsi imun serta sering digunakan untuk pengobatan kondisi-kondisi inflamasi seperti asma dan artritis. Contohnya adalah kortisol

3) Steroid seks atau steroid gonad

Steroid ini merupakan sub-bagian dari hormon seks (kelamin) yang berinteraksi dengan androgen vertebrata atau reseptor estrogen untuk menghasilkan perbedaan-perbedaan kelamin (karakter-karakter kelamin primer dan sekunder) dan mendukung reproduksi. Steroid ini mencakup androgen, estrogen, dan progestagen. Contohnya adalah testosteron, estradiol, dan progesteron. Molekul progesteron dapat dilihat pada gambar 2.4



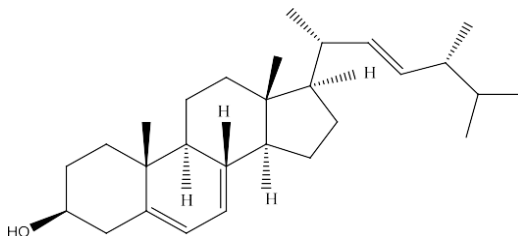
Gambar 2.4 Molekul progesteron
Sumber : Sumbono, 2015

4) Fitosterol atau sterol tanaman

Steroid ini merupakan steroid alkohol yang terjadi secara alami dalam tanaman. Contohnya adalah β -sitosterol.

5) Ergosterol

Ergosterol merupakan steroid yang terdapat pada fungi, dan mencakup beberapa vitamin D (Sarker dan Nahar, 2009). Molekul ergosterol dapat dilihat pada gambar 2.5



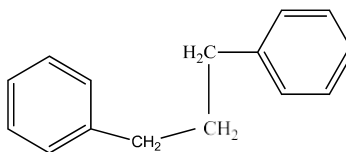
Gambar 2.5. Molekul Esgosterol
Sumber : Sumbono, 2015

7. Fenol

Fenol adalah senyawa yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH-) dan senyawa penyusun lainnya. Kelompok senyawa fenolik yang terbesar merupakan senyawa flavonoid (Sastrahidayat, 2014). Flavonoid memiliki rumus dasar C₆-C₃-C₆. Kerangka dasar tersebut dapat membentuk tiga kategori dasar struktur, yaitu flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid. Berdasar kerangka karbon strukturnya, flavonoid dibedakan menjadi enam sub kelompok utama, yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanol, isoflavon, dan antosianidin. Dalam cincin aromatis terdapat gugus hidroksi. Salah satu fungsi gugus hidroksi dalam flavonoid adalah membentuk ikatan dengan gula menghasilkan flavonoid glikosida.

Beberapa aktivitas flavonoid yang telah dilaporkan adalah sebagai antioksidan, anti inflamasi, antihepatotoksik, antitumor, antimikrobial, antiviral. Salah satu aktivitas flavonoid yang penting adalah peranannya sebagai antioksidan. Flavonoid berperan dalam menghambat oksidasi LDL (*low density lipoprotein*). Flavonoid memiliki struktur intiflavan

yang berfungsi sebagai *radical scavenger* (Raharjo, 2013). Gambar 2.6 menunjukkan struktur flavonoid.



Gambar 2.6. Struktur Flavonoid
Sumber : Pratiwi, 2016

8. Preparasi Sampel

Preparasi sampel dimulai dari tahap pengumpulan sampel. Daun dipanen pada cuaca kering (tidak hujan/mendung) dan dilakukan pada pagi atau sore hari. Pemanenan daun yang dilakukan pada saat cuaca hujan akan mengakibatkan kualitas simplisia daun berkurang atau bahkan rusak. Cara pemanenan untuk bagian tanaman yang mengandung senyawa fenolat umumnya tidak boleh menggunakan alat yang terbuat dari besi.

Sampel dibersihkan dari pengotor-pengotor (benda asing) yang melekat, karena dapat mengganggu proses ekstraksi dan dapat menyebabkan kontaminasi senyawa yang diperoleh. Pemisahan benda asing dapat dilakukan dengan cara manual, penumatik, magnetik maupun secara mekanik. Pemisahan secara penumatik dilakukan

dengan menghembuskan udara dari sebuah blower dalam ruang fluidisasi untuk memisahkan benda-benda asing yang ringan atau yang berat. Benda-benda asing yang bersifat feromagnetik dapat dipisahkan dengan peralatan bermagnet. Sedangkan benda asing yang berukuran kecil dapat dipisahkan dengan alat penyaring berputar.

Pencucian tanaman dilakukan untuk mengurangi jumlah mikroba yang terdapat pada sampel. Pencucian tanaman sebaiknya dilakukan dengan air yang mengalir dan dengan penggosokan yang hati-hati secara berulang kali. Pengeringan dilakukan untuk menurunkan kadar air pada sampel. Pengeringan umumnya dilakukan dengan pemaparan bagian tanaman dengan udara dingin atau panas. Pengeringan pada daun dilakukan hingga berat daun mencapai $1/10$ dari berat sampel basah. Senyawa bahan aktif yang berwarna pada umumnya rentan terhadap sinar matahari secara langsung sehingga pengeringan dikerjakan dengan udara kering pada suhu kamar (25°C - 30°C).

Pada umumnya proses ekstraksi dikendalikan oleh difusi pelarut melalui permukaan partikel, untuk memudahkan proses ekstraksi perlu dilakukan

pemotongan, pengirisan atau penggilingan sampel. Pengubahan partikel menjadi partikel yang lebih kecil bertujuan untuk membuka tempat penyimpanan bahan aktif dalam matriks bagian tanaman.

Penyimpanan simplisia dilakukan untuk menghindarkan dari faktor-faktor yang dapat menurunkan kualitas simplisia seperti cahaya matahari, udara, dehidrasi, absorpsi air, pengotor, serangga dan jamur/kapang. Simplisia disimpan dalam wadah tertutup yang kedap udara dan kedap air. Suhu yang baik untuk simplisia yaitu pada suhu kamar. Penyimpanan sebaiknya tidak dilakukan dalam jangka panjang, karena senyawa dapat mengalami degradasi selama waktu penyimpanan. Simplisia daun dan bunga dapat bertahan sampai satu tahun dalam masa penyimpanannya (Kumoro, 2015).

9. Pemilihan Pelarut

Pemilihan pelarut yang sesuai dalam mengekstrak bahan aktif merupakan tahap yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Tahap pemilihan pelarut didasarkan pada beberapa tahap, yaitu penentuan sifat-sifat fisikokimia bahan aktif yang diekstraksi yang meliputi bobot molekul,

koefisien partisi dalam n-oktanol/air, volume molar, titik didih, titik leleh dari simplisia yang akan diekstraksi. Penentuan kondisi ekstraksi. Kondisi diatur dengan rentang suhu yang diperbolehkan untuk melakukan ekstraksi. Pemilihan pelarut didasarkan pada jenis pelarut dengan kelarutan tertinggi dengan bantuan teknik perkiraan kelarutan, serta pelarut yang diperbolehkan penggunaannya untuk mengekstraksi simplisia (Kumoro, 2015). Data penggunaan pelarut di paparkan dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1. Sebagian pelarut yang diperbolehkan untuk mengekstraksi bahan pangan di beberapa negara maju (Kumoro, 2015)

Pelarut	Uni Eropa	AS	Jepang
Propana/Butana	Tdk diatur	Tdk diatur	Tdk dibatasi
Etanol	Tdk diatur	Tdk dibatasi	Tdk dibatasi
Metanol	Tdk diatur	-	Tdk dibatasi
Karbondioksia	Tdk dibatasi	Tdk dibatasi	Tdk dibatasi
Aseton	<50 ppm	30 ppm	Tdk dibatasi
Metanol	Tdk diatur	50 ppm	-
Heksana	1 ppm	25 ppm	1 ppm
Etilen diklorida	Sedang dikaji	30 ppm	-
Metilen klorida	0,1 ppm	30 ppm	-
Trikloro etilena		30 ppm	-
Isopropanol	Sedang dikaji	30 ppm	-
Propilen glikol	Tdk diatur	Tdk diatur	Tdk diatur
Gliserol	Tdk diatur	Tdk diatur	Tdk diatur

10. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

a. Ekstraksi

Metode ekstraksi menggunakan pelarut digolongkan dalam cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin meliputi maserasi, dan perkolasi. Sedangkan ekstraksi cara panas seperti refluks, sokletasi, digesti, infus, dan dekok (Depkes RI, 2000). Ekstraksi dingin memiliki keuntungan pada proses ekstraksi total, yaitu meminimlisir kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang ada dalam sampel. Sebagian besar senyawa dapat terekstrak dengan ekstraksi cara dingin, walaupun ada beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan. Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran bahan alam secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan-bahan alam berdasar kelarutannya (dan polaritasnya) dalam pelarut ekstraksi. Hal ini sangat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi dingin dapat meningkatkan banyaknya senyawa terekstrak, meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut pada suhu kamar (Heinrich *et al.*, 2004).

b. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengestrakan simplisia yang menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan berdasarkan temperatur kamar. Maserasi dilakukan untuk menarik zat-zat terkandung yang tahan pemanasan ataupun yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000). Prinsip dari maserasi adalah melarutkan bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk ketika penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Pengadukan selama maserasi dilakukan untuk menjaga agar seimbanganya konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi disebabkan agar turunnya perpindahan bahan aktif (Voight, 1994). Kerugian proses maserasi adalah pengerjannya relatif lama dan penyaringan kurang sempurna. Secara teknologi, maserasi tergolong metode dengan prinsip pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan. Maserasi kinetik tersebut dilakukan pengulangan penambahan pada pelarut setelah diproses penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

Ultrasonic-assisted extraction (UAE)

merupakan salah satu ekstraksi berbantu sinar ultrasonik. Penggunaan metode maserasi dilakukan untuk mendapatkan ekstrak yang lebih tinggi dengan penggunaan pelarut dan waktu ekstraksi yang lebih rendah (Sholihah, *et. al.*, 2017). Teknik ekstraksi ini dilakukan dengan frekuensi antara 20 kHz - 2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas tanaman dan membangkitkan kavitasi. Gelombang ultrasonik bergerak melalui suatu media dengan mekanisme kompresi dan ekspansi. Langkah ekspansi dengan menarik molekul-molekul pelarut, sedangkan langkah kompresi dengan menekan molekul-molekul pelarut untuk bergerak menjauh. Langkah ekspansi menghasilkan gelembung-gelembung dalam cairan pelarut sehingga menyebabkan penurunan tekanan. Proses ini menghasilkan fenomena yang disebut kavitasi, yang berarti pembentukan, pertumbuhan dan pemecahan gelembung. Pada tempat-tempat yang dekat dengan batas partikel padatan, celah antar gelembung pecah secara asimetrik dan menghasilkan gerakan cairan pelarut yang sangat

cepat. Hal ini yang sangat berperan dalam penetrasi pelarut pada permukaan partikel bagian tanaman yang diekstraksi (Luque-Garcia dan Luque de Castro, 2003).

Mekanisme ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik melibatkan dua fenomena fisik, yaitu: difusi melalui dinding sel bagian tanaman dan pengeluaran isi sel oleh pelarut setelah dinding sel pecah (Mason *et al.*, 2019). Kelebihan yang dimiliki oleh teknik ini masalah waktu ekstraksi yang singkat, energi yang digunakan rendah, serta pelarut yang dibutuhkan tidak terlalu banyak. Energi ultrasonik berperan besar dalam menciptakan pencampuran yang efektif, perpindahan energi yang cepat, menurunkan gradien termal dan suhu ekstraksi (Chemat *etal.*, 2008)

c. Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu proses yang mana analit-analit dalam sampel terdistribusi antara 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam adalah berupa bahan padat atau porus dalam bentuk molekul kecil, atau dalam bentuk cairan yang dilapiskan dinding kolom. Fase gerak

berupa gas atau cairan. Jika gas digunakan sebagai fase gerak maka disebut kromatografi gas. Dalam kromatografi cair dan kromatografi lapis tipis, fase gerak yang digunakan selalu cair (Rohman, 2009).

Keuntungan penggunaan kromatografi adalah bahwa metode kromatografi dapat digunakan untuk menganalisis sampel dalam jumlah kecil (dalam satuan mikro atau semimikro). Selain itu, metode kromatografi bersifat selektif untuk senyawa organik multikomponen. Hal ini dikarenakan interaksi fase diam dan fase gerak secara simultan terhadap senyawa-senyawa organik yang dipisahkan dapat memberikan perbedaan distribusi dan berahir pada pemisahan senyawa-senyawa yang secara struktural sangat mirip sekalipun (Wonorahardjo, 2013).

d. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis bertujuan untuk memisahkan berbagai senyawa dalam jumlah kecil. Fase diam yang dipergunakan dalam KLT adalah penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Penjerap yang paling

sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, selain itu penjerap juga dapat menggunakan silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodextrin yang digunakan untuk pemisahan kiral. Mekanisme penjerap pada KLT adalah partisi dan adsorpsi. Fase gerak pada KLT bisa ditentukan melalui kajian pustaka atau dengan metode coba-coba untuk mendapatkan pelarut dengan hasil pemisahan terbaik. Sistem yang sangat sederhana adalah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini bisa mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan bisa terjadi secara optimal (Gandjar dan Rohman, 2011).

Harga R_f adalah jarak yang dilalui noda sampel dibagi jarak yang dilalui pelarut. Untuk senyawa tidak berwarna maka deteksi noda dengan uap Iodium dan lampu UV. Untuk analisis kualitatif maka dibandingkan dengan R_f standar otentik yang dielusi secara bersama-sama dengan sampel (Ibrahim dan Sitorus, 2013)

e. Kromatografi Vakum Cair (KVC)

Kromatografi vakum cair merupakan sistem pemisahan yang dibantu dengan memvakumkan kolom sehingga proses pemisahan lebih cepat apabila dibandingkan dengan kromatografi kolom biasa, selain itu KVC juga bisa digunakan dalam proses pemisahan sampel dalam jumlah banyak. Adsorban yang digunakan dalam KVC biasanya berupa silika gel. Pemilihan pelarut pada sistem KVC dapat dilakukan dengan penelusuran pustaka, mencari pelarut terbaik melalui KLT. Sampel dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau sampel dibentuk serbuk kemudian diimpregnasi dengan adsorben kemudian dimasukkan kedalam kolom serta vakum dinyalakan. Kolom di elusi dengan pelarut yang sesuai dimulai dari pelarut non polar. Pengumpulan fraksi dilakukan dengan dihisap sampai kering pada setiap fraksinya (Yulita, 2016).

f. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah jenis kromatografi yang digunakan untuk memisahkan zat warna (pigmen) pada tumbuhan. Pemisahan terjadi karena terjadinya perbedaan daya serap

fasa diam terhadap komponen-komponen sampel yang akan dipisahkan yang digerakkan oleh fasa gerak (eluen) (Ibrahim dan Sitorus, 2013).

Prinsip kerja kromatografi kolom adalah eluen membawa senyawa mengalir melalui fasa diam sehingga terjadi interaksi berupa adsorpsi senyawa-senyawa tersebut oleh adsorben. Hasil yang diperoleh berupa fraksi-fraksi senyawa (eluat) yang ditampung pada bagian bawah kolom (Rubiyanto, 2017).

g. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

KLT preparatif adalah metode pemisahan dengan fase diam dibuat lebih tebal. Penotolan sampel dilakukan dengan melarutkan sampel kedalam sedikit pelarut. Sampel ditotolkan dengan jarak sesempit mungkin. Pelarut yang baik untuk melarutkan sampel adalah pelarut yang menguap. Pengembangan plat KLT preparatif dilakukan dalam *chamber*. *Chamber* dilakukan penjenjuran terlebih dahulu sebelum digunakan.

Plat KLT preparatif yang telah dielusi, spot pada plat yang dimungkinkan merupakan senyawa target dikerok. Selanjutnya senyawa

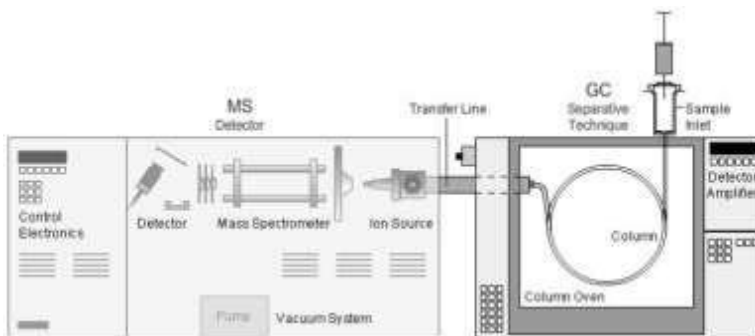
diekstraksi dari adsorben menggunakan pelarut yang sesuai (5 mL pelarut untuk 1 gram adsorben). Selanjutnya ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan corong atau membran (Rollando, 2019).

11. *Gas Chromatography - Mass Spectroscopy (GC-MS)*

Gas Chromatography - Mass Spectroscopy (GC-MS) merupakan metode analisis yang menggabungkan fitur kromatografi gas-cair dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi zat yang berbeda dalam sampel uji.

Gas chromatography (GC) merupakan jenis kromatografi dimana fase gerak adalah gas pembawa (biasanya berupa gas inert seperti helium atau fase diam yang tidak reaktif seperti nitrogen) dan fase diamnya adalah lapisan mikroskopis dari cairan atau polimer. GC digunakan untuk memisahkan senyawa volatil dan semi-volatil dengan resolusi besar. Detektor untuk GC adalah *mass spectroscopy (MS)*. Ketika sampel keluar dari bagian akhir kolom GC, sampel difragmentasi dengan cara ionisasi. Fragmen diurutkan berdasarkan massa untuk membentuk pola fragmentasi. Pola fragmentasi memberikan pola yang

berbeda untuk masing-masing komponen. MS dapat memberikan informasi struktural terperinci tentang sebagian besar senyawa sehingga dapat diidentifikasi dengan tepat (Hussain & Maqbool, 2014). Skema GC-MS dapat dilihat pada gambar 2.7



Gambar 2.7. Skema GC-MS
(Hussain & Maqbool, 2014)

B. Kajian Pustaka

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, uji ekstrak metanol daun jambu Semarang menunjukkan hasil positif pada senyawa-senyawa saponin, glikosida, steroid, dan alkaloid. Penelitian menunjukkan bahwa akar jambu Semarang positif dalam uji alkaloid, saponin, karbohidrat, terpenoid (Madhavi dan Ram, 2015). Raga *et al* (2011) melakukan isolasi senyawa bioaktif terpenoid dan steroid ekstrak diklorometana daun *syzygium samarangense*. Hasil uji

menunjukkan bahwa positif senyawa terpenoid dan steroid.

Steroid adalah salah satu senyawa yang berguna dibidang medis, lebih dari 150 jenis golongan steroid telah terdaftar sebagai obat (National nutrition food association, 2001). Senyawa stigmasterol berguna menurunkan kolesterol darah, menghambat penyerapan kolesterol usus sehingga mampu menghambat perkembangan kanker usus besar dan menekan kolesterol hati (Jones et al., 2000). Steroid dalam bentuk garam empedu (garam *deoxycholic* dan asam kolat) dapat memudahkan proses pencernaan. Steroid sintetik seperti *glucocorticosteroid* estrogen, kortikosteroid, *squalamine* dan *hydrocortisone* digunakan untuk berbagai penyakit seperti radang sendi, reaksi alergi serta defisiensi hormon (Samejo, 2013).

Chumkaew *et al* (2010) melakukan isolasi steroid dari ekstrak heksan dan metanol buah *Syzygium siamense*. Eluen yang digunakan untuk mengisolasi steroid dari ekstrak metanol buah *S. siamense* adalah perbandingan antara metanol dan hexane (1:4). Senyawa yang berhasil diisolasi berupa *stigmast-5-ene-3 β ,17 α -diol*.

Devakumar, *et al* (2016) melaporkan senyawa bioaktif dari ekstrak metanol daun *Syzygium jambos* dengan GC-MS. Dari analisis yang dilakukan diperoleh senyawa *1-Deoxy -d-mannitol-3-methyl-2-methylsulfanyl-5-nitro-6-pyridin-4-ylpyrimidin-4-one*; *3-Pentadecylphenol*; *Stigmast-5-en-3-ol*. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antipiretik dan antiparasit.

Tonius, *et al* (2016) melakukan isolasi dan karakterisasi senyawa steroid fraksi n-Heksana dari daun buah-buas. Proses isolasi senyawa steroid dilakukan dengan kromatografi faskum cair dan kromatografi kolom grafitasi. Distribusi eluen terbaik terdapat pada eluen n-Heksana : metanol dengan perbandingan 4:1. Dari hasil analisis menunjukkan adanya kemiripan spektrum IR terhadap senyawa kolesterol.

Ragasa, *et al* (2014) melakukan penelitian terkait senyawa yang terkandung dalam ekstrak diklorometana daun jambu Semarang. Analisis senyawa dilakukan dengan instrumen GC-MS. Hasil penelitian melaporkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak diklorometan adalah squalen, betulin, lupeol, sitosterol.

Rahim *et al* (2018) melakukan analisis senyawa yang terkandung dalam ekstrak *Syzygium poliantum* menggunakan GC-MS. Ekstraksi dilakukan dengan

metode maserasi berbantu gelombang ultrasonik. Pelarut yang digunakan adalah pelarut bertingkat, yaitu n-Heksana, metanol dan etanol. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak daun *S. Polyantum* positif senyawa β -sitosterol.

Afify *et al* (2011) melaporkan bahwa ekstrak buah *Syzygium cumini* positif senyawa sterol seperti γ -sitosterol. Dalam penelitiannya dilaporkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas anti kanker dan antioksidan. Tripathi *et al* (2013) juga melakukan isolasi dan identifikasi senyawa γ -sitosterol dari daun *Girardinia heterophylla* (Deene) menggunakan GC-MS. Penelitiannya tersebut melaporkan bahwa γ -sitosterol dapat dimanfaatkan sebagai obat antidiabetes.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring, neraca analitik, pelumat, set alat maserasi, plat tetes, oven, *glass wear*, corong pisah, set alat kromatografi cair vakum, *vacum rotary evaporator*, *stirer*, *chamber*, pipa kapiler, GC-MS.

2. Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah daun jambu Semarang, metanol, n-heksan, metanol, etanol, silika gel G60 ukuran 200 mesh, silika gel 60 GF₂₅₄, NaHCO₃, HCl 1 %, asam pikrat, reagen hager, aquades, FeCl 1 %, Pb asetat, HCl pekat, pita Mg, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, asam asetat glasial, kertas saring, pH universal, reagen *Liebermann-burchard*, aquades.

B. Metodologi Penelitian

1. Persiapan Simplisia

Daun jambu Semarang yang digunakan adalah 6,5 kg daun segar kemudian dijemur hingga kering

ditempat yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung selama 1 minggu. Ruang penjemuran dijaga agar tidak terlalu lembab untuk menjaga agar daun tidak membusuk. Daun yang telah dikeringkan kemudian disortir sebelum dilakukan proses penghalusan. Daun yang memiliki kualitas baik (masih berwarna hijau) kemudian dihaluskan kemudian ditimbang.

2. Maserasi berbantu gelombang ultrasonik

Proses ekstraksi dilakukan dengan memasukkan 1000 gram serbuk daun jambu Semarang ke dalam alat maserasi kemudian dilakukan penambahan pelarut n-heksan 96% sebanyak 5 L (sampai semua serbuk terendam). Waktu eksitasi gelombang diatur selama 45 menit melalui panel generator (waktu eksitasi gelombang diartikan sebagai waktu ekstraksi. Probe dan sensor suhu dicelupkan pada larutan. Suhu larutan dijaga pada 35°C oleh termostat. Hasil ekstraksi disaring. Residu di angin-anginkan selama 24 jam. Selanjutnya, dilakukan perlakuan yang sama seperti peredaman yang dilakukan dengan pelarut n-Heksana, namun pelarut yang dibutuhkan dalam

tahap ini ialah pelarut metanol 96%. Hasil maserasi disaring dan maserat ditampung dalam wadah (Sholihah, *et. al.*, 2017). Contoh alat sonikator pada gambar 3.1



Gambar 3.1. Sonikator (maserasi berbantu gelombang ultrasonik)

Sumber : Dokumen pribadi

3. Evaporasi

Evaporasi adalah proses ini dapat mengubah cairan menjadi gas akibat dipanaskan. Hasil maserat yang dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40° C. (Fasya et al., 2018)

4. Uji Fitokimia

a. Uji saponin

Larutan ekstrak dalam air ditambah satu tetes NaHCO_3 . Campuran dikocok dengan kuat selama 3 menit. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih pada larutan tersebut (Gowri dan Vesantha, 2010)

b. Uji alkaloid

Ekstrak metanol daun jambu Semarang ditambahkan dengan beberapa tetes larutan asam klorida encer (1%) kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dapat diuji kandungan alkaloidnya dengan metode uji hager. Uji hager dilakukan dengan cara: ekstrak daun jambu Semarang ditambahkan dengan beberapa mililiter reagen hager. Adanya kandungan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kuning (Kumoro, 2015).

c. Uji Tannin

Uji tannin dilakukan dengan cara mencampurkan 1 mL ekstrak metanol daun jambu Semarang dengan 2 ml air suling didalam sebuah tabung uji. Larutan tersebut kemudian ditambahkan 2 atau 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Uji positif tannin (*catechic tannin*) ditandai dengan terbentuknya warna biru-hijau, sedangkan jika terbentuk warna biru-hitam maka ekstrak tersebut mengandung *gallic tannin* (Kumoro, 2015).

d. Uji Flavonoid

Uji flavonoid pada percobaan ini dilakukan dengan 2 metode

1) Uji timbal asetat.

Uji timbal asetat dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL larutan timbal asetat kedalam 5 mL larutan ekstrak daun jambu Semarang. Uji positif flavonoid ditandai dengan timbulnya flok-flok endapan berwarna putih (Reni, 2018).

2) Uji Shinoda

Uji shinoda dilakukan dengan menambahkan 1 mL HCl pekat kedalam 2-3 mL ekstrak daun jambu Semarang dan sepotong karet magnesium. Uji positif flavonoid dilihat dengan terbentuknya warna merah atau merah muda pada larutan. (Kumoro, 2015)

e. Uji Steroid dan Terpenoid

Uji steroid dan terpenoid dilakukan dengan 2 metode, yaitu:

- 1) Ekstrak daun jambu sebanyak 2 mL diuapkan dalam cawan. Residu dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, diberikan 0,5

mL asam asetat anhidrat dan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Uji positif triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan, sedangkan jika muncul cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid (Ciulei, 1984).

- 2) Metode kedua dilakukan dengan uji liberman-burchard. Sampel ditambahkan dengan asam asetat glasial sebanyak 10 tetes dan asam sulfat pekat 2 tetes. Larutan dikocok perlahan, dibiarkan beberapa menit. Uji positif steroid ditandai dengan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid ditandai dengan hasil uji warna merah atau ungu (Harbone, 1987)
- 3) Metode ketiga dilakukan dengan uji salkowski. Uji dilakukan dengan 2 mL ekstrak ditambahkan dengan 2 mL kloroform kemudian ditambahkan dengan asam sulfat. Uji positif steroid ditandai dengan terbentuknya cincin merah kecoklatan (Samejo, 2017).

f. Uji Glikosida

Uji glikosida dilakukan dengan uji keller killiani. Uji keller killiani dilakukan dengan menambahkan 2 mL asam asetat glasial dan satu tetes FeCl_3 kedalam ekstrak dan dikocok dengan baik. Sebanyak 1 mL asam sulfat pekat ditambahkan kedalam larutan tersebut hingga terbentuk dua lapisan. Cincin berwarna coklat yang terbentuk pada batas antar lapisan menunjukkan gula deoksi penanda kardenolida. Sebuah lapisan berwarna ungu dapat terbentuk dibawah cincin coklat tadi. Lapisan bagian bawah berwarna coklat kemerahan, sedangkan lapisan bagian atas (asam asetat) akan berubah perlahan-lahan menjadi hijau kebiruan jika ekstrak tanaman tersebut mengandung glikosida. (Kumoro, 2015).

5. Hidrolisis menggunakan HCl dan Partisi dengan n-Heksana

Lima gram ekstrak metanol daun jambu Semarang dimasukkan kedalam labu, lalu dihidrolisis dengan menambahkan 10 mL larutan asam klorida (HCl) 2 N kedalam ekstrak pekat. Hidrolisis

dilakukan selama satu jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang (Tensisika dkk, 2007). Hidrolisat yang diperoleh ditambahkan dengan natrium bikarbonat (NaHCO_3) jenuh sampai pH netral, kemudian hidrolisat dipartisi dengan menambahkan 25 mL n-Heksana. Proses partisi dilakukan dengan 8 kali pengulangan. Ekstrak hasil partisi dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya (Septiandari, 2016).

6. Identifikasi Steroid

- a. Penentuan Pelarut Terbaik menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa menggunakan KLT dilakukan agar diperoleh fase gerak terbaik sehingga akan digunakan sebagai kontrol hasil dari kromatografi vakum cair (KVC) dengan melihat hasil pemisahan spot atau noda yang ada. *Chamber* dijenuhkan dengan cara cairan pengelusi dimasukkan kedalam *chamber* kemudian diberi kertas saring sebagai tanda *chamber* sudah jenuh. Naiknya cairan sampai batas akhir pada kertas saring menandakan

bahwa chamber sudah jenuh (Gandjar dan Rohman, 2011).

Fase gerak yang digunakan pada umumnya menggunakan metode *trial and error*, tetapi sebagai titik awal menggunakan pelarut n-Heksana : metanol dengan berbagai perbandingan (Chumkaew, 2010).

Tabel 3.1. Perbandingan pelarut

n-heksan : Metanol	n-heksan : Metanol
4 : 1	1 : 4
3 : 2	2 : 3
2 : 3	3 : 2
1 : 4	4 : 1

Sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Setelah itu dimasukkan kedalam *chamber*. Apabila fase gerak telah mencapai pada titik yang ditentukan maka plat diangkat kemudian diamati pola pemisahan serta noda yang terbentuk. Perlakuan tersebut dilakukan sampai didapatkan fase gerak yang menghasilkan pola pemisahan terbaik (Mutmainnah *et al*, 2017).

b. Fraksinasi dengan Kromatografi Vakum Cair (KVC)

Prinsip kerja KVC adalah partisi dan adsorpsi komponen senyawa yang pemisahannya dibantu dengan tekanan dari alat vakum. Fase diam yang dipakai adalah silika gel GF 60, sedangkan fase gerak yang digunakan berupa fase gerak bergradien menggunakan eluen n-heksana dan metanol.

Set alat KVC diisi dengan fase diam silika gel GF 60 dengan ketinggian 4 cm. Lalu bagian atas ditutup dengan kertas saring. Alat vakum dihidupkan untuk memperoleh kerapatan maksimum. Tiga gram ekstrak diimpregnasi terlebih dahulu dengan 6 gram silika gel kemudian digerus hingga homogen dan kering. Selanjutnya sampel dimasukkan kedalam set alat KVC dengan disebar secara merata dan diletakkan kertas saring di atasnya. Langkah selanjutnya adalah dielusi mulai dari kepolaran rendah dan ditingkakan secara perlahan. Eluat yang diperoleh ditampung dalam vial yang berbeda pada setiap fraksinya (Mutmainnah, *et al*, 2017).

Eluat yang telah diperoleh diuji dengan KLT dan dikelompokkan berdasarkan kemiripan nilai r_f . Hasil KLT disemprot menggunakan reagen *Liebermann-burchard*, uji positif steroid ditandai dengan adanya warna hijau-biru. (Burke, 1974).

- c. Identifikasi Senyawa Steroid dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)
Pemisahan senyawa steroid dengan KLTP memakai plat silika gel GF 60. Eluat hasil KVC diteteskan sepanjang plat dengan jarak 1 cm dari garis tepi bawah. Sampel kemudian dikeringkan dan di elusi menggunakan eluen n-heksana : metanol dengan perbandingan 4.5 : 0.5, yang merupakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada tahap penentuan pelarut terbaik. Setelah larutan mengembang sampai pada titik batas, elusi dihentikan. Satu bagian plat tersebut dilakukan uji steroid dengan menyemprotkan larutan penampak noda *Liebermann-burchard*. Uji positif steroid ditunjukkan pada terbentuknya warna hijau-biru. Spot yang diduga positif steroid dikerok kemudian dilarutkan dalam metanol. Fase diam

(silika gel) diendapkan dan dilakukan penyaringan. Supernatan yang diperoleh selanjutnya diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis. Supernatan yang menunjukkan spot tunggal dilakukan analisis dengan GC-MS.

d. Karakterisasi Senyawa dengan GC-MS

Spot tunggal yang diduga senyawa steroid dari kromatografi lapis tipis preparatif dilakukan analisis menggunakan GC-MS.

BAB IV

DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA

A. Deskripsi Data

1. Penyiapan Simplisia

Serbuk daun jambu Semarang yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 1000 gram. Serbuk berupa daun jambu Semarang yang sudah dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan disortir berdasarkan daun yang masih berwarna hijau.






2. Maserasi





Ekstraksi dilakukan dengan maserasi berbantu gelombang ultrasonik dengan maserasi bertingkat, yaitu dengan cara perendaman pelarut n-Heksana dan metanol. Ekstrak metanol daun jambu Semarang yang diperoleh dari maserasi simplisia yaitu 15.85 gram, sehingga didapatkan rendemen sebesar 1,585 %.

3. Penapisan Fitokimia

Berdasarkan penapisan fitokimia, senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol daun jambu adalah saponin, alkaloid, steroid, glikosida.

Tabel 4.1. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Jambu Semarang (*Syzygium samarangense*)

Uji Fitokimia	Hasil	Ket.	Gambar
Saponin	Terbentuk buih setinggi 1 cm	(+)	
Alkaloid			
Hager	Terbentuk endapan coklat	(+)	
Dagendrof	Tidak terbentuk endapan jingga	(-)	
Tannin	Tidak terjadi perubahan warna larutan	(-)	
Flavonoid			
Timbal asetat	Tidak terbentuk flok-flok berwarna putih	(-)	
Shinoda	Terbentuk larutan berwarna merah	(-)	
Steroid			

Liberman-buchard	Terbentuk warna hijau-biru	(+)	
Pemanasan	Cincin hijau	(+)	
Salkowsky	Terbentuk 2 lapisan cincin hijau	(+)	
Glikosida	Terbentuk dua lapisan cincin coklat	(+)	

Keterangan:

+ = positif

- = negatif

4. Hidrolisis serta Partisi Ekstrak Pekat Metanol

Ekstrak metanol yang diperoleh dari proses maserasi selanjutnya dilakukan hidrolisis sebanyak 5 gram dan dikatalis dengan HCl 2 N. Hidrolisat yang diperoleh sebanyak 3 gram. Hidrolisat yang diperoleh kemudian di fraksinasi dengan n-Heksana sehingga didapatkan ekstrak fraksi n-Heksana.

5. Penentuan Eluen Terbaik

Penentuan eluen terbaik dilakukan dengan metode *trial and error*. Eluen yang digunakan adalah perbandingan n-Heksana dan metanol. Perbandingan pelarut yang menunjukkan pola pemisahan terbaik adalah 4.5 : 0.5.

6. Kromatografi Vakum Cair

Fraksi n-Heksana diperoleh, dilakukan fraksinasi dengan kromatografi vakum cair. Dari proses KVC diperoleh 8 fraksi. Fraksi 3 merupakan fraksi yang diduga positif steroid dan dengan pola pemisahan noda KLT terbaik. Fraksi 3 dianalisis lebih lanjut dengan kromatografi lapis tipis preparatif.

7. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Spot positif senyawa steroid yang ditandai dengan warna hijau di kerok dan di larutkan dalam metanol kemudian dilakukan penyaringan. Hasil KLT dari supernatan memberikan noda tunggal yang menunjukkan bahwa senyawa yang dianalisis telah murni.

8. Instrumentasi GC-MS

Supernatan yang telah memberikan noda tunggal pada plat KLT selanjutnya dianalisis dengan GC-MS. Dari hasil GC-MS menunjukkan bahwa senyawa

target berhasil diisolasi yang identik dengan γ -Sitosterol.

B. Analisis Data

1. Penyiapan Simplisia

Sampel yang digunakan adalah daun jambu Semarang (*Syzygium samarangense (BL.) Merr. Et Perry*) yang didapatkan dari kebun jambu Desa Sambungharjo, Kota Semarang. Pengambilan daun dilakukan pada saat cuaca kering (tidak hujan atau mendung) hal ini dilakukan agar sampel yang didapat tidak mengandung terlalu banyak air, sehingga dapat mengakibatkan kualitas simplisia daun berkurang atau bahkan rusak (Kumoro, 2015). Proses pengeringan dikerjakan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang dan tidak menggunakan pemanasan sinar matahari dengan tujuan senyawa aktif yang diinginkan tidak mengalami kerusakan pada suhu yang tinggi. Daun jambu Semarang yang sudah kering dilakukan penyortiran didasarkan pada daun yang berwarna hijau kemudian dihaluskan menjadi partikel yang lebih kecil. Proses penghalusan bertujuan untuk memperluas

permukaan sampel maka memudahkan kontak antara sampel dengan pelarut pada saat maserasi.

2. Maserasi

Ekstraksi digunakan untuk melarutkan senyawa aktif yang terdapat didalam simplisia. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dilakukan karena menggunakan teknik perendaman dengan suhu ruang tanpa disertai pemanasan. Suhu yang tinggi dapat mengakibatkan senyawa metabolit sekunder terdegradasi (Atun, 2014). Maserasi adalah salah satu metode yang sangat menguntungkan, karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan cara perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel akibat beda tekanan didalam dan diluar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa dapat sempurna sehingga dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pelarut yang mengalir kedalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan kandungan sel yang akan larut sesuai dengan kelarutannya. Pemilihan pelarut untuk proses

maserasi sehingga memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarutnya (Yulianingtyas, 2016).

Pemilihan pelarut didasarkan pada syarat utama penggunaan pelarut untuk ekstraksi senyawa organik yaitu non toksik dan tidak mudah terbakar (*nonflammable*) (Miryanti, 2011). Metanol merupakan salah satu pelarut yang memenuhi syarat tersebut. Pemilihan pelarut metanol didasarkan pada kemampuannya dalam menarik senyawa metabolit sekunder (Kumoro, 2015).

Proses maserasi pada percobaan ini dilakukan dengan maserasi bertingkat, yaitu maserasi dilakukan dengan pelarut *n*-heksan pada tahap awal dan kemudian dilanjutkan dengan pelarut metanol. Maserasi bertingkat dilakukan agar dapat memisahkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun jambu Semarang (*Syzygium samarangense*) berdasarkan tingkat kepolarannya. Hal ini sesuai dengan prinsip kelarutan, *like dissolve like*, yang berarti pelarut polar dapat melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar dapat melarutkan senyawa non-polar. Sehingga bahan dan senyawa kimia akan mudah

larut dalam pelarut yang relatif mirip kepolarannya (Wawolumaya, 2012).

Proses maserasi dilakukan dari pelarut dengan tingkat kepolaran rendah atau nonpolar (dalam penelitian ini menggunakan pelarut n-Heksana) bertujuan agar proses pengikatan senyawa terjadi secara bertahap dan agar seluruh senyawa tidak ditarik oleh pelarut polar yang bersifat menarik seluruh senyawa (Edawati, 2012).

Maserasi yang dilakukan adalah maserasi berbantu gelombang ultrasonik. Energi ultrasonik membantu mengeksitasi senyawa-senyawa dari matriks bagian tanaman (Kumoro, 2015). Maserasi berbantu gelombang ultrasonik dapat meningkatkan penetrasi pelarut melalui sel tanaman dengan bantuan gelombang. Mekanismenya melalui fragmentasi dan penghancuran struktur tanaman sehingga dapat meningkatkan proses difusi dengan meningkatkan laju transfer zat terlarut. Metode maserasi berbantu gelombang ultrasonik memiliki efisiensi ekstraksi yang tinggi dengan waktu ekstraksi yang lebih pendek dan penggunaan pelarut yang lebih sedikit (Rahim, et al., 2018)

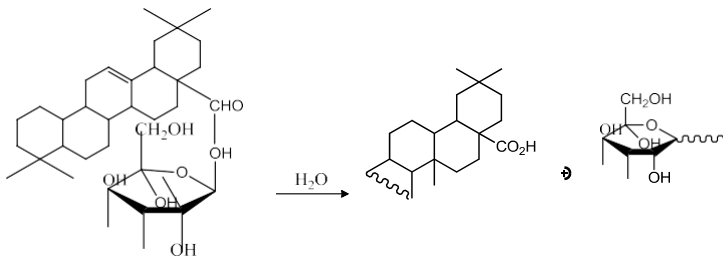
Maserat yang diperoleh kemudian di evaporasi pelarutnya dengan suhu 45-50°C dengan *vacuum rotary evaporator*. Evaporasi dilakukan pada suhu sedang agar senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tidak rusak. Rendemen ekstrak yang didapatkan setelah proses evaporasi sebanyak 1,585 %.

3. Penapisan Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung pada makhluk hidup, yaitu mengenai struktur kimia, perubahan metabolisme, biosintesis, serta fungsi biologi dari suatu bahan yang sedang dianalisis (Harbone, 1987). Berdasarkan uji yang telah dilakukan, senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol daun jambu Semarang adalah saponin, alkaloid, steroid dan glikosida.

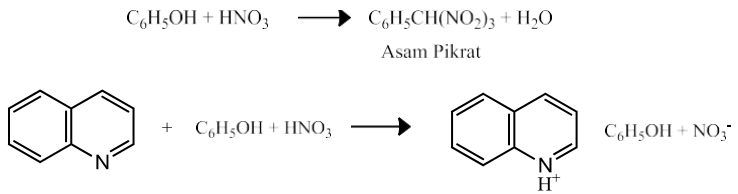
Daun jambu Semarang mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya buih setinggi satu cm setelah diuji dengan penambahna air dan NaHCO_3 dan dikocok dengan kuat. Saponin terdapat glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid dan triterpenoid sebagai gugus non polar. Senyawa yang memilki gugus polar dan

nonpolar bersifat aktif permukaannya maka saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap keluar sedangkan gugus nonpolar menghadap kedalam (Sangi *et al*, 2008). Keadaan seperti itulah yang menyebabkan dalam analisis ini sampel tampak seperti busa. Reaksi hidrolisis saponin pada gambar 4.1



Gambar 4.1. Reaksi hidrolisis saponin dalam air
Sumber : Marlina *et. al*, 2005

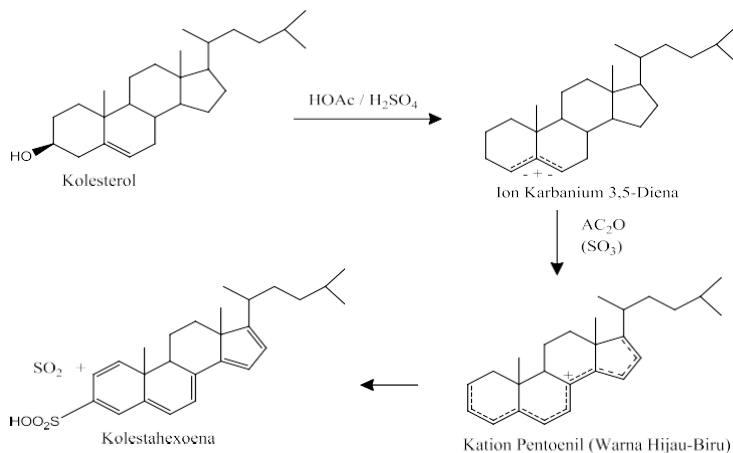
Uji alkaloid dilakukan dengan Uji Hager. Ekstrak metanol daun jambu Semarang mengandung senyawa asam amino dan alkaloid akibat reaksi asam pikrat jenuh yang mengandung gugus H^+ disumbangkan ke gugus NH pada struktur asam amino sehingga terbentuk endapan berwarna putih kekuningan (Mamonto *et al*, 2008). Reaksi yang mungkin terbentuk pada gambar 4.2 adalah;



Gambar 4.2. Reaksi uji senyawa alkaloid dengan uji hager

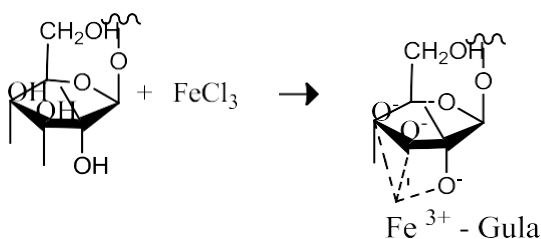
Sumber : Mamonto, *et al.* 2008

Uji steroid dilakukan dengan beberapa uji. Uji Liberman-burchard memperlihatkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hijau-biru. Uji kedua dilakukan dengan menguapkan sampel pada cawan. Residu ditambahkan dengan kloroform kemudian filtrat ditambahkan asam asetat anhidrat pekat dan asam sulfat pekat. Penambahan kloroform berfungsi sebagai pelarut. Penabahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat dimaksudkan untuk menghapus gugus OH dan mengubah steroid menjadi ion karbonium dan air, selanjutnya ion korbanium dirubah menjadi kation pentaenil yang mempunyai ikatan rangkap konjugasi maka larutan akan menunjukkan warna hijau-biru yang menunjukkan uji positif steroid (Burke, 1974). Reaksi yang mungkin terjadi pada gambar 4.3 adalah:



Gambar 4.3. Reaksi senyawa steroid dengan pereaksi *Liebermen-Burchard*

Hasil Positif glikosida ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi hijau kebiruan. Atom oksigen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada gugus gula bisa mendonorkan elektronnya pada Fe^{3+} membentuk kompleks (Marliana *et. al.*, 2005). Reaksi yang terjadi pada gambar 4.4 adalah:



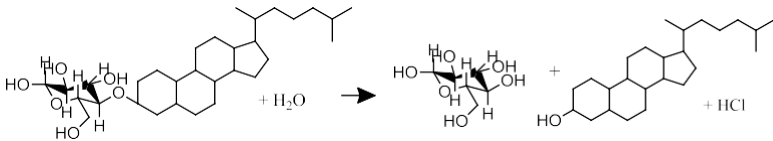
Gambar 4.4. Reaksi uji senyawa glikosida
Sumber : Marliana *et. al.*, 2005

4. Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Metanol

Senyawa steroid yang berada di alam pada umumnya dalam bentuk glikosidanya. Hidrolisis merupakan salah satu metode yang dapat digunakan dalam pemutusan ikatan glikosida antara glikon dan aglikon (Fessenden, 1986). Reaksi hidrolisis merupakan salah satu reaksi yang mana ikatan σ diputus dengan penambahan air pada fragmen yang terbentuk pada pemutusan. Reaksi hidrolisis dikatalisis oleh asam, basa, atau enzim penghidrolisis (Sarker dan Nahar, 2009).

Hidrolisis dilakukan dengan menambahkan 10 mL HCl 2 N kedalam 5 gram sampel. HCl 2 N berperan sebagai katalis. Pemilihan asam klorida didasarkan pada kemampuan HCl melepaskan ion H^+ secara sempurna (Fasya et al., 2018). Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama satu jam pada suhu ruang. Proses pengadukan dilakukan agar ekstrak dapat tercampur secara maksimal dan gula yang dihasilkan maksimal. Hidrolisat yang dihasilkan bersifat asam lalu dinetralkan menggunakan $NaHCO_3$. Proses penetralan dilakukan untuk menghentikan reaksi hidrolisis yang bersifat reversibel. Apabila reaksi ini

tidak dihentikan maka ikatan glikosida antara glikon dan aglikon yang terurai pada proses hidrolisis akan terbentuk kembali. Dugaan reaksi pemutusan glikosida ditunjukkan pada gambar 4.5 berikut.



Gambar 4.5. Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida yang ada pada steroid
Sumber : Sholikah, 2016

Hidrolisat yang telah netral kemudian dipartisi (ekstraksi cair-cair) dengan pelarut n-Heksan. Pemilihan pelarut n-Heksan didasarkan pada kaedah *like dissolve like*. Steroid yang merupakan senyawa nonpolar akan terdistribusi dalam pelarut n-Heksan pada proses partisi (Sarker dan Nahar, 2009). Proses fraksinasi membentuk dua lapisan yaitu fase organik (lapisan atas) dan fase air (lapisan bawah). Fase organik mengekstrak senyawa aglikon yang terdapat senyawa metabolit sekunder dan fase air mengekstrak komponen gula (Fasya et al., 2018). Pemisahan dua komponen tersebut diakibatkan adanya perbedaan kepolaran antara keduanya serta

perbedaan densitas diantara 2 larutan tersebut. Nilai densitas n-heksan adalah 0,655 g/L sedangkan nilai densitas air 0,997 g/L. Fase organik akan berada pada lapisan atas dikarenakan mempunyai nilai densitas yang lebih rendah dibandingkan dengan nilai densitas air. Proses ekstraksi diulangi sebanyak 9 kali pengulangan sampai fase organik menjadi bening. Fase organik yang diperoleh dipekatan sehingga diperoleh ekstrak pekat.

Ekstrak pekat fase organik yang dihasilkan dilakukan uji steroid dengan pereaksi *Liebermann-burchard*, yang mana komposisi reagen berupa kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Hasil uji positif steroid dibuktikan dengan perubahan warna sampel menjadi hijau kebiruan.

5. Penentuan eluen terbaik dengan KLT

Metode KLT adalah metode yang pemisahannya didasarkan pada perbedaan distribusi antara fasa diam dan fase gerak. Fase gerak yang berperan penting dalam proses distribusi senyawa disebut dengan eluen. Eluen dapat memisahkan senyawa berdasarkan tingkat polaritas dari senyawa

sehingga terjadi distribusi senyawa pada sampel. Pola pemisahan terbaik terjadi saat terbentuk noda paling banyak pada plat.

Hidrolisat yang dihasilkan diuji kemampuan distribusinya dengan berbagai perbandingan pelarut n-Heksan : metanol pada plat KLT untuk mendapatkan pola pemisahan yang terbaik (gambar 4.). Berdasarkan pola pemisahan yang dihasilkan, perbandingan pelarut 4,5 : 0,5 memberikan spot noda paling banyak yaitu terdapat 7 noda yang dilihat dibawah penyinaran sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Pola pemisahan ditunjukkan pada gambar 4.6. Pola yang terdistribusi pada gambar 4.6 menunjukkan bahwa semakin banyak noda yang terbentuk dengan jarak antar pola pemisahan teratur menandakan eluan yang digunakan bekerja maksimal. Sampel yang ditotolkan merupakan ekstrak kasar sehingga dapat dipastikan bahwa ekstrak tersebut masih mengandung banyak senyawa yang berbeda. Kandungan yang berbeda tersebut ditandai dengan noda yang terdistribusi lebih banyak dengan perbandingan eluen tertentu, sehingga eluen

tersebut dapat dikatakan sebagai pelarut atau eluen terbaik ditunjukkan pada gambar 4.6 berikut.



Gambar 4.6. Penentuan pelarut terbaik dengan KLT (masing-masing dari kiri dengan percandangan pelarut n-heksana : metanol 4.5:0.5 ; 4.6:0.4 ; 4.7:0.3 ; 4.8 : 0.2 ; 4.4 : 0.6)

6. Kromatografi Vakum Cair (KVC)

Perlakuan ekstrak fraksi n-heksan dilanjutkan dengan pemisahan menggunakan kromatografi vakum cair untuk memisahkan senyawa yang diinginkan. Hidrolisat yang digunakan sebanyak 3 gram. Hidrolisat diimpregnasi dengan 6 gram silika gel kemudian dielusi dengan eluen bergradien. Eluen yang digunakan pada tahap ini merupakan

eluen bergradien n-Heksana : metanol yang diharapkan mampu memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Hasil KVC ditampung setiap 2 mL pada vial. Pada KVC didapatkan 162 eluat.

Eluat yang dihasilkan diuji dengan KLT dan digabungkan berdasarkan nilai r_f serta pola distribusi senyawanya. Eluen yang digunakan pada KLT berupa n-Heksana : metanol pada perbandingan 4.5 : 0.5. Fraksi digabungkan menjadi 8 fraksi (fraksi A,B,C,D,E,F,G,H). Delapan fraksi tersebut dilakukan uji steroid untuk memastikan bahwa fraksi tersebut positif mengandung steroid. Fraksi yang diduga mengandung senyawa steroid yaitu fraksi C,D,E yang didasarkan pada terbentuknya warna hijau-biru pada larutan dengan uji *Liebermann burchard*. Fraksi 3 menunjukkan pola pemisahan terbaik pada plat KLT. Fraksi 3 dilakukan isolasi lanjutan dengan kromatografi lapis tipis preparatif yang ditunjukan pada tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.2. Penggabungan Fraksi Hasil KVC

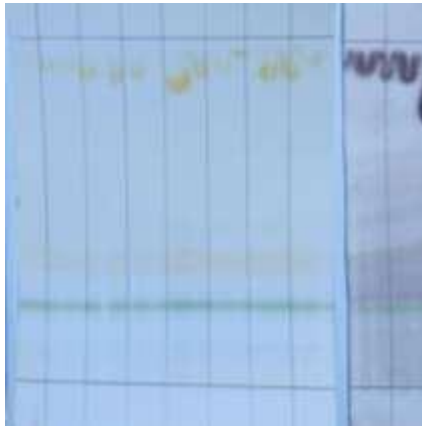
Fraksi	Penggabungan fraksi	Noda Pemisahan		10 % H ₂ SO ₄		Pemanasan	Serium Sulfat		
		Rf	Warna	Rf	Warna	Warna	Rf	Warna	
A	1 - 22	-	-	-	-	-	-	-	
B	23 - 33	-	-	-	-	-	-	-	
C	34 - 39	0,48	Hijau	0,48	Hijau	Ungu	-	-	
		0,66	Hijau	0,66	Hijau	Hijau	-	-	
D	40 - 50	0,48	Hijau	0,48	Hijau	Ungu	0,45	Orange	
		0,65	Hijau	0,65	Hijau	Hijau	-	-	
E	51 - 84	0,25	Kuning	0,25	Hijau	Hijau	0,36	Orange	
		0,26	Hijau	0,26	Hijau	Hijau			
		0,27	Kuning	0,27	Hijau	Hijau			
		0,28	Hijau	0,28	Hijau +	Hijau +			
					0,35	-	Ungu		
			0,43	-	Ungu				
F	85 - 100	0,30	Hijau	0,30	Hijau	Hitam	0,3	Orange	
		0,12	Hijau	0,12	Hijau	Hitam			
G	101	-	0,29	Hijau	0,29	Hijau	Hitam	-	-
	124		0,08	Hijau	0,08	Hijau	Hitam		
H	125-162	-	-	-	-	-	-	-	

6. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Kromatografi lapis tipis preparatif digunakan guna mendapatkan isolat dengan menggunakan eluen terbaik yang telah didapatkan dari proses penentuan pelarut terbaik. KLTP dari eluat yang diperoleh dari KVC ditotolkan sepanjang garis disalah satu sisi plat.

Fase diam yang digunakan adalah plat alumunium yang dilapisi menggunakan silika yang dapat berpendar dalam sinar ultraviolet. Fasa diam KLTP yang digunakan adalah silika gel GF 60 plat yang dipergunakan terlebih dahulu diaktivasi untuk menghilangkan uap air yang dapat mengganggu proses elusi. Aktivasi dilakukan dengan cara plat silika dioven pada suhu 120°C selama 5-10 menit (Pyka *et al*, 2013).

Fraksi 3 di totolkan pada tepi plat kemudian dikeringkan. Eluen yang digunakan adalah perbandingan antara n-heksana ; metanol (4.5 : 0.5). Setelah eluen mencapai titik batas atas elusi dihentikan. Satu bagian dari plat tersebut dilakukan identifikasi dengan pereaksi semprot *Liebermann-burchard*. Senyawa steroid ditandai dengan warna hijau setelah penyemprotan dan pemanasan pada suhu 100°C selama 10 menit (Kristianti, 2008). Hasil KLTP bisa yang terdapat pada gambar 4.7, dimana senyawa steroid ditunjukkan dengan spot berwarna hijau dengan nilai rf 0,25.

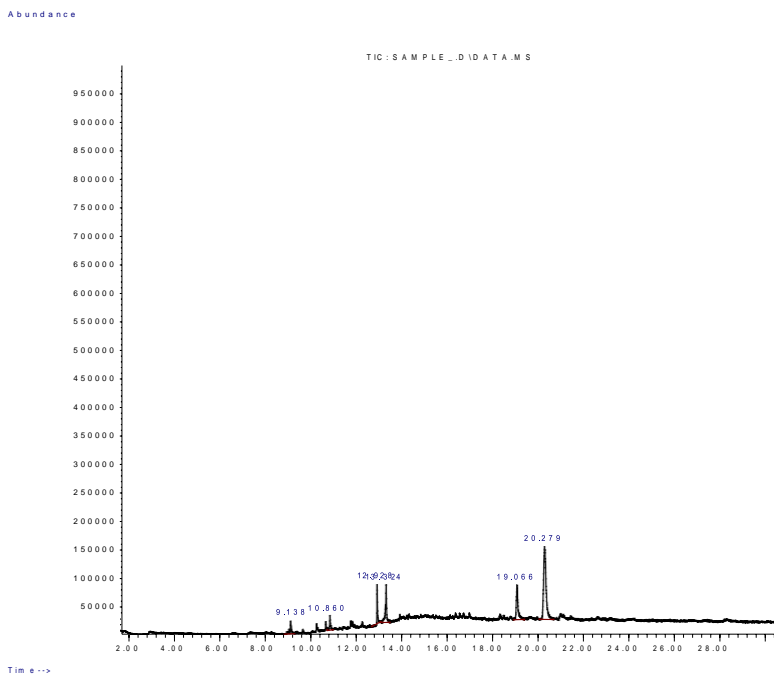


Gambar 4.7. Hasil KLTP, sisi kanan menunjukkan perubahan warna setelah dilakukan perlakuan penyemprotan dengan pereaksi LB dan pemanasan.

Spot berwarna hijau positif steroid dikerok kemudian dilarutkan dalam metanol. Fase diam (silika gel) diendapkan dan dilakukan penyaringan. Supernatan yang diperoleh selanjutnya diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis. Plat KLT diidentifikasi dengan penampak noda sinar ultraviolet dan menghasilkan satu noda yang diduga senyawa sudah murni. Supernatan yang menunjukkan noda tunggal dilakukan analisis dengan GC-MS.

7. Hasil identifikasi senyawa menggunakan GC-MS

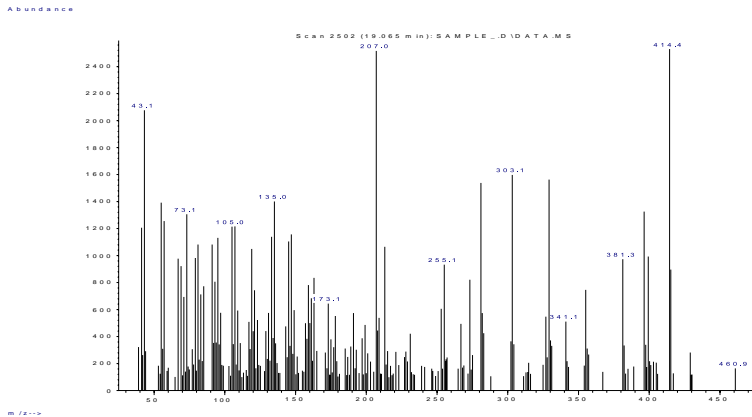
Metode GC-MS dapat dilakukan untuk mengetahui struktur senyawa yang merupakan gabungan dari metode kromatografi gas dan spektrofotometri massa. Kromatografi gas adalah salah satu metode pemisahan yang berdasarkan pada partisi antara fase gerak yang berupa gas pembawa dan fase diam yang menahan cuplikan secara selektif (Sastrohamidjojo dan Pranowo, 1985). Metode spektrometri massa didasarkan pada pengubahan molekul netral menjadi ion-ion bermuatan positif dan memisahkannya berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan elektron (Handayana, 1994). Data kromatogram dari hasil GC-MS ditampilkan pada gambar 4.8.



Gambar 4.8. Kromatogram GC-MS

Dari data kromatogram pada gambar 4.8, diketahui terdapat 6 senyawa yang terkandung dalam isolat tersebut, yang dapat dilihat pada tabel 4.3. Tabel tersebut berisikan data-data yang meliputi nama senyawa, waktu retensi, berat molekul dan nilai kualitas. Nilai kualitas menunjukkan presentase kesamaan senyawa target dengan data base yang ada pada *library* GC-MS. Nilai kualitas yang mendekati 100

menunjukkan bahwa senyawa target tersebut identik. Hasil dari senyawa uji GC-MS pada tabel 4.3



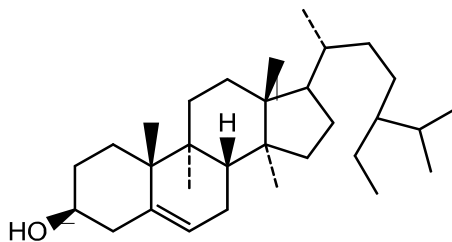
Gambar 4.9. Spektrogram massa waktu retensi 19.065

Tabel 4.3. Senyawa yang terkandung dalam fraksi n-Heksana daun jambu Semarang.

Senyawa	Waktu retensi (menit)	Berat molekul (gr/mr)	Kwalitas (%)
<i>2-pentadecanone, 6, 10,14-trimethyl</i>	9.136	280.9	86
<i>2-hexadecene-1-ol-3,7,11,15-tetramethyl</i>	10.859	281.0	91
<i>Cyclohexadecane, 1,2-diethyl</i>	12.930	401.8	97
<i>13-Docosenoic acid</i>	13.326	460.9	55
<i>γ-Sitosterol</i>	19.065	460.9	96
<i>Lupeol</i>	20.281	534.9	60

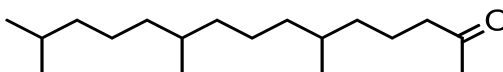
Hasil GC-MS menunjukkan adanya senyawa target identik γ -sitosterol yang ditandai dengan nilai kualitas senyawa tersebut mencapai 96, sehingga dapat dipastikan bahwa senyawa tersebut identik senyawa γ -sitosterol dengan kemiripan 96%. Senyawa target ditunjukkan pada waktu retensi 19.065. Spektrogram massa ditunjukkan pada gambar 4.5. Struktur senyawa γ -sitosterol ditunjukkan pada gambar 4.10.

Sitosterol paling banyak terdistribusi pada sterol tumbuhan termasuk juga β -sitosterol dan γ -sitosterol. β -sitosterol dan γ -sitosterol merupakan stereoisomer, hanya saja berbeda pada konfigurasi rantai C-17 (Tripathi *et al.* 2013). Terdapat pada gambar 4.10 berikut.



Gambar 4.10. Struktur kimia γ -sitosterol

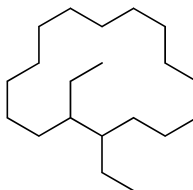
Waktu retensi 9.136 menunjukkan bahwa senyawa yang berhasil diidentifikasi merupakan senyawa *2-pentadecanone, 6, 10,14-trimethyl*. Senyawa tersebut memiliki kemampuan antimikroba terhadap bakteri *Aeromonas hydrophylla* (Kurniawan, 2014). Struktur kimia senyawa *2-pentadecanone, 6, 10,14-trimethyl* terdapat pada gambar 4.11.



Gambar 4.11. Struktur senyawa *2-pentadecanone, 6, 10,14-trimethyl*

Sumber: *NIST Chemistry WebBook*

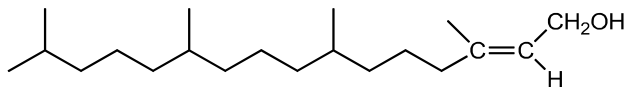
Hasil analisis GC-MS juga menunjukkan bahwa senyawa *Cyclohexadecane, 1,2-diethyl* berhasil diidentifikasi pada waktu retensi 12.930. Struktur senyawa *Cyclohexadecane, 1,2-diethyl* terdapat pada gambar 4.12



Gambar 4.12. Struktur senyawa *Cyclohexadecane, 1,2-diethyl*

Sumber: PubChem

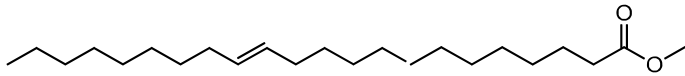
Waktu retensi 10.589 menunjukkan bahwa senyawa *2-hexadecene-1-ol-3,7,11,15-tetramethyl* dengan rumus senyawa $C_{20}H_{40}O$ berhasil diisolasi. Senyawa tersebut telah berhasil diisolasi dari ekstrak metanol *Syzygium jambos*. Senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis prokursor pada sintesis pembentukan Vitamin E dan Vitamin K1 (Devakumar *et al.* 2017). Rumus senyawa *2-hexadecene-1-ol-3,7,11,15-tetramethyl* ditunjukkan oleh gambar 4.13



Gambar 4.13. Rumus senyawa *2-hexadecene-1-ol-3,7,11,15-tetramethyl*

Sumber : Elufioye, *et al.* 2017

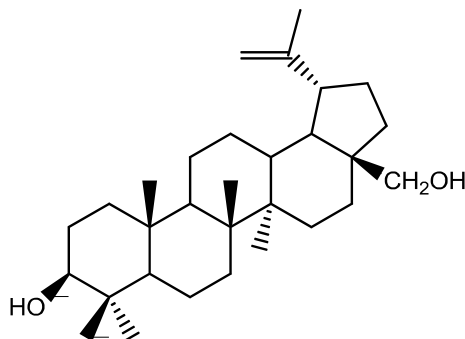
Waktu retensi 13.326 menunjukkan bahwa senyawa *13-Docosenoic acid* berhasil diidentifikasi. Senyawa ini merupakan kelompok senyawa ester. Senyawa *13-Docosenoic acid* memiliki aktivitas antimikroba (Al-Rubaye, *et al.* 2017) Struktur kimia senyawa ini yang terdapat oleh gambar 4.14.



Gambar 4.14. Struktur senyawa *13-Docosenoic acid, methyl ester*

Sumber: PubChem

Lupeol termasuk dalam senyawa triterpen. Lupeol banyak ditemukan pada buah-buahan, seperti tomat, anggur merah, stroberi dan lain-lain. Lupeol memiliki aktivitas anti-inflamator dan antikanker (Saleem, 2009). Ragasa *et al* (2014) berhasil mengidentifikasi lupeol dari ekstrak diklorometana daun jambu Semarang. Struktur senyawa lupeol yang terdapat pada gambar 4.15.



Gambar 4.15. struktur senyawa lupeol

Sumber : Ragasa, *et al.* 2014

Balamurungan, *et al* (2012) melakukan studi *docking* ligan γ -sitosterol dengan empat protein target yang berbeda yang menunjukkan sebagai molekul yang baik serta cocok dengan berbagai target terkait dengan diabetes militus, sehingga γ -sitosterol dapat dipertimbangkan untuk dikembangkan menjadi obat antidiabetik yang kuat. Daun jambu Semarang telah terbukti positif senyawa γ -sitosterol. Dari hasil penelitian tersebut diharapkan dapat dilakukan studi lanjutan pemanfaatan γ -sitosterol fraksi n-Heksana daun jambu Semarang sebagai antidiabetik atau untuk aktivitas lainnya. Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan kontribusi didunia kesehatan dengan memanfaatkan plasmanutfah sebagai bukti kekayaan Negara Indonesia.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Identifikasi dan karakterisasi steroid dilakukan dengan kromatografi vakum cair dan dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif dengan eluen perbandingan pelarut n-Heksana : metanol sebesar 4.5 : 0.5. Hasil KLTP menunjukkan noda tunggal dan memberikan hasil uji positif steroid yang ditandai dengan terbentuknya spot berwarna hijau setelah dilakukan perlakuan dengan pereaksi warna *Liebermann- burchard*. Hasil identifikasi fraksi n-Heksana daun jambu Semarang menunjukkan senyawa berupa γ - sitosterol saat diidentifikasi menggunakan GC-MS.

B. Saran

Metode yang dilakukan perlu dikembangkan dengan menggunakan metode lain yang lebih efektif supaya didapatkan isolat murni dengan kuantitas yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Afify, M.R. Abd., Fayed A. Sayed., Syalaby A. Emad., El-Shemy A. Hany. 2011. *Syzygium cumini* (Pomposia) active principles exhibit potent anticancer and antioxidant activities. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 5 (7), pp 948-956. DOI: 105897/AJPP10.420
- Alamendah. 2014. *Jambu Semarang (Syzygium samarangense) Si Manis Mengkilap..* Diakses pada 05 April 2021 pukul 18.30 WIB.
- Atun, Sri. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik bahan Alam. *Jurnal Pendidikan Kimia*. Vol. 8. No. 2 (53-61).
- Balaurungan, R. Stalin, V. Ignacimuthu, S. 2012. Molecular docking of γ -sitosterol with some target related to diabetes. *J. Med. Chem.* 47 (2012) 38-43.
- Burke, W. et al. 1974. Mechanisme of Liebermenn-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol. Vol. 20. No. 7. 794-801.
- Chemat, F., Tomao, V., dan Viroto, M. 2008. Ultrasound-Assisted Extraction in Food Analysis. DOI: 10.12101/978142004.5673.ch5.
- Chumkaew, Parinuch., Kato, Shigeru., Chantrapromma, Kan. 2010. New Cytotoxic Steroids from The Fruits of

Syzygium siamense. *Journal of Asian Natural Products Research*. 12:5, 424-428. DOI: 10.1080 / 10286021003762028.

Ciulei, J. 1984. Methodology for analysis of Vegetable and Drugs. *American Journal of Plants Sciences*. Vol 5. No. 19. September 12, 2014.

Kumoro C. A. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia.

Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.

Devakumar, R., Keertana, V., Sudha SS. 2017. Identification of Bioactive Compounds by GC-MS Analysis of *Syzygium jambos* (L) Collected from Western Ghats Regoin Cobatore, Tamin Nadu. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol. 10, Issue 1, 2455-3891.

Djaeni *et al.* 2016. Ekstraksi Antosianin dari Kelompok Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan. Vol. 6 (3) doi.org/10.17728/jatp.236

Edawati, Z. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol *Ascidia Didemnum* sp. dari Kepulauan Seribu dengan Metode 1-1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan

Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif.
FMIPA.

- Elufioye, O. Taiwo., Obuotor, M. Efere., Adesanya A. Saburi. 2017. Anticholinesterase Constituens from the Leaves of *Spondias mombin* L. (Anacardiceae). *Biologic*. 11, 107-114.
- Fasya, G. Ahmad., Dinasti, R. Anike., Syofiyah, Muharromatus. dkk. 2018. Ekstraksi, Hidrolisis dan Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella sp.* *Journal of Chemistry*, 5:9 EISSN: 2460-6871.
- Fatkhy L. Nadia. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Jambu Air (syzygium samarangense) Kultivar Merah Muda (Masam Manis Pink) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih. (Ratus Norvegicus) yang Diinduksi Aloksan.* Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Naskah Publikasi.*
- Fessenden dan Fessenden. 1986. *Kimia Organik.* Jakarta: Erlangga.
- Gandjar G. Ibnu dan Rohman Abdul. 2011. *Kimia Farmasi Analisis.* Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gowri, S. Shyamala., dan Vesantha, K. 2010. Phytochemical Screening and Antibacterial Activities of *Syzygium*

cumini (L.) (myrtaceae) Leaves Extracts. Vol. 2. No. 2.
Pp 1569-1573. ISSN : 0974-4304.

Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi 4, terjemahan Kosasih P dan SoediroL.* Bandung: Institut Teknologi Bandung.

Hanani, et al. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia sp* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, ISSN. 169-9883.

Heinrich dkk. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi.* Hungary: Elsevier.

Hendayana S. 1994. *Kimia Analitik Instrumen.* Ikip Press. Semarang

Heras, B De Las., Rodriguez, B., Bosca, L., Villar, A.M. 2003. Terpenoids: Sources, Structure Eludation and Therapeutic Potential in Inflammation. *Journal of Medical Chemistry*, 2003, 3,53-67.

Huliselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J., & Wewengkang, D. S. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Metanol, dan n-Heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*). Vol. 4. No. 3. ISSN 2302-2493.

Hussain, S. Z., & Maqbool, K. 2014. GC-MS : Principle , Technique and its application in Food Science. INT J

CURR SCI 2014, 13:E 116-126. ISSN 2250-1770

- Ibrahim, Sanusi., Sitorus, Maryam. 2013. Teknik Laboratorium Kimia Organik. Yogyakarta: Graha Ilmu
- Jones, P.J., M. Raeini-Sarjaz, F.Y. Ntanions, C.A. Vanstrone, J.Y. Feng, dan WE. Parsons. 2000. Modulation of Plasma Lipid Levels and Cholesterol Kinetics by Phytosterol versus Phytostanol Esters. *J. Lipid Res.* Vol. 41
- Li Guo-Qiang., Zhang, Yu Bo., Wu, Peng., et al. 2015. New Phloroglucinol Derivatives from the Fruit Tree *Syzygium jambos* and Their Cytotoxic and Antioxidant Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. DOI:10.1021/acs.jafc.5b04293.
- Luque-Garcia dan Luque de Castro. 2003. Ultrasound: a Powerful Tool for Leaching. Vol. 22. No. 1. Doi:10.106/S0165-9936(03)00102-X.
- Kamala K, et al. 2014. Isolation and characterization of biologically active alkaloids from marine actinobacteria *Nocardopsis sp. NCS1*. *Journal of Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. doi.org/10.106/j.cab.2014.10.005.
- Kannan, A., Hettiarachchy, N., Arayan, S., 2009, Colon and Breast Anti-Cancer Effects of Peptide Hydrolysates Derived from Rice Bran. *The Open Bioactive*

Compounds Jurnal. Vol. 2. TOBC-J-2-17. DOI: 10.2174/1874847.300902010017.

Kar Ashutosh. 2013. *Farmakognosi dan Farmakobioteknologi*. Diterjemahkan oleh Manurung July; Syarif R. Winny; Vidhayanti Henrita. Ed. 2. Jakarta: EGC.

Khandaker M.M., Boyce A.N., Md. Jahan S. dan Mat N. 2015. Bioactive Constituents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Three Cultivars of Wax Apple (*Syzygium Saarangense* L.) Fruit. *Research journal of Biotechnology*. Vol.2012. Doi: 10.1100/2012/728613

Khasanah, Ismiyyatun. Dkk. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanolik kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Artikel*. Fakultas farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Kumoro C. A. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia.

Kurniawan, Ardiansyah. 2014. Kajian Aktivitas Senyawa Antibakteri *Actinobacillus sp* dari Larva Ikan Patin Siam terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *Jurnal Sumberdaya Perairan*. Vol. 8. No 1. ISSN 1978-1652.

Madhavi M., Ram Raghu M. 2015. Phytochemical Screening and evaluation of biological activity of root extracts of *syzygium samarangense*. *IJRPC* 2015,5(4), 753-763. ISSN: 2231-2781.

- Majumder, Rajib., Alam, Badrul. Md., Chowdhury, T. Sayeeda., Bajpai K. Vivek. Dan Shukla, Shruti. 2017. Quantitative Measurement of Bioactive Compound from Leaves of *Syzygium samarangense* with antioxidant efficacy. 45 (2):169-178. DOI:<http://dx.doi.org/10.4038/jnsfsr.v45i2.8182>.
- Mamonto, S., *et al.* 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Daun Keji Beling. Universitas Negeri Gorontalo
- Marliana, S.D., Suryanti,V., dan Suyono, 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol, *Biofarmasi* 3 (1): 26-31, ISSN: 1693-2242
- Mason D. Jeremy dan Weinreb M. Steven. 2019. The Alstoscholarisine Alkaloids: Isolation, Structure determination, Biogenesis, Biological Evaluation, and Synthesis. ISSN. 1099-4831.
- Miryanti, Arry., Sapei, Lanny., Budiono, Kurniawan. dan Indra, Stephen. 2011. Ekstraksi Antioksidan dari Buah Manggis (*Garcinia mmangostana L.*)
- Mustanir dan Rosnani, 2008. Isolasi Senyawa Bioaktif Penolaj (*Repellent*) Nyamuk dari Ekstrak Aseton Batang Tumbuhan Lugundi (*Vitex trivolia*). Jurusan Kimia

FMIPA Universitas Syiah Kuala, Darusalam Banda Aceh. Vol XIX.

Mutmainnah P. Ayu., *et al.* 2017. Identifikasi Senyawa Turunan Hasil Fraksinasi Kayu Akar *Artocarpus odoratissimus*. 3 (2). E-ISSN : 2407-795X.

National Nutritional Food Association. 2001. *Plant Sterol and Stanols*. www.nnfa.org/service/science diakses tanggal 5 April 2019

NIST Chemistry WebBook. 2018. *2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl*. Diakses tanggal 29 Oktober 2019.

Nurhasnawati, H., Handayani, F., & Samarinda, A. F. 2017. Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense L.*) Prakash, A., Rigelhof, F., & Miller, E. 2011. Antioxidant Activity. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. Vol. 3. No. 1. 91-95.

Pratiwi, Liza., *et al.* 2016. Ethanol extract, ethyl acetate fraction, and n-heksan fraction mangosteen peels (*Garcinia mangostana L.*) as source of bioactive substance free-radical scavenger. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*.

PubChem. U.S. National Library of Medicine. Pubchem.ncbi.nlm.gov. Diakses tanggal 28 Oktober 2018

- Pyka, A., Babuska, M., Bober, K., Gurak, D., Klimczok, Wioletta., Misczyk, M. 2013. Influence of Temperature of Silica Gel Activation on Separation of Selected Biologically Active Steroid Compounds. *Journal of Liquid Chromatography*, 29:14, 2035-2044, DOI: 10.1080/10826070600758449
- Raga, Dennis D., et al. 2011. Bioactivities of Triterpenes and a Sterol from *Syzygium samarangense*. *6c*. 235-244
- Ragasa, CY., Torres, O. B., Shen, C., Lachica. A. B. 2014. Triterpenes from the Leaves of *Syzygium polycephalum*, *S. Cumini* and *S. Samarangense*. *Chemistry of Natural Compounds*. Vol. 50 pp. 942-944.
- Raharjo, Tri Joko. 2013. Kimia Hasil Alam. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Rahim Erlena N., et al. 2018. GC-MS Analysis of Phytochemical Compounds in *Syzygium polyanthum* Leaves Extracted using Ultrasound-Assisted Method. *Pharmacogn* : 10(1):110-119
- Reni, Y Euis. 2018. Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Yogyakarta: CV. Budi Utama
- Rohman, Abdul. 2009. *Kromatografi untuk analisis obat*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Rollando, R. 2019. Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit.

Malang: CV. Seribu Bintang.

- Rubiyanto, Dwiwarso. 2017. Metode Kromatografi Prinsip Dasar, Praktikum dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi. Yogyakarta: Budi Utama.
- Saifudin dkk. 2013. Aktivitas Antioksidan Pada Enam Jenis Tumbuhan *Sterculiaceae*. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. Vol. 31. No. 2. 103-109. ISSN: 0216-4329.
- Saifudin Aziz. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Ed. 1. Yogyakarta: Deepublish.
- Saleem, Mohammad. 2009. Lupeol, A Novel Antti-Inflammatory and Anti-Cancer Dietary Triterpene. 28; 285 (2): 109-115. DOI: 10.106/j.canlet.2009.04.033
- Samejo, M. Qasim., Memon, Shababuddin., Bhangar, M. Iqbal. Dan Khan, M. Khalid. 2013. Isolation and Characterization of Steroids from *Calligonu polygonoides*. *Journal of Pharmacy Research (6)* 346-349. Doi.org/10.1016/j.jopr.2013.03.017.
- Samy, M.N., Sugimoto, S. Matsunami, K., Otsuka, H., Kmael, M.S. 2014. One new Flavonoid Xyloside and One New Natural Triterpene Rhamnoside from The Leave of *Syzygium Grande*. *Phytochem*

- Sangi *et al.* 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. Vol.1. No. 1.
- Sarker D. Satyajit dan Nahar Lutfun. 2009. Kimia untuk Mahasiswa Farmasi: Bahan Kimia Organik, Alam dan Umum. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Sastrahidayat, R. Ika. 2014. *Peranan Mikroba bagi Kesehatan Tanaman dan Kelestarian Lingkungan*. Malang: Universitas Brawijaya Press
- Sastrahamidjojo, H. Dan Pranowo H. D. 1985. *Kromatografi*. Penerbit Liberti: Yogyakarta.
- Septiandari, Nurwati. 2016. Isolasi Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosu*) Menggunakan Kromatografi Kolom Cara Kering dan Basah.
- Setiabudi, D A dan Tukiran. 2017. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*). Vol. 6. No. 3.
- Shen N, *et al.* 2010. Advances of the mechanism Study on Berberine in the control of blood glucose and lipid as well as etabolism disorders. Vol. 45. No. 6, 699-704.
- Sholihah, *et al.* 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas

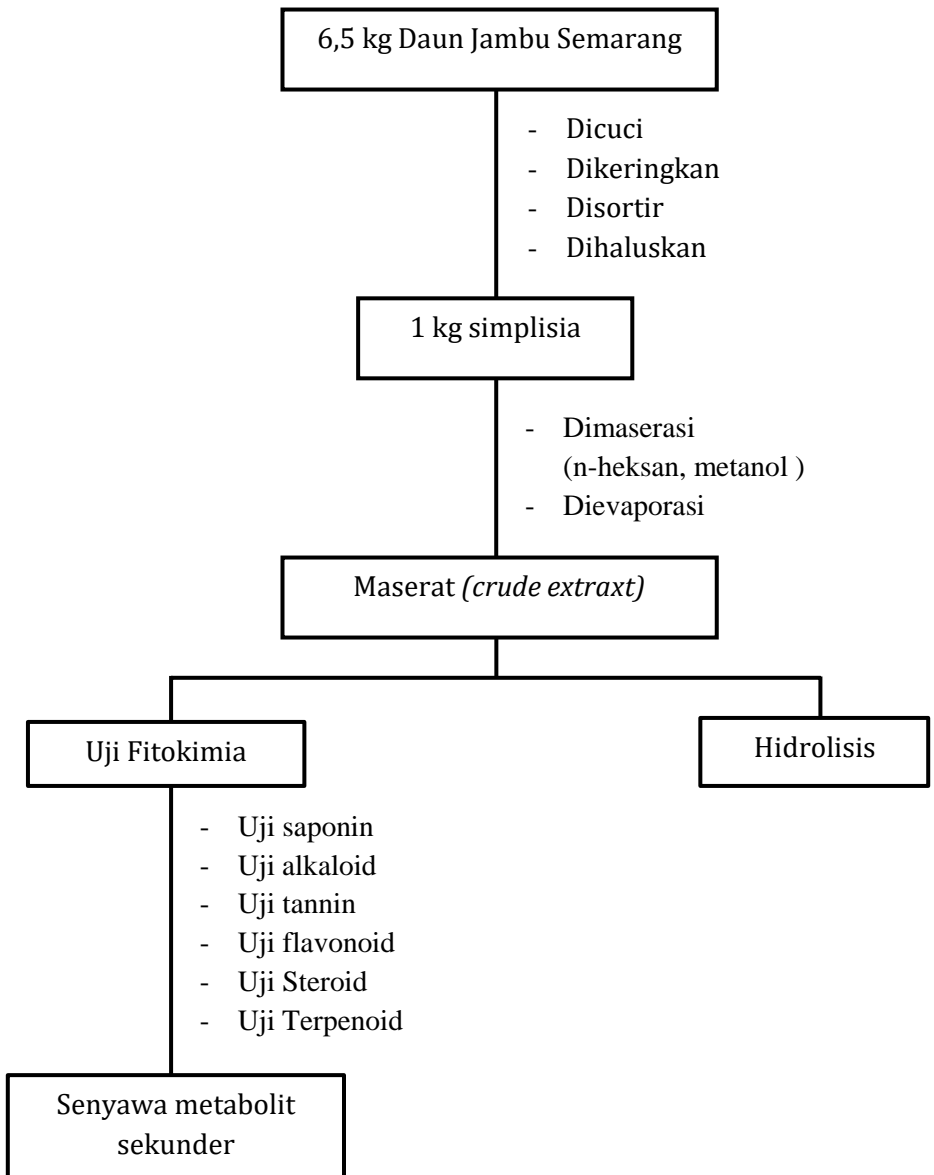
- Antioksidan dan Kulit Manggis. *Jurnal Keteknikan Pertanian*. Vol. 5, No.2. E-ISSN: 2338-8439.
- Sumardjo, Darmin. 2009. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran Program Strata I Fakultas Bioeksakta. Jakarta: EGC.
- Sumbono, A. 2015. Biokimia pangan dasar. Edisi I. Cetakan I. Yogyakarta: Deepublish. Halaman 154-160.
- Tabassum S Kaniz. 2013. Phytochemical and pharmacological Investigation on *Syzygium samarangense* Leaf. *Dissertation*. Department of Pharmacy. East West University.
- Tanaka, J.C.A, *et al.* 2006. Antibacterial Activity of Indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. *Antimicrobial Activity of A. Ramiflorum Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. ISSN. 0100-879X
- Tarigan V.H., Hanum Chairani. dan Damanik Revandi IM. 2015. Pertumbuhan Vegetatif dan Generatif Jambu Air (*Syzygium samarangense* (Blum) Merr. & Perry) Varietas Deli Hijau dengan Perlakuan ZPT dan Media Tanam. *Jurnal Agreokoteknologi*. Vol.3. No.2 : 740-747. ISSN No. 2337-6597.
- Tensiska dkk. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu.

- Thomas, A. N. S, 1993, *Tanaman Obat Tradisional I*, Kanisius, Yogyakarta.
- Tonius, Joly., Wibowo, A. Muhamad., Idiawati, Nora. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid Fraksi n-Heksana Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia L.*). Vol. 5(1), 1-7. ISSN 2303-1077.
- Tripathi, Nisha., Kumar, Sunita., Singh, Rakesh., Singh C.J., Singh, Pranshant., Varshney V.K. 2013. Isolation and Identification of γ -sitosterol by GC-MS from the Leaves of *Girardinia heterophylla* (Decne). *The Open Bioactive Compounds Journal*, Vol. 4, 25-27. ISSN: 1874-8473.
- Veronita, F., Wijayati, N., & Mursiti, S. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Binahong serta Aplikasinya sebagai Hand Sanitizer. *Indonesian Journal of Chemical Science*. Vol. 6. No. 2. ISSN: 205-6844.
- Voight, R. 1994. *Buku pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi V*. Yogyakarta: Universitas Gadjahmada Press.
- Wang Zhiyan, *et al.* 2018. Analysis of alkaloid from *Peganum harmala L.* sequential extracts by liquid chromatography coupled to ion mobility spectrometry. *Journal of Chromatography*. B 1096 (2018) 73-79.

- Wati, et al. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Metanol pada Daun Berwana Merah Pucuk Merah (*Syzygium myrtifilium Walp.*). Vol. 14. No. 2. EISSN 2476-9258.
- Wawolumaya, J. T. 2012. Potensi Antibakteri pada Beberapa Jenis Teripang (*Sticopus spp.*) yang Berasal dari Perairan Lampung Selatan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran Jatinangor.
- Wonorahardjo, Surjani. 2013. Metode-metode Pemisahan Kimia. Jakarta: Indeks
- Yulianingtyas, aning dan Kusmartono, Bambang. 2016. *Optimasi Volume Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L).* Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Industri IST AKPRIND.
- Yulita A. Aris. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid pada Biji *Swietenia magahoni (L) Jacq.* Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Dept. Farmakogmosi dan Fitokimia Surabaya.
- Zhang Qian. 2010. Barberine Moderate glucose and lipid metabolism through multipathway mechanism. Vol. 2011. Doi: 10.1155/2011/924851.
- Zeng Z, Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zhang L, et al. Breast Cancer Development And Progression: Risk Factors, Cancer Stem Cells, Signaling Pathways, Genomics, And Molecular Pathogenesis. Genes

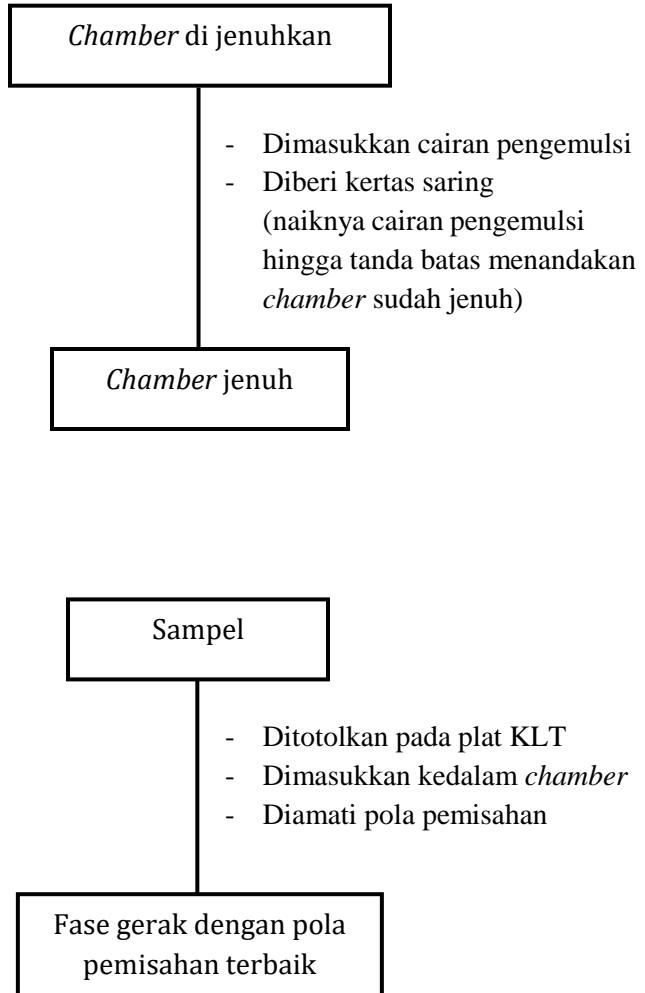
&Diseases. 2018;5(2):77-106.

Lampiran 1. Diagram alir peneliti

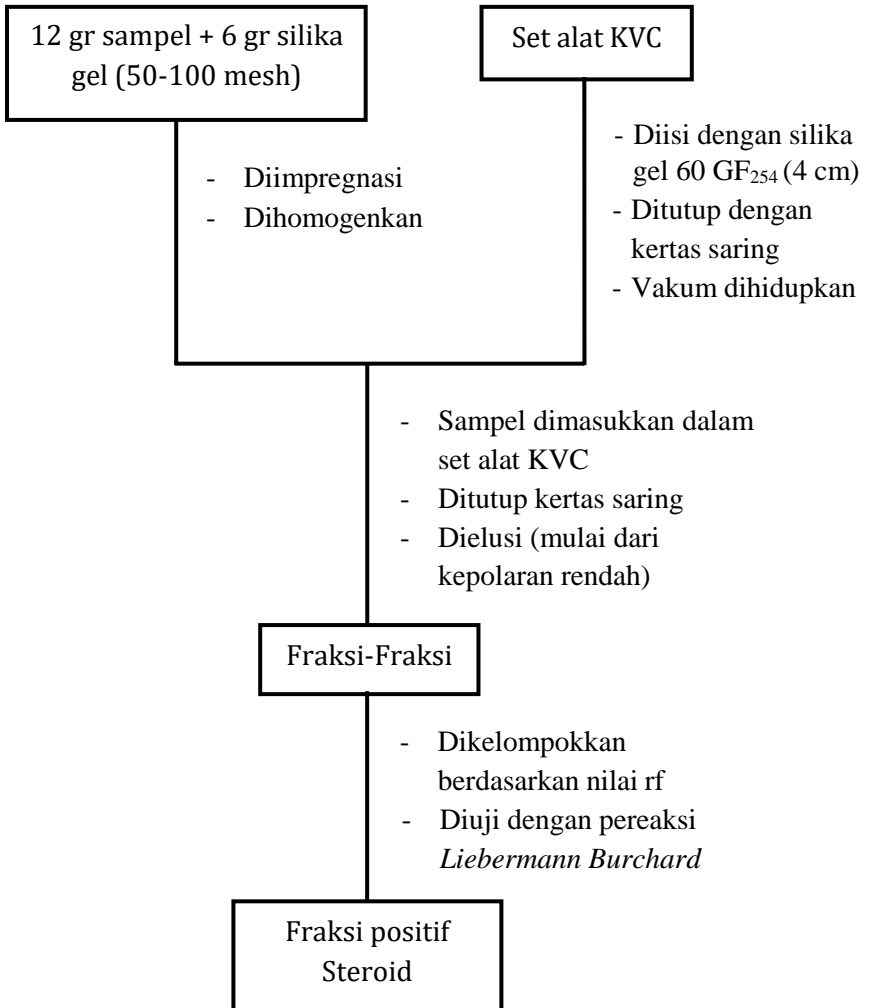


Isolasi Steroid

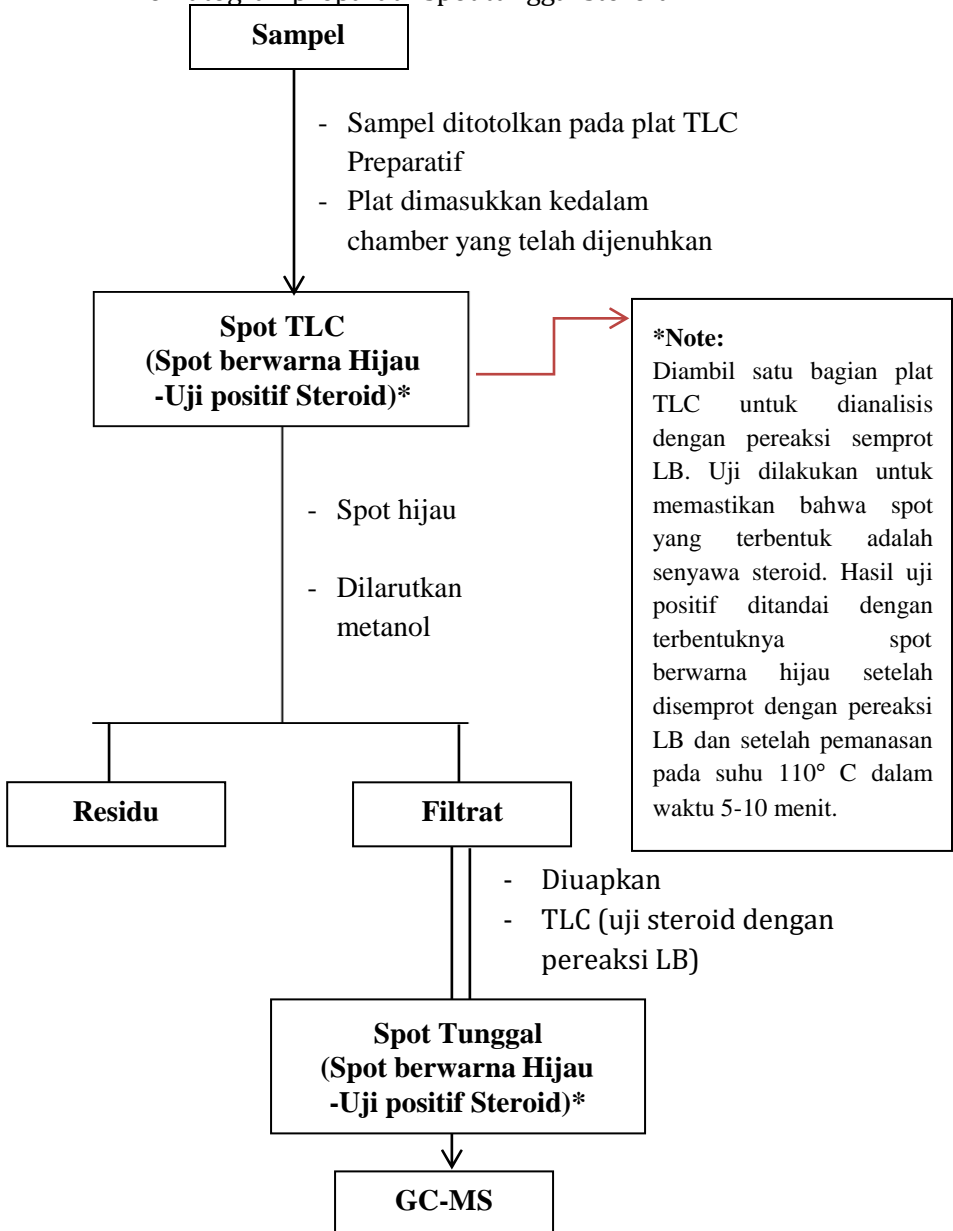
Penentuan Pelarut Terbaik dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



Fraksinasi dengan Kromatografi Vakum Cair (KVC)



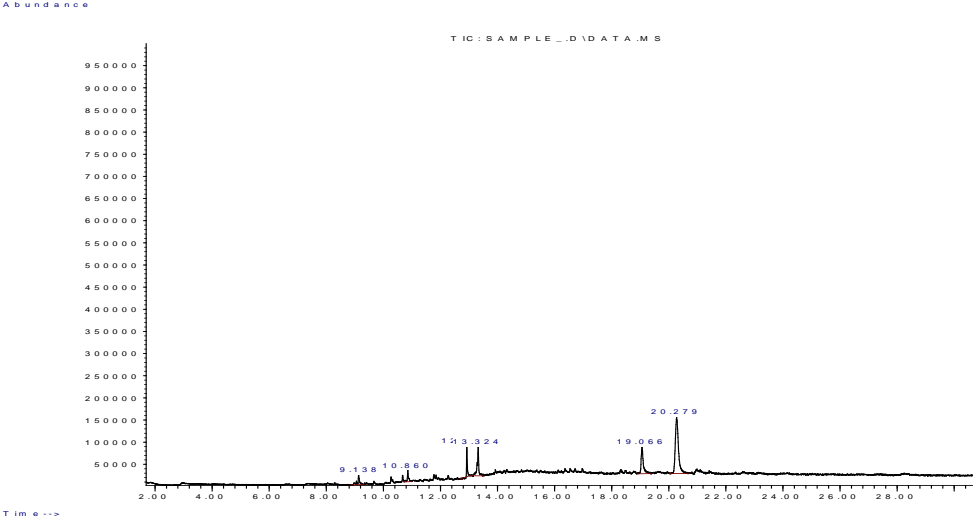
Kromatografi preparatif spot tunggal steroid



Lampiran2. Pembuatan Reagen

Nama Reagen	Komposisi	Referensi
<i>Liebermann Buechard</i>	5 mL anhidrat asam asetat + 5 mL asam sulfat pekat + 50 mL etanol absolute	Kristanti, 2008
Hager	Larutan jenuh asam pikat	Kar, 2013

Lampiran 3. Hasil GC-MS



Lampiran 4. Dokumentai Penelitian

	
<p>Daun Jambu Semarang</p>	<p>Pencucian Sampel</p>
	
<p>Pengeringan Sampel</p>	<p>Sampel yg telah dihaluskan</p>



Maserasi



Maserasi berbantu gelombang ultrasonik



Evaporasi



Maserat (*Crude Extract*)



Hidrolisis



Pemisahan















Fraksi n-heksan



Hidrolisat



<p>Uji steroid</p>	<p>Pencarian pelarut terbaik</p>
	
<p>KVC</p>	<p>Fraksi</p>
	
<p>Pengumpulan Fraksi</p>	<p>Fraksi Analisis UPLC MS</p>
	

Fraksi 2	Fraksi 3
	
Fraksi 4	Fraksi 5
	
KLT Preparatif (Fraksi 3)	KLT Preparatif (Fraksi 3)
	
Spot di kerik	Noda tunggal KLT

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

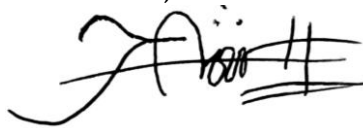
1. Nama : Hilmy Agung Nugroho
2. TTL : Semarang, 13 Mei 1997
3. Alamat : Wonosari 07/07, Ngaliyan, Semarang
4. No.HP : 0895423471598
5. E-mail : hilmyagungn@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. TK ABA 31 Semarang
2. MI Muhammadiyah Semarang
3. MTs Negeri Kadugede Kuningan
4. MAN Kendal

Semarang, Maret 2022

Penulis,



Hilmy Agung Nugroho
NIM 1508036026