



TESIS - SK 185401

**Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun  
*Stachytarpheta jamaicensis***

JENI ELVANDARI SUSANTI ANI  
01211750010006

Dosen Pembimbing:  
Sri Fatmawati, Ph.D

PROGRAM MAGISTER  
BIDANG KEAHLIAN KIMIA ORGANIK  
DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2020



TESIS - SK 185401

## Isolation Secondary Metabolite Coumpounds from *Stachytarpheta jamaicensis* Leaves

JENI ELVANDARI SUSANTI ANI  
01211750010006

Dosen Pembimbing :  
Sri Fatmawati, Ph.D

MASTER PROGRAM  
ORGANIC CHEMISTRY  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY  
FACULTY OF SCIENCE AND DATA ANALYTICS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2020

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar

**Magister Sains (M.Si)**

di

**Institut Teknologi Sepuluh Nopember**

Oleh

**JENI ELVANDARI SUSANTI ANI**  
**NRP: 01211750010006**

Tanggal Ujian: 16 Juli 2020  
Periode Wisuda: September 2020

Disetujui Oleh: **Pembimbing:**

1. **Sri Fatmawati, M.Sc, Ph.D**  
**NIP. 19801103 200212 2 001**



**Penguji:**

1. **Prof. Hamza Fanzuri, M.Si., Ph.D.**  
**NIP. 19691017 199412 1 001**



2. **Suprpto, M.Si, Ph.D**  
**NIP. 19720919 199802 1 002**



3. **Ariffadlan, D.Sc**  
**NIP. 19810809 200812 1 001**



**Kepala Departemen Kimia**  
**Fakultas Sains dan Analitika Data**



**Prof. Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, M.Si**  
**NIP. 19740428 199802 1 001**

## **Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun *Stachytarpheta jamaicensis***

Nama : Jeni Elvandari Susanti Ani

NRP : 01211750010006

Jurusan : Kimia ITS

Pembimbing : Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D

### **Abstrak**

*Stachytarpheta jamaicensis* merupakan tanaman dari famili Verbenaceae yang digunakan sebagai obat tradisional, salah satunya yaitu sebagai obat untuk mengobati penyakit diabetes. Tanaman ini banyak digunakan sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya fenolat, terpenoid, dan saponin. Senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk pertahanan tubuh suatu organisme dalam jangka waktu panjang. Oleh karena itu, penelitian ini mengkaji senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman *S. jamaicensis*. Dua senyawa yang telah berhasil diisolasi dari daun *S. jamaicensis* yaitu (E)-6-((E)-4-((Z)-2-5-hidroksi-2-metillen sikloheksilidena) etilidena)-7a-metil-3a,4,5,6,7,7a-heksahidro-3H-inden-1-yl)-3-metilhept-4-en-2-ona dan 2-(hidroksimetil) siklohek-3-enona.

Kata kunci : *Stachytarpheta jamaicensis*, metabolit sekunder.

## Isolation Secondary Metabolite Coumpounds from *Stachytarpheta jamaicensis* Leaves

Name : Jeni Elvandari Susanti Ani  
NRP : 01211750010006  
Department : Kimia ITS  
Supervisor : Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D

### Abstract

*Stachytarpheta jamaicensis* is a plant of the *Verbenaceae* family, which is used as traditional medicine, one of which is as a medicine to treat diabetes. This plant is widely used as traditional medicine because it contains secondary metabolite compounds including phenolics, terpenoids, and saponins. Secondary metabolite compounds function for the defense of an organism in the long term. Therefore, this study examines secondary metabolite compounds contained in *S. jamaicensis* plants. Two compounds that have been successfully isolated from the leaves of *S. jamaicensis* are (E)-6-((E)-4-((Z)-2-(5-hydroxy-2-methylenecyclohexylidene)ethylidene)-7a-methyl-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-3H-inden-1-yl)-3-methylhept-4-en-2-one and 2-(hidroksimetil) siklohek-3-enone.

Keywords : *Stachytarpheta jamaicensis*, Secondary metabolite.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmatNya sehingga Proposal Tesis yang berjudul “Aktivitas Antidiabetes, Antioksidan dan Senyawa Metabolit Sekunder dari *Stachytarpheta jamaicensis*” dapat di selesaikan dengan baik. Tesis ini disusun sebagai prasyarat untuk menyelesaikan pendidikan S2 di program pascasarjana Jurusan Kimia, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada:

1. Ibu Sri Fatmawati, MSc., Ph.D selaku dosen pembimbing dan dosen wali yang telah memberikan arahan, bimbingan dan masukan selama penyusunan tesis.
2. Prof. Dr. Taslim Ersam selaku Kepala Lab. Kimia Bahan Alam dan Sintesis yang telah memberikan arahan, dorongan, dan fasilitas selama penelitian.
3. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc selaku Ketua Departemen Kimia Fakultas Sains ITS.
4. Prof.Mardi Santoso, Ph.D selaku Kaprodi Pascasarjana Kimia Fakultas Sains ITS.
5. Keluarga besar terutama Bapak Noch Ani dan Ibu Hedy Yuliana Ani yang telah memberikan dukungan moral dan materil.
6. Seluruh anggota tim penelitian Lab. Natural product and Synthetic Chemistry, seluruh rekan-rekan mahasiswa S2 Kimia ITS.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tesis ini tentu tidak lepas dari kekurangan, maka dari itu segala saran dan kritik yang membangun untuk kebaikan tesis sangan diperlukan. Semoga tesis ini memberikan manfaat bagi penulis maupun pembaca.

Surabaya, Juli 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT .....	v
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	3
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
BAB II KAJIAN PUSTAKA .....	5
2.1 Tinjauan Botani .....	5
2.2 Metabolit Sekunder dan Aktivitas Biologis Tanaman .....	6
2.3 Proses Pemisahan Senyawa .....	13
2.3.1 Ekstraksi .....	14
2.3.2 Fraksinasi .....	14
2.3.3 Kromatografi .....	16
2.3.3 Pemurnian Senyawa .....	18
2.6 Identifikasi senyawa .....	19
2.6.1 IR ( <i>Infra Red</i> ) .....	19
2.6.2 NMR ( <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> ) .....	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	25
3.1 Alat dan Bahan .....	25
3.1.1 Alat .....	25
3.1.2 Bahan .....	25
3.2 Prosedur Kerja .....	25
3.2.1 Ekstraksi .....	25
3.2.2 Fraksinasi Senyawa 1 .....	26

3.2.2 Fraksinasi Senyawa 2 .....	26
3.3 Identifikasi Senyawa .....	27
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	29
4.1 Ekstraksi Daun <i>S. jamaicensis</i> .....	29
4.2 Fraksinasi dan Isolasi Senyawa 1 .....	29
4.3 Fraksinasi dan Isolasi Senyawa 2 .....	35
4.4 Penentuan Struktur .....	38
4.4.1 Penentuan Struktur Senyawa 1 .....	38
4.4.2 Penentuan Struktur Senyawa 2 .....	43
BAB V HASIL PENUTUP .....	45
5.1 Kesimpulan .....	45
5.2 Saran .....	45
DAFTAR PUSTAKA .....	47
LAMPIRAN .....	53
BIOGRAFI PENULIS .....	62



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pecut Kuda ( <i>Stachytarpheta jamaicensis</i> ).....	5
Gambar 4.1 KLT hasil KCV dengan Eluen n-Heksana: Etil Asetat (8:2) .....	32
Gambar 4.2 Kromatografi KLT Fraksi 1-6 hasil KCV dengan Eluen n-Heksana: Etil Asetat (8:2) .....	32
Gambar 4.3 KLT hasil KCV dengan eluen n-Heksana: Etil Asetat (7:3) .....	33
Gambar 4.4 Sub fraksi gabungan (4A-4I) dengan eluen n-Heksana: Etil Asetat (7:3) .....	33
Gambar 4.5 Hasil pemantauan KLT pada metode KKG dengan eluen n-Heksana: Etil Asetat (7:3).....	34
Gambar 4.6 Sub fraksi gabungan (4D1-4D7) dengan eluen n-Heksana: Etil Asetat (7:3) .....	35
Gambar 4.7 Profil KLT senyawa 1 (4D3) n-Heksana: Etil Asetat (7:3) .....	36
Gambar 4.8 Kromatografi menggunakan KLT sistem tiga eluen (a) Kloroform: Etil Asetat (9:1), (b) Metilen Klorida: Etil Asetat (9:1), (c) n-Heksana: Etil Asetat (8:2) .....	37
Gambar 4.9 Kromatografi menggunakan KLT 2D dengan eluen n-Heksana: Etil Asetat (7:3) dan Kloroform: Etil Asetat (9:1).....	37
Gambar 4.10 Kromatografi KLT fraksi hasil KKG eluen n-Heksana: Etil Asetat (100:0→0:100).....	38
Gambar 4.11 KLT fraksi hasil KKG eluen n-Heksana: Etil Asetat (100:0→0:100).....	38
Gambar 4.12 Profil senyawa 2 (4C4) dengan eluen n-Heksana: Etil Asetat (7:3).....	39
Gambar 4.13 Kromatogram menggunakan KLT sistem tiga eluen (a) Kloroform: Etil Asetat (9:1), (b) Metilen Klorida: Etil Asetat (9:1), (c) n-Heksana: Etil Asetat (8:2).....	40
Gambar 4.14 Kromatogram menggunakan KLT 2D dengan eluen n-Heksana: Etil Asetat (7:3) dan Kloroform: Etil Asetat (9:1) .....	40
Gambar 4.15 (E)-6-((E)-4-((Z)-2-5-hidroksi-2 metilen sikloheksilidena)etilidena- 7a-metil-3a,4,5,6,7,7a-heksahidro-3H-inden-1-yl)-3-metilhept-4-en-2- ona.....	43
Gambar 4.16 Korelasi HMBC (E)-6-((E)-4-((Z)-2-5-hidroksi-2 metilen sikloheksilidena) etilidena) -7a-metil-3a,4,5,6,7,7a-heksahidro-3H-inden- 1-yl)-3-metilhept-4-en-2-ona .....	44

Gambar 4.17 Senyawa 2 spektrum Infra Merah (IR) dari senyawa 2.....	45
Gambar 4.17 2-(hidroksimetil) siklohek-3-enona .....	46

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Senyawa Metabolit Sekunder pada <i>S. Jamaicensis</i> .....	6
Tabel 2.2 Daerah Serapan IR .....	21
Tabel 2.3 Spektrum $^1\text{H}$ dan $^{13}\text{C}$ NMR Senyawa <i>S. Jamaicensis</i> .....	24
Tabel 4.1 Subfraksi gabungan 4D1-4D7.....	35
Tabel 4.2 Subfraksi gabungan fraksi 4C .....	39
Tabel 4.3 Data NMR 1D ( $^1\text{H}$ dan $^{13}\text{C}$ NMR) Senyawa 2 .....	41
Tabel 4.4 Data HMBC senyawa 1 .....	43
Tabel 4.5 Data HMBC senyawa 2 .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.1 Ekstraksi dan Fraksinasi senyawa 1 dan 2.....	57
Lampiran 1.2 Spektrum NMR 1D (1H dan 13C NMR) dan HMBC senyawa 1 dan 2.....	60

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan beriklim tropis yang terletak di antara dua benua (benua Asia dan Australia) dan dua samudera (Samudera Hindia dan Samudera Pasifik). Indonesia juga terdiri atas 17.500 pulau dengan panjang garis pantai sekitar 95.181 km, sehingga memiliki tingkat keberagaman hayati yang sangat tinggi. Tingginya keberagaman hayati tersebut menjadikan Indonesia menduduki peringkat ke tujuh di dunia. Keberagaman hayati tersebut terdiri dari tumbuhan yang mencapai 20.000 spesies dan sekitar 40% lainnya merupakan tumbuhan asli Indonesia (endemik) (Cecep *et al.*, 2015).

Tanaman obat disebut sebagai obat herbal atau jamu di Indonesia. Sekitar 85% bahan dari obat herbal melibatkan ekstrak tanaman. Bahkan, sejumlah obat-obatan modern atau sintetis dibuat dari produk isolasi tanaman yang didasarkan pada obat-obatan tanaman tradisional. Salah satu tanaman yang telah lama digunakan sebagai tanaman obat adalah dari famili *Verbenaceae* yang mempunyai genus lebih dari 35 dengan jumlah spesies sekitar 1.200. Tanaman dalam famili *Verbenaceae* dilaporkan memiliki bioaktivitas yang sangat baik sebagai tanaman obat. Ekstrak etil asetat dari *Verbena officinalis* Linn merupakan genus dari *Verbena* yang memiliki aktivitas antiinflamasi (Deepak, 2000). Tanaman *Lantana camara* juga terbukti memiliki kandungan antioksidan sebesar 71,70 ppm yang dapat menangkal radikal bebas (Kumar, 2014). Selain *V. officinalis* Linn dan *L. Camara* terdapat *Stachytarpheta jamaicensis* dari genus *Stachytarpheta* yang juga memiliki bioaktivitas yang baik. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa daun tanaman *S. jamaicensis* memberikan potensi penyembuhan luka pada tikus yang terkena diabetes (Pandian 2013). Selain itu juga, tanaman ini memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antihipertensi, penyembuh luka (Liew dan Young, 2016), anti inflamasi (Sulaiman *et al.*, 2007), antihelminik (Robinson *et al.*, 1990), antidiare (Almeida *et al.*, 1995), dan

*antinociceptive* (Schapoval *et al.*, 1998). Banyaknya bioaktivitas yang dimiliki oleh *S. jamaicensis* (L) Vahl sehingga berpotensi menjadi tanaman obat. Hal ini dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman tersebut.

Metabolit sekunder merupakan metabolit yang tidak secara langsung ikut berperan dalam pengembangan dan pertumbuhan tubuh tumbuhan. Akan tetapi, metabolit sekunder berperan mempertahankan kelangsungan hidup suatu tumbuhan, seperti melindungi tanaman dari hama dan penyakit. Kandungan metabolit sekunder setiap organisme berbeda-beda pada setiap organisme. Hal ini dapat dipengaruhi oleh letak geografis dari suatu tanaman (Anulika *et al.*, 2016). Kandungan utama metabolit sekunder yang ada didalam *S. jamaicensis* adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan terpenoid (Liew dan Young, 2016). Senyawa metabolit sekunder tersebut dapat ditemukan di seluruh bagian tanaman yang meliputi daun, batang, buah dan akar.

*S. jamaicensis* merupakan salah satu tanaman dari famili *Verbenaceae* yang dikenal luas karena bisa digunakan sebagai obat tradisional. Untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti gangguan pencernaan, bisul, flu, batuk dan diabetes melitus (Liew dan Young, 2016). Kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman *S. jamaicensis* telah dilaporkan mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit (Malviya *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian sebelumnya *S. jamaicensis* mengandung beberapa senyawa lanostan fenil asetat (1,3,16  $\beta$ -yl-fenil asetat-lanostan-5,11,14,16,23,25-heksen-22-1), dua steroid glukosida 16  $\beta$ - ( $\beta$ -D glukopirasonil, 3,8,22-trihidroksi) kolestan-1  $\beta$ -yl-6-O-(3,4,5- trimetoksibenzoil)  $\beta$ -D dan 16- $\beta$  ( $\beta$ -D –glukopiranosil 3,8,22-trihidroksi-kolest-5,14,16,23 tetraiene 1 $\beta$ -yl, 6-O-(3,4,5-trimetoksibenzoil)  $\beta$ -D glukopiranosil (Okwu and Offiong, 2009;2010), pada fraksi *n*-heksana diperoleh senyawa 6  $\beta$ -hidroksipolamid dan (3S, 14Z)-3-[(13E)-2-[(14aS)-1-[(E,20R, 24R)-24,25-dimetilhept-22-n-20-yl]-13a-metil-9a,11,12,15-tetrahidro-3H-inden-4-iliden] 10 metillidensiklo heksan-3-ol (Auwalayah, 2018), dan pada fraksi metilen klorida diperoleh senyawa (di-(2-etil-3-metil heksil) ftalat), di- (2-etil-3-metoksimetil heksil) ftalat (Yuliana, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian diatas, maka peneliti fokus pada senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun *S. jamaicensis*. Hingga saat ini, belum ada laporan tentang senyawa yang terkandung pada ekstrak metanol daun *S. jamaicensis* dari fraksi etil asetat.

## **1.2 Rumusan masalah**

Pada penelitian sebelumnya, ekstrak metanol daun *S. jamaicensis* dari fraksi *n*-heksana mengandung senyawa 6  $\beta$ -hidroksiipolamid dan (3*S*, 14*Z*)-3-[(13*E*)-2-[(14*aS*)-1-[(*E*,20*R*, 24*R*)-24, 25-dimetilhept-22-*n*-20-yl]-13*a*-metil-9*a*,11,12,15-tetrahidro-3*H*-inden-4- iliden] 10 metilidensiklo heksan-3-ol (Auwalayah, 2018). Pada fraksi metilen klorida dari ekstrak metanol tanaman *S. jamaicensis* mengandung senyawa (di-(2-etil-3-metil heksil) ftalat), di- (2-etil-3-metoksimetil heksil) ftalat (Yuliana, 2019). Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa dari ekstrak metanol daun *S. jamaicensis* dari fraksi etil asetat. Hal ini disebabkan fraksi etil asetat memiliki profil KLT yang berbeda sehingga perlu diidentifikasi senyawanya.

## **1.3 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah isolasi senyawa pada fraksi etil asetat pada ekstrak metanol daun *S. jamaicensis* dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dari daun *S. jamaicensis*.

## **1.4 Manfaat**

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan bukti ilmiah mengenai senyawa bioaktif dari bahan alam guna menambah potensi tanaman lokal sebagai tanaman herbal milik Indonesia sebagai negara dengan kekayaan hayati yang melimpah.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*



## BAB 2 KAJIAN PUSTAKA

### *2.1 Tinjauan Botani*

*S. jamaicensis* merupakan bagian dari famili *Verbenaceae* dan umumnya dikenal sebagai Gervao atau *Verbena cimarrona*. *S. jamaicensis* ini merupakan tanaman tahunan yang tumbuh dengan tinggi 60-120 cm, memiliki batang berwarna hijau gelap dengan daun berwarna hijau yang terletak berhadapan, berbentuk bulat telur. Tepi daun bergerigi dan tidak berambut. Bunganya berwarna ungu sampai biru gelap (Gambar 2.1). Tanaman ini tumbuh didaerah tropis dan subtropis seperti Amerika, hutan Afrika dan Asia (Idu *et al.*, 2007). Secara tradisional, semua bagian dari tanaman ini bisa digunakan sebagai obat seperti pembersih darah, anti radang, diuretik, keputihan dan batuk (Heyne, 1987). Selain sebagai obat, *S.jamaicensis* juga memiliki bioaktivitas sebagai antimikroba (Idu *et al.*, 2007), anti-inflamasi (Sulaiman *et al.*, 2007), antifungal (Putera *et al.*, 2010), antibakteri, dan antijamur (Suneetha *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 *S. jamaicensis*

Taksonomi dari tanaman *S. jamaicensis* adalah sebagai berikut (Liew dan Young, 2016):

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Supermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua/ dikotil)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Family	: Verbenaceae
Genus	: <i>Stachytarpheta</i>
Spesies	: <i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (L.) Vahl

## 2.2 Metabolit Sekunder dan Aktivitas Biologis Tanaman

Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Kandungan senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya melaporkan bahwa adanya kandungan metabolit sekunder pada *S.jamaicensis* seperti yang ditunjukkan pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1 Senyawa metabolit sekunder pada *S. jamaicensis***

Kandungan Fitokimia	Ekstrak	Hasil Uji	Referensi
Alkaloid	Etanol dan Air	-	Idu dkk., 2007
	Etanol 95%	-	Ruma, 2015
	Heksan	-	Indrayani, 2006
	Kloroform	-	Indrayani, 2006
	Etil Asetat	-	Indrayani, 2006
	Metanol	-	Indrayani, 2006

Kandungan Fitokimia	Ekstrak	Hasil Uji	Referensi
Antrakuinon	Etanol dan Air	-	Idu dkk., 2007
	Etanol 95%	-	Ruma, 2015
Flavonoid	Etanol dan Air	+	Idu dkk., 2007
	Etanol 95%	+	Ruma, 2015
	Etil asetat	+	Sivaranjani dkk., 2013
	Heksan	-	Indrayani, 2006
	Kloroform	-	Indrayani, 2006
	Etil Asetat	+	Indrayani, 2006
	Metanol	+	Indrayani, 2006
Glikosida	Etanol 95%	-	Ruma, 2015
Grup fenol	Etanol 95%	+	Ruma, 2015
	Etil asetat	+	Sivaranjani dkk., 2013
Saponin	Etanol dan Air	+	Idu dkk., 2007
	Etanol 95%	+	Ruma, 2015
Tannin	Etanol dan Air	+	Idu dkk., 2007
	Etanol 95%	+	Ruma, 2015
	Etil asetat	+	Sivaranjani dkk., 2013
	Heksan	-	Indrayani, 2006
	Kloroform	+	Indrayani, 2006
	Etil Asetat	+	Indrayani, 2006
	Metanol	+	Indrayani, 2006
Terpenoid	Etanol 95%	+	Ruma, 2015
	Etil asetat	+	Sivaranjani dkk., 2013

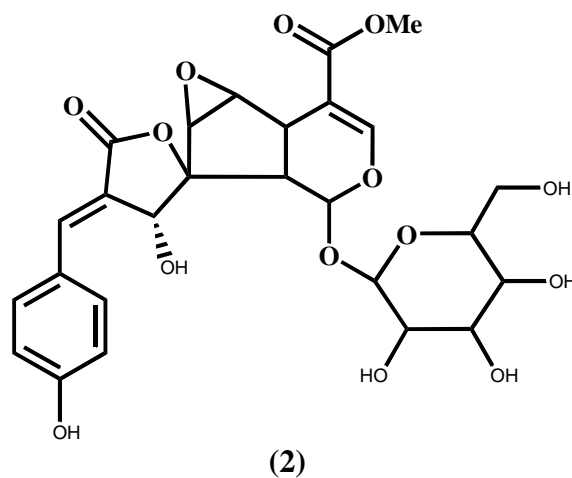
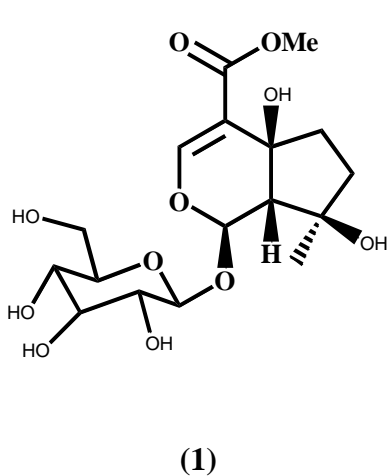
Keterangan + : Ada

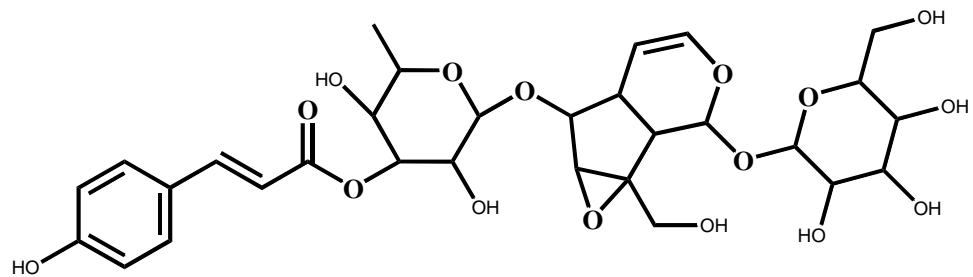
- : Tidak ada

Aktivitas biologis dari suatu tanaman disebabkan oleh adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman tersebut. Berbagai aktivitas biologis dari metabolit sekunder antara lain antikanker, antibakteri, antidiabetes, antioksidan, anti inflamasi, dan masih banyak lagi. Jenis-jenis metabolit sekunder yang dihasilkan juga beraneka ragam diantaranya adalah

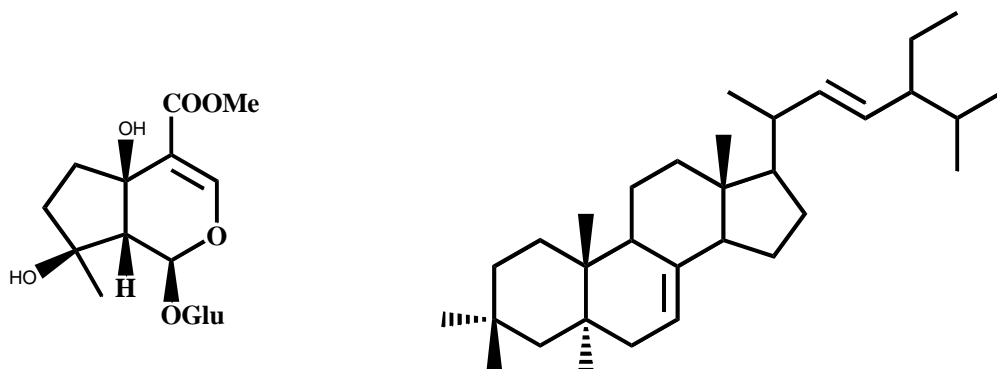
alkaloid, flavonoid, steroid, alkaloid, dan terpenoid (Irchhaiya *et al.*, 2015). Metabolit sekunder yang terkandung dalam *S. jamaicensis* diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tannin (Idu *et al.*, 2007) dan terpenoid (Sivaranjani *et al.*, 2013).

Penelitian terdahulu dari *S. jamaicensis* melaporkan bahwa adanya aktivitas biologis seperti antioksidan, antidiabetes, antihiperurisemia, anti-inflamasi, diuretik, dan analgesik. Tanaman ini telah digunakan secara tradisional oleh masyarakat khususnya yang berusia lanjut sebagai obat alergi, dan gangguan pernapasan, batuk, pilek, demam, konstipasi, disentri dan melancarkan menstruasi (Sivaranjani *et al.*, 2014). Adanya bioaktivitas pada tanaman tersebut menandakan bahwa adanya kandungan senyawa kimia. Beberapa tumbuhan ditemukan dalam genus *Stachytarpheta*, diantaranya adalah *S. Indica*, *S. angustifolia* Mill Vahl, *S. urticaefolia* dan *S. cayyensis*, dilaporkan mengandung senyawa ipolamiida (1) pada *S. indica*. *S. angustifolia* Mill Vahl mengandung sitrifolinosida (2), serratosida (3), dan 6-O-(3''-O- trans- cinnamoil)- $\alpha$ -L- rhamnopyranosil katalpol hepta asetat (4). *S. urticaefolia* dilaporkan mengandung senyawa ipolamiida (1) dan a-spinasterol (5) (Chowdhury Rasheduzzaman *et al.*, 1002; Rasyid M *et al.*, 2015). Pada *S. cayyensis* mengandung senyawa iso-akteosida (6) akteosida (7), leuko septosid (8), martinosida (9) jionosida (10), nenosied B (11) (Froelich *et al.*, 2008; Okoronkwo and John Bull, 2015). *S. glabra* mengandung senyawa fulvoipolamide (12



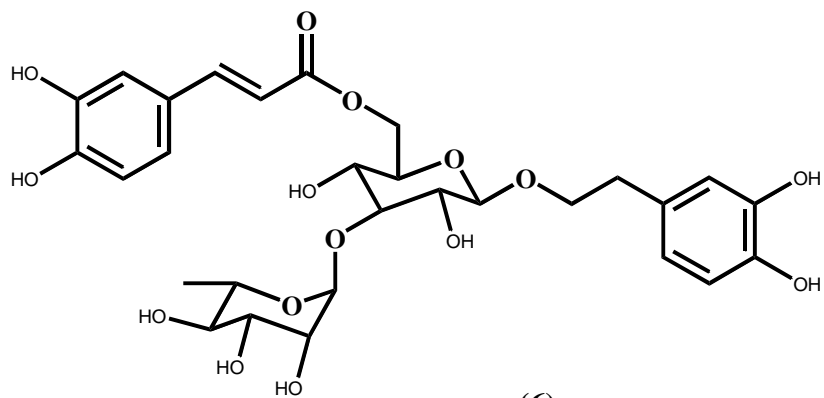


(3)

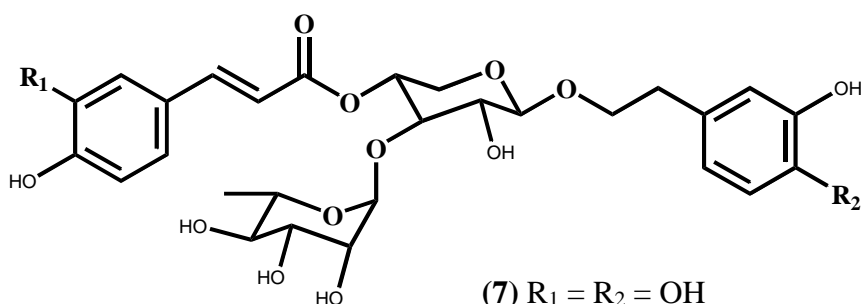


(4)

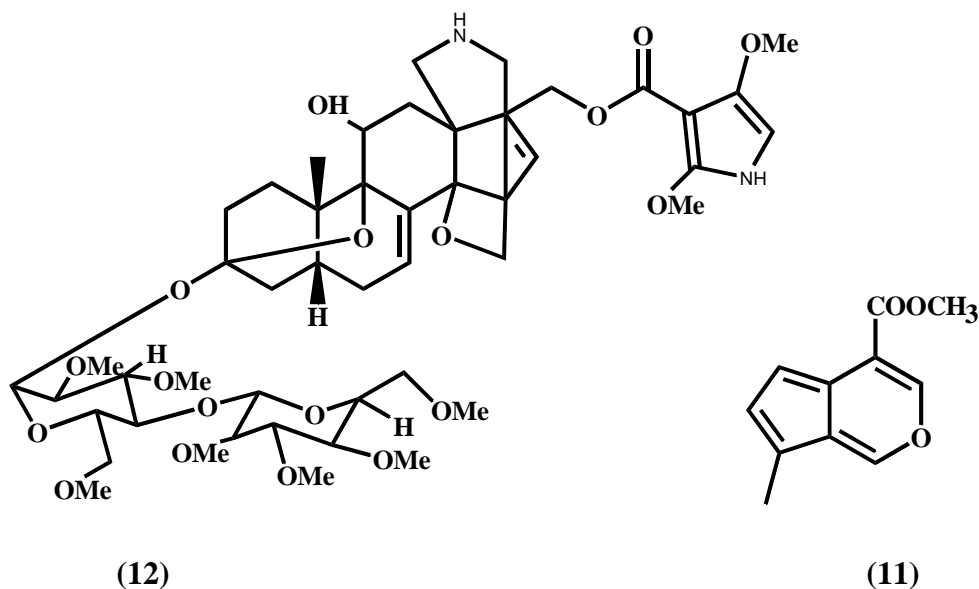
(5)



(6)

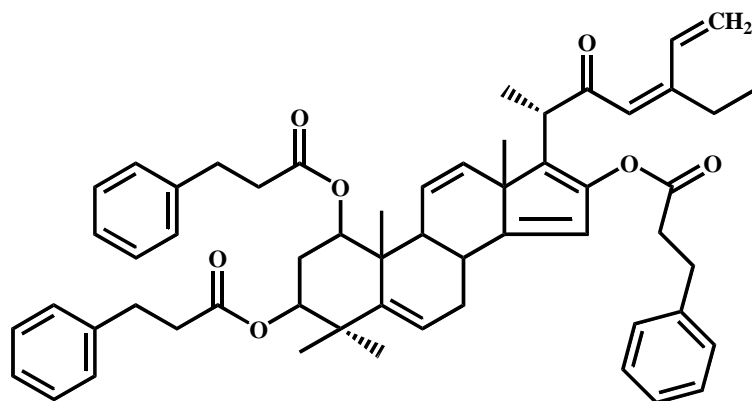


- (7) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH  
 (8) R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = OH  
 (9) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>  
 (10) R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>

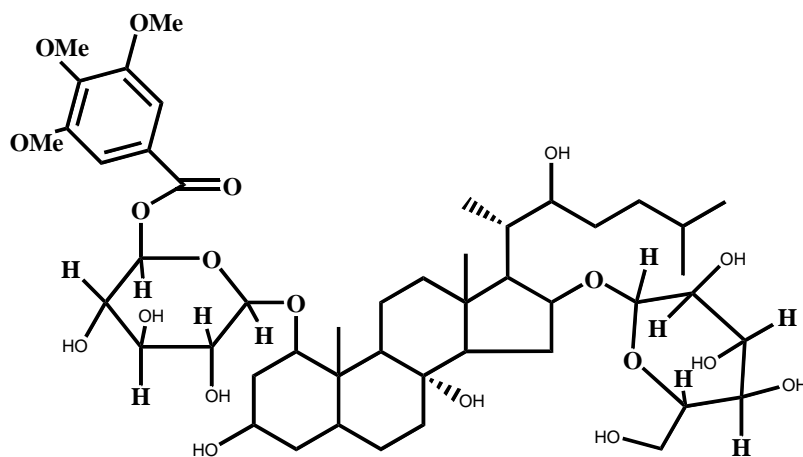


*S. jamaicensis* juga mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu senyawa lanostan fenil asetat (1,3,16 β-yl- fenil propel asetat-lanostan-5,11,14,16,23,25-heksan-22-1) (**13**), dua steroid glukosida 16 β-(β-D glukopiranosil, 3,8,22-trihidroksi) kolestan-1 β-yl-6-O-(3,4,5-trimetoksibenzoil) β-D (**14**) dan 16-β (β-D- glukopiranosil 3,8,22-trihidroksi-kolest-5,14,16,23 tetraene 1β-yl, 6-O-(3,4,5-trimetoksibenzonil) β-D glukopiranosid (**15**) (Okwu and Offiong, 2009; 2010), 6β-hidroksiipolamida (**16**) dan (3*S*, 14*Z*)-3-[(13*E*)-2-[(14*aS*, 3*as*)-1-[(*E*,20*R*, 24*R*)-24,25-dimetilhept-22-*n*-20-yl]- 13-metil-9*A*, 11,12,15-tetrahidro-3*H*-inden-4-iliden] etiledin] 10 metilidensiklo hexan-3-ol (**17**) (Auwalyah dan Fatmawati., 2018), (di-(2-etil-3-metil heksil) ftalat) (**18**), di-(2-

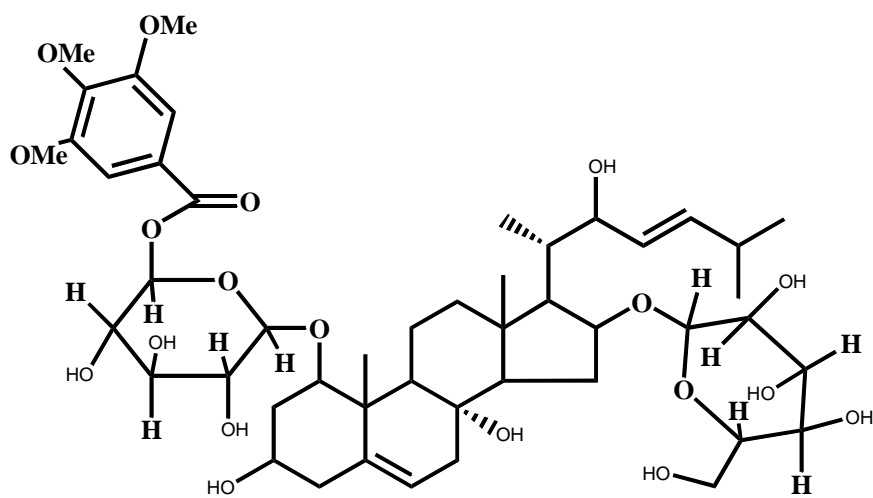
etil-3-metoksimetil heksil) ftalat (19), dan 6 $\beta$ -hidroksiipolamida (20)  
(Yuliana dan Fatmawati., 2019).



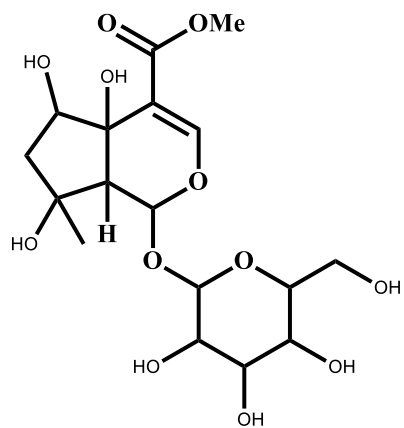
(13)



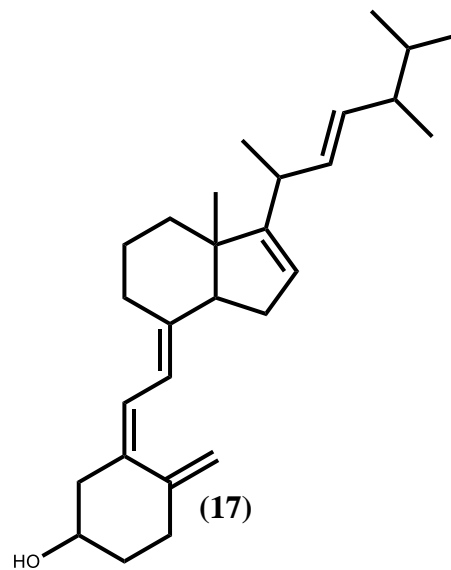
(14)



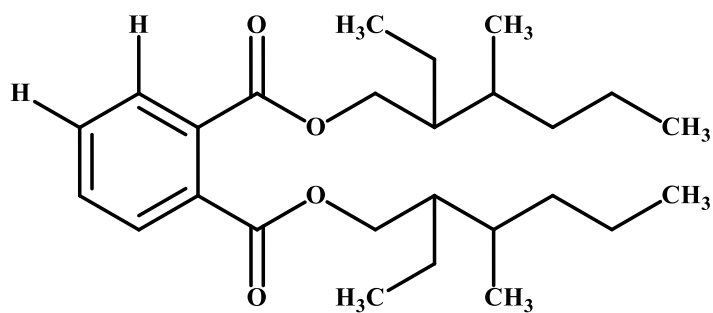
(15)



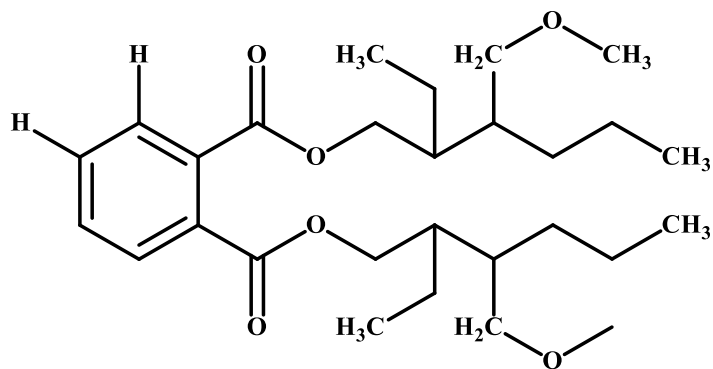
(16)



(17)

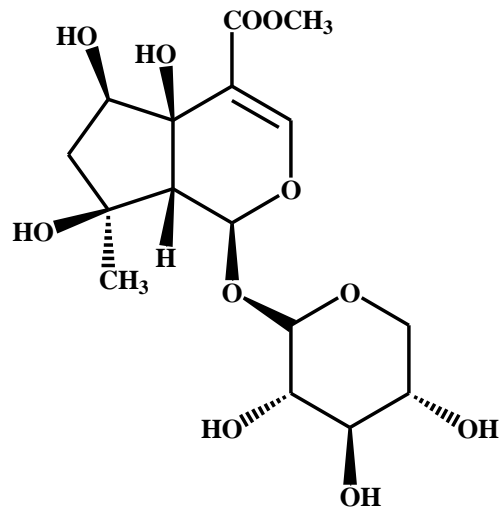


(18)



(19)





(20)

### 2.3 Proses Pemisahan Senyawa

Tanaman memiliki banyak jenis senyawa-senyawa organik yang tidak berperan langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan. Jenis senyawa ini dikenal sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder banyak ditemukan pada bagian-bagian tanaman seperti akar, batang, daun dan biji. Setiap tanaman memiliki metabolit sekunder yang berbeda-beda, namun memiliki peran yang sama yaitu sebagai prekursor sistem pertahanan fisik (Bennet *et al.*, 1994). Oleh karena itu, perlu dilakukan pemisahan untuk mendapatkan dua atau lebih senyawa metabolit sekunder yang murni untuk menguji aktivitas biologisnya (Cannon *et al.*, 2017). Metode pemisahan merupakan suatu cara yang digunakan untuk memisahkan atau memurnikan suatu senyawa atau sekelompok senyawa yang mempunyai susunan kimia yang saling berkaitan dalam suatu tanaman. Proses pemisahan dapat dilakukan dengan berbagai metode diantaranya ekstraksi, fraksinasi dengan metode kromatografi, pemurnian, dan identifikasi senyawa.

### **2.3.1 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses pertama dari setiap penelitian tanaman obat sehingga ekstraksi memiliki peran penting pada hasil akhir. Metode ekstraksi sering disebut juga teknik persiapan sampel (Azmie *et al.*, 2013). Proses ekstraksi merupakan metode pemisahan campuran senyawa dengan pelarut tertentu yang bertujuan untuk memisahkan senyawa yang telah larut bersama pelarut (Azwanida, *et al* 2015). Faktor umum yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah suhu, tekanan, waktu dan pelarut. Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan tinggi ini berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi (Hernandez *et al.*,2009).

Proses ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi merupakan cara pencarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut tertentu selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya. Tanaman yang akan diekstraksi dengan metode maserasi, terlebih dahulu dihaluskan kemudian dimasukkan kedalam wadah maserator dan ditambahkan pelarut organik yang telah ditentukan. Proses maserasi akan dilakukan selama 3 x 24 jam pada suhu ruang. Selama proses maserasi berlangsung, pelarut yang digunakan akan memasuki dinding-dinding tanaman yang terdiri dari senyawa aktif berupa metabolit sekunder. Setelah selesai proses maserasi pelarut akan dipisahkan dari maseratnya dengan penyaringan. Maserat yang dihasilkan kemudian akan diuapkan dengan menggunakan alat *Vacuum Rotary Evaporator* (Agoes *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2017).

### **2.3.2 Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari nonpolar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non-polar akan larut dalam pelarut non-polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Harbone., 1887). Fraksinasi ini umumnya dilakukan dengan menggunakan metode corong pisah

atau kromatografi kolom. Kromatografi kolom merupakan salah satu metode pemurnian senyawa dengan menggunakan kolom. Kolom yang digunakan dapat berupa kolom kaca yang berbentuk silinder yang berisi silika gel yang dibuat dengan kerapatan kecil. Ekstrak akan diletakkan diatas silika gel dan akan dialiri dengan eluen secara perlahan-lahan dengan bantuan vakum ataupun menggunakan kromatografi kolom gravitasi. Fraksi-fraksi yang diperoleh dapat ditampung dalam wadah berupa vial dan kemudian akan dianalisis lebih lanjut untuk mengidentifikasi struktur senyawa tunggal yang didapat (Bajpai *et al.*, 2016).

Fraksi yang diperoleh kemudian akan dimonitor dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis dilakukan dengan menggunakan eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus. Bercak pada plat KLT akan dimonitor dibawah lampu UV. Fraksi yang memiliki Rf sama dapat digabung menjadi satu. Apa bila pada plat KLT menunjukkan profil tunggal maka dapat dilanjutkan pada tahap pemurnian senyawa. Namun jika profil yang diperoleh masih sangat kompleks, maka fraksinasi akan dilakukan hingga ditemukan spot tunggal (Alen *et al.*, 2017; Bhawani *et al.*, 2010).

Untuk memastikan kemurnian senyawa dapat dilakukan uji lanjut berupa pengujian tiga sistem eluen. Dari pengujian sistem tiga eluen jika terdapat noda tunggal ditengah menunjukkan bahwa sudah tidak terdapat senyawa lain diatas senyawa tersebut. Untuk mengidentifikasi kemurnian senyawa lebih lanjut dapat dilakukan metode KLT 2 dimensi. KLT 2 dimensi menggunakan eluen atau fasa gerak yang memungkinkan pemisahan analit berdasarkan tingkat polaritas yang berbeda sehingga dapat mengelusi noda pada dua arah yang berbeda pula. Pada metode ini isolat dapat dikatakan murni apabila spot yang ditampakkan berupa spot tunggal (Bele *et al.*, 2017). Pada KLT 2 dimensi setelah eluen yang pertama menaikkan spot yang tunggal maka KLT selanjutnya dikeringkan dan kemudian dilanjutkan dengan elusi eluen yang ke dua dengan cara memutar KLT 90°. Apabila spot pada KLT tunggal maka senyawa tersebut diidentifikasi adalah senyawa murni (Cazes *et al.*, 2004; Gibbons *et al.*, 2006).

### 2.3.3 Kromatografi

Ekstrak kasar yang diperoleh dipisahkan lebih lanjut dengan menggunakan metode kromatografi. Pada kromatografi terdapat fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak dapat berupa cairan maupun gas sementara fase diam dapat berupa padatan maupun gel. Prinsip dasarnya adalah komponen dalam campuran senyawa memiliki kecenderungan yang berbeda untuk menyerap ke permukaan atau larut dalam pelarut dengan kata lain komponen-komponen dari suatu campuran terdistribusi dalam fasa gerak dan fasa diam karena adanya perbedaan interaksi dari keduanya. Metode ini juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi kemurnian suatu senyawa (Coskun, 2016). Pada pemisahan ini, ekstrak yang telah disiapkan ditempatkan dalam situasi yang dinamis dalam sistem yang terdiri dari fase diam dan fase gerak. Pemisahan dengan teknik kromatografi tergantung pada gerakan relative dari masing-masing komponen diantaranya kedua fase tersebut. Campuran senyawa yang memiliki sifat lebih lemah dari fase diam akan bergerak lebih cepat daripada komponen tertahan yang lebih kuat. Perbedaan ini disebabkan oleh karena adanya perbedaan absorben, partisi dan kelarutan. Apabila perbedaan yang dimiliki cukup besar, maka akan terjadi pemisahan secara sempurna (Ismail dan Nielsen, 2010).

Sebelum dipisahkan lebih lanjut, ekstrak kasar terlebih dahulu dilihat profil nodanya. Hal ini dapat dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT yang sudah siap pakai. Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memonitoring profil senyawa. Pada KLT pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kelarutan senyawa dalam dua fase (fase diam dan fase gerak). Fase gerak pada KLT berupa fase cair atau pelarut dan fase diamnya berupa padatan seperti silika ( $\text{SiO}_2$ ). Adsorben yang digunakan merupakan lapisan tipis (sekitar 0,25 mm) pada bahan pendukung berupa plat. Fase selular terdiri dari pelarut organik yang mudah menguap atau campuran pelarut yang disebut sebagai eluen (Kagan dan Michael, 2014). Larutan sampel yang mengandung campuran senyawa diterapkan ke lapisan adsorben dengan menggunakan pipa kapiler. Proses pemindahan senyawa dengan pelarut disebut sebagai elusi dan pelarut yang digunakan dinamakan eluen yang berfungsi sebagai fasa gerak. Fasa gerak ini membawa senyawa naik ke lapisan adsorben sesuai dengan sifat senyawa.

Keseluruhan prosedur ini disebut sebagai “mengembangkan” plat KLT. Saat pelarut mencapai puncak batas atas fase diam, plat dikeluarkan dari wadah (biasanya digunakan *chamber*). Rf (*Retardation factor*) dari komponen senyawa pada plat KLT dapat menjadi panduan untuk langkah pemisahan selanjutnya. Komponen senyawa dilanjutkan pada tahap fraksinasi menggunakan kromatografi kolom (Mohammad *et al.*, 2009)

Metode fraksinasi yang paling umum digunakan dalam memisahkan suatu senyawa organik yaitu kromatografi kolom. Kolom yang digunakan dapat berupa kolom kaca berbentuk silinder yang terisi fase diam (silika gel) yang dibuat dengan kerapatan kecil. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan pemisahan komponen senyawa yang lebih baik. Ekstrak diletakkan di atas fase diam dan perlahan dialiri dengan eluen sebagai fase geraknya yang mengalir turun ke kolom dengan bantuan vakum ataupun digunakan metode kromatografi kolom gravitasi. Prinsip dari kromatografi ini yaitu pemisahan komponen senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Dimana senyawa dalam campuran memiliki kemampuan interaksi yang berbeda-beda terhadap fase diam dan fase geraknya. Fase diam berfungsi menahan komponen-komponen lain dalam campuran yang memiliki sifat sama dengannya. Dengan cara ini, pemisahan senyawa dari campuran dapat tercapai. Teknik ini digunakan untuk pemurnian senyawa dari campuran. Fraksi-fraksi yang diperoleh ditampung dalam wadah berupa vial yang kemudian dianalisis lebih lanjut untuk mengidentifikasi struktur senyawa (Bajpai *et al.*, 2016).

Fraksi –fraksi yang diperoleh dapat dimonitoring dengan menggunakan KLT. Hal ini bertujuan untuk melihat profil senyawa dari suatu fraksi pada plat KLT. Fraksi yang memiliki Rf sama dapat digabung menjadi satu. Apabila spot menunjukkan profil tunggal, maka dapat dilanjutkan pada tahap pemurnian senyawa. Akan tetapi, apabila profil senyawa masih kompleks, maka fraksinasi akan dilakukan hingga ditemukan profil spot tunggal. Spot yang tunggal dapat memberikan kesimpulan bahwa senyawa yang diperoleh sudah murni (Bhawani *et al.*, 2010) Akan tetapi, untuk memastikan hal tersebut dapat dilakukan uji lanjut berupa pengujian sistem tiga eluen. Pengujian ini dimaksudkan untuk melihat spot tunggal dengan menggunakan tiga jenis eluen. Profil yang diharapkan yaitu

berupa spot tunggal pada posisi bawah, tengah dan atas pada plat KLT. Posisi spot bawah memberikan arti bawah senyawa tersebut tunggal dilihat dari bagian atas spot tidak terdapat lagi spot lainnya, spot posisi tengah memberikan arti senyawa tunggal karena dibagian atas dan bawah spot tidak terdapat spot lainnya dan spot pada posisi atas memberikan arti bahwa senyawa tersebut tunggal karena tidak terdapat spot lain dibawah spot tersebut (Bele *et al.*, 2017). Untuk identifikasi kemurnian senyawa lebih lanjut dapat dilakukan metode KLT 2 dimensi (2D). Metode yang digunakan yaitu mengelusi noda pada dua arah yang berbeda dengan eluen yang berbeda pula. Isolat dapat dikatakan murni apabila spot yang dinampakkan berupa spot tunggal. Pada KLT 2D ini menggunakan sistem multi eluen yang sama eluen digunakan secara bergantian. Setelah eluen pertama menaikkan spot tunggal, maka KLT selanjutnya dikeringkan dengan dilanjutkan pada tahap elusi spot dengan eluen yang kedua dengan cara memutar KLT posisi 90°. Apabila spot yang dihasilkan dari metode 2D tersebut adalah spot tunggal maka dapat diduga bahwa isolat yang diidentifikasi merupakan senyawa murni.

#### **2.3.4 Pemurnian Senyawa**

Rekristalisasi merupakan teknik pemurnian suatu zat padat dari pengotornya dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Prinsip dasar dari proses rekristalisasi adalah perbedaan kelarutan antara zat yang akan dimurnikan dengan zat pengotornya karena total konsentrasi pengotor biasanya lebih kecil dari konsentrasi zat yang dimurnikan. Dalam kondisi dingin, konsentrasi pengotor yang rendah tetap dalam larutan sedangkan zat yang berkonsentrasi tinggi akan mengendap (Pinalia, *et al* 2011; Underwood., 1996). Hal yang penting dalam metode rekristalisasi adalah pemilihan pelarut pelarut yang digunakan yaitu pelarut yang mampu melarutkan isolat yang akan dimurnikan, tidak bereaksi dengan zat yang akan dimurnikan, dan dapat melarutkan zat pengotor dan mudah melepaskan pengotor dari isolat yang dimurnikan (Stieger dan Wilna, 2012).

## 2.4 Identifikasi senyawa

Senyawa murni atau isolat yang telah diperoleh perlu dilakukan identifikasi berupa karakterisasi atau elusidasi struktur untuk mengetahui nama dari senyawa tersebut. Hal utama yang perlu dilakukan pada saat penentuan struktur adalah mengetahui sifat kelarutan, warna beserta titik lelehnya. Identifikasi struktur dapat menggunakan beberapa metode diantaranya spektrofotometri IR (*Infrared*), spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) dan lain-lain.

### 2.4.1 Infra Red (IR)

Spektroskopi Inframerah (IR) merupakan metode analisis instrumentasi pada senyawa kimia menggunakan radiasi sinar inframerah. Penyerapan radiasi inframerah menyebabkan perubahan energi ( $\Delta E$ ) yang dinyatakan sebagai  $\Delta E = hv$ , di mana  $h$  merupakan tetapan Planck ( $6,6242 \times 10^{-27}$  J.dt) dan  $v$  adalah frekuensi dalam satuan Hertz (Hz). Prinsip kerja dari spektrofotometer inframerah adalah ketika radiasi inframerah dikenakan pada sampel senyawa organik, beberapa frekuensi bisa diserap oleh senyawa tersebut. Jumlah frekuensi yang melewati senyawa diukur sebagai transmitansi (Khopkar, 2010).

Mekanisme yang terjadi ketika sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah adalah sinar yang datang dari sumber sinar akan diteruskan, kemudian akan dipecah oleh pemecah sinar menjadi dua bagian sinar yang saling tegak lurus. Sinar ini kemudian dipantulkan oleh dua cermin yaitu cermin diam dan cermin bergerak. Sinar hasil pantulan kedua cermin akan dipantulkan kembali menuju pemecah sinar untuk saling berinteraksi. Dari pemecah sinar, sebagian sinar akan diarahkan menuju cuplikan dan sebagian sinar menuju sumber. Gerakan cermin yang maju mundur akan menyebabkan sinar yang sampai pada detektor akan berfluktuasi. Sinar akan saling menguatkan ketika kedua cermin memiliki jarak yang sama terhadap detektor, dan akan saling melemahkan jika kedua cermin memiliki jarak yang berbeda. Fluktuasi sinar yang sampai pada detektor ini akan menghasilkan sinyal pada detektor yang disebut interferogram. Interferogram ini akan diubah menjadi spektra IR dengan bantuan komputer berdasarkan operasi matematika (Tahid, 1994).

Spektroskopi ini digunakan untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik. Spektrum inframerah dari suatu molekul merupakan hasil transisi yang disebabkan oleh getaran molekular yaitu gerakan periodik yang melibatkan ikatan *stretching* atau *bending* (Field dkk., 2013). Setiap ikatan yang berbeda pada suatu molekul akan memiliki pita-pita serapan yang spesifik dalam spektrum yang dihasilkan. Semakin rumit struktur dari suatu molekul, semakin banyak bentuk vibrasi yang mungkin terjadi. Akibatnya, jumlah pita absorpsi yang diperoleh pada spektrum inframerah akan semakin banyak. Hubungan antara osilasi, atomik massa dan tetapan konstanta ikatan dari suatu molekul dinyatakan dengan Hukum Hooke's (Silvertein., 1963). Daerah serapan menurut Hukum Hooke's dapat dilihat pada (Tabel 2.2)

**Tabel 2.2 Daerah Serapan IR**

<b>Golongan</b>	<b>Gugus Fungsi</b>	<b>Panjang gelombang (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>
Alkana	C-H	2850-3000
	C-C	800-1000
Aromatik	C-H	3000-3100
	C=C	1450-1600
Alkena	C-H	3080-3140
	C=C	1630-1670
Alkuna	C-H	3300-3320
	C-C	2100-2140
Alkohol	O-H	3300-3600
	C-O	1050-1200
Eter	C-O	1070-1150
Aldehid	C=O	1720-1740
	C-H	2700-2900
Asam Karboksilat	C=O	1700-1725
	O-H	2500-3300
	C-O	1100-1300



Golongan	Gugus Fungsi	Panjang gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )
Ester	C=O	1735-1750
	C-O	1000-1300

Rentang yang penting pada spektrum IR adalah 4000-1300 dan 900-650 $\text{cm}^{-1}$ . Pada bilangan gelombang yang tinggi menunjukkan keberadaan gugus fungsional seperti OH, NH dan C=O. Intensitas pita serapan pada umumnya dapat berupa nilai Transmittan (T) ataupun Absorbansi (A). Akan tetapi pada identifikasi golongan senyawa organik, intensitas pita serapan dapat dikelompokkan menjadi *strong* (*s*), *medium* (*m*) dan *weak* (*w*). Penampakan pita lemah area bilangan gelombang tinggi menunjukkan gugus fungsi C=C. Pita absorpsi kuat sangat jarang ditemui pada area rentang 900-650  $\text{cm}^{-1}$ , hal ini lebih sering mengindikasikan senyawa non-aromatik. Sementara itu, pita kuat untuk senyawa aromatik berada pada area spektrum dengan rentang 1600-1300  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 2.4.2 Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Spektroskopi NMR adalah salah satu metode yang digunakan untuk menentukan struktur dari komponen alami dan sintetis yang baru, kemurnian dari komponen, dan arah reaksi kimia dalam hubungannya dalam komponen larutan yang dapat mengalami reaksi kimia. Spektrum spektroskopi NMR khususnya digunakan pada molekul organik karena biasanya membentuk atom hidrogen dengan jumlah yang sangat besar. Pada spektrum NMR menghadirkan beberapa resonansi yang menunjukkan bahwa molekul mengandung hidrogen. Jumlah pita dalam spektrum menunjukkan beberapa posisi yang berbeda pada molekul dimana hidrogen menempel. Frekuensi dari beberapa resonansi utama pada spektrum NMR menunjukkan perubahan kimia. Metode spektroskopi NMR didasarkan pada penyerapan energi oleh partikel yang sedang berputar di dalam medan magnet yang kuat. Energi yang dipakai dalam pengukuran dengan metode ini berada pada daerah gelombang radio 75-0,5 atau pada frekuensi 4-600 MHz, yang bergantung pada jenis inti yang diukur. Inti yang diukur dengan NMR yaitu berbentuk bulat,

berputar, bilangan kuantum spin, dan jumlah proton dan neutron ganjil contohnya  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ . Di dalam medan magnet, inti aktif NMR menyerap pada frekuensi karakteristik suatu isotop. Frekuensi resonansi, energi absorpsi, dan intensitas sinyal berbanding lurus dengan kekuatan medan magnet.

Tetramethylsilan (TMS)  $[(\text{CH}_3)_4\text{Si}]$  adalah standar yang digunakan untuk menentukan pergeseran kimia suatu senyawa. Pergeseran kimia TMS ( $\delta$  TMS) yaitu 0 ppm. Oleh karena itu, frekuensi untuk bahan kimia diukur untuk inti  $^1\text{H}$  atau  $^{13}\text{C}$  sampel dari resonansi TMS  $^1\text{H}$  atau  $^{13}\text{C}$ . Faktor yang mempengaruhi pergeseran kimia pada  $^1\text{H}$ NMR adalah kedekatan dengan atom elektronegatif (O, N, halogen) dan kelompok tidak jenuh ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ), aromatik). Kelompok atom elektronegatif bergerak ke bidang bawah sedangkan kelompok tidak jenuh bergeser ke kiri. Tetapi pergeseran terbalik terjadi di daerah atas dan di bawah bidang. Pergeseran kimia pada  $^1\text{H}$  berfungsi dalam mengidentifikasi banyak kelompok fungsional (McMurry, 2017).

Sinyal pada NMR dari inti  $^{13}\text{C}$  lebih lemah, hal ini disebabkan karena kelimpahannya secara alami lebih rendah sehingga lebih sulit untuk mengamati sinyal karbon. Sinyal  $^{13}\text{C}$ -NMR tidak dapat digunakan untuk menentukan jumlah karbon yang bersesuaian dengannya, selain itu tidak ada kopling-kopling untuk membedakan kelompok sinyal serupa karena sinyal untuk beberapa jenis karbon lebih lemah dari jenis lain (Boffito et al., 2018). Tetramethylsilan (TMS)  $[(\text{CH}_3)_4\text{Si}]$  juga merupakan standar dari  $^{13}\text{C}$ -NMR. Faktor yang mempengaruhi pergeseran kimia  $^{13}\text{C}$ -NMR adalah ikatan dengan atom elektronegatif dan efek anisotropi diamagnetik yang cenderung menggeser sinyal (McMurry, 2017).

Contoh identifikasi senyawa dengan menggunakan metode NMR adalah penentuan struktur senyawa steroid glukosida (**14**) dan (**15**) (Okwu and Offiong, 2009; 2010). Pada tabel 2.3 di bawah ini merupakan pergeseran kimia senyawa-senyawa tersebut pada  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ NMR.

**Tabel 2.3**  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ NMR Senyawa dari *S. jamaicensis*

Posisi	14		15	
	$\delta\text{H}$	$\delta\text{C}$	$\delta\text{H}$	$\delta\text{C}$
1	1.60 (1H, t)	31.5	1.61 (1H, t)	31.5
2	1.25 (2H, t)	20.6	1.25 (2H, t)	20.6
3	1.60 (1H, m)	32.0	1.61 (1H, m)	32.9
4	1.28 (2H, m)	22.8	1.25 (2H, m)	22.8
5	1.62 (1H, m)	34.0	-	340.6
6	1.31 (2H, m)	24.8	5.20 (1H, m)	133.6
7	1.28 (2H, m)	25.6	1.25 (2H, m)	25.6
8	-	34.0	-	34.0
9	1.62 (1H, s)	32.9	1.61 (1H, s)	32.9
10	-	36.6	-	34.0
11	1.25 (2H, t)	25.6	1.03 (2H, t)	25.7
12	1.25 (2H, t)	25.7	1.01 (2H, t)	25.6
13		38.0		38.0
14	1.62 (1H, m)	31.5		134.1
15	1.31 (2H, m)	27.3	5.14 (1H, s)	135.1
16	1.60 (1H, t)	34.9		134.4
17	1.62	31.5		134.1
18	0.94 (3H, s)	12.2	0.90 (3H, s)	12.2
20	1.62 (1H, m)	49.3	1.76 (1H, m)	49.0
22	1.60 (1H, m)	76.6	1.41 (1H, m)	75.1
23	1.25 (2H, m)	29.2	5.34 (1H, t)	109.6
24	1.28 (2H, m)	29.3	5.34 (1H, t)	109.6
25	1.62 (1H, m)	42.7	1.61 (1H, m)	41.2
26	1.75 (3H, d)	14.2	1.01 (3H, s)	14.2
27	1.64 (3H, d)	14.4	1.03 (3H, s)	14.4
1'		146.2		132.1

Posisi	14		15	
	$\delta\text{H}$	$\delta\text{C}$	$\delta\text{H}$	$\delta\text{C}$
3'		127.2		127.0
4'		127.9		128.4
5'		128.4		127.2
6'	7.26 (1H, s)	133.1	7.26 (1H, s)	130.3
7'		179.2		180.1
8'	3.80 (3H, s)	76.6	3.37 (3H, s)	51.7
9'	3.90 (3H, s)	77.1	3.48 (3H, s)	51.8
10'	3.90 (3H, s)	77.6	3.57 (3H, s)	52.0
Glu				
1	5.14 (1H, m)	90.2	5.34 (1H, s)	95.9
2	5.28 (1H, s)	77.6	5.20 (1H, s)	74.2
3	5.31 (1H, m)	77.1	5.14 (1H, m)	79.4
4	5.33 (1H, m)	76.6	5.10 (1H, m)	71.5
5	4.1055 1Hs	71.2	4.16 (1H, s)	62.1
6	4.16 (2H, s)	65.1	4.10 (2H, s)	62.1
1'	5.44 (1H, s)	117.2	5.06 (1H, s)	95.9
2'	5.39 (1H, m)	113.3	5.10 (1H, m)	74.2
4'	5.37 (1H, m)	65.3	4.16 (1H, m)	71.5
5'	4.15 (1H, s)	51.3	4.10 (1H, s)	62.1
6'	5.31 (2H, s)	56.0	3.61 (2H, s)	62.1

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara gelas piala, gelas ukur, tabung reaksi, kaca arloji, pipet ukur, erlenmeyer, labu ukur, labu bundar botol vial, chamber untuk KLT, seperangkat alat kolom kromatografi, pengaduk, dan pipet kapiler, neraca analitik, oven, mikropipet, bejana maserasi, kertas saring, plastik wrap, aluminium foil, lampu UV 254 nm dan 366 nm, plat tetes, plat KLT dengan silica gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck), pinset, Buchi *Rotary vacuum evaporator*, spektrofotometer IR dan spektrometer NMR.

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah asam klorida (teknis), bismuth nitrat  $\geq 98\%$  (Sigma-Aldrich, 383074), kalium iodide  $\geq 99\%$  (Sigma-Aldrich, 746428), asam sulfat 99,99% (Aldrich, 339741), ammonium (teknis), dan besi klorida  $\geq 97\%$  (FeCl<sub>3</sub>) (Sigma-Aldrich, 157740). Bahan yang digunakan untuk isolasi dan pemurnian senyawa adalah daun *S. jamaicensis* (Verbenaceae), pelarut organik teknis meliputi n-heksana, diklorometana, kloroform, etil asetat, aseton, metanol, dan aquades. Silika gel 60 G (Merck-1.07731.1000) dan silica gel 60 0,063-0,200 mm (Merk-1.07734.1000) untuk kromatografi kolom dan kromatografi cair vakum, plat KLT/silica gel 60F<sub>245</sub> aluminium sheets 20 x 20 cm (Merck-105554.0001), kertas saring, aluminium foil, pereaksi penampakan noda (larutan 1,5% CeSO<sub>4</sub> dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pada plat KLT.

#### **3.2 Prosedur Kerja**

##### **3.2.1 Ekstraksi**

Pada proses ekstraksi daun *S. jamaicensis* menggunakan metode maserasi. Serbuk kering dari daun *S. jamaicensis* dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam. Hasil maserasi berupa ekstrak cair metanol pekat *S.*

*jamaicensis*. Ekstrak yang diperoleh dimonitoring menggunakan plat KLT dan profil KLT dideteksi menggunakan lampu UV pada  $\lambda=254$  dan 366 nm. Selanjutnya desempotkan dengan larutan serum sulfat dan dipanaskan menggunakan oven.

### 3.2.2 Fraksinasi senyawa 1

Ekstrak pekat metanol daun *S. jamaicensis* sebanyak 360 g dilakukan fraksinasi dengan metode KCV menggunakan pelarut n-heksana, metilen klorida, etil asetat, dan metanol. Kolom kromatografi ini dibuat dengan memadatkan silika gel di dalam kolom kemudian dielusi pertama kali oleh pelarut non-polar yaitu n-heksana dengan bantuan vakum. Ekstrak metanol *S. jamaicensis* diimpregnasi dengan silika gel hingga merata kemudian diletakkan di atas silika kolom yang telah dibuat. Ekstrak metanol *S. jamaicensis* dielusi secara terus-menerus dengan pelarut n-heksana, metilen klorida, etil asetat, dan metanol. Dari hasil pemisahan ini, diperoleh 6 fraksi (1-6). Fraksi 4 sebanyak 12,28 gr dipisahkan kembali melalui metode KCV dengan eluen n-heksana: etil asetat (100:0→0:100). Dari proses fraksinasi ini didapatkan 8 subfraksi (4A-4I).

Subfraksi 4D sebanyak 2 gr dilakukan fraksinasi lebih lanjut menggunakan metode KKG. Eluen yang digunakan adalah n-heksana: diklorometana (DCM) (100:0→0:100) dengan sistem peningkatan polaritas sehingga diperoleh 7 subfraksi (4D1-4D7). Dari hasil pemisahan ini diperoleh senyawa 1 pada Subfraksi 4D3 (10 mg). Uji kemurnian menggunakan KLT tiga sistem eluen dan 2D. Elusidasi struktur dari senyawa 1 dilakukan dengan menggunakan instrumen  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , dan HMBC.

### 3.2.3. Fraksinasi senyawa 2

Subfraksi 4C sebanyak 140 gr dilakukan fraksinasi lebih lanjut menggunakan metode KKG. Eluen yang digunakan adalah n-heksana: diklorometana (DCM) (100:0→0:100) dengan sistem peningkatan polaritas sehingga diperoleh 7 subfraksi (4E1-4E7). Dari hasil pemisahan ini diperoleh senyawa 2 pada Subfraksi 4C4 (23 mg). uji kemurnian menggunakan KLT tiga sistem eluen dan 2D. Elusidasi struktur dari senyawa 1 dilakukan dengan menggunakan instrumen IR,  $^1\text{H-NMR}$ , dan  $^{13}\text{C-NMR}$ .

### 3.3 *Identifikasi Senyawa*

Identifikasi menggunakan spektrofotometer IR dilakukan dengan cara kristal yang diperoleh dari hasil isolasi digerus bersama dengan KBr hingga campuran menjadi homogen. Campuran ini selanjutnya dibuat berbentuk pellet dan diletakkan dalam *holder* sampel dan dimasukkan dalam instrumen spektrofotometer IR. Serapan diukur pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  sehingga didapatkan spektra dengan pita-pita yang khas pada bilangan gelombang tertentu.

Selanjutnya identifikasi senyawa menggunakan spektrometer NMR. Kristal murni yang diperoleh dari hasil isolasi dilarutkan dalam pelarut bebas proton yang bersifat melarutkan senyawa, seperti DMSO-*d*<sub>6</sub>. Larutan kemudian diinjeksi pada alat spektrometer NMR. Data keluaran berupa spektra pergeseran kimia ( $\delta$ ) kemudian diinterpretasikan untuk dapat mengetahui struktur senyawa.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*



## **BAB 4**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Ekstraksi Daun *S. jamaicensis***

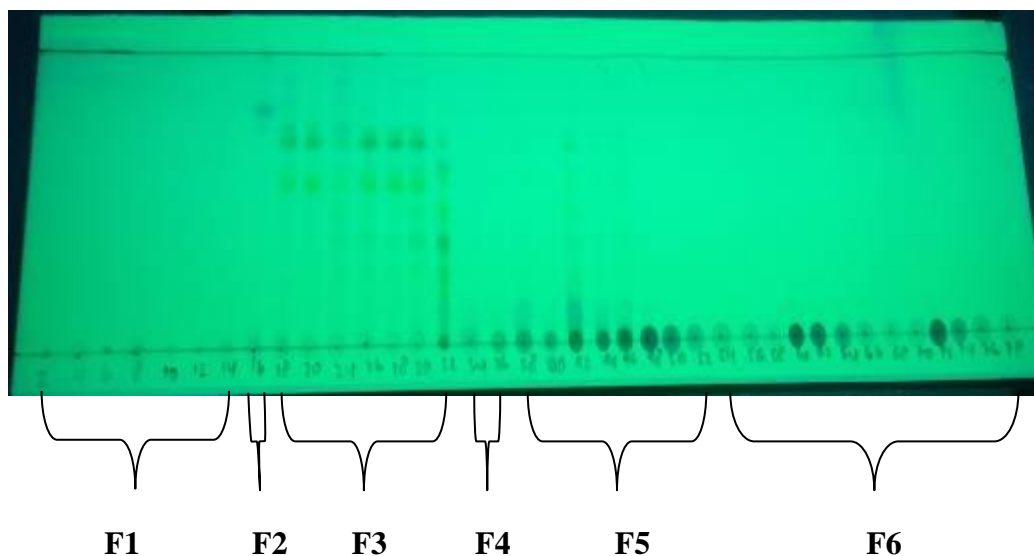
Ekstraksi merupakan teknik pemisahan senyawa dari bahan alam, yang berdasarkan pada perbedaan kelarutan pelarut terhadap sampel yang sesuai dengan prinsip “*Like dissolve like*”. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi sampel dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan metode yang efektif untuk mengekstrak sampel dalam jumlah besar. Karena, dilakukan pada suhu kamar dan dapat diatur lamanya proses perendaman sampel dalam pelarut tertentu. Pelarut metanol merupakan pelarut yang efektif dalam menarik senyawa yang memiliki sifat polar maupun non-polar. Hal ini dapat disebabkan oleh struktur molekul metanol yang sederhana sehingga mudah masuk ke dalam sampel.

Adapun tahapan untuk memperoleh ekstrak metanol adalah sebagai berikut: Pertama, serbuk kering daun *S. jamaicensis* sebanyak 3840 g diekstrak dengan metode maserasi menggunakan 19 L metanol selama 3x 24 jam pada suhu ruang. Setiap 1 x 24 jam, hasil ekstraksi (maserat) dipanen, dimonitoring dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan selanjutnya ditambahkan dengan pelarut metanol baru. Ekstraksi dihentikan pada waktu ke 3 x 24 jam karena spot yang diduga sebagai senyawa metabolit sekunder telah memudar/ berkurang. Hal tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa-senyawa dari daun *S. jamaicensis* telah terekstrak. Maserat yang diperoleh selama maserasi 3 x 24 dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak metanol sebanyak 1305,89 g dengan rendemen 34 % (Auwaliah, 2018).

#### **4.2 Fraksinasi dan Isolasi Senyawa 1**

Tahap pertama, ekstrak metanol (90 g) dilakukan fraksinasi dengan kolom kromatografi vakum (KCV). Tahap fraksinasi ini, menggunakan silika gel 60G (250 g), eluen *n*-heksana (100%), metilen klorida (100%), etil asetat (100%), dan metanol (100%). Dari hasil kromatografi vakum (KCV) diperoleh sebanyak 78

vial, selanjutnya 78 vial tersebut di lakukan kromatografi lapis tipis (KLT) seperti terlihat pada (Gambar 4.1) .



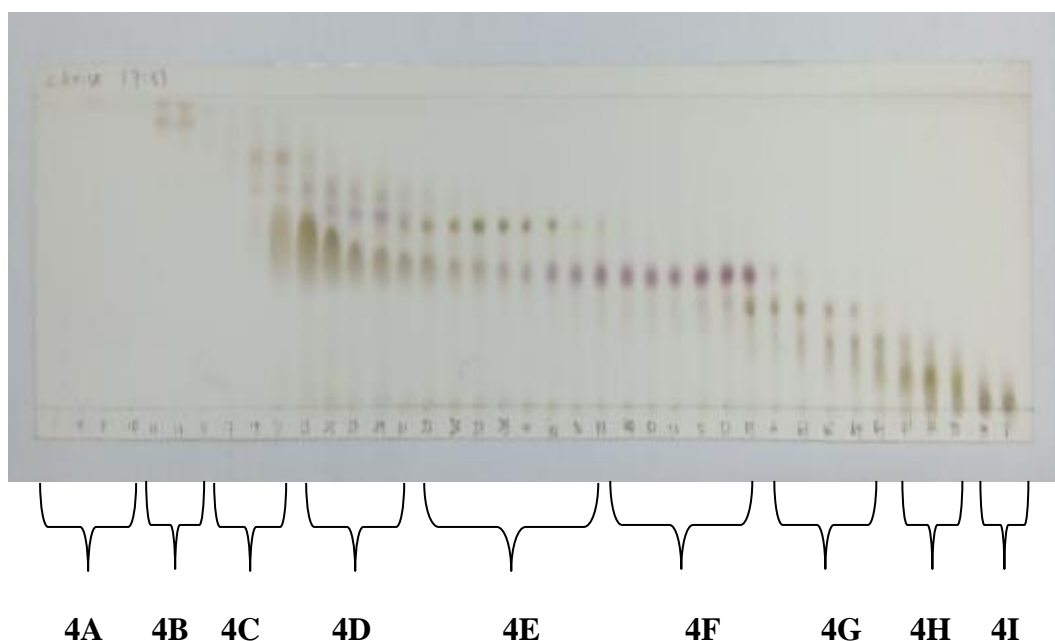
Gambar 4.1 KLT hasil KCV dengan eluen *n*-heksana: etil asetat (8:2)

Hasil kromatogram digabung berdasarkan nilai  $R_f$  yang relatif sama, seperti terlihat pada (Gambar 4.2). Fraksinasi tahap pertama ini diperoleh enam fraksi utama yaitu 1 (2,66 g), 2 (12,92 g), 3 (14,87 g), 4 (12, 28 g), 5 (11, 82 g), dan 6 (304 g).



Gambar 4.2 Kromatografi KLT Fraksi 1-6 hasil KCV dengan eluen *n*-heksana: etil asetat (8:2)

Tahapan kedua, dilakukan fraksinasi pada fraksi 4 sebanyak 12,28 g. Fraksi 4 difraksinasi menggunakan metode KCV dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (100:0 → 0:100). Dari hasil KCV pada tahap kedua, diperoleh 72 vial yang kemudian di monitoring menggunakan kromatogram seperti terlihat pada (Gambar 4.3).



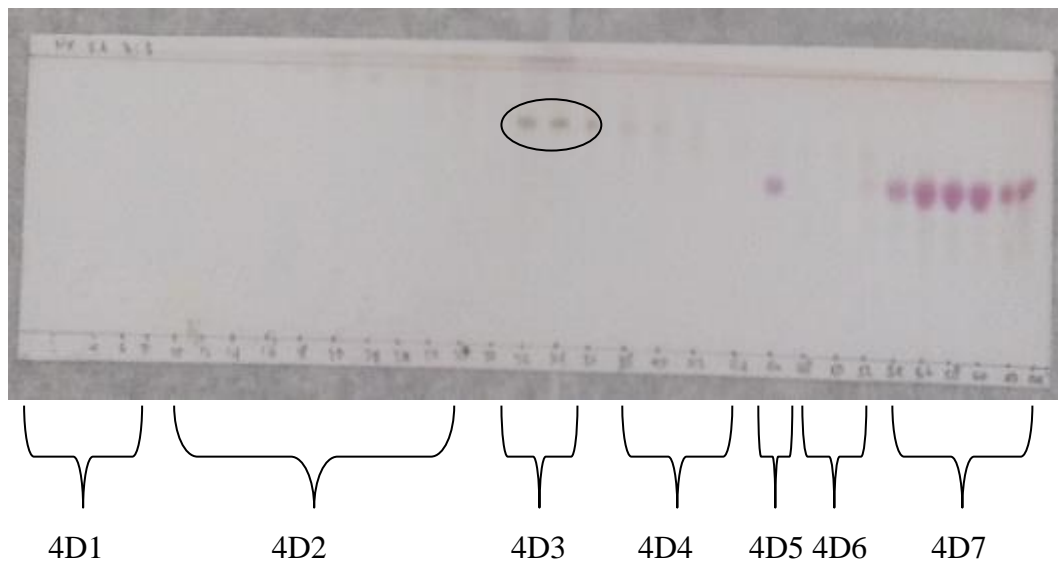
Gambar 4.3 KLT hasil KCV dengan eluen *n*- heksana:etil asetat 7:3

Berdasarkan nilai  $R_f$  yang relatif sama pada profil kromatogram, senyawa pada vial-vial yang diperoleh pada tahap KCV kemudian digabung. Sembilan subfraksi gabungan (4A-4I) seperti terlihat pada (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Subfraksi gabungan (4A-4I) dengan eluen *n*- heksana:etil asetat (7:3).

Tahap ke tiga, fraksi 4D (2 g) memiliki profil kromatogram yang lebih sederhana jika dibandingkan dengan fraksi lain sehingga dilakukan fraksinasi lebih lanjut untuk menyederhanakan senyawa yang akan diisolasi. Proses fraksinasi 4D dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG). Sampel sebanyak 2 g diimpregnasi dengan menggunakan silika KKG sebanyak 4 g dan silika yang dimasukkan ke dalam kolom sebanyak 230 g dengan tinggi silika 18 cm, tinggi sampel 2 cm, diameter kolom yang digunakan yaitu 2,7 cm. Pada proses fraksinasi tahap ini eluen yang digunakan adalah *n*-heksana: etil asetat (100:0 → 0:100). Dari hasil KKG diperoleh 105 vial yang di monitoring profilnya menggunakan kromatogram, seperti terlihat pada (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Hasil pemantauan KLT pada metode KKG dengan eluen *n*-heksana:etil asetat 7:3

Berdasarkan profil kromatogram, senyawa pada vial-vial yang diperoleh pada tahap KKG kemudian digabung berdasarkan nilai  $R_f$  yang relatif sama, seperti terlihat pada (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 subfraksi gabungan (4D1-4D7) dengan eluen *n*- heksana:etil asetat 7:3.

Setelah dilakukan penggabungan fraksi berdasarkan nilai Rf dari profil KLT yang ditampilkan pada gambar (4.6), diperoleh tujuh subfraksi gabungan (4D1-4D7) dapat dilihat pada (Tabel 4.1)

**Tabel 4.1 Subfraksi gabungan 4D1-4D7**

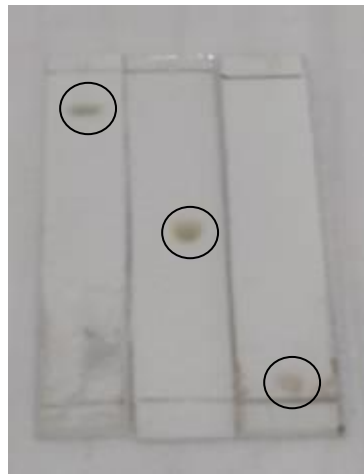
Botol Vial	Sub fraksi
1-9	4D1 (21 mg)
10-31	4D2 (183 mg)
32-36	4D3 (10 mg)
37-44	4D4 (16 mg)
45-46	4D5 (0,17 mg)
47-53	4D6 (4,83 mg)
54-64	4D7 (1,83 g)

Dari tahap fraksinasi ini , diperoleh senyawa 1 (4D3) yang memiliki profil KLT satu noda berwarna kuning kecoklatan dengan massa 10 mg dapat dilihat pada (Gambar 4.7).



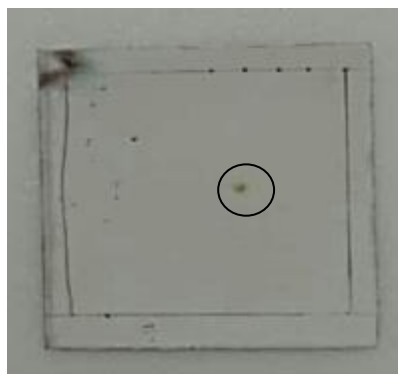
Gambar 4.7 Profil KLT senyawa 1(4D3) n-Heksana: Etil Asetat (7:3)

Uji kemurnian menggunakan kromatogram tiga sistem eluen (Gambar 4.8) dan 2 dimensi (2D) (Gambar 4.9). Pengujian kromatogram tiga sistem eluen dimaksudkan untuk melihat noda tunggal menggunakan tiga jenis eluen. Profil yang diharapkan adalah dalam bentuk noda tunggal diposisi bawah, tengah, dan atas pada plat KLT. Posisi titik bawah menunjukkan bahwa senyawa yang diuji telah tunggal karena terlihat dari bagian atas noda tidak menunjukkan adanya noda lain. Noda yang berada pada posisi tengah menunjukkan senyawa tunggal karena tidak ada noda lain diatas maupun dibawah noda dan titik diposisi atas menunjukkan bahwa senyawa tersebut tunggal karena tidak ada noda lain dibawahnya (Bele and Khale, 2017). Identifikasi lebih lanjut dari kemurnian senyawa dilakukan dengan menggunakan metode KLT 2D. Pada metode ini senyawa dielusi dalam dua arah yang berbeda dan eluen yang berbeda. Isolat yang peroleh dapat dikatakan murni karena noda yang ditampilkan merupakan noda tunggal.



(a) (b) (c)

Gambar 4.8 Kromatografi menggunakan KLT tiga sistem eluen. (a) Kloroform:etil asetat (9:1), (b) metilen klorida: etil asetat (9:1), (c) *n*-heksana: etil asetat 8:2

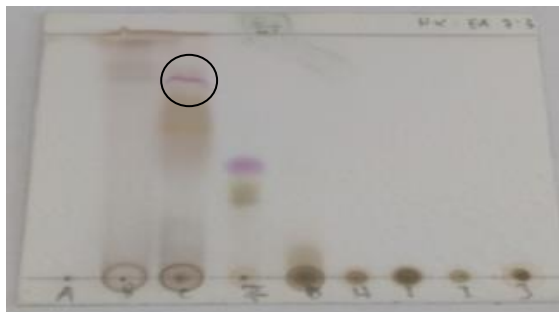


Gambar 4.9 Kromatografi menggunakan KLT 2D dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) dan kloroform: etil asetat (9:1).

### 4.3 Fraksinasi dan Isolasi senyawa 2

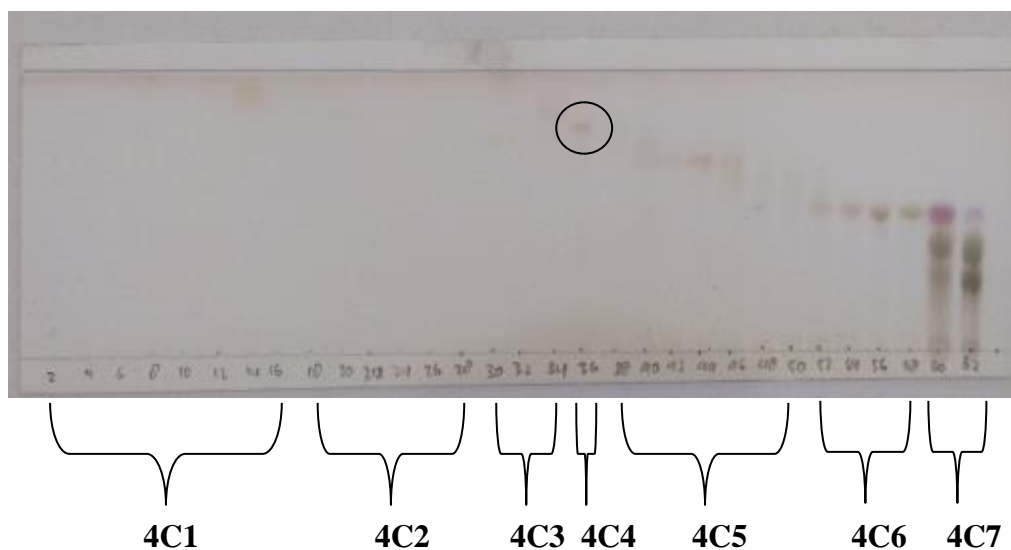
Pada fraksi 4C, seperti terlihat pada (Gambar 4.10) memiliki profil KLT yang lebih sederhana jika dibandingkan dengan fraksi lain. Fraksi 4C, di fraksinasi lebih lanjut untuk menyederhanakan senyawa yang akan diisolasi. Proses fraksinasi 4C dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG). Sampel yang digunakan sebanyak 2,4 g dimpregasi

dengan silika KKG 250 g. Kolom KKG yang digunakan memiliki diameter 2,7 cm dengan tinggi silika 30 cm dan tinggi sampel 2 cm.



Gambar 4.10 Kromatogram KLT Fraksi Hasil KKG eluen *n*-heksana: etil asetat (100:0 → 0:100).

Pada KKG tahap ini eluen yang digunakan adalah *n*-heksana: etil asetat (100:0 → 0:100) dengan sistem peningkatan polaritas. Dari hasil KKG diperoleh 123 vial yang dimonitoring profilnya menggunakan KLT, seperti terlihat pada (Gambar 4.11).



Gambar 4.11 KLT Fraksi Hasil KKG eluen *n*-heksana: etil asetat (100:0 → 0:100)

Berdasarkan profil KLT, senyawa pada vial-vial yang diperoleh pada tahap KKG kemudian digabung berdasarkan nilai  $R_f$  yang relatif sama. Tujuh subfraksi gabungan (4C1-4C7) seperti terlihat pada (Tabel 4.2) .



**Tabel 4.2 Subfraksi Gabungan Fraksi 4C**

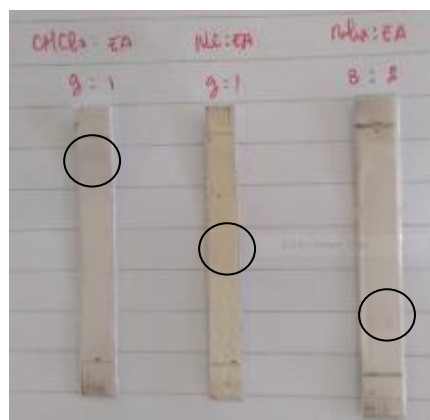
<b>Botol Vial</b>	<b>Subfraksi</b>
1-16	4C1 (73 mg)
17-28	4C2 (120 mg)
29-35	4C3 (90 mg)
36-37	4C4 (23 mg)
38-51	4C5 (390 mg)
52-59	4C6 (1,23 g)
60-62	4C7 (60 mg)

Dari tahap fraksinasi ini , diperoleh senyawa 2 (4C4) yang memiliki profil kromatogram satu noda berwarna kecoklatan dengan massa 10 mg seperti terlihat pada (Gambar 4.12).



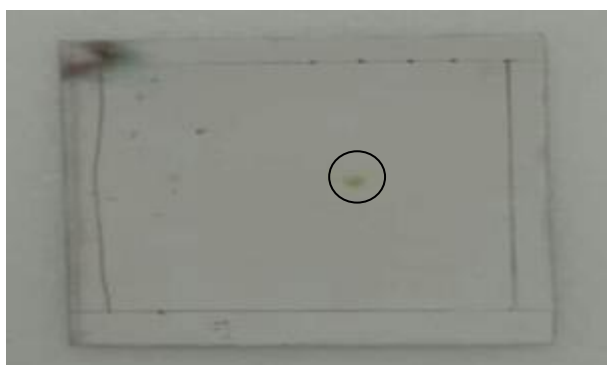
Gambar 4.12 Profil senyawa 2 (4C4)

Uji kemurnian menggunakan kromatogram tiga sistem eluen (Gambar 4.13) dan 2 dimensi (2D) (Gambar 4.14).



(a) (b) (c)

Gambar 4.13 Kromatogram menggunakan KLT sistem tiga eluen. (a) kloroform: etil asetat (9:1), (b) metilen klorida: etil asetat (9:1), (c) *n*-heksana: etil asetat (8:2).



Gambar 4.14 Kromatogram menggunakan KLT 2D dengan eluen *n*-heksana: etil asetat (7:3) dan kloroform: etil asetat (9:1).

## 4.4 Penentuan Struktur

### 4.4.1 Penentuan Struktur Senyawa 1

Senyawa satu berupa padatan kuning kecoklatan dengan massa 10 mg. senyawa ini larut dalam *n*-heksana dan kloroform. Senyawa 1 dianalisis menggunakan 1D NMR ( $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR) dan 2D NMR (HMBC). Dari hasil spektrum  $^1\text{H}$  NMR dengan menggunakan pelarut  $\text{CDCl}_3$  pada frekuensi 400 MHz, menunjukkan pergeseran kimia proton ( $\delta_{\text{H}}$ ) yang memberikan informasi mengenai jenis proton dari struktur yang dianalisa. Dari data spektra  $^1\text{H}$ -NMR menunjukkan

bahwa senyawa tersebut memiliki proton (H) pada karbon alifatik atau siklik. Sinyal proton yang muncul merupakan kelompok proton metilen (CH<sub>2</sub>), metil (CH<sub>3</sub>), dan proton hidroksi (-OH). Data <sup>1</sup>H -NMR (Tabel 4.3) menjelaskan pada δ<sub>H</sub>; 1.31 (1H, m, *J*= 6,9 Hz) merupakan sinyal dari proton metilen (CH<sub>2</sub>), 5.36 (1H, t, *J*= 7,5) merupakan sinyal dari metin (CH), dan 7.68 (1H, dd, *J* = 5,7 , 3,3 Hz) merupakan sinyal dari proton hidroksi (-OH).

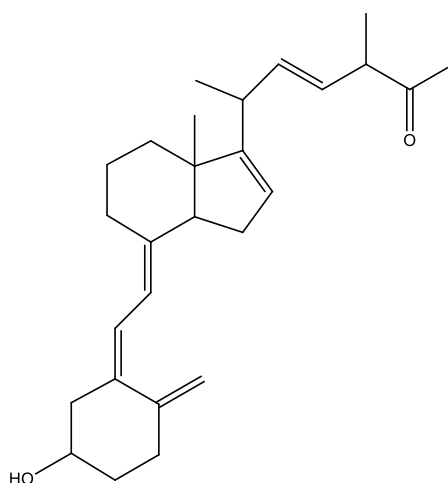
Analisis struktur senyawa 1 juga didukung dengan hasil spektrum <sup>13</sup>C-NMR (Chloroform-D, 400 MHz). Senyawa 1 menunjukkan adanya 27 sinyal karbon. Pergeseran kimia (δ<sub>C</sub>) pada 68.25 ppm merupakan sinyal karbon dari C yang mengikat gugus hidroksil (C-OH), δ<sub>C</sub> 14,23 merupakan sinyal metil (CH<sub>3</sub>) dan δ<sub>C</sub> 29.25 ppm menunjukkan sinyal metilen (CH<sub>2</sub>), pada sinyal karbon 179.57 ppm menunjukkan sinyal karbonil (C=O) dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Berdasarkan hasil studi literatur, senyawa 1 memiliki kesamaan pada nilai pergeseran kimia <sup>13</sup>C-NMR dengan senyawa 17, dan ergokalsiferol namun, terdapat perbedaan pada jumlah ikatan rangkap dan pada senyawa 1 terdapat atom karbon yang berikatan dengan gugus karbonil (Mousavi dkk., 2009) (Gambar 4.15) .

**. Tabel 4.3 Data NMR 1D (<sup>1</sup>H NMR dan <sup>13</sup>C NMR) senyawa 1**

Posisi C	δH ppm (ΣH, multiplisitas, <i>J</i> in Hz)	δC ppm
1	1.39 (1H, s)	29, 797
2	1,26 (1H, d, <i>J</i> =14,1 Hz)	29, 253
3	-	68, 259
4	2.42 (1H, m)	32, 028
5		130, 12
6	2,24 (1H, m)	128, 365
7	3.71 (1H, t, <i>J</i> = 3,1 Hz)	130, 339
8	-	132, 046
9	2.15 (m, 1H)	25, 697
10	-	167, 924
11	0.84 ((1H, dd, <i>J</i> = 8,3 Hz)	14, 236

Posisi C	$\delta$ H ppm ( $\Sigma$ H, multiplisitas, $J$ in Hz)	$\delta$ C cppm
12	1.59 (1H, d, $J = 5.0$ Hz)	24, 772
13	-	34, 107
14	2.06 (1H, d, $J = 4.0$ Hz)	27, 286
15	2.79 (1H, d, $J = 5.7$ Hz)	29, 663
16	5.4 (1H, s)	127, 193
17	-	128, 327
18	1.32 (1H, s)	29, 072
19	5.35 (1H, t, $J = 4.7$ Hz)	127, 822
20	2.32 (1H, dd, $J = 14,3, 6,8$ Hz)	22, 79
21	3,72 (1H, t, $J = 2.8$ Hz)	25, 792
22	5.34 (1H, d, $J = 4.2$ Hz)	131, 006
23	2.44 (5H, m)	128, 899
24	1.67 (3H, t, $J = 7.6$ Hz)	29, 129
25	-	179, 58
26	1.32 (8H, d, $J = 2.7$ Hz)	29, 473
27	2.63 (2H, d, $J = 3.8$ Hz)	25, 772



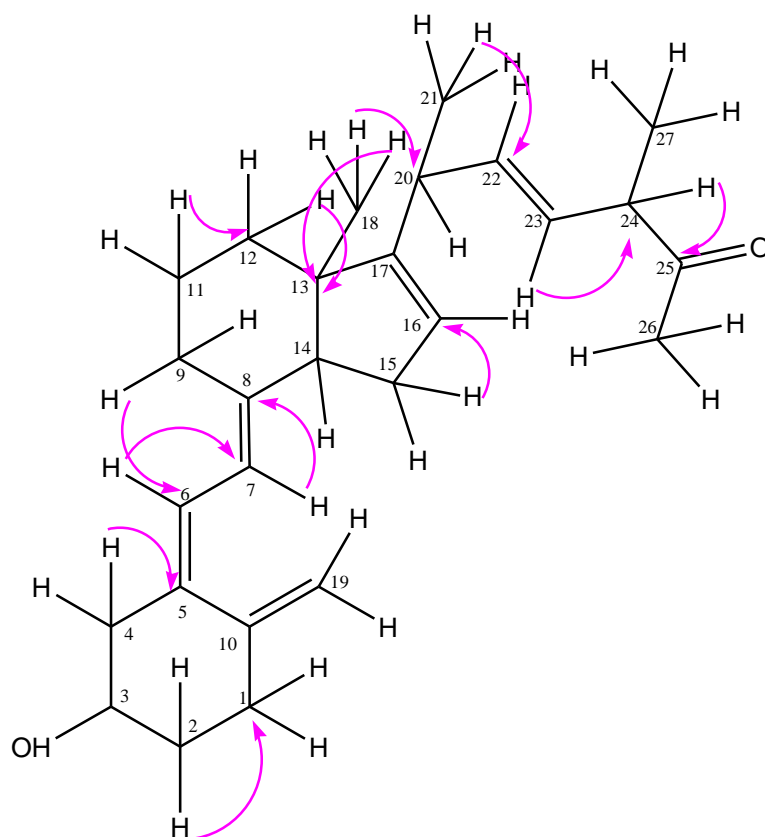
Gambar 4.15 (E)-6-((E)-4-((Z)-2-5-hidroksi-2-metilenesikloheksilidena)etilidena)-7a-metil-3a,4,5,6,7,7a-heksahidro-3H-inden-1-yl)-3-metilhept-4-en-2-ona

Senyawa 1 juga dianalisis menggunakan menggunakan 2D HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity) menunjukkan adanya hubungan jarak jauh antara  $^1\text{H}$ -  $^{13}\text{C}$  tetangga, sehingga dapat memberikan informasi posisi atom hidrogen dan karbon yang lebih presisi (Silverstein, et al., 2005). Hasil analisa senyawa menggunakan NMR 1D ( $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR) dan 2D (HMBC) ditunjukkan pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.16. Oleh karena itu diusulkan senyawa 1 adalah (E)-6-((E)-4-((Z)-2-5-hidroksi-2-metilenasikloheksalidena)etilidena)-7a-metil-3a,4,5,6,7,7a-heksahidro-3H-inden-1-yl)-3-metilhept-4-en-2-ona.

**Tabel 4.4 Data HMBC Senyawa 1**

Proton	HMBC
H-2	29.25 (C1)
H-4	32.02 (C5)
H-6	128.36 (C7)
H-7	130.33 (C8)
H-9	25.69 (C6)
H-11	14.23 (C12)

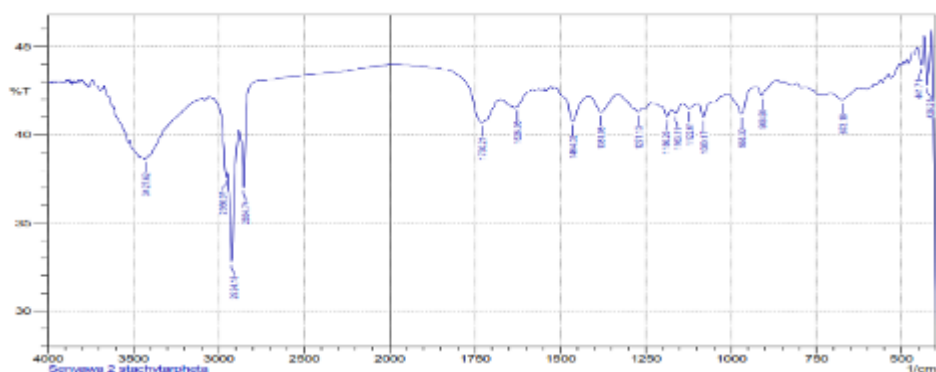
Proton	HMBC
H-12	24.77 (C13, C14)
H-14	27.28 (C15)
H-15	29.66 (C16)
H-16	127.19 (C15, C14)
H-18	29.07 (C13, C20)
H-20	22.79 (C21)
H-21	25.79 (C22, C23)



Gambar 4.16 korelasi HMBC (E)-6-((E)-4-((Z)-2-5-hidroksi-2-metilenasikloheksalidena) etilidena)-7a-metil-3a,4,5,6,7,7a-heksahidro-3H-inden-1-yl)-3-metilhept-4-en-2-ona.

#### 4.4.2 Penentuan struktur senyawa 2

Senyawa 2 berupa gel kecoklatan dengan massa 23 mg. senyawa ini larut dalam etil acetat dan kloroform. Senyawa 2 dianalisis menggunakan spektrofotometer IR dan spektrofotometer 1D NMR ( $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ NMR). Di bawah ini merupakan spektrum IR senyawa 2.



Gambar 4.17 senyawa 2 Spektrum Inframerah (IR) dari senyawa 2

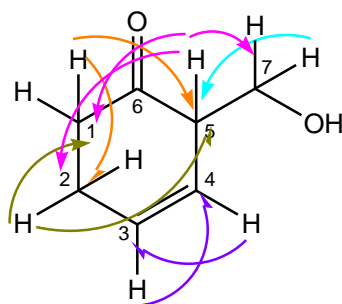
Hasil dari identifikasi struktur menggunakan IR mengindikasikan adanya O-H ( $3427.62\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1626.05\text{ cm}^{-1}$ ), dan C-O ( $1730.21\text{ cm}^{-1}$ ). Senyawa 2 juga diidentifikasi menggunakan spektroskopi NMR:  $^1\text{H}$  (400 MHz),  $^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz) dengan menggunakan pelarut  $\text{CDCl}_3$  pada frekuensi 400 MHz menunjukkan pergeseran kimia proton ( $\delta_{\text{H}}$ ) yang memberikan informasi mengenai jenis proton dari struktur yang di analisa. Data  $^1\text{H}$ -NMR (Tabel 1) menjelaskan pada  $\delta_{\text{H}}$ ; 0,89 merupakan sinyal metil ( $\text{CH}_3$ ) (t,  $J= 6,9$ , 1H), 1,27 ppm merupakan sinyal metilen ( $\text{CH}_2$ ) (s, 1H), 1,59 merupakan sinyal metin (CH) (s, 1H), dan pada sinyal 7,25 merupakan sinyal hidroksi (-OH) (s, 1H).

Analisis struktur senyawa 2 juga didukung dengan hasil spektrum  $^{13}\text{C}$ NMR (Chloroform-D, 400MHz). senyawa 2 menunjukkan adanya 7 sinyal karbon. Pergeseran kimia ( $\delta_{\text{C}}$ ) pada 184.33 ppm merupakan sinyal karbon yang mengikat karbonil (C= O), 83.93 ppm merupakan sinyal karbon yang berikatan dengan OH, 97.05 ppm sinyal karbon yang berikatan dengan O, dan 32.543 ppm, 29.797 ppm menunjukkan sinyal metilen ( $\text{CH}_2$ ). Senyawa 2 juga dianalisis menggunakan menggunakan 2D HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity). Hasil analisa senyawa menggunakan NMR 1D ( $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$

NMR) dan 2D (HMBC) ditunjukkan pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.16. Oleh karena itu diusulkan senyawa 2 adalah 2-(hidroksimetil) siklohek-3-enone.

**Tabel 4.5 Data HMBC Senyawa 2**

Posisi C	$\delta$ H ppm	$\delta$ C ppm	HMBC
1	7.25	32,5	C2;C5
2	1,27	29,6	C1;C5
3	1.31	127,4	C4
4	1.59	132,2	C3
5	1,24	184,3	-
6	1.22	97,9	C1;C2;C7
7	0,86	83,8	C5



Gambar 4.18 2-(hidroksimetil) siklohek-3-enona

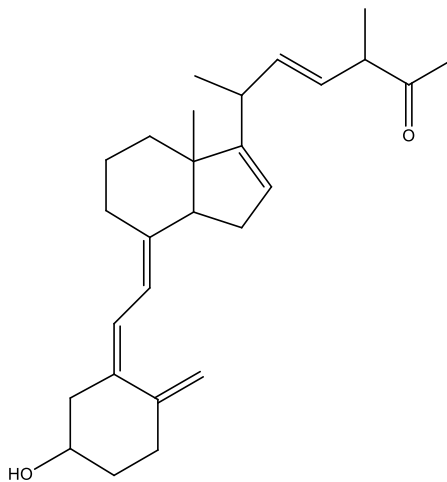


## BAB 5

### PENUTUP

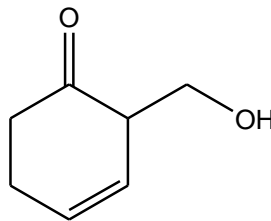
#### 5.1 Kesimpulan

Isolasi senyawa dari daun *S. jamaicensis* telah dilakukan. Dua senyawa telah berhasil diidentifikasi yaitu:



(E)-6-((E)-4-((Z)-2-5-hydroxy-2-methylenecyclohexylidene)ethylidene)-methyl-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-3H-inden-1-yl)-3-methylhept-4-en-2-one

7a-



2-(hidroksimetil) siklohek-3-enona

#### 5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan terhadap proses isolasi senyawa pada bagian tanaman *S. jamaicensis* yang lain seperti pada batang dan menguji bioaktivitasnya guna mengetahui senyawa yang terkandung dalam tanaman *S. jamaicensis* untuk dijadikan sebagai sumber bahan pengobatan.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A, 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Universitas Terbuka. Jakarta
- Agoes, G., Sapri, Fitriani, A., Narulita, R. (2007). “Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi”. In: Prosiding Seminar Nasional Kimia. HKI-Kaltim.
- Alen, A., Djaman. (2018). “TLC Profile and Activity Test of Secondary Metabolites *Aspergillus flavus* “In-Habiting” Queen Termite’s Nest *Macrotermes gilvus* on Enriched Media”.
- Almeida, A. M. P, Akisue. G, Akisue. M.K, Oliveira. F. (1995). “Caracterização Farmacognóstica de Óleoessencial e do extrato fluido de gervão: *Stachytarpheta australis*, Moldenke –Verbenaceae”. *Revista Brasileira de Farmacognosia São Paulo*, vol. 2-4:45-52.
- Auwaliyah, F. (2018). Isolasi senyawa dari *Stachytarpheta jamaicensis* serta uji aktivitas antioksidan dan antidiabetes. Thesis, ITS.
- Azmie, M., Dasuki. (2017). “Pengaruh Metode Ekstraksi Refluks dan Ekstraksi Sinambung terhadap Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Total Fenol dan Flavonoid dari Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus Murray*)”. Vol 3, No 1.
- Azwanida, N. N. (2015). “A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Lemitation”. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 1-6.
- Bajpai, V. K., Majumder, R., dan Park, J. G. (2016). “Isolation and purification of plant secondary metabolites using column-chromatographic technique”. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11, 844-848.
- Bele, A. A. Khale, A. (2017). “An overview on thin layer chromatography”. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 256-267.

- Bennet, R.N. Wallsgrove, R.M. 1994. "Secondary metabolites in plant defence mechanisms". *New Phytologist* .127 (4) : 617– 633.
- Bhacca, N. S. Williamns, D. H (1965). "Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry: Illustrations from the Steroid Field". *Science*, 148 3671), 808.
- Bhawani, S. A., Sulaiman, O., Hashim, R., Mohammad, M. N. (2010)." *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*". 9(3), 301-313.
- Boffito, D. C., Neagoe, C., Cerrato, G., Boffito, C., Chiarello, G. L., Bianchi, C. L., Rigamonti, M. G., Benamer, A., dan Patience, G. S. (2018). "Spectroscopy". *Experimental Methods and Instrumentation for Chemical Engineers*, 399-383.
- Cannon, J., Li, D., Wood, S. G., Owen, N. L., Gromova, A., dan Lutsky, V. (2001). "Investigation of secondary metabolities in plants". A general protocol for undergraduate research in natural product. *Journal of Chemical Education*, 78(9).
- Cazes, J. 2004. "Encyclopedia of Chromatography". New York: Marcel Dekker.Inc.
- Coskun, O. (2016). "Separation techniques": Chomatography .
- Deepak, Mundkinajeddu, Handa. Sukhdev. (2000). "Anti inflammatory activity and chemical composition of extracts of *verbena officinalis*". *Phytotherapy Research*. 14463-465.
- Field, L. D., Sterhall, S., Kalman, J.R., (2013). *Organic Structures from Spectra Fifth Edition*. A John Wiley and Sons, Ltd, Publication, United Kingdom.
- Froelich, S., Gupta, M. P., Siems, K., Jenett-Siemns, K. (2008). "Phenylethanoid glycosides from *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, Verbenaceae, a traditional antimalaria medicinal plant". *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(4), 517-520.
- Gibbons, J. (2006). "Employee Engagement A Review of Current Research and Its Impllications". USA: The Conference Board.
- Harbone, J. B, 1987. Metode Fitokimia Penentuan Cara Menganalisa Tumbuhan. Edisi II, ITB, Bandung.

- Harborne, J.B. 1887. Metode Fitokimia : “Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan”. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Terbitan Kedua. Penerbit ITB. Bandung.
- Hernández, Y., Lobo, M.G., González, M., 2009. “Factors Affecting Sample Extraction in the Liquid Chromatographic Determination of Organic Acids in Papaya and Pineapple”. *Food Chemistry*, Vol. 114(2), 734–741.
- Heyne, K., (1987). “*Tumbuhan Berguna Indonesia*”. Jilid III Cetakan ke-1, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta.
- Idu M., Omogbai E. K. I., Aghimien G. E., Amaechina F., Timothy O., Omonigho S. E. (2010). “Preliminary phytochemistry, antimicrobial properties and acute toxicity of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. Leaves”. *Trends in Medical Research*. 2(4):193–198.
- Irchhaiya, R., Kumar, A., Yadav, A., Gupta, N., Kumar, S.,V., Prakash, A., Gurjar H. “Metabolites in plants and its classification”. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 4(1), 287-305.
- Ismail, B., Nielsen, S. S. (2010). Basic principles of chromatography. *Food Analysis, Food Science Texts Series*, 473-498.
- Kagan, I., A., Flythe, M. D. (2014). Thin-layer chromatography (TLC) separations and bioassays of plant extracts to identify antimicrobial compounds. *Journal of Visualized Experiments*, 85, 1-3.
- Khopkar, S.M., (2010). Konsep Dasar Kimia Analitik. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Kumar, S., Sandhir., Sudarshan. (2014). “Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves”. *BMC Research notes*. 7(1) :560.
- Kusmana, C., H., Agus. (2015). “Keaneka ragaman hayati flora di Indonesia”. *Jurnal Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan*. Vol.5.No 2.: 187-189.
- Liew, P. M., Young, Y., K. (2015). “*Stachytarpheta Jamaicensis* (L) Vahl: from traditional usage to pharmacological evidence”. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-7.

- McMurry, J. (2017). “*Organic Chemistry*”. Anorganic chemistry Textmap organized around the textbook, MaidTouch.
- Mousavi, M., Yu. S. F., Tzou, D. M., (2009). A <sup>13</sup>C solid-state NMR nalysis of vitamin D coumpounds. *Solid state Nuclear Magnetic Resonance*. Vol. 36, pp 34-31.
- Okwu, D. E., Ohenhen, O. N. (2009). “Isolation, characterization and antibacterial activity of lanostane triterpenoid from the leaves of *Stachytarpheta jamaicensis* Linn Vahl”. *Der Chemica Sinica*, I(2), 6-14.
- Okwu, D. E., Ohenhen, O. N. (2010). “Isolation and characterization of Steroidal Glycosides from the leaves of *Stachytarpheta Jamaicensis* Linn Vahl”. *Der Chemica Sinica*, 1(2), 6-14.
- Pandian, C., Srinivasan, A., Pelapolu. (2013). “Evaluation of wound healing activity of hydroalcoholic extract of leaves of *Stachytarpheta jamaicensis* in streptocin induced diabetic rats”. *Der Pharmacia Lettre* 5(2), 193-2000.
- Putera., K. Anis Shazura. (2010). “Antimicrobial activity and cyto-toxic effects of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl crude plant extracts”. University Teknologi Malaysia.
- Robinson, R. D., Williams, L. A., Lindo, J. F., Terry, S. I. (1990). “Inactivation of *Strongyloides stercoralis* filariform larvae *in vitro* by six Jamaican plant ectracts and three commercial anthelmintics”. *West Indian Medical Journal* 39: 213-217.
- Schapoval, E. E. S., Winter, de V. M. R., Chaves, C. G., (1998).”Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*”. *Journal of Etnopharmacology*, 60:53-59.
- Silva, G. O. De, Abeysundara, A. T., Aponso, M. M. W. (2017). “Extraction methods, qualitative and quantitative techniques for screening of phytochemicals from plants”. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 5(2), 29-32.
- Silverstein, R. M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., (2005). *Spectrometric Identification Of Organic Compounds*. Sevent Edition. John wiley & Sons, State University of New York.

- Sivaranjani, R., Ramakrishnan, K., Bhuvanewari, G. (2014). "Pharmacognostic studies on root of *Stachytarpheta jamaicensis*". *International Letters of Natural Sciences*, 8(2), 100-105.
- Sonneck Marcel, Spannenberg, A. Wohlrab, S. (2016). "Synthesis and Molecular Structures of the Lowest Melting Odd-and Even- Numbered  $\alpha$ ,  $\beta$ -Unsaturated Carboxylic Acid – (E)-Hept-2-Enoic Acid and (E)-Oct-2-Enoic Acid". *Crystals*. 6,66.
- Stieger, N., Liebenberg, W. (2012). "Recrystallization of Active Pharmaceutical Ingredients. Crystallization-Science and Technology". *Creative Commons Attribution*.
- Sulaiman, Zakaria, Chiong. (2009). "Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl (Verbenaceae) in Experimental Animal Models". *Medical Principles and Practice*.18 (4): 272-9.
- Suneetha, S. Poornima, K. Sumana, Hgde Nidhi, Puttaraju. (2013). "Comparative studies on antimicrobial and antifungal efficacy from *Bixa Orellana* (L), *Lantana camara* L; *Stachytarpheta jamaicensis* (L) Vahl". *Hyptis Suaveolens* (l) poit with triclosan. *CIBTech Journal of Microbiology*. Vol 2:15-23.
- Tahid., C., Lin, H. V., Kitamura, T., Accili, D., (2009). Genetic and biochemical pathways of beta-cell failure in type 2 diabetes. *Diabetes Obesity Metabolism*. Vol. 11, pp. 38-45.
- Underwood. (1996). Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi ke V, Erlangga. Jakarta
- Yuliana, F. (2019). "Isolasi senyawa dari *Stachytarpheta jamaicensis* serta uji aktivitas antioksidan dan  $\alpha$ -glukosidase". Thesis, ITS.

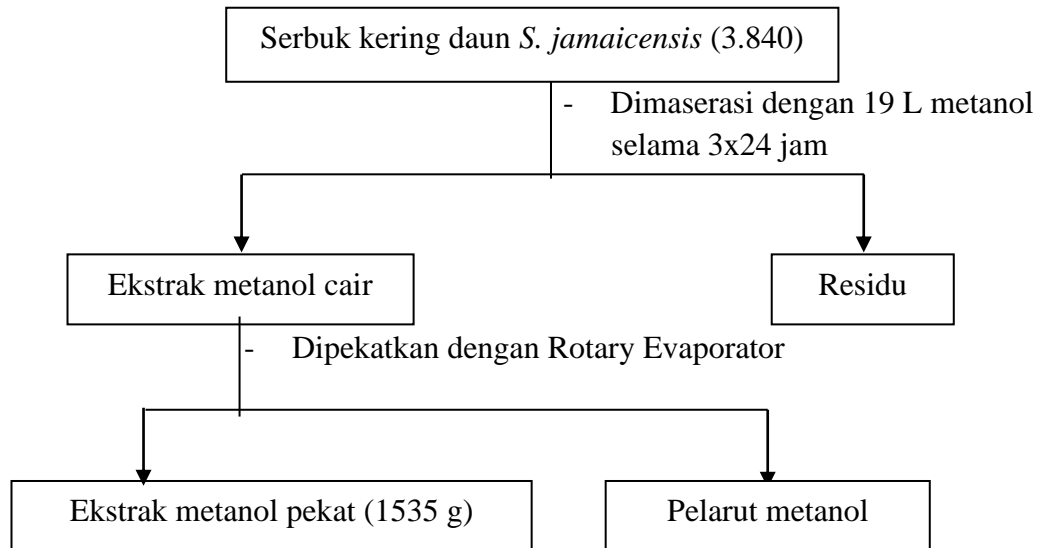
*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*



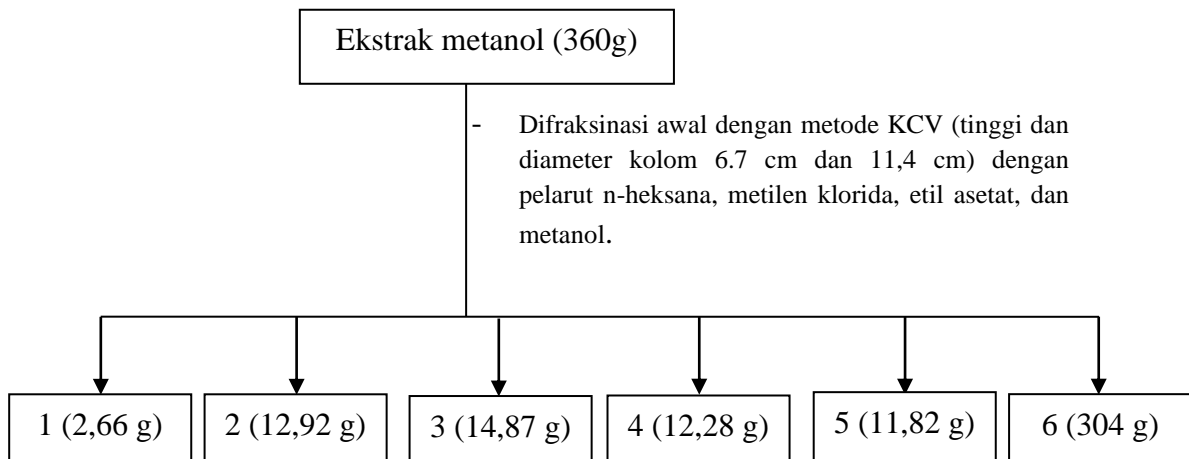
## LAMPIRAN

### Lampiran A: Ekstraksi dan Fraksinasi senyawa 1 dan 2.

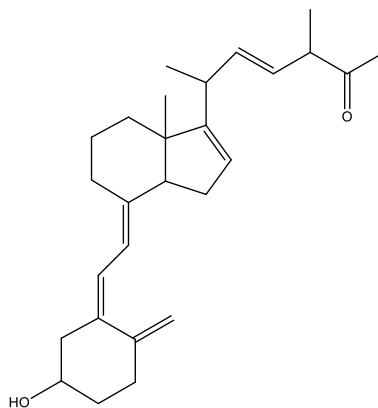
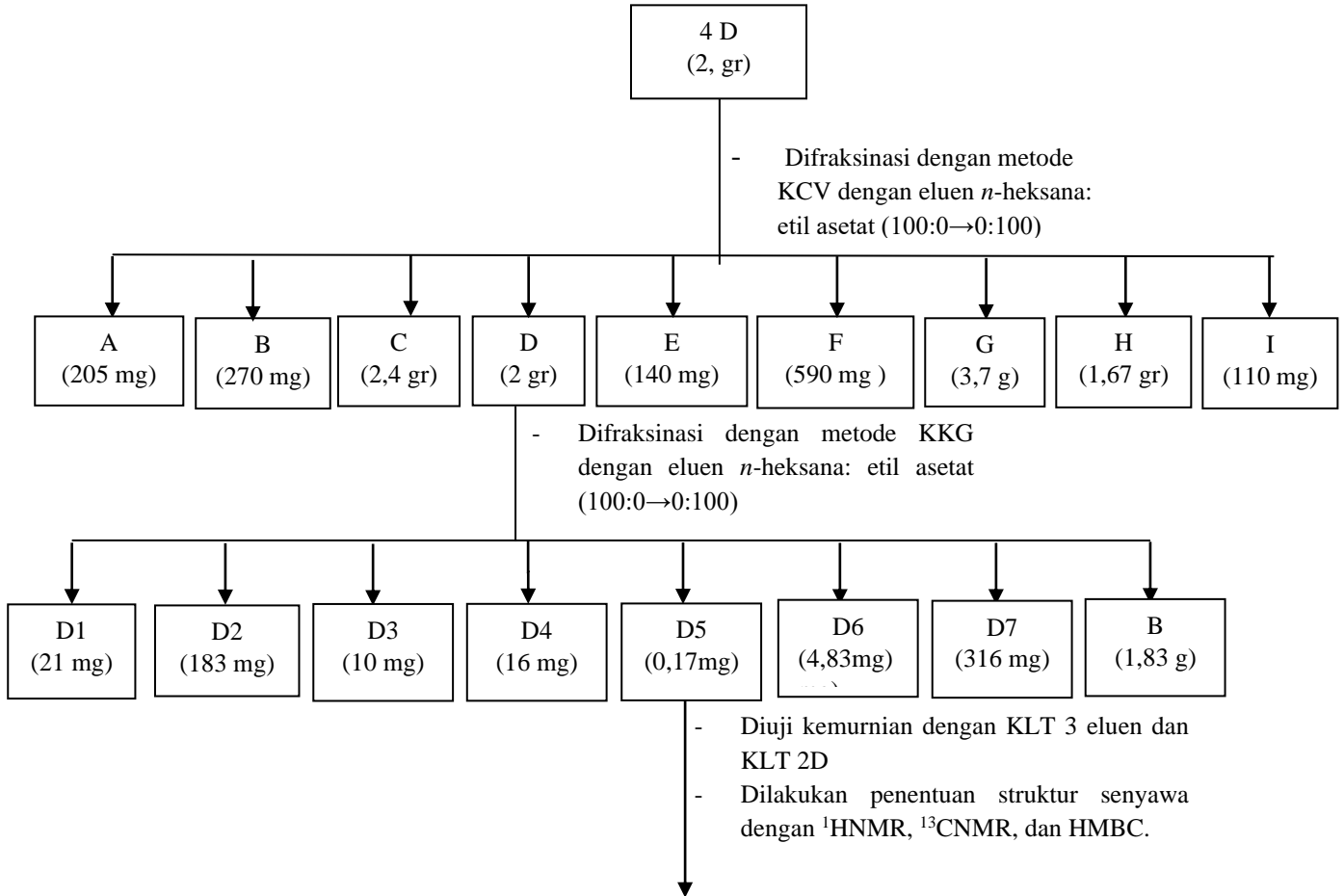
#### 1. Ekstraksi Daun *Stachytarpheta jamaicensis* senyawa 1



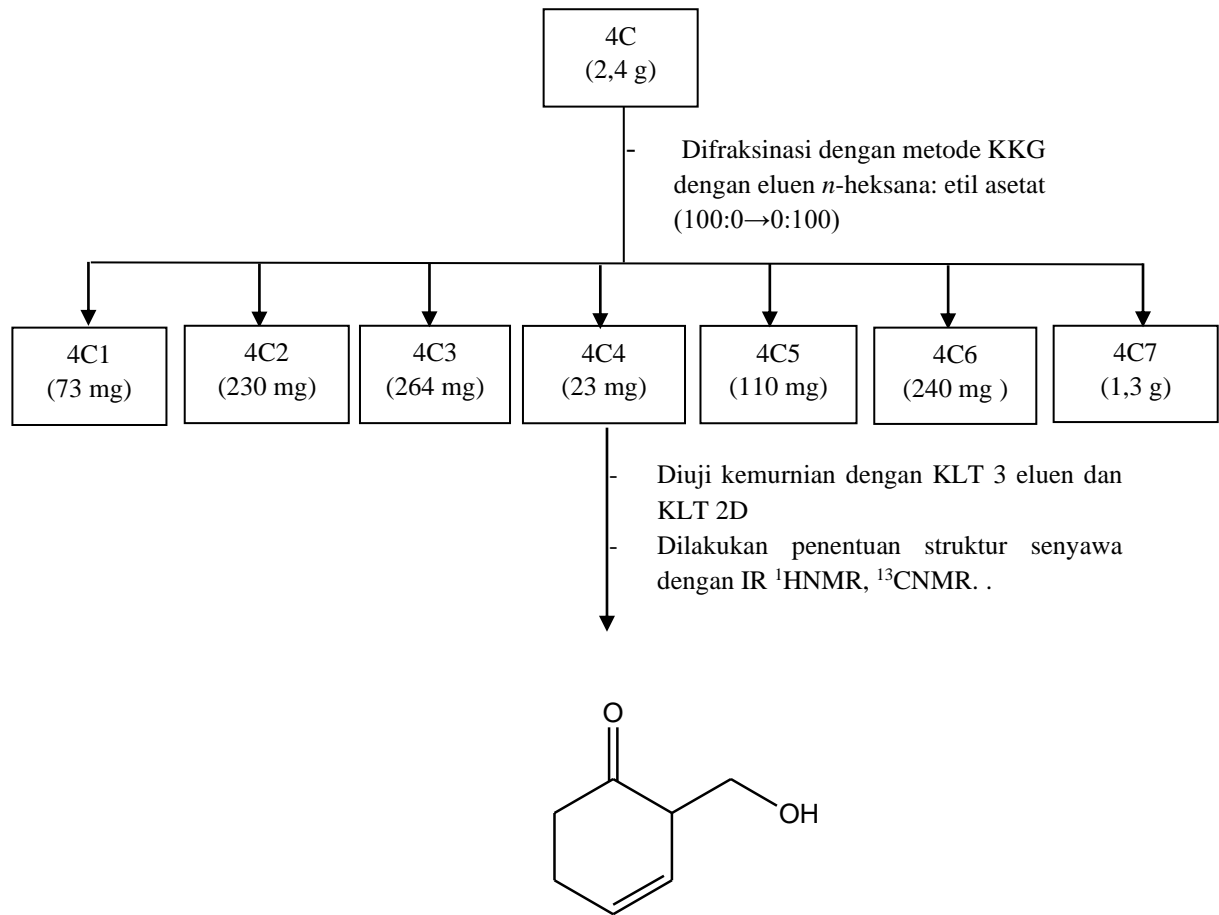
#### 2. Fraksinasi dan Isolasi



## 1. Fraksinasi dan Isolasi senyawa 1

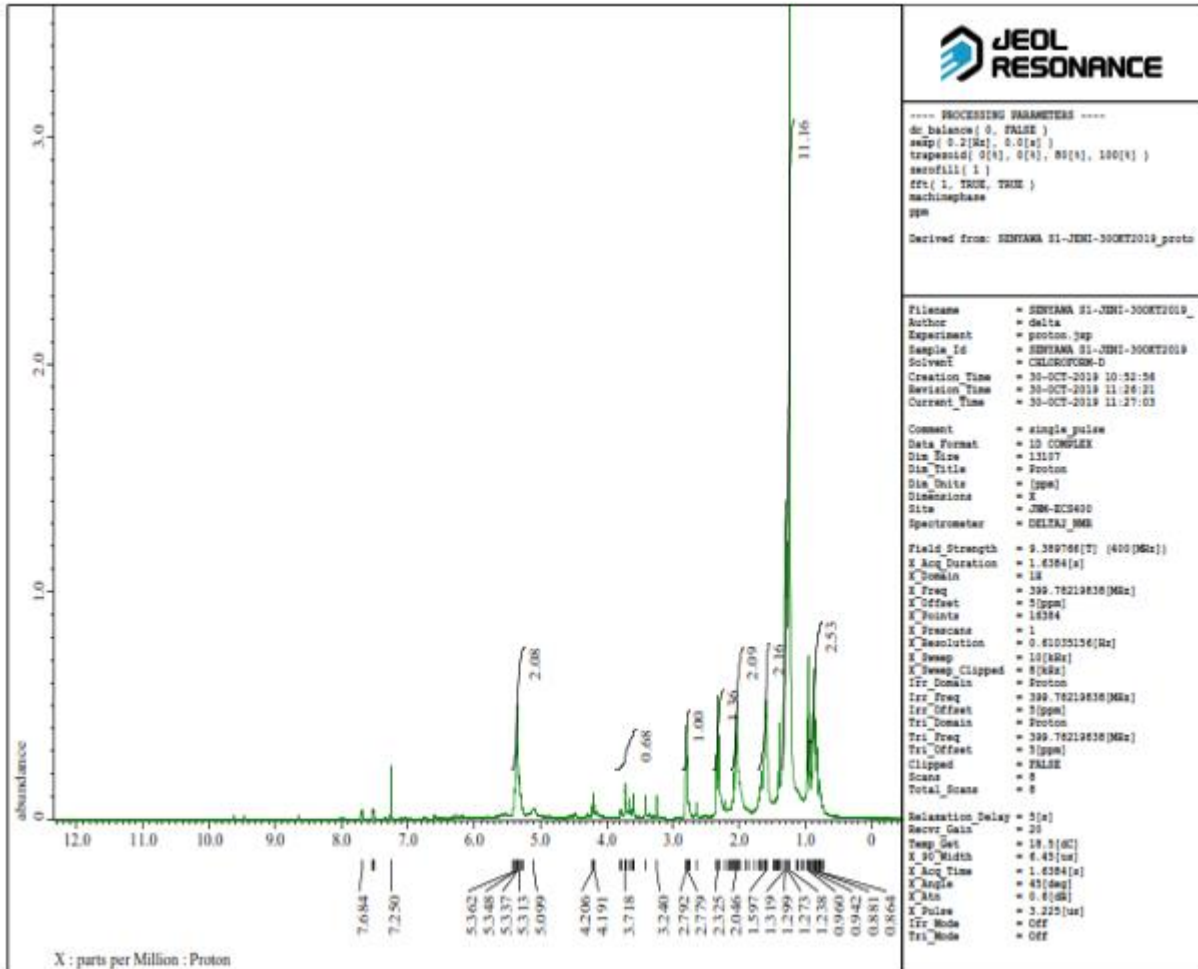


## 2. Fraksinasi dan Isolasi senyawa 2

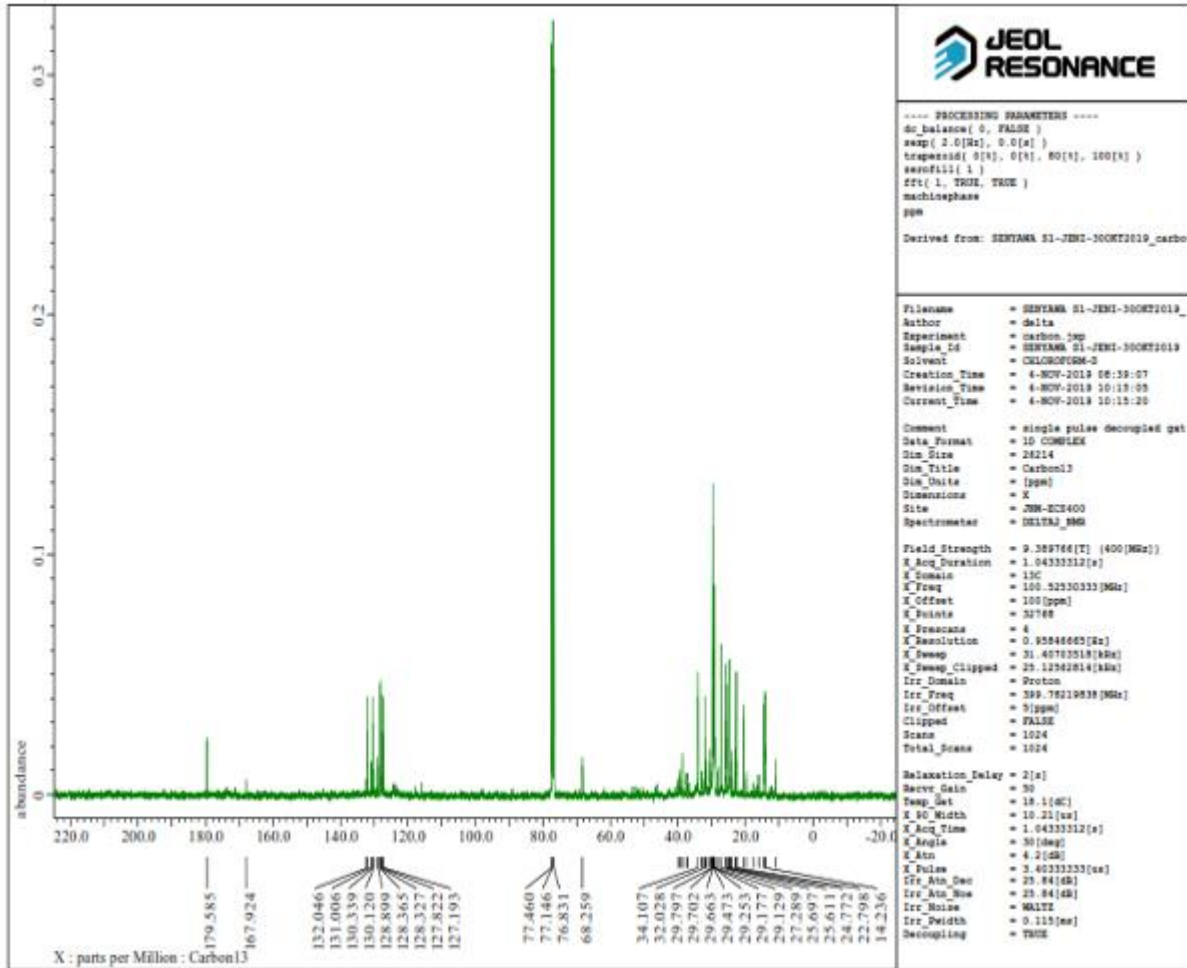


## LAMPIRAN B: Sppektrum NMR

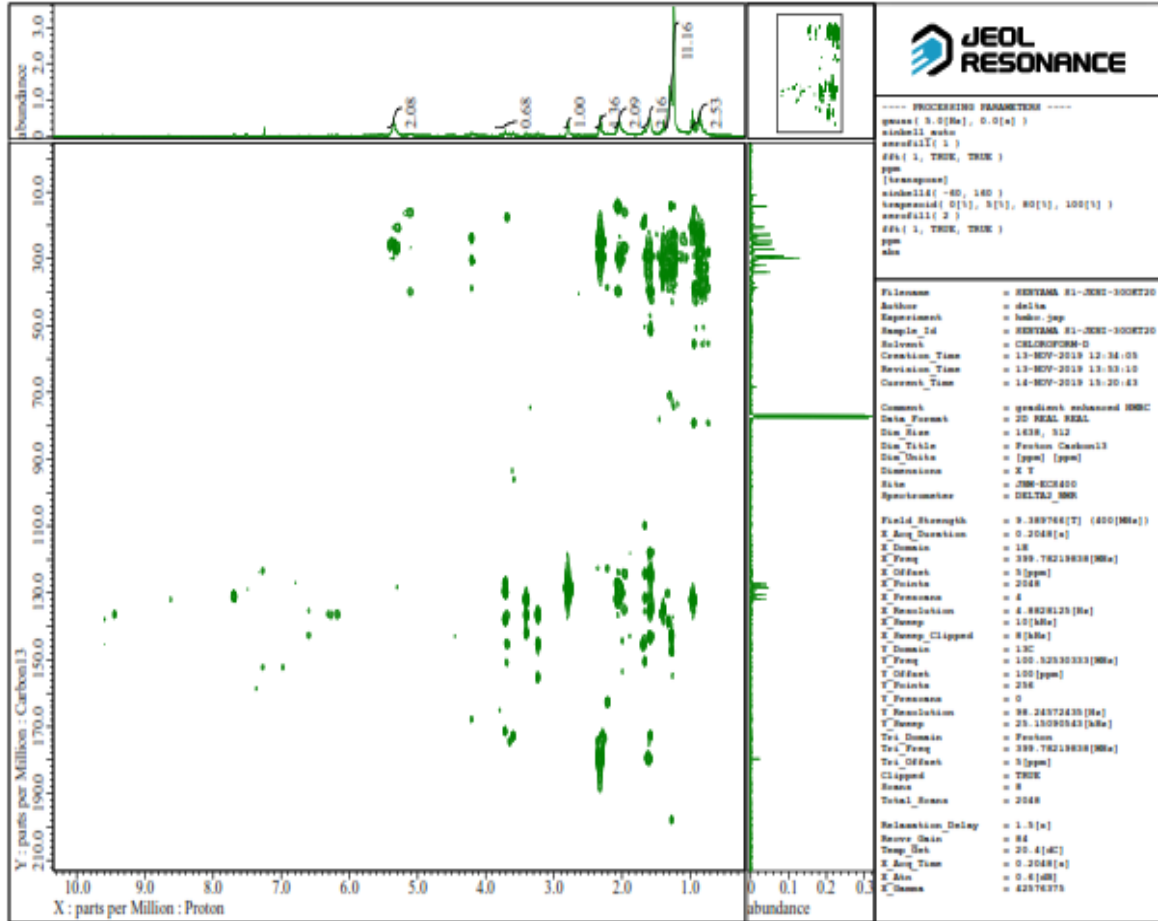
### 1. Spektrum NMR senyawa 1 1.1 Spektrum <sup>1</sup>HNMR



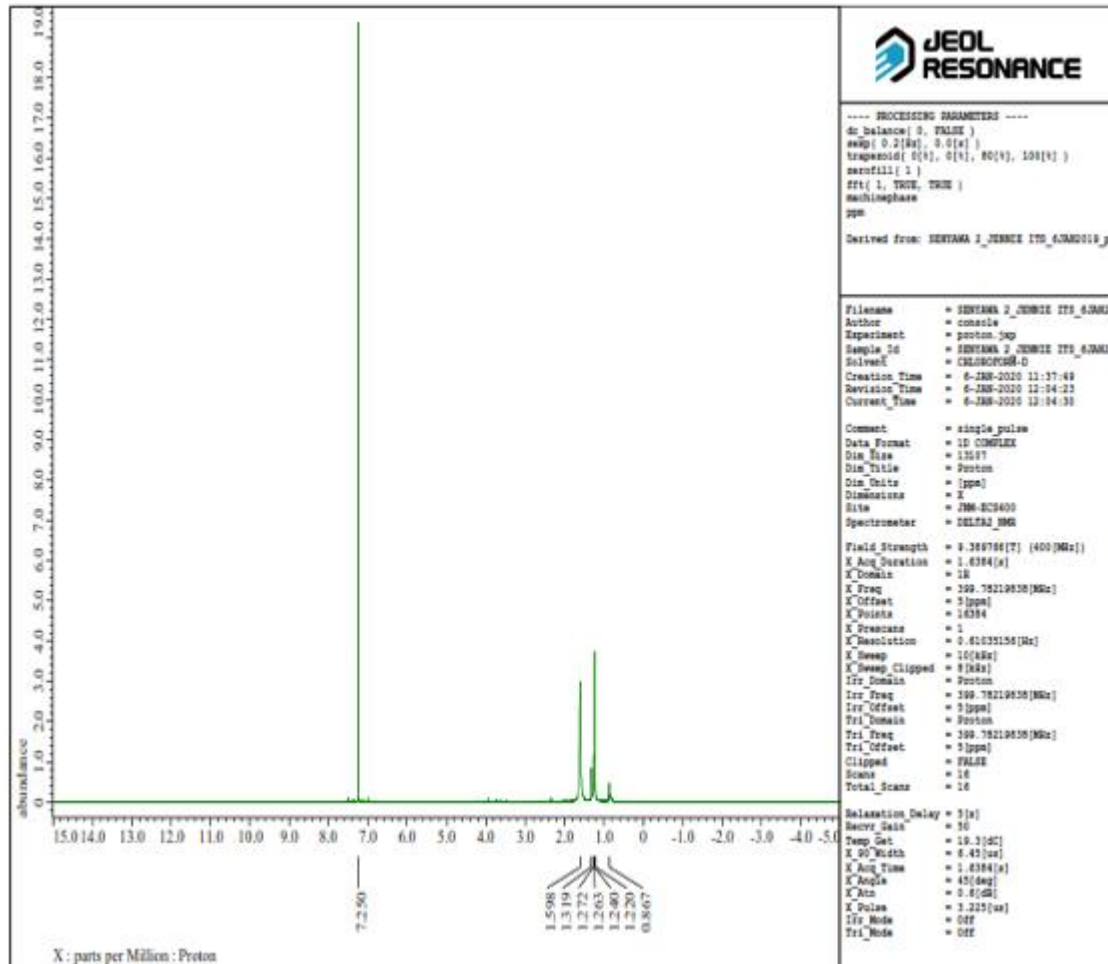
## 1.2 Spektrum <sup>13</sup>CNMR



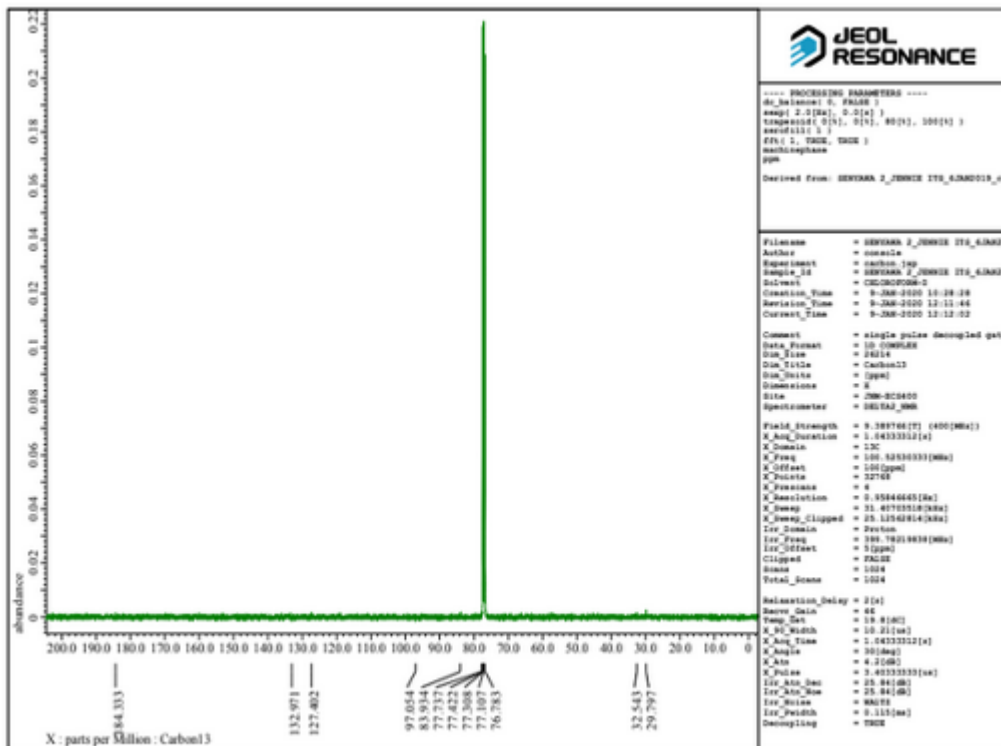
### 1.3 Spektrum HMBC



## 2. Spektrum <sup>1</sup>HNMR senyawa 2

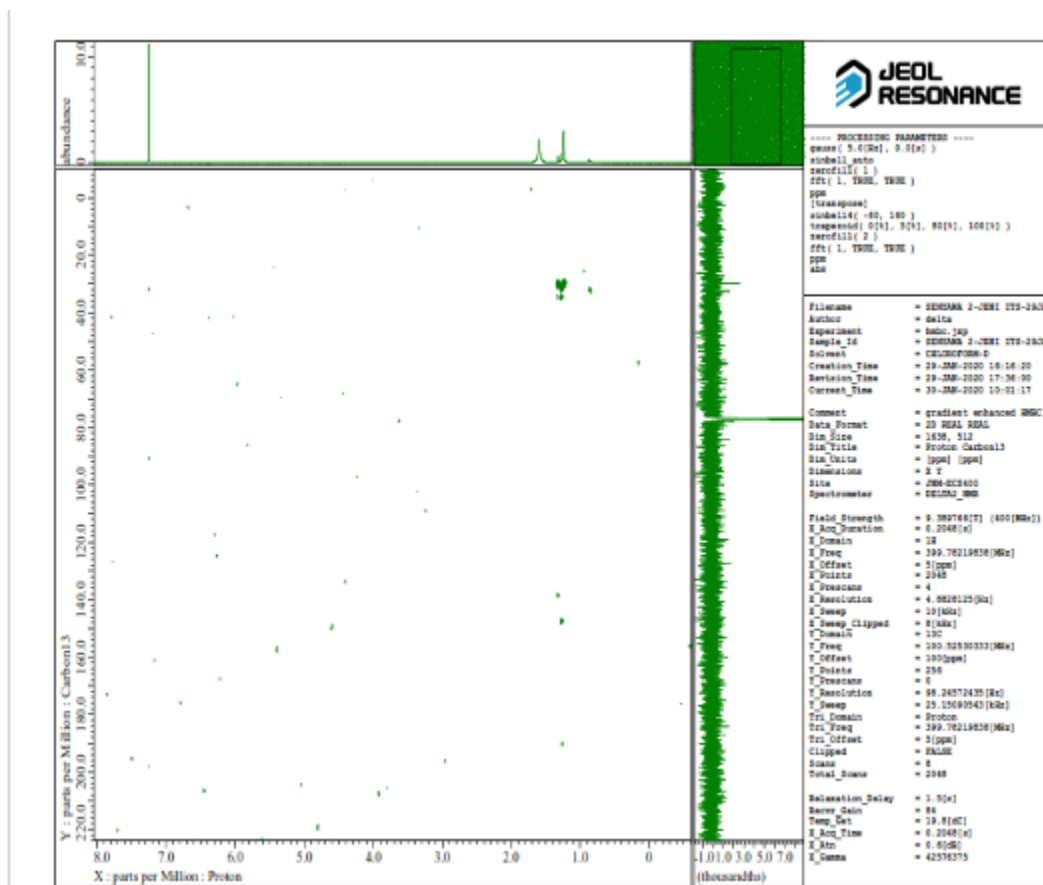


## 1.2 Spektrum CNMR senyawa 2





### 1.3 Spektrum HMBC



## BIOGRAFI PENULIS



**Jeni** dilahirkan di Kupang pada 03 September 1993. Pendidikan formal yang ditempuh yaitu SD Impres Bakunase II Kupang NTT pada tahun 1999 hingga lulus pada tahun 2004, SMP NEG. 4 Kupang NTT pada 2005 hingga lulus pada tahun 2007, SMA Kristen Tunas Bangsa Kupang NTT pada 2008 hingga lulus pada tahun 2011 dan Universitas Katolik Widya Mandira Kupang NTT pada 2011 tingkat S1 Jurusan Pendidikan Kimia. Penulis menyelesaikan tugas akhir Skripsi yang berjudul Pengaruh Gaya Belajar dan Kreativitas Terhadap Hasil Belajar

Melalui Pendekatan *Saintifik* pada Materi Koloid Siswa Kelas XI IPA SMAN 3 Kupang Timur Tahun Pelajaran 2014/2015. Pada tahun 2017 penulis berkesempatan untuk melanjutkan studi Magister dibawah bimbingan Ibu Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D. dengan judul tugas akhir Tesis Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun *Stachytarpheta jamaicensis*. Penulis dapat dihubungi melalui [jeniani935@gmail.com](mailto:jeniani935@gmail.com).