SKRIPSI

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK METANOL TANAMAN *Melastoma malabathricum* (L.)

MAULIDELLA

NRP 01211640000087

Dosen Pembimbing

Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc., Ph.D.

DEPARTEMEN KIMIA

FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2020

SCRIPT

ISOLATION OF SECONDARY METABOLITE FROM METHANOL EXTRACT OF *Melastoma malabathricum* (L.)

MAULIDELLA
NRP 01211640000087

Advisor lecturer
Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc., Ph.D.

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

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK METANOL TANAMAN *Melastoma malabathricum* (L.)

SKRIPSI

Disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan mata kuliah skripsi program S-1 Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya

Oleh:

Maulidella
NRP. 01211640000087

DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2020

HALAMAN PENGESAHAN

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK METANOL TANAMAN *Melastoma malabathricum* (L.)

SKRIPSI

Oleh:

MAULIDELLA

NRP. 01211640000087

Surabaya, 21 Agustus 2020

Menyetujui,

Dosen Pembimbing

Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc., Ph.D.

NIP. 19801103 200212 2 001

Mengetahui,

Kepala Departemen Kimia

Prof. Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, S.Si., M.Si.

NIP. 19740428 199802 1 001

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK METANOL TANAMAN *Melastoma malabathricum* (L.)

Nama : Maulidella
NRP. : 01211640000087
Departmen : Kimia FSAD
Dosen Pembimbing : Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc., Ph.D.

ABSTRAK

Tanaman *Melastoma malabathricum* biasa disebut dengan karamunting laki atau senduduk merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai ramuan obat tradisional. Tanaman ini berasal dari Indomalaya, Jepang dan Australia. Tanaman *M. malabathricum* digunakan secara tradisional untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, salah satunya sebagai obat diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari tanaman *Melastoma malabathricum* yang berasal dari Kalimantan. Pada penelitian ini menggunakan proses ekstraksi dengan metode maserasi serta pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan teknik kromatografi. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol, fraksi etil asetat diduga merupakan senyawa Triterpenoid. Senyawa tersebut dianalisis menggunakan ^{1}H-NMR. Senyawa ini berbentuk padatan berwarna putih sebanyak 170 mg.

Kata kunci : Isolasi, *Melastoma Malabathricum*, Metabolit Sekunder, Triterpenoid.

ISOLATION OF SECONDARY METABOLITE FROM METHANOL EXTRACT OF *Melastoma malabathricum* (L.)

Name : Maulidella
NRP. : 01211640000087
Department : Kimia FSAD
Advisor Lecturer : Sri Fatmawati, S.Si, M.Sc., Ph.D.

ABSTRACT

Melastoma malabathricum plant commonly called karamunting laki or senduduk is one of the plants used as traditional medicinal herbs. This plant originates from Indomalaya, Japan and Australia. *M. malabathricum* plant is used traditionally to cure various types of diseases, one of which is as a diabetes drug. This study aims to isolate of secondary metabolites from methanol extract of *Melastoma malabathricum* plants originating from Kalimantan. Extraction is done by maceration method and purification is done by chromatography techniques. Identification of secondary metabolite compounds from methanol extract, the ethyl acetate fraction was obtained by one compound, namely Triterpenoid. The compound was analyzed using ^{1}H-NMR. This compound is in the form of 170 mg of white solid.

Keywords: Isolation, *Melastoma Malabathricum*, Secondary Metabolites, Triterpenoids.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi yang berjudul "**Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Tanaman *Melastoma malabathricum*** (L.)**"**

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Sri Fatmawati, S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan skripsi ini.
2. Prof. Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, S.Si., M.Si. selaku Kepala Departemen Kimia FSAD-ITS yang telah memberikan fasilitas hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Prof. Mardi Santoso, Ph.D. selaku kepala laboratorium NPSC.
4. Kedua orang tua dan keluarga yang selalu memberi dukungan dan doa.
5. Teman-teman mahasiswa Kimia ITS angkatan 2016 Magnum Opus yang memberikan doa dan dukungan.
6. Pihak-pihak yang membantu menyelesaikan naskah skripsi ini yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan naskah skripsi ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 21 Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN i
ABSTRAK ii
ABSTRACT iii
KATA PENGANTAR iv
DAFTAR ISI v
DAFTAR GAMBAR vii
DAFTAR TABEL ix
DAFTAR LAMPIRAN x
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Pendahuluan 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan 4
1.4 Manfaat 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Tinjauan Botani 5
2.2 Metabolit Sekunder 6
2.2.1 Alkaloid 7
2.2.2 Terpenoid 8
2.2.3 Fenolik 9
2.2.4 Flavonoid 10
2.2.5 Tanin 11
2.3 Aktivitas Biologis Tanaman 19
2.3.1 Antidiabetes 19

2.3.2 Hiperlipidemia 20
2.4 Proses Pemisahan Senyawa 21
2.4.1 Ekstraksi 21
2.4.2 Fraksinasi 22
2.4.3 Pemurnian Senyawa dengan Rekristalisasi 25
2.5 Identifikasi Senyawa 26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN 33
3.1 Alat dan Bahan 33
3.1.1 Alat 33
3.1.2 Bahan 33
3.2 Prosedur Kerja 34
3.2.1 Ekstraksi Daun Melastoma Malabathricum 34
3.2.2 Fraksinasi dan Isolasi Senyawa 34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 37
4.1 Ekstraksi daun Melastoma Malabathricum 37
4.2 Fraksinasi dan Isolasi senyawa 37
4.3 Analisis Senyawa 47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 55
5.1 Kesimpulan 55
5.2 Saran 55
DAFTAR PUSTAKA 57
LAMPIRAN 67
BIODATA PENULIS 73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun *Melastoma malabathricum* 6

Gambar 2. 2 Struktur Nikotin 8

Gambar 2. 3 Struktur Taxol 9

Gambar 2. 4 Struktur Fenol 10

Gambar 2. 5 Struktur Isoflavon 11

Gambar 2. 6 Struktur tanin terhidrolisa monomerik, 1,4,6-tri-O-galloyl -β- D-glukosa (1), 1,2,4,6-tetra-O-galloyl- β -D-glucose (2) dan strictinin (3). 12

Gambar 2. 7 Struktur casuarictin (4), pedunculagin (5), nobotanin D (6) dan pterocarinin C (7). 14

Gambar 2. 8 Struktur nobotanin B (8), malabathrins B (9), malabathrins C (14). 15

Gambar 2. 9 Struktur nobotanin G (15), nobotanin H (16), malabathrins D (17) dan nobotanin J (18). 18

Gambar 2. 10 Struktur formula Kolesterol 21

Gambar 2. 11 Grafik korelasi NMR 29

Gambar 4. 1 KCV (Kromatografi Cair Vakum) 38

Gambar 4. 2 (a) KLT KCV 1, (b) KLT KCV 2, (c) KLT KCV 3, (d) KLT KCV 4, (e) KLT KCV 5 dan (f) KLT KCV 6. 40

Gambar 4. 3 Penggabungan fraksi pada KCV 1-5 *M. Malabathricum* dengan eluen etil asetat : metilen klorida (50:50) 40

Gambar 4. 4 KLT fraksi 1-7 41

Gambar 4. 5 KLT fraksi 6 dengan eluen metilen klorida : metanol (95:5) 42

Gambar 4. 6 KKG fraksi 6 43

Gambar 4. 7 Subfraksi 6A-6G..... 44

Gambar 4. 8 Gambar subfraksi 6E 45

Gambar 4. 9 KLT sistem tiga eluen. (a) metilen klorida : metanol (80 : 20), (b) metilen klorida : metanol (90 : 10), (c) *n*-heksana:etil asetat (20:80) 46

Gambar 4. 10 KLT 2D dengan eluen Metilen klorida : metanol (90:10) dan *n*-heksana : etil asetat (80:20)..... 46

Gambar 4. 11 ^{1}H-NMR *M. Malabathricum* 48

Gambar 4. 12 Struktur Asiatic acid 50

Gambar 4. 13 Struktur Uvaol 50

Gambar 4. 14 Struktur α-amyrin 51

Gambar 4. 15 Struktur Betulinic acid 52

Gambar 4. 16 2-Hydroxy ursolic acid 52

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Klasifikasi terpenoid berdasarkan jumlah isoprene (Tobing, 1989). 8

Tabel 2. 2 Pita absorbsi Infra Merah (IR) 28

Tabel 4. 1 Skema Eluen KKG 43

Tabel 4. 2 Analisis Proton ^{1}H-NMR..... 49

Tabel 4. 3 Perbandingan pergesan kimia δH(ppm) senyawa - senyawa triterpenoid. 53

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A : Skema Kerja Secara Umum.....67
LAMPIRAN B: Spektrum NMR.....70

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Pendahuluan

Indonesia adalah negara kepulauan beriklim tropis dengan 13.466 pulau terverifikasi dari 17.499 pulau (Amien *et al.,* 2014). Populasi masyarakat Indonesia mencapai 270.054.853 jiwa pada tahun 2018 (Biro Pusat Statistik, 2013). Indonesia adalah negara berpenduduk terbesar keempat di dunia dan negara yang berpenduduk muslim terbesar di dunia, dengan lebih dari 230 juta jiwa (Ricklefs, 2001). Luas daratannya mencapai sekitar 2,012 juta km^2 dan laut sekitar 5,8 juta km^2 (75,7%), 2,7 juta kilometer persegi diantaranya termasuk dalam Zona Ekonomi Ekslusif (ZEE) (Ramdhan dan Arifin, 2013). Negara Kesatuan Republik Indonesia (NKRI) juga merupakan negara pantai (*coastal state*) yang komponen wilayah nasionalnya terdiri atas daratan, lautan (perairan) dan ruang udara (*air space*). Dua pertiga dari keseluruhan wilayah Indonesia berupa lautan. Kurang lebih 6 juta km^2 wilayah Indonesia berupa laut yang sangat mempengaruhi iklim dan cuaca seluruh wilayah. Dipandang dari sifat alami, maka lingkungan laut Indonesia memperlihatkan sifat integral antara unsur laut (air) dan darat (tanah). Secara ekologis, hal ini merupakan dasar ilmiah dan alami pula bagi konsep wawasan nusantara sebagai perwujudan kesatuan geografis, yang menjadi dasar kesatuan politis, ekonomi, budaya, pertahanan dan keamanan (*Mochtar,* 1987).

Indonesia merupakan negara maritim dan negara hutan tropis, diakui dunia sebagai komunitas yang paling kaya akan keanekaragaman hayatinya, terdapat sekitar 25.000 spesies tumbuhan berbunga, jumlah yang melebihi di daerah-daerah tropika lainnya di dunia seperti Amerika Selatan dan Afrika Barat, antara lain keanekaragaman spesies tumbuhan obat

(Zuhud, 2001). Berdasarkan catatan WHO, IUCN dan WWF lebih dari 20.000 spesies tumbuhan obat yang digunakan oleh 80 % penduduk seluruh dunia (Foster, 1995). Berbagai penelitian etnofitomedika-etnobotani yang dilakukan oleh peneliti Indonesia telah diketahui, paling tidak ada 78 spesies tumbuhan obat yang digunakan oleh 34 etnis untuk mengobati penyakit malaria, 133 spesies tumbuhan obat untuk mengobati penyakit demam oleh 30 etnis, 110 spesies tumbuhan obat untuk mengobati penyakit gangguan pencernaan oleh 30 etnis dan 98 spesies tumbuhan obat digunakan untuk mengobati penyakit kulit oleh 27 etnis (Sangat, 1999).

Senduduk atau Karamunting laki *(Melastoma malabathricum)*, dikenal juga sebagai *Malabar melastome*, *rhododendron* India, *rhododendron* Singapura dan *rhododendron*, yang merupakan tanaman berbunga di keluarga *Melastomataceae*. Tumbuhan ini berasal dari Indomalaya, Jepang dan Australia dan biasanya ditemukan antara 100 dan 2.800 m di padang rumput dan hutan. Tanaman ini telah digunakan sebagai obat di bagian dunia tertentu, tetapi telah dinyatakan sebagai gulma berbahaya di Amerika Serikat (GRIN, 2018). *M. malabathricum* adalah hiperakumulator aluminium yang dikenal yang dapat digunakan untuk fitoremediasi (Watanabe, 1998). Senggani (*Melastoma malabathricum L.)* merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang terdapat di Indonesia. Sebagian besar memanfaatkan tumbuhan ini untuk obat berbagai macam penyakit misalnya, penyakit mencret, keputihan, radang usus, sariawan, kejang dan penyakit ayan (Syamsuhidayat, 1989). Selain itu, akar senggani oleh masyarakat di daerah Singkawang, Kalimantan Barat dimanfaatkan untuk obat kontrasepsi wanita.

Tumbuhan menghasilkan ribuan senyawa organik yang secara tradisional dibagi menjadi dua kelas besar yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer

sangat penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Sedangkan metabolit sekunder sering bertindak sebagai molekul pertahanan dan melindungi tanaman dalam berbagai kondisi. Metabolit sekunder tumbuhan beragam dalam sifat kimia. Biosintesis metabolit sekunder dimulai dari jalur dasar, seperti glikolisis atau jalur asam shikimik, dan kemudian terdiversifikasi, sebagian besar tergantung pada jenis sel, tahap perkembangan dan isyarat lingkungan. Berdasarkan komposisi kimia, metabolit sekunder secara luas dibagi menjadi dua kelompok yaitu molekul yang mengandung nitrogen (alkaloid) dan molekul yang kekurangan nitrogen (terpenoid dan fenolik) (Patra, 2013). Metabolit sekunder yang terkandung dalam daun karamunting antara lain asam heksakosanoik, asam galat, flavonoid, glikosida, fenol, triterpen, tanin, saponin, dan steroid (Joffry, 2012 dan Rohyami, 2008). Adanya kandungan senyawa fenol, flavonoid, saponin, dan tanin diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Robinson, 1995 dan Puspitasari, 2012).

Senyawa golongan flavonoid, flavan-3-ols, triterpene, tannin, antosianin, saponin, alkaloid, steroid, glikosida dan fenolat telah didapatkan dan diidentifikasi dari tanaman *m. malabathricum.* Lebih dari 80 senyawa telah ditemukan dari tanaman *m. malabathricum*. Beberapa diantara senyawa tersebut adalah malvidin-3,5-diglucoside, Cyanidin- (Cy-) 3-glucoside, Cy-3,5-diglucoside , β-sitosterol, triterpenoid yang ditunjuk sebagai asam melastomik (asam 5-hidroksilup-20 (29) -en-28-oic, 32-metil-1-tritriacontanol, asam ursolat, asam p-hidroksibenzoat, asam galat, kaempferol, kaempferol-3-O-β-D-xyloside, quercetin-3-O-α-L-rhamnosyl-(1→2)-β-D-galactoside, flavan-3-ol, 4-methylpeonidin-7-O-β-D-glukosida, 1,4,6-tri-O-galloyl-β-D-glucoside, 1,2,4,6-tetra-O-galloyl-β-D-glukosida, strictinin, casuarictin, pedunculagin, nobotanin D, pterocarinin C, casuarinin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epicatechin, stachyurin, procyanidin B-5, B-2, stenophyllanins A & B, alienanin B, asam brevifolincarboxylic, asam stearat, asam ursolat , asam 2-hidroksiursolat, asam asiatik, serta

gliserol-1,2-dilinolenyl-3-O-β-Dgalactopyranoside, gliserol 1,2-dilinolenyl-3-O- (4,6-di-O-isopropylidene)-β-D-galactopyranoside , β-sitosterol, α-amyrin, uvaol, quercetin, quercitrin, sitosterol-3-O-β-D-glukopiranosida dst. Pada penelitian ini didapatkan senyawa triterpenoid dari ekstrak metanol fraksi etil asetat.

1.2 Rumusan Masalah

Melastoma Malabathricum merupakan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati beberapa macam penyakit. Akan tetapi, metabolit sekunder yang terkandung di dalam *M. Malabathricum* belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini mengarah pada isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun *Melastoma Malabathricum*.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun *Melastoma Malabathricum* atau karamunting laki.

1.4 Manfaat

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

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani

Melastoma malabathricum L. merupakan salah satu tanaman yang berpotensial dalam menghasilkan sumber pigmen antosianin. *M. malabathricum* berasal dari bahasa yunani yang artinya mulut hitam. Buah dari tanaman ini dapat diklasifikasikan sebagai beri dan ketika masak buah akan merekah dalam beberapa bagian, berwarna ungu tua, berasa manis sedikit pahit dan memiliki biji berwarna orange. Buahnya dapat dimakan dan apabila dimakan akan meninggalkan warna hitam pada lidah (Wong, W. 2008).

M. malabathricum tumbuh liar di berbagai tanah, dari permukaan laut hingga ketinggian 3000 meter. Tanaman ini bercabang dan memiliki batang kemerahan yang ditutupi dengan sisik kasar dan rambut kecil. Daunnya sederhana seperti pada Gambar 2.1, lanset elips dengan pangkal bundar, panjangnya mencapai 7 cm, memiliki tiga vena utama yang berbeda dari pangkal hingga puncak. Buahnya adalah buah beri, yang ketika matang pecah secara tidak teratur untuk mengekspos buburnya yang lunak, biji biru tua dan orange (*Samy, 2005*).

Nama lain dari *Melastoma malabathricum L*. adalah *Melastomaaffine G. Don*., *Melastoma polyanthum*., dan *Melastoma 7 septemnervium Lour*. Nama daerah tumbuhan ini yaitu Harendong (Sunda), Kluruk, Senggani (Jawa), Kemanden (Madura), Yeh mu (China) dan Asian melastome (Inggris) (Liana, 2010).

Gambar 2. 1 Daun *Melastoma malabathricum*

Dalam taksonomi tumbuhan, *M. malabathricum* diklasifikasikan sebagai berikut : (Pramana, 2013).

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Myrtales

Suku : Melastomataceae

Marga : Melastoma

Jenis : Melastoma malabathricum L

2.2 Metabolit Sekunder

Senyawa alami secara umum terdiri dari molekul kimia berupa mineral, metabolit primer dan metabolit sekunder. Secara famili, metabolit primer dan metabolit sekunder merupakan senyawa organik. Berdasarkan fungsi terhadap makhluk hidup pembuatannya, bahan alam terbagi menjadi 2

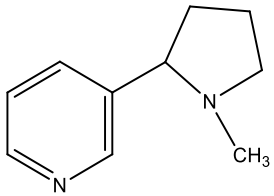
yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan atau dikeluarkan sebagai adaptasi biokimia yang dilakukan oleh golongan tumbuhan. Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya (*R. Verpoorte, 2000*). Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator dan sebagai molekul sinyal (*R. Verpoorte, 2000*).

Metabolit sekunder tumbuhan beragam dalam sifat kimia. Biosintesis metabolit sekunder dimulai dari jalur dasar, seperti glikolisis atau jalur asam shikimik dan kemudian terdiversifikasi, sebagian besar tergantung pada jenis sel, tahap perkembangan dan isyarat lingkungan. Berdasarkan komposisi kimia, metabolit sekunder secara luas dibagi menjadi dua kelompok yaitu molekul yang mengandung nitrogen (alkaloid) dan molekul yang kekurangan nitrogen (terpenoid dan fenolik). Analisis fitokimia kualitatif dilakukan pada masing-masing ekstrak kasar untuk menentukan keberadaan metabolit sekunder termasuk alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan terpenoid (S.C. Sinang, 2019).

2.2.1 Alkaloid

Alkaloid adalah molekul yang mengandung nitrogen yang sebagian besar berasal dari asam amino seperti triptofan, tirosin, fenilalanin dan lisin, serta ornithin (V. De Luca, 2000). Alkaloid terdiri atas alkaloid indol terpenoid (mis. Vinblastin, vincristine), alkaloid tropana (kokain, skopolamin), dan

alkaloid purin (kafein, nikotin dengan struktur seperti pada Gambar 2.2), diketahui melindungi tanaman dari serangan mikroba atau herbivora dan dari radiasi-UV. Banyak alkaloid yang diproduksi oleh tanaman memiliki nilai farmasi tinggi dan telah digunakan untuk pengobatan penyakit yang mematikan.



Gambar 2. 2 Struktur Nikotin

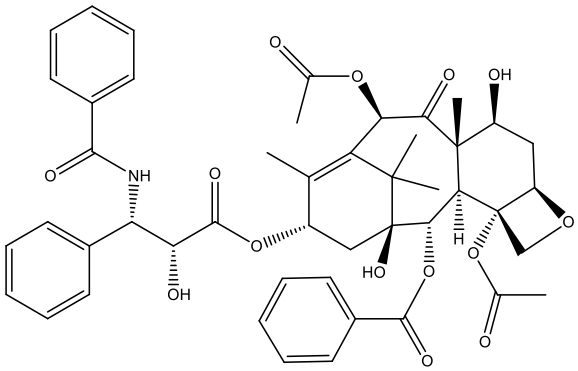
2.2.2 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa kimia yang terdiri dari beberapa isoprene. Terpenoid adalah senyawa yang hanya mengandung karbon dan hydrogen, atau karbon, hidrogen dan oksigen yang bersifat aromatis. Pada umumnya terpenoid mempunyai struktur siklik dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih (Harborne, 1987). Terpenoid biasanya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan.

Tabel 2. 1 Klasifikasi terpenoid berdasarkan jumlah isoprene (Tobing, 1989).

No	Jumlah atom C	Jumlah unit isopren	Kelas terpenoid	Contoh
1.	10	2	Monoterpenoid	Geraniol
2.	15	3	Seskuiterpenoid	Santonin
3.	20	4	Diterpenoid	Fitol
4.	30	6	Triterpenoid	Lanosterolo
5.	40	8	Tetraterpenoid	β-Karoten
6.	>40	>8	Politerpenoid	karet alam

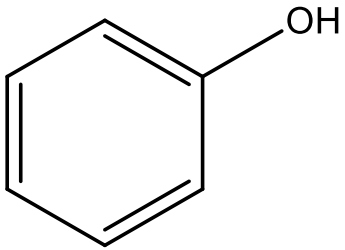
Terpenoid berasal dari prekursor lima karbon universal, isopentenyl diphosphate (IPP) dan dimethylallyl diphosphate (DMAPP). Terpenoid memainkan fungsi biologis yang beragam dan disintesis baik dalam sitosol, melalui jalur mevalonat, atau dalam kloroplas dan melalui jalur metileriritol fosfat (MEP) (D.A. Nagegowda, 2010). Beberapa terpene bertindak sebagai hormon (mis. Giberelin - diterpen, brassinosteroid triterpen) dan memiliki peran dalam pertumbuhan dan perkembangan. Terpen seperti limonene dan mentol, bertindak sebagai agen pertahanan terhadap herbivora.



Gambar 2. 3 Struktur Taxol

2.2.3 Fenolik

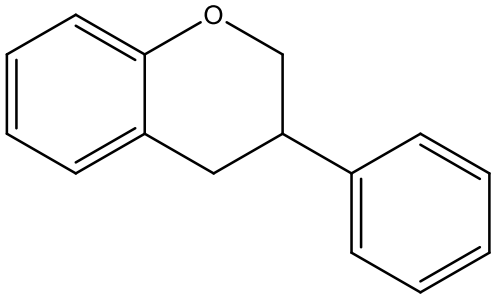
Fenolik biasanya memiliki cincin aromatik dengan gugus hidroksil yang melekat padanya. Biosintesis fenolik bergantung pada dua jalur, jalur asam shikimik dan jalur asam malonat. Flavonoid dan lignin adalah anggota penting dari grup ini. Selain memberikan pigmentasi yang indah pada bunga, flavonoid juga penting dalam perlindungan UV, menarik penyerbuk dan penyebaran benih. Selain itu, senyawa ini memiliki efek menguntungkan yang signifikan terhadap kesehatan manusia (B.S. Winkel, 2004 dan E. Butelli, 2008).



Gambar 2. 4 Struktur Fenol

2.2.4 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan (Hahlbrock K, 1981). Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, tetapi ada tiga kelompok yang umum dipelajari, yaitu antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani *anthos*, bunga dan *kyanos*, biru-tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat di bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lain misalnya, buah tertentu, batang, daun dan akar. Flavonoid sering terdapat di sel epidermis. Sebagian besar flavonoid terhimpun di vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola. Antosianin dan flavonoid lainnya menarik perhatian banyak ahli genetika karena ada kemungkinan untuk menghubungkan berbagai perbedaan morfologi di antara spesies yang dekat dalam satu genus misalnya dengan jenis flavonoid yang dikandungnya. Flavonoid yang terdapat di spesies dalam satu genus memberikan informasi bagi ahli taksonomi untuk megelompokkan dan menentukan garis evolusi tumbuhan itu (Salisbury FB, 1995).

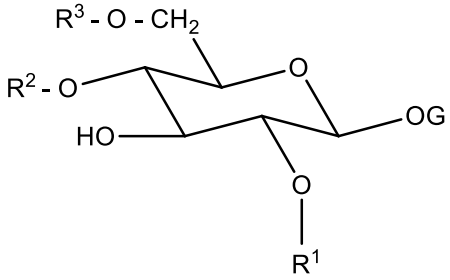


Gambar 2. 5 Struktur Isoflavon

2.2.5 Tanin

Senyawa-senyawa tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan. Berbagai senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsaan oleh herbivora dan hama, serta dalam pengaturan pertumbuhan (*Katie E. F, 2006*). Tanin yang terkandung dalam buah muda menimbulkan rasa kelat (sepat) (*McGee, 2004*), perubahan-perubahan yang terjadi pada senyawa tanin bersama berjalannya waktu berperan penting dalam proses pemasakan buah.

Berdasarkan jurnal Takashi Yoshida dkk, Daun *M. malabathricum* diperoleh tiga tanin baru, bernama malabathrins B (9), C (14) dan D (17). Sebuah glikosida flavonoid (isoquercitrin 6 "-O-gallate (Markam, 1978)), dan 11 tanin terhidrolisa juga diisolasi. Di antara yang terakhir, tujuh adalah tanin terhidrolisa monomerik, 1,4,6-tri-O-galloyl -β- D-glukosa (1) (*Nonaka*, 1984), 1,2,4,6-tetra-O-galloyl- β -D-glucose (2) (Haddock, 1982), strictinin (3), casuarictin (4), pedunculagin (5) (Okuda, 1983), nobotanin D (6) (Yoshida, 1991) dan pterocarinin C (7) (Azuma, 1982). Empat lainnya adalah oligomer tanin terhidrolisis yang diidentifikasi sebagai nobotanin B (8) (Yoshida, 1987 dan Yoshida, 1991), G (15), H (16) (dimer) (Yoshida, 1992) dan nobotanin J (18) (trimer).

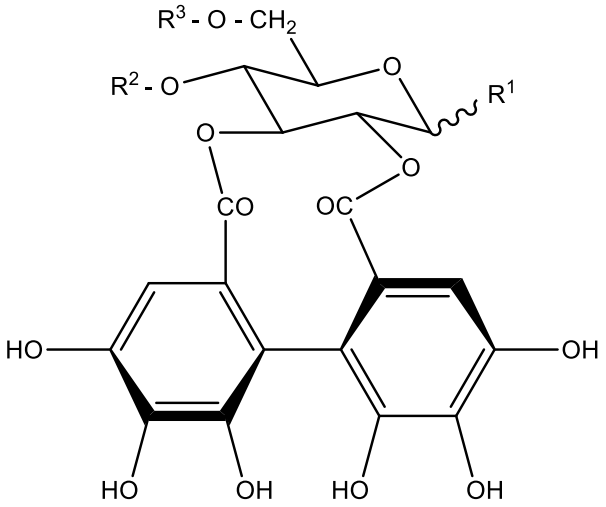


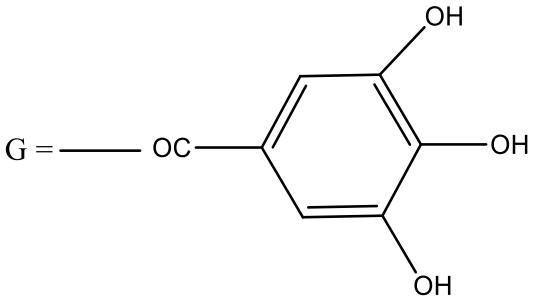
1 : R^1 = H, R^2 = R^3 = G

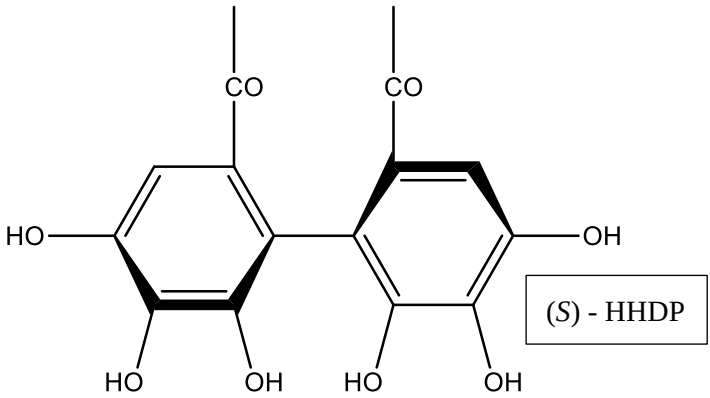
2 : R^1 = R^2 = R^3 = G

3 : R^1 = H, R^2, R^3 = (*S*)-HHDP

Gambar 2. 6 Struktur tanin terhidrolisa monomerik, 1,4,6-tri-O-galloyl -β- D-glukosa (1), 1,2,4,6-tetra-O-galloyl- β -D-glucose (2) dan strictinin (3).

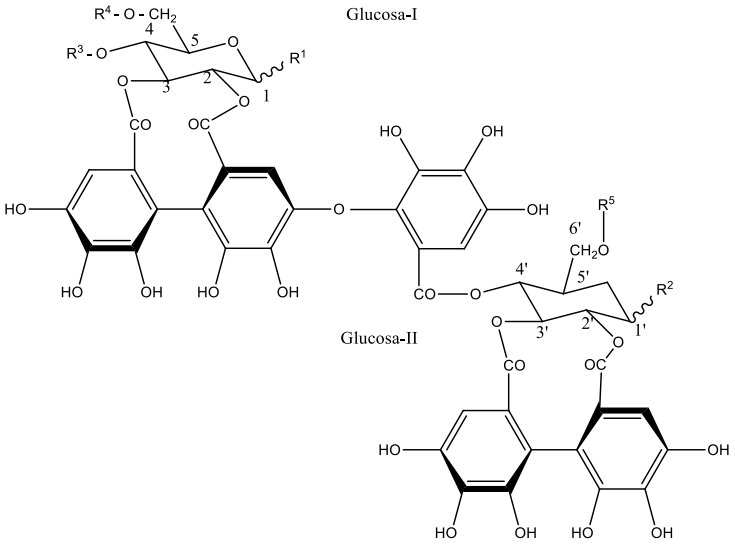

R3 - O - CH2
R2 - O
O
R1
O
O
CO
OC
HO
OH
HO
OH
HO
OH


G =
OC
OH
OH
OH



4. R^1 = (β) – OG, R^2, R^3 = (*S*)-HHDP
5. R^1 = OH, R^2, R^3 = (*S*)-HHDP
6. R^1 = (β) – OG, R^2 = H, R^3 = G
7. R^1 = (β) – OG, R^2 = R^3 = G

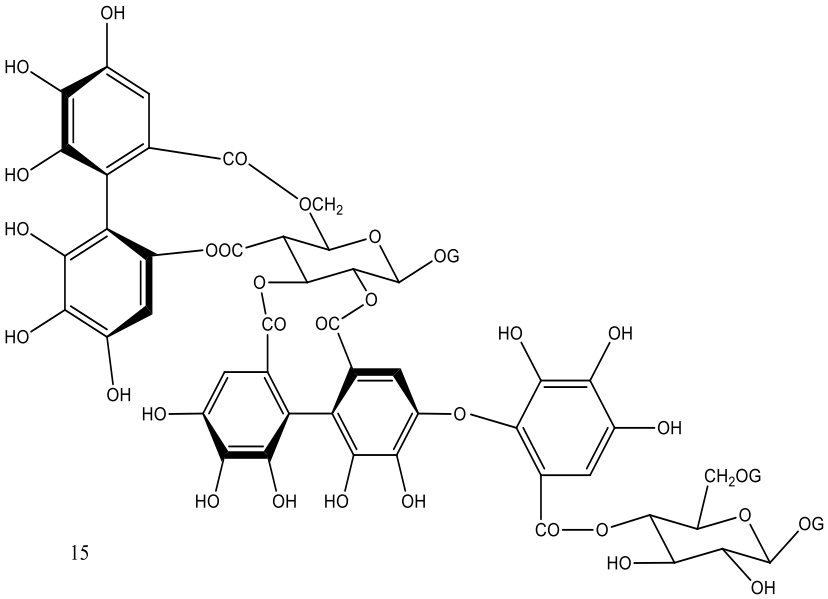
Gambar 2. 7 Struktur casuarictin (4), pedunculagin (5), nobotanin D (6) dan pterocarinin C (7).



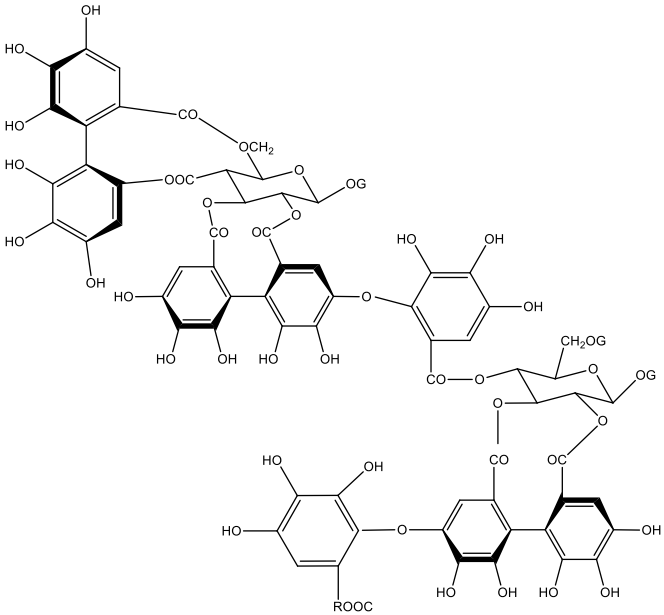
	R1	R2	R3	R4	R5
8	(β) – OG	(β) – OG	(*S*)-HHDP		G
9	(β) – OG	OH	(*S*)-HHDP		G
10	(β) – OG	OH	(*S*)-HHDP		H
11	OH	OH	(*S*)-HHDP		G
12	OH	OH	(*S*)-HHDP		H
13	OH	OH	H	H	H
14	OH	(β) – OG	(*S*)-HHDP		G

Gambar 2. 8 Struktur nobotanin B (8), malabathrins B (9), malabathrins C (14).

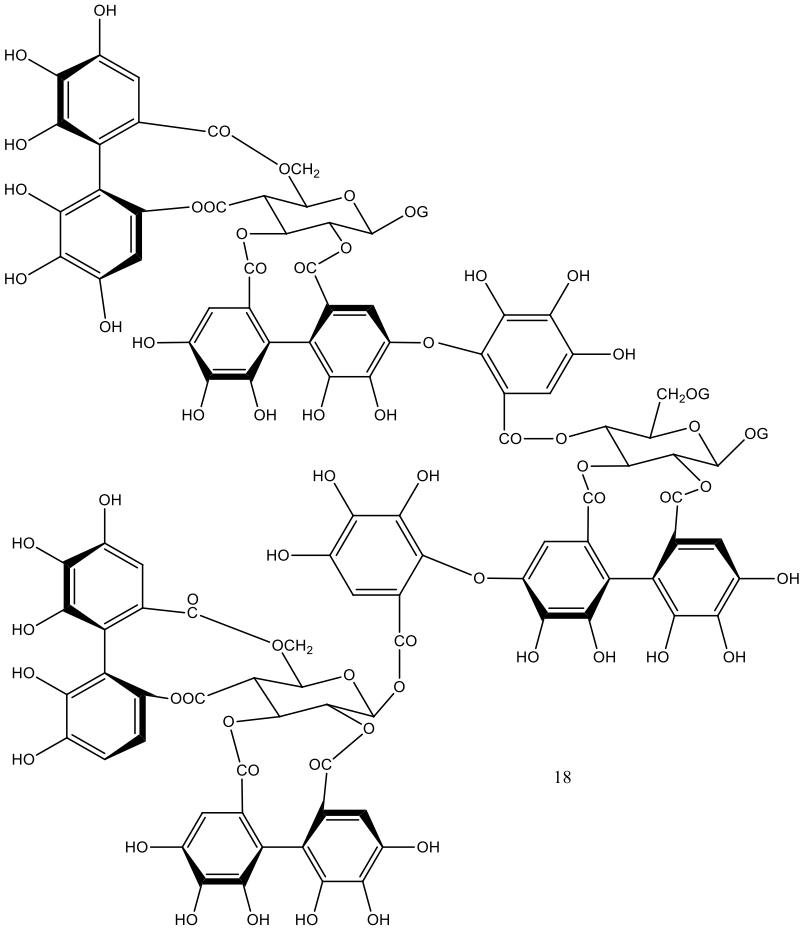
16


OH
HO
HO
CO
OCH2
HO
OOC
O
OG
O
O
HO
CO
OC
OH
HO
HO
OH
O
OH
HO
OH
HO
OH
CH2OG
CO
O
O
OG
HO
OH

15


OH
HO
HO
HO
HO
OH
CO
OCH2
OOC
O
OG
O
O
CO
OC
HO
OH
HO
O
OH
HO
OH
HO
OH
CH2OG
CO
O
O
OG
O
O
CO
OC
HO
OH
HO
O
OH
HO
OH
HO
OH
ROOC

16 : R = H
17 : R = CH_3



Gambar 2. 9 Struktur nobotanin G (15), nobotanin H (16), malabathrins D (17) dan nobotanin J (18).

2.3 Aktivitas Biologis Tanaman

2.3.1 Antidiabetes

Diabetes mellitus (DM) adalah epidemi yang terjadi pada orang dewasa di seluruh dunia dan merupakan penyebab utama gagal ginjal, serangan jantung, kebutaan dan amputasi tungkai bawah. DM adalah penyebab utama kematian keempat di sebagian besar negara maju. Prevalensi diabetes diperkirakan mencapai 330 juta pada tahun 2025, menurut Federasi Diabetes Internasional, dengan potensi peningkatan terbesar berada di Afrika dan Asia. Peningkatan angka ini akan terjadi di negara-negara berkembang. Pada tahun 2025, lebih dari 75% dari penderita diabetes akan tinggal di negara-negara berkembang (Eseyin O, 2010).

Saat ini terapi yang tersedia untuk diabetes meliputi insulin dan berbagai agen antidiabetik oral seperti sulfonilurea, biguanida, dan glinida. Banyak dari mereka memiliki sejumlah efek samping yang serius. Oleh karena itu, pencarian agen hipoglikemik yang lebih efektif dan lebih aman adalah salah satu bidang investigasi yang penting (Patel DK, 2012). Banyak tumbuhan dan tanaman telah diGambarkan memiliki aktivitas hipoglikemik ketika dikonsumsi secara oral (Rajan M, 2012). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia, ada lebih dari 1.200 spesies tanaman di seluruh dunia yang digunakan dalam pengobatan diabetes mellitus dan sejumlah besar tanaman menunjukkan aktivitas hipoglikemik yang efektif setelah pengujian laboratorium (Rajasekar V, 2010).

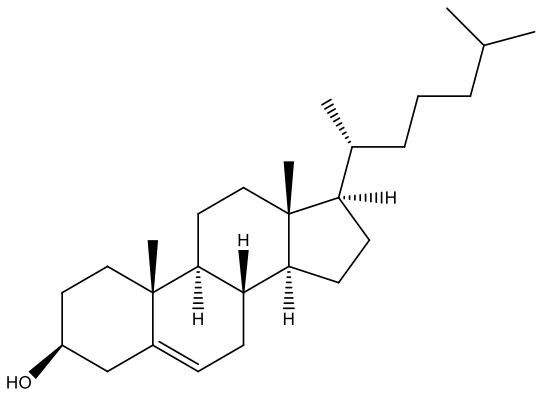
Baru-baru ini, beberapa tanaman obat telah dilaporkan bermanfaat dalam diabetes di seluruh dunia dan telah digunakan secara empiris dalam pengobatan antidiabetes dan *antihyperlipidemic*. Aktivitas *antihyperglycemic* tanaman terutama karena kemampuan mereka untuk mengembalikan fungsi jaringan pankreas dengan menyebabkan peningkatan output insulin atau menghambat penyerapan glukosa usus atau untuk memfasilitasi metabolisme dalam proses tergantung

insulin. Lebih dari 400 spesies tanaman yang memiliki aktivitas hipoglikemik telah tersedia dalam literatur. Namun, mencari obat antidiabetik baru dari tanaman alami masih menarik karena mengandung zat yang menunjukkan efek alternatif dan aman pada diabetes mellitus. Sebagian besar tanaman mengandung glikosida, alkaloid, terpenoid, flavonoid, karoten, dst, yang sering terlibat memiliki efek antidiabetik (Malviya N, 2010). Namun, studi tanaman untuk aktivitas hipoglikemik, antioksidan dan hipolipidemik dapat memberikan pendekatan farmakologis baru dalam pengobatan diabetes mellitus (Dangi KS, 2010).

2.3.2 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia adalah peningkatan kadar lemak dalam darah karena konsumsi lemak secara berlebihan, sehingga asupan dan perombakan lemak tidak seimbang. *M. malabathricum* adalah tanaman yang memiliki kandungan antioksidan berupa flavonoid, saponin, dan tannin yang diduga mempunyai efek menurunkan lipid darah (M.I. Arif, 2012).

Sedangkan Harikumar, dkk., (2013) menyebutkan bahwa Hiperlipidemia adalah suatu kondisi kelebihan lemak dalam sirkulasi darah. Dapat disebut juga dengan hiperlipo-proteinemia karena substansi lemak yang mengalir di peredaran darah terikat oleh protein karena lemak merupakan partikel yang tidak larut air. Secara umum, hiperlipidemia dapat dibedakan menjadi 2 sub kategori yaitu hiperkolesterolemia dan hipertrigliseridemia. Hiperkolesterolemia adalah adanya peningkatan kolesterol yang tinggi dalam darah, sedangkan hipertrigliseridemia adalah gejala tingginya plasma trigliserida yang memberikan efek terhadap peningkatan risiko kardiovaskular.



Gambar 2. 10 Struktur formula Kolesterol

2.4 Proses Pemisahan Senyawa

Proses pemisahan digunakan untuk mendapatkan produk senyawa murni dari suatu campuran. Sebagian besar senyawa kimia ditemukan dalam keadaan tidak murni atau tercampur dengan senyawa yang lain. Oleh karena itu, perlu dilakukan proses pemisahan senyawa dalam tanaman untuk mengisolasi senyawa dan mengetahui aktivitas biologisnya (Ahmed *et al*., 2017).

2.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya yaitu Senyawa bioaktif yang tidak diketahui, senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme dan sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural (Sarker SD, dkk., 2006). Tahap-tahap ekstraksi yaitu persiapan bahan sebelum diekstrak, pemilihan kondisi untuk proses ekstraksi, pengerjaan proses ekstraksi dan penyelesaiannya. Ada berbagai cara ekstraksi yang sering dilakukan, salah satunya yaitu maserasi.

Maserasi merupakan metode sedehana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industry (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

2.4.2 Fraksinasi

Proses pemisahan senyawa setelah ekstraksi yaitu fraksinasi. Fraksinasi adalah proses pemisahan beberapa komponen dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Proses fraksinasi pada umumnya menggunakan Teknik pemisahan kromatografi. Berdasarkan kelompok besarnya, kromatografi terbagi menjadi dua yaitu kromatografi gas dan

kromatografi cair. Kromatografi merupakan salah satu metode pemisahan komponen-komponen campuran dimana cuplikan berkesetimbangan di antara dua fasa, fasa gerak yang membawa cuplikan dan fasa diam yang menahan cuplikan secara selektif. Bila fasa gerak berupa gas, disebut kromatografi gas dan sebaliknya kalau fasa gerak berupa zat cair, disebut kromatografi cair (Hendayana, 1994). Kromatografi yang sering digunakan pada pemisahan senyawa bahan alam yaitu kromatografi cair.

Kromatografi lapisan tipis (KLT) adalah suatu teknik kromatografi yang digunakan untuk memisahkan campuran yang tidak volatile (*Harry W, 1989).* Kromatografi lapisan tipis dilakukan pada selembar kaca, plastik, atau aluminium foil yang dilapisi dengan lapisan tipis bahan adsorben, biasanya silika gel, aluminium oksida, atau selulosa. Lapisan tipis adsorben diketahui sebagai fasa stasioner (fasa diam). Setelah sampel diaplikasikan pada pelat, suatu pelarut atau campuran pelarut (dikenal sebagai fasa gerak) dialirkan ke atas melalui pelat berdasarkan gaya kapilaritas. Oleh karena analit yang berbeda mengalir menaiki pelat KLT dengan laju yang berbeda, maka terjadilah pemisahan komponen dalam analit tsb *(A.I. Vogel, 1989).* Setiap komponen akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda, sehingga akan dihasilkan bentuk noda-noda yang terpisah. Setiap noda mempunyai nilai Rf, seperti pada persamaan 2.1.

$$\text{Rf} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Jika noda tidak berwarna, maka digunakan pereaksi penampak noda yang sesuai dan disinari plat KLT dengan sinar UV (Gritter, 1991). KLT dapat digunakan untuk memonitor pergerakan reaksi, mengidentifikasi senyawa yang terdapat di dalam campuran dan menentukan kemurnian senyawa. Contoh penggunaan aplikasi ini antara lain yaitu analisis seramida dan asam lemak, deteksi pestisida dan insektisida dalam air dan

makanan, analisisi komposisi zat warna serat dalam bidang forensik, penentuan kemurnian radiokimia dalam bidang radiofarmasi, atau identifikasi tanaman obat dan konstituennya *(Reich, 2007).* Kromatografi kolom cair dapat dilakukan pada tekanan atmosfer atau pada tekanan lebih besar dari atmosfer dengan menggunakan bantuan tekanan luar misalnya gas nitrogen. Oleh karena itu, syarat utama adalah mengetahui Gambaran pemisahan cuplikan pada kromatografi lapis tipis (Harris, 1982).

Kromatografi kolom merupakan suatu metode pemisahan campuran larutan dengan perbandingan pelarut dan kerapatan dengan menggunakan bahan kolom. Kromatografi kolom lazim digunakan untuk pemisahan dan pemurnian senyawa (Schill, 1978). Kromatografi Suction Column atau vacuum liquid chromatography (VLC) atau biasa disebut kromatografi cair vakum (KCV) adalah bentuk kromatografi kolom yang berguna untuk fraksinasi kasar yang cepat terhadap suatu ekstrak. Kondisi vakum adalah alternatif untuk mempercepat aliran fase gerak dari atas ke bawah. Metode ini sering digunakan untuk fraksinasi awal dari suatu ekstrak non polar atau ekstrak semipolar (Raymond, 2006). Kromatografi cair vakum dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa metabolit sekunder secara kasar dengan menggunakan silika gel sebagai absorben dan berbagai perbandingan pelarut dengan menggunakan pompa vakum untuk memudahkan penarikan eluen (Helfman, 1983). Adapun cara kerja kromatografi cair vakum yaitu kolom kromatografi dipersiapkan dalam keadaan kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan, lalu divakumkan lagi. Kolom dipisah sampai kering kemudian kolom siap untuk dipakai (Hostettman, 1986).

KKG (Kromatografi Kolom Gravitasi) termasuk jenis teknik Kromatografi yang paling awal dikembangkan dan

termasuk kromatografi serapan yang sering disebut kromatografi elusi. Kolom kromatografi dapat berupa pipa gelas yang dilengkapi dengan kran dan gelas penyaring di dalamnya. Ukuran kolom tergantung pada banyaknya zat yang akan dipisahkan. Untuk menahan penyerap yang diletakkan di dalam kolom dapat digunakan glass woll atau kapas (Sastrohamdjojo, 2002). Aplikasi teknik ini banyak digunakan untuk pemurnian senyawa setelah melewati teknik KLT, misalnya untuk pemurnian karotenoid, klorofil, serta senyawa bioaktif tumbuhan lainnya. Teknik ini tidak dilengkapi dengan spektrometer yang secara otomatis dapat mengukur spektrum serapannya. Biasanya, pengambilan fraksi cairan dilakukan secara manual dan kemudian diukur dengan spectrometer (G. Maslebu, 2016).

2.4.3 Pemurnian Senyawa dengan Rekristalisasi

Rekristalisasi adalah teknik permurnian suatu zat padat dari campuran atau pengotornya yang dilakukan dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dengan pelarut (solven) yang sesuai atau cocok. Ada beberapa syarat agar suatu pelarut dapat digunakan dalam proses kristalisasi yaitu memberikan perbedaan daya larut yang cukup besar antara zat yang dimurnikan dengan zat pengotor, tidak meninggalkan zat pengotor pada kristal dan sudah dipisahkan dari kristalnya. Penentuan jenis pelarut yang tepat penting dilakukan pada pembuatan konsentrat vitamin E. Pada proses kristalisasi, pelarut mempengaruhi kecepatan nukleasi dan morfologi Kristal (Rositawati, 2013).

Padatan yang diperoleh dari hasil isolasi dapat berupa gel maupun kristal, dimana tingkat kemurniannya masih rendah. Oleh karena itu, padatan yang diperoleh dapat dimurnikan kembali dengan menggunakan metode rekristalisasi. Pada metode ini, isolat dilarutkan dengan pelarut yang cocok dan dalam kondisi panas. Hal ini disebabkan karena sebagian besar senyawa dapat larut dalam pelarut panas daripada dingin.

Larutan panas kemudian didinginkan atau boleh ditambahkan dengan pelarut yang tidak melarutkan kristal dan disimpan di penangas es. Hal ini bertujuan untuk mempercepat pertumbuhan kristal. Zat pengotor yang ada akan tetap berada dalam larutan dan tidak akan masuk ke dalam kristal yang tumbuh. Setelah terbentuk, kristal disaring untuk memisahkannya dari zat-zat pengotor (Uslu *et al*., 2015).

2.5 Identifikasi Senyawa

Senyawa murni yang diperoleh harus dilakukan karakterisasi atau elusidasi struktur agar nama dari senyawa tersebut dapat diidentifikasi. Sebelum melakukan penentuan struktur, beberapa hal yang harus diketahui yaitu sifat kelarutan, warna, serta titik lelehnya. Identifikasi struktur dari suatu senyawa meggunakan beberapa metode diantaranya spektrofotometer UV-VIS, *Infra Red* (IR), *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), *Gas Chromatography* (GC), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR). Setiap instrumen analisis mempunyai fungsi yang berbeda-beda dan mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing, namun saling mendukung untuk memberikan hasil identifikasi yang lebih tepat terhadap struktur molekul yang diperkirakan.

Spektrofotometer UV-VIS mempunyai beberapa fungsi diantaranya yaitu menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap yang terkonjugasi dan auksokrom dari suatu senyawa organik, menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa, serta mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. GC-MSMS berfungsi untuk menentukan massa suatu molekul (M^+), menentukan rumus molekul dengan menggunakan Spektrum Massa Beresolusi Tinggi (*High Resolution Mass Spectra*), serta mengetahui informasi dari struktur dengan melihat pola

fragmentasinya. Spektrofotometer *Infra Red* (IR) berfungsi untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa organik, dan mengetahui informasi struktur suatu senyawa organik dengan membandingkan daerah sidik jarinya. HPLC berfungsi untuk memberikan informasi secara kualitatif dan kuantitatif, namun memerlukan standar sehingga hanya dapat digunakan untuk senyawa yang sudah diketahui. Spektrometer ^{1}HNMR berfungsi untuk menentukan jumlah proton yang memiliki lingkungan kimia yang sama pada suatu senyawa organik, dan mengetahui informasi mengenai struktur suatu senyawa organik. Spektrometer ^{13}CNMR berfungsi untuk menentukan jumlah karbon yang memiliki lingkungan kimia yang sama pada suatu senyawa organik, dan mengetahui informasi mengenai struktur suatu senyawa organik (Dachriyanus, 2004).

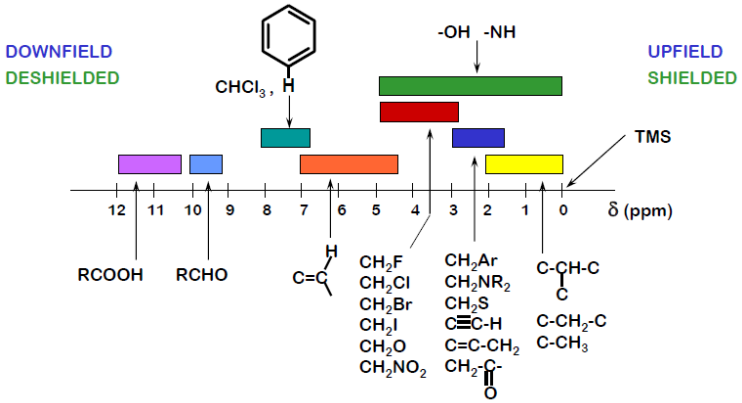
Spektrofotometri IR merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan struktur senyawa kimia berdasarkan gugus fungsi senyawa. Spektrum FT-IR memberikan informasi jenis gugus fungsi dari suatu senyawa, seperti hidroksi (-OH), amida (CONH), karbonil (keton, karboksilat, ester dan amida), aromatik, dan ikatan rangkap (CH=CH). Gugus fungsi yang khas akan mengalami vibrasi pada bilangan gelombang tertentu. Rentang wilayah spektrum IR elektromagnetik umumnya dibagi menjadi 3 wilayah diantaranya IR dekat (12500-4000 cm^{-1}), IR tengah (4000-400 cm^{-1}) dan IR jauh (400-50 cm^{-1}). Rentang yang paling umum digunakan yaitu rentang IR tengah. Hal ini disebabkan karena hampir semua vibrasi gugus fungsi senyawa organik berada pada rentang wilayah tersebut (Segneanu, 2012).

Tabel 2. 2 Pita absorbsi Infra Merah (IR)

Gugus	Senyawa	Frekuensi (cm^{-1})	Lingkungan spektral cm^{-1} (μ)	Nama ling-kungannya
OH	Alkohol	3580-3650	3333-3704	
	Asam	2500-2700	(2,7-3,0μ)	
NH	Amina primer	-3500		
	dan sekunder	3310-3500		
	Amida	3140-3320	2857-3333	Lingkungan
			(3,0-3,5 μ)	vibrasi ulur
				hidrogen
CH	Alkuna	3300		
	Alkena	3010-3095		
	Aromatik	-3030		
	Alkana	2853-2962		
	Aldehida	2700-2900	2500-2857	
			(4,0-4,5 μ)	
SH	Sulfur	2500-2700		
C≡C	Alkuna	2190-2260		
C≡N	Alkilnitril	2240-2260	2222-2500	Lingkungan
			(4,5-5,0 μ)	ikatan ganda
				tiga
	Iosianat	2240-2275		
	Arilnitril	2220-2240		
-N=C=N	Diimida	2130-2155	2000-2222	
			(5,0-5,5 μ)	
$-N_3$	Azida	2120-2160		
>CO	Aldehid	1720-1740	(818-2000)	
			(5,5-6,0 μ)	
	Keton	1675-1725		
	Asam karbok-silat	1700-1725		
	Ester	2000-2300		
	Asilhalida	1755-1850	1667-1818	Lingkungan
			(6,0-6,5 μ)	ikatan ganda dua
	Amida	1670-1700		
CN	Oksim	1640-1690		
CO	β-diketon	1540-1640		
C=O	Ester	1650		
C=C	Alkena	1620-1680		
N-H(b)	Amina	1575-1650	1538-1667	
-N=N-	Azo	1575-1630	(6,5-7,5 μ)	Daerah sidik jari
$-C-NO_2$	Nitro	1550-1570	1538-1667	
$-C-NO_2$	Nitro aromatik	1300-1570		
C-O-C	Eter	1230-1270	1053-1333	
			(7,5-9,5 μ)	
$-(CH_2)n$	Senyawaan lain	-722	666-900	
			(11-15,0 μ)	

Spektroskopi NMR adalah studi yang membahas mengenai sarana untuk menentukan jumlah, jenis dan lokasi dari atom tertentu, terutama hidrogen dan karbon dalam molekul. *Tetramethylsilan* (TMS) [$(CH_3)_4Si$] merupakan standar yang umum digunakan untuk menentukan pergeseran kimia suatu senyawa. Pergeseran kimia TMS (δTMS) adalah 0 ppm. Dengan kata lain, frekuensi untuk bahan kimia diukur

untuk inti ^{1}H atau ^{13}C sampel dari resonansi TMS ^{1}H atau ^{13}C. Pergeseran kimia $^{1}HNMR$ dipengaruhi oleh kedekatannya dengan atom elektronegatif (O, N, halogen) dan kelompok tidak jenuh (C=C, C=O, aromatik). Grup elektronegatif bergerak ke bidang bawah (kiri mengalami peningkatan ppm). Kelompok-kelompok tak jenuh bergeser ke bawah (kiri) tetapi pergeseran terbalik terjadi di daerah di atas dan di bawah bidang ini. Pergeseran kimia ^{1}H berperan dalam mengidentifikasi banyak kelompok fungsional (McMurry, 2017).



Gambar 2. 11 Grafik korelasi NMR

Salah satu contoh identifikasi senyawa menggunakan $^{1}HNMR$ dan $^{13}CNMR$ adalah penentuan struktur senyawa Malabathrin B (9), Spektrum $^{1}HNMR$-nya rumit karena pembentukan kesetimbangan campuran α- dan β-anomer. Dua pasang singlet 2H aromatik [δ 6.97, 6.96 (total 2H) dan 7.25, 7.26 (total 2H)] mengindikasikan adanya dua kelompok galloyl. Kehadiran dua hexahydroxy diphenoyl (HHDP) dan kelompok valoneoyl disarankan oleh tujuh pasang singlet ^{1}H di δ6.11-7.09. Dua residu C1 glucopyranose diungkapkan oleh pola-pola kopling dari sinyal proton alifatik yang ditugaskan dengan bantuan spektrum ^{1}H-^{1}H COZY. Satu (glukosa-I) inti glukosa

sepenuhnya terasilasi dan proton metilen C6-nya muncul pada δ5,34 (5,33) (dd, J = 6,5 , 13 Hz) dan 3,89 (3,81) (d, J = 13 Hz). Perbedaan besar (Δδ 1,45-1,42) dari pergeseran kimia antara masing-masing proton dari kelompok metilen menunjukkan adanya kelompok HHDP (HHDP dari valoneoyl) pada O-4 / O-6 dari glukosa-1 (Wilkins, 1976). Kehadiran gugus galoyl pada O-6' dari inti glukosa lainnya (glukosa-II) ditunjukkan oleh pergeseran kimia dari sinyal H-6' [δ4.81 (4.95) (br d, J = 13 Hz) dan 3.77 (3.74)) (brd, J = 13 Hz)]. Sinyal H-5' dari glukosa-II beresonansi pada bidang yang lebih tinggi [δ3.12 (3,69) (br d, J = 10 Hz)] dibandingkan dengan (δ4,68) glukosa-I. Pergeseran awal H-5' ini adalah karakteristik nobotanin B (8) dan G (15), di mana kelompok valoneoyl terletak di O-2 / O-3 dari inti glukosa dan di O-4 dari inti glukosa lainnya (Yoshida, 1992). Malabathrin B dengan demikian merupakan turunan degalloil (9) dari nobotanin B (8). Spektrum massa FAB dari 9, yang menunjukkan puncak $[M + Na]^+$ pada m/z 1743, mendukung struktur ini.

Struktur 9 malabathrin B didukung oleh hidrolisis parsial nobotanin B (8) dengan tannase, memberikan turunan monodegalloyl identik dengan malabathrin B (9), dengan empat hidrolisat parsial lain 10-13. Hidrolisat 10 dan 11, yang membentuk campuran kesetimbangan dari dua dan empat anomer, masing-masing, dikarakterisasi sebagai turunan bisdegalloylated, berdasarkan spektra ^{1}HNMR, yang menunjukkan keberadaan galloyl, valoneoyl dan dua kelompok HHDP. Meskipun spektrum ^{1}HNMR dari dua hydrolysates yang tersisa rumit karena kesetimbangan di antara empat anomer, struktur 12 dan 13 ditugaskan untuk hidrolisat ini berdasarkan jumlah sinyal proton aromatik.

Malabathrin C (14), $[\alpha]_D$ + 55° (MeOH), menunjukkan puncak ion pseudo-molekul (m/z 1743 $[M+Na]^+$) dalam spektrum massa FAB-nya, sama dengan 9. Meskipun Spektrum ^{1}HNMR rumit karena pembentukan campuran kesetimbangan

dua anomer, keberadaan valoneoil, dua galloyl dan dua kelompok HHDP dalam molekul, seperti yang ditemukan pada 9, ditunjukkan oleh sinyal proton aromatik. Spektrum ^{1}H-^{1}H COZY mengungkapkan bahwa kedua inti glukosa pada 14 mengadopsi konformasi Cl. Satu (glukosa-I) dari inti glukosa terbukti memiliki kelompok HHDP (HHDP dari kelompok valoneoyl) pada O-4 / O-6, oleh perbedaan pergeseran kimia yang besar ($\Delta\delta$ 1,4) antara C-6 sinyal proton metilen. Gugus hidroksil di pusat anomer glukosa ini terbukti bebas dari pergeseran kimiawi sinyal proton anomerik [δ 5,22 (J = 3,5 Hz), 5,02 (J = 8 Hz)]. Sinyal H-5' dari inti glukosa lainnya, yang gugus hidroksilnya semuanya terasilasi, diamati pada δ3,68 (br d, J = 10 Hz). Data ini menunjukkan bahwa senyawa ini adalah regio-isomer dari 9 tentang kelompok galloyl. Struktur (14) yang ditugaskan ditentukan oleh transformasi dengan tannase menjadi 12, yang diperoleh dengan hidrolisis parsial nobotanin B (8) seperti dijelaskan di atas.

Malabathrin D (17), $[\alpha]_D$+ 54° (MeOH), diperoleh sebagai bubuk amorf putih. Spektrum ^{1}HNMR-nya menunjukkan adanya tiga kelompok galoyl [δ6.97, 7.08, 7.26 (masing-masing 2H, s)], kelompok HHDP dan dua kelompok valoneoyl [δ6.08, 6.11, 6.38, 6.45, 6.52, 6.61, 7.06, 7.10 (masing-masing 1H, s)], dan dua residu C1 glucopyranose yang terasilasi penuh. Unit-unit pembangun 17 ini adalah sama dengan Nobotanin H (16). Faktanya, spektrum ^{1}HNMR dari 17 hampir superimposable pada spektrum 16 (Yoshida, 1992), kecuali untuk sinyal proton valoneoyl bergeser ke δ6,11 dan sinyal proton metoksil muncul di δ3,63. Temuan spektral ini dan data spektral massa FAB (m / z 2077 $[M + Na]^{+}$) menunjukkan bahwa malabathrin D adalah ester metil dari nobotanin H (16). Struktur 17 malabathrin D didukung oleh metanolisis nobotanin J (18) dengan campuran buffer asetat dan MeOH (1: 9), menghasilkan 17.

Halaman Ini Sengaja Dikosongkan

BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas piala, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, erlenmeyer, labu ukur, labu bundar, corong kaca, corong pisah, *rotary evaporator* Eyela N-1001, *chamber* untuk Kromatografi Lapis Tipis (KLT), kaca arloji, neraca analitik, timbangan digital, botol semprot, oven, pipet tetes, pengaduk gelas, pipa kapiler, botol vial, pinset, kertas saring, spatula, hotplate, stirrer, peralatan kromatografi cair vakum (KCV) dan peralatan kromatografi kolom gravitasi (KKG), lampu UV (λ=254 dan 366 nm) dan spektrofotometer NMR DELTA2.

3.1.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun kering *Melastoma malabathricum* (karamunting laki). Pelarut organik yang terdiri dari *n*-heksana, metilen klorida (MC), etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH) 99%, aseton, dan dimetilsulfoksida (DMSO). Pada kromatografi kolom menggunakan silika gel 60 G (Merck-1.07731.1000), silika gel 60 0,063-0,200 mm (Merck-1.07734.1000) untuk kromatografi cair vakum. Plat KLT aluminium silika gel 60 GF_{254} aluminium sheets 20 x 20 cm (Merck-1,05554.0001), kertas saring, akuades, plastik wrap, aluminium foil. Larutan penampak noda pada KLT 1,5% serium sulfat dalam H_2SO_4.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Ekstraksi Daun Melastoma Malabathricum

Serbuk kering daun *M. Malabathricum* sebanyak 3,65 Kg dimaserasi dengan 45 L metanol selama 3x24 jam. Hasil maserasi berupa ekstrak metanol cair dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan diperoleh ekstrak metanol pekat sebanyak 544,63 g berwarna coklat gelap. Selanjutnya ekstrak pekat dimonitoring dengan KLT. Noda yang dihasilkan dideteksi dengan lampu UV pada λ=254 dan 366 nm, kemudian plat KLT disemprot dengan larutan 1,5% serium sulfat dalam H_2SO_4 2N dan dipanaskan dalam oven sehingga noda pada plat KLT tampak lebih jelas (Cujic, 2016).

3.2.2 Fraksinasi dan Isolasi Senyawa

Ekstrak pekat metanol daun *M. Malabathricum* sebanyak 544,63 g dilakukan fraksinasi dengan metode KCV sebanyak 6 kali menggunakan pelarut *n*-heksan, metilen klorida (MC), etil asetat (EA) dan metanol (MeOH). Kolom kromatografi ini dibuat dengan memadatkan 500 g silika gel 60 G di dalam kolom kemudian dielusi pertama kali oleh pelarut non polar yaitu *n*-heksana dengan bantuan vakum. Ekstrak metanol *M. Malabathricum* diimpregnasi dengan silika gel hingga merata kemudian diletakkan di atas silika kolom yang telah dibuat.

Tabel 3.1 Skema KCV

Pelarut	Impreg 1	Impreg 2	Impreg 3
n-Hexana 100%	1-6	7-12	13-18
Metilen Klorida 100%	19-24	25-30	31-36
Etil Asetat 100%	37-42	43-48	49-54
Metanol 100%	55-59	60-64	65-69
	70-71 (Pembersihan kolom)		

Ekstrak metanol *M. Malabathricum* dielusi secara terus menerus dengan pelarut *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat dan metanol seperti pada Tabel 3.1. Dari hasil pemisahan tersebut, diperoleh 7 fraksi yaitu fraksi 1 (2,03 g), fraksi 2 (1.53 g), fraksi 3 (1,28 g), fraksi 4 (28,83 g), fraksi 5 (136,88 g), fraksi 6 (6,92 g) dan fraksi 7 (225,71 g) dengan massa total yaitu 408,96 g.

Fraksi 6 sebanyak 6,92 g dipisahkan kembali melalui metode KKG dengan sistem peningkatan polaritas. Eluen yang digunakan adalah MC 100%, MC : MeOH (95:5, 94:6, 93:7, 92:8, 91:9, 90:10, 85:15, 75:25, 50:50), MeOH 100%. Dari proses fraksinasi tersebut didapatkan 7 subfraksi (6A-6G). Subfraksi 6A (0,39 g), 6B (0,42 g), 6C (1,28 g), 6D (0,66 g), 6E (0,3 g), 6F (0.82 g) dan 6G (225,71 g).

Berdasarkan hasil monitoring dengan KLT, pada subfraksi 6E terdapat 2 noda, kemudian di pisahkan menggunakan aseton sehingga terbentuk 2 fasa yaitu fraksi 6E1 dan 6E2, lalu kristal 6E1 di saring menggunakan bantuan pompa vakum, kemudian dicuci dengan aseton sehingga padatan berwarna putih. Dari hasil pemisahan diperoleh senyawa sebanyak 170 mg. Uji kemurnian menggunakan sistem KLT tiga eluen dan 2D. Elusidasi struktur dari senyawa dilakukan dengan menggunakan instrumen ^{1}H NMR dan penentuan senyawa ditentukan berdasarkan data perbandingan studi literatur.

Halaman Ini Sengaja Dikosongkan

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

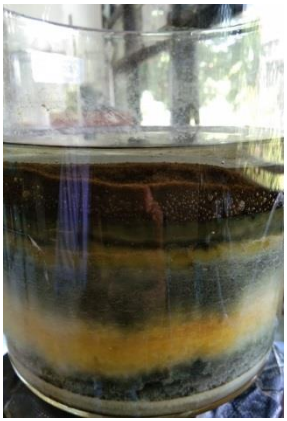
4.1 Ekstraksi daun Melastoma Malabathricum

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan antara dua cairan berbeda yang tidak saling larut seperti air dan pelarut organik lainnya. Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruang. Metode maserasi sangat sesuai untuk isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan, maka akan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat dari perbedaan tekanan didalam maupun diluar sel, sehigga metabolit sekunder yang terdapat pada sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan waktu perendaman dapat diatur untuk menghasilkan ekstraksi senyawa yang sempurna. Penentuan pelarut berpengaruh pada efektivitas kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Pada umumnya, metanol merupakan salah satu pelarut yang sering digunakan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena metanol dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder baik senyawa yang memiliki sifat polar maupun non polar yang terdapat dalam tumbuhan.

4.2 Fraksinasi dan Isolasi senyawa

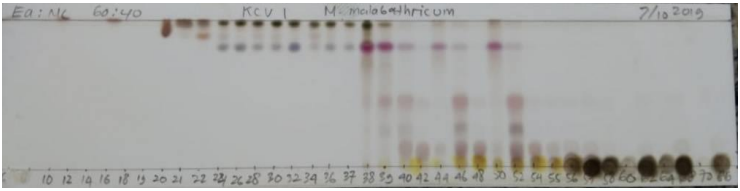
Pemisahan komponen kimia yang terdapat dalam ekstrak hasil ekstraksi, dapat dilakukan dengan teknik kromatografi, diantaranya kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom atau kromatografi gas, teknik yang digunakan tergantung pada sifat-sifat dari senyawa yang akan di pisahkan (Rusdi, 1988).

Sebanyak 544,63 g ekstrak metanol di fraksinasi dengan metode KCV (Kromatografi Cair Vakum) seperti pada Gambar 4.1 menggunakan pelarut *n*-heksana (*n*-Hx), metilen klorida (MC), etil asetat (EA) dan metanol (MeOH).

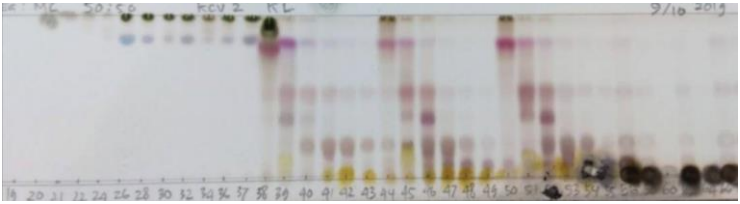


Gambar 4. 1 KCV (Kromatografi Cair Vakum)

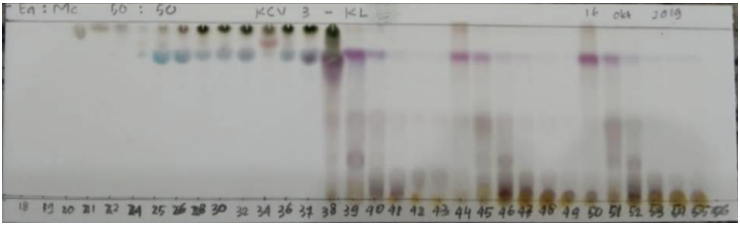
Kolom KCV dibuat dengan memadatkan silika, kemudian dielusi dengan pelarut non polar yaitu *n*-heksana dengan bantuan vakum. Ekstrak metanol diimpreg dengan silika gel hingga tercampur sempurna. Ekstrak metanol yang telah diimpreg diletakkan diatas silika pada kolom yang telah dibuat. Ekstrak metanol dielusi secara terus menerus menggunkan pelarut *n*-heksana (*n*-Hx), metilen klorida (MC), etil asetat (EA) dan metanol (MeOH). Fraksi-fraksi yang diperoleh di lihat dengan KLT untuk mengetahui noda yang dihasilkan. 544,63 g ekstrak metanol difraksinasi dengan metode KCV sebanyak 6 kali.



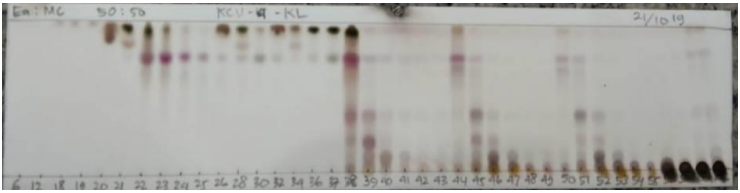
(a)



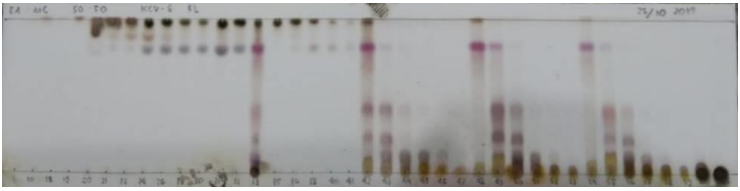
(b)



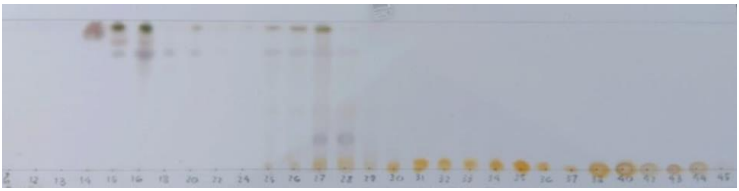
(c)



(d)



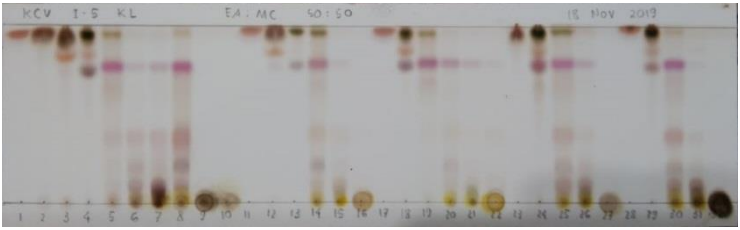
(e)



(f)

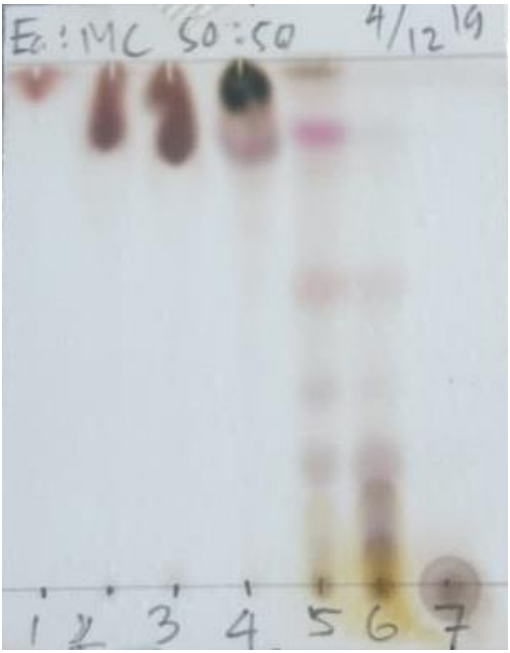
Gambar 4. 2 (a) KLT KCV 1, (b) KLT KCV 2, (c) KLT KCV 3, (d) KLT KCV 4, (e) KLT KCV 5 dan (f) KLT KCV 6.

Berdasarkan KCV 1-6 seperti pada Gambar 4.2, penggabungkan fraksi seperti pada Gambar 4.3 dilakukan dengan mengelompokkan fraksi-fraksi tersebut berdasarkan Rf yang sama. Fraksi gabungan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.



Gambar 4. 3 Penggabungan fraksi pada KCV 1-5 *M. Malabathricum* dengan eluen etil asetat : metilen klorida (50:50)

Pada fraksinasi diperoleh 7 fraksi utama yaitu fraksi 1 (2,03 g), fraksi 2 (1,53 g), fraksi 3 (1,28 g), fraksi 4 (28,83 g), fraksi 5 (136,88 g), fraksi 6 (6,92 g) dan fraksi 7 (225,71 g) . Massa total dari semua fraksi yaitu 408,96 g.



Gambar 4. 4 KLT fraksi 1-7

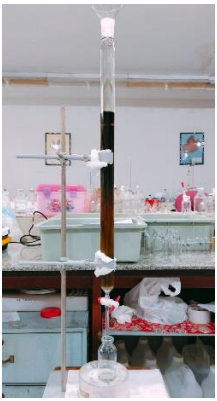
Berdasarkan hasil KLT 1-7 seperti pada Gambar 4.4, Fraksi 6 memiliki distribusi senyawa yang hampir sama dan memiliki noda Rf yang lebih kompleks dibandingkan dengan fraksi-fraksi yang lain. Nilai Rf merupakan perbandingan jarak yang ditempuh noda dan jarak yang ditempuh eluen (Gritter, 1991).

Rf : $\frac{1\ cm}{4\ cm}$ = 0,25 cm

Gambar 4. 5 KLT fraksi 6 dengan eluen metilen klorida : metanol (95:5)

Fraksi 6 sebanyak 6,92 g dengan pelarut etil asetat memiliki profil KLT yang lebih sederhana seperti pada Gambar 4.5, sehingga dilakukan fraksinasi lebih lanjut untuk menyederhanakan senyawa yang akan diisolasi. Proses fraksinasi selanjutnya menggunakan metode KKG (Kromatografi Kolom Gravitasi) seperti pada Gambar 4.6. Pada proses KKG, fase diam (adsorben padat) ditempatkan secara vertikal di kolom gelas dan fase gerak (cair) ditempatkan di bagian atas kolom dan bergerak kebawah melalui kolom (karena gravitasi atau tekanan eksternal). Sampel yang dianalisis ditempatkan di bagian atas kolom. Eluen ditambahkan ke kolom dan bergerak kebawah melalui kolom.

Pada proses KKG massa fraksi 6 yang digunakan adalah 6 g, silika impreg 12 g dan tinggi sampel 4 cm. Pada kolom KKG massa silika 150 g, tinggi silika 39 cm, diameter kolom 3,5 cm, tinggi kolom 70 cm dan *flow rate* 112 tetes/menit, seperti pada Gambar 4.5.

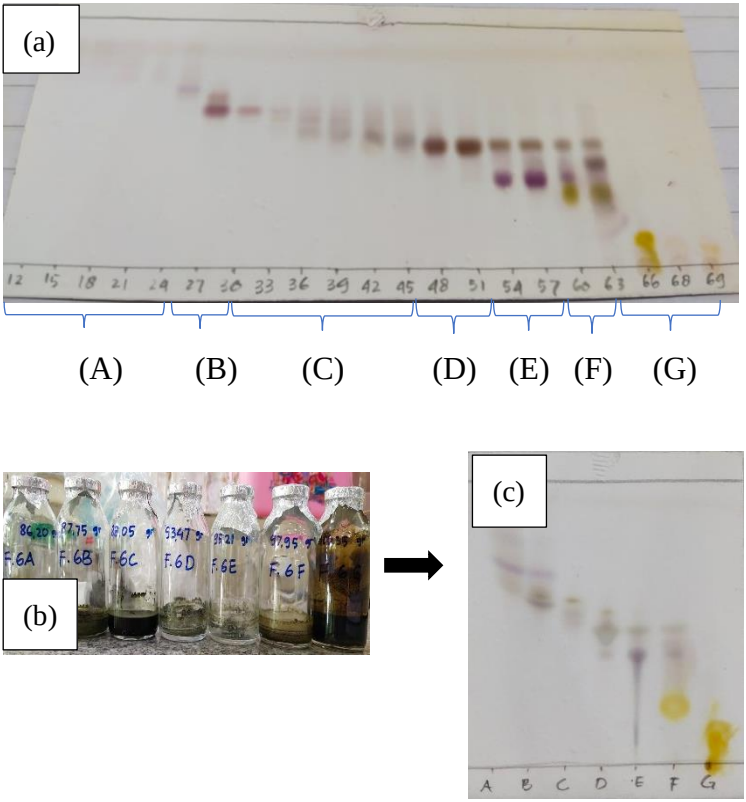


Gambar 4. 6 KKG fraksi 6

Tabel 4. 1 Skema Eluen KKG

Subfraksi ke-	Eluen	Perbandingan
1 - 9	MC	100%
10 - 33	MC : MeOH	95 : 5
34 - 41	MC : MeOH	94 : 6
42 - 47	MC : MeOH	93 : 7
48 - 50	MC : MeOH	92 : 8
51	MC : MeOH	91 : 9
52 - 56	MC : MeOH	90 : 10
57 - 60	MC : MeOH	85 : 15
61 - 62	MC : MeOH	75 : 25
63 - 64	MC : MeOH	50 : 50
65	MeOH	100%

Eluen yang digunakan adalah metilen klorida : metanol seperti pada table di atas, dengan system peningkatan polaritas. Berdasarkan hasil monitoring KLT, pada subfraksi ke 1-20 tidak terdapat noda, pada subfraksi ke 25 terdapat 4 noda, pada subfraksi ke 30-45 terdapat 2 noda dan pada subfraksi ke 50-55 terdapat 3 noda. Hasil dari KKG fraksi 6 diperoleh 7 subfraksi yaitu 6A – 6G.

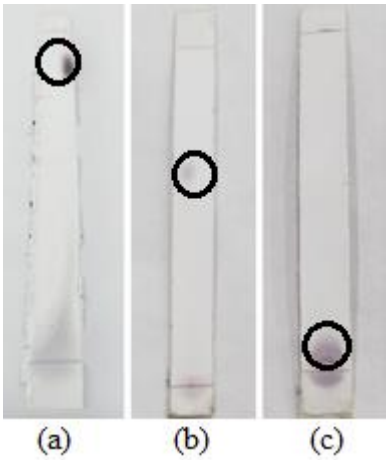


Gambar 4. 7 Subfraksi 6A-6G

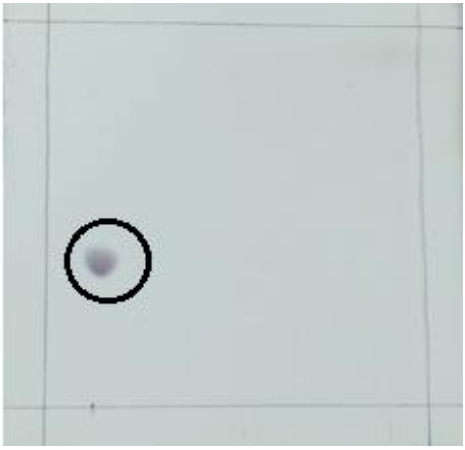
Pada fraksinasi diperoleh 7 subfraksi seperti pada Gambar 4.7. Massa subfraksi 6A (0,23 g), 6B (0,32 g), 6C (0,33 g), 6D (0,58 g), 6E (0,34 g), 6F (0,39) dan 6G (6,36 g). Subfraksi 6E sebanyak 0,3 g dipisahkan dengan cara dicuci meggunakan aseton sehingga terbentuk 2 fasa. Pada bagian fasa atas berbentuk cairan berwarna hijau tua pekat (fraksi 6E2), cairan tersebut terdapat senyawa lain dan pengotor. Pada bagian fasa bawah berbentuk padatan kristal berwarna putih yang akan dimurnikan (fraksi 6E1), seperti pada Gambar 4.8.

Gambar 4. 8 Gambar subfraksi 6E

Padatan kristal dicuci secara terus menerus menggunakan bantuan pompa vakum. Dari hasil pemisahan tersebut diperoleh senyawa 1 (6E1) sebanyak 170 mg. Uji kemurnian menggunakan KLT sistem tiga eluen dan KLT dua dimensi (2D) seperti pada Gambar 4.9 dan 4.10. KLT sistem tiga eluen berfungsi untuk mengetahui noda tunggal dengan tiga jenis eluen. Profil yang diharapkan adalah adanya noda tunggal dibagian bawah, tengah dan atas pada plat KLT. Sedangkan KLT dua dimensi (2D) bertujuan untuk mengetahui noda tunggal dari senyawa yang dielusi dengan dua arah yang berbeda dan eluen yang berbeda.



Gambar 4. 9 KLT sistem tiga eluen. (a) metilen klorida : metanol (80 : 20), (b) metilen klorida : metanol (90 : 10), (c) *n*-heksana:etil asetat (20:80)



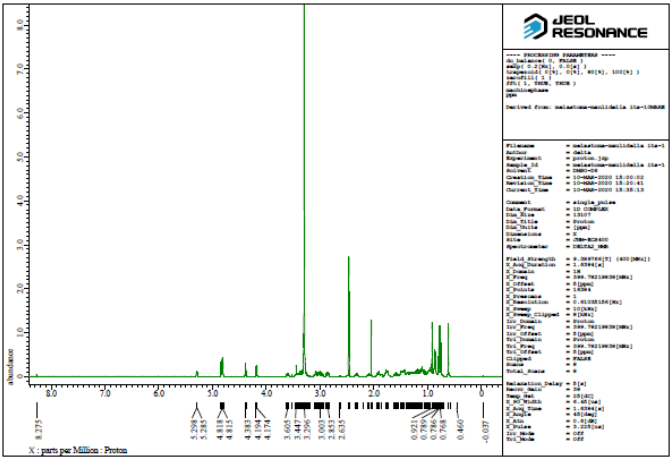
Gambar 4. 10 KLT 2D dengan eluen Metilen klorida : metanol (90:10) dan *n*-heksana : etil asetat (80:20)

4.3 Analisis Senyawa

Ada beberapa analisis instrumen yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi nama senyawa atau struktur molekul suatu sampel, baik dalam bentuk campuran maupun senyawa murni, diantaranya yaitu *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), *Gas Chromatography* (GC), *Infra Red* (IR) dan *High Performance Liquid Chromatoghraphy* (HPLC). Masing-masing dari instrumen tersebut mempunyai kelebihan dan kekurangan, tergantung dari tujuan maupun jenis sampel yang digunakan (Jenie, 2014).

Pada umumnya identifikasi atau elusidasi struktur molekul suatu senyawa organik dapat di analisis dengan menggunakan instrument NMR. ^{1}H-NMR berfungsi untuk memberikan informasi tentang adanya gugus-gugus fungsi yang dinyatakan dalam bentuk khas seperti jumlah dan posisinya (ortho, meta dan para) dengan cara melihat pergesaran kimia (δ) dan konstanta koplingnya (J), jumlah proton dari hasil integrasinya dan dapat menentukan bentuk konformasi (cis atau trans, axial atau equatorial). Senyawa yang sudah diketahui dapat dikonfirmasi struktur molekulnya tanpa senyawa pembanding (standard). Sedangkan ^{13}C-NMR berfungsi untuk memberikan informasi tentang jenis karbon primer, sekunder, tersier dan quartener (CH3, CH2, C, O-C, C=O, H-C=O, -CONH, -COOH dan -COOR) dengan melihat pergeseran kimianya (Sanders, 1993 dan Derome, 1995). Pada penelitian ini menggunakan analisis instrumen ^{1}H-NMR.

Supratman (2010) melaporkan bahwa Spektra ^{1}H-NMR isolat B1 memperlihatkan pergeseran kimia δH(ppm) 0,7-5,5. Data pergeseran tersebut menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki proton (H) pada karbon alifatik atau siklik tapi bukan aromatis. Hal tersebut didukung oleh tidak ditemukannya pergeseran kimia δH(ppm) 7-9 yang merupakan daerah proton yang terikat pada karbon aromatis.



Gambar 4. 11 ^{1}H-NMR *M. Malabathricum*

Berdasarkan Spektra ^{1}H-NMR seperti pada Gambar 4.11 diduga terdapat pergeseran kimia δH (ppm) yang khas untuk proton yang terikat pada C=C yang tersubstitusi pada cincin siklik, hal ini sejalan dengan penelitian Kasal *et al.* (2010) yang melaporkan pergeseran kimia δH(ppm) 5 sampai 6 merupakan daerah pergeseran kimia untuk proton pada karbon ikatan rangkap dua(-C=C-). Pergeseran kimia pada δH(ppm) 4,82 menunjukkan adanya proton pada karbon yang teroksigenisasi (C-OH). Pergeseran proton pada δH(ppm) 0,62 - 0,92 menunjukkan adanya gugus metil (-CH3). Pergeseran kimia pada δH(ppm) 2,86 - 3,61 menunjukkan adanya gugus metilen. Serta pergeseran kimia pada δH(ppm) 4,18 - 4,82 terdapat proton vinilik.

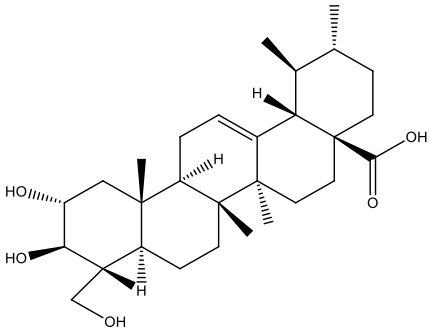
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO) δ 4.87 – 4.78 (m, 3H), 4.38 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.18 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.61(dd, *J* = 10.7, 6.7 Hz, 1H), 3.47 - 3.31 (m, 4H), 3.14 – 2.94 (m, 3H), 2.86 (td, *J* = 8.6 (td, *J* = 8.6, 4.8 Hz, 1H), 2.05 (s, 2H), 0.92 (s, 4H), 0.79 (s, 7H), 0.62 (s, 3H).

Tabel 4. 2 Analisis ^{1}H-NMR

No.	*Shift*	*Range*	*H's*	*Integral*	*Class*	*J's*
1.	0.62	0.64-0.59	3	2.86	s	
2.	0.79	0.81-0.76	7	7.19	s	
3.	0.92	0.95-0.90	4	4.12	s	
4.	2.05	2.07-2.02	2	1.55	s	
5.	2.86	2.91-2.81	1	1.01	td	4.78, 8.61, 8.82
6.	3.03	3.14-2.94	3	3.08	m	
7.	3.39	3.47-3.31	4	4.26	m	
8.	3.61	3.66-3.56	1	1	dd	6.66, 10.73
9.	4.18	4.22-4.15	1	0.96	d	
10.	4.38	4.42-4.34	1	1	t	5.78, 5.78
11.	4.82	4.87-4.78	3	2.97	m	

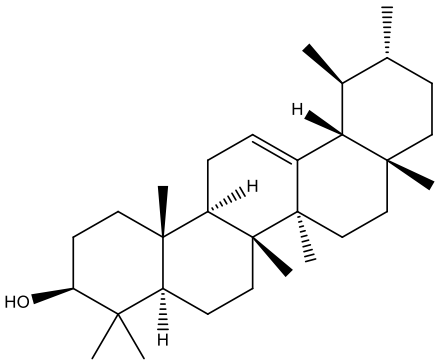
Joffry (2012) melaporkan bahwa, ada lebih dari 80 senyawa yang telah diisolasi dari tanaman m. malabathricum, yang terdiri dari flavonoid, tannin, alkaloid, triterpenoid dst. Senyawa golongan triterpenoid yang diperoleh dari tanaman tersebut antara lain Asiatic acid, uvaol, α -amyrin, betulinic acid dan 2-Hydroxy ursolic acid.

Senyawa Asiatic acid dengan struktur seperti pada Gambar 4.12 mempunyai pergeseran kimia ^{1}H-NMR pada 5.23 (1H, br t, J = 4.4 Hz, H-12); 3.67 (1H, dt, J1 = 9.5 Hz, J2 = 4.0 Hz, H-2); 3.46 and 3.26 (1H each, d each, J = 10.5 Hz, H-23a and H-23b); 3.33 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3); 2.20 (1H, d, J = 11.3 Hz, H-18); 1.13 (3H, s, CH3-27); 1.04 (3H, s, CH3-25); 0.96 (3H, br s, CH3-30); 0.89 (3H, d, J= 6.5 Hz, CH3-29); 0.84 (3H, s, CH3-26); 0.69 (3H, s, CH3-24). (Daniela, 2005).



Gambar 4. 12 Struktur Asiatic acid

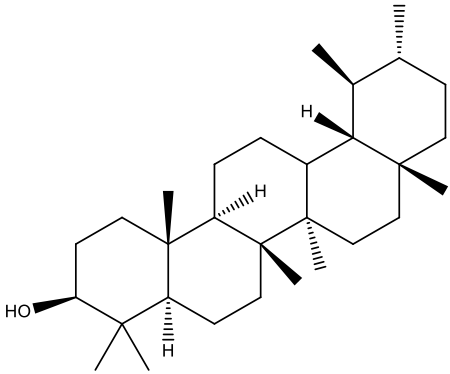
Senyawa uvaol dengan struktur seperti pada Gambar 4.13 mempunyai pergeseran kimia ^{1}H-NMR pada 5.16 (1H, t, J= 3.6 Hz, H-12), 3.54 (1H, d, J= 11.2 Hz, H 28 b), 3.23 (1H, *overlapped with* H-28 a, H-3), 3.20 (1H, d, J= 11.2 Hz, H-28 a), 1.02 (3H, s, Me-23), 0.97 (3H, s, Me-27), 0.95 (3H, s, Me-26), 0.84 (3H, s, Me-24), 0.81 (3H, d, J=3.3 Hz, Me-30), 0.77 (3H, d, J=3.4 Hz, Me-29), 0.74 (3H, s, Me-25) (Riham, 2017).



Gambar 4. 13 Struktur Uvaol

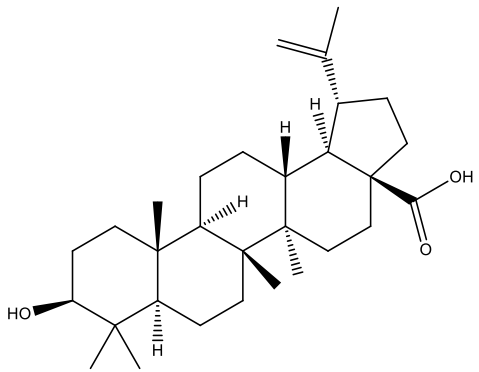
Senyawa α-amyrin dengan struktur seperti pada Gambar 4.14 mempunyai pergeseran kimia ^{1}H-NMR pada 0,78 dan 1,05 yang dikaitkan dengan tumpang tindih metil, metilena dan proton metin khas triterpen. Pada δ 5.11 yang merupakan triplet

adalah tipikal proton olefinik (H-12); bahwa pada δ 4,48 sesuai dengan proton oksimetin khas hidrogen pada C-3 triterpen. Sinyal yang kuat (singlet) pada δ 2.02 dikaitkan dengan metil proton dari kelompok asetat. Berdasarkan penelitian lain, spektrum 1H-NMR dari α-amyrin asetat menunjukkan adanya dua proton metin, satu di δ 5,12 (1H, dt) yang terikat pada ikatan rangkap, dan yang lain di δ 4,5 (1H, m) pada posisi 3; dan grup asetat pada 2,05 (3H, s) (Nnamonu1, 2016).



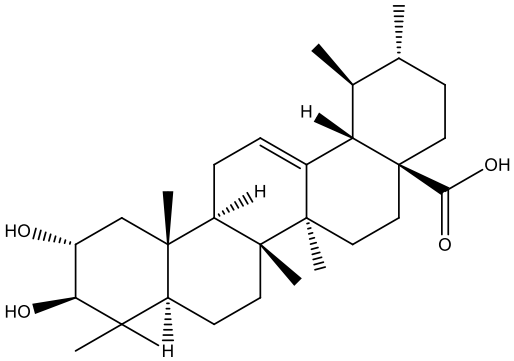
Gambar 4. 14 Struktur α-amyrin

Senyawa betulinic acid dengan struktur seperti pada Gambar 4.15 mempunyai pergeseran kimia ^{1}H-NMR pada δ 3.47 (1H, br t, *J* = 7.7 Hz, H-3); 3.55 (1H, m, H-18); 4.78 (1H, br s, H-29); 4.96 (1h, br s, H-29b); 1.24, (3H, s, H-23); 1.02 (3H, s, H-24); 0.83 (3H, s, H-25); 1.07 (3H, s, H-26); 1.08 (3H, s, H-27); 1.80 (3H, s, H-30) (Bisoli, 2008).



Gambar 4. 15 Struktur Betulinic acid

Senyawa 2-Hydroxy ursolic acid dengan struktur seperti pada Gambar 4.16 mempunyai pergeseran kimia ^{1}H-NMR pada δ 5.42 (1H, br s, H-12), 4.16 (1H, m, H-2), 3.42 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 1.28, 1.27, 1.21, 1.08, 1.03 (3H×5, s, 23, 24, 25, 26, 27-Me), 1.14 (3H, d, J = 6.5 Hz, 30-Me), 0.93 (3H, d, J = 6.5 Hz) (ZHU, 2012).



Gambar 4. 16 2-Hydroxy ursolic acid

Tabel 4. 3 Perbandingan pergesan kimia δH(ppm) senyawa - senyawa triterpenoid.

Asiatic Acid	Uvaol	α -Amyrin	Betulinic Acid	2-Hydroxy ursolic acid
5,23 (t)	5,16 (t)	5,11 (t)	4,96 (s)	5,42 (s)
3,67 (dt)	3,54 (d)	4,48 (d)	4,78 (s)	4,16 (m)
3,46 (d)	3,23 (O)	2,02 (s)	3,55 (m)	3,42 (d)
3,26 (d)	3,20 (d)	1,05 (s)	3,47 (t)	1,28 (s)
3,33 (d)	1,02 (s)	0,99 (s)	1.80 (s)	1,27 (s)
2,20 (d)	0,97 (s)	0,96 (s)	1,24 (s)	1,21 (s)
1,13 (s)	0,95 (s)	0,86 (s)	1,08 (s)	1,08 (s)
1,04 (s)	0,84 (s)	0,86 (s)	1,07 (s)	1,03 (s)
0,96 (s)	0,81 (d)	0,83 (s)	1,02 (s)	1,14 (d)
0,89 (d)	0,77 (d)	0,83 (s)	0,83 (s)	0,93 (d)
0,84 (s)	0,74 (s)	0,78 (s)		
0,69 (s)				

Keterangan : *singlet* (s), *doublet* (d), *triplet* (t), *doublet of triplet* (dt), *quartet* (q), *multiplet* (m) dan *Overlap* (O).

Berdasarkan Tabel 4.3 terdapat pergeseran kimia δH(ppm) dan multiplisitas yang hampir sama pada perbandingan senyawa yang dihasilkan dengan senyawa Asiatic Acid, Uvaol, α -Amyrin, Betulinic Acid dan 2-Hydroxy ursolic acid, yang mana senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa golongan triterpenoid. Sehingga diduga senyawa yang dihasilkan tersebut merupakan senyawa triterpenoid.

Halaman Ini Sengaja Dikosongkan

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada Penelitian ini telah berhasil didapatkan senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari ekstrak metanol fraksi etil asetat daun *Melastoma malabathricum* (karamunting laki) yaitu senyawa triterpenoid sebanyak 170 mg berbentuk padatan putih.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan terhadap proses analisis instrumen untuk mengidentifikasi senyawa yang terdiri dari FTIR (*Fourier-transform Infrared)*, 13C-NMR (*Nuclear Magnetic Resonance)*, HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence)* dan HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Connectivity).*

Halaman Ini Sengaja Dikosongkan

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, G. (2007). Teknologi Bahan Alam, ITB Press Bandung.

Ahmed, E., Ashad, M. Khan, M. Z., Amjad, M. S., Sadaf, H. M., Riaz, I., Sabir, S., Ahmad, N., dan Sabaoon (2017). Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(2), 205-214.

Amien, S., Nalang, V. S., dan Agustina, L. (2014). The fifth national report to the convention on biological diversity. Deputy Minister of Environmental Degradation Control and Climate Change.

Anonim. (1995). Atlas Keanekaragaman Hayati di Indonesia. Kantor Menteri Negara Lingkungan Hidup RI bekerjasama dengan KONPHALINDO. Jakarta.

Arief, M. I., Novriansyah, R., Budianto, I. T., dan Harmaji, M. B. (2012). Potensi bunga karamunting (melastoma malabathricum l.) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus putih jantan hiperlipidemia yang diinduksi propiltiourasil. Volume 1, Nomor 2, ISSN 2089-9122.

Astuti, M., D. dkk. (2017). Isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid dari ekstrak *n*-heksana daun kelopak tambahan tumbuhan permot (*passiflora foetida* l).*Sains dan Terapan Kimia*, Vol.11, No. 2 , 80 – 89.

Azuma, R., Morimoto, S., Nonaka, G., Nishioka, I. and Mihashi, K. (1982). 33th Annual Meeting of the Japanese Society of Pharmacognosy, p. 48. Abstract paper.

Biro Pusat Statistik. (2013). Proyeksi Penduduk Indonesia Population Projection. ISBN: 978-979-064-606-3.

Butelli, E., Titta, L., Giorgio, M. (2008). Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression

of select transcription factors, Nat. Biotechnol. 26, 1301–1308.

Bisoli, E., Walmir, S. G., Lidilhone, H., Caroline T. and Fernanda, R. G. (2008). Bioactive Pentacyclic Triterpenes from the Stems of *Combretum Laxum*, *Molecules*, *13*, 2717-2728.

Cujic, N., Savikin, K., Jankovic, T., Pljevljakusic, D., Zdunic, G., and Ibric, S. (2016). Optimization of Polyphenols Extraction From Dried Chokeberry Using Maceration as Traditional Technique. Food Chemistry, 194, 135–142.

Dachriyanus. (2004). Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.

Dangi, K. S., and Mishra, S. N. (2010). Antihyperglycemic, antioxidant and hypolipidemic effect of Capparis aphylla stem extracts in streptozotocin induced diabetic rats. Biol Med; 2: 35-44.

Daniela M. dkk. (2005). Biocatalyzed generation of molecular diversity, selective modification of the saponine asiaticoside. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 69451.

Derome, E. (1995). *Modern NMR Techniques for Chemistry Reserch*. Pergamon.

Eseyin, O., Ebong, P., Eyong, E., Awofisayo, O., and Agboke, A. (2010). Effect of Telfairia occidentalis on oral glucose tolerance in rats. Afr J Pharm Pharmacol; 4: 368-372.

Foster, Steven. (1995). Forest Pharmacy, Medicinal Plants in American Forests. Forest History Society. Durham, North Carolina.

Gritter, R.J. (1991). *Pengantar Kromatografi*. Edisi Kedua. ITB. Bandung.

Haddock, E. A., Gupta, R. K., Al-Shafi, S. M. K., Haslam, E. and Magnolato, D. (1982). J. Chem. Sot. PerRin Trans I2515.

Hahlbrock, K. (1981). The Biochemistry of Plants, Vol. 7: Secondary Plant Products. New York: Academic Press. Hal:425-456.

Harborne, J.B, (1987). *Metoda Fitokimia Penuntun Cara Menganalisa Tumbuhan*. Edisi II, ITB, Bandung.

Harikumar, K. Abdul Althaf, Kishore kumar, Ramunaik, Suvarna. (2013). A Review on Hyperlipidemic. International Journal Of Novel Trends In Pharmaceutical Sciences. Vol. 3. No. 4.

Harris. (1982). "An Introduction to Chemical Analysis", Savders College Publishing Philadelpia, Holt-Savders: Japan.

Harry, W., Lewis. and Christopher J. M. (1989). Experimental Organic Chemistry: Principles and Practice (edisi ke-Illustrated). WileyBlackwell. hlm. 159–173. *ISBN 978-0-632-02017-1*.

Heftmann, E. (1983). "Steroids dalam Kromatograf". Fundamentals and Aplication: Amsterdam.

Hendayana, Sumar., dkk. (1994). "Kimia Analitik Instrumentasi". IKIP Semarang Press: Semarang.

Hostettmenn, K, dkk. (1986). "Cara Kromatografi Preparatif". ITB: Bandung.

Jenie, U.A. dkk. (2014). Teknik Modern Spektroskopi NMR : Teori dan Aplikasi dalam elusidasi Struktur MOlekul Organik. LIPI Press.

Joffry, Mohd S., Yob, N. J., Rofiee, M. S., dkk. (2012). Melastoma malabathricum (L.) Smith Ethnomedicinal Uses, Chemical Constituents, and Pharmacological Properties: A Review, Artikel, Hindawi Publishing Corporation. Malaysia.

Joffry, S. M., Yob, N. J., Rofiee, N. J., dkk. (2011) *Melastoma malabathricum* (L.) Smith Ethnomedicinal Uses,

Chemical Constituents, and Pharmacological Properties.

Kasal, A., Budesinsky, M. and Griffiths, W. J. (2010). *Spectroscopic Methods of Steroid Analysis*.

Katie, E. F., Thorington, and Richard, W. (2006). Squirrels: the animal answer guide. Baltimore: Johns Hopkins University Press. hlm. 91. *ISBN 0-8018-8402-0*.

Liana, Ida. (2010). Aktivitas Antimikroba Fraksi dari Ekstrak Metanol Daun Senggani (Melastoma candidum D.Don) terhadap Staphylococcus aureus dan Salmonela typhimurium serta Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Teraktif. Skripsi. Universitas Semarang.

Luca, V. D. and Pierre, B. S. (2000). The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis, Trends Plant Sci. 5, 168–173.

Malviya, N., Jain, S. and Malviya, S. (2010). Antidiabetic potential of medicinal plants. Acta Pol Pharm; 67: 113-118.

Markam, K. R., Temai, B., Stanley, R., Geiger, H. and Mabry, T. J. (1978). Tetrahedron 34, 1389.

Maslebu, G., Trihandaru, S., dan Wibowo, N. A. (2016). Kombinasi teknik kromatografi kolom gravitasi-spektrometer sederhana sebagai permodelan kromatografi cairan kerja tinggi (kckt), prosiding seminar nasional sains dan Pendidikan sains vii uksw.

McGee, H. (2004). On food and cooking: the science and lore of the kitchen. New York: Scribner. hlm. 714. *ISBN 0-684-80001-2*.

McMurry, J. (2017). Organic Chemistry. Anorganic chemistry Textmap organized around the textbook, MaidTouch.

Mochtar, K. (1987). Bunga Rampai Hukum Laut, Jakarta Bina Cipta, hlm. 78.

Mukhriani. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. Program studi farmasi

fakultas ilmu kesehatan uin alauddin makassar. Vol 7, no 2 .

Nagegowda, D. A. (2010). Plant volatile terpenoid metabolism: biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation, FEBS Lett. 584, 2965–2973.

Nnamonu1 L., A., dkk. (2016). Isolation and Characterization of α –Amyrin from Stem Bark of *Ficus exasperata* (Vahl), *Biotechnology Journal International*. *16(4); Article no.BJI.29737 Previously known as British Biotechnology Journal ISSN: 2231–2927, NLM ID: 10161669.*

Nonaka, G., Sakai, R. and Nishioka, I. (1984). Phytochemistry. 23, 1753.

Okuda, T., Yoshida, T., Ashida, M, Yazaki, K. and Shingu, T. (1983). J. Chem. Sot., Perkin Trans I 1765.

Patel, D. K., Prasad, S. K., Kumar, R., and Hemalatha, S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. Asian Pac J Trop Biomed 2, 320-330.

Patra, B., and Schluttenhofer, C. (2013). Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis in plants, Biochimica et Biophysica Acta 1829, 1236–1247.

Pramana, Decky. (2013). Isolasi Zat Warna (Antosianin) Alami dari Buah Senduduk (melastoma malabathricum L) dengan Metode Ekstraksi Padat-Cair (Leaching). Teknik Kimia Polsri.

Puspitasari, G., Murwani, S., dan Hermawati. (2012). Uji Daya Antibakteri Perasan Mengkudu Matang (Morinda citrifolia) Terhadap Bakteri Methcilin.

Rajan, M., Kumar, V. K., Kumar, P. S., Swathi, K. R. and Haritha, S. (2012). Antidiabetic, antihyperlipidaemic and hepatoprotective activity of metanolic extract of

Ruellia tuberose Linn. leaves in normal and alloxan induced diabetes. J Chem Pharm Res; 4: 2860-2868.

Rajasekar, V., Kirbanandan, S. and Lakshmi, B. S. (2010). Assessment of antidiabetic activity of Syzygium jambolanum using in vitro model. Am J Infect Dis; 5: 99-105.

Ramdhan, M., dan Arifin, T. (2013). Aplikasi Sistem Informasi Geografis dalam Penilaian Proporsi Luas Laut Indonesia. Jurnal Ilmiah Geomatika Volume 19 No. 2, hlm. 141.

Raymond G. Reid and Satyajit D. Sarker. (2006). "Isolation of Natural Products by Low-Pressure Column Chromatography". Humana Press Inc. Totowa: New Jersey.s.

Reich, E. and Schibli, A. (2007). *High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants*. New York: Thieme. *ISBN 3-13-141601-7*.

Ricklefs. (2001). Sejarah Indonesia Modern. hlm. 379. ISBN : 979-16-0012-0.

Riham A., E, dkk. (2017). Chemical and Biological Investigation of Ochrosia elliptica Labill. Cultivated in Egypt, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Cairo University, Kasr El Aini st., P.B. 11562, Egypt, Rec. Nat. Prod. 11:6 552-557.

Robinson, T. (1995). Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB. Bandung.

Rohyami, Y. (2008). Penentuan Kandungan Flavonoid Dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dea (Phaleria macrocarpa Scheff Boerl). Vol. 5(1): 1-8.

Rositawati, Dkk. (2013). Rekristalisasi Garam Rakyat dari Daerah Demak untuk Mencapai SNI Garam Industri.Jurnal Teknologi Kimia Dan Industri. Vol. 2, No.4. Hal 65-68

Salisbury, F. B., Ross, C. W. (1995). Fisiologi Tumbuhan, Jilid 2. penerjemah: Lukman DR, Sumaryono. Bandung. Penerbit ITB. Hal:150-152. ISBN 979-8591-27-5.

Samy, Joseph. (2005). Herbs of Malaysia: An Introduction to the Medicinal, Culinary, Aromatic and Cosmetic Use of Herbs. Times Editions. pp. 144–145. *ISBN 978-9833001798*.

Sanders, J.K.M. dan Hunter, B. K. (1993). *Modern NMR Spectroscopy*. Oxford University Press.

Sangat., Harini, E., Zuhud, A.M. dan Damayanti, E. K. (1999). Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitimedika 1). Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I. (2006). Natural products isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. hal. 6-10, 18.

Sastrohamdjojo, H. (2002). Kromatografi. Liberty : Yogyakarta.

Schill, Goran. (1978). “Separation Methods”. Swedish Phasma Centrical Press: Stockholm.

Segneanu, A. D., dan Gozescu, I. (2012). Organic Compounds FT-IR Spectroscopy. InTech-Macro to Nano Spectroscopy, 145-164.

Sinang, S.C., Daud, N., Kamaruddin, N. and Poh, K.B. (2019). Potential growth inhibition of freshwater algae by herbaceous plant extracts, Acta Ecologica Sinica 39, 229–233.

Supratman, U. (2010). Elusidasi Struktur Senyawa Organik : Metode Spektroskopi untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Widya Padjadjaran. Bandung.

Syamsuhidayat, S., dan Hutapea, (1989). Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

Tobing, Rangke. (1989). Kimia Bahan Alam. Jakarta : Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat

Jendral Pendidikan Tinggi. Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga kependidikan.

Uslu, H., Yankov, D., Wasewar, K. L., Azizin, S., Ullah, N., dan Ahmad, W. (2015). Separation of organic and inorganic compounds for specific applications. Journal of Chemistry, 1-3.

Verpoorte, R., Alfermann, A. W. (2000). Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Springer. *ISBN 978-0-7923-6360-6*. *Page.1-3*.

Vogel, A. I., Tatchell, A. R., Furnis, B. S., Hannaford, A. J., dan Smith. P.W.G. (1989). Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry (edisi ke-5th). *ISBN 0-582-46236-3*.

Watanabe, T., Osaki, M., Yoshihara, T., and Tadano, T. (1998). Distribution and chemical speciation of aluminum in the Al accumulator plant, *Melastoma malabathricum* L. ISSN 0032-079X, 1573-5036.

WHO, IUCN dan WWF. (1993). Guidelines on the Conservation of Medicinal Plants. IUCN. Gland, Switzerland.

Wilkins, C. K. and Bohm, B. A. (1976) Phytochemistry 15, 211.

Winkel, B., S. (2004). Metabolic channeling in plants, Annu. Rev. Plant Biol. 55, 85–107.

Wong, W. (2008). Melastoma malabathricum too beautiful to be called a weed. Green Culture Singapore. Singapore.

Yoshida, T., Haba, K., Nakata, F., Okano, Y., Shingu, T. and Okuda, T. (1992). Chem. Pharm. Bull. 40, 66.

Yoshida, T., Haba, K., Sbingu, T. and Okuda, T. (1987). Heterocycles 26, 2845.

Yoshida, T., Nakata, F., Hosotani, K., Nittat, A. and Okuda, T. (1992). Dimeric hydrolysable tannins from melastoma malabathricum, phytochemistry, vol 31, no. 8, pp. 2829-2833.

Yoshida, T., Ohbayashi, H., Ishihara, K., Ohwashi, W., Haba, K., Okano, Y., Shingu, T. and Okuda, T. (1991) Chem. Pharm. Bull. 39, 2233.

Yoshida, T., Ohwashi, W., Haba, K., Ishihara, K., Okano, Y., Shingu, T. and Okuda, T. (1991). Chem. Pharm. Bull. 39,2264.

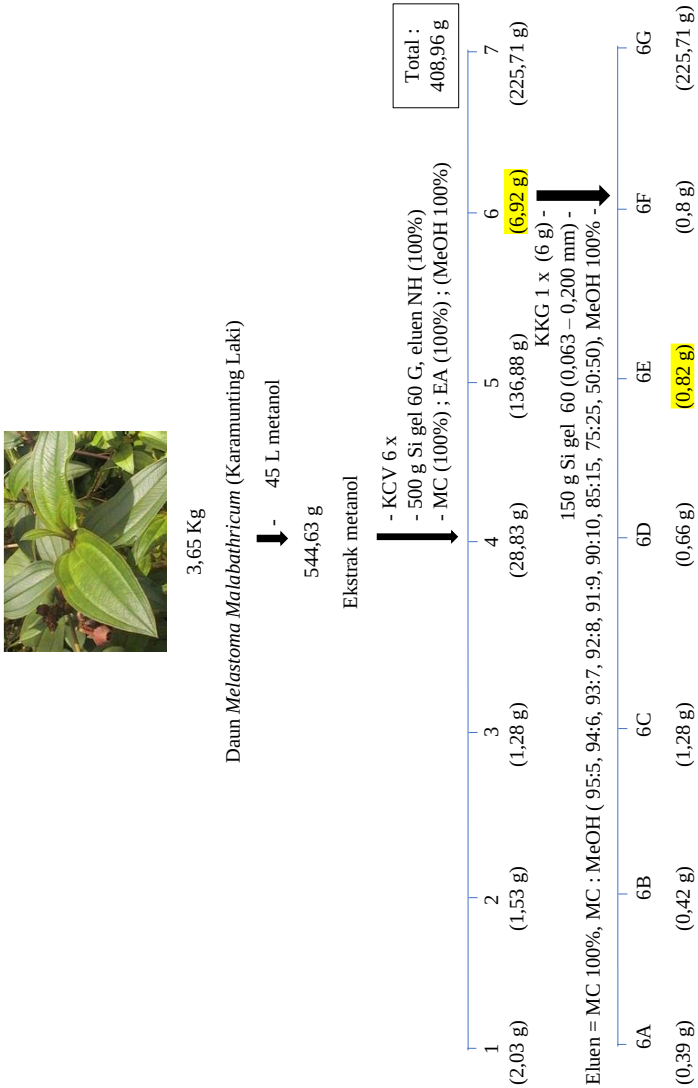
ZHU Chen-chen1, 2, GAO Li1, 2, ZHAO Zhong-xiang1, LIN Chao-zhan1, (2012). Triterpenes from *Callicarpa integerrima* Champ, Acta Pharmaceutica Sinica , 47 (1): 77−83.

Zuhud dan Siswoyo. (2001). Rancangan Strategi Konservasi Tumbuhan Obat Indonesia. Kerjasama Pusat Pengendalian Kerusakan Keanekaragaman Hayati BAPEDAL dengan Fakultas Kehutanan IPB. Jakarta.

Halaman Ini Sengaja Dikosongkan

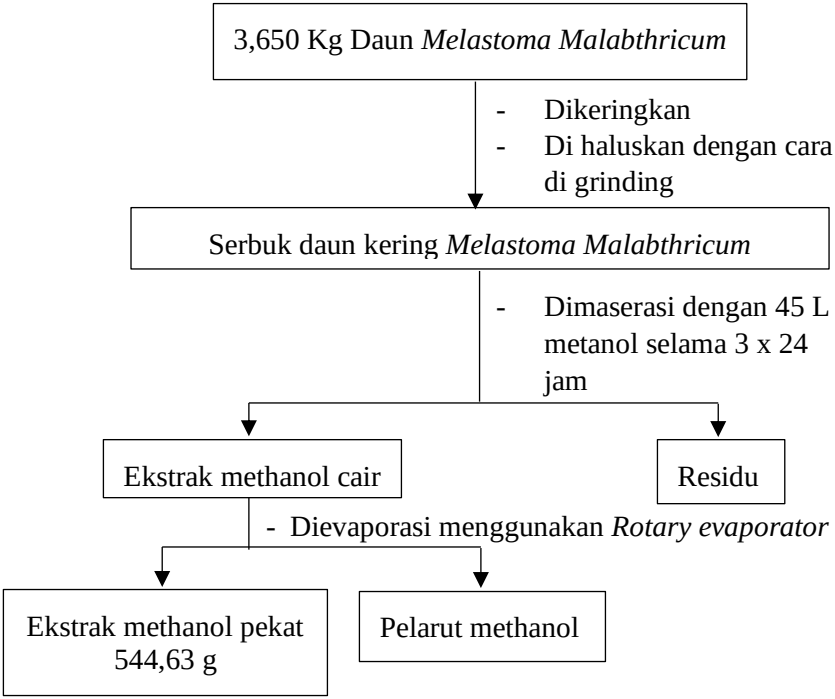
LAMPIRAN

LAMPIRAN A : Skema Kerja Secara Umum

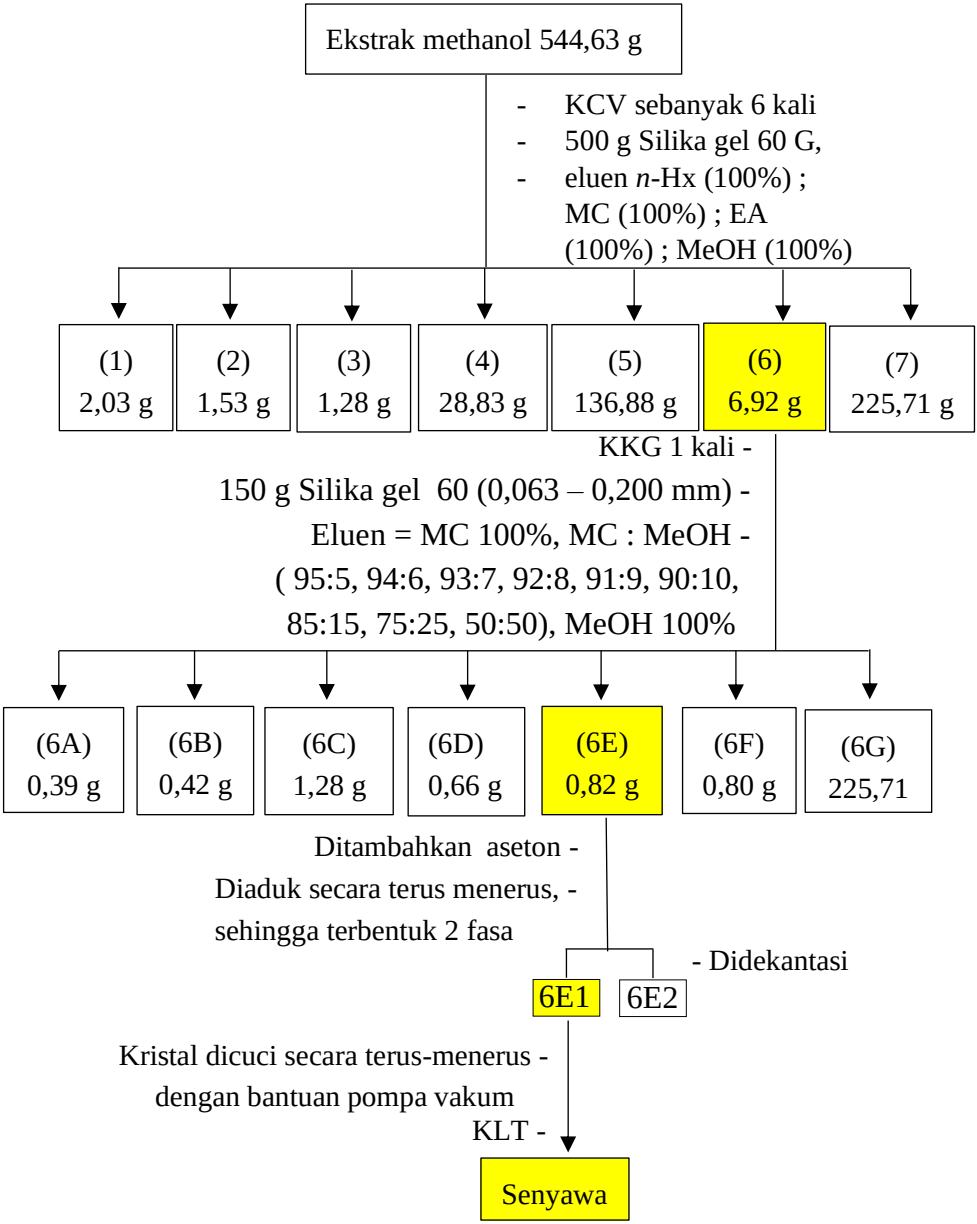


LAMPIRAN B : Diagram Alir Penelitian

1. Ekstraksi Daun *Melastoma Malabathricum*

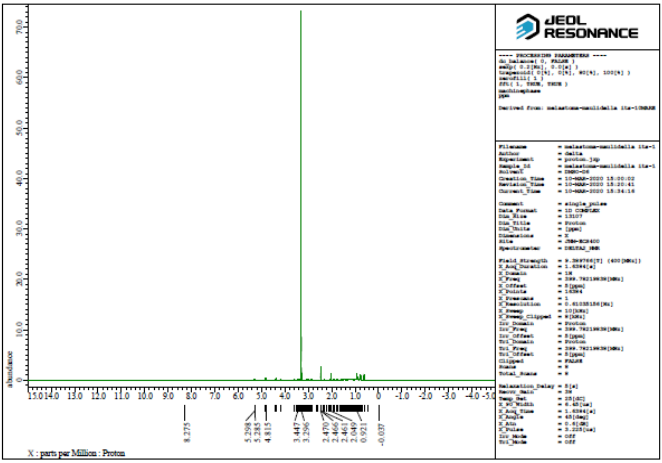


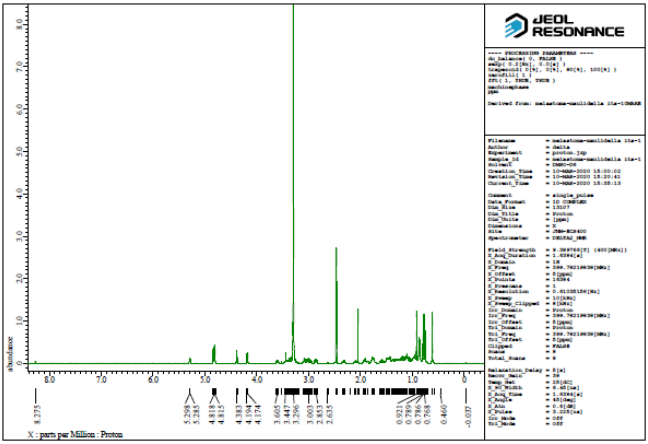
2. Fraksinasi dan Isolasi Senyawa



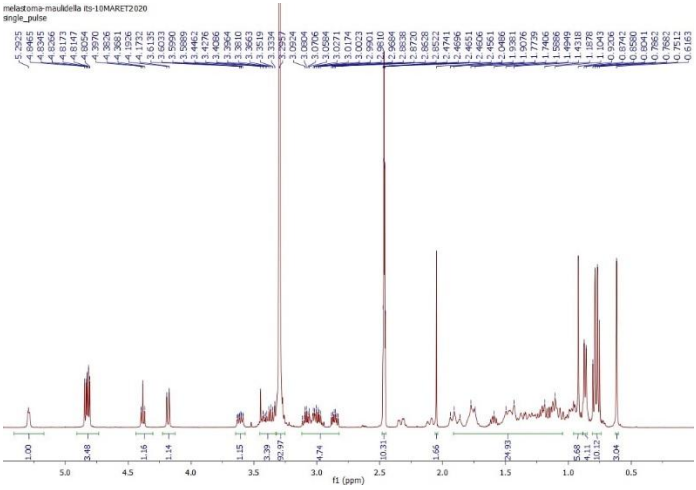
LAMPIRAN B: Spektrum NMR

1. Spektrum ^{1}H-NMR

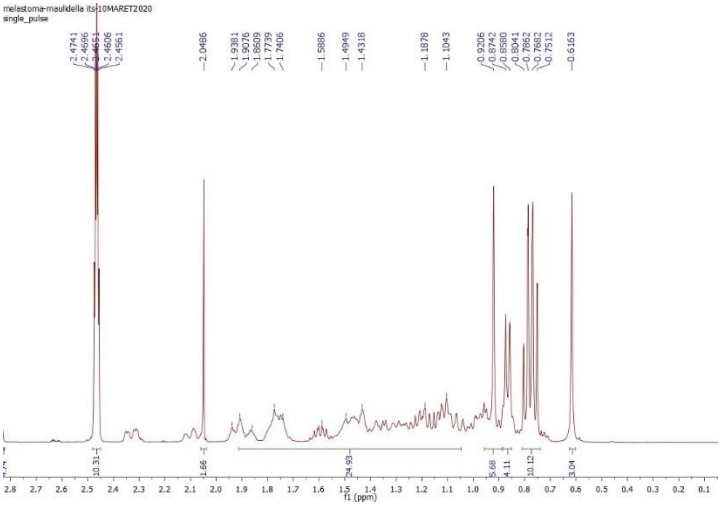




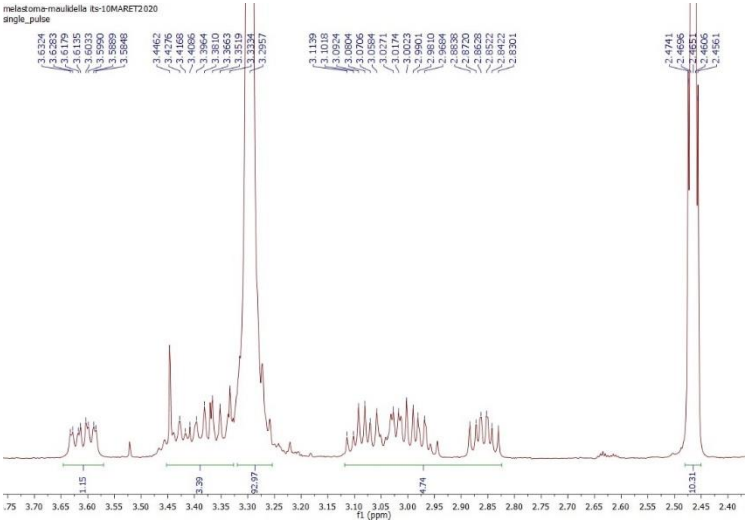
2. Pembesaran ^{1}H-NMR
   a. Pergeseran kimia δH(ppm) 0 – 5.5



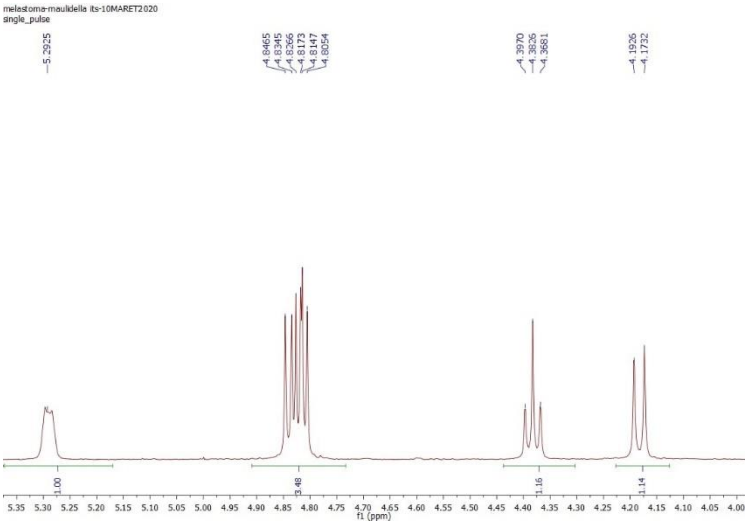
   b. Pergeseran kimia δH(ppm) 1 – 2.8



c. Pergeseran kimia δH(ppm) 2.4 – 3.75



d. Pergeseran kimia δH(ppm) 4 – 5.35



BIODATA PENULIS

Penulis yang bernama Maulidella dilahirkan di Aceh jaya, 05 Juli 1998 dan anak pertama dari empat bersaudara. Penulis telah menempuh Pendidikan formal di MIN Model Banda Aceh, MTsN Model Banda Aceh dan Ruhul Islam Anak Bangsa Aceh Besar. Penulis diterima di Departemen Kimia FSAD Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya pada tahun 2016 dengan NRP 01211640000087. Penulis mendapatkan beasiswa JPD Aceh. Selama menempuh Pendidikan sebagai mahasiswa, penulis aktif mengikuti perlombaan, pelatihan, organisasi, dan kepanitiaan. Perlombaan yang pernah diikuti penulis adalah MTQ ITS tahun 2017, 2018 dan 2019. MTQ Mahasiswa Nasional tahun 2017 dan 2019, National Qur'an Competition 2018 dan beberapa perlombaan Banjari. Pelatihan pengembangan diri dan keprofesian yang pernah diikuti oleh penulis adalah LKMM TD HIMKA ITS 2016 dan pelatihan ISO 2019. Selain perlombaan dan pelatihan, penulis juga aktif di organisasi dan kepanitiaan diantaranya yaitu anggota Reaction 2017, Try Out PMKTR 2017, ketua Sub event NCC Region Aceh 2018, Staff Ristek Pro HIMKA 2018, Sekretaris Sagoe PMKTR 2018 dan Volunteer OWSD 2019. Penulis juga melaksanakan kerja praktik di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk Pabrik Tuban dan PT. Semen Andalas Lhoknga Aceh. Di Departemen Kimia ITS, Penulis memilih Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis (KIBAS) dalam menyelesaikan skripsi jenjang S1 di bawah bimbingan ibu Sri Fatmawati S.Si, M.Sc, Ph.D. Segala kritik dan saran bagi penulis atas naskah skripsi ini dapat disampaikan melalui maulidella57@gmail.com.