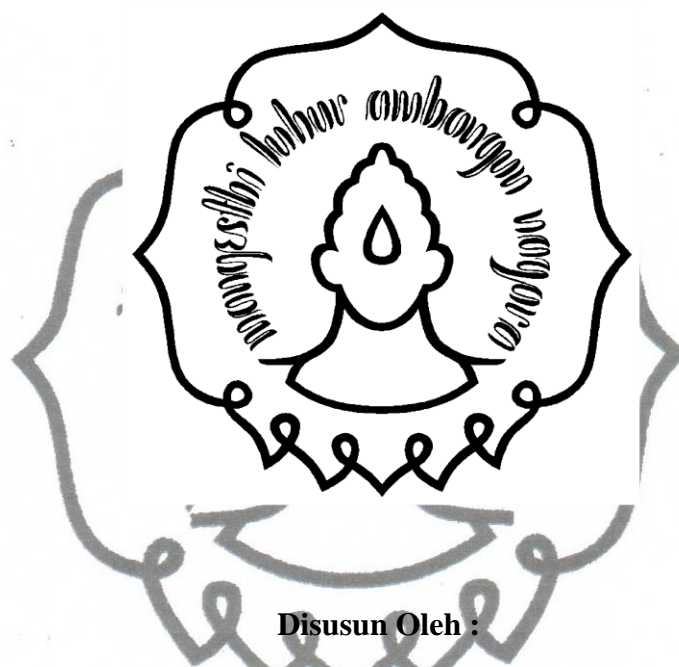


**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA
EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lam.)**



**Disusun Oleh :
PUJI LESTARI**

M0305050

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi sebagian
persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Sains Kimia**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
Januari, 2011**

HALAMAN PENGESAHAN

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Sebelas Maret Surakarta telah mengesahkan skripsi mahasiswa :

Puji Lestari NIM M0305050, dengan judul “ Isolasi dan Identifikasi Komponen
Kimia Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.)”

Skripsi ini dibimbing oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Soerya Dewi Marliyana, M.Si.
NIP. 19690313 199702 2001

Dr. rer. nat. Fajar R Wibowo, M.Si
NIP. 19730605 200003 1001

Dipertahankan didepan TIM Penguji Skripsi pada :

Hari :

Tanggal :

Anggota TIM Penguji :

1. M. Widy W., M.Si.

NIP. 19760822 200501 1001

2. Candra Purnawan, M.Sc.

NIP. 19781228 200501 1001

1.

2.

Disahkan oleh

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sebelas Maret Surakarta

Ketua Jurusan Kimia,

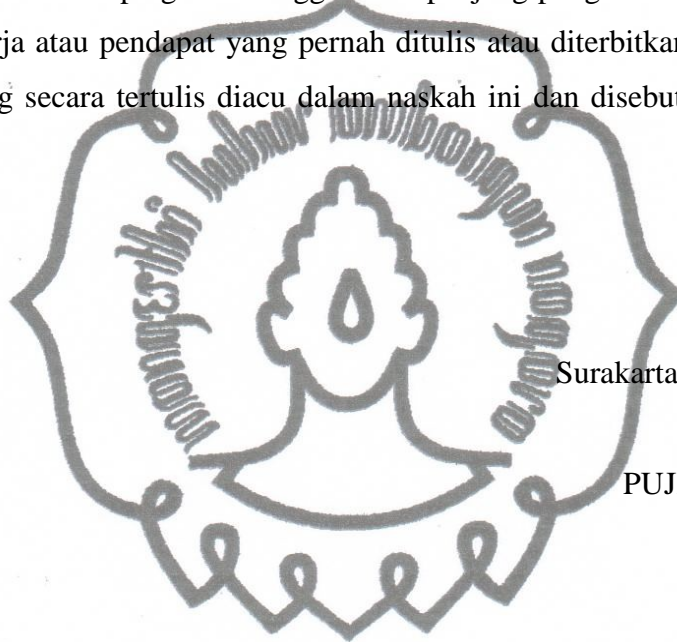
Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D.

commit to user

NIP. 19560507 198601 1001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam.)” adalah benar-benar hasil penelitian sendiri dan tidak terdapat karya lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat kerja atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, Januari 2011

PUJI LESTARI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA
EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH
(*Pandanus Conoideus* Lam.)**

PUJI LESTARI

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sebelas Maret

ABSTRAK

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) merupakan buah endemik Papua yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber fitofarmaka Indonesia. Penggunaan metode perebusan untuk mengambil sari buah merah memiliki beberapa keterbatasan, maka perlu dikembangkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komponen kimia dengan metode lain yaitu ekstraksi. Isolasi komponen kimia dilakukan dengan ekstraksi soxhlet dan maserasi. Pelarut yang digunakan adalah petroleum eter (PE) dan etanol. Hasil yang diperoleh berupa ekstrak kental berwarna merah kehitaman sebanyak 6,90 g dengan rendemen 26,59%.

Identifikasi golongan senyawa dalam ekstrak etanol dilakukan skrining fitokimia uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak etanol mengandung golongan senyawa antrakuinon, kumarin, senyawa fenolik dan asam lemak. Profil pemisahan KLT dalam ekstrak etanol menunjukkan asam lemak merupakan komponen utama dalam buah merah. Pemisahan komponen ekstrak etanol dilakukan dengan kromatografi kolom *flash*. Fraksi terbanyak diidentifikasi menggunakan GC-MS. Hasil analisis data GC-MS menunjukkan terdapat 2 asam lemak bebas dominan yaitu asam palmitat (10,55%) dan asam oleat (84,78%). Senyawa tersebut teridentifikasi dalam bentuk etil ester. Sedangkan ester asam lemak yang diperoleh berupa metil palmitat (29,63%), metil oleat (23,09%), metil stearat (8,26%) dan asam lemak tak jenuh yang disusun oleh struktur siklopentan dengan rantai alifatik (16,84%).

Kata kunci : Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.), KLT, Kromatografi Kolom *flash*, GC-MS, Asam lemak.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CHEMICAL COMPONENT OF RED FRUIT'S (*Pandanus conoideus* Lam.) ETHANOL EXTRACT

PUJI LESTARI

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Science
Sebelas Maret University

ABSTRACT

Red fruit (*Pandanus Conoideus* Lam.), Papua endemic fruit, can be used as phyto-pharmaco source in Indonesia. The used of boiling method to isolate red fruit extract has some limitations, therefore we conduct research aiming to find out the chemical component means of extraction. The isolation of chemical component was done by means of soxhlet extraction and maceration. Petroleum ether and ethanol were used as solvents respectively. Darkish red vicious extract (6.90 g / 26.59% of yield) from the maceration process.

The identification of compound class in ethanol extract was done by phytochemical screening Thin Layer Chromatography (TLC) test. Ethanol extract contains antraquinone, coumarine, phenolic and fatty acids. The TLC isolation profile of ethanol extract shows that fatty acid was the primary component of red fruit. The isolation of ethanol extract component was done by flash column chromatography. The highest amount of fractions was identified by GC-MS. The result of GC-MS data analysis shows that there are 2 dominant free fatty acid that are palmitic acid (10.55%) and oleic acid (84.78%). It was identified in the form of ethyl ester. Meanwhile the fatty acid esters obtained includes palmitic methyl (29.63%), oleic methyl (23.09%), stearic methyl (8.26%) and unsaturated fatty acid by cyclopentane structure with aliphatic chain (16.84%).

Keywords: Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam), TLC, *Flash* Column Chromatography, GC-MS, Fatty Acid.

MOTTO

*‘Hai orang-orang yang beriman, jadikanlah
sabar dan sholat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah
beserta orang-orang yang sabar’
(QS 2:153)*

*Bersyukur, berdzikir dan sabar di dalamnya terkandung
kebahagiaan dan pahala yang besar
(Laa Tahzan)*

*Aku akan bersungguh-sungguh dalam menggapai
Kesuksesan hingga Aku Mati, dan Aku tidak akan pernah kembali sebelum
Aku menemukan Cita-citaku atau Aku Mati sebagai Pahlawan Syahid
(al-Malik ‘Abdul ‘Aziz ‘Ali Sa’ad)*

commit to user

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah Robbil 'Alamiin, setelah melalui perjalanan yang sangat panjang akhirnya aku berhasil menyelesaikan karya kecilku ini yang ku persembahkan untuk;

Bapak dan Ibu tercinta

yang selalu memberikan curahan kasih sayang, do'a dan segala perjuangan mulia yang tanpa pamrih. Mungkin ini sedikit terlambat tapi kuharap Bapak Ibu tidak kecewa dan semoga aku bisa tetap menjadi yang Bapak dan Ibu harapkan

Dek Bekti dan Dek Tri

Para bidadari cantik yang menjadi inspirasi bagiku, kalian berdua harus bisa menjadi yang lebih.....lebih baik segalanya dari m'puji

All Chemist'05

Terima kasih teman atas semua bantuan, dukungan dan kerja samanya.

Karena kalian semua arti sebuah persahabatan ada

Mz Agung

"perhatian dan kepercayaan yang kau berikan membuatku kuat menjalani semua ini"

commit to user

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan ijin-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Sains dari Jurusan Kimia FMIPA, UNS.

Dalam penyusunan laporan ini, penulis tidak lepas dari bimbingan, pengarahan dan bantuan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia F.MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Ibu Soerya Dewi M, M.Si selaku pembimbing I, terimakasih atas bantuan, bimbingan dan kesabarannya membimbing penulis selama melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Dr. rer. nat Fajar Rakhman W, M.Si selaku pembimbing II, yang telah memberikan bimbingan dan arahnya selama penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Drs. Patiha MS, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahnya.
5. Seluruh staf Lab. Dasar Kimia FMIPA UNS dan SubLab. Kimia Laboratorium Pusat UNS.
6. Semua dosen di Jurusan Kimia FMIPA UNS atas ilmu yang berguna dalam menyusun skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan kimia '05, terima kasih atas dukungan, persaudaraan dan kebersamaan yang berwarna selama ini.
8. Semua pihak yang secara langsung atau tidak langsung telah memberikan bantuan dan saran dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga Allah SWT membalas jerih payah dan pengorbanan yang telah diberikan dengan balasan yang lebih baik.

commit to user

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi hasil yang lebih baik lagi. Penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberi tambahan ilmu bagi pembaca. Amin.

Surakarta, Januari 2011

PUJI LESTARI



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN ABSTRAK.....	iv
HALAMAN ABSTRACT	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
1. Identifikasi Masalah	2
2. Batasan Masalah	3
3. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. LANDASAN TEORI	5
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Buah Merah.....	5
a. Klasifikasi tanaman.....	5
b. Deskripsi tanaman.....	5
c. Manfaat dan kandungan buah merah	6
2. Ekstraksi.....	7
3. Skrining Fitokimia	8

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	9
a. Fase Diam.....	9
b. Fase Gerak.....	10
5. Kromatografi Kolom Flash.....	10
6. Transesterifikasi.....	11
7. Gas Chromatography – Mass Spectroscopy (GC-MS).....	12
B. Kerangka Pemikiran.....	14
C. Hipotesis	15
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	16
A. Metode Penelitian	16
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
C. Alat dan Bahan Penelitian.....	16
1. Alat	16
2. Bahan	17
D. Prosedur Penelitian	17
1. Persiapan Sampel Buah Merah.....	17
2. Ekstraksi	18
3. Skrining Fitokimia.....	18
4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	19
5. Kromatografi Kolom Flash.....	20
6. Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS)	20
E. Teknik Analisa Data.....	20
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Persiapan Sampel dan Ekstraksi Buah Merah.....	22
B. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dengan Skrining Fitokimia	23
C. Pemisahan Komponen Senyawa dalam Ekstrak Etanol Buah Merah	24
1. Penentuan Sistem Eluen dengan KLT.....	24
2. Kromatografi Kolom Flash	26
D. Identifikasi Komponen Senyawa Fraksi II	

dengan Analisis Data GC-MS	30
E. Identifikasi Komponen Senyawa Fraksi II dengan Anlisis Data GC-MS setelah di Esterifikasi	32
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
A. Kesimpulan	38
B. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	42



DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1	Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol Buah Merah.....	23
Tabel 2	Harga R_f , warna dan berat tiap fraksi	29
Tabel 3	Hasil analisis data GC-MS fraksi II sebelum transesterifikasi....	32
Tabel 4	Hasil analisis data GC-MS fraksi II setelah transesterifikasi.....	36
Tabel 5	Perbandingan Komposisi Asam Lemak Utama dalam Ekstrak Etanol Buah Merah dengan Asam Lemak dalam Sari Buah Merah.....	37



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Pohon Buah Merah (a), Buah Merah (b) dan (c).....	6
Gambar 2. Struktur dasar silika gel.....	9
Gambar 3. Profil KLT <i>n</i> -heksana : etil asetat (70:30).....	25
Gambar 4. Kromatografi Kolom <i>Flash</i>	26
Gambar 5. Perubahan massa yang dihasilkan dari pemisahan dengan kromatografi kolom <i>flash</i>).....	27
Gambar 6. Profil KLT <i>n</i> -heksana dan etil asetat vial no 3 setelah kromatografi kolom <i>flash</i> (70:30).....	28
Gambar 7. Profil pemisahan pada vial	29
Gambar 8. Perbandingan R_f plat silika gel awal dengan R_f dari eluat	30
Gambar 9. Kromatogram GC-MS Fraksi Asam Lemak Ekstrak Etanol Buah Merah.....	31
Gambar 10. Spektra Massa Senyawa 8 (Etil Palmitat).....	31
Gambar 11. Spektra Massa Senyawa 11 (Etil Oleat).....	32
Gambar 12. Kromatogram GC-MS Fraksi II Ekstrak Etanol Buah Merah setelah Esterifikasi.....	33
Gambar 13. Spektra Massa Senyawa 11 (Metil Palmitat).....	34
Gambar 14. Spektra Massa Senyawa 14 (Metil Oleat).....	34
Gambar 15. Spektra Massa Senyawa 15 (Metil Stearat).....	35
Gambar 16. Spektra Massa Senyawa 17	35
Gambar 17. Pola Pemecahan Fragmen Puncak 17	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Bagan Alir Cara Kerja.....	42
Lampiran 2 Kondisi Operasi GC-MS QP2010S Shimadzu sebelum Esterifikasi.....	43
Lampiran 3 Kondisi Operasi GC-MS QP2010S Shimadzu setelah Esterifikasi.....	44
Lampiran 4 a. Hasil Prosentase Luas Area Data GC-MS Ekstrak Etanol Buah Merah sebelum Transesterifikasi.....	45
b. Data MS	
1) Hasil MS Puncak 8	46
2) Hasil MS Puncak 11	47
Lampiran 5 a. Hasil Prosentase Luas Area Data GC-MS Ekstrak Etanol Buah Merah setelah di Esterifikasi.....	48
b. Data MS	
1) Hasil MS Puncak 11	49
2) Hasil MS Puncak 14	50
3) Hasil MS Puncak 15	51
4) Hasil MS Puncak 17	52
Lampiran 6 Perkiraan Komposisi Senyawa (Etil Oleat Dan Etil Palmitat)	
Lampiran 7 Dalam Ekstrak Etanol Buah Merah.....	53
A. Struktur metil palmitat.....	54
B. Struktur metil oleat.....	54
C. Struktur metil stearat.....	54
Lampiran 8 Skrining fitokimia (uji warna) ekstrak etanol buah merah.....	55

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) merupakan tumbuhan endemik Papua yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai salah satu sumber fitofarmaka Indonesia. Buah yang termasuk dalam famili Pandanaceae ini oleh masyarakat lokal Papua secara empiris telah dimanfaatkan selain sebagai obat tradisional juga sebagai zat pewarna alami dan sumber bahan makanan. Sari buah merah yang diambil telah digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan berbagai penyakit degeneratif, seperti misalnya diabetes mellitus, asam urat, hipertensi, stroke, dan kanker (Budi dan Paimin, 2005).

Sari buah merah mengandung senyawa antioksidan dengan kandungan yang cukup tinggi yaitu karotenoid (12.000 ppm), beta-karoten (700 ppm) dan tokoferol (11.000 ppm) (Budi, 2001). Sari buah merah dapat menghambat proliferasi sel limfosit dan pertumbuhan sel penyebab kanker sehingga angka kematian karena kanker di Indonesia dapat ditekan (Wahyuniari dkk., 2009 dan Mu'nim dkk., 2006). Selain itu sari buah merah juga mengandung zat-zat kimia yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh seperti asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, dekanolat, omega 3 dan omega 9 yang semua zat tersebut aktif dalam menangkal terbentuknya radikal bebas dalam tubuh. Zat-zat tersebut apabila dikonsumsi secara rutin membuat tubuh dapat memperbanyak sel-sel alami pembasmi penyakit. Bertambahnya sel-sel tersebut akan menekan kehadiran sel kanker dengan menetralkan radikal bebas senyawa karsinogen penyebab kanker (Dermawan dkk., 2005 dan Sofia, 2005).

Asam lemak umumnya terdapat dalam tumbuhan terutama dalam bentuk terikat, teresterkan dengan gliserol sebagai lipida yaitu berupa triasil gliserol atau trigliserida (Harborne, 1987 dan Muchalal dkk., 2004). Dalam sistem pencernaan lipida akan diubah menjadi molekul asam lemak dan gliserol penyusunnya oleh enzim lipase (Poedjiadi, 1994). Asam lemak dalam sari buah merah terdapat dalam bentuk terikat sebagai lipida dan mengalami beberapa reaksi kimia dalam

sistem pencernaan tubuh sehingga mengalami transformasi menjadi turunannya. Untuk mendukung pengujian *in vitro* senyawa harus diubah menjadi turunannya. Handayani (2008) mampu memisahkan senyawa asam lemak menjadi turunannya.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sari buah merah yang diambil dengan metode direbus mengandung senyawa asam lemak. Metode direbus tidak biasa digunakan dalam penelitian. Metode ini bisa digolongkan dalam metode ekstraksi air tetapi menggunakan pemanasan. Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan substansi dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai (Kristanti dkk., 2008). Penelitian Sundari dan Septyaningsih (2010) menunjukkan bahwa ekstraksi biji buah merah dengan pelarut etanol dapat mengekstrak golongan senyawa tanin, glikosida senyawa fenol, antrakuinon dan asam lemak.

Selama ini penelitian eksplorasi buah merah sebagian besar terfokus pada sari buah yang diambil dari proses direbus. Sedangkan isolasi kandungan senyawa buah merah dengan metode ekstraksi belum banyak diteliti. Berdasarkan adanya perbedaan metode pengambilan kandungan senyawa yang ada dalam buah merah tidak menutup kemungkinan bahwa ada golongan senyawa lain yang belum ditemukan dalam sari buah merah. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi komponen kimia dalam ekstrak etanol buah merah.

B. Perumusan masalah

1. Identifikasi Masalah

Proses ekstraksi dalam pengambilan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah merah berkaitan erat dengan pemilihan pelarut. Pelarut yang sesuai akan berpengaruh dengan hasil ekstraksi. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan alam dapat larut dalam pelarut yang berbeda sifat kepolarannya. Senyawa yang bersifat polar larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar larut dalam pelarut non polar sehingga pelarut yang digunakan akan selektif memisahkan kandungan senyawa tersebut. Pelarut yang biasa digunakan untuk mengekstrak senyawa non polar antara lain eter, benzena, toluena, dan heksana. Sedangkan pelarut yang digunakan untuk mengekstrak

senyawa yang lebih polar antara lain kloroform, etil asetat, butanol, metanol, etanol dan air.

Pemilihan metode dalam proses isolasi sangat penting. Metode yang biasa digunakan untuk mengisolasi senyawa dalam sampel antara lain direbus, destilasi, ekstraksi dan kromatografi. Hasil isolasi dengan metode yang berbeda akan menghasilkan ekstrak dengan senyawa yang berbeda pula. Maka dari itu, pemilihan metode harus tepat. Hal ini harus disesuaikan dengan sampel yang akan diisolasi dan pelarut yang digunakan.

Identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol buah merah dapat dilakukan dengan skrining fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), spektrometer Infra Merah (IR), spektrometer UV-Vis, dan spektroskopi Resonansi Magnet Inti (NMR). Pemilihan instrumen yang tepat untuk analisa sangat penting dalam penentuan struktur senyawa kimia. Hal tersebut harus disesuaikan dengan sifat dan jumlah sampel yang akan di analisis.

2. Batasan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah tersebut, maka dibuat batasan masalah sebagai berikut:

- a. Buah merah yang digunakan merupakan buah merah yang diperoleh dari daerah Papua.
- b. Isolasi senyawa kimia dilakukan dengan ekstraksi soxhlet dengan menggunakan pelarut petroleum eter dan sisa hasil soxhlet dimaserasi dengan pelarut etanol.
- c. Identifikasi golongan kimia ekstrak etanol buah merah secara skrining fitokimia dengan metode uji KLT.
- d. Identifikasi senyawa hasil isolasi menggunakan analisis KLT dan data GC-MS.

3. Rumusan Masalah

Berdasarkan batasan masalah di atas, maka dibuat rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

- a. Golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang dapat diidentifikasi dalam ekstrak etanol buah merah?
- b. Komponen kimia buah merah apa saja yang teridentifikasi dengan analisis data GC-MS?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol buah merah.
- b. Mengisolasi dan mengidentifikasi komponen kimia dalam ekstrak etanol buah merah.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi komponen kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) sehingga dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut. Misalnya, uji toksisitas dan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui potensi buah merah dalam bidang farmasi dan kesehatan.

BAB II

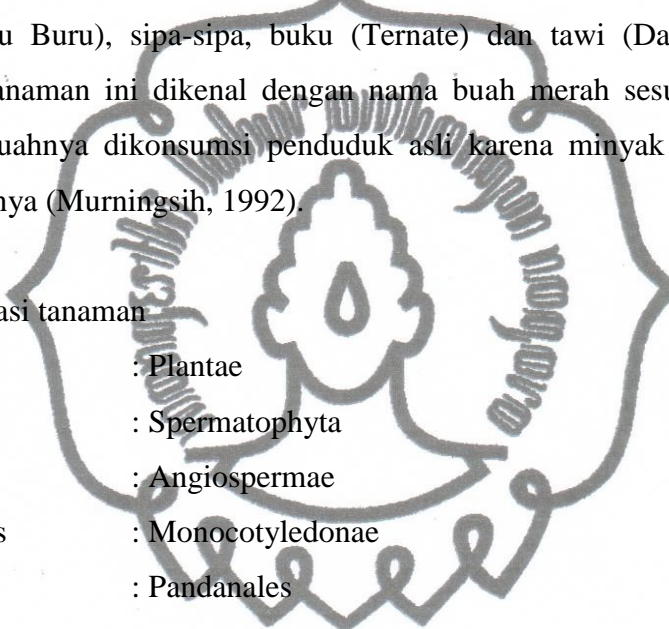
LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Buah Merah

Pandanus conoideus Lam. tersebar luas di daerah Maluku, Irian Jaya, Papua Nugini hingga kepulauan Bismarck dengan nama yang berbeda-beda yaitu: kleba (Pulau Buru), sipa-sipa, buku (Ternate) dan tawi (Dani, Wamena). Di Indonesia tanaman ini dikenal dengan nama buah merah sesuai dengan warna buahnya. Buahnya dikonsumsi penduduk asli karena minyak yang terkandung dalam buahnya (Murningsih, 1992).

a. Klasifikasi tanaman



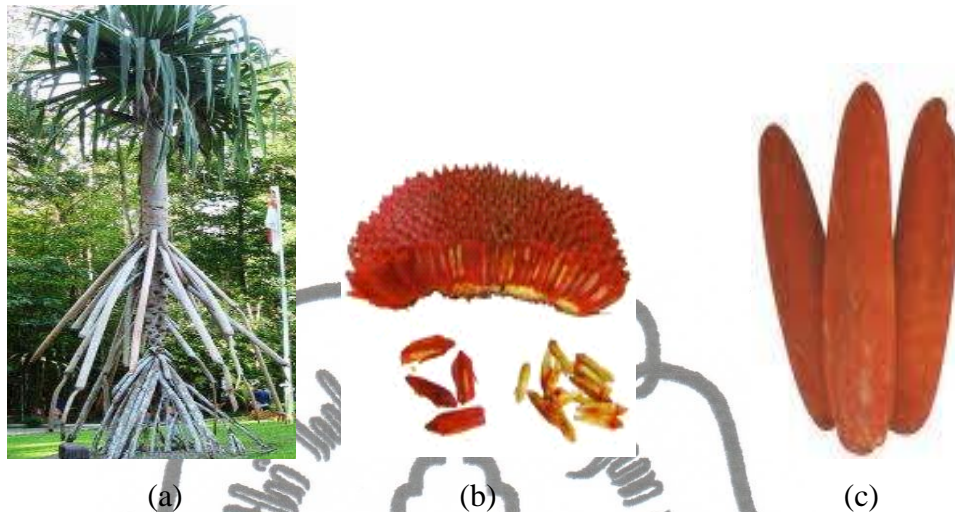
Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Subkelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Pandanales
Familia	: Pandanaceae
Genus	: <i>Pandanus</i>
Spesies	: <i>Pandanus conoideus</i> Lam.

b. Deskripsi tanaman

Tanaman buah merah adalah tanaman yang masih satu famili dengan tanaman pandan. *Pandanus conoideus* Lam. di habitat aslinya (Papua) tumbuh dari dataran rendah dekat pantai sampai dataran tinggi. Di lereng pegunungan Jayawijaya pada ketinggian 2.500 m dpl tanaman ini bisa ditemukan. Tanaman berkayu ini tumbuh bercabang sampai mempunyai 5 cabang. Daunnya berbentuk pita yang pinggirnya berduri-duri kecil. Tinggi tanaman bisa mencapai 15 meter. Akarnya berbentuk akar udara yang menggantung sampai ketinggian satu meter

commit to user

dari pangkal batang seperti Gambar 1(a). Tanaman ini berbuah saat berumur tiga tahun sejak ditanam.



Gambar 1. (a) Pohon Buah Merah, (b) dan (c) Buah Merah

Buah merah umumnya berbentuk panjang lonjong atau agak persegi dengan kuncup agak tertutup daun buah. Panjang buah 30-120 cm, diameter buah 10-25 cm, dan berbobot 2-3 kg. Buah ini umumnya berwarna merah saat matang berwarna merah marun terang dan ada juga jenis yang berwarna merah kecokelatan dan coklat kekuningan. Kulit buah bagian luar menyerupai buah nangka seperti ditunjukkan Gambar 1(b) dan 1(c). Di Papua, beberapa daerah yang menjadi sentra buah merah adalah daerah-daerah yang berada di sepanjang lereng pegunungan Jayawijaya.

c. Manfaat dan kandungan buah merah

Sejak diperkenalkan oleh I Made Budi, sari buah merah ditekankan untuk pengobatan alternatif penyakit tumor/kanker, HIV/AIDS, diabetes, stroke, jantung, hipertensi, hepatitis, asam urat dan rematik (Subroto, 2007). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Budi (2001), buah merah mengandung zat-zat antioksidan, di antaranya karotenoid (12.000 ppm), tokoferol 11.000 ppm, betakaroten (700 ppm), α -tokoferol (500 ppm). Zat-zat tersebut merupakan zat antioksidan yang baik, misalnya betakaroten. Betakaroten berfungsi memperlambat berlangsungnya penumpukan flek pada arteri. Interaksinya dengan protein hewani meningkatkan produksi antibodi. Betakaroten meningkatkan

jumlah sel-sel pembunuh alami dan memperbanyak aktivitas sel-sel T helpers dan limposit. Konsumsi betakaroten 30-60 mg/hari selama 2 bulan membuat tubuh memiliki sel-sel pembunuh alami lebih banyak.

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi yang dipilih untuk digunakan dalam suatu penelitian fitokimia sangat bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang akan diisolasi. Pada umumnya yang perlu dilakukan dalam mengekstraksi adalah “membunuh” jaringan tumbuhan untuk mencegah terjadinya oksidasi atau hidrolisis oleh enzim. Disamping itu, metode ekstraksi berguna untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk ekstraksi tersebut (Kristanti dkk., 2008).

Ekstraksi biasanya menggunakan pelarut organik dengan kepolaran yang bertingkat. Kepolaran pelarut tergantung dari nilai konstanta dielektriknya. Pelarut heksana, eter, petroleum eter dan kloroform digunakan untuk mengambil senyawa dengan kepolaran rendah sedangkan pelarut yang lebih polar misalnya alkohol dan etil asetat digunakan untuk mengambil senyawa yang lebih polar (Rusdi, 1990). Pemilihan pelarut berdasarkan kaidah “*like dissolve like*“, yang berarti suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan juga sebaliknya, senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar.

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi sederhana yang paling banyak digunakan khususnya untuk mengekstraksi senyawa yang lebih polar. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat aktif akan larut. Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia. Rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah

reaksi yang dikatalisis oleh cahaya atau perubahan warna. Waktu maserasi bervariasi antara 15-30 menit tetapi kadang-kadang bisa sampai 24 jam. Jumlah pelarut yang diperlukan juga cukup besar, berkisar antara 10-20 kali jumlah sampel (Kristanti dkk., 2008).

3. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa sebagian besar metodenya merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna. Cara ini merupakan langkah awal yang dapat membantu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti (Kristanti *et al.*, 2008).

Beberapa persyaratan yang harus dipenuhi apabila suatu metode akan digunakan untuk melakukan skrining fitokimia antara lain sederhana, cepat, dapat dilakukan dengan peralatan minimal, bersifat semikuantitatif yaitu memiliki batas kepekaan untuk senyawa yang bersangkutan, selektif terhadap golongan senyawa yang dipelajari dan dapat memberikan keterangan tambahan ada atau tidaknya senyawa tertentu dalam dari golongan senyawa yang dipelajari (Farnsworth, 1966).

Pendekatan skrining fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan kimia dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, buah, bunga dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang bioaktif, yaitu alkaloid, antrakuinon, flavonoid, glikosida jantung, kumarin, saponin (steroid dan triterpenoid), tanin (polifenolat), minyak atsiri (terpenoid) dan sebagainya. Adapun tujuan pendekatan skrining fitokimia adalah untuk mensurvei tumbuhan guna mendapatkan kandungan bioaktif atau kandungan yang berguna untuk pengobatan (Farnsworth, 1966). Analisis kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang bioaktif dapat dilakukan dengan uji tabung atau dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Stahl, 1985).

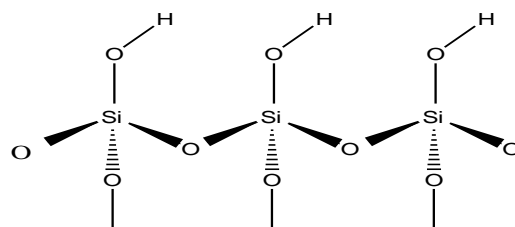
4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan metode pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi komponen-komponen dalam campuran pada fase gerak dan fase diamnya. Kromatografi adsorpsi merupakan salah satu tipe kromatografi biasanya fase geraknya berupa cairan dan fase diamnya berupa solid adsorben. Pemisahannya tergantung pada selektifitas penyerapan komponen dari suatu campuran pada permukaan padatan (Furniss *et al.*, 1989). Kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis dan kromatografi kertas merupakan bentuk kromatografi adsorpsi (Braithwaite and Smith, 1995). Kromatografi lapis tipis dan kromatografi kertas merupakan kromatografi planar atau biasa disebut kromatografi dua dimensi. Fase geraknya bergerak melalui fase diam oleh gaya kapilaritas, kadang-kadang didukung oleh gravitasi (Skoog *et al.*, 1996).

a. Fase Diam

Fase diam dalam KLT berupa padatan penyerap yang dihasilkan pada sebuah plat datar dari gelas, plastik atau alumina sehingga membentuk lapisan tipis dengan ketebalan tertentu. Fase diam atau penyerap yang bisa digunakan sebagai pelapis plat adalah silika gel (SiO_2), selulosa, alumina (Al_2O_3) dan kieselgur (tanah diatome). Kebanyakan penyerap yang digunakan adalah silika gel, dimana telah tersedia plat yang siap pakai (Gritter *et al.*, 1991).

Struktur dasar silika gel seperti pada Gambar 2. Silika gel mempunyai gugus polar yaitu ikatan Si-O dan O-H yang dapat berinteraksi dengan dipol senyawa yang dipisahkan. Silika gel juga dapat membentuk ikatan hidrogen terutama dengan donor H seperti alkohol, fenol, amina, amida dan asam karboksilat (Palleros, 2000).



Gambar 2. Struktur dasar silika gel

b. Fase Gerak

Pelarut sebagai fase gerak atau eluen merupakan faktor yang menentukan gerakan komponen-komponen dalam campuran. Pemilihan pelarut tergantung pada sifat kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Kekuatan elusi dari deret-deret pelarut untuk senyawa-senyawa dalam KLT dengan menggunakan silika gel akan turun dengan urutan sebagai berikut : air murni > metanol > etanol > propanol > aseton > etil asetat > kloroform > metil klorida > benzena > toluen > trikloroetilena > tetraklorida > sikloheksana > heksana. Fase gerak yang bersifat lebih polar digunakan untuk mengelusi senyawa-senyawa yang adsorbsinya kuat, sedangkan fase gerak yang kurang polar digunakan untuk mengelusi senyawa yang adsorbsinya lemah (Sastrohamidjojo, 1991).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapis tipis diperoleh dari harga faktor retensi (R_f), yaitu dengan membandingkan jarak yang ditempuh oleh senyawa terlarut dengan jarak tempuh pelarut (Palleros, 2000).

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut dari titik asal}}$$

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan kromatografi cair yang paling sederhana serta relatif lebih mudah dan murah dibanding metode kromatografi lainnya. Pemisahan senyawa menggunakan teknik KLT dapat dilakukan hanya dalam beberapa menit dengan alat yang tidak terlalu mahal. Kelebihan lain adalah pemakaian pelarut dan cuplikan yang jumlahnya sedikit dan kemungkinan hasilnya dapat langsung dibandingkan (Gritter *et al.*, 1991).

5. Kromatografi Kolom *Flash*

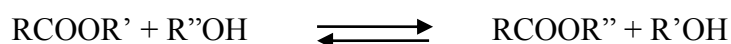
Kromatografi kolom *flash* merupakan kromatografi dengan tekanan rendah (pada umumnya kurang dari 20 psi) yang digunakan sebagai kekuatan bagi elusi bahan pelarut melalui suatu ruangan atau kolom yang lebih cepat. Kualitas pemisahan sedang, tetapi dapat berlangsung cepat (10-15 menit). Pemisahan ini

tidak sesuai untuk pemisahan campuran yang terdiri dari bermacam-macam zat, tetapi sangat baik untuk memisahkan sedikit reaktan dari komponen utama dalam sintesa organik. Panjang kolom 30-45 cm untuk jumlah pelarut 250-3000 ml.

Kromatografi ini berbeda dengan kromatografi kolom yang didasarkan pada gravitasi. Ada dua hal yang membedakan kromatografi ini dengan kromatografi kolom yaitu ukuran silika gel yang digunakan lebih halus dan kecepatan aliran eluen tergantung pada ukuran silika gel dan tekanan gas yang diberikan pada fasa diamnya. Sistem eluen yang digunakan pada kromatografi ini dapat berupa campuran dari dua atau lebih pelarut. Pemilihan sistem eluen dapat dilakukan dengan KLT. Sistem eluen yang dipilih adalah sistem eluen yang memisahkan senyawa pada R_f 0,15-0,20. Banyaknya silika gel yang digunakan bervariasi antara 30-100 kali berat sampel. Untuk pemisahan yang mudah dapat menggunakan perbandingan 30:1 dan untuk pemisahan yang cukup rumit perbandingan itu dapat ditingkatkan (Still *et al.*, 1978). Silika gel yang biasa digunakan adalah silika gel G₆₀ ukuran 63-200 μm dan silika gel G₆₀ ukuran 40-43 μm . Pemilihan kolom disesuaikan dengan banyaknya sampel yang akan dipisahkan. Banyaknya sampel berbanding lurus dengan luas penampang kolom (Kristanti dkk., 2008).

6. Transesterifikasi

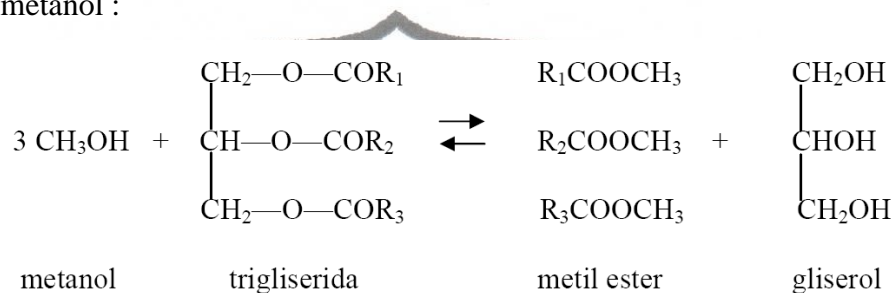
Transesterifikasi (disebut alkoholisis) adalah pertukaran antara alkohol dengan suatu ester untuk membentuk ester lain pada suatu proses yang mirip dengan hidrolisis, kecuali pada penggunaan alkohol untuk menggantikan air. Proses ini telah digunakan secara luas untuk mengurangi viskositas trigliserida. Reaksi transesterifikasi ditampilkan oleh persamaan umum berikut ini:



Alkoholisis adalah reaksi reversibel yang terjadi pada temperatur ruang, dan berjalan dengan lambat tanpa adanya katalis. Untuk mendorong reaksi ke arah

commit to user

kanan, dapat dilakukan dengan menggunakan alkohol berlebih atau mengambil salah satu produk dari campuran. Reaksi antara minyak (trigliserida) dan alkohol disebut transesterifikasi. Alkohol direaksikan dengan ester untuk menghasilkan ester baru, sehingga terjadi pemecahan senyawa trigliserida untuk mengadakan migrasi gugus alkil antar ester. Ester baru yang dihasilkan disebut dengan biodiesel (Widyastuti, 2007). Berikut adalah mekanisme reaksi umum trigliserida dengan metanol :



Keterangan : R1, R2, R3 adalah asam lemak jenuh dan tak jenuh dari rantai karbon.

Proses transesterifikasi salah satunya dengan melarutkan sampel pada diklorometana dan pemanasan pada 50⁰ C dengan sodium metoksida dalam metanol selama 15 menit. Kemudian diasamkan dengan asam asetat glasial dan dielusi dengan air, metil ester asam lemak diekstraksi dengan dietil eter. Ekstrak dicuci dengan larutan sodium bikarbonat (20 g l⁻¹) dan dikeringkan. Asam lemak bebas tidak dimetilasi dengan prosedur ini (Holme *et al.*, 1993). Cara lain yang lebih sederhana yaitu mereaksikan sampel dengan BF₃-metanol. Kemudian dipanaskan sambil digoyang-goyang beberapa saat. Metil ester diekstraksi dengan heksana (Sutarno dkk., 2004).

7. Gas Chromatography – Mass Spectroscopy (GC-MS)

Perkembangan teknologi instrumentasi menghasilkan alat yang merupakan gabungan dari dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling melengkapi, yaitu gabungan kromatografi gas dan spektrofotometri massa (GC-MS). Pada alat GC-MS ini, kedua alat dihubungkan dengan satu interfase. GC berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam

commit to user

sampel, sedangkan MS berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem GC (Sastrohamidjojo, 2005).

GC-MS dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Identifikasi komponen dengan analisa kualitatif, dapat dilakukan dengan membandingkan kromatogram dengan senyawa-senyawa referensi standar. Sedangkan analisa kuantitatif dalam GC-MS yaitu menentukan jumlah persen dari komponen-komponen yang terpisah dari suatu komponen, dapat dihitung dari luas puncak kromatogram (Agusta, 2000).

Pada GC-MS, cuplikan diinjeksikan ke dalam injektor. Aliran gas dari gas pengangkut akan membawa cuplikan yang telah teruapkan masuk ke dalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen dari cuplikan (McNair, 1988). Komponen-komponen yang telah terpisah kemudian akan ditembak dengan elektron sehingga akan terfragmentasi menjadi ion-ion positif dengan perbandingan massa dan muatan (m/z) tertentu (Sastrohamidjojo, 2005).

Instrumen GC-MS terdiri dari gas pengangkut (*gas carrier*), pengatur aliran dan pengatur tekanan, tempat injeksi, kolom dan detektor. Gas pengangkut yang sering dipakai adalah H_2 , N_2 , Ar dan He. Gas ini berfungsi sebagai fase gerak, membawa cuplikan yang telah teruapkan untuk masuk ke dalam kolom. Gas pengangkut yang digunakan harus memenuhi persyaratan dan dasar pemilihannya antara lain: sesuai dengan detektor, inert atau tidak bereaksi dengan sampel, pelarut dan material dalam kolom, murni dan mudah dipengaruhi serta murah (Sastrohamidjojo, 2005). Suatu pengatur aliran dan pengatur tekanan diperlukan untuk mengalirkan sampel masuk ke dalam kolom GC-MS dengan kecepatan dan tekanan yang sesuai.

Tempat injeksi pada GC-MS selalu dipanaskan. Dalam kebanyakan alat, suhu dari tempat injeksi dapat diatur. Sampel dimasukkan ke dalam kolom dengan cara menginjeksikan melalui tempat injeksi. Biasanya dilakukan dengan pertolongan jarum injeksi yang sering disebut *a gas tight syringe*. Kolom merupakan jantung dari kromatografi gas. Bentuk dari kolom dapat lurus, bengkok dan spiral/kumparan (Sastrohamidjojo, 2005).

Pada detektor komponen-komponen sampel yang telah terpisah dideteksi. Detektor yang baik memiliki sensitifitas tinggi, memiliki respon linier yang lebar, bersifat nondestruktif, dan memiliki respon yang sama terhadap semua jenis senyawa. Saat ini ada tiga jenis detektor yang dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa organik yaitu *Flame Ionization Detector* (FID), *Thermal Conductivity Detector* (TCD), dan *Mass Spectroscopy* (MS).

B. Kerangka Pemikiran

Sampel *Pandanus conoideus* L. selama ini yang banyak diteliti adalah sari buahnya yang diambil dengan proses direbus. Hasilnya diketahui bahwa banyak mengandung senyawa-senyawa antioksidan yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Sedangkan sampel yang diambil dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol belum diteliti sebelumnya dan belum ditemukan literatur yang menginformasikan mengenai komponen senyawa yang terkandung di dalam buah merah yang diambil dengan ekstraksi etanol. Etanol dipilih sebagai pelarut karena memiliki kepolaran yang tinggi dan dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder pada suhu kamar. Selain itu jika dilihat dari sifat ketoksikannya, etanol lebih rendah dibanding metanol.

Proses isolasi golongan metabolit sekunder dilakukan dengan ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut petroleum eter dan sisa hasil soxhlet dimaserasi menggunakan pelarut etanol. Dipilih dua metode tersebut secara bertahap karena hasil ekstraksi akan berbeda dengan apabila hanya menggunakan satu metode. Tujuan dilakukan ekstraksi soxhlet dahulu adalah untuk mengisolasi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat nonpolar. Sehingga pada proses maserasi senyawa-senyawa yang terisolasi bersifat lebih polar.

Ekstrak etanol buah merah dilakukan identifikasi awal dengan skrining fitokimia uji KLT. Skrining fitokimia merupakan langkah awal yang dapat membantu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Sehingga dari hasil skrining fitokimia ini nantinya akan dapat dijadikan dasar metode pemisahan selanjutnya.

Pemisahan komponen-komponen senyawa buah merah dapat dilakukan dengan kromatografi kolom. Kompleksitas campuran senyawa yang akan dipisahkan mempengaruhi pemilihan jenis kromatografi kolom yang akan digunakan. Kromatografi kolom *flash* dipilih karena dapat digunakan untuk pemisahan campuran senyawa yang membutuhkan sampel tidak terlalu banyak. Sistem pelarut yang akan digunakan dalam kromatografi kolom ditentukan terlebih dahulu dengan KLT. Fraksi terbanyak yang mengandung berat dominan kemudian diidentifikasi dengan GC-MS. Dipilih fraksi terbanyak karena mempunyai temperatur yang dapat dijangkau oleh temperatur GC-MS. Sehingga apabila dianalisis dengan GC-MS senyawa yang ada dalam fraksi tersebut dapat membentuk gas. Analisis luas puncak kromatogram GC-MS menunjukkan konsentrasi relatif (%) komponen senyawa sedangkan jumlah puncak kromatogram menunjukkan jumlah komponen senyawa. Identifikasi senyawa dengan membandingkan pola fragmentasi spektra massa senyawa dengan pola fragmentasi senyawa referensi standar.

C. Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas dapat diambil hipotesis yaitu metode maserasi dengan pelarut etanol dapat mengisolasi senyawa golongan metabolit sekunder. Metode skrining fitokimia dengan uji KLT diperoleh informasi golongan senyawa kimia ekstrak etanol buah merah. Identifikasi struktur senyawa kimia metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol buah merah dapat dilakukan dengan analisis data GC-MS.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen di laboratorium kimia. Untuk mengisolasi komponen polar buah merah dilakukan metode ekstraksi dengan cara mengisolasi komponen non polarnya terlebih dahulu untuk mempermudah metode pemisahan. Isolasi komponen non polarnya dilakukan dengan cara ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut petroleum eter. Residu soxhlet tersebut di maserasi menggunakan pelarut etanol untuk mengisolasi komponen polarnya. Identifikasi golongan senyawa dalam ekstrak etanol dilakukan dengan metode skrining fitokimia menggunakan uji warna pada plat KLT. Pemisahan komponen polar ekstrak etanol dilakukan dengan metode kromatografi kolom *flash*. Untuk mengidentifikasi senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi, fraksi dominan hasil pemisahan diidentifikasi menggunakan GC-MS.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Sublab Kimia Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta. Sedangkan identifikasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Waktu kegiatan penelitian berlangsung pada bulan Juni 2009 – Mei 2010.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah sebagai berikut :

- a. Satu set alat Soxhlet
- b. Satu set alat *vacuum rotary evaporator*
- c. GC-MS QP2010S Shimadzu

- d. Satu set alat kromatografi kolom *flash*
- e. *TLC Chamber*
- f. Lampu UV 254 nm dan 365 nm
- g. *Hot plate*
- h. Timbangan elektronik
- i. Peralatan gelas

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- | | |
|--|-----------------------------------|
| a. Buah merah dari Papua | m. Etanol teknis |
| b. Silika gel | n. H_2SO_4 p.a |
| c. Petroleum eter p.a | o. FeCl_3 p.a |
| d. <i>n</i> -heksan teknis | p. AlCl_3 p.a |
| e. Etil asetat teknis | q. Benzene p.a |
| f. Asam formiat p.a | r. KOH p.a |
| g. Metanol p.a | s. Kertas saring |
| h. Asam asetat glasial p.a | t. Mikrofilter 0,45 μm |
| i. Plat KLT silika gel GF ₂₅₄ | u. Aquades |
| j. Kloroform p.a | v. Aseton teknis |
| k. Dietil eter p.a | w. Rhodamin B |
| l. Toluena p.a | |

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Sampel Buah Merah

Empulur atau jantung yang terdapat pada bagian tengah buah merah dibuang lebih dahulu kemudian buah merah yang menempel pada kulit empulur dipisahkan satu demi satu. Daging buahnya yang menempel pada bagian luar bijinya di ambil.

2. Ekstraksi

Sebanyak 30 g buah merah diekstraksi soxhlet dengan 150 ml petroleum eter selama 7 jam dengan kisaran suhu 40-60 °C. Proses sokhlet diakhiri apabila filtrat/pelarut berwarna jernih (setelah terjadi 16-20 sirkulasi).

Residu dikeringkan (25,9 g) kemudian dimaserasi dengan \pm 125 ml etanol. Campuran dibiarkan selama 24 jam sambil diaduk sesekali, diletakan di tempat yang terlindung cahaya pada suhu kamar. Cairan hasil maserasi kemudian difiltrasi. Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Ketiga hasil maserasi digabung dan diuapkan pelarutnya dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C.

3. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia uji KLT (Wagner, 1983) terhadap ekstrak etanol, sebagai berikut;

a. Saponin

Ekstrak etanol ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol (95:5). Plat dikeringkan kemudian disemprot dengan pereaksi anisaldehyd asam sulfat dan diamati pada cahaya tampak. Saponin akan memberikan warna biru violet jika diamati pada cahaya tampak.

b. Kumarin

Uji kumarin menggunakan penyempnot KOH 5% etanolik sebagai deteksi dengan larutan pengembang dietil eter : toluen (1:1) dijenuhkan dengan asam asetat 10%. Uji positif terhadap kumarin ditunjukkan dengan adanya warna biru muda atau sawo matang jika diamati pada sinar UV₃₆₅ nm dan berfluoresensi pada UV₂₅₄ nm. Deteksi dengan KOH 5% etanolik menunjukkan fluoresensi biru.

c. Glikosida Senyawa fenolik

Ekstrak etanol ditotolkan pada plat silika gel GF₂₅₄. Elusi dilakukan dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (100:13,5:10). Plat dikeringkan dan disemprot dengan pereaksi besi (III) klorida. Kemudian plat diamati pada cahaya tampak dan UV₂₅₄ nm. Senyawa fenolik akan memberikan warna hijau-kuning merah jika diamati pada cahaya tampak.

d. Flavonoid

Ekstrak etanol ditotolkan pada plat Silika gel GF₂₅₄. Elusi dilakukan dengan fase gerak etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:27). Plat dikeringkan kemudian diamati dibawah sinar UV₂₅₄ nm. Uji positif terhadap flavonoid akan memberikan warna biru kehitaman dengan latar kuning.

e. Antrakuinon

Ekstrak etanol ditotolkan pada plat Silika gel GF₂₅₄. Elusi dilakukan dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (100:13,5:10). Plat dikeringkan kemudian disemprot dengan pereaksi KOH 5% etanolik dan diamati pada sinar UV₂₅₄ nm. Antrakuinon memberikan warna kuning dan coklat kuning. Deteksi dengan KOH 5% etanolik memberikan warna merah, ungu, hijau atau lembayung.

f. Asam lemak

Ekstrak etanol ditotolkan pada plat Silika gel GF₂₅₄. Elusi dilakukan dengan fase gerak benzene : dietil eter (19:1). Plat dikeringkan kemudian disemprot dengan pereaksi Rhodamin B dalam etanol dan diamati dibawah sinar UV₂₅₄ nm. Bercak berwarna ungu pada latar merah muda dibawah sinar UV menunjukkan adanya asam lemak.

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sistem eluen yang akan digunakan dalam kromatografi kolom *flash* ditentukan terlebih dahulu dengan KLT. Penentuan sistem eluen dengan KLT dilakukan dengan metode *trial and error*. Fase gerak yang digunakan adalah *n*-heksana dan etil asetat yang divariasi tingkat kepolarannya dengan memvariasi perbandingan volume hingga diperoleh perbandingan volume yang memberikan pemisahan paling baik.

Sampel ekstrak etanol ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan berbagai variasi perbandingan *n*-heksana : etil asetat (v/v). Variasi terdiri dari perbandingan *n*-heksana 100%, etil asetat 100%, *n*-heksana-etil asetat (5:95 ; 10:90 ; 15:85 ; 20:80 ; 25:75 ; 30:70 ; 70:30 ; 75:25 ; 80:20 ; 85:5 ; 90:10 ; 95:5). Spot hasil elusi dilihat dalam lampu UV pada panjang gelombang 254 nm.

5. Kromatografi Kolom *Flash*

Kromatografi kolom *flash* dilakukan dengan eluen *n*-heksan : etil asetat yang memberikan profil KLT paling baik yaitu perbandingan 70:30 (v/v). Fase diamnya berupa silika gel *for column chromatography* sebanyak 30 g. Kolom kromatografi *flash* yang dipakai berdiameter 2 cm. Silika gel dibuat kolom dengan cara basah/dibuat bubur dengan pelarut *n*-heksan dan etil asetat. Kolom tersebut dikondisikan selama 1x24 jam sebelum digunakan untuk elusi agar adsorben dalam kolom tersebut memadat.

Kolom yang sudah dikondisi sebelum digunakan, krannya dibuka dan pelarut dikeluarkan sampai tersisa sekitar 3 ml diatas batas atas adsorben. Selanjutnya sampel sebanyak 1 g dimasukan ke dalam kolom dan dielusi dengan menggunakan eluen hasil KLT. Proses elusi dilakukan dengan pelarut yang diperoleh dari KLT menggunakan metode gradien. Elusi dimulai dari pelarut yang lebih polar kemudian diturunkan kepolarannya untuk menyempurnakan proses elusi sampel. Setiap pengelusian, kolom ditekan dengan *flash*. Eluat ditampung dalam 54 vial, dengan 2-3 ml eluat per masing- masing vial. Kemudian hasilnya diuapkan dari pelarutnya dengan cara diangin-anginkan dan ditimbang untuk mengetahui beratnya. Dari masing-masing vial tersebut dilakukan uji KLT untuk mengetahui profil pemisahannya. Fraksi-fraksi yang mempunyai harga R_f identik digabungkan menjadi satu. Fraksi dominan hasil kromatografi kolom *flash* kemudian diidentifikasi dengan GC-MS.

6. Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS)

Kondisi operasi alat GC-MS ditunjukkan pada Lampiran 2 dan 3.

E. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian yaitu golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol dari hasil skrining fitokimia uji KLT. Identifikasi dengan GC-MS digunakan untuk memperkirakan komponen senyawa buah merah. Dari kromatogram GC-MS diperoleh jumlah komponen senyawa dan persen konsentrasi relatif masing-masing komponen dalam sampel. Prosentase area relatif masing-masing kompoen digunakan untuk

menghitung kandungan masing-masing komponen senyawa dalam buah merah. Pola fragmentasi spektra massa instrumen GC-MS dibandingkan dengan spektra massa spektra *reference* dari penelusuran *library* untuk mengidentifikasi komponen senyawa.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Persiapan Sampel dan Ekstraksi Buah Merah

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah merah yang berasal dari Papua. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 30 g. Buah merah segar dipisahkan dari jantung atau empulurnya kemudian daging buah yang menempel pada bagian luar bijinya diambil. Daging buah merah kemudian diekstraksi untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya.

Ekstraksi soxhlet 30 g buah merah dengan 150 mL petroleum eter menghasilkan ekstrak berwarna coklat kemerahan. Ekstraksi soxhlet dengan menggunakan petroleum eter dilakukan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar. Soxhlet merupakan cara ekstraksi yang biasa digunakan untuk mengisolasi minyak dari biji dan buah.

Residu kering dari proses ekstraksi soxhlet mempunyai berat 25,9 g. Etanol sebanyak 125 mL digunakan untuk maserasi residu tersebut selama 1x24 jam. Pada saat pertengahan maserasi sampel diaduk untuk membantu mempercepat proses distribusi solven ke dalam jaringan tanaman sehingga senyawa yang terkandung dalam jaringan tanaman dapat terekstrak sempurna. Maserasi diulang 3 kali yaitu setelah disaring residunya direndam lagi dengan 125 mL etanol kemudian disaring lagi begitu seterusnya sampai 3 kali pengulangan. Tujuannya agar meminimalkan golongan senyawa metabolit sekunder yang tertinggal. Setelah penyaringan yang terakhir dihasilkan filtrat berwarna merah kehitaman sebanyak 325 mL. Untuk memperoleh ekstrak kental, filtrat dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada temperatur 40 °C. Hasilnya diperoleh ekstrak kental berminyak berwarna merah kehitaman sebanyak 6,90 g dengan rendemen 26,59%. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang ada dalam ekstrak etanol buah merah yang diperoleh maka dilakukan identifikasi dengan skrining fitokimia.

commit to user

B. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dengan Skrining Fitokimia

Komponen yang terdapat pada ekstrak etanol dianalisa golongan senyawanya dengan metode skrining fitokimia menggunakan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol adalah uji KLT terhadap senyawa saponin, kumarin, glikosida senyawa fenolik, flavonoid dan antrakuinon. Hasil UJI KLT dari ekstrak etanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol Buah Merah

Kandungan Senyawa	Hasil Uji KLT					Kesimpulan
	R _f	Sinar Tampak	Referensi	UV ₂₅₄ nm	Referensi	
Saponin	0,83	Kuning kecoklatan	Biru violet			–
Kumarin	0,80	Sawo matang	Biru muda atau sawo matang	berflouresensi	berflouresensi	+
Glikosida Senyawa Fenolik	0,89	Kuning-orange kecoklatan	Hijau-kuning merah	Hijau	Hijau	+
Flavonoid	0,84	Orange kemerahan	Kuning	Biru latar ungu	Biru latar kuning	–
Antrakuinon	0,95	Orange	Merah	Kuning kehijauan	merah, ungu, hijau atau lembayung	+
Asam lemak	0,16; 0,62; 0,82			Ungu latar merah muda	Ungu	+

Keterangan : (+) : Ada golongan senyawa kimia

(-) : Tidak ada golongan senyawa kimia

Menurut Budi (2005), komponen utama dari sari buah merah adalah asam lemak. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan profil spot asam lemak lebih dominan dari profil spot senyawa lainnya. Uji KLT asam lemak menggunakan penyemprot 0,5% Rhodamin B dalam etanol dan pengembang benzene : dietil eter (19 : 1). Semua jenis asam lemak dapat dideteksi dengan Rhodamin B (Harborne, 1987 ; Robinson, 1991). Penyemprotan dengan 0,5% Rhodamin B dalam etanol menghasilkan 3 spot berwarna ungu dengan R_f spot I 0,16 ; spot II 0,62; spot III 0,82 pada latar belakang merah muda di bawah sinar UV₂₅₄ nm (Tabel 1). Dengan demikian perlu dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom untuk

memisahkan asam lemak dari komponen senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak etanol. Sedangkan senyawa yang lain tidak dianalisis karena beratnya tidak mencukupi untuk dilakukan dianalisis lebih lanjut.

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol buah merah jika dibandingkan dengan kandungan yang ada dalam sari buah merah hasilnya berbeda. Hasil uji di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah merah mengandung golongan senyawa kumarin, glikosida senyawa fenolik, antrakuinon dan asam lemak. Ada beberapa golongan senyawa yang sama dengan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol biji buah merah yang telah dilakukan Sundari dan Septyaningsih (2010). Pada ekstrak etanol biji buah merah mengandung glikosida senyawa fenolik, antrakuinon dan asam lemak. Ekstrak etanol buah merah mengandung golongan senyawa asam lemak, steroid/terpenoid, karotenoid, minyak atsiri, glikosida jantung, antrakuinon, flavonoid dan kumarin (Marliyana dkk., 2009). Sedangkan senyawa yang terkandung dalam sari buah merah adalah asam lemak, karotenoid, betakaroten dan tokoferol. Hal ini menunjukkan ada senyawa dalam ekstrak etanol yang belum pernah ditemukan dalam sari buah merah yaitu kumarin, antrakuinon dan glikosida senyawa fenolik.

C. Pemisahan Komponen Senyawa dalam Ekstrak Etanol Buah Merah

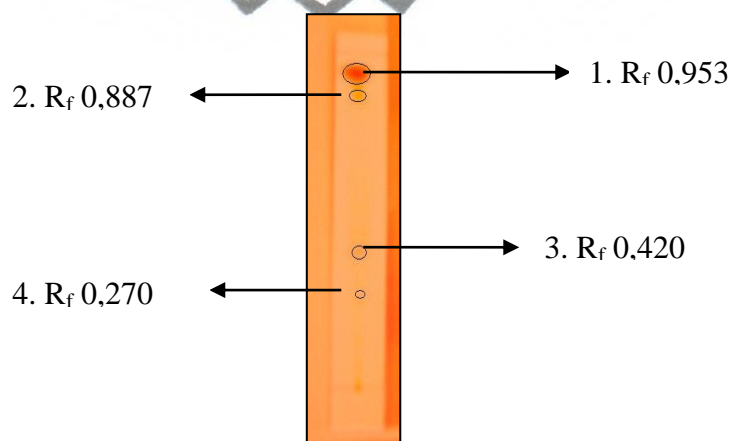
1. Penentuan Sistem Eluen dengan KLT

Penentuan sistem eluen dengan KLT bertujuan untuk mencari sistem eluen yang mampu memberikan pemisahan yang paling baik dan sekaligus untuk mengetahui profil pemisahannya. Profil pemisahan memberikan informasi mengenai kompleksitas senyawa yang akan dipisahkan. Jika campuran senyawa yang dipisahkan sederhana maka eluen dalam KLT dapat digunakan sebagai eluen dalam kromatografi kolom. Penentuan sistem eluen dengan KLT dilakukan dengan metode *trial and error*. Fase gerak yang digunakan adalah *n*-heksana dan etil asetat yang divariasi tingkat kepolarannya dengan memvariasi perbandingan volume hingga diperoleh perbandingan volume yang memberikan pemisahan paling baik. Campuran pelarut *n*-heksana dan etil asetat merupakan sistem eluen

universal yang sering direkomendasikan sebagai fase gerak dalam kromatografi karena mudah diuapkan dan mudah mengatur tingkat kepolaran eluen.

KLT ekstrak etanol buah merah menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (v/v) dengan berbagai variasi perbandingan. Variasi terdiri dari perbandingan *n*-heksana 100%, etil asetat 100%, *n*-heksana-etil asetat (5:95 ; 10:90 ; 15:85 ; 20:80 ; 25:75 ; 30:70 ; 70:30 ; 75:25 ; 80:20 ; 85:5 ; 90:10 ; 95:5). Spot hasil elusi dilihat dalam lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm.

Hasil pemisahan dengan perbandingan pelarut 70:30 (v/v) menunjukkan adanya 4 spot berwarna merah (Gambar 3). Spot tersebut memiliki R_f 0,953 ; 0,887 ; 0,420 dan 0,270. Eluen ini jika diaplikasikan sebagai fase gerak dalam kromatografi kolom maka kemungkinan spot 1 dan 2 memisah dari spot 3 dan 4. Menurut Still (1978), pemilihan sistem eluen dengan KLT sebaiknya harus memiliki ΔR_f 0,15-0,20. Sistem eluen ini memiliki ΔR_f 0,15 sehingga sistem eluen ini dapat digunakan untuk pemisahan kromatografi kolom *flash*. Jika eluen 70:30 diaplikasikan dalam kromatografi kolom *flash*, spot 1 dan 2 akan terelusi bersama dengan sistem eluen ini, sedangkan spot 3 dan 4 yang bersifat lebih polar akan tertinggal dalam fase diam. Untuk mengelusi spot 3 dan 4 diperlukan eluen yang lebih polar yaitu etil asetat 100%.



Gambar 3. Profil KLT ekstrak etanol eluen *n*-heksana : etil asetat (70:30)

Profil KLT dengan eluen *n*-heksana-etil asetat 70:30 menunjukkan bahwa campuran senyawa dalam ekstrak etanol buah merah setidaknya terdiri dari 4 senyawa. Campuran senyawa dalam ekstrak etanol buah merah dengan demikian

dapat digunakan elusi sistem isokratik dalam kromatografi kolom *flash*. Fase gerak yang digunakan adalah *n*-heksana-etil asetat dengan perbandingan 70:30 (v/v).

2. Kromatografi Kolom *Flash*

Kromatografi kolom *flash* merupakan kromatografi dengan tekanan rendah yang digunakan untuk mempercepat elusi bahan pelarut melalui suatu ruangan atau kolom. Pengisian kolom *flash* dilakukan secara *packing* basah yaitu adsorben sebelum dimasukkan ke dalam kolom dicampur terlebih dulu dengan solven. Jumlah adsorben yang digunakan tergantung pada tingkat kesulitan pemisahan serta jumlah sampel yang akan dipisahkan. Untuk pemisahan campuran yang sederhana, dapat digunakan rasio perbandingan 30 : 1 (Still, 1978). Fase diamnya berupa silika gel *for column chromatography* sebanyak 30 g dan sampel yang digunakan sebanyak 1 g. Fase gerak yang digunakan berupa campuran *n*-heksan dan etil asetat. Kolom kromatografi *flash* yang dipakai berdiameter 2 cm dan panjang 19 cm (Gambar 4). Kolom tersebut sebelum dipakai, dikondisikan selama 1x24 jam agar adsorben dalam kolom tersebut memadat kemudian sampel dielusikan dengan sistem eluennya.

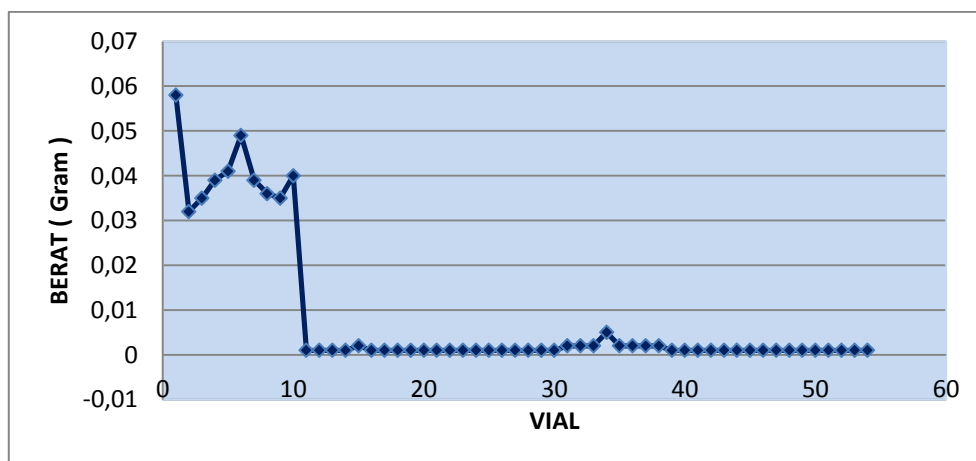


Gambar 4. Kromatografi Kolom *Flash*

Proses elusi dilakukan dengan menggunakan satu sistem eluen yaitu *n*-heksana-etil asetat 70:30 (v/v) hasil KLT. Hasil eluat ditampung pada 54 vial. Masing-masing vial berisi 2-3 ml eluat. Hasil tampungan menunjukkan pola

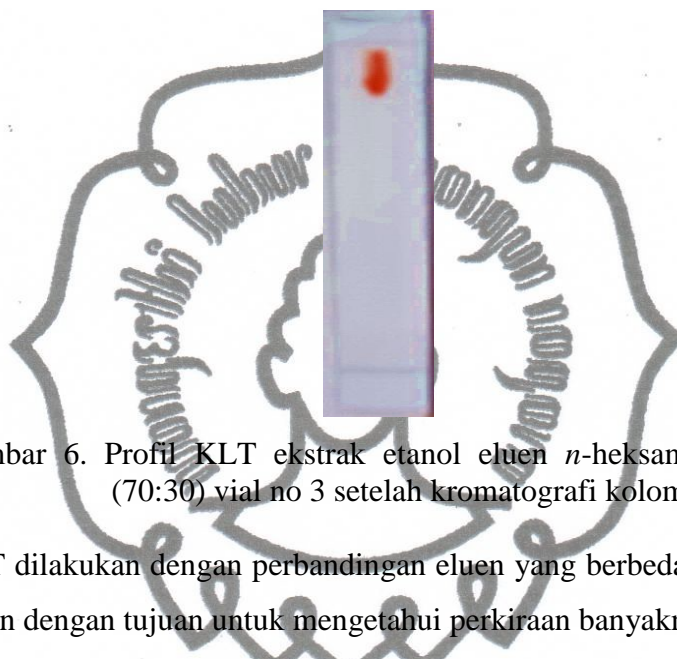
warna yang teratur. Hal ini dilihat dari eluat yang dihasilkan awalnya berwarna kuning dan selanjutnya warna kuningnya menjadi kuning kemerahan. Namun setelah vial ke-9 warna kuning kemerahan menjadi kuning lagi. Warna kuning tersebut berangsur-angsur memudar sampai jernih hingga vial ke-54. Kemudian dari masing-masing vial yang berisi eluat tersebut diuapkan pelarutnya. Setelah itu ditimbang untuk mengetahui berat masing-masing fraksi dalam vial. Dari 1 g sampel yang digunakan, hanya diperoleh 0,467 g (46,7%) yang terelusi. Sisanya, sampel masih terjebak dalam kolom atau masih tetap berada di atas permukaan adsorben. Hal ini dapat terjadi karena pemilihan sistem eluen *n*-heksan-etil asetat (70:30) belum sepenuhnya tepat. Sistem eluen tersebut tidak dapat mengelusi seluruh senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol. Hal ini diperkuat dengan masih ada sisa spot pekat yang tidak ikut terelusi pada lokasi penotolan pertama kali pada plat KLT.

Fraksi-fraksi yang tertampung dalam vial ditimbang satu per satu untuk mengetahui beratnya. Dari berat tersebut dibuat grafik perubahan massa yang dihasilkan dari pemisahan dengan kolom kromatografi *flash* (Gambar 6). Dari grafik dibawah dapat diambil kesimpulan bahwa dari proses kromatografi kolom *flash* dapat memisahkan senyawa-senyawa yang bersifat lebih polar dari senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar. Ini dapat dilihat dengan membandingkan hasil KLT sistem eluen (Gambar 3) dengan grafik (Gambar 5). Spot 1 dan 2 dapat terpisah sedangkan spot 3 dan 4 belum terpisah.



Gambar 5. Perubahan massa yang dihasilkan dari pemisahan dengan kromatografi kolom *flash*

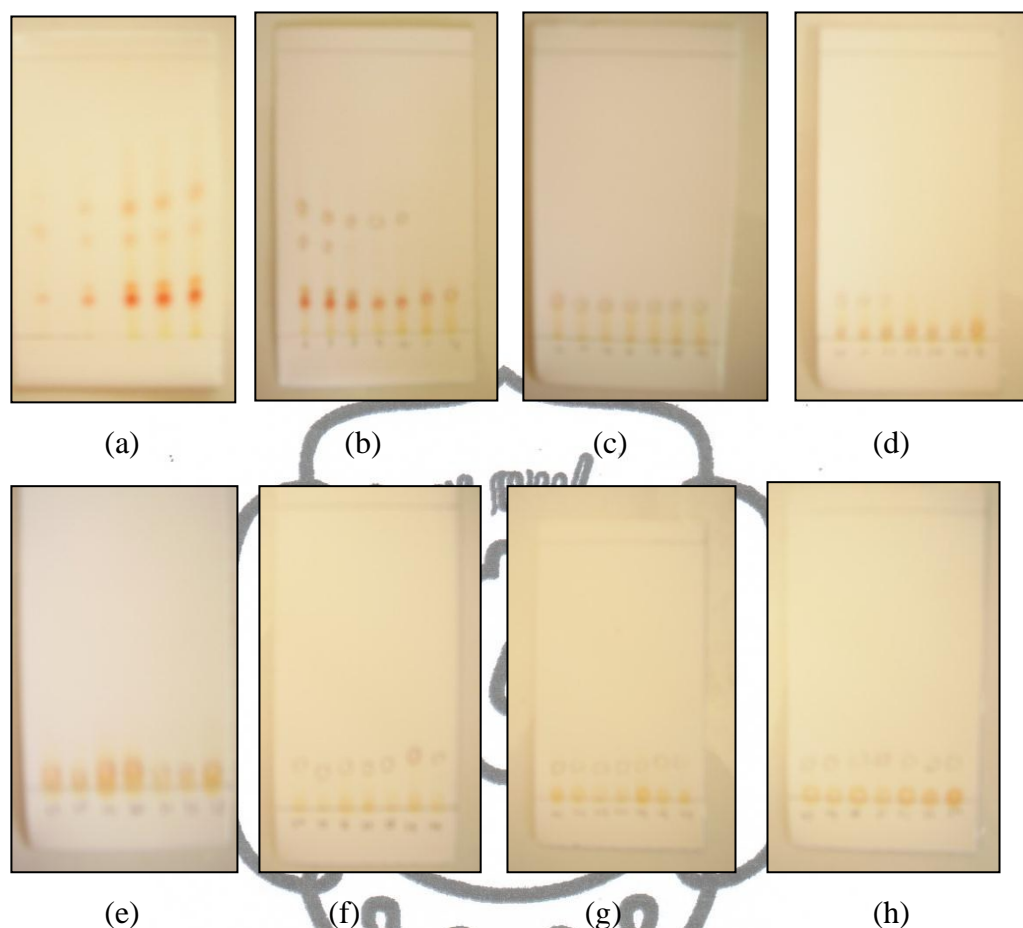
Masing-masing fraksi dalam vial untuk mengetahui profil pemisahannya maka dilakukan KLT satu per satu. Pertama dilakukan KLT menggunakan eluen yang digunakan untuk kromatografi kolom *flash* yaitu *n*-heksana dan etil asetat (70:30). Hasilnya diperoleh 1 spot berwarna merah (Gambar 6). Profil yang sama dihasilkan oleh vial 1 sampai 5. Ini berarti spot 1 telah berhasil dipisahkan dengan spot yang lainnya.



Gambar 6. Profil KLT ekstrak etanol eluen *n*-heksana dan etil asetat (70:30) vial no 3 setelah kromatografi kolom *flash*

KLT dilakukan dengan perbandingan eluen yang berbeda yaitu 90:10. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perkiraan banyaknya senyawa yang ada dalam ekstrak etanol buah merah. Hasilnya profil pemisahan tersebut terpisah dan membentuk spot yang teratur. KLT pada vial no 1 terdapat 2 spot, KLT pada vial no 2 sampai 8 terdapat 4 spot, KLT pada vial no 9 dan 10 terdapat 2 spot. Sedangkan KLT pada vial no 11 sampai 54 hanya terdapat 1 spot. Profil pemisahan tersebut dapat di lihat pada Gambar 7.

Fraksi-fraksi digabungkan berdasarkan profil pemisahan (spot yang dihasilkan) dan R_f yang dihasilkan dari spot tersebut. Eluat-eluat yang mempunyai harga R_f identik digabung menjadi satu. Dari 54 vial tersebut setelah digabung dihasilkan 4 fraksi (Tabel 2). Setelah ditimbang dan digabung keempat fraksi tersebut diKLT lagi dalam satu plat. Hasilnya diperoleh spot yang berbeda-beda dari tiap fraksi (Gambar 8).



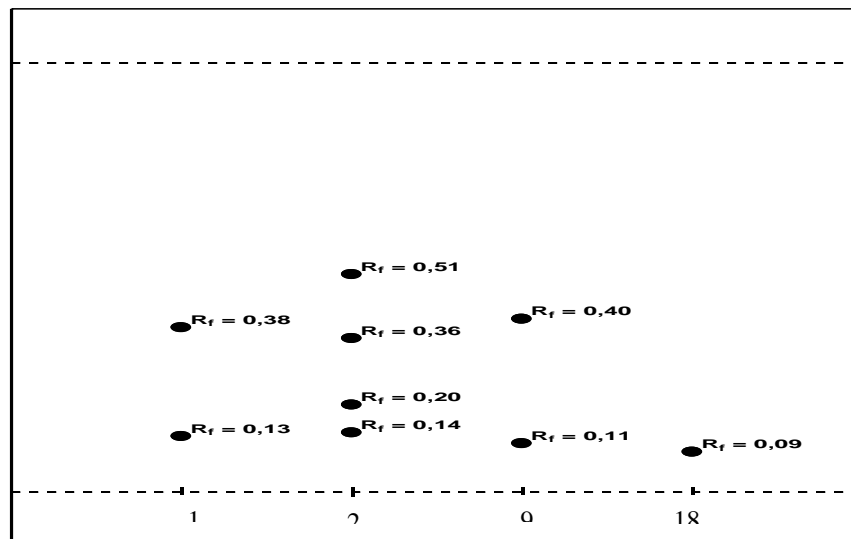
Gambar 7. (a) profil pemisahan vial 1-5, (b) profil pemisahan vial 6-12, (c) profil pemisahan vial 13-19, (d) profil pemisahan vial 20-26, (e) profil pemisahan vial 27-33, (f) profil pemisahan vial 34-40, (g) profil pemisahan vial 41-47, (h) profil pemisahan vial 48-54

Tabel 2. Harga R_f , warna dan berat tiap fraksi

Fraksi	No vial	R_f	Warna	Berat (gram)
I	1	0,13;0,38	Kuning	0,058
II	2-8	0,14;0,2;0,36;0,51	Merah kekuningan	0,272
III	9-10	0,11;0,40	Merah kekuningan	0,075
IV	11-54	0,09	Kuning	0,062

Fraksi II yang mempunyai berat dominan kemudian dideteksi dengan rhodamin B untuk mengetahui kandungan asam lemaknya. Hasil deteksi di bawah lampu UV 254 nm menunjukkan 4 spot tersebut adalah positif asam lemak. Fraksi

II kemudian dianalisis dengan GC-MS untuk mengetahui komponen-komponen senyawanya.



- Bentuk spot tidak sama dengan hasil sebenarnya

Gambar 8. Perbandingan R_f plat silika gel awal dengan R_f dari eluat

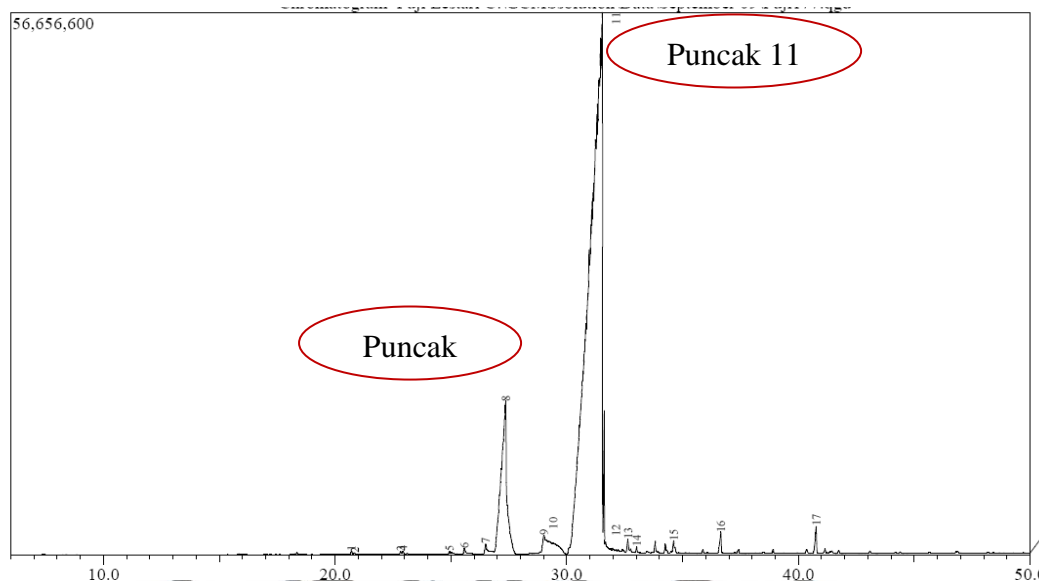
D. Identifikasi Komponen Senyawa Fraksi II dengan Analisis Data GC-MS

Data GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectroscopy*) digunakan untuk mengidentifikasi komponen senyawa yang terkandung dalam fraksi II dari ekstrak etanol buah merah. Luas area puncak kromatogram GC-MS menunjukkan konsentrasi relatif senyawa terhadap cuplikan yang teruapkan dalam pengoperasian GC-MS. Komponen utama dari fraksi II dibatasi hanya pada puncak yang memiliki prosentase luas area relatif diatas 5%. Sehingga puncak kromatogram yang memiliki % area relatif di bawah 5% dapat kita abaikan.

Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan pola fragmentasi spektra massa dengan pola fragmentasi spektra *reference*. Senyawa yang dipilih adalah senyawa hasil penelusuran pustaka yang memiliki SI (*Similarity Index*) lebih besar sama dengan 90 dan mempertimbangkan kesesuaian senyawa tersebut dengan komposisi serta sifat sampel asal. Sehingga hasil senyawa yang kemungkinan sifatnya tidak sesuai dengan sampel asal dapat kita abaikan.

Fraksi II tersebut tidak dilakukan esterifikasi menjadi turunannya untuk mengetahui asam lemak bebas yang terkandung dalam ekstrak etanol buah merah.

Kromatogram hasil pemisahan fraksi II dengan GC-MS (spesifikasi alat dan kondisi pengoperasian tercantum dalam Lampiran 2) ditunjukkan pada Gambar 9.



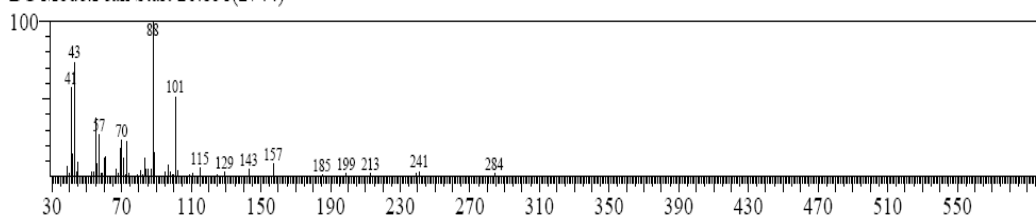
Gambar 9. Kromatogram GC-MS Fraksi Asam Lemak Ekstrak Etanol Buah Merah

Puncak **8** dan **11** memiliki prosentase luas area diatas 5%. Sedangkan 15 puncak yang lain memiliki prosentase luas area dibawah 5%, sehingga puncak tersebut diabaikan. Hasil prosentase luas area data GC-MS ditunjukkan pada Lampiran 4.

Puncak **8** dengan t_R 27,368 menit dan prosentase luas area puncak relatif 10,55% memiliki spektra massa seperti pada Gambar 10. Berdasarkan penelusuran *library*, spektra massa etil palmitat (etil heksadekanoat) memiliki indeks kemiripan 95 dengan spektra massa puncak **8**. Spektra massa senyawa **8** dapat dilihat pada Gambar 10.

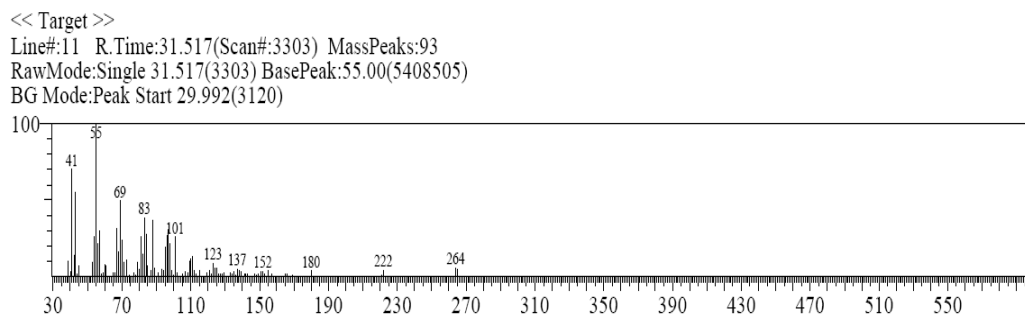
<< Target >>

Line#:8 R.Time:27.367(Scan#:2805) MassPeaks:53
RawMode:Single 27.367(2805) BasePeak:88.00(2432538)
BG Mode:Peak Start 26.858(2744)



Gambar 10. Spektra Massa Senyawa **8** (Etil Palmitat)

Puncak **11** dengan t_R 31,513 menit dan prosentase luas area puncak relatif 84,78% diperoleh spektra massa pada Gambar 11. Berdasarkan penelusuran *library* pola fragmentasi puncak **11** memiliki indeks kemiripan 91 dengan spektra massa dari senyawa etil oleat.



Gambar 11. Spektra Massa Senyawa **11** (Etil Oleat)

Asam lemak bebas dalam ekstrak etanol buah merah yang teridentifikasi oleh GC-MS adalah asam palmitat (10,55%) dan asam oleat (84,78%) yang keduanya teridentifikasi dalam bentuk etil ester (Tabel 3).

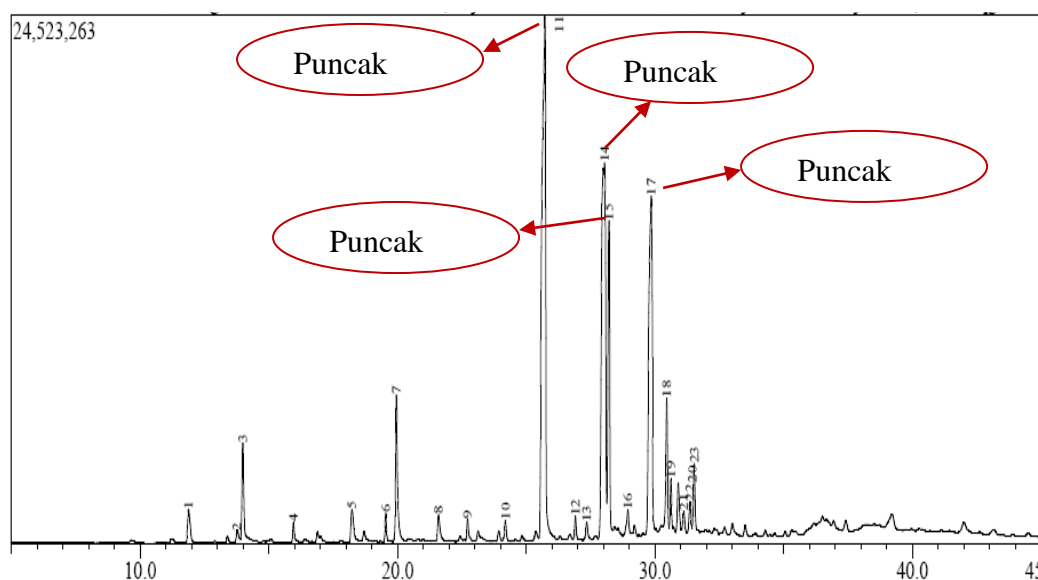
Puncak	t_R (menit)	% Area Relatif	Senyawa
8	27,368	10,55	Etil palmitat (asam heksadekanoat)
11	31,513	84,78	Etil oleat (asam 9-oktadekanoat)

Tabel 3. Hasil analisis data GC-MS fraksi II sebelum transesterifikasi

E. Identifikasi Komponen Senyawa Fraksi II dengan Analisis Data GC-MS setelah di Esterifikasi

Analisis skrining fitokimia uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah merah mengandung asam lemak. Maka dari itu sebelum dilakukan analisis dengan GC-MS fraksi II terlebih dahulu diesterifikasi menjadi derivatnya yaitu senyawa metil ester. Hal ini dilakukan karena asam lemak mempunyai titik didih yang relatif tinggi sehingga sulit untuk dipisahkan dalam pengoperasian GC-MS. Esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan fraksi II dengan BF_3 -metanol. Hasil esterifikasi yang berupa metil ester tersebut kemudian diinjeksikan dalam GC-MS.

Kromatogram hasil pemisahan fraksi asam lemak dengan GC-MS (spesifikasi alat dan kondisi pengoperasian tercantum dalam Lampiran 3) ditunjukkan pada Gambar 12. Profil kromatogram GC-MS fraksi II dari ekstrak etanol buah merah menunjukkan adanya 23 puncak kromatogram yang terpisah dengan baik. Puncak-puncak tersebut merefleksikan banyaknya komponen senyawa yang terdapat dalam fraksi II ekstrak etanol.



Gambar 12. Kromatogram GC-MS Fraksi II Ekstrak Etanol Buah Merah setelah Esterifikasi

Data identifikasi GC-MS fraksi II ekstrak etanol buah merah yang diesterifikasi memberikan hasil seperti Gambar 12. Ada 4 puncak yang mempunyai luas area puncak diatas 5%. Puncak tersebut adalah puncak **11**, **14**, **15** dan **17**. Sedangkan puncak yang lain memiliki prosentase luas area relatif dibawah 5%, sehingga puncak tersebut diabaikan. Hasil prosentase luas area data GC-MS ditunjukkan pada Lampiran 5.

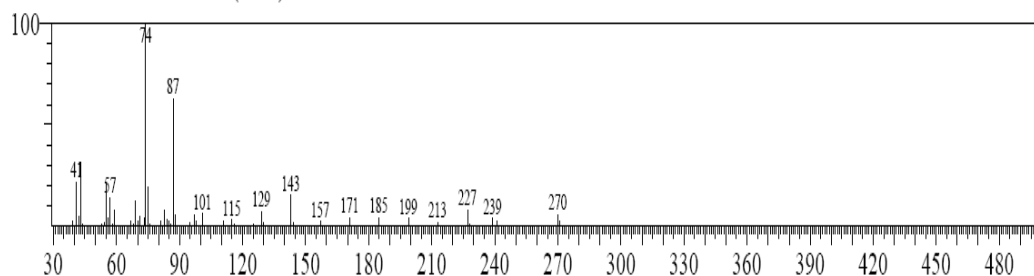
Puncak **11** dengan t_R 25,728 menit dan prosentase luas area puncak relatif 29,63% memiliki spektra massa seperti pada Gambar 13. Berdasarkan penelusuran *library*, spektra massa metil palmitat (metil heksadekanoat) memiliki indeks kemiripan 97 dengan spektra massa puncak **11**. Spektra massa senyawa **11** dapat dilihat pada Gambar 13.

<< Target >>

Line#:11 R.Time:25.725(Scan#:2608) Retention Index:\$TargetRetIndex\$ MassPeaks:51

RawMode:Single 25.725(2608) BasePeak:74.00(5216538)

BG Mode:Peak Start 25.492(2580)

Gambar 13. Spektra Massa Senyawa **11** (Metil Palmitat)

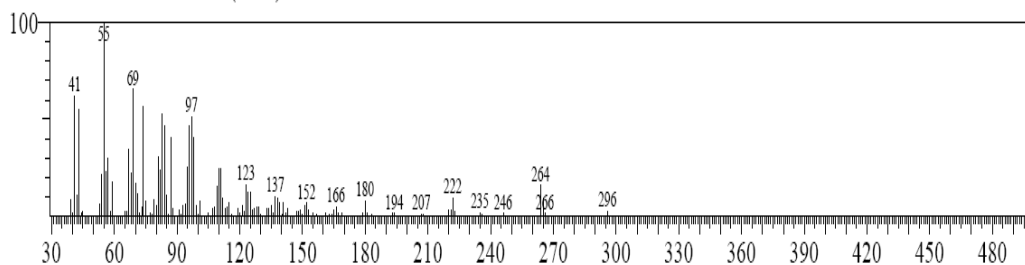
Puncak **14** dengan t_R 28,044 menit dan prosentase luas area puncak relatif 23,09% memiliki spektra massa seperti pada Gambar 14. Berdasarkan pola fragmentasi spektra massa puncak **14** memiliki pola fragmentasi yang mirip dengan pola fragmentasi senyawa metil oleat (metil 9-oktadekanoat) dengan SI 96. Spektra senyawa **11** ditunjukkan pada Gambar 14.

<< Target >>

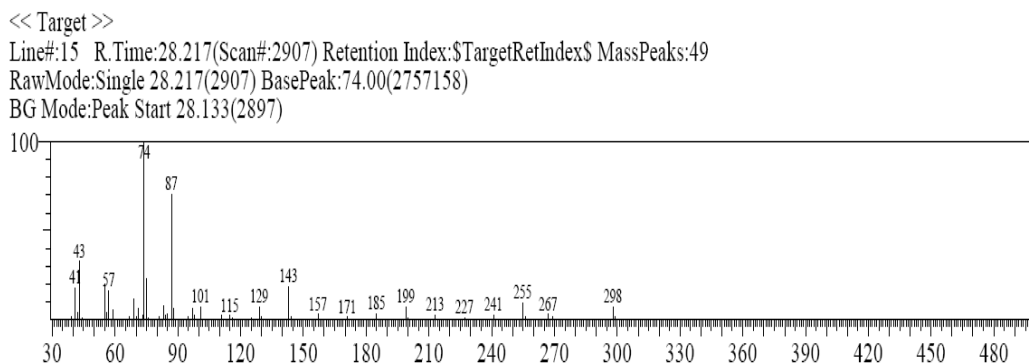
Line#:14 R.Time:28.042(Scan#:2886) Retention Index:\$TargetRetIndex\$ MassPeaks:117

RawMode:Single 28.042(2886) BasePeak:55.05(1261565)

BG Mode:Peak Start 27.792(2856)

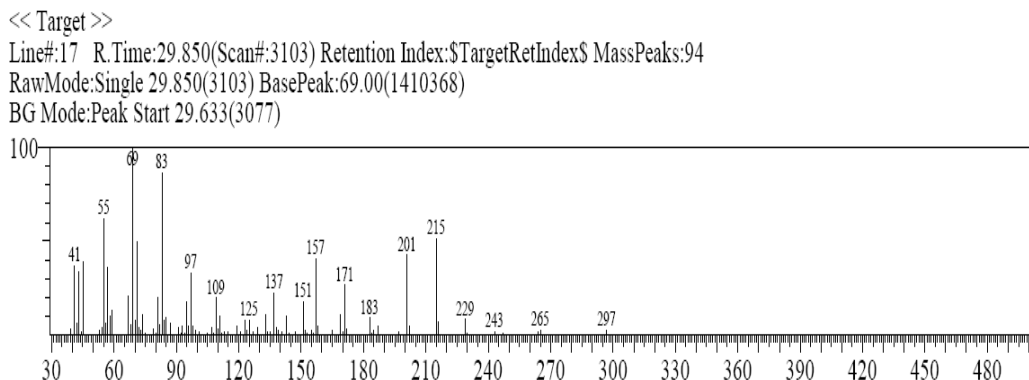
Gambar 14. Spektra Massa Senyawa **14** (Metil Oleat)

Puncak **15** dengan t_R 28,214 menit dan prosentase luas area puncak relatif 8,26% memiliki spektra massa seperti pada Gambar 15. Berdasarkan penelusuran *library*, spektra massa metil stearat (metil oktadekanoat) memiliki indeks kemiripan 96 dengan spektra massa puncak **15**. Spektra massa senyawa **15** dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Spektra Massa Senyawa **15** (Metil Stearat)

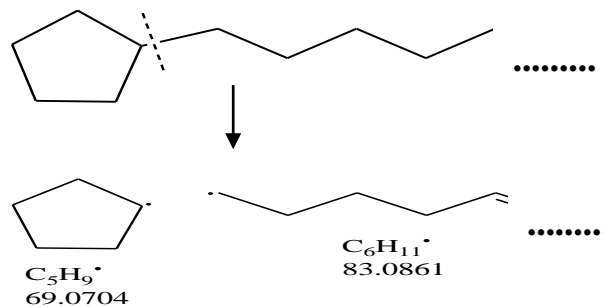
Senyawa pada puncak **17** dengan waktu retensi 29,851 dan prosentase luas area puncak relatif 16,84% memiliki spektra massa seperti pada Gambar 16. Berdasarkan penelusuran *library*, tidak ada senyawa asam lemak yang mempunyai spektra massa seperti senyawa pada puncak **17**. Jadi senyawa pada puncak **17** dianalisis dengan pola pemecahan fragmen-fragmennya.



Gambar 16. Spektra Massa Senyawa **17**

Senyawa pada puncak **17** apabila dilihat dari pola pemecahan fragmen-fragmennya senyawa ini diperkirakan adalah asam lemak tak jenuh yang mempunyai kerangka struktur terdiri dari struktur siklopentan dengan rantai alifatik. Pola pemecahan fragmen pada data MS dengan puncak dasar (*base peak*) terdapat pada m/z 69 menandakan struktur siklopentan. Puncak berikutnya menunjukkan rantai alifatik ditandai oleh lepasnya CH_2 (M-14). Pola pemecahan fragmen-fragmen tersebut dapat dilihat pada Gambar 17.

commit to user



Gambar 17. Pola Pemecahan Fragmen Puncak 17

Data GC-MS yang kedua menunjukkan bahwa senyawa yang dihasilkan berupa metil asam lemak yang merupakan hasil transesterifikasi. Dilihat dari prosentase luas area puncak relatif, asam lemak yang terbanyak adalah metil palmitat. Senyawa lain yang terdeteksi adalah metil oleat (23,09%), metil stearat (8,26%) dan senyawa baru yang belum pernah diketahui nama strukturnya yang diperkirakan berupa asam lemak tak jenuh yang mempunyai struktur siklopentan dengan rantai alifatik (Tabel 4).

Puncak	tR (menit)	% Area Relatif	Senyawa
11	25,728	29,63	Metil palmitat (asam heksadekanoat)
14	28,044	23,09	Metil oleat (asam 9-oktadekanoat)
15	28,214	8,26	Metil stearat (asam oktadekanoat)
17	29,851	16,84	Siklopentan dengan rantai alifatik

Tabel 4. Hasil analisis data GC-MS fraksi II sebelum transesterifikasi

Perbandingan data GC-MS sebelum dan sesudah estrifikasi menghasilkan data yang berbeda. Pada data GC-MS sebelum esterifikasi teridentifikasi 2 senyawa asam lemak bebas yaitu asam palmitat dan asam oleat, yang keduanya terdeteksi sebagai etil ester. Sedangkan data GC-MS setelah esterifikasi teridentifikasi 4 senyawa yang terdeteksi sebagai ester asam lemak. Senyawa tersebut yaitu metil oleat, metil palmitat, metil stearat dan senyawa yang diperkirakan asam lemak tak jenuh yang mempunyai struktur siklopentan dengan rantai alifatik.

Prosentase luas area relatif dari puncak-puncak kromatogram (Lampiran 5) selanjutnya digunakan untuk memperkirakan kandungan relatif masing-masing komponen asam lemak. Kandungan asam lemak total dalam ekstrak etanol buah merah sekitar 21,21%. Perkiraan komposisi senyawa dalam ekstrak etanol buah merah diperoleh dengan mengalikan prosentase area relatifnya dengan kandungan asam lemak totalnya (Lampiran 6). Prosentase relatif massa komponen asam lemak dalam ekstrak etanol buah merah dan prosentase massa komponen asam lemak yang diambil dari sari buah merah dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan Komposisi Asam Lemak Utama dalam Ekstrak Etanol Buah Merah dengan Asam Lemak dalam Sari Buah Merah (Budi, 2001).

Asam Lemak	% Berat Asam Lemak dalam ekstrak etanol Buah Merah	% Berat Asam Lemak dalam Sari Buah Merah
Asam oleat	6,28	49,83
Asam palmitat	8,10	13,83
Asam stearat	2,25	1,60
Asam lemak lain	4,58	< 1,5

Kandungan asam lemak dalam ekstrak etanol lebih kecil dari pada dalam sari buahnya (Tabel 5). Ini dimungkinkan kandungan senyawa asam lemak sebagian telah terisolasi dalam pelarut petroleum eter.

Beberapa penelitian mengindikasikan bahwa asam lemak yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dapat berperan sebagai senyawa aktif terhadap kanker. Sari buah merah yang beredar di masyarakat telah terbukti secara *in vivo* aktif terhadap beberapa jenis kanker. Meskipun mempunyai kandungan total asam lemak yang lebih kecil tidak menutup kemungkinan bahwa ekstrak etanol buah merah juga berpotensi untuk diteliti lebih lanjut.

Pada penelitian ini, diketahui bahwa komponen asam lemak dalam ekstrak etanol memungkinkan untuk dipisahkan. Hal ini ditegaskan oleh hasil kromatogram GC-MS fraksi II yang menunjukkan bahwa antara asam lemak tak jenuh dan asam lemak jenuh dapat terpisah dengan baik. Namun untuk itu perlu penelitian lebih lanjut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dengan pembahasan sebelumnya dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol menunjukkan bahwa buah merah mengandung senyawa kumarin, glikosida senyawa fenolik, antrakuinon, dan asam lemak. Sedangkan dalam sari buah merah hanya mengandung asam lemak, karotenoid, betakaroten dan tokoferol.
2. Analisis data GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah merah mengandung senyawa asam lemak bebas dan ester asam lemak. Asam lemak bebas berupa asam palmitat (10,55%) dan asam oleat (84,78%) yang terdeteksi sebagai etil ester. Sedangkan ester asam lemak berupa metil palmitat (29,63%), metil oleat (23,09%), metil stearat (8,26%) dan asam lemak tak jenuh yang mempunyai struktur siklopentan dengan rantai alifatik (16,84%).

B. Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

1. Pemisahan lebih lanjut komponen polar buah merah sampai identifikasi senyawa murninya.
2. Uji bioaktivitas ekstrak etanol buah merah untuk mengetahui potensi buah merah dalam bidang farmasi dan kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika*. Penerbit ITB, Bandung. Hal : 1-21, 113.
- Braithwaite, A and Smith, F. J. 1995. *Chromatographic Methods*. Kluwer Academic Publishers, London.
- Budi, I Made. 2001. *Kajian Kandungan Zat Gizi dan Sifat Fisiko Kimia Berbagai Jenis Minyak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk) Hasil Ekstraksi secara tradisional di Ka. Jayawijaya Irian Jaya*. Tesis, Institut Pertanian Bogor.
- Budi, I. M. dan F. R , Paimin. 2005. *Buah Merah*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Dermawan, R., S. B. Nyuwan dan Wijayanti. 2005. *Pakar Bicara Buah Merah*. Majalah Trubus. Volume 425.
- Farnsworth, N.R. 1966. *Biological and Phytochemical Screening of Plants*, J. Pharm. Sci., Vol 55, 3, Hal. 225-276.
- Furniss, B.S., Hannaford, A.J., Smith, P.W.G. and Tatchell, A.R. 1989. *Vogels: Textbook of Practical Organic Chemistry*. Pearson Education Asia Pte Ltd, Singapore.
- Gritter, Roy J., Bobbit, J.M., Schwarting, A.E. 1991. *Pengantar kromatografi*. Penerbit ITB. Bandung.
- Handayani, R. 2008. *Modifikasi Teknik Kromatografi Lapis Tipis untuk Pemisahan Lipida dari Sari Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.) sebagai Turunannya*. Skripsi Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung.
- Holme, David J and Peck, Hazel. 1993. *Analitical Biochemistry*. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore.
- Kristanti, AN., N.S Aminah, M Tanjung dan B Kurniadi. 2008. *Fitokimia*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Marliyana, SD., F.R Wibowo, N Handayani dan R Rahmawati. 2009. *Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Merah*
commit to user

(*Pandanus conoideus* Lamk.). Penelitian DP2M Hibah bersaing 2009 LPPM UNS.

Muchalal, M dan Pranowo, D. 2004. *Analisis Kandungan Asam Lemak pada Minyak Kedelai dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa*. Indonesian Journal Of Chemistry: Vol. 4. No. I: 62-67.

Murningsih, T. 1992. *Kandungan Minyak dan Komposisi Asam Lemak pada Pandanus conoideus L. dan P. julianetti M.*, Balitbang Botani, Puslitbang Biologi-LIPI. Bogor.

Mu'nim, A., R Andrajati, dan H Susilowati. 2006. *Uji Hambatan Tumorigenesis Sari Buah Merah (Pandanus Conoideus Lamk.) Terhadap Tikus Putih Betina yang diinduksi 7, 12 dimetilbenz (a) dan antrasen (DMBA)*. Majalah Ilmu Kefarmasian. Vol. 3. Hal. 153-161.

Palleros, Daniel R. 2000. *Experimental Organic Chemistry*. John Wiley and Sons, New York.

Poedjiadi, Anna. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. UI Press, Jakarta.

Robinson, Trevor. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB Press, Bandung.

Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian Universitas Andalas, Padang.

Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Liberty, Yogyakarta.

Sastrohamidjojo, H. 2005. *Kromatografi*. Liberty, Yogyakarta.

Septyaningsih, D. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)* Skripsi Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Skoog, Douglas, A., West, Donald, M. and Holder, F.J. 1996. *Fundamental of Analytical Chemistry*. Thomson Learning, USA.

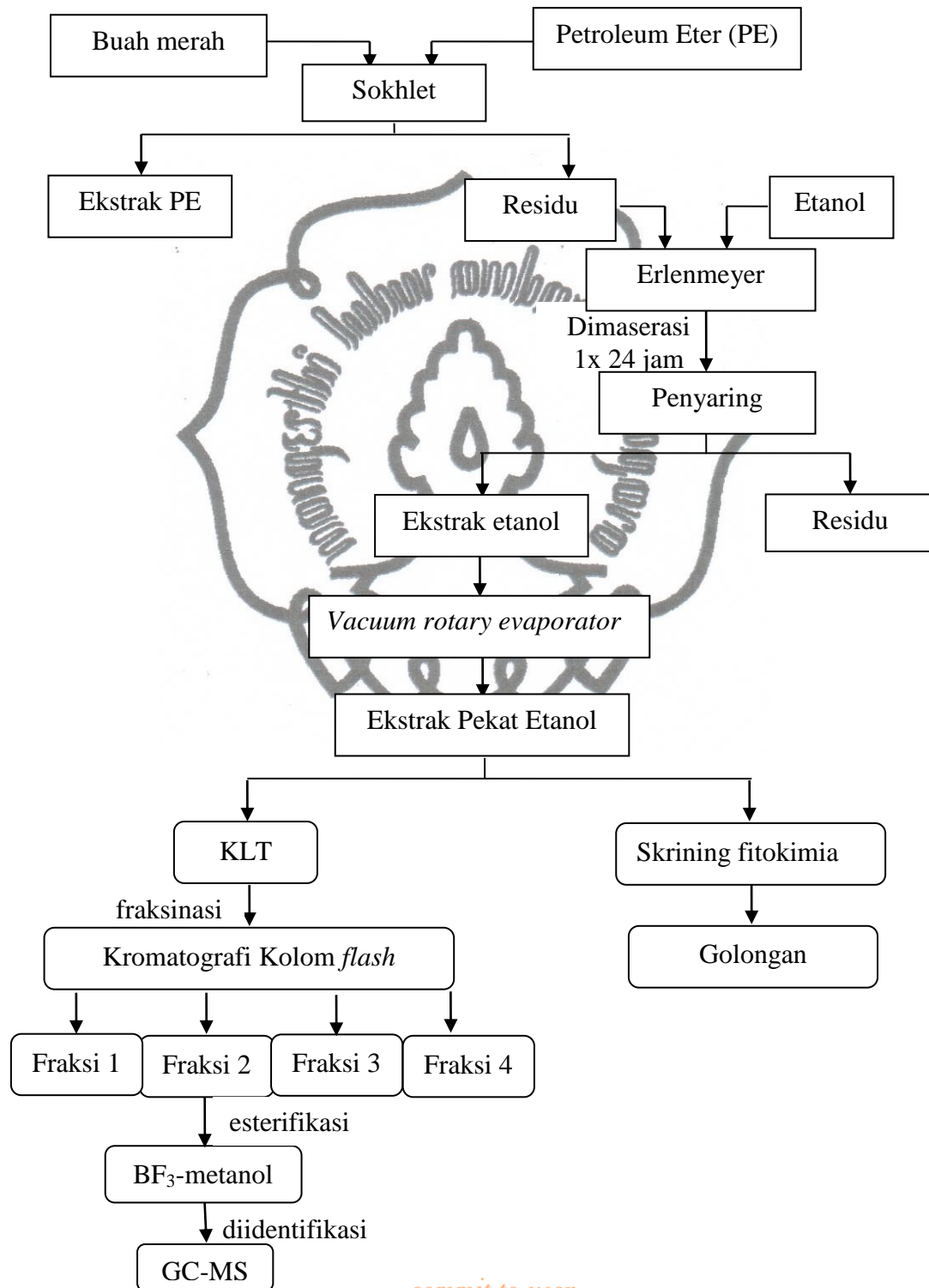
Sofia, H. 2005. *Bukti Ilmiah Buah Merah*. Majalah Trubus. Volume 425.

Subroto, A. 2007. *Buah Merah Sehatkan Mata ?*, Majalah Trubus No.451, Jakarta, Hal: 116-117.

- Sundari, I. 2010. *Identifikasi senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. Skripsi Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Sutarno, Handayani, T. dan Setiawan, A.D. 2004. *Analisis Komposisi Nitrisi Rumput Laut Sargassum crassifolium J. Agardh*. Biofarmasi : Vol. 2. No. 2: 45-52.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. ITB, Bandung. Hal 3-19.
- Still, Clark., M Kahn, and A Mitra. 1978. *Rapid Chromatographic Technique for Preparatives Separations with Moderate Resolution*. Journal of Organic Chemistry : Vol. 43. No. 14.
- Wagner, H. 1983. *Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas*. Garmany, Springer-Verlag Berlin.
- Wahyuniari, I., M.H.N.E Soesatyo, M Ghufro, Yustina., A.A Sumiwi, dan S Wiryawan. 2009. *Minyak Buah Merah Meningkatkan Aktivitas Proliferasi Limfosit Limpa Mencit Setelah Infeksi Listeria Monocytogenes*. Jurnal Veteriner. Vol.10. Hal. 143-149.
- Widyastuti, L. 2007. *Reaksi Metanolisis Minyak Biji Jarak Pagar menjadi Metil Ester sebagai Bahan Bakar Pengganti Minyak Diesel dengan Menggunakan Katalis KOH*. Skripsi Universitas Negeri Semarang, Semarang.

LAMPIRAN 1

Bagan Alir Cara Kerja



LAMPIRAN 2**Kondisi Operasi GC-MS QP2010S Shimadzu sebelum Esterifikasi**

Jenis kolom	: HP-5MS panjang 30 m, diameter 0,25 mm
Kondisi kolom	
Suhu awal	: 80 °C
Waktu awal	: 1 menit
Kenaikan suhu	: 5 °C/menit
Suhu akhir	: 290 °C
Suhu injektor	: 300 °C
Aliran kolom	: 0,6 mL/menit
Tekanan	: 27,7 kPa
Jenis detektor	: MS
Gas pembawa	: Helium
Total flow	: 52,7 mL/menit
Split rasio	: 81,8

LAMPIRAN 3**Kondisi Operasi GC-MS QP2010S Shimadzu setelah Esterifikasi**

Jenis kolom : Rastek RXi-5MS panjang 30 m, diameter 0,25 mm

Kondisi kolom

Suhu awal : 80 °C

Waktu awal : 1 menit

Kenaikan suhu : 5 °C/menit

Suhu akhir : 290 °C

Suhu injektor : 290 °C

Aliran kolom : 0,45 mL/menit

Tekanan : 10,9 kPa

Jenis detektor : MS

Gas pembawa : Helium

Total flow : 72,9 mL/menit

Split rasio : 153,0

LAMPIRAN 4

- a. Hasil Prosentase Luas Area Data GC-MS Ekstrak Etanol Buah Merah sebelum Transesterifikasi

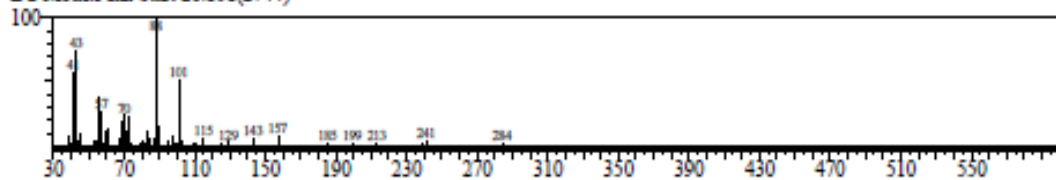
Puncak	t _R (menit)	area relatif (%)
1	20,706	0,05
2	20,850	0,03
3	22,831	0,04
4	22,927	0,04
5	24,935	0,03
6	25,501	0,10
7	26,501	0,16
8	27,368	10,55
9	29,017	1,00
10	29,425	1,30
11	31,513	84,78
12	32,125	0,13
13	32,635	0,48
14	33,025	0,11
15	34,627	0,28
16	36,653	0,39
17	40,775	0,53

b. Data MS

1) Hasil MS Puncak 8

<< Target >>

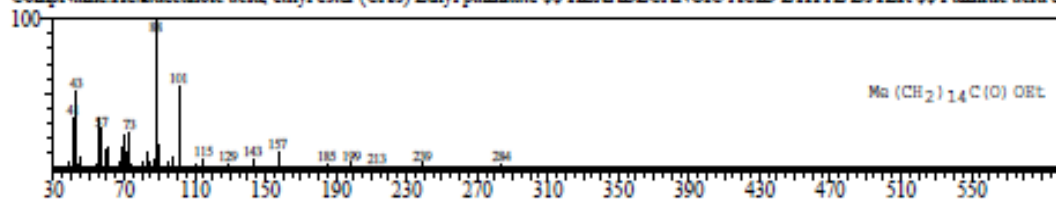
Line# 8 R Time: 27.367 (Scan# 2805) Mass Peaks: 53
 Raw Mode: Single 27.367 (2805) Base Peak: 88.00 (2432538)
 BG Mode: Peak Start 26.858 (2744)



Hit# 1 Entry: 195615 Library: WILEY7.LIB

SI-95 Formula: C₁₈H₃₆O₂ CAS: 628-97-7 MolWeight: 284 RetIndex: 0

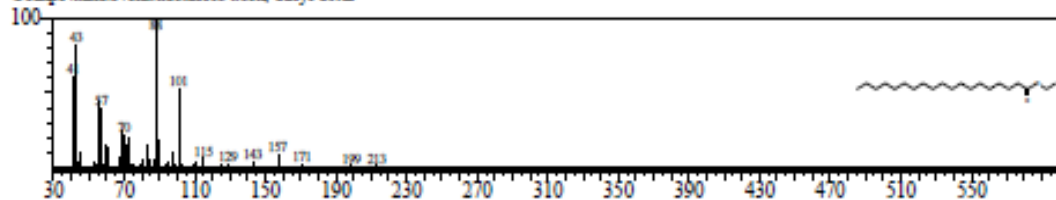
CompName: Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl palmitate \$\$ HEXADECANOIC ACID ETHYL ESTER \$\$ Palmitic acid e



Hit# 2 Entry: 46382 Library: NIST02.LIB

SI-95 Formula: C₂₁H₄₂O₂ CAS: 18281-4-4 MolWeight: 326 RetIndex: 0

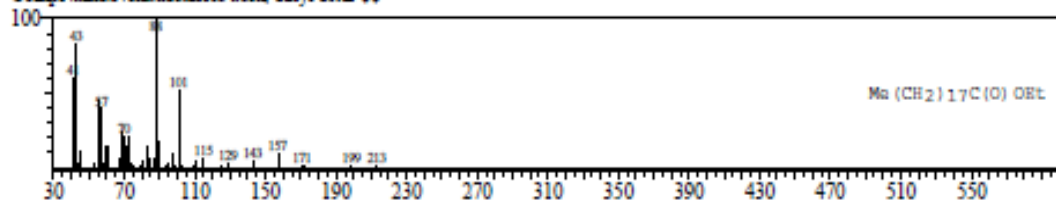
CompName: Nonadecanoic acid, ethyl ester



Hit# 3 Entry: 235499 Library: WILEY7.LIB

SI-95 Formula: C₂₁H₄₂O₂ CAS: 18281-4-4 MolWeight: 326 RetIndex: 0

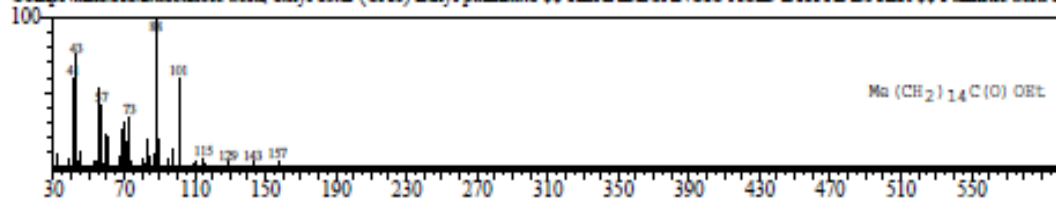
CompName: Nonadecanoic acid, ethyl ester \$\$



Hit# 4 Entry: 195611 Library: WILEY7.LIB

SI-94 Formula: C₁₈H₃₆O₂ CAS: 628-97-7 MolWeight: 284 RetIndex: 0

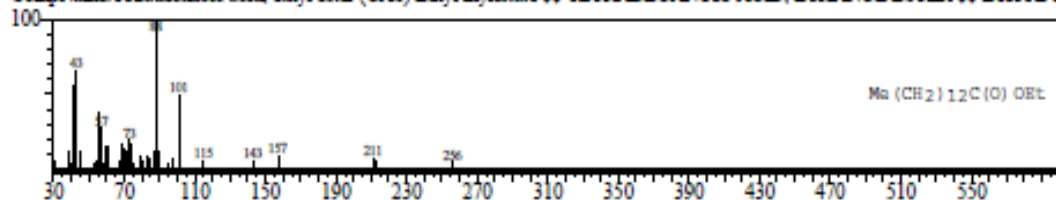
CompName: Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl palmitate \$\$ HEXADECANOIC ACID ETHYL ESTER \$\$ Palmitic acid e



Hit# 5 Entry: 164501 Library: WILEY7.LIB

SI-93 Formula: C₁₆H₃₂O₂ CAS: 124-6-1 MolWeight: 256 RetIndex: 0

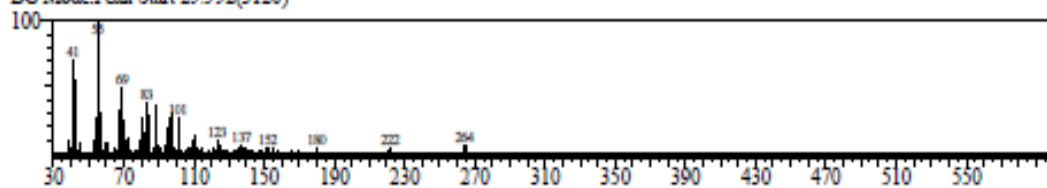
CompName: Tetradecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl myristate \$\$ TETRADECANOIC ACID, ETHANOL ESTER \$\$ ETHYL-3



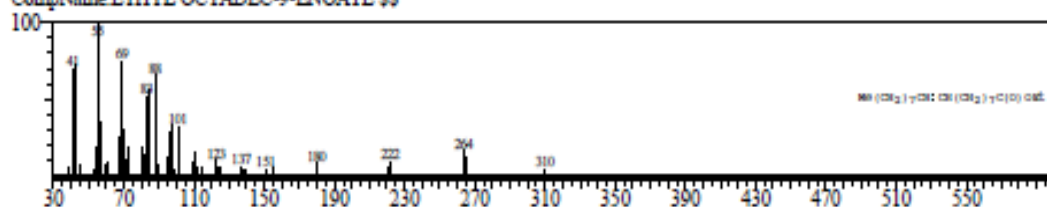
2) Hasil MS Puncak 11

<< Target >>

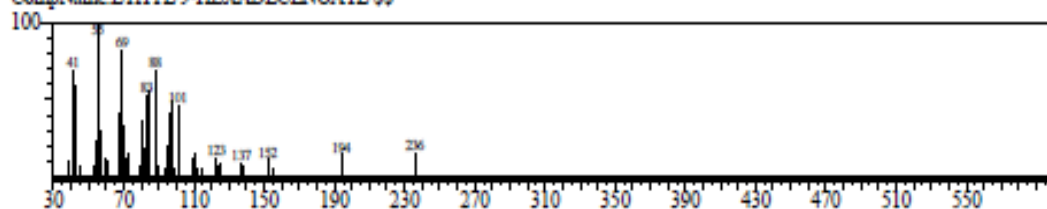
Line#:11 R Time:31.517(Scan#:3303) MassPeaks:93
 RawMode:Single 31.517(3303) BasePeak:55.00(5408505)
 BG Mode:Peak Start 29.992(3120)



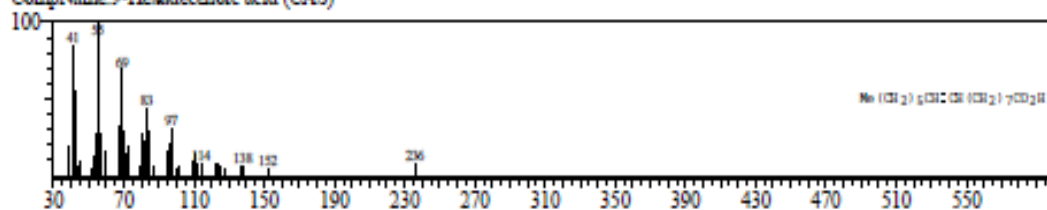
Hit#1 Entry:221400 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C20 H38 O2 CAS:111-62-6 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:ETHYL OCTADEC-9-ENOATE \$\$



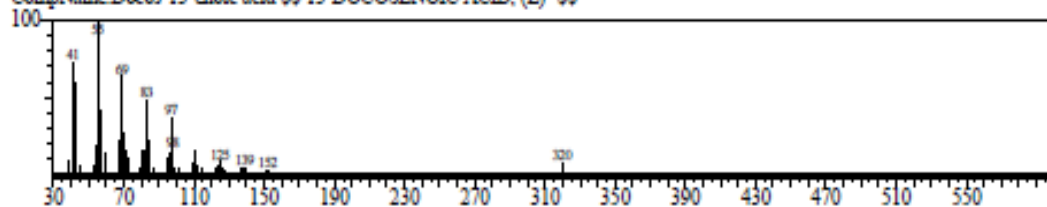
Hit#2 Entry:192940 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C18 H34 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:282 RetIndex:0
 CompName:ETHYL 9-HEXADECENOATE \$\$



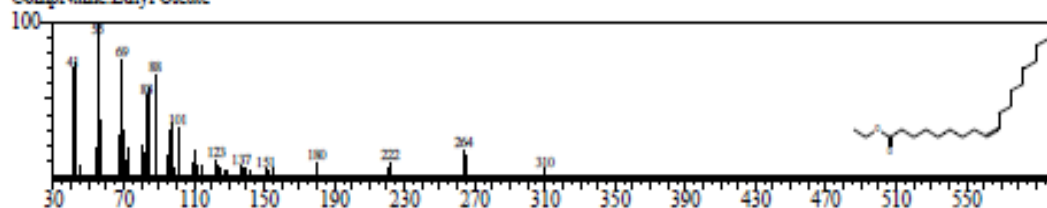
Hit#3 Entry:161800 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C16 H30 O2 CAS:2091-29-4 MolWeight:254 RetIndex:0
 CompName:9-Hexadecenoic acid (CAS)



Hit#4 Entry:245560 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C22 H42 O2 CAS:112-86-7 MolWeight:338 RetIndex:0
 CompName:Docos-13-enoic acid \$\$ 13-DOCOSENOIC ACID, (Z)- \$\$



Hit#5 Entry:10751 Library:NIST12.LIB
 SI:88 Formula:C20H38O2 CAS:111-62-6 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:Ethyl Oleate



LAMPIRAN 5

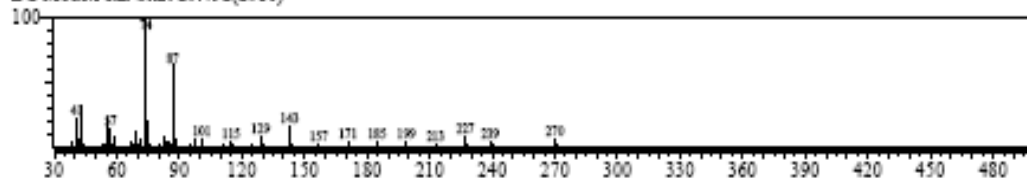
- a. Hasil Prosentase Luas Area Data GC-MS Ekstrak Etanol Buah Merah setelah di Esterifikasi

Puncak	t _R (menit)	area relatif (%)
1	11,874	1,27
2	13,750	0,37
3	13,986	2,44
4	15,951	0,41
5	18,224	1,18
6	19,536	0,61
7	19,955	4,23
8	21,593	0,86
9	22,722	0,48
10	24,190	0,47
11	25,728	29,63
12	26,911	0,51
13	27,348	0,47
14	28,044	23,09
15	28,214	8,26
16	28,948	0,45
17	29,851	16,84
18	30,456	3,13
19	30,618	1,04
20	30,902	1,20
21	31,122	0,53
22	31,358	0,89
23	31,525	1,65

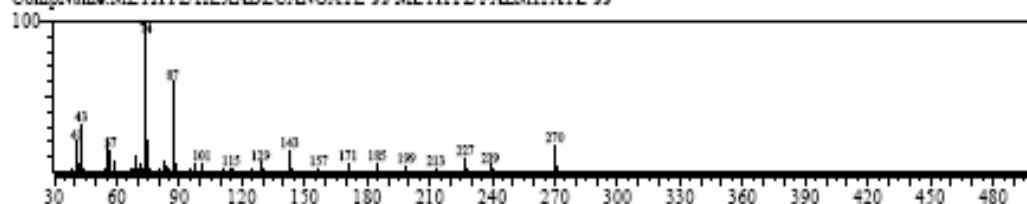
b. Data MS

1) Puncak 11

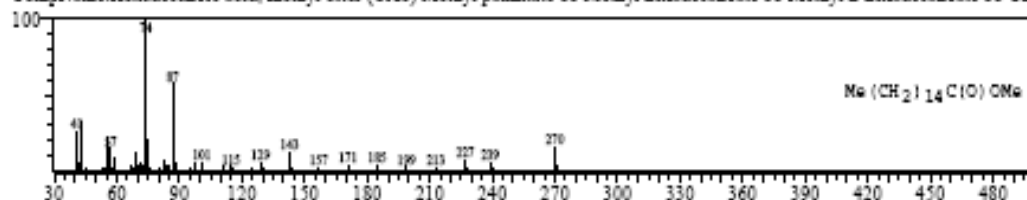
<< Target >>
 Line# 11 R.Time: 25.725 (Scan# 2608) Retention Index: \$TargetRetIndex\$ MassPeak: 51
 RawMode: Single 25.725 (2608) BasePeak: 74.00 (5216538)
 BG Mode: Peak Start 25.492 (2580)



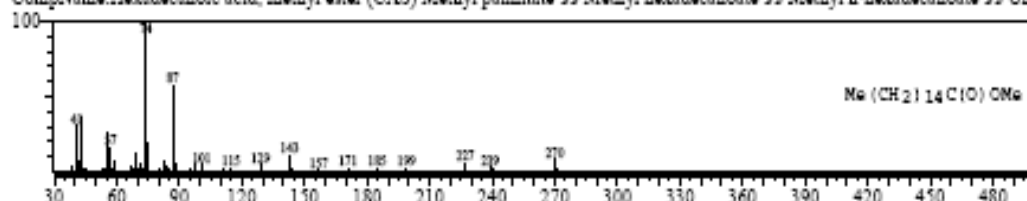
Hit# 1 Entry: 124679 Library: WILEY229.LIB
 SI: 97 Formula: C17H34O2 CAS: 0-0-0 MolWeight: 270 RetIndex: 0
 CompName: METHYL HEXADECANOATE \$METHYL PALMITATE \$



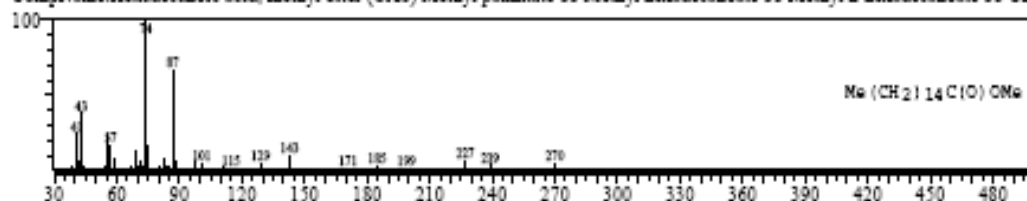
Hit# 2 Entry: 124622 Library: WILEY229.LIB
 SI: 96 Formula: C17H34O2 CAS: 112-39-0 MolWeight: 270 RetIndex: 0
 CompName: Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate \$Methyl hexadecanoate \$Methyl n-hexadecanoate \$Uni



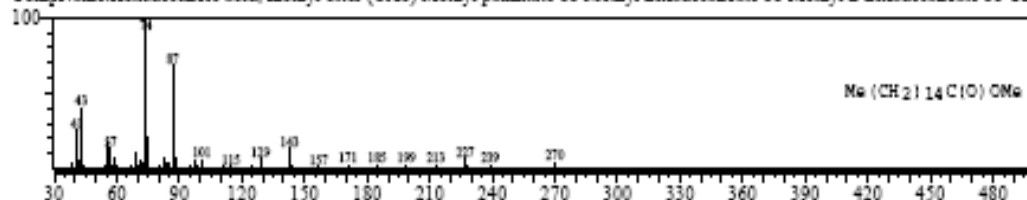
Hit# 3 Entry: 124619 Library: WILEY229.LIB
 SI: 96 Formula: C17H34O2 CAS: 112-39-0 MolWeight: 270 RetIndex: 0
 CompName: Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate \$Methyl hexadecanoate \$Methyl n-hexadecanoate \$Uni



Hit# 4 Entry: 124618 Library: WILEY229.LIB
 SI: 96 Formula: C17H34O2 CAS: 112-39-0 MolWeight: 270 RetIndex: 0
 CompName: Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate \$Methyl hexadecanoate \$Methyl n-hexadecanoate \$Uni



Hit# 5 Entry: 124633 Library: WILEY229.LIB
 SI: 96 Formula: C17H34O2 CAS: 112-39-0 MolWeight: 270 RetIndex: 0
 CompName: Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate \$Methyl hexadecanoate \$Methyl n-hexadecanoate \$Uni



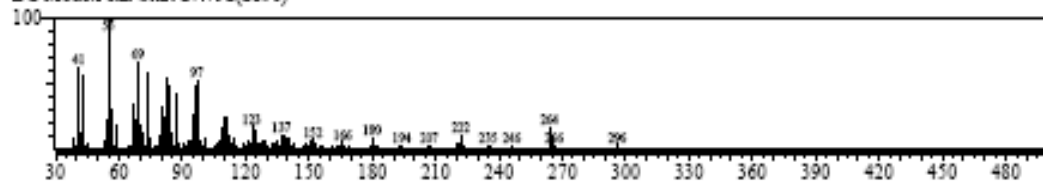
2) Puncak 14

<< Target >>

Line#14 R.Time:28.042(Scan#:2886) Retention Index:\$TargetRetIndex\$ MassPeaks:117

RawMode:Single 28.042(2886) BasePeak:55.05(1261565)

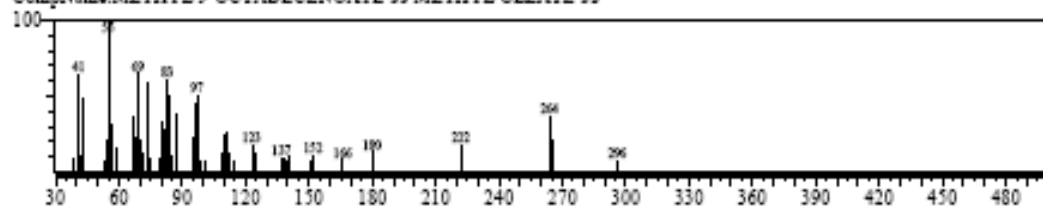
BG Mode:Peak Start 27.792(2856)



Hit#1 Entry:142936 Library:WILEY229.LIB

SI:96 Formula:C19 H36 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:296 RefIndex:0

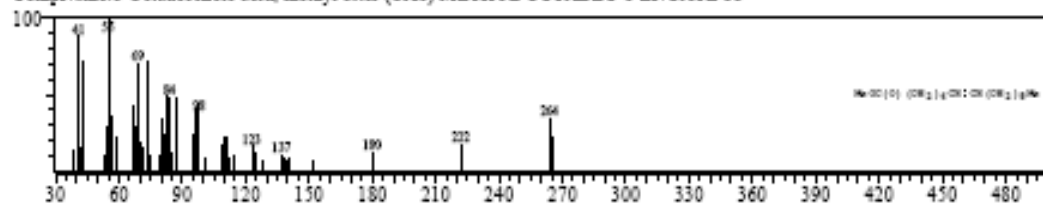
CompName:METHYL 9-OCTADECENOATE \$\$ METHYL OLEATE \$\$



Hit#2 Entry:142883 Library:WILEY229.LIB

SI:95 Formula:C19 H36 O2 CAS:2345-29-1 MolWeight:296 RefIndex:0

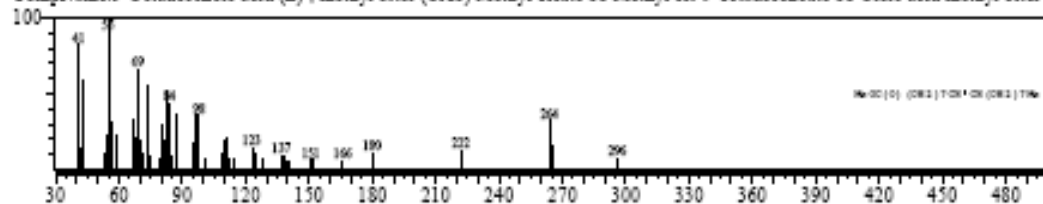
CompName:8-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL OCTADEC-8-ENOATE \$\$



Hit#3 Entry:142894 Library:WILEY229.LIB

SI:95 Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RefIndex:0

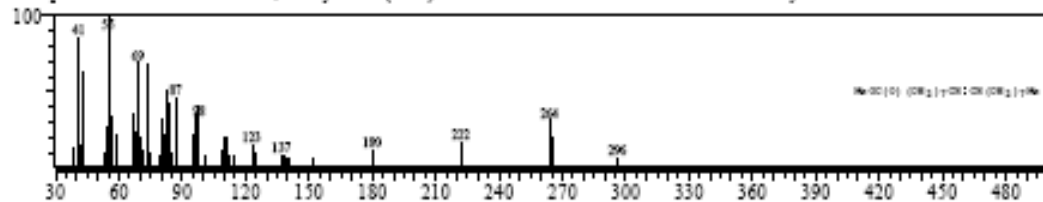
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate \$\$ Methyl cis-9-octadecenoate \$\$ Oleic acid methyl ester \$



Hit#4 Entry:142891 Library:WILEY229.LIB

SI:95 Formula:C19 H36 O2 CAS:2462-84-2 MolWeight:296 RefIndex:0

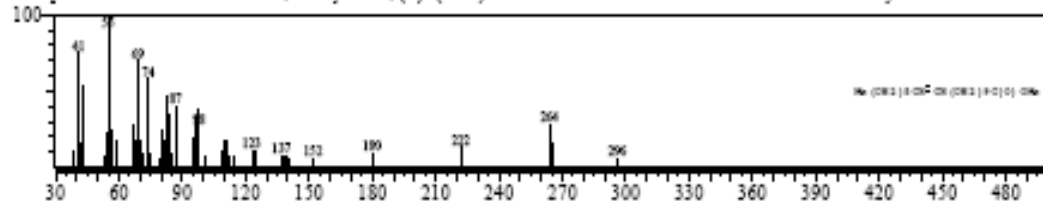
CompName:9-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL OCTADEC-9-ENOATE \$\$ Methyl 9-octadecenoate \$\$



Hit#5 Entry:142907 Library:WILEY229.LIB

SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:1937-63-9 MolWeight:296 RefIndex:0

CompName:11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) METHYL CIS OCTADEC-11-ENOATE \$\$ Methyl cis-octadec-11-enoate



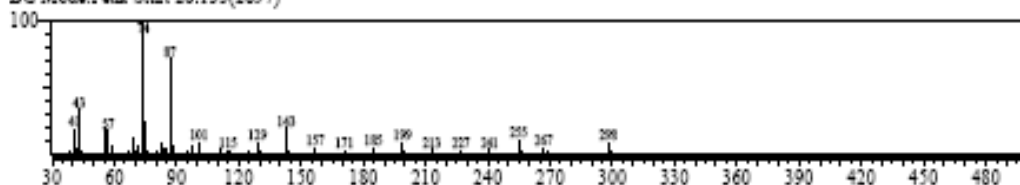
3) Puncak 15

<< Target >>

Line#15 R.Time:28.217(Scan#:2907) Retention Index:\$TargetRetIndex\$ MassPeaks:49

RawMode:Single 28.217(2907) BasePeak:74.00(2757158)

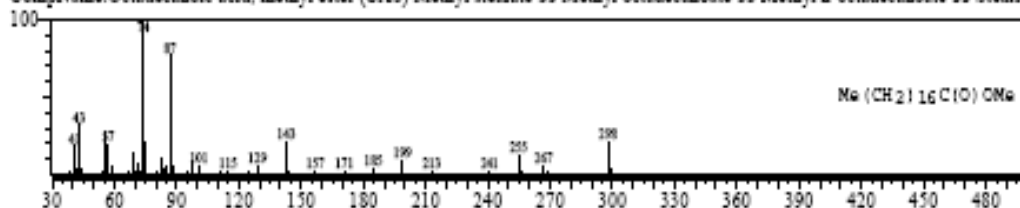
BG Mode:Peak Start 28.133(2897)



Hit#1 Entry:144200 Library:WILEY229.LIB

SI-96 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

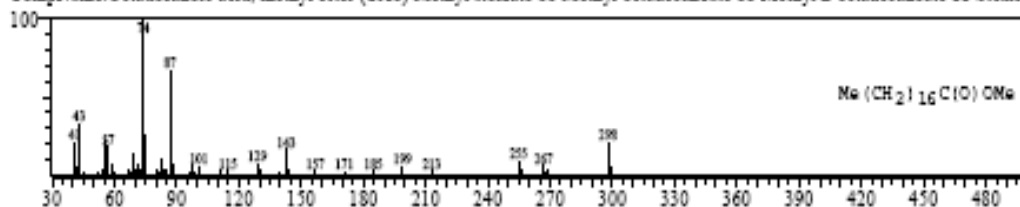
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate \$\$ Methyl octadecanoate \$\$ Methyl n-octadecanoate \$\$ Stearic



Hit#2 Entry:144208 Library:WILEY229.LIB

SI-95 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

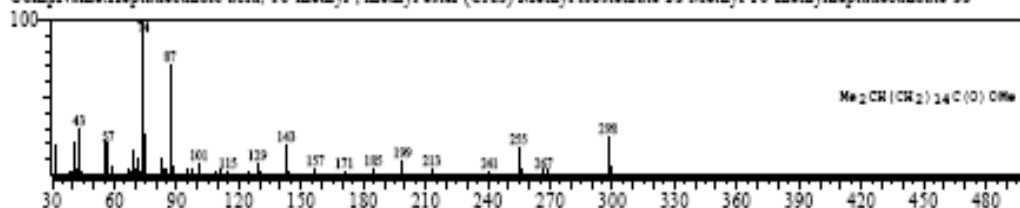
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate \$\$ Methyl octadecanoate \$\$ Methyl n-octadecanoate \$\$ Stearic



Hit#3 Entry:144229 Library:WILEY229.LIB

SI-94 Formula:C19 H38 O2 CAS:5129-61-3 MolWeight:298 RetIndex:0

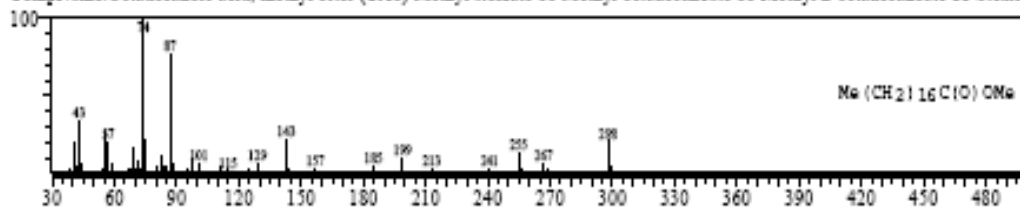
CompName:Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester (CAS) Methyl isostearate \$\$ Methyl 16-methylheptadecanoate \$\$



Hit#4 Entry:144202 Library:WILEY229.LIB

SI-94 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

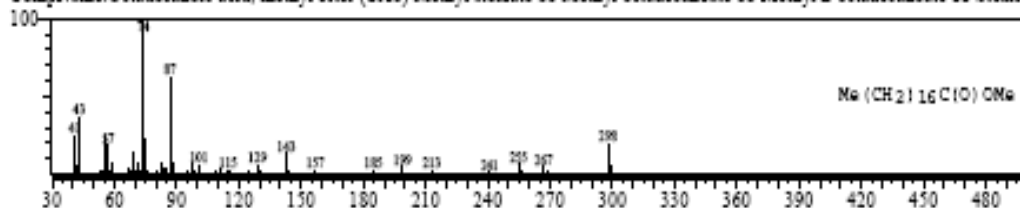
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate \$\$ Methyl octadecanoate \$\$ Methyl n-octadecanoate \$\$ Stearic



Hit#5 Entry:144201 Library:WILEY229.LIB

SI-94 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate \$\$ Methyl octadecanoate \$\$ Methyl n-octadecanoate \$\$ Stearic



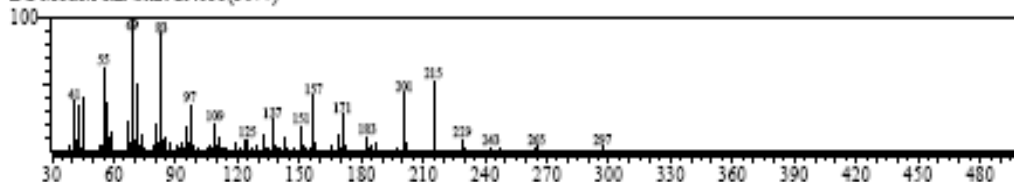
4) Puncak 17

<< Target >>

Line# 17 R.Time:29.850(Scan#3103) Retention Index:\$TargetRetIndex\$ MassPeaks:94

RawMode:Single 29.850(3103) BasePeak:69.00(1410368)

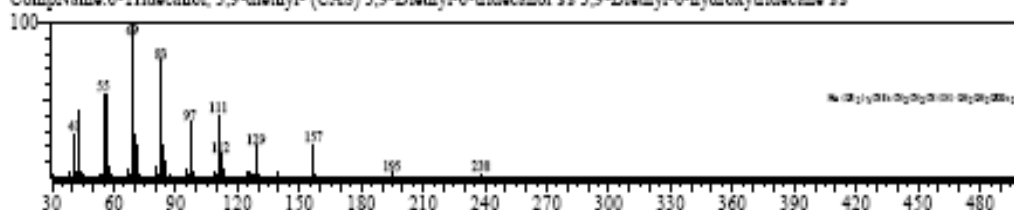
BG Mode:Peak Start 29.633(3077)



Hit#1 Entry:114179 Library:WILEY229.LIB

SI:71 Formula:C17H36O CAS:123-24-0 MolWeight:256 RetIndex:0

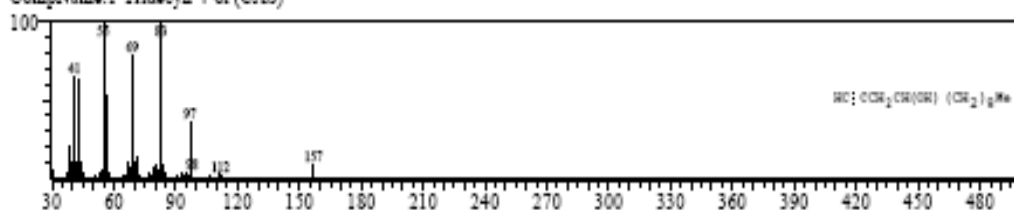
CompName:6-Tridecanol, 3,9-diethyl- (CAS) 3,9-Diethyl-6-hydroxytridecane §§



Hit#2 Entry:64251 Library:WILEY229.LIB

SI:69 Formula:C13H24O CAS:74646-37-0 MolWeight:196 RetIndex:0

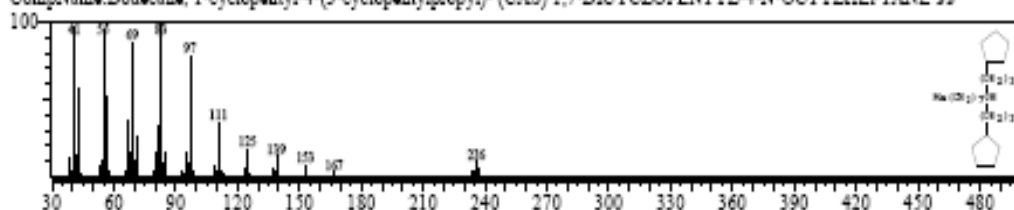
CompName:1-Tridecanol, 4-ol (CAS)



Hit#3 Entry:173320 Library:WILEY229.LIB

SI:68 Formula:C25H48 CAS:7225-68-5 MolWeight:348 RetIndex:0

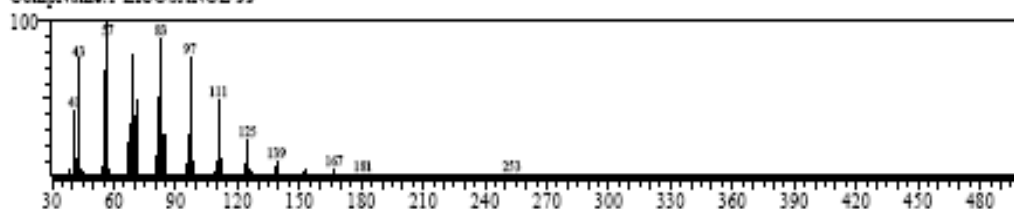
CompName:Dodecane, 1-cyclopentyl-4-(3-cyclopentylpropyl)- (CAS) 1,7-DICYCLOPENTYL-4-N-OCTYLHEPTANE §§



Hit#4 Entry:144398 Library:WILEY229.LIB

SI:68 Formula:C20H42O CAS:0-0-0 MolWeight:298 RetIndex:0

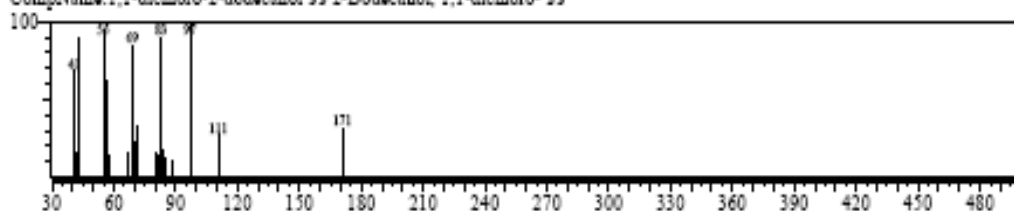
CompName:1-EICOSANOL §§



Hit#5 Entry:112035 Library:WILEY229.LIB

SI:68 Formula:C12H24Cl2O CAS:96502-91-9 MolWeight:254 RetIndex:0

CompName:1,1-dichloro-2-dodecanol §§ 2-Dodecanol, 1,1-dichloro- §§



LAMPIRAN 6

Perkiraan Komposisi Senyawa (Etil Oleat Dan Etil Palmitat) Dalam Ekstrak
Etanol Buah Merah

Dalam 1 g ekstrak pekat etanol menghasilkan 0,272 g fraksi asam lemak.

Kandungan asam lemak total dalam ekstrak pekat etanol = 27,20%

- a. Persen asam oleat dalam buah merah

$$\frac{23,09 \% \times 0,272 \text{ g}}{1 \text{ g}} \times 100\% = 6,28\%$$

- b. Persen asam palmitat dalam buah merah

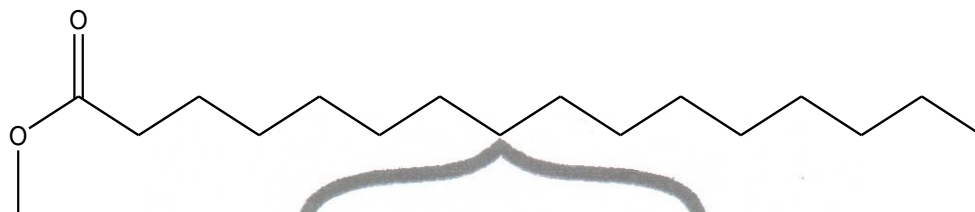
$$\frac{29,63 \% \times 0,272 \text{ g}}{1 \text{ g}} \times 100\% = 8,10\%$$

- c. Persen asam stearat dalam buah merah

$$\frac{8,26 \% \times 0,272 \text{ g}}{1 \text{ g}} \times 100\% = 2,25\%$$

- d. Persen asam lemak lain dalam buah merah

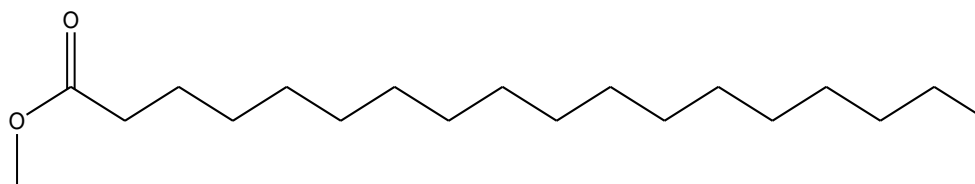
$$\frac{16,84 \% \times 0,272 \text{ g}}{1 \text{ g}} \times 100\% = 4,58\%$$

LAMPIRAN 7**A. Struktur metil palmitat**

methyl palmitate

B. Struktur metil oleat

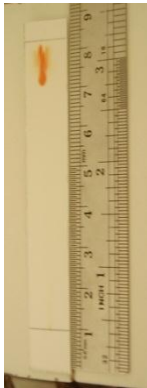
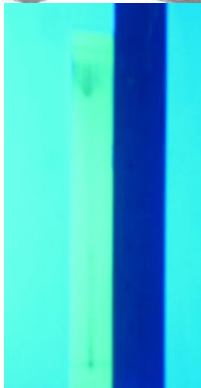

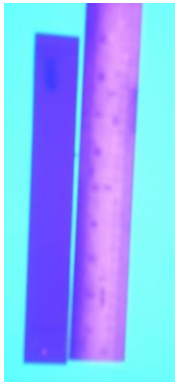
methyl oleate



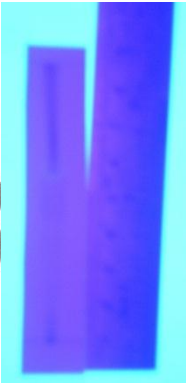
C. Struktur metil stearat

methyl stearate

LAMPIRAN 8

Skrining fitokimia (uji warna) ekstrak etanol buah merah

ANTRAKUINON	FLAVONOID
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fase diam : silika gel GF 254 ➤ Fase gerak : (etil asetat:metanol:air = 100:13.5:10) ➤ Deteksi : KOH 5% etanolik ➤ Keterangan : bercak dibawah sinar UV memberikan warna kuning dan coklat kuning. Deteksi dengan KOH 5% etanolik memberikan warna merah, ungu, hijau atau lembayung. ➤ Hasil : bercak berwarna merah kekuningan (positif) ➤ R_f : 0,95 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fase diam : silika gel GF 254 ➤ Fase gerak: (etil asetat:asam format:as. asetat glasial:air = 100:11:11:27) ➤ Keterangan : bercak dibawah sinar UV biru kehitaman dengan latar kuning menunjukkan adanya flavonoid ➤ Hasil : bercak berwarna biru latar ungu dibawah sinar UV (negatif) ➤ R_f : 0,84
 	 
SAPONIN	KUMARIN
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fase diam : silika gel GF 254 ➤ Fase gerak : (kloroform:metanol:air = 64:50:10) ➤ Deteksi : anisaldehyd as. sulfat, dipanaskan 100 °C ➤ Keterangan : bercak berwarna biru 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fase diam : silika gel GF 254 ➤ Fase gerak : (dietil eter:toluen = 1:1) ➤ Deteksi : KOH 5% etanolik ➤ Keterangan : biru muda atau sawo matang menunjukkan

<p>violet dibawah sinar tampak menunjukkan adanya saponin</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Hasil : bercak berwarna merah kekuningan (negatif) ➤ R_f : 0,83 	<p>adanya kumarin pada UV_{365}, berflouresensi pada UV_{254} dan flouresensi biru dengan deteksi KOH 5% etanolik.</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Hasil : bercak berwarna kuning kecoklatan/sawo matang (positif) ➤ R_f: 0,80  
ASAM LEMAK	GLIKOSIDA SENYAWA FENOLIK
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fase diam : silika gel GF 254 ➤ Fase gerak : benzene : dietil eter (19 : 1) ➤ Deteksi : Rhodamin B dalam etanol ➤ Keterangan : bercak berwarna ungu pada latar merah muda bila dibawah sinar UV menunjukkan adanya asam lemak ➤ Hasil : ada bercak berwarna ungu pada latar merah muda dibawah sinar UV (positif) ➤ R_f : 0,16: 0,62: 0,82 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fase diam : silika gel GF 254 ➤ Fase gerak : (etil asetat:metanol:air = 100:13.5:10) ➤ Deteksi : $FeCl_3$ ➤ Keterangan : Dilihat di bawah sinar tampak senyawa fenolik berwarna hijau-kuning atau merah ➤ Hasil : bercak berwarna merah Kuning-orange kecoklatan (positif) ➤ R_f: 0,89

