

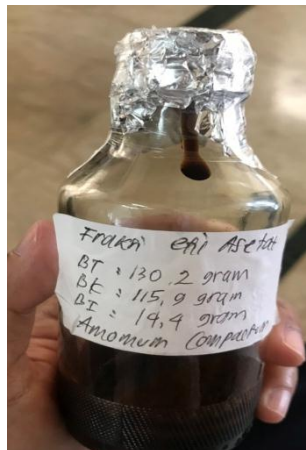
BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN

VI.1 Preparasi Sampel

Sampel yang diambil adalah akar dari tumbuhan *Amomum cardamomum*. Sampel diperoleh dari lahan pembudidayaan masyarakat di daerah Garut.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, sampel yaitu akar *Amomum* sebanyak 5,4 kg kemudian direndam dalam pelarut n-heksane : etil asetat (1 : 9) selama 3 x 24 jam.

Hasil ekstraksi dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotary evaporator vakum pada suhu 41°C sehingga diperoleh ekstrak pekat.



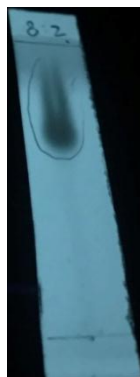
Gambar VI.1 Sampel fraksi etil asetat

Ekstraksi senyawa terpenoid yang terdapat dalam akar *Amomum* dilakukan dengan metode ekstraksi padat-cair secara maserasi. Proses ekstraksi dengan n-heksana dan etil asetat dilakukan pada suhu

kamar sebanyak tiga kali yang bertujuan untuk menarik senyawa nonpolar dan semi polar. Selanjutnya proses ekstraksi dengan etil asetat pada suhu kamar dilakukan sebanyak tiga kali. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali bertujuan supaya senyawa yang terdapat dalam akar *Amomum* terekstrak secara sempurna. Ekstrak etil asetat hasil maserasi dipekatkan dengan alat penguap bertekanan rendah sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat sebanyak 14,4 g. Pemisahan senyawa aktif yang diduga terpenoid yang terdapat dalam ekstrak etilasetat dilakukan menggunakan MPLC. Pemilihan eluen yang digunakan dalam pemisahan ditetapkan melalui analisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen campuran n-heksan : etil asetat (gambar a dan b) ; kloroform : aseton(gambar c dan d) ; metanol : air (gambar e dan f).

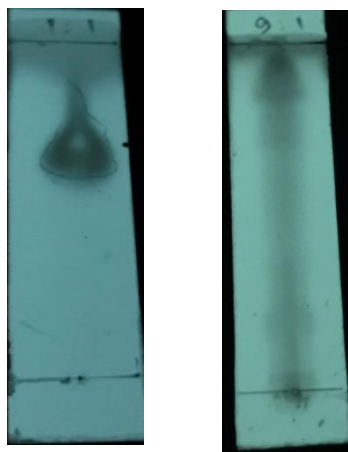


A



B

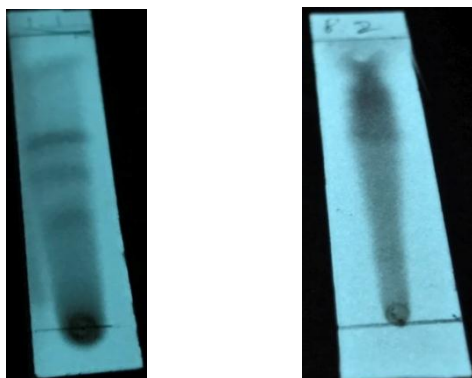
Gambar VI.2.Kromatogram fraksi etil asetat dengan eluen n-heksan : etil asetat dan penampak bercak H_2SO_4 (a) n-heksan : etil asetat 1 : 1 (b) n-heksan : etil asetat 8 : 2



C

D

Gambar VI.3. Kromatogram fraksi etil asetat dengan eluen kloroform : aseton dan penampak bercak H_2SO_4 (c) Kloroform : aseton 1 : 1(d) Kloroform : aseton 9 : 1

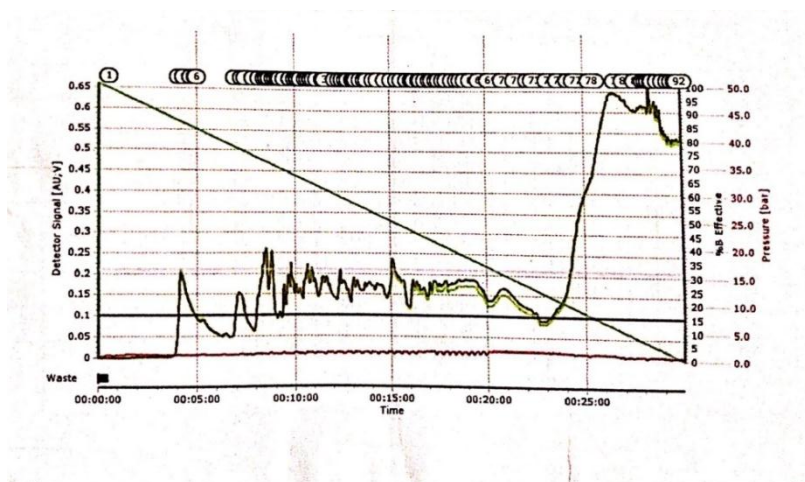


E

F

Gambar VI.4. Kromatogram fraksi etil asetat dengan eluen metanol : air dan penampak bercak H_2SO_4 (e) Metanol : air 1 : 1. (f) Metanol : air 8 : 2.

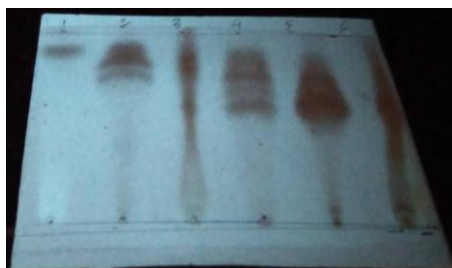
Hasil KLT menunjukkan bahwa campuran metanol : air merupakan eluen yang terbaik dalam pemisahan. Pemisahan ekstrak etil asetat sebanyak 1 g dilakukan dengan MPLC menggunakan campuran metanol : air. Dari hasil pemisahan secara MPLC didapatkan 21 fraksi (A,a,B,b,C,D,E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P,Q,R dan MeOH) dengan *flowrate* 5 ml/min, panjang gelombang 257 dan 254 nm, dan waktu pemisahan 30 menit.



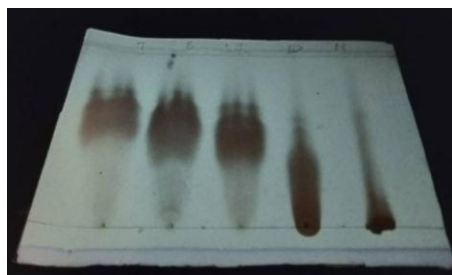
Gambar VI.5. Profil pemisahan komposisi fraksi etil asetat menggunakan MPLC.

MPLC memiliki prinsip yang sama dengan kromatografi, MPLC yang digunakan memiliki teknik pemisahan fase terbalik yang berarti kolom yang digunakan bersifat non polar. Pemisahan dengan kromatografi memisahkan senyawa berdasarkan kepolaran dan eluen yang digunakan harus sesuai dengan kolom yang digunakan. Senyawa target yang ingin dimurnikan bersifat non polar. Sistem eluen yang digunakan gradien. Maka ketika menggunakan MPLC

senyawa yang ditahan merupakan senyawa yang bersifat non polar dan kromatogram pada peak pertama kali muncul merupakan senyawa yang bersifat polar. Maka eluen yang digunakan harus sesuai dengan kolom yang digunakan. Kolom yang digunakan merupakan kolom ODS yang memiliki sifat non polar, maka untuk itu eluen yang digunakan harus bersifat lebih polar. Sehingga senyawa target terpenoid yang bersifat non polar akan terakhir muncul atau terakhir keluar dari kolom sesuai dengan eluen yang digunakan. Keberhasilan MPLC ditentukan jika puncak kromatogram senyawa 1 dan senyawa lain terpisahkan. Kemudian dilakukan TLC, dipilih fraksi dengan interval 3 (fraksi A,B,C,E,G,I,K,M,O,Q dan MeOH) menggunakan plat ODS dengan eluen metanol : air 1 : 1.

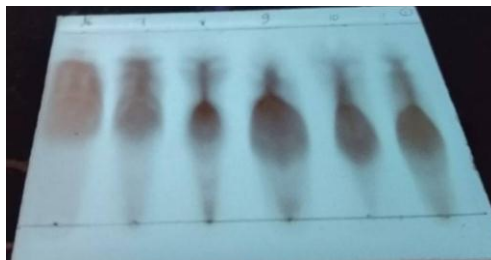


Gambar VI.6. Profil
TLC hasil MPLC
dengan eluen metanol :
air 1 : 1 Fraksi
A,B,C,E,G,I



Gambar VI.7. Profil
TLC hasil MPLC
dengan eluen metanol :
air 1 : 1 Fraksi
K,M,O,Q,MeOH

Pada TLC dengan perbandingan 1 : 1 ditemukan eluen yang baik. Yaitu pada fraksi K, M dan O senyawa terelusi. Lalu diujarkan dan dilihat. Ke 3 fraksi tersebut disejajarkan kemudian dilihat kembali fraksi berapa yang memiliki elusi yang baik ditandai dengan tertariknya senyawa dan setelah diberikan penampak bercak maka akan timbul bercak warna kecokelatan yaitu pada fraksi J, K, L, M, N, O. Pada fraksi L, M, N, O, digabung dikarenakan memiliki hasil yang sama yang diduga merupakan senyawa yang sama.



Gambar VI.8. Profil TLC hasil MPLC dengan eluen metanol : air 1 : 1 Fraksi J, K, L, M, N, O menunjukkan hasil yang baik

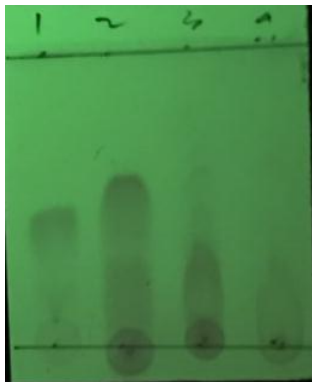
Setelah fraksi L, M, N, O digabung maka dilakukan TLC kembali dengan menggunakan eluen metanol : air dengan perbandingan 1 : 1.



Gambar VI.9. Profil TLC fraksi gabungan L, M, N dan O dengan eluen metanol : air 1 : 1 dan penampak bercak H_2SO_4 .

Maka didapatkan hasil fraksi aktif dari *Amomum* dengan bobot 185,2 mg.

Pemisahan dengan kromatografi kolom dilakukan terhadap ekstrak etil asetat dari *Amomum* sebanyak 185,2 mg dengan menggunakan fase diam ODS sebanyak 2 gram. Selanjutnya kolom dipasang pada statif. Pada ujung bagian bawah dalam kolom diberi kapas kemudian dialiri dengan pelarut metanol : air. Kemudian ODS yang telah ditimbang dimasukkan kedalam gelas beker dan ditambahkan pelarut metanol : air secukupnya lalu diaduk-aduk, selanjutnya dimasukkan kedalam kolom sedikit demi sedikit, kemudian kolom diketuk-ketuk hingga ODS memadat dan permukaannya rata. Sebanyak 185,2 mg ekstrak diimpreg dengan sebagian ODS sampai terbentuk serbuk lalu dimasukkan kedalam kolom. Kemudian ditambahkan campuran pelarut sebagai fase gerak yang bertingkat kepolarannya yaitu metanol : air dengan perbandingan 0:10 ; 1:9 ; 2:8 ; 3:7 ; 4:6 ; 5:5 ; 6:4 ; 7:3 ; 8:2 ; 9:1 ; 10:0 sebanyak 10 mL kedalam kolom sedikit demi sedikit sambil kran dibuka, eluat yang keluar dari kolom ditampung dalam vial dan diberi nomor. Dari kromatografi kolom ini didapat 11 fraksi yang selanjutnya di uji dengan KLT dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 3 : 7. Lalu didapatkan 1 fraksi yang diduga isolat senyawa murni yaitu pada fraksi ke 1 dengan jumlah sampel 1,2 mg.



Gambar VI.10.. hasil TLC kromatografi kolom pada fraksi ke 1,2,3,4

Pemisahan senyawa murni menggunakan kromatografi kolom konvensional dilakukan dengan beberapa pertimbangan yaitu jumlah hasil sampel yang sedikit, dan jika menggunakan instrument tidak bisa me *recovery* sampel.

Hasil pemisahan berupa isolat murni yang dibuktikan dengan hasil proton NMR yang menunjukkan kemurnian isolat. Perlakuan elusidasi struktur dengan menggunakan spektrofotometri NMR dengan tujuan untuk melihat atom C dan H. Namun, dikarenakan sampel yang diperoleh hanya 1,2 mg sehingga uji NMR hanya dengan melihat proton nya saja (^1H -1).

