

**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK
NON POLAR BUAH TOMAT (*Solanum lycopersicum*)
YANG DIKUKUS**

SKRIPSI



Oleh:

PUTRI YULINA
16 04 122

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2020**

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Yulina
NIM : 1604122
Judul Skripsi : Isolasi Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Nonpolar Buah
Tomat (*Solanum lycopersicum*) Yang Dikukus

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut Universitas Perintis Indonesia Padang untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis

Padang, 2 Oktober 2020

Putri Yulina

Lembar Pengesahan Skripsi

Dengan ini menyatakan bahwa :

Nama : Putri Yulina
NIM : 1604122
Judul Skripsi : Isolasi Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Nonpolar Buah
Tomat (*Solanum lycopersicum*) Yang Dikukus

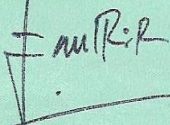
Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan pada tanggal 11 September 2020 berdasarkan ketentuan yang berlaku

Ketua Sidang



(apt. Revi Yenti, M.Si)

Pembimbing I



(apt. Farida Rahim, S.Si, M.Farm)

Anggota Penguji I



(Miftahur Rahmi, S.Pd, M.Pd)

Pembimbing II



(Dr. apt. Friardi)

Anggota Penguji II



(Dr. apt. Ifmaily, S.Si, M.Kes)

Mengetahui :

Ketua Program Studi S1 Farmasi



(apt. Revi Yenti, M.Si)



Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanlah hendaknya kamu berharap
(QS. Alam Nasyrah: 7,9)

*Syukur alhamdulillah ku ucapkan kepada Allah S.W.T
Sebuah perjalanan telah ku tempuh dengan izinmu ya Allah
Walaupun terkadang tersandung dan terjatuh....*

*Yaa Rabbi.... sujudku padamu
Sepercik ilmu telah aku dapat atas ridhaMu ya Allah
Semoga hari-hari yang cerah membentang di depanku
Bersama rahmat dan ridhaMu yaa Allah*

*Syukur Alhamdulillah ku ucapkan kepada Allah S.W.T
Sebuah langkah usai sudah, satu cita-cita telah ku gapai.dengan izinMu yaa Allah...
Namun.... Itu bukan akhir dari perjalanan
Melainkan awal dari satu perjuangan, sepercik ilmu telah engkau karuniakan kepadaku hanya untuk mengetahui sebagian kecil dari engkau muliakan...*

*Abak,... Amak,...
Terimakasih atas segala yang telah engkau berikan,
Semua yang telah aku lalui ini berkat do'a dan air mata setiap sujudmu...
Semua ini ku persembahkan untukmu Abak.. Amak.. ku tercinta....*

Teruntuk semua dosen dan staf Universitas Perintis Padang, terimakasih untuk ilmu yang sangat berarti semoga berguna dimasa depan. Teristimewa kepada ibu apt. Farida Rahim, S.Si, M.Farm dan bapak Dr. apt. Friardi sebagai pembimbingku serta ibu Hj.apt. Diana Agustin, M.Si.MM sebagai pembimbing akademik yang sudah sangat membantu, membimbing serta menasehati selama ini.

*Teruntuk sahabatku Nailul, Icaa, Amel, Ghina, since 2016 terimakasih telah memberi dukungan, motivasi, nasehat, canda, tawa serta menjadi tempat bersandar dan selalu berada di garis terdepan.
Serta semua teman-teman angkatan 16 Veren16en yang tak bisa disebutkan namanya satu persatu, perjalanan panjang telah kita lalui bersama, semoga kita semua bisa mendapatkan apa yang kita cita-citakan. Dan semoga jalan kita selalu dimudahkan oleh Allah SWT. Aamiin ya robba' alamin.
Once again thanks for all who have helped and supported all this time...*

By Putri Yulina, S.Farm

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya berupa ilmu, kesehatan, dan kemudahan sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi yang berjudul **“ISOLASI METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK NON POLAR BUAH TOMAT(*Solanum lycopersicum*) YANG DIKUKUS”** Yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu pada Universitas Perintis Indonesia.

Selesainya penulisan skripsi ini tidak lepas dari do'a, dukungan, semangat dan kasih sayang dari Bapak/Ibu, saudara dan sahabat. Rasa hormat dan terimakasih yang tulus penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Elfi Sahlan Ben selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia.
2. Ibu Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Perintis Padang.
3. Ibu apt. Revi Yenti, M.Si selaku Ketua Prodi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
4. Ibu apt. Farida Rahim, S.Si M.Farm, selaku pembimbing I dan Bapak Dr. apt. Friardi, selaku pembimbing II, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan dengan sabar membimbing penulis untuk membantu penyempurnaan skripsi ini.
5. Ibu Hj.apt. Diana Agustin, M.Si, MM, sebagai penasehat akademik dalam kegiatan akademis atas nasehat dan arahan yang diberikan selama ini.
6. Bapak dan Ibu dosen, serta seluruh Staf pengajar Universitas Perintis Indonesia yang selama ini telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan serta nasehat yang sangat berguna bagi penulis selama menjalani pendidikan di Universitas Perintis Padang.
7. Kepala Laboratorium Biota Sumatera, Analis dan seluruh pihak yang telah membantu.
8. Terima kasih untuk kedua orang tua saya, bapak Bustami dan Ibunda tercinta Ernawilis dan seluruh keluarga yang sangat banyak memberikan

dukungan bantuan moril, material, arahan, dan selalu mendoakan keberhasilan dan keselamatan serta selalu memberikan semangat selama menempuh pendidikan.

Semoga Allah SWT membalas semua amalan dan budi baik yang telah diberikan semua pihak dalam membantu penulis. Penulis menyadari sepenuhnya skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi penyempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang berguna bagi ilmu pengetahuan serta bermanfaat bagi kita semua.

Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, 02 Oktober 2020

Penulis

ABSTRAK

Tomat (*Solanum lycopersicum.L*) merupakan tanaman sayuran yang banyak diproduksi di Indonesia, namun konsumsi buah tomat masih sangat sedikit dibandingkan ketersediaan buah tomat. Buah tomat yang berlebih akan membusuk dan menjadi limbah. Padahal tomat kaya akan senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologis bagi tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi metabolit sekunder yang terkandung dalam buah tomat yang dikukus dengan metode maserasi dan anti pelarut. Buah tomat dikukus kemudian dimaserasi menggunakan heksan (1:4), lalu maserat yang diperoleh diuapkan hingga menjadi ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental ditambahkan metanol sebagai antisolvent sampai terbentuk endapan. Dari 10 kg tomat yang diisolasi didapatkan endapan seberat 0,203 g. Endapan yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan KLT, Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrofotometer IR. Berdasarkan hasil analisis KLT didapatkan nilai R_f senyawa 0,475 cm. Hasil analisis Spektrofotometer UV-Vis menunjukkan ada 3 puncak yaitu pada panjang gelombang 455 nm, 481nm, dan 515 nm. Hasil analisis gugus fungsi dengan menggunakan Spektrofotometer FTIR didapatkan gugus fungsi C-H pada bilangan gelombang pada 2914,77 cm^{-1} dan 2856,82 cm^{-1} , gugus C=C pada bilangan gelombang 1640,51 cm^{-1} , gugus CH_2 pada bilangan gelombang 1456,56 cm^{-1} , C-C pada bilangan gelombang 1082,67 cm^{-1} . Berdasarkan hasil analisis Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrofotometer FTIR diduga senyawa metabolit sekunder hasil isolasi adalah likopen.

Kata kunci : Likopen, Antisolvent, Buah tomat, Spektro UV-Vis, FTIR.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum.L*) is a vegetable much to get in Indonesia, having the secondary metabolite compounds and having the pharmacological effect for our body, however, the consumption rate of tomatoes is low compared with its production. It drives the tomatoes to decompose to be the cesspit. The study aims to isolate the secondary metabolite compounds in tomatoes by steaming with the maceration method and the anti-solvent. The steaming tomatoes are macerated by using hexane (1:4), then the Maserati is evaporated until it becomes an extract. It is added the methanol as the anti-solvent until become a precipitate . From 10 kg tomatoes is produced 0,203 g precipitate after isolating and then it is analyzed by using KLT, Spektrofotometer UV-Vis, and Spektrofotometer IR. Based on the result analysis of KLT is got the compound value of R_f 0,475. The Spektrofotometer UV-Vis result showed three wavelengths are on the wavelength 455 nm 581nm, and 515 nm. The result of the functional groups by using the Spektrofotometer FTIR got the C-H group on the number of the wavelengths of 2914,77 cm^{-1} , and 2856,82 cm^{-1} , the C=C group on the number of the wavelengths of 1640 cm^{-1} , the CH₂ group on the number of 1640,51 cm^{-1} , 1456,56 cm^{-1} , the C-C on the number of 1082,67 cm^{-1} . Based on the result analysis of Spektrofotometer Uv-Vis and Spektrofotometer FTIR is surmised the compound of the isolation result called lycopene.

Keywords: Lycopene, antisolvent, tomatoes, UV-Vis Spectra, FTIR.

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINILITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Botani <i>Solanum lycopersicum</i>	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Jenis-Jenis Tomat.....	6
2.1.4 Nama Daerah Tomat	7
2.1.5 Ekologi dan Penyebaran Tomat	7
2.1.6 Kandungan Kimia Tomat.....	8
2.1.7 Karatenoid.....	9
2.1.8 Manfaat Tomat.....	10
2.2 Metoda isolasi	12
2.2.1 Ekstraksi.....	12
2.2.1.1 Metoda Ekstraksi	13
2.3 Karakterisasi Senyawa	14
2.3.1 Kromatografi.....	14
2.3.1.1 HPLC	14
2.3.1.2 Cara Kerja HPLC	16
2.3.1.3 Komponen HPLC.....	16
2.3.1.2 KLT.....	20
2.3.1.3 GC-MS	22
2.3.2 Spektrofotometri	23
2.3.2.1 Spektrofotometer Uv-Vis.....	24
2.3.2.2 Bagian-Bagian Spektro UV-Vis	25
2.3.3 Spektrofotometer IR.....	27
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	31
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	31
3.2 Alat dan Bahan.....	31
3.2.1 Alat-alat	31
3.2.2 Bahan-bahan.....	31

3.3. Prosedur Penelitian	31
3.3.1 Pengambilan sampel.....	31
3.3.2 Identifikasi sampel	31
3.3.3 Persiapan sampel	32
3.3.4 Proses Ekstraksi.....	32
3.4. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi	33
3.4.1 Organoleptis	33
3.4.2 Rendemen.....	33
3.4.2. Analisis Profil Kimia Dengan KLT	33
3.4.3 Analisis Dengan Spektro UV-Vis	34
3.4.4 Analisis Dengan Spektro IR.....	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1. Hasil	35
4.2. Pembahasan.....	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1. Kesimpulan	44
5.2. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Identifikasi Tanaman Tomat	49
Lampiran 2. Skema Kerja	50
Lampiran 3. Foto kerja penelitian	51
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen.....	52
Lampiran 5. Hasil Analisis GCMS	53

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Gizi Buah Tomat Segar	7
Tabel 2. Tabel Kolerasi Infra Merah.....	28
Tabel 3. Hasil Pemeriksaan organoleptis	37
Tabel 4. Hasil Perhitungan Rendemen endapan	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Buah tomat (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	5
Gambar 2. Struktur karoten.....	8
Gambar 3. Struktur Xanthofil	8
Gambar 4. Bagan Alat HPLC	15
Gambar 5. Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis	24
Gambar 6. Hasil KLT.....	38
Gambar 7. Hasil Analisis Spektrofotometer Uv-Vis	39
Gambar 8. Spectrum UV-Vis Kristal likopen literature.....	40
Gambar 9. Hasil Spektrofotometer FTIR.....	41
Gambar 10. Spektrum Kristal likopen literature	41
Gambar 11. Surat Identifikasi Tanaman	48
Gambar 12. Skema Kerja	49
Gambar 13. Foto tomat, foto proses fraksinasi air tomat, endapan.....	50

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tomat (*Solanum lycopersicum*) merupakan tanaman sayuran yang termasuk dalam family *Solanaceae* (Dewi dan Jumini, 2012). Kata tomat berasal dari bahasa aztek, salah satu suku Indian yaitu xitomate atau xitotomate. Tomat berasal dari amerika latin dan merupakan tumbuhan asli amerika tengah dan selatan. Tanaman ini sudah muncul di malaysia sekitar tahun 1650 dan sampai di Indonesia atas jasa orang belanda dan mulai dibudidayakan pada tahun 1961 (Leovini, 2012). Tanaman tomat merupakan golongan herba semusim, tingginya dapat mencapai 2,5 m, ditanam sebagai tanaman buah di ladang, pekarangan, atau ditemukan liar pada ketinggian 1-1600 m dpl. Tomat berbentuk perdu atau semak dan termasuk kedalam golongan tanaman berbunga (*Angiospermae*) dan termasuk tanaman setahun, tumbuh tegak atau bersandar pada tanaman lain, bercabang banyak, berbau kuat serta berambut. Buah ini berasal dari keluarga terung-terungan atau *Solanaceae* (Siddiq, 2010).

Berdasarkan hasil survei Sosial Ekonomi Nasional (SUSENAS) periode 2010-2014 menunjukkan bahwa konsumsi rata-rata buah tomat di Indonesia sebesar 1,9 kg/kapita rumah tangga dimana angka ini lebih kecil bila dibandingkan dengan ketersediaan buah tomat dari Neraca Bahan Makanan (NBM) dengan nilai rata-rata sebesar 3,49 kg/ kapita rumah tangga (Respati dkk.,2014). Produksi buah tomat yang berlebih dan tidak dimanfaatkan secara efektif seringkali dapat menimbulkan masalah bagi lingkungan karena buah tomat yang membusuk dan akhirnya menjadi limbah. Tomat merupakan komoditas yang

mudah rusak, hal ini disebabkan karena kadar air buah tomat yang tinggi yaitu lebih dari 93%, sehingga umur simpan singkat, susut bobot tinggi akibat penguapan, perubahan fisik cepat, memicu pertumbuhan mikroba, serta perubahan fisikokimia. Kerusakan buah tomat berpengaruh pada tingkat kesegaran, penurunan mutu fisik dan nilai gizi, untuk mengatasinya tomat perlu diolah lebih lanjut (Chairunnisa, 2012).

Tomat kaya akan kandungan senyawa metabolit sekunder seperti steroid, terpenoid, flavonoid, karotenoid dan sebagainya memiliki efek farmakologi tertentu bagi tubuh (Saraf dkk, 2011). Manfaat yang dimiliki oleh tomat yaitu mampu mengobati penyakit demam, kelainan pencernaan, diabetes, obesitas, bahkan mampu menurunkan resiko kanker (Chandra dkk, 2013).

Metabolit sekunder nonpolar yang terdapat ditomat adalah golongan karotenoid seperti α -, β -, γ karoten, likopen zeaxanthin lutein. Metabolit sekunder nonpolar yang paling banyak terdapat ditomat salah satunya likopen, yaitu suatu karotenoid pigmen merah terang yang banyak ditemukan dalam buah tomat dan buah-buahan lain yang berwarna merah. Likopen dapat diolah menjadi produk-produk kesehatan yang bernilai tinggi (Utami, 2012). Dalam industri pangan likopen digunakan sebagai pewarna alami, mencegah kerusakan pangan akibat oksidasi (Koski dkk, 2002). Dalam industri kosmetik digunakan sebagai pencegah kerusakan kulit. Asupan makanan dari produk buah tomat yang mengandung likopen terbukti mampu mengurangi risiko penyakit kronis seperti mencegah penyakit kardiovaskular, kencing manis, osteoporosis, infertilitas, dan kanker (Di Mascio P dkk, 1989).

Penelitian (Alda *dkk*, 2009) kandungan likopen olahan buah tomat ternyata cenderung lebih besar dari pada kandungan likopen pada tomat yang masih segar. Buah tomat yang masih segar memiliki kandungan likopen sekitar 12 mg/100 g. Pada produk olahan tomat tomat memiliki kandungan likopen yang cenderung lebih besar seperti pada pasta tomat dengan kandungan likopen sekitar 29,3 mg/100 g, saus tomat dengan kandungan 15,9 mg/100g. Penelitian yang dilakukan oleh Andayani *dkk*, (2008) diperoleh kadar likopen pada buah tomat segar sebesar 14,725 mg/kg.

Berdasarkan uraian diatas maka dari itu peneliti tertarik untuk mengisolasi metabolit sekunder yang ada pada buah tomat yang dikukus karena kandungan senyawa metabolit sekunder salah satunya likopen pada buah tomat yang sudah dilakukan pengolahan lebih tinggi dari pada buah tomat yang belum diolah, dan ditinjau dari studi literatur masih minim yang melakukan isolasi metabolit sekunder dari buah tomat yang dikukus.

1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah dapat diisolasi metabolit sekunder dari ekstrak non polar tomat hasil pengukusan?
2. Bagaimanakah karakterisasi metabolit sekunder dari ekstrak non polar tomat hasil pengukusan?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengisolasi metabolit sekunder dari ekstrak nonpolar tomat yang dikukus.
2. Untuk mengetahui karakterisasi metabolit sekunder dari ekstrak non polar dari buah tomat yang dikukus.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan data tentang senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak non polar buah tomat yang dikukus.
2. Menambah wawasan, keterampilan dan pengalaman dalam mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa bahan alam.
3. Aplikasi penerapan dalam ilmu kefarmasian

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Tomat (*Solanum lycopersicum*)

2.1.1 Klasifikasi Tomat (Jones, 2008)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Spesies	: <i>Solanum lycopersicum</i> .



Gambar 1. Buah tomat (Jones, 2008)

2.1.2 Morfologi Tomat (*Solanum lycopersicum*)

Tanaman tomat merupakan tanaman herba semusim dari keluarga Solanaceae. Batang tanaman tomat bervariasi ada yang tegak atau menjalar, padat dan merambat, berwarna hijau, berbentuk silinder dan ditumbuhi rambut-rambut halus terutama dibagian yang berwarna hijau. Daunnya berbentuk oval dan bergerigi dan termasuk daun majemuk. Daun tanaman tomat biasanya berukuran panjang sekitar 20–30 cm serta lebarnya 16–20 cm. Daun tanaman tomat memiliki jarak yang dekat dengan ujung dahan sementara tangkai daunnya berbentuk bulat

berukuran 7–10 cm. Bunga tomat berwarna kuning cerah termasuk hermaprodit dan dapat menyerbuk sendiri (Setiawan, 2015).

Tanaman tomat memiliki akar tunggang dengan akar samping yang menjalar ke samping. Warna buah tomat bervariasi dari kuning, orange sampai merah tergantung dari pigmen yang dominan. Buah tomat adalah buah buni, buah yang masih muda memiliki warna hijau dan memiliki bulu yang keras, setelah tua buah akan berwarna merah muda, merah atau kuning mengkilat dan relatif lunak. Buah tomat memiliki diameter sekitar 4–15 cm, rasanya juga bervariasi mulai dari asam hingga asam kemanisan. Buah tomat berdaging dan banyak mengandung air, didalamnya terdapat biji berbentuk pipih berwarna coklat kekuningan. Buah tomat memiliki panjang 3-5 mm dan lebar 2-4 mm. Biji tomat saling melekat, diselimuti daging buah dan tersusun berkelompok dengan dibatasi daging buah. Jumlah biji tomat setiap buah bervariasi, umumnya adalah 200 biji per buah (Nyoman, 2016).

2.1.3 Jenis – Jenis Tomat

Ada 5 (lima) jenis buah tomat berdasarkan bentuk buahnya (Musaddad, 2003; Wiryanta, 2002), yaitu :

1. Tomat biasa (*L. commune*) yang banyak ditemui di pasar-pasar lokal.
2. Tomat apel atau pir (*L. pyriporme*) yang buahnya berbentuk bulat dan sedikit keras menyerupai buah apel atau pir. Tomat jenis ini juga banyak ditemui di pasar lokal.
3. Tomat kentang (*L. grandifolium*) yang ukuran buahnya lebih besar bila dibandingkan dengan tomat apel.
4. Tomat gondol (*L. validum*) yang bentuknya agak lonjong, teksturnya keras dan berkulit tebal.

5. Tomat ceri (*L. esculentum* var *cerasiforme*) yang bentuknya bulat, kecil kecil dan rasanya cukup manis.

2.1.4 Nama Daerah Tomat (*Solanum lycopersicum*)

Menurut siddiq (2010), tomat memiliki beberapa nama daerah seperti di Sumatera yaitu terong kaluwat, reteng, cung asam. Di pulau jawa yaitu kemir, leunca komir (Sunda), ranti bali, ranti gendel, ranti kenong, rante, rante raja, terong sabrang, tomat (Jawa). Di Sulawesi memiliki nama daerah kamantes, samate, samatet, samante, temantes, komantes, antes, tomato, tamati, tomate.

2.1.5 Ekologi dan Penyebaran Tomat

Tanaman tomat berasal dari Amerika, yaitu daerah Andean yang merupakan bagian dari negara-negara Bolivia, Chili, Colombia, Ecuador, dan Peru (Badan Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, 2004). Penyebaran tanaman tomat dilakukan oleh burung yang memakan buah tomat dan menyebarkannya lewat kotoran. Tanaman tomat telah tersebar di daerah pegunungan Indonesia sejak tahun 1811 (Istiyastuti & Yanuharso, 1996).

Di negara tropis seperti Indonesia, tanaman tomat memiliki daerah penyebaran yang cukup luas, yaitu di dataran tinggi (≥ 700 m dpl), dataran medium tinggi (450 - 699 m dpl), dataran medium rendah (200 - 499 m dpl), dan dataran rendah (≤ 199 m dpl) (Purwati dan Khairunisa, 2007).

2.1.6 Kandungan Kimia Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*)

Buah tomat (*Solanum lycopersicum*) memiliki kandungan vitamin A dan C, serta senyawa yang baik untuk kesehatan terutama likopen. Likopen merupakan zat warna merah yang paling banyak terdapat pada buah tomat (Winarti, 2010). Buah tomat mengandung alkaloid solenoid (0,007%), saponin, asam folat, asam

malat, asam sitrat, bioflavonoid (termasuk rutin), protein, lemak, gula (glukosa, fruktosa), adenine, trigonelin, kholin, tomatin, mineral seperti Ca, Mg, P, K, Na, Fe, sulfur, chlorine, dan vitamin seperti B1, B2, B6, C,E, likopen, niasin, serta histamin. Daunnya mengandung pectin, arbutin, amigladin, dan alkaloid (Siddig, 2010).

Tabel 1. Kandungan gizi buah tomat segar (matang) tiap 180 gram

Nutrien	Jumlah	Kebutuhan per hari (%)	Kepadatan nutrisi
Vitamin C	34,38 mg	57,3	27,3
Vitamin A	1121,40 IU	22,4	10,7
Vitamin K	14,22 mcg	18,8	8,5
Molybdenum	9,00 mcg	12,0	5,7
Kalium	399,6 mg	11,4	5,4
Mangan	0,19 mg	9,5	4,5
Serat	1,98 g	7,9	3,8
Kromium	9,00 mcg	7,5	3,6
Vitamin B1	0,11 mg	7,3	3,5
Vitamin B6	0,14 mg	7,0	3,3
Folat	27,00 mcg	6,8	3,2
Tembaga	0,13 mg	6,5	3,1
Vitamin B3	1,13 mg	5,6	2,7
Vitamin B2	0,09 mg	5,3	2,5
Magnesium	19,80 mg	5,0	2,4
Vitamin B5	0,44 mg	4,4	2,1
Phosphor	43,20 mg	4,3	2,1
Vitamin E	0,68 mg	3,4	1,6
Tryptphan	0,01 g	3,1	1,5
Protein	1,53 g	3,1	1,5
Besi	0,81 mg	4,5	2,1

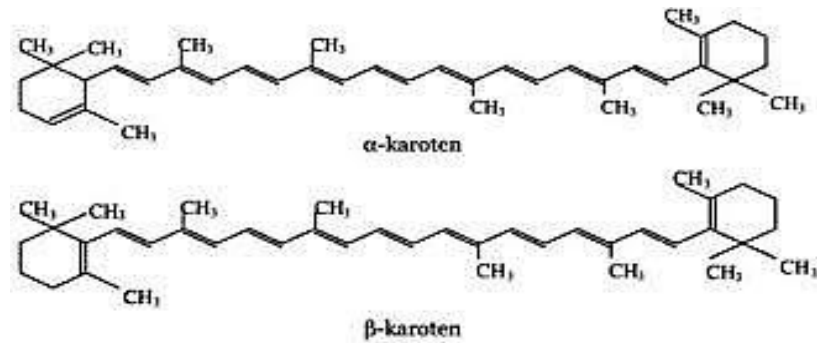
(Sumber : Whfoods.org, 2007).

2.1.7 Karotenoid

Karotenoid merupakan suatu zat alami yang sangat penting dan mempunyai sifat larut dalam lemak atau pelarut organik tetapi tidak larut dalam air yang merupakan suatu kelompok pigmen berwarna oranye, merah atau kuning. Senyawa ini ditemukan tersebar luas dalam tanaman dan buah-buahan dan tidak diproduksi oleh tubuh manusia. Karakteristik dari karotenoid adalah sensitif terhadap alkali dan sangat sensitif terhadap udara dan sinar terutama pada suhu tinggi, tidak larut dalam air, gliserol dan propilen glikol. Karotenoid larut dalam minyak makan pada suhu kamar. Cara ekstraksi karotenoid sangat efisien karena sifat komponen yang akan dipisahkan sensitif terhadap panas, mempunyai titik didih yang berdekatan, dan mempunyai sifat penguapan yang relatif rendah (Jos, dkk, 2003).

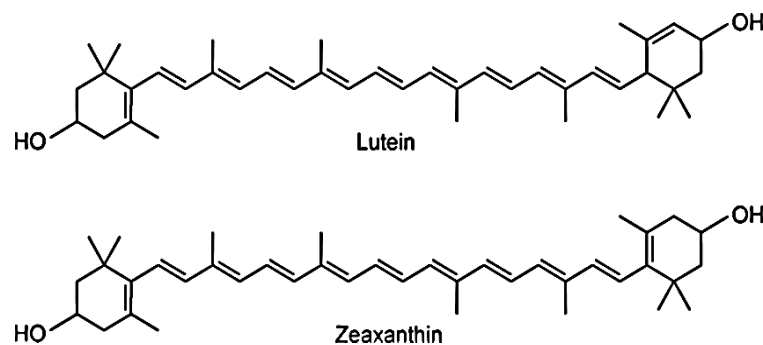
Karotenoid mempunyai sifat-sifat tertentu, diantaranya tidak larut dalam air, larut sedikit dalam minyak, larut dalam hidrokarbon alifatik dan aromatik seperti heksana dan benzene serta larut dalam kloroform dan metilen klorida. Karotenoid harus selalu disimpan dalam ruangan gelap (tidak ada cahaya) dan dalam ruangan vakum, pada suhu -20°C . Karotenoid merupakan senyawa yang mempunyai rumus kimia sesuai atau mirip dengan karoten. Berdasarkan unsur-unsur penyusunnya karotenoid dapat digolongkan dalam dua kelompok pigmen yaitu karoten dan xantofil.

1. Karoten merupakan hidrokarbon atau turunannya yang terdiri dari beberapa unit isoprena (suatu diena), mempunyai susunan kimia yang hanya terdiri dari C dan H, seperti α -, β -, γ karoten, likopen.



Gambar 2. Struktur Karoten (Khachik *dkk*, 2002).

2. Xantofil merupakan karotenoid yang mengandung gugus C, H dan O. Xantofilumum biasanya berupa monohidroksikarotena (misalnya lutein, rubixantin) dihidroksikarotena (zeaxantin), atau dihidroksiepoksikarotena (violaxantin).



Gambar 3. Struktur Molekul Xantofil (Khachik *dkk*, 2002).

2.1.8 Manfaat Tomat (*Solanum lycopersicum*)

Tomat sangat bermanfaat bagi tubuh, karena mengandung vitamin dan mineral yang diperlukan untuk pertumbuhan dan kesehatan. Sebagai sumber vitamin, buah tomat sangat baik untuk mengobati berbagai macam penyakit, seperti sariawan karena kekurangan vitamin C, xerophthalmia pada mata karena kekurangan vitamin A, bibir merah dan radang lidah karena kekurangan vitamin

D (Cahyono, 2008). Sebagai sumber mineral, buah tomat bermanfaat untuk pembentukan tulang dan gigi (zat kapur dan fosfor). Sedangkan zat besi (Fe) yang terkandung dalam buah tomat dapat berfungsi untuk pembentukan sel darah atau hemoglobin (Cahyono, 2008). Buah tomat mengandung serat yang berfungsi memperlancar proses pencernaan makanan dalam perut. Selain itu buah tomat juga mengandung potasium yang sangat bermanfaat untuk menurunkan gejala tekanan darah tinggi (Cahyono, 2008). Zat belerang (Sulfur) yang terkandung dalam buah tomat dapat mencegah radang hati dan radang usus buntu. Zat klorin yang ada didalam buah tomat dapat merangsang fungsi hati lebih aktif membersihkan zat-zat tidak berguna (Cahyono, 2008).

Likopen dapat melindungi tubuh dari kanker prostat serta beberapa jenis kanker lain serta penyakit jantung koroner. Kemampuan likopen dalam meredam oksigen tunggal dua kali lebih baik dari pada beta-karoten dan sepuluh kali lebih baik dari alfa-tokoferol (Sunarmani, 2008). Likopen yang terkandung pada tomat memiliki potensi antioksidan yang tinggi dan dapat mencegah radikal bebas yang menyebabkan berbagai penyakit kronis termasuk kanker (Agarwal dan Rao, 2000).

Beberapa penelitian telah menunjukan manfaat likopen bagi kesehatan. Pada kesehatan wanita, likopen bermanfaat dalam penyembuhan kanker payudara serta osteoporosis. Peng, *dkk*, (1998) menyebutkan bahwa penelitian - penelitian terbaru mengindikasikan wanita yang memiliki kandungan likopen rendah rentan terkena kanker serviks dan kanker ovarium dibandingkan dengan yang memiliki kandungan likopen yang lebih tinggi. Berbagai karotenoid, termasuk likopen,

telah diteliti untuk melihat hubungannya dengan kanker serviks. Hanya likopen yang memiliki efek protektif (Sunarmani, 2008).

2.2 Metoda Isolasi

2.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Secara garis besar, proses pemisahan secara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar yaitu :

1. Penambahan sejumlah masa pelarut untuk dikontakkan dengan sampel, biasanya melalui proses difusi.
2. Zat terlarut akan terpisah dari sampel dan larut oleh pelarut membentuk fase ekstrak.
3. Pemisahan fase ekstrak dengan sampel (Wilson *dkk*, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai dan diuapkan hingga semua atau hampir semua pelarut menguap dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000). Ekstraksi adalah suatu proses penarikan kandungan kimia dari suatu bahan yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Tujuan ekstraksi bahan alam yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam suatu bahan alam yang didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut

dimulai dari lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.2.1.1 Metoda Ekstraksi (Depkes RI, 2000.)

Ekstraksi Dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metoda pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetic berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau pengampungan ekstrak), dan terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

Ekstraksi Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didhnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

2. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendinginan balik.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperature ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40-50°C.

4. Infus

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur (96-98°C) selama waktu tertentu 15-20 menit.

5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ≥ 30 menit.

2.3 Karakterisasi Senyawa

2.3.1 Kromatografi

Kromatografi adalah cara pemisahan campuran yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa zat cair atau zat padat, sedangkan fase gerak dapat berupa zat cair atau gas (Estien, 2005).

Kromatografi adalah metoda pemisahan campuran menjadi berbagai komponennya berdasarkan kesetimbangan heterogen yang terjadi selama Bergeraknya pelarut yang disebut fase gerak melewati fase diam untuk memisahkan dua komponen atau lebih dari materi yang dibawa oleh pelarut. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan sedangkan fase gerak dapat berupa cairan atau gas (Touchstone, 1983). Teknik kromatografi yang umum digunakan

dibidang farmasi yaitu kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis dan kromatografi gas.

2.3.1.1 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC atau biasa juga disebut Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) mulai dikembangkan pada akhir tahun 1960-an dan awal tahun 1970-an. HPLC termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fase gerak cairan dan fase diamnya cairan atau padat. HPLC memiliki banyak kelebihan dibanding teknik kromatografi yang lain, diantaranya mampu memisahkan molekul dalam campuran, mudah melaksanakannya, kecepatan analisis dan kepekaan tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor (menurut kebutuhan), kolom dapat digunakan kembali, serta dapat dilakukan sample recovery. HPLC merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif (Putra, 2004).

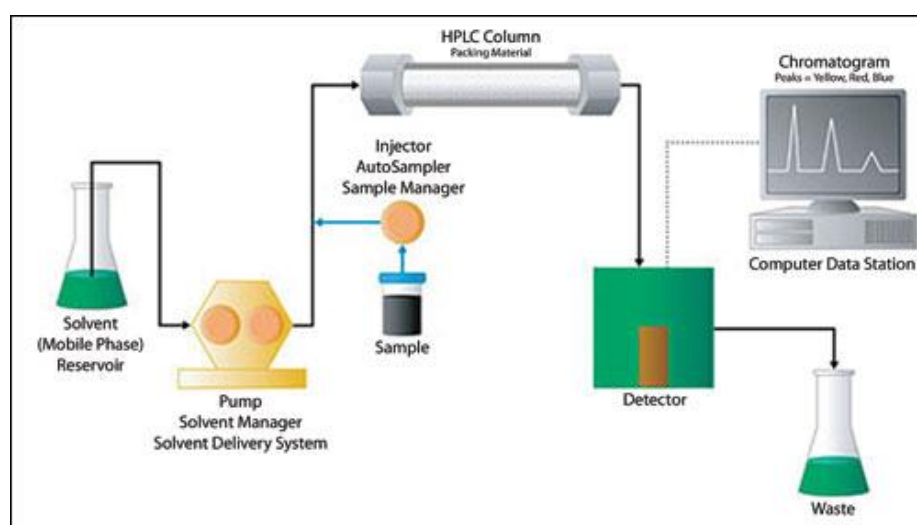
Kromatografi fase terbalik sejauh ini adalah teknik paling banyak digunakan dalam HPLC. Teknik ini sangat populer karena dapat diterapkan untuk analit yang kebanyakan non polar dan senyawa-senyawa ionik dan terionkan (zwitter ion). Fase diam yang paling sering digunakan dalam kromatografi fase terbalik adalah fase diam yang bersifat hidrofobik di alam (Majors, 2003). Oktadesil silika (ODS atau C18) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran rendah, sedang, maupun tinggi. Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran larutan buffer dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril (Rohman, 2007).

Detektor UV-Vis merupakan detektor yang paling banyak digunakan. Detektor spektrofotometri UV-Vis merupakan detektor dengan sensitivitas tinggi karena dapat menganalisis analit meskipun beratnya hanya dalam skala nano gram. Selain itu, detektor ini juga tidak dipengaruhi suhu. Pendeteksian detektor ini didasarkan pada transisi elektronik elektron dari keadaan dasar menuju keadaan tereksitasi. (Day dan Underwood, 2002).

2.3.1.2 Cara Kerja HPLC

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Rohman, 2007).

2.3.1.3 Komponen HPLC



Gambar 4. Bagan Alat HPLC

a. Wadah Fase Gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (inert). Wadah pelarut kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak. Wadah ini biasanya dapat meampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan degassing (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama dipompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis (Rohman, 2007).

b. Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat sebagaimana syarat wadah pelarut yakni : pompa harus inert terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon, dan batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3 ml/menit. Untuk tujuan preparatif, pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20 mL/menit (Rohman, 2007).

c. Injektor

Ada 3 jenis injektor, yakni syringe injector, loop valve dan automatic injector (autosampler). Syringe injector merupakan bentuk injektor yang paling sederhana (Meyer, 2004). Pada waktu sampel diinjeksikan ke dalam kolom, diharapkan agar aliran pelarut tidak mengganggu masuknya keseluruhan sampel ke dalam kolom. Sampel dapat langsung diinjeksikan ke dalam kolom (on column injection) atau digunakan katup injeksi (Adnan, 1997).

d. Kolom

Kolom merupakan jantung kromatografi. Keberhasilan atau kegagalan analisis bergantung pada pemilihan kolom dan kondisi kerja yang tepat. Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok. Pertama kolom analitik mempunyai garis tengah dalam 2 – 6 mm. Panjang bergantung pada jenis kemasan, untuk kemasan pelikel biasanya panjang kolom 50 – 100 cm. Untuk kemasan mikropartikel berpori, biasanya 10 – 30 cm. Kedua kolom preparatif umumnya bergaris tengah 6 mm atau lebih besar dan panjang kolom 25 – 100 cm. Kolom umumnya dibuat dari stainless steel dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan temperatur lebih tinggi, terutama untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi. Kemasan kolom tergantung pada mode HPLC yang digunakan (Johnson, 1991).

e. Detektor

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen cuplikan dalam aliran yang keluar dari kolom. Detektor-detektor yang baik memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan (noise) yang rendah, kisar respons linier yang luas, dan memberi tanggapan/respon untuk semua tipe senyawa. Suatu kepekaan yang rendah terhadap aliran dan fluktuasi temperatur sangat diinginkan, tetapi tidak selalu dapat diperoleh. Detektor yang paling banyak digunakan dalam kromatografi cair modern kecepatan tinggi adalah detektor spektrofotometer UV 254 nm. Berbagai macam detektor dengan variasi panjang gelombang UV-Vis sekarang menjadi populer karena mereka dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa dalam rentang yang luas. Detektor indeks refraksi juga secara luas digunakan, terutama dalam kromatografi eksklusi, tetapi umumnya kurang sensitif dari pada detektor

spektrofotometer UV. Detektor lainnya, antara lain: detektor fluometer, detektor ionisasi nyala, detektor elektrokimia dan lain-lain juga telah digunakan.

f. Pengolahan Data

Komponen yang terelusi mengalir ke detektor dan dicatat sebagai puncak-puncak yang secara keseluruhan disebut sebagai kromatogram. Guna kromatogram:

1. Kualitatif Waktu retensi selalu konstan dalam setiap kondisi kromatografi yang sama dapat digunakan untuk identifikasi.
2. Kuantitatif Luas puncak proporsional dengan jumlah sampel yang diinjeksikan dan dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi.
3. Kromatogram dapat digunakan untuk mengevaluasi efisiensi pemisahan dan kinerja kolom (kapasitas ' k ', selektivitas ' α ', jumlah pelat teoritis ' N ', jarak setara dengan pelat teoritis ' $HETP$ ' dan resolusi ' R ').

g. Fase Gerak

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel (Johnson, 1991). Dalam kromatografi cair komposisi pelarut atau fase gerak adalah satu variabel yang mempengaruhi pemisahan. Terdapat keragaman yang luas dari fase gerak yang digunakan dalam semua mode KCKT, tetapi ada beberapa sifat-sifat yang diinginkan yang mana umumnya harus dipenuhi oleh semua fase gerak. Fase gerak harus:

1. Murni; tidak ada pencemar/kontaminan
2. Tidak bereaksi dengan pengemas
3. Sesuai dengan detektor
4. Melarutkan cuplikan
5. Mempunyai viskositas rendah
6. Mudah rekovery cuplikan, bila diinginkan
7. Tersedia diperdagangan dengan harga yang pantas Umumnya, pelarut-pelarut dibuang setelah digunakan karena prosedur pemurnian kembali membosankan dan mahal.

Dari semua persyaratan di atas, 4 persyaratan pertama adalah yang paling penting. Gelembung udara (degassing) yang ada harus dihilangkan dari pelarut, karena udara yang terlarut keluar melewati detektor dapat menghasilkan banyak noise sehingga data tidak dapat digunakan (Johnson, 1991). Elusi Gradien dan Isokratik Elusi dapat dilakukan dengan cara isokratik (komposisi fase gerak tetap selama elusi) atau dengan cara bergradien (komposisi fase gerak berubah – ubah selama elusi). Elusi bergradien digunakan untuk meningkatkan resolusi campuran yang kompleks terutama jika sampel mempunyai kisaran polaritas yang luas (Rohman, 2007).

2.3.1.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah proses pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penyerapan, partisi, atau gabungannya. KLT merupakan salah satu teknik kromatografi yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif senyawa organik, isolasi senyawa tunggal dari campuran multikomponen, analisis kuantitatif, dan isolasi skala preparatif (Waksmundzka *dkk*, 2008). Pada KLT tekniknya menggunakan penyokong fase diam berupa lapisan tipis

seperti lempeng kaca, alumunium, atau pelat inert. Adsorben yang digunakan biasanya terdiri dari silika gel atau alumina dapat langsung atau dicampur dengan bahan perekat misalnya kalsium sulfat untuk dilapiskan pada pelat kaca, lembaran alumunium atau lembaran sintetik yang dapat langsung dipakai (Estien, 2005). Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan dimana fasa diam berupa zat padat yang disebut adsorben (penyerap) dan fasa gerak berupa zat cair yang disebut larutan pengembang (Roy dkk., 1991).

KLT merupakan cara pemisahan campuran untuk mendapatkan senyawa murninya dan mengetahui kuantitasnya. KLT dapat dipakai dengan dua tujuan, pertama dipakai selayaknya sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif, atau preparatif. Kedua sebagai uji pendahuluan untuk optimasi sistem fase gerak dan sistem fase diam yang akan dipakai dalam kromatografi kolom atau kromatografi cair kinerja tinggi. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobik seperti lipida lipida dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. KLT juga berguna untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dengan kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi, dan isolasi senyawa murni dalam skala kecil

Dalam mengidentifikasi noda-noda dalam kromatografi sangat lazim menggunakan nilai R_f (*Retardation Factor*) yang didefinisikan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh noda}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Nilai R_f dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik awal dibagi dengan jarak yang ditempuh pelarut. Nilai R_f yang baik menunjukkan pemisahan yang cukup baik berkisar antara 0,2-0,8 cm.

2.3.1.3 GC-MS

Gas Chromatography Mass Spectrometry merupakan gabungan dua buah alat yaitu kromatografi gas dan spektrometri massa. GC-MS digunakan untuk mendeteksi massa antara 10 m/z hingga 700 m/z (Fessenden,1982). Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel (Agusta, 2000). Prinsip kerja dari kromatografi gas terkait dengan titik didih senyawa yang dianalisis serta perbedaan interaksi analit dengan fase diam dan fase gerak. Senyawa dengan titik didih yang tinggi memiliki waktu retensi yang lama. Senyawa yang lebih terikat dalam fase cair pada permukaan fase diam juga memiliki waktu retensi yang lebih lama (Clark, 2007). Spektrometri massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta, 2000). Prinsip kerja spektrometri massa adalah menembak bahan yang sedang dianalisis dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu spektrum fragmen ion positif. Fragmen-fragmen tersebut berkelompok sesuai dengan massanya (Fessenden,1982). Kebanyakan analisis dengan GCMS dapat dibagi dalam dua kelompok, yaitu: kualitatif dan kuantitatif. Kedua analisis tersebut menggunakan spektrometer massa sebagai detektor (Munson, 1991).

Berdasarkan analisis GC– MS diperoleh dua informasi dasar, yaitu hasil analisis kromatografi gas yang ditampilkan dalam bentuk kromatogram dan hasil analisis spektrometri massa yang ditampilkan dalam bentuk spektrum

massa. Kromatogram memberikan informasi mengenai jumlah komponen kimia yang terdapat dalam campuran yang dianalisis (jika sampel berbentuk campuran) yang ditunjukkan oleh jumlah puncak yang terbentuk pada kromatogram berikut kuantitas masing-masing. Spektrum massa hasil analisis sistem spektroskopi massa merupakan gambaran mengenai jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari suatu komponen kimia (masing-masing puncak pada kromatogram). Setiap fragmen yang terbentuk dari pemecahan suatu komponen kimia memiliki berat molekul yang berbeda dan ditampilkan dalam bentuk diagram dua dimensi, m/z (m/e , massa/muatan) pada sumbu X dan intensitas pada sumbu Y yang disebut spektrum massa (Agusta, 2000).

2.3.2 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan suatu metoda analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor *fototube* (Underwood, 2001). Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk menganalisa suatu senyawa baik kuantitatif maupun kualitatif, dengan cara mengukur transmittan ataupun absorban suatu cuplikan sebagai fungsi dari konsentrasi.

Penentuan secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan pada spektrum suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum senyawa kompleks unsur yang dianalisa dengan kompleks unsur yang dianalisa dengan pengompleks yang sesuai. Spektrofotometris dapat dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual,

lebih mendalam dari absorpsi energi radiasi oleh macam-macam zat. Terancangnya alat ini diawali dari Beer dan Lambert yang menemukan hukum yang menerangkan interaksi bahan kimia dengan gelombang cahaya (electromagnetic), yang disimpulkan dalam hukum Beer-Lambert menyebabkan berkembangnya analisis kimia dengan menggunakan alat instrumentasi yakni spektrofotometer (P Tipler, 1991).

Dalam hukum Beer-Lambert dijelaskan bila suatu media yang transparan, maka bertambah-turunnya intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal dan kepekaan media yang digunakan. Suatu spektrofotometer standar terdiri atas spektrofotometer untuk menghasilkan cahaya dengan panjang gelombang terseleksi yaitu bersifat monokromatik serta suatu fotometer yaitu suatu piranti untuk mengukur intensitas berkas monokromati, penggabungan bersama dinamakan sespektrofotometer. Penggabungan alat optik ini merupakan elektronika sifat kimia dan fisiknya dan detektor yang digunakan secara langsung mengukur intensitas dari cahaya yang dipancarkan (I_t) dan secara tidak langsung cahaya yang diabsorpsi (I_a). Kemampuan ini bergantung pada spectrum elektromagnetik yang diabsorpsi (serap) oleh benda (Khopkar, 2007).

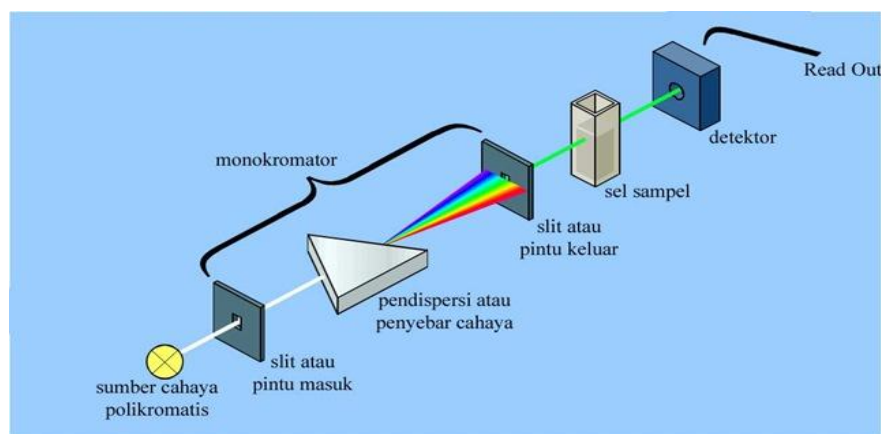
2.3.2.1 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spectrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit didalam larutan

bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum *Lambert-Beer* (Dachriyanus, 2004).

Spektrofotometri visibel merupakan suatu metode analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube. Spektrofotometri dapat dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual dengan studi yang lebih mendalam dari absorpsi energi. Absorpsi radiasi oleh suatu sampel diukur pada berbagai panjang gelombang dan dialirkan oleh suatu perekam untuk menghasilkan spektrum tertentu yang khas untuk komponen yang berbeda. Sinar Ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak (*visible*) mempunyai panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004).

2.3.2.2 Bagian-Bagian Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 5. Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis (Watson, 2009)

Keterangan:

1. Sumber cahaya

Sumber cahaya pada spektrofotometer harus memiliki pancaran radiasi yang stabil dan intensitasnya tinggi. Sumber cahaya pada spektrofotometer UV-Vis ada dua macam :

a. Lampu Deuterium

Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah UV. Memiliki panjang gelombang antara 190-350 nm. Spektrum radiasinya berupa garis lurus.

b. Lampu Tungsten (*Halogen kuartz*)

Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak (*visible*). Bentuk lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa. Memiliki panjang gelombang antara 350-900 nm. Spektrum radiasinya berupa garis lengkung.

2. Monokromator

Monokromator adalah alat yang akan memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen panjang gelombang tertentu.

3. Kuvet

Kuvet atau bejana tempat larutan, dibuat sedemikian rupa sehingga dapat meneruskan sinar dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk.

4. Detektor

Detektor akan menangkap sinar yang diteruskan oleh larutan. Sinar kemudian diubah menjadi sinyal listrik dalam rekorder dan ditampilkan dalam bentuk angka-angka pada reader (komputer). Detektor dapat memberikan respons terhadap radiasi pada berbagai panjang gelombang.

5. Visual *display/recorder*

Merupakan sistem baca yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik, yang menyatakan dalam bentuk % transmittan maupun absorbansi.

2.3.2.3 Prinsip Kerja Spektrofotometer UV-Vis (Dachriyanus, 2004).

Cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun lampu tungsten yang bersifat polikromatis akan diteruskan melalui celah menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis (banyak) menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan ada pula yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor. Detektor kemudian akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif.

Hukum *Lambert-beer* (*Beer's law*) adalah hubungan linearitas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan analit. Absorpsi sinar oleh larutan mengikuti hukum Lambert-Beer, yaitu :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Keterangan :

A = Absorban

ϵ = Koefisien ekstingsi molar ($M^{-1}cm^{-1}$)

b = Tebal Kuvet (cm)

C = Konsentrasi (M)

2.5.1.2 Spektrofotometer Infra Merah (IR)

Spektrofotometri FTIR merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75-1000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000-10 cm^{-1} (Giwangkara 2006).

Spektrofotometri inframerah (*Infra Red*) didasarkan pada penyerapan sinar inframerah oleh molekul senyawa (Adijuwana & Anwar, 1989). Alat ini digunakan untuk mengetahui gugus fungsi suatu senyawa kimia, khususnya senyawa organik (Khopkar, 1990). Cuplikan yang dianalisis dapat berupa zat cair atau zat padat. Bila radiasi inframerah dilewatkan melalui cuplikan, molekul-molekul senyawa dapat mengadsorpsi energi yang hanya dapat menyebabkan molekul mengalami rotasi dan vibrasi (Adijuwana & Anwar, 1989).

Radiasi IR dengan bilangan gelombang antara 10.000-100 cm^{-1} diserap dan diubah oleh molekul organik menjadi energi molekular vibrasi. Penyerapan ini juga terkuantisasi, tetapi spektrum vibrasi menunjukkan ikatan-ikatan sebagai garis-garis, dikarenakan perubahan suatu energi vibrasi tunggal yang diikuti oleh perubahan energi rotasi. Sebagian besar hal ini terjadi di daerah bilangan gelombang antara 4000-400 cm^{-1} . Frekuensi atau panjang

gelombang absorpsi tergantung pada massa relatif atom-atom, tetapan gaya dari ikatan-ikatan dan geometri atom-atom (Silverstein *dkk*, 2012).

Prinsip kerja spektrofotometer IR yaitu radiasi melewati sampel dan larutan pembanding, kemudian melewati monokromator yang terdiri alat pendispersi berupa prisma dan cermin untuk memantulkan dan menfokuskan sinar. Kemudian sinar dipancarkan ke cuplikan yang dapat menyerap energi, setelah itu radiasi IR yang ditangkap oleh detektor, kemudian signal yang dihasilkan dari detektor membentuk puncak-puncak absorpsi berupa grafik (Khopkar, 2010). Pada spektro Infra Red (IR) meskipun bisa digunakan untuk analisa kuantitatif, namun biasanya lebih kepada analisa kualitatif. Umumnya spektro IR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa, terutama senyawa organik. Setiap serapan pada panjang gelombang menggambarkan adanya suatu gugus fungsi spesifik (Ratih, Utari. 2013).

Tabel 2. Tabel Korelasi Infra Merah (Pavia, *dkk*. 2009)

Ikatan tunggal ke hydrogen	Jenis ikatan	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Keterangan
	C-H	3000-2850	Alkana jenuh
	=C-H	3100-3000	Alkana tak jenuh atau aromatic
	O=C-H	2800-2700	Aldehid dua puncak lemah
	O-H	3400-3000	Alkohol,air,fenol.
	O-H bebas	3600	-
	N-H	3450-3100	Amina
Rangkap dua	C=O	1840-1800 dan 1780-1740	Anhidrida
	C=O	1750-1715	Ester
	C=O	1740-1680	Aldehid
	C=O	1725-1665	Asam karboksilat
	C=O	1690-1630	Amida
	C=C	1675-1600	-
	C=N	1690-1630	-
	N=O	1650-1510 dan	Senyawa nitro

		1370-1330	
Ikatan tunggal (bukan hydrogen)	C-C	Tak tetap	-
	C-O, C-N	1400-1000	-
Rangkap tiga	C rangkap tiga	2260-2120	-

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan ± 9 bulan dari bulan Oktober 2019 - Juni 2020 di Laboratorium Biota Sumatera (UPT Sumber Daya Hayati Unand) Universitas Andalas.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian ini botol maserasi, beaker glass, erlenmeyer, gelas piala, chamber, kertas saring timbangan analitik, corong pemisah, gelas ukur, penangas air, seperangkat alat *rotary evaporator*, seperangkat alat destilasi vakum, corong, batang pengaduk, oven, pipet kapiler, spatel, pipet mikro, aluminium foil, termometer, plat tetes, chamber, vial, KLT, Spektrofotometer IR, Spektrofotometri UV-Vis.

3.2.1 Bahan

Buah tomat merah (*Solanum lycopersicum*), heksan, metanol, aquadest, toluen, etil asetat, kloroform, H₂SO₄.

3.3 Prosedur Dan Cara Kerja

3.3.1 Pengambilan Sampel

Buah tomat (*Solanum lycopersicum*) diambil dari Pekan Selasa, Simpang Tj nan IV, Kecamatan Danau Kembar, Alahan Panjang Kab. Solok.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi Fakultas FMIPA, Universitas Andalas.

3.3.3 Persiapan Sampel

Buah tomat yang telah ditimbang sebanyak 10 kg, dicuci bersih dengan air bersih, dan dipisahkan dari bagian yang tidak perlukan seperti tangkai, daun, dan biji. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat pada buah tomat.

3.3.4 Proses Ekstraksi

10 kg buah tomat yang sudah bersih dihaluskan menggunakan blender lalu dikukus sampai mendidih (± 5 menit pada suhu $90-100^{\circ}\text{C}$). Kemudian didinginkan, lalu tomat diperas untuk memisahkan antara air dan ampasnya, selanjutnya ampas tomat dimaserasi dengan heksan 1:4 (ampas 0,597 g : heksan 2,4 L) pada wadah gelap, selama 3×24 jam pada suhu kamar sambil sesekali diaduk, selanjutnya disaring dengan kapas, dan dimaserasi kembali sampai didapatkan maserat jernih. Sedangkan air tomat difraksinasi menggunakan pelarut heksan dengan perbandingan 1:2 (1 liter air tomat : 2 liter heksan) sampai didapatkan fraksi jernih. Setelah diperoleh maserat dari ampas dan air keduanya digabungkan lalu diuapkan pelarutnya dengan destilasi vakum dan untuk memperoleh ekstrak kentalnya diuapkan dengan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan pengendapan senyawa dengan cara ekstrak kental ditambah metanol sebagai antisolvent sampai terjadi pengendapan, lalu dibiarkan beberapa jam sampai pengendapan terjadi sempurna. Kemudian endapan disaring dengan menggunakan kertas saring, lalu endapan dimurnikan dengan cara endapanya ditambah dengan metanol sampai didapatkan endapan murni, setelah dimurnikan lalu dilihat profil kandungan kimianya dengan KLT, menggunakan eluen yaitu Toluen :

Heksan (1:19), dan endapan yang telah murni dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Vis, Spektrofotometer IR.

3.4 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

3.4.1 Organoleptis

Pemeriksaan dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, bau dan rasa dari sampel. Pemeriksaan warna dilakukan dengan cara melihat langsung secara visual. Pemeriksaan bau dilakukan dengan cara mencium diatas kertas saring. Pemeriksaan rasa dilakukan dengan cara mengecap sampel.

3.4.2 Rendemen

Rendemen endapan dihitung dengan cara membandingkan berat endapan yang didapat dengan berat awal sampel.

$$\begin{aligned} \% R e n d e m e n \\ &= \frac{B e r a t e n d a p a n}{B e r a t a w a l s a m p e l} \\ &\times 100\% \end{aligned}$$

3.4.3 Analisis Profil Kimia dengan Kromatografi Lapis Tipis

Lempeng kromatografi lapis tipis dipanaskan dalam oven selama 30 menit pada suhu 110°C setelah itu plat dipotong dengan ukuran 2x5 cm lalu dibuat garis lurus pada lempeng 0,5 cm pada atas dan bawah, kemudian siapkan eluen dan masukan kedalam chamber lalu jenuhkan dengan cara memasukan kertas saring kedalam chamber yang berisi eluen ,jika kertas saring sudah basah semua menandakan eluenya sudah jenuh.

Kemudian ambil sedikit senyawa isolat lalu dilarutkan dengan heksan lalu ditotolkan pada plat KLT silika gel ukuran 2x5 cm yang sudah di plot dengan pensil (dan tangan tidak menyentuh permukaan plat yang

mengandung silica gel). Jarak plot sampel satu dengan yang lainnya adalah 0,5 cm. Sampel yang sudah ditotolkan dikering anginkan. Lalu, di masukkan ke dalam wadah pengembang yang berisi eluen Toluene : Heksan (1:19 v/v). Dibiarkan noda mengembang sampai eluen berada pada batas yang sudah di garis dengan pensil. Kemudian diambil dan dikering anginkan dan di lihat spotnya dibawah sinar UV dan dihitung nilai Rfnya (Arifulloh, *dkk* 2016).

3.4.4 Analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis

5 mg senyawa isolat dilarutkan dalam 5 ml kloroform sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm, kemudian dipipet 3,5 ml dimasukan kedalam labu ukur 5 ml lalu di tambahkan dengan kloroform sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 700 ppm. Kemudian diukur absorbansi dan panjang gelombang larutan menggunakan spektrofotometer pada rentang panjang gelombang 200 sampai 800 nm (Lavecchia *dan* Zuorro, 2008).

3.4.5 Analisis dengan Spektrofotometri FTIR

Senyawa isolat ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dimasukkan kedalam alat dan dianalisis pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Kemudian ditunggu proses pembacaan data sehingga muncul kromatogram pada komputer (Ulfa, 2016).

BAB 1V. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Dari penelitian yang telah dilakukan tentang isolasi metabolit sekunder dari ekstrak nonpolar buah tomat (*Solanum lycopersicum.L*) yang dikukus diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Hasil identifikasi yang dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi, Labor Toksonomi Tumbuhan Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang menyatakan nama sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Solanum lycopersicum.L* yang merupakan famili solanaceae No:058/K-ID/ANDA/II/2020 (Lampiran 1, gambar 10).
2. Dari 10 kg tomat yang dikukus kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut heksan didapatkan senyawa dengan bobot 0,203 g.
3. Rendemen hasil penelitian 0,00203 %
4. Hasil analisis organoleptis senyawa berbentuk serbuk berwarna merah kecoklatan, mempunyai bau khas tomat.
5. Hasil analisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan eluen toluen : heksan (1:19) didapatkan nilai Rf Senyawa yaitu 0,457 cm.
6. Analisis Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis didapatkan 3 puncak yaitu pada daerah panjang gelombang 455 (absorban 0,509) nm, 481 (absorban 0,576) nm, dan 513 (absorban 0,409) nm.
7. Analisis Menggunakan Spektrofotometer FTIR didapatkan bilangan gelombang senyawa pada 2914,77 cm⁻¹, 2856,82 cm⁻¹, 1640,51cm⁻¹, 1456,56 cm⁻¹, dan 1082,67 cm⁻¹.

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan isolasi metabolit sekunder dari ekstrak nonpolar buah tomat yang dikukus. Sampel segar dicuci dan dibersihkan dari tangkainya bertujuan untuk membersihkan buah tomat dari pengotornya, kemudian sampel dihaluskan menggunakan blender, menghaluskan sampel tujuannya untuk memperbesar luas kontak permukaan sampel dengan pelarut, sehingga dapat mengoptimalkan proses ekstraksi. Hal ini dikarenakan luas kontak pelarut dengan sampel menjadi lebih besar dan akhirnya akan mempermudah proses pelarutan senyawa-senyawa yang terkandung didalam jaringan sampel. Setelah sampel diblender, sampel dikukus pada suhu 90-100°C selama 5 menit. Tujuan sampel dikukus pada suhu tersebut adalah untuk meningkatkan bioavailabilitas dan kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi dibandingkan sebelum dipanaskan, pada saat dipanaskan dinding sel tomat sudah rusak sehingga senyawa kimia yang terdapat pada dinding sel tomat mudah untuk diekstraksi sehingga didapatkan kadar metabolit sekunder yang lebih tinggi dan merupakan suhu yang optimal dalam mengolah tomat.

Selanjutnya sampel yang telah dikukus didinginkan, kemudian dipisahkan antara ampas dan maseratnya dengan cara diperas kemudian diekstraksi, proses ekstraksi dilakukan dengan metoda maserasi dan fraksinasi, ampas tomat diekstraksi dengan metoda maserasi menggunakan pelarut heksan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan heksan selama tiga hari, dimana selama melakukan perendaman sampel sesekali diaduk sehingga membantu percepatan difusi zat dari sampel ke dalam pelarut. Proses maserasi dilakukan di tempat yang terlindung dari cahaya terutama cahaya matahari untuk melindungi sampel dari cahaya sampel dimaserasi dalam wadah gelap, dan untuk

mencegah kemungkinan terjadinya degradasi sebagian senyawa yang bersifat fotolabil. Proses ini diulangi sampai senyawa terekstraksi sempurna yang ditandai dengan maserat yang didapatkan mulai jernih yaitu 5 kali pengulangan yaitu 15 hari dan proses ekstraksi dihentikan. Sedangkan air tomat difraksinasi dengan pelarut heksan sampai jernih. Tujuan dari fraksinasi air tomat adalah untuk menarik senyawa nonpolar yang kemungkinan masih tertinggal dalam air tomat, maka dari itu difraksinasi dengan pelarut heksan. Kemudian Maserat yang diperoleh dari proses maserasi dan fraksinasi digabungkan lalu diuapkan pelarutnya menggunakan destilasi vakum.

Destilasi vakum digunakan karena dapat menguapkan pelarut lebih cepat, dimana tekanan uap pelarut menjadi turun dan pelarut akan mendidih pada temperatur yang lebih rendah dari titik didihnya sehingga dapat mengurangi resiko kerusakan senyawa termolabil yang ada di dalam sampel, pada saat destilasi vakum labu ditutup dengan kain gelap untuk melindungi senyawa yang bersifat fotolabil didalam maserat. kemudian ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental berwarna merah pekat kecoklatan. Setelah didapatkan ekstrak kental kemudian ditambahkan antisolvent, penggunaan antisolvent pada proses ini untuk mengurangi kelarutan zat terlarut pada larutan dan menyebabkan terjadinya pengendapan secara cepat, antisolvent yang digunakan yaitu metanol. Metanol digunakan sebagai antisolvent untuk bertindak sebagai agen presipitasi yang memiliki koefisien partisi yang cukup besar dalam melarutkan beta karoten dan trigliserida, sehingga likopen tidak terlarut dalam metanol dan terpisah dari larutannya sehingga membentuk endapan. (Tarigan, Sinaga, & Z, 2016).

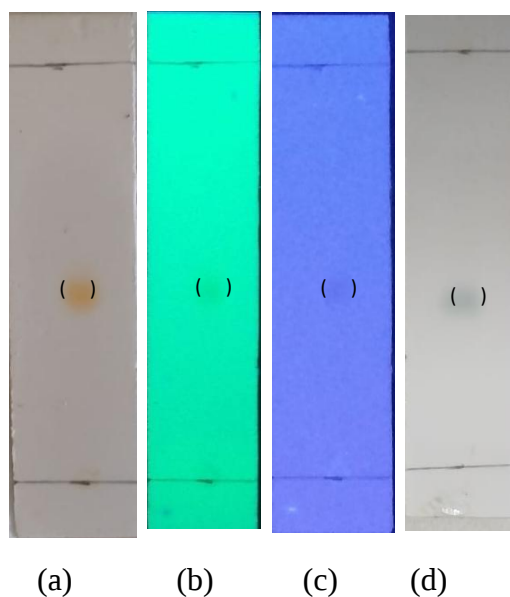
Proses penambahan antisolvent yaitu dengan cara ekstrak kental yang diperoleh ditambah metanol sampai terbentuk endapan, kemudian endapan disaring menggunakan kertas saring lalu dimasukkan dalam wadah, selanjutnya dilakukan pemurnian senyawa untuk menghilangkan zat pengotor dari endapan dan untuk mendapatkan senyawa yang lebih murni, pemurnian zat dari pengotor dengan prinsip dasarnya perbedaan kelarutan dari suatu zat atau pengotornya, pemurnian endapan dilakukan dengan menggunakan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar yang masih terdapat di dalam endapan. setelah dimurnikan didapatkan berat serbuk seberat 0,203 g. Kemudian dilakukan karakterisasi senyawa secara organoleptis, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Organoleptis Senyawa Isolat

Parameter yang diamati	Senyawa Hasil Isolasi
Warna	Merah kecoklatan
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas tomat

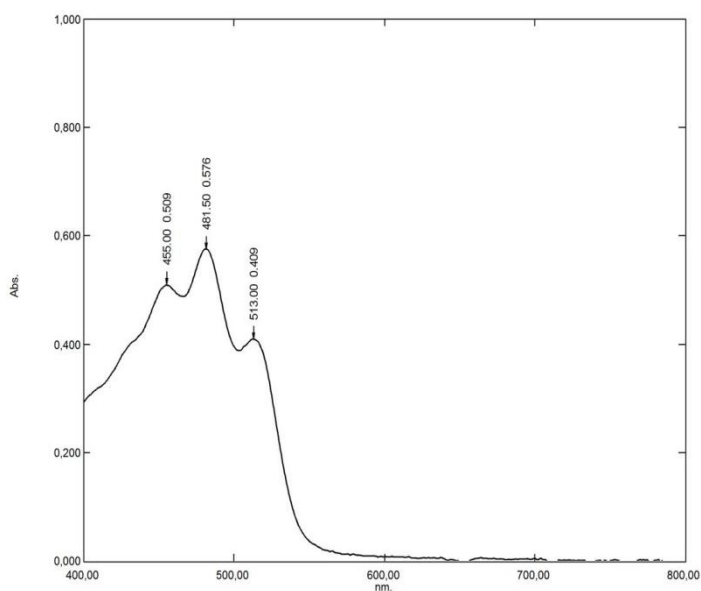
Kemudian untuk melihat kandungan fitokimianya endapan dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan eluen Toluene : Heksan (1:19). Eluen ini dipakai karena sifat kepolarannya yang sama dengan sifat senyawa hasil isolasi, senyawa hasil isolasi bersifat nonpolar sehingga digunakan eluen yang bersifat nonpolar juga, dan untuk memudahkan senyawa untuk dielusikan oleh fase gerak. Sebelum melakukan analisis menggunakan KLT plat dipanaskan pada suhu 110°C selama 30 menit untuk mengaktifkan dan untuk menghilangkan air

yang terdapat didalam plat. Kemudian eluen dijenuhkan terlebih dahulu dengan cara memasukan sepotong kertas saring kedalam chamber yang berisi eluen, jika eluen sudah basah semua menandakan bahwa eluen sudah jenuh dan siap untuk digunakan, tujuan dari penjenuhan eluen ini agar proses elusi dapat berjalan dengan cepat serta untuk mencegah penguapan eluen. Selanjutnya diambil sedikit endapan yang telah dimurnikan kemudian dilarutkan dengan heksan lalu ditotolkan sedikit pada plat KLT yang telah disiapkan dan masukan plat kedalam chamber untuk dielusi, lalu amati noda dibawah lampu UV dan dengan penampak noda H_2SO_4 10%. Dari hasil analisis KLT didapatkan nilai R_f senyawa yaitu 0,475 cm. Hasil dapat dilihat pada gambar 6 dibawah ini.

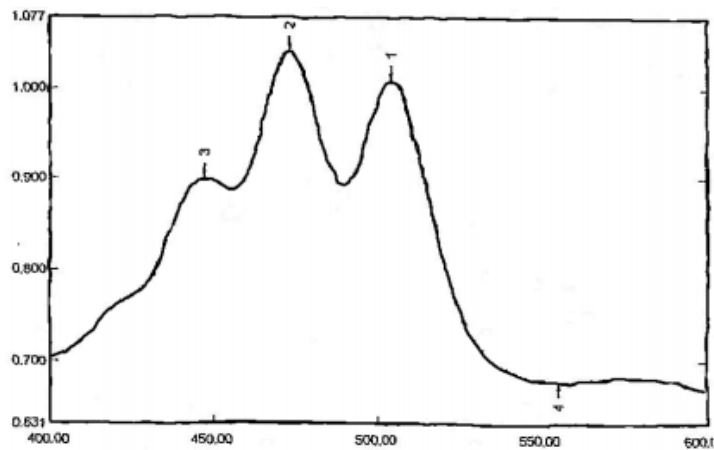


Gambar 6. (a) Pola KLT senyawa hasil isolasi dibawah sinar tampak, (b) UV 254 nm, (c) UV 365 nm, (d) dan dengan penampak noda H_2SO_4 10% dengan eluen Toluene:Heksan (1:19).

Selanjutnya senyawa isolat yang didapatkan dianalisis dengan Spektrofotometer UV-Vis, tujuannya untuk mengetahui panjang gelombang dari senyawa hasil isolasi. Senyawa hasil isolasi dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-800 nm karena senyawa hasil isolasi merupakan senyawa berwarna. Dari hasil analisis senyawa isolat menggunakan spektrofotometer UV-Vis terdapat 3 puncak yaitu pada panjang gelombang 455 nm (absorban 0,509) 481 nm (absorban 0,576) dan 513 nm (absorban 0,409). Jika dilihat dari spektrum UV-Vis, senyawa likopen khas pada daerah panjang gelombang 400-550 nm (O'Neill M.J.,2006). Keberadaan tiga puncak pada panjang gelombang tersebut menunjukkan struktur ikatan rangkap terkonjugasi senyawa likopen yang khas dan sesuai literatur. Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 4, dan Spektrum Uv-Vis likopen literatur dapat dilihat pada gambar 7 dibawah ini.

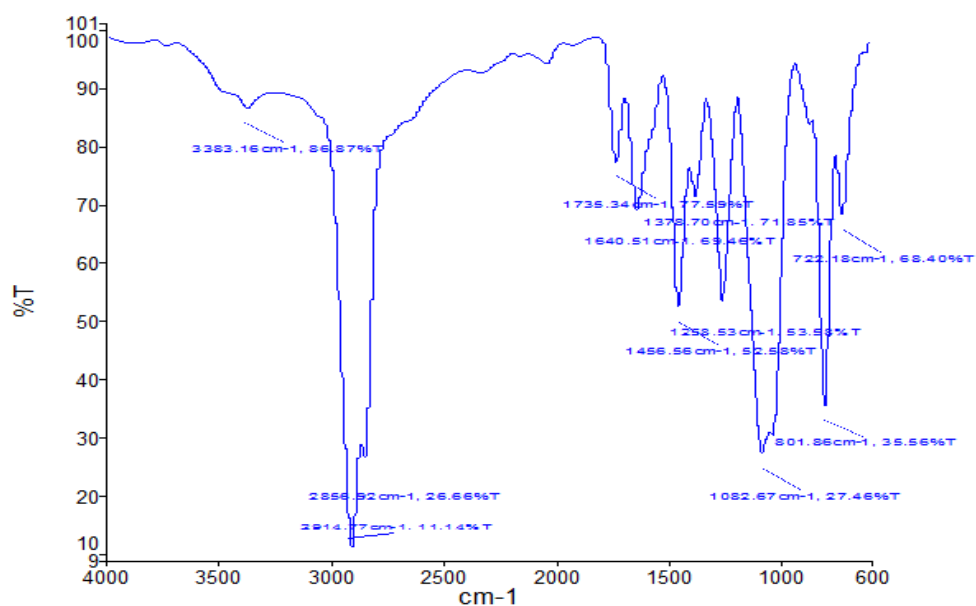


Gambar 7. Spektrum UV-Vis Senyawa Hasil Isolasi.

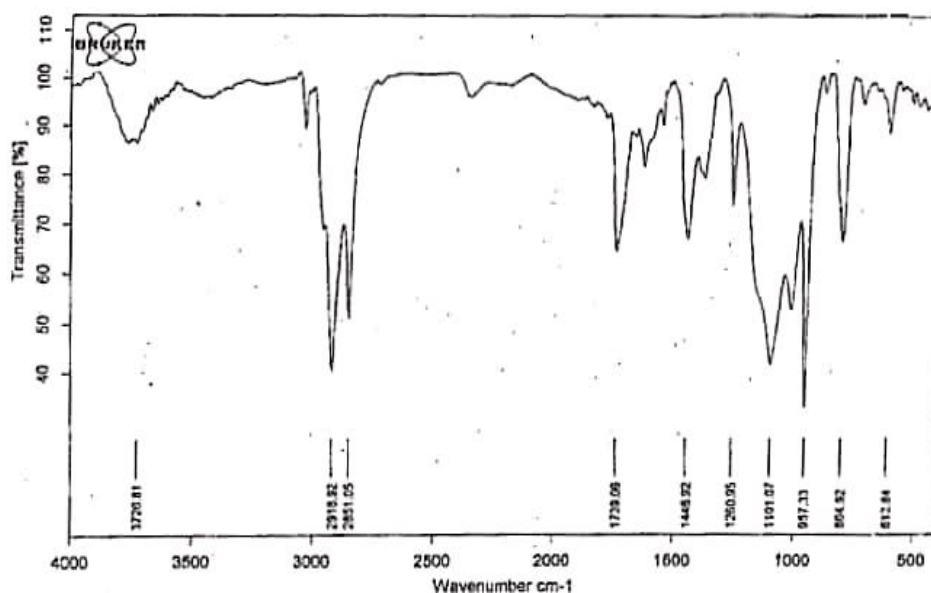


Gambar 8. Spektrum UV-Vis Kristal Likopen (Aghel *dkk.*, 2011)

Selanjutnya senyawa isolat dianalisis dengan Spektrofotometri IR. Tujuan dilakukan analisis menggunakan Spektrofotometer FTIR adalah untuk menentukan gugus fungsi dan bilangan gelombang dari senyawa hasil isolasi. Dari hasil analisis senyawa isolat menggunakan spektrofotometer FTIR diperoleh spektrum bilangan gelombang menunjukkan senyawa yang dianalisis memiliki serapan pada bilangan 2914,77 cm^{-1} dan 2856,82 cm^{-1} dengan intensitas puncak serapan kuat, serapan ini diduga dihasilkan dari ikatan C-H dari gugus metilen (-CH₂-) (Supratman, 2010:82). Gugus C=C pada bilangan gelombang 1640,51 cm^{-1} , gugus fungsi CH₂ terdeteksi pada bilangan gelombang 1456,56 cm^{-1} , gugus fungsi C-C pada bilangan gelombang 1082,67 cm^{-1} . Dengan demikian, sampel diidentifikasi memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Gugus fungsi CH₂ dan C=C yang muncul pada spektrum FTIR diperkirakan berasal dari senyawa karoten. Gugus fungsi hidroksil (-OH) vibrasi stretching, yang mungkin berasal dari gugus OH dari air yang terikat senyawa tersebut. Setelah dibandingkan dengan literatur, senyawa hasil isolasi mempunyai bilangan gelombang yang sama dengan literatur senyawa likopen. Spektrum senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 5, dan spektrum literatur likopen dapat dilihat pada gambar 9 dibawah ini.



Gambar 9. Spektrum FTIR Senyawa Hasil Isolasi.



Gambar 10. Spektrum FTIR Likopen (Aghel *dkk.*, 2011)

Selanjutnya senyawa isolat dianalisis menggunakan GC-*Ms*, tujuan dianalisis menggunakan GC-*Ms* adalah untuk mengidentifikasi rumus molekul serta struktur senyawa yang terdapat pada senyawa hasil isolasi tersebut. Berdasarkan hasil identifikasi GC-*Ms*, tidak ditemukannya senyawa dengan bobot molekul 536.9 g/mol dimana bobot molekul tersebut merupakan BM dari

senyawa likopen. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada saat pengujian memakan waktu yang terlalu lama dan juga alatnya rusak sehingga menyebabkan sampel teroksidasi oleh cahaya, suhu, dan oksigen sehingga menyebabkan senyawa hasil isolasi rusak sehingga sampel tidak terdeteksi saat diuji sehingga tidak memungkinkan juga untuk mengukur kadar dari senyawa yang didapatkan. Spektrum hasil analisis dapat dilihat pada lampiran 4 hal 53.

Berdasarkan dari hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan Spektrofotometer FTIR dan setelah dibandingkan dengan literatur yang ada diduga senyawa metabolit sekunder yang didapatkan adalah senyawa likopen.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil isolasi didapatkan senyawa metabolit sekunder dengan berat 0,203 g, bentuk serbuk berwarna merah kecoklatan memiliki bau khas tomat dengan nilai R_f 0,475 cm.
2. Hasil Analisis spektrofotometer UV-Vis didapatkan 3 puncak yaitu pada daerah panjang gelombang 455 (absorban 0,509) nm, 481 (absorban 0,576) nm, dan 513 (absorban 0,409) nm. Hasil analisis gugus fungsi dengan menggunakan Spektrofotometer FTIR didapatkan gugus fungsi C-H pada bilangan gelombang pada 2914,77 cm^{-1} dan 2856,82 cm^{-1} , gugus C=C pada bilangan gelombang 1640,51 cm^{-1} , gugus CH_2 pada bilangan gelombang 1456,56 cm^{-1} , C-C pada bilangan gelombang 1082,67 cm^{-1} . Dari hasil analisis menggunakan spektro UV-Vis dan Spektro FTIR diduga senyawa metabolit sekunder yang didapatkan adalah likopen.

5.2 Saran

1. Disarankan pada penelitian selanjutnya dilakukan dengan metoda yang lain yang lebih sederhana karena mengingat senyawa metabolit sekunder yang ingin diisolasi sangat fotolabil dan mudah rusak.
2. Untuk mengetahui secara pasti senyawa metabolit sekunder yang didapatkan tersebut untuk peneliti selanjutnya disarankan melakukan analisa menggunakan NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Adijuwana H dan Anwar Nur M. 1989. *Teknik Pemisahan dan Analisis Biologi*. Bogor : Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat IPB.
- Agarwal S, dan Rao A.V. 2000. *Role of Antioxidant Lycopene in cancer and rats diseases*. Journal of the American Collage of Nutrion. Vol. 19 (5): 563-569.
- Aghel N, Ramezani Z dan Amir Fakhrian S. 2011 “*Isolation and Quantification of Lycopene From Tomato Cultivater in Dezfoul, Iran*”, Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 6(1), 9-15.
- Arifulloh, Ika Oktavianawati, I Nyoman Adi Winata. 2016. *Ekstraksi Likopen Dari Buah Tomat (Lycopersicon Esculentum) Dengan Berbagai Komposisi Pelarut*. Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Jember (UNEJ).
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2004. *Program Komponen Pengembangan Sumber Informasi Nasional dan Lokal-PFI3P*. PFI3PBadan Litbang Pertanian, Jakarta.
- Chairunnisa, ririn. 2012. *Pengaruh Jumlah Pasta Tomat Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Mencit Diabetes*. Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Pasca Unand.
- Chauhan, K., S. Sharma, N. Agarwal and B. Chauhan. 2011. Lycopene of Tomato Fame: Its Role in Health and Disease. Review Article. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Vol. 10. Pp: 99-115
- Canene-Adams K., Clinton, S. K., King, J. L., Lindshield, B. L., Wharton C., Jeffery, E. & Erdman, J. W. Jr. 2004. *The growth of the Dunning R-3327 H transplantable prostate adenocar cinoma in rats fed diets containing tomato, broccoli, lycopene, or receiving finasteride treatment*. FASEB J. 18(591):4.
- Christianty D, Tarigan,S.F, Masyitah, Z. 2015. Kristalisasi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum*) menggunakan Antisolvent. *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 4, No. 4
- Clark, J., 2007, Kromatografi Gas-Cair, (online), (<http://www.chem-istry.org>, diakses tanggal 8 Juni 2020)
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Cetakan I. Padang: Andalas University Press. Hal. 39

- Depkes RI, 2000 . *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Jakarta. pp. 10-11.
- Dewi, P. dan Jumini. 2012. Pertumbuhan dan Hasil Dua Varietas Tomat Akibat Perlakuan Jenis Pupuk. *Jurnal Floratek*.7:76-84.
- Di Mascio, P ., Kaiser, S., Sies, H., *Lycopene as The Most Efficient Biological Carotenoid Singlet Oxygen Quencher*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1989.
- Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S., 1982, *Kimia Organik, diterjemahkan oleh Pudjaatmakan, A. H., Edisi Ketiga, Jilid 1*, 237-239, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Giwangkara, S.E.G., 2006.*Aplikasi Logika Syaraf Fuzzy Pada Analisis Sidik Jari Minyak Bumi Menggunakan Spetrofotometer Infra Merah - Transformasi Fourier (FT-IR)*, Sekolah Tinggi Energi dan Mineral, Cepu - Jawa Tengah
- Harborne, J.B, 1996, *Metode Fitokimia*, Cetakan II, diterjemahkan oleh Kosasih Padma Winata dan Iwang Soediro, ITB Press, Bandung, 70-72.
- Hasri. (2017). *Kandungan Likopen Buah Tomat (lycopersicum esculentum l) terhadap Waktu dan Suhu Pemanasan*. 20(1), 28–35.
- Johnson, E. L., & Stevenson,R.(1991).Dasar Kromatografi Cair (K. Padmawinata, penerjemah). Bandung: ITB.(Buku asli diterbitkan 1978).
- Jones, J.B. 2008. *Tomato Plant Culture in the Field, Green House, and Home Garden*. CRC Press: Taylor and Francis Group. 400 Pages.
- Khopkar, S. M. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta. Penerbit Universitas Indonesia. Hal. 216-217.
- Khopkar, S. M. 2010. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI-Press
- Koski, A., E. Psomiadou., M. Tsimidou., A. Hopia., P. Kafalas., K. Wahala dan M. Heinonen, 2002, *Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil*, *Eur. Food Res. Technol*, 214 : 294 – 298
- Lavecchia, R. and A. Zuorro. 2008. *Enhancement of Lycopene Extraction from Tomato Peels by Enzymatic Treatment*. *Chemical Engineering Transactions*. Vol. 14. Pp: 301-308
- Majors, E. Ronald. 2003. The Cleaning and regenerations of Reversed Phase HPLC Columns. *Column Watch. Journal of LC-GC Europe*. Hal 1-6
- Aghel, N., Ramezani, Z., & Amirfakhrian, S. (2011). Isolation and quantification of lycopene from: Tomato cultivated in Dezfoul, Iran. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 6(1), 9–15.

- Tarigan, S. F. G., Sinaga, D. C. S., & Z, M. (2016). *Kristalisasi Antisolvent*. 5(2), 9–14.
- Ulfa, siti maria. (2016). *Skripsi: Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dalam Bekatul Dengan Menggunakan Variasi Pelarut*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Myong Roh, Kyun, Min Hee Jeon, Jin Nam Moon, Woi Sook Moon, Sun Mee Park dan Jae Suk Choi., 2013, *A Simple Method For The Isolation of Lycopene from Lycopersicon Esculentum*, *Botanical Sciences*, 91 (2), 187-192.
- Nyoman, D. 2016. *Uji efektivitas teknik ekstraksi dan dry heat treatment terhadap kesehatan bibit tomat (Lycopersicum esculentum Mill)*. *Jurnal Agroekoteknologi*. 5 (1) : 2301 – 6515.
- Pavia, D.L., Lampnan, G.M., and Kriz-jr, G.S. 2009. *Introduction to Spectroscopy: A Guide for Student of Organic Chemistry*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Purwati, E. dan Khairunisa. 2007. *Budidaya Tomat Dataran Rendah dengan Varietas Unggul serta Tahan Hama dan Penyakit*. Penebar Swadaya. Jakarta. 67 hlm.
- Putra, D.L. Effendy. 2004. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Bidang Farmasi*. USU Digital Library. diakses pada 26 Januari 2010.
- Rahman, A. 2009. *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Respati, E., L. Hasanah, S. Wahyuningsih, Sehusman, M. Manurung, Y. Supriyati, dan Rinawati. 2014. *Buletin Konsumsi Pangan. Pusat Data dan Sistem Informasi Pangan*. Vol. 5(4).
- Respati, E., L. Hasanah, S. Wahyuningsih, Sehusman, M. Manurung, Y. Supriyati, dan Rinawati. 2014. *Buletin Konsumsi Pangan. Pusat Data dan Sistem Informasi Pangan*. Vol. 5(4)
- Rohman, Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Jogjakarta
- Roy J. Gritter, James M. Bobbit, Arthur E. S. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit : ITB, Bandung.
- Rizk, Effat M., Alaa T. El-Kady, and Amany R. El-Bialy. 2014. Charactrization of carotenoids (lyco-red) extracted from tomato peels and its uses as natural colorants and antioxidants of ice cream. *Annals of Agricultural Science*. Vol. 59. Pp: 53-61.
- Saraf S, Jeswani G, Kaur CD, Saraf S. Development of novel herbal cosmetic cream with curcuma longa extract loaded transfersomes for antiwrinkle

- effect. *African journal of pharmacy and pharmacology*. 2011 Aug 1;5(8):1054-62.
- Setiawan, A. Budi. 2015. *Induksi Partenokarpi pada Tujuh genotip tomat (Solanum lycopersicum) dengan Giberelin*. Tesis. Yogyakarta: UGM
- Siddiq, J. 2010. *Rahasia, Khasiat dan Manfaat Bumbu Dapur, Rempah- rempah dan Sayuran*. Surya Media. Yogyakarta.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. 2012. *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik Edisi IV*. Jakarta : Eerlangga.
- Stahl & Sies, 1996. *Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective*. <http://humupd.oxfordjournals.org/cgi/content/full/dmn004v1>. 1 April 2009.
- Sunarmani, Kun Tanti, D., 2008, *Parameter Likopen Dalam Standardisasi Konsentrat Buah Tomat*, Peneliti Balai Besar dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Jakarta.
- Sunarmani. 2015. *Teknologi Pengolahan Pasta Tomat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor.
- Sanjiv Agarwal Akkinappally, Venketeshwer Rao, 2000, *Tomato Lycopene and Its Role in Human Health and Chronic Diseases*, Faculty of Medicine, University of Toronto.
- Tarigan, S.F, Christianty D, Masyitah, Z. 2016. Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum Esculentum*) Menggunakan Pelarut Tunggal dengan Metode Kristalisasi Antisolvent. *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 5, No. 2: 9-14
- Touchstone, J. C., and Dobbins, M.F., 1993. *Practise of thin Layer Chromatography 2nd edition*. New york : Jhon Wiley & Sons INC.
- Ulfa, siti maria. (2016). *Skripsi: Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dalam Bekatul Dengan Menggunakan Variasi Pelarut*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., and Kowalska, T., 2008. *Thin layer chromatography in phytochemistry, chromatographic science series*. 99, 184.
- Wenli, Y., Z. Yaping., X. Zhen., J. Hui dan W. Dapur, 2001, *The antioxidant properties of lycopene concentrate extracted from tomato paste* www.wikipedia.com.
- Wilson, T.M., Chen, A.D., Hsieh, T. (2000). Cloning and characterization of Drosophila topoisomerase III. Relaxation of hypernegatively supercoiled dna. *J. Biol. Chem.* 275(3): 1533--1540

Lampiran 1.

**HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)**
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 058/K-ID/ANDA/II/2020
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Putri Yulina
Di
Tempat

Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Putri Yulina
No. BP : 1604122
Instansi : STIFI YP PADANG

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Solanaceae	<i>Solanum lycopersicum</i> L.

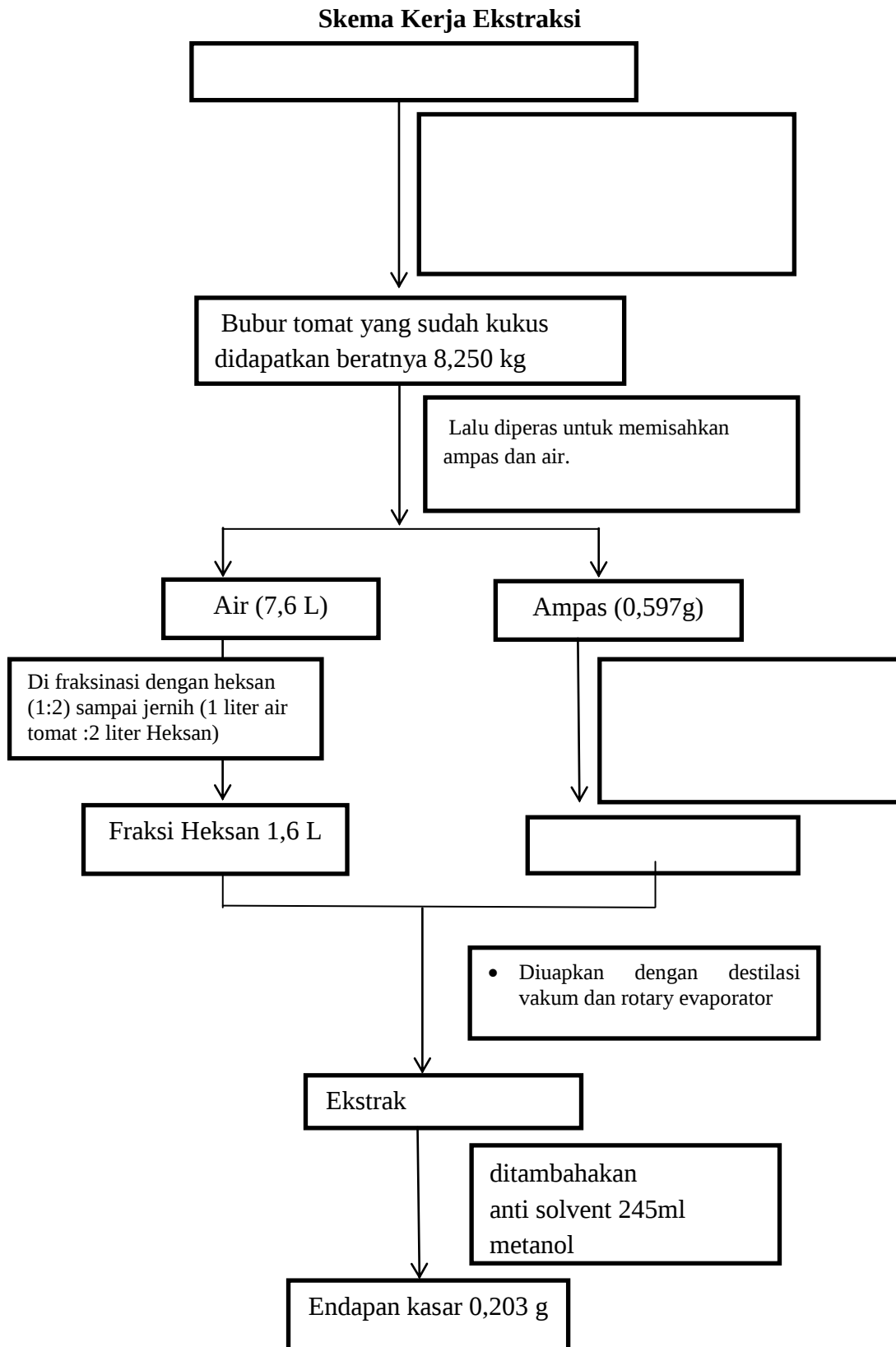
Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.



Padang, 7 Februari 2020
Kepala,
Dr. Nurainas
NIP. 196908141995122001

Gambar 11. Surat Identifikasi Tanaman

Lampiran 2.



Gambar 12. Skema Ekstraksi

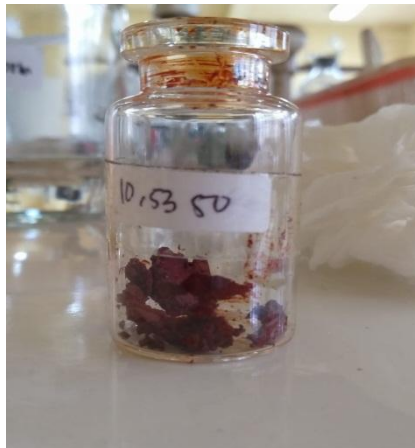
Lampiran 3. Foto tomat, foto proses fraksinasi air tomat, foto endapan.



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 13. (a) Buah Tomat (b) Proses Fraksinasi (c) endapan metanol (d) Proses pemurnian endapan

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Endapan Dari Tomat

Tabel 4. Penentuan rendemen endapan dari tomat

Parameter	Nilai
Berat sampel segar	10.000 gram
Berat endapan murni	0,203 gram
Rendemen	0,00203 %

Penentuan Rendemen endapan terhadap sampel segar

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat endapan yang diperoleh}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100\% \\ &= \frac{0,203 \text{ g}}{10.000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,00203 \%\end{aligned}$$