

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK ETIL ASETAT
BUAH *Illicium verum* Hook.f.**

SKRIPSI



KHUSNUL WARDAH MUKHAROMAH

**PROGRAM STUDI S-1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK ETIL ASETAT**

BUAH *Illicium verum* Hook.f.

SKRIPSI



KHUSNUL WARDAH MUKHAROMAH

**PROGRAM STUDI S-1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK ETIL ASETAT BUAH
Illicium verum Hook.f.**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia
Pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Khusnul Wardah Mukharomah
NIM. 081811533009

Disetujui oleh,

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA
NIP. 196711151991022001


Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si.
NIP. 196705141991022001

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa
Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Buah
Illicium verum Hook.f.
Penyusun : Khusnul Wardah Mukharomah
NIM : 081811533009
Pembimbing I : Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA.
Pembimbing II : Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si.
Tanggal Sidang: 24 Juni 2022

Disetujui oleh,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA.
NIP. 196711151991022001

Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si.
NIP. 196705141991022001

Mengetahui,

Ketua Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Mochamad Zaki Fahmi, S.Si, M.Si., Ph.D.
NIP. 198307022009121005

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah yang telah melimpahkan petunjuk dan rahmat-Nya sehingga naskah skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Buah *Illicium verum* Hook.f.”** dapat diselesaikan. Naskah skripsi ini ditulis dalam rangka memenuhi persyaratan akademik menjadi Sarjana Sains dalam bidang kimia di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

Dalam penyusunan dan penulisan naskah skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, membimbing dan mendukung, khususnya kepada:

1. Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA., selaku pembimbing I yang bersedia meluangkan waktu untuk berdiskusi, memberikan bimbingan dan masukan dalam proses penyusunan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si., selaku pembimbing II yang bersedia meluangkan waktu untuk berdiskusi, memberikan bimbingan dan masukan dalam proses penyusunan skripsi ini.
3. Drs. Tokok Adiarto M.Si., selaku dosen wali yang selalu memberikan motivasi kepada penulis untuk terus melanjutkan studi dengan baik.
4. Mochammad Zakki Fahmi, M.Si., Ph.D., selaku Ketua Departemen sekaligus Koordinator Program Studi S-1 Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga yang senantiasa mendukung dan mendoakan penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu dosen Program Studi S-1 Kimia Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu, nasihat dan pengalaman selama penulis menempuh pendidikan di Program Studi S-1 Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga Surabaya.
6. Bapak Kastur, Ibu Munasri, Kakak Dani Tri Prasetyo, dan Kakak Didit Catur Prasetyo yang selalu memberikan dukungan, do'a, nasihat dan semangat untuk menyelesaikan naskah skripsi ini.

7. Tim ALF-NSA: Andika Pramudya Wardana, Mila Rosyida, Erlinda Rohmatul Laili, dan Ei Ei Aung, yang telah membimbing dan memberikan inspirasi kepada penulis selama pengerjaan penelitian.
8. Teman-teman satu bimbingan: Marisa Nur Shahadatin, Tio Christiawan Bramayudha, Shintya Ainul Lusiana, Nanda Eka Setianingtyas, Adhana Riyadani Putri Widagdo, Alsya Firdausi Nuzula dan Mayang Retno Putri Mastutik yang memberikan motivasi, semangat, dan selalu berjuang bersama selama mengerjakan penelitian ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan yang telah memberikan motivasi, dukungan, semangat dan saran dalam pembuatan naskah skripsi ini hingga akhir.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penyusunan naskah skripsi ini, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan dan kesempurnaan naskah skripsi ini. Akhir kata, semoga naskah skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca pada umumnya.

Surabaya, 15 Juni 2022

Khusnul Wardah Mukharomah

Mukharomah, Khusnul Wardah, 2022, Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Buah *Illicium verum* Hook.f., Skripsi dibawah bimbingan Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA., dan Prof. Dr. Nanik Siti Aminah M.Si., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

ABSTRAK

Illicium verum Hook.f. merupakan nama ilmiah dari tumbuhan bunga lawang yang merupakan salah satu tumbuhan obat dari famili *Illiciaceae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat maupun senyawa metabolit sekunder. Isolasi senyawa metabolit sekunder dimulai dari ekstraksi padat-cair (maserasi) dan dilanjutkan ekstraksi cair-cair (partisi). Proses pemisahan dilakukan dengan kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG) hingga diperoleh senyawa murni. Penentuan struktur molekul senyawa dilakukan menggunakan metode spektroskopi meliputi UV Vis, IR, dan NMR. Diperoleh dua senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari buah *I. verum* yaitu senyawa **(1)** dengan nama verimol G yang termasuk golongan neolignan dan senyawa **(2)** yang belum teridentifikasi strukturnya. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak etil asetat, **verimol G**, senyawa **(2)**, dan asam askorbat menggunakan metode DPPH. Senyawa **(2)** menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih poten dibanding asam askorbat sebagai kontrol positif. Terbukti dari harga IC_{50} senyawa **(2)** sebesar 15 ppm dan asam askorbat sebesar 17 ppm. Ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 215,5 ppm. Sedangkan **verimol G** tidak aktif sebagai antioksidan berdasarkan nilai prosentase peredaman radikal DPPH yang sangat rendah (3,96 % pada konsentrasi 100 ppm).

Kata Kunci: *Illicium verum*, antioksidan, DPPH, neolignan, verimol G

Mukharomah. Khusnul Wardah, 2022, Isolation and Antioxidant Activity Test of Secondary Metabolites Compounds from Ethyl Acetate Extract of *Illicium verum* Hook.f. Fruit, this final project is under guidance of of Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA., and Prof. Dr. Nanik Siti Aminah M.Sc., Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga.

ABSTRACT

Illicium verum Hook.f. is the scientific name of star anise, which is one of the medicinal plants from *Illiciaceae* family. This study aims to isolate secondary metabolites compounds from ethyl acetate fraction of *I. verum* fruit and also determine the antioxidant activity of ethyl acetate extract and isolated compounds. Isolation of secondary metabolite compounds was started by maceration and followed by partition. Separation process using vacuum liquid chromatography (KCV) and gravity column chromatography (KKG) until pure compounds. Determination of molecular structure using UV Vis, IR, and NMR spectroscopy. There were two secondary metabolite compounds isolated from fruit of *I. verum*, namely **verimol G** and compound **(2)**. The structure of compound **(2)** not been identified yet. The antioxidant activity test ethyl acetate extract fraction, **verimol G**, compound **(2)**, and ascorbic acid using DPPH method. Compound **(2)** showed more potent antioxidant activity than ascorbic acid as positive control. It is evident from IC₅₀ value of compound **(2)** which is 15.0 ppm and ascorbic acid is 17.2 ppm. Ethyl acetate extract had weak antioxidant activity with IC₅₀ value of 215.5 ppm. Meanwhile, **verimol G** is not active as antioxidant based on very low DPPH radical reduction percentage (3.96% at concentration of 100 ppm).

Keyword: *Illicium verum*, antioxidant, DPPH, neolignan, verimol G

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khusnul Wardah Mukharomah

NIM : 081811533009

Program Studi : S1 Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penelitian skripsi saya yang berjudul:

Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Buah *Illicium verum* Hook.f.

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 15 Juni 2022



Khusnul Wardah Mukharomah

NIM.081811533009

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Illicium</i>	6
2.1.1 Morfologi dan penyebaran <i>Illicium</i>	6
2.1.2 Profil Fitokimia <i>Illicium</i>	7
2.1.3 Bioaktivitas <i>Illicium</i>	15
2.2 <i>Illicium verum</i> Hook.f.	16
2.2.1 Morfologi <i>Illicium verum</i> Hook.f.....	16
2.2.2 Fitokimia <i>Illicium verum</i> Hook.f.	18
2.2.3 Aktivitas Antioksidan <i>Illicium verum</i> Hook.f.	18
2.3 Antioksidan	19
2.3.1 Metode ABTS	19
2.3.2 Metode FRAP	20
2.3.3 Metode DPPH	20

2.4	Uji Antioksidan <i>Illicium verum</i> Hook.f.....	20
2.5	Proses Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder	22
BAB III METODE PENELITIAN.....		25
3.1	Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	25
3.2	Bahan dan Alat Penelitian	25
3.2.1	Sampel Penelitian.....	25
3.2.2	Bahan Penelitian.....	25
3.2.3	Alat Penelitian.....	26
3.3	Prosedur Penelitian.....	26
3.3.1	Penyediaan Sampel Buah <i>Illicium verum</i>	26
3.3.2	Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	27
3.4	Penentuan Struktur Senyawa Metabolit Sekunder	29
3.4.1	Analisis spektroskopi UV-VIS.....	29
3.4.2	Analisis spektroskopi IR	30
3.4.3	Analisis spektroskopi NMR	30
3.5	Uji Aktivitas Antioksidan.....	30
3.5.1	Pembuatan Larutan DPPH	30
3.5.2	Optimasi Panjang Gelombang DPPH	30
3.5.3	Pengukuran Absorbansi Blanko.....	31
3.5.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel dan Ekstrak Etil Asetat..	31
3.5.5	Pembuatan Larutan Pembanding.....	32
3.5.6	Pengujian Aktivitas Antioksidan Pembanding.....	32
3.6	Diagram Alir Penelitian.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		34
4.1	Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder.....	34
4.2	Penentuan Struktur Molekul Senyawa Hail Isolasi	39
4.2.1	Senyawa (1).....	39
4.2.2	Senyawa (2).....	52
4.3	Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder.....	53
BAB V PENUTUP.....		60
5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran	60

DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	68

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
2.1	Distribusi senyawa metabolit sekunder pada <i>Illicium</i>	8
2.2	Bioaktivitas pada <i>Illicium</i>	16
2.3	Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR pada senyawa <i>illicidone A</i> (31)	23
4.1	Hasil intepretasi spektrum IR senyawa (1)	40
4.2	Korelasi sinyal proton dengan karbon (HSQC) untuk senyawa (1)	42
4.3	Korelasi sinyal proton dengan sinyal karbon (HMBC) pada senyawa (1)	43
4.4	Data NMR senyawa metabolit sekunder verimol G	50
4.5	Perbandingan data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa hasil isolasi dengan literatur	51
4.6	Hasil intepretasi spektrum IR senyawa (2)	53
4.7	Hasil pengukuran absorbansi ekstrak etil asetat buah <i>I. verum</i>	55
4.8	Hasil pengukuran absorbansi senyawa (2) hasil isolasi dan kontrol positif asam askorbat	55
4.9	Hasil analisis % inhibisi ekstrak etil asetat buah <i>I. verum</i>	56
4.10	Hasil analisis % inhibisi senyawa (2) dan kontrol positif asam askorbat	56
4.11	Hasil perhitungan IC_{50} pada ekstrak etil asetat, senyawa (2) , dan kontrol positif asam askorbat	58

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Morfologi <i>I. tenuifolium</i> (Ridl.) A.C. Sm	7
2.2	Struktur asam fenolat pada genus <i>Illicium</i>	9
2.3	Struktur senyawa flavonoid pada genus <i>Illicium</i>	9
2.4	Struktur senyawa fenilpropanoid pada genus <i>Illicium</i>	10
2.5	Jalur biosintesis lignan dan neolignan (Dewick., 2002)	11
2.6	Struktur senyawa lignan dan neolignan pada genus <i>Illicium</i>	12
2.7	Struktur senyawa monoterpenoid pada genus <i>Illicium</i>	12
2.8	Struktur senyawa seskuiterpenoid pada genus <i>Illicium</i>	13
2.9	Struktur senyawa diterpenoid pada genus <i>Illicium</i>	14
2.10	Struktur senyawa triterpenoid pada genus <i>Illicium</i>	14
2.11	Struktur senyawa benzokuinon pada genus <i>Illicium</i>	15
2.12	Pohon dan buah <i>I. verum</i>	17
2.13	Struktur senyawa fenilpropanoid dan terpenoid pada buah <i>I. Verum</i>	18
2.14	Reaksi DPPH dengan senyawa peredam radikal bebas (Musdalifah, 2016)	21
2.15	Struktur senyawa <i>illicidione A</i> (Tang <i>et al.</i> , 2011)	23
3.1	Diagram alir penelitian	33
4.1	Profil KLT hasil pemisahan pertama dengan KCV	36
4.2	Profil KLT fraksi gabungan (A-Q) hasil pemisahan KKG (1)	37
4.3	Analisis KLT uji tiga sistem eluen berbeda pada senyawa (1)	37
4.4	Profil KLT subfraksi gabungan (A-K) hasil pemisahan KKG (2)	38
4.5	Analisis KLT uji tiga sistem eluen berbeda pada senyawa (2)	38
4.6	Fragmen benzena-1,4-disubstitusi pada senyawa (1)	41
4.7	Dugaan struktur senyawa (1)	42
4.8	Korelasi H-2 dan H-6 dengan C-1; dan C-4	44
4.9	Korelasi H-3 dan H-5 dengan C-1; C-2 dan C-6; dan C-7	44
4.10	Korelasi H-7 dengan C-9; C-4; C-8; C-3 dan C-5	45
4.11	Korelasi H-8 dengan C-4; dan C-9	45
4.12	Korelasi H-9 dengan C-7 dan C-8	46
4.13	Korelasi H-2' dan H-6' dengan C-1'dan C-4'	46
4.14	Korelasi H-3' dan H-5' dengan C-2'; C-6'; C-7' dan C-	47

	1'	
4.15	Korelasi H-7' dengan C-9'; C-4'; C-8' C-3' dan C-5'	47
4.16	Korelasi H-8' dengan C-4'; C-7' dan C-9'	48
4.17	Korelasi H-9' dengan C-7' dan C-8'	48
4.18	Korelasi H-1-OMe dengan C-1 dan H-1'-OMe dengan C-1'	49
4.19	Struktur dan penomoran senyawa verimol G	50
4.20	Grafik regresi hubungan % inhibisi dan konsentrasi ekstrak etil asetat	58
4.21	Grafik regresi hubungan % inhibisi dan konsentrasi senyawa (2) dan kontrol positif asam askorbat	58

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1	Perhitungan Rendemen Ekstrak
2	Spektrum UV Senyawa Hasil Isolasi
3	Spektrum IR Senyawa Hasil Isolasi
4	Spektrum ¹ H-NMR Senyawa Verimol G Hasil Isolasi
5	Spektrum ¹³ C-NMR Senyawa Hasil Verimol G Hasil Isolasi
6	Spektrum DEPT 90 Senyawa Verimol G Hasil Isolasi
7	Spektrum DEPT 135 Senyawa Verimol G Hasil Isolasi
8	Spektrum HSQC Senyawa Verimol G Hasil Isolasi
9	Spektrum HMBC Senyawa Verimol G Hasil Isolasi
10	Data Uji Aktivitas Antioksidan Berbagai Sampel
11	Analisis Perhitungan Nilai IC ₅₀ dari Berbagai Sampel
12	Sertifikat Determinasi Spesies Sampel Bunga Lawang