



PURIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN GANDARUSA (*Justicia gendarussa* Burm. f.) DENGAN METODE KROMATOGRAFI KOLOM

ANNISA PRAMESWARI



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm f.) dengan Metode Kromatografi Kolom” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juni 2024

Annisa Prameswari
G8401201002

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

ANNISA PRAMESWARI. Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) dengan Metode Kromatografi Kolom. Dibimbing oleh SYAEFUDIN dan WARAS NURCHOLIS.

Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan karena kandungan metabolit sekundernya. Gandarusa termasuk ke dalam tanaman liar dan sudah lama dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH hasil purifikasi ekstrak gandarusa menggunakan kromatografi kolom. Metode penelitian ini terdiri atas ekstraksi dengan maserasi bertingkat, optimasi pelarut dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), purifikasi dengan kromatografi kolom, dan analisis antioksidan kualitatif dengan metode KLT bioautografi dan kuantitatif dengan metode DPPH. Pelarut *n*-heksana:etil asetat (6:4) dapat memisahkan ekstrak gandarusa dengan baik. Hasil purifikasi dengan kromatografi kolom menghasilkan 8 fraksi. Fraksi 3.2 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 617,34 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak kasarnya sebesar 2551,30 $\mu\text{g/mL}$. Purifikasi gandarusa dengan kromatografi kolom menghasilkan fraksi dengan aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan dengan kondisi campurannya (ekstrak kasar).

Kata kunci: antioksidan, gandarusa, KLT, kromatografi kolom, purifikasi.

ABSTRACT

ANNISA PRAMESWARI. Purification of Gandarusa Antioxidant Compound (*Justicia gendarussa* Burm. f.) by Column Chromatography Method. Survived by SYAEFUDIN dan WARAS NURCHOLIS.

Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) is a plant with potential as an antioxidant source due to its secondary metabolite content. Gandarusa is considered a wild plant and has long been used as a medicinal plant. This research aimed to determine the antioxidant activity using the DPPH method of purified gandarusa extract obtained through column chromatography. The research methods include extraction through stepwise maceration, solvent optimization using Thin Layer Chromatography (TLC), purification with column chromatography, and qualitative antioxidant analysis using TLC bioautography and quantitative analysis using the DPPH method. The *n*-hexane:acetate (6:4) solvent can effectively separate gandarusa extract. The purification results from column chromatography produced 8 fractions. Fraction 3.2 exhibited the highest antioxidant activity with an IC_{50} value of 617.34 $\mu\text{g/mL}$, while the crude extract had an IC_{50} value of 2551.30 $\mu\text{g/mL}$. Purification of gandarusa using column chromatography yielded fractions with stronger antioxidant activity compared to the mixed state (crude extract).

Keywords: antioxidant, column chromatography, gendarussa, purification, TLC.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

**PURIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN GANDARUSA
(*Justicia gendarussa* Burm. f.) DENGAN METODE
KROMATOGRAFI KOLOM**

ANNISA PRAMESWARI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

1. Dr. Drs. Djarot Sasongko Hami Seno, M.S
2. Prof. Dr. drh. Hasim, DEA



Judul Skripsi : Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) dengan Metode Kromatografi Kolom

Nama : Annisa Prameswari
NIM : G8401201002

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Syaefudin, S.Si., M.Si., Ph.D.

Pembimbing 2:
Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia:
Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP 197709152005012002

Tanggal Ujian:
24 Juni 2024

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Oktober 2023 sampai bulan Maret 2024 ini ialah Bioanalisis, dengan judul “Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) dengan Metode Kromatografi Kolom”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Syaefudin, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku pembimbing pertama dan Dr. Waras Nurcholiz, S.Si., M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing dan banyak memberi saran serta masukan selama menyusun skripsi. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Departemen Biokimia dan Pusat Studi Biofarmaka yang telah memberikan izin penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan doa dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan studi. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Kak Maheswari Alfira Dwicesaria, Restu Arifani, Diva Namira, dan Salma Ainunnisa yang telah membantu saya selama penelitian dan pengumpulan data. Terima kasih saya sampaikan kepada teman satu bimbingan dan teman-teman Biokimia angkatan 57, terkhususnya Fannysa Aulia, Ria Gusharani Silitonga, Azzumawardhani Almi, Angelina Sista, dan Tantri Damayanti yang telah menemani saya selama kuliah di Biokimia IPB dan telah memberikan dukungan dan bantuan selama penyusunan skripsi ini.

Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan untuk seluruh pihak yang membacanya.

Bogor, Juni 2024

Annisa Prameswari

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Radikal Bebas	3
2.2 Antioksidan	3
2.3 Gandarusa (<i>Justicia gendarussa</i> Burm. f)	5
2.4 Kromatografi	7
III METODE	13
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Prosedur Kerja	13
3.4 Analisis Data	16
IV HASIL	17
4.1 Kadar Air Simplisia Gandarusa dan Rendemen Ekstrak Gandarusa	17
4.2 Optimasi Pelarut dengan Kromatografi Lapis Tipis	17
4.3 Kromatografi Kolom	19
4.4 KLT Bioautografi Antioksidan	20
4.5 Aktivitas Antioksidan DPPH	21
V PEMBAHASAN	23
5.1 Kadar Air Rendemen Ekstrak Gandarusa	23
5.2 Purifikasi Senyawa Antioksidan Tanaman Gandarusa	25
5.3 KLT Bioautografi Antioksidan DPPH	27
5.4 Aktivitas Antioksidan DPPH	28
VI SIMPULAN DAN SARAN	31
6.1 Simpulan	31
6.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	41
RIWAYAT HIDUP	51



DAFTAR TABEL

1	Kadar air simplisia dan rendemen ekstrak metanol tanaman gandarusa	17
2	Nilai R_f pada kromatogram ekstrak metanol gandarusa eluen <i>n</i> -heksana : etil asetat (6:4)	19
3	Rendemen berbagai fraksi kromatografi kolom	19

DAFTAR GAMBAR

1	Reaksi radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan	5
2	Tanaman gandarusa	6
3	Senyawa metabolit sekunder pada tanaman gandarusa	6
4	Skema Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	8
5	Skema metode bioautografi	10
6	Skema kromatografi kolom	12
7	Susunan pengemasan kering (<i>dry packing</i>) pada kromatografi kolom	15
8	Kromatogram ekstrak metanol gandarusa pada plat KLT. Dokumentasi: (a) sinar tampak (b) sinar UV 254 nm dan (c) sinar UV 366 nm. Fase gerak: <i>n</i> -heksana : etil asetat (v/v) dengan berbagai perbandingan (1) 8:2, (2) 7:3, (3) 6:4, (4) 4:6, (5) 0:10	18
9	KLT bioautografi antioksidan DPPH ekstrak kasar (e), fraksi kolom (f1-f6), dan trolox (t). Visualisasi: (a) sinar UV 254 nm dan (b) sinar UV 366 nm (c) sebelum dicelupkan DPPH (d) setelah dicelupkan DPPH	20
10	Persen inhibisi ekstrak kasar dan fraksi hasil purifikasi dengan kromatografi kolom pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Huruf yang sama pada grafik menunjukkan tidak berbeda nyata hasil uji Tukey ($\alpha = 0,05$). Data adalah nilai rata-rata dari $n = 3$	21
11	Nilai IC_{50} antioksidan ekstrak kasar, fraksi hasil purifikasi dengan kromatografi kolom, dan trolox. Huruf yang sama pada grafik menunjukkan tidak berbeda nyata hasil uji Tukey ($\alpha = 0,05$). Data adalah nilai rata-rata dari $n = 3$	22

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	42
2	Kadar air simplisia dan rendemen ekstrak metanol gandarusa	43
3	Optimasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	43
4	Rendemen fraksi hasil purifikasi dengan kromatografi kolom	44
5	Persen inhibisi ekstrak kasar dan fraksi hasil purifikasi kromatografi kolom	44
6	Hasil analisis statistik persen inhibisi dengan uji <i>Oneway</i> ANOVA dan uji lanjut Tukey	45
7	Nilai IC_{50} ekstrak kasar, fraksi kolom, dan trolox	45
8	Hasil analisis statistik nilai IC_{50} dengan uji <i>Oneway</i> ANOVA dan uji lanjut Tukey	50