

**ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN  
ANDONG (*Cordyline terminalis* Kunth.)**

**FITYATUN USMAN  
N111 06 001**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

**ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN ANDONG (*Cordyline terminalis* Kunth.)**

**SKRIPSI**

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**FITYATUN USMAN  
N111 06 001**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

## PERSETUJUAN

ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN ANDONG (*Cordyline terminalis* Kunth.)

Oleh :

**FITYATUN USMAN**  
N111 06 001

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.  
NIP. 196412311990021005

Pembimbing Pertama,



Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt.  
NIP. 194807271979031001

Pembimbing Kedua,



Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.  
NIP. 19561011 198603 2 002

Pada tanggal

November 2010

## PERSETUJUAN

### ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN ANDONG (*Cordyline terminalis* Kunth.)

Oleh :

**FITYATUN USMAN**  
N111 06 001

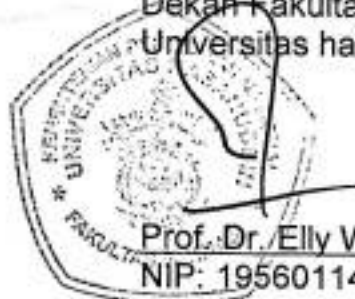
Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada Tanggal 10 November 2010

#### Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Prof. Dr.H.Tadjuddin Naid,M.Sc.,Apt
2. Sekretaris : Dra.Hj.Sartini,M.Si.,Apt
3. Anggota : Dra.Jeanny Wunas,MS.,Apt
4. Anggota (Ex Off) : Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
5. Anggota (Ex Off) : Drs.H.Burhanuddin Taebe,M.Si.,Apt
6. Anggota (Ex Off) : Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.



Mengetahui :  
Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.  
NIP: 19560114 198601 2 001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

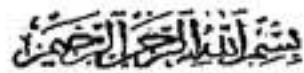
Makassar, Nopember 2010

Penyusun



Fityatun Usman

## UCAPAN TERIMA KASIH



Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur kehadirat Allah SWT, Tuhan yang mengetahui, Pemilik segala ilmu, karena atas petunjukNya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi selama penyusunan skripsi ini. Namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Pembimbing utama dan selaku penasehat akademik Prof.Dr.Gemini Alam,M.Si.,Apt., pembimbing pertama Drs.H.Burhanuddin Taebe, M.Si.,Apt., pembimbing kedua Dra.Rosany Tayeb, M.Si., Apt., yang telah meluangkan waktu dalam memberi petunjuk, perhatian, tenaga,, nasehat dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan penulis mulai saat perencanaan penelitian hingga selesainya skripsi ini.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt., Pembantu Dekan I Prof. Dr.rer.nat Marianti A. Manggau, Apt., Pembantu Dekan II Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. dan Pembantu Dekan III Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt.

3. Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi UNHAS Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan dalam menyelesaikan penelitian ini.
4. Seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Tak lupa penulis ucapkan banyak terima kasih kepada kakanda Hermawan Ali, S.Si., Ichsan Said, S.Si., Apt., dan adinda Arti setiawati yang telah banyak membantu dan memberikan pengarahan selama penelitian berlangsung. Kepada sahabat-sahabat terbaik: Yuliana Ruslan, Miranti Azis, Andi Najmatul Ulum, Eka Suciningsih, S.Si., Dwi Yustini Yusuf, S.Si, Sherling Lisangan, S.Si., dan Nina Januarti Natsir, yang selalu memberikan bantuan dan dukungan moril kepada penulis. Teman-temanku Yasir Nasir, Ashari Lihawa, Avdal Azis, Andi Nur Winda, S.Si., dan Welmi Dzulfiani Jafar, S.Si, terima kasih atas bantuan dan doanya.

Kepada rekan-rekan Elixir 2006 dan semua pihak yang tidak sempat disebutkan namanya terima kasih atas bantuan dan kerja samanya serta pengertiannya kepada penulis selama penelitian dan menjalani pendidikan di Farmasi.

Akhirnya semua ini tiada artinya tanpa dukungan kedua orang tua tercinta Ayahanda Usman Rappe, SE., dan Ibunda Rosnadewi, S.Pd., yang telah membesarkan serta mendidik Ananda dengan penuh kasih sayang dan doa yang tiada hentinya serta segala dukungan yang telah diberikan selama penulis menjalani pendidikan di farmasi, baik itu dukungan materi maupun moral. Untuk saudara-saudara ku Herlina Usman, A.Md., dan

Ainul Fathany Usman terima kasih atas dukungan dan motivasi sehingga penulis lebih bersemangat dalam menyelesaikan skripsi ini. Tak terkecuali untuk keluarga besarku dimanapun berada, terima kasih untuk dukungan dan doanya selama ini. Terkhusus kepada sahabat terbaik untuk selamanya Khaedir Rakhmat Arifin yang selalu menjadi tempat curahan hati dan berbagi penulis disaat penulis senang maupun mengalami kesusahan, terima kasih Cinta.

Akhir kata, karya kecil ini penulis dedikasikan kepada seluruh pembaca semoga dapat memberi manfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Amin Ya Rabb.....

Makassar, 2010

Penulis



## ABSTRAK

*Cordyline terminalis* Kunth. dari suku Liliaceae merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki beberapa golongan senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam *Cordyline terminalis* Kunth. Daun diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70%, selanjutnya ekstrak etanol dipartisi secara berulang – ulang dengan etil asetat sehingga diperoleh ekstrak tidak larut etil asetat dan ekstrak larut etil asetat. Ekstrak yang diduga mengandung flavonoid yaitu ekstrak larut etil asetat yang kemudian dilakukan pemisahan dengan kromatografi lapis tipis dilanjutkan dengan kromatografi cair vakum. Telah dilakukan isolasi senyawa golongan flavonoid terhadap ekstrak etanol daun *Cordyline terminalis* Kunth. menggunakan kromatografi lapis tipis dengan eluen etil asetat – metanol – asam asetat (20ml:1ml:10tetes). Analisa dilakukan terhadap noda yang diperoleh menggunakan metode spektrofotometri UV-VIS dengan bantuan pereaksi geser natrium hidroksida, alumunium (III) klorida. Hasil analisa menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang diperoleh termasuk golongan khalkon

## ABSTRACT

*Cordyline terminalis* Kunth. From tribe Liliaceae represent one of queer crop type some faction of flavonoid compounds. The aim of this research is to determine the flavonoid class compound in *Cordyline terminalis* Kunth. Leaves were extracted using ethanol 70% by maceration, the ethanol was extracted then fractionated repeatedly by ethyl acetate, so that ethanol and ethyl acetat extract were obtained. Extract hypothetically contains flavonoid is ethyl acetat extract and then separated by thin layer chromatography then continued by vacuum chromatography liquid. Flavonoid compound isolation to the extract ethanol of *Cordyline terminalis* Kunth. had been done using thin layer chromatography with eluen ethyl acetate – methanol – acetate acid (20ml:1ml:10drop). This analysis was done by spektrofotometri UV - VIS method and using shiff reagens natrium hidrokside, alumunium (III) chloride. This result of the analysis showed that flavonoid compound is included in substituted khalkon.

## DAFTAR ISI

	halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iv
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	3
II.1 Uraian Tanaman .....	3
II.1.1 Klasifikasi Tanaman .....	3
II.1.2 Nama Daerah .....	3
II.1.3 Morfologi Tanaman .....	3
II.1.4 Kandungan Kimia .....	4
II.1.5 Kegunaan .....	4
II.2. Uraian Umum flavonoid.....	4
II.2.1 Biosintesis Flavonoid.....	6
II.2.2 Klasifikasi flavonoid.....	8
II.2.3Peranan flavonoid.....	10

II.2.4 Identifikasi flavonoid.....	10
II.2.5 Kelarutan flavonoid.....	12
II.3 Metode ekstraksi bahan alam .....	13
II.3.1 Defenisi Ekstrak.....	13
II.3.2 Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak .....	13
II.3.3 Ekstraksi .....	14
II.3.4 Tujuan Ekstraksi .....	15
II.3.5 Ekstraksi secara maserasi.....	15
II.4 Metode isolasi dan pemurnian .....	17
II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis .....	17
II.5 Analisis spektroskopi sinar tampak dan sinar ultraviolet..	18
II.6 Interpretasi struktur dari data Spektroskopi.....	21
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
III.1 Alat dan Bahan.....	24
III.2 Pengambilan dan Penyiapan sampel Penelitian .....	24
III.2.1 Pengambilan Sampel .....	24
III.2.2 Penyiapan Sampel .....	24
III.3 Ekstraksi Sampel .....	25
III.3.1 Ekstraksi dengan metode maserasi.....	25
III.3.2 Partisi ekstrak etanol.....	25
III.4.Fraksinasi dan isolasi.....	26
III.4.1 Penyiapan kromatografi kolom vakum.....	26
III.4.2 Penyiapan sampel.....	26

III.4.3 Fraksinasi komponen kimia.....	26
III.5 karakterisasi senyawa.....	27
III.5.1 karakterisasi dengan reagen semprot.....	27
III.5.2 karakterisasi dengan spektrofotometer.....	27
III.6. Pembahasan hasil.....	28
III.7. Pengambilan kesimpulan.....	28
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
IV.1 Hasil Penelitian .....	29
IV.2 Pembahasan .....	30
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>33</b>
V.1 Kesimpulan .....	33
V.2 Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>36</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil analisis kualitatif dari ekstrak bunga <i>Cordyline terminalis</i> Kunth dengan kromatografi lapis tipis.....	29
2. Hasil pergeseran panjang gelombang setelah penambahan pereaksi geser.....	29

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Dasar Flavonoid .....	5
2. Biosintesis Flavonoid.....	7
3. Struktur Flavonoid.....	9
4. Pembentukan struktur kuinoid dari Flavonoid.....	11
5. Kompleks Flavonoid dengan asam borat dan Natrium Asetat.....	12
6. Reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dengan Aluminium Klorida.....	12
7. Tentatif struktur khalkon.....	32
8. Profil KLT dengan menggunakan eluen etil asetat : asam asetat glasial(2ml:1 tetes).....	37
9. Profil KLT hasil fraksinasi VLC ekstrak etanol larut etil asetat.....	38
10. Profil KLT hasil isolasi fraksi V.....	40
11. Kurva serapan isolat flavonoid dalam MeOH.....	41
12. Kurva serapan larutan isolat flavonoid dengan penambahan pereaksi geser larutan NaOH 2M.....	41
13. Kurva serapan larutan isolat flavonoid dengan penambahan pereaksi geser larutan AlCl <sub>3</sub> .....	42
14. Tanaman <i>Cordyline terminalis</i> Kunth.....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Isolasi Flavonoid dari daun andong ( <i>Cordyline terminalis</i> Kunth.).....	36
2. Determinasi Tanaman andong ( <i>Cordyline terminalis</i> Kunth.).....	44



## BAB I

### PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi dewasa ini khususnya pengadaan obat jadi yang diolah secara modern makin meningkat. Namun demikian, obat asli yang diolah secara tradisional belum dapat ditingkatkan. Untuk meningkatkan penggunaan obat tradisional diperlukan suatu penelitian tentang komponen kimia serta pembuktian khasiatnya agar penggunaannya tidak hanya landasan atas pengalaman tetapi telah didukung dengan data kimia yang cukup. (1)

Tumbuhan memegang peranan yang sangat penting bagi kelangsungan makhluk hidup dimuka bumi, sehingga dari sekian banyak tumbuhan ada beberapa spesies yang merupakan tanaman langka dan dikhawatirkan akan punah yang berarti kehilangan berbagai senyawa kimia. Tumbuhan sesungguhnya merupakan pabrik kimia yang canggih, setiap saat dapat menghasilkan senyawa kimia baik sebagai produk metabolit primer maupun sebagai metabolit sekunder. (2)

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman andong (*Cordyline terminalis* Kunth, suku Liliaceae). Tanaman andong ini lebih sering digunakan sebagai tanaman hias dibanding sebagai obat tradisional namun secara empiris dan pengalaman turun temurun, tanaman ini dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Bunga, daun dan akar tanaman andong digunakan untuk menghentikan pendarahan dan menghilangkan bengkak (3). Selain itu, digunakan juga

sebagai obat sakit kepala, diare, disentri, asma, sakit kulit, inflamasi mata, sakit punggung, rematik, dan encok (4).

Andong mengandung saponin steroid spirostananol, tanin, flavonoid, polifenol, steroida, polisakarida, kalium oksalat dan zat besi (5-6). Penelitian yang telah dilakukan ditemukan beberapa glikosida steroid yang mempunyai aktivitas biologi sebagai antitumor dan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel tumor pada manusia (7). Ekstrak metanol dari tanaman andong dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri gram positif dan negatif dengan konsentrasi hambat minimum sebesar 2,5% (8).

Salah satu komponen kimia daun andong adalah flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol dengan inti terdiri dari 15 atom karbon, tersusun atas dua cincin benzene yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari 3 atom karbon. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan terikat dengan gula sebagai glikosida. Aglikon flavonoid mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida. Flavonoid berkhasiat untuk menstimulasi jantung, memperkuat pembuluh darah kapiler dan bertindak sebagai antioksidan (9).

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang timbul ialah apakah senyawa flavonoid dalam daun andong dapat disolasi dan ditentukan tentatif strukturnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi serta menentukan tentatif struktur senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun andong.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman

##### II.1.1 Klasifikasi Tanaman (6)

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Liliales
Suku	: Liliaceae
Marga	: Cordyline
Jenis	: <i>Cordyline terminalis</i> Kunth.

##### II.1.2 Nama Daerah (3)

Jawa	: Hanjuang, Andong, Kayu Urip
Sulawesi	: Tabango, Palili, Panjureng
Kalimantan	: Renjuang

##### II.1.3 Morfologi Tanaman dan Tempat Tumbuh (1)

Merupakan tanaman habitus perdu yang tingginya bisa mencapai 2 sampai 4 meter, berakar serabut, batang bercabang (perkecualian Kelas Monocotyledoneae karena mempunyai kambium). Duduk daun berbentuk roset (berjejal pada batang), tersusun seperti spiral, pada batang ada bekas tangkai daun berbentuk seperti cincin. Bentuk daun bulat

memanjang. Berbunga majemuk bentuk malai. Tanaman ini biasanya terdapat di dataran rendah sampai dengan ketinggian 1900 meter di atas permukaan laut.

#### **II.1.4 Kandungan Kimia**

Daun tanaman andong mengandung saponin, tanin, flavonoid, polifenol, steroida, polisakarida(10), kalium oksalat dan zat besi(6). Senyawa sitotoksik yang telah diisolasi dari daun andong adalah senyawa golongan saponin steroida (7) dan senyawa glikosida steroid spirostan (10).

#### **II.1.5 Kegunaan**

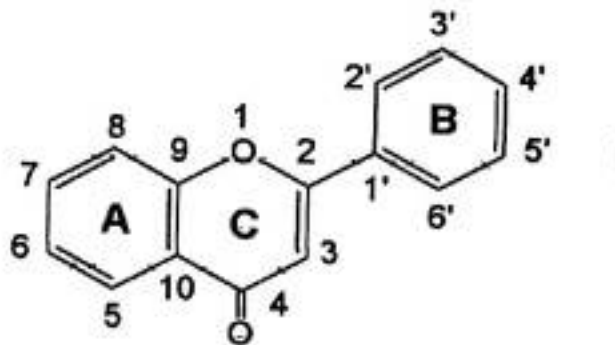
Tanaman andong merupakan salah satu obat tradisional yang banyak digunakan sebagai obat sakit kepala, diare, disentri, asma, TBC paru, sakit kulit, inflamasi mata, sakit punggung, rematik, dan encok(7).

Penelitian yang telah dilakukan ditemukan beberapa glikosida steroid yang mempunyai aktivitas biologi sebagai antitumor. Di samping itu, juga ditemukan beberapa senyawa steroid yang mempunyai aktivitas sebagai promotor antitumor secara *in vitro*(7).

#### **II.2 Uraian umum flavonoid**

Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol alam yang dalam tumbuhan merupakan aglikon mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6 - C_3 - C_6$  yaitu dua cincin

aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tak dapat membentuk cincin ketiga. Agar mudah, cincin diberi tanda A, B, dan C; atom karbon dinomori menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C, serta angka 'beraksen' untuk cincin B.



Gambar1. Kerangka Dasar Flavonoid (11)

Semua varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesis yang sama, yang memasukkan prazat dari alur sikimat dan alur asetat-malonat. Flavonoid pertama dihasilkan segera setelah kedua jalur itu bertemu. Flavonoid yang dianggap pertama kali terbentuk pada biosintesis ialah khalkon dan semua bentuk lain diturunkan darinya melalui berbagai alur. Modifikasi flavonoid lebih lanjut mungkin terjadi pada berbagai tahap dan menghasilkan penambahan atau pengurangan hidroksilasi, metilasi gugus hidroksil atau inti flavonoid; isoprenilasi gugus hidroksil atau inti flavonoid; metilenasi gugus orto-dihidroksil; dimerisasi (pembentukan biflavonoid); pembentukan bisulfat; dan yang terpenting, glikosilasi gugus hidroksil (pembentukan flavonoid o-glikosida) atau inti flavonoid (pembentukan flavonoid C- glikosida) (11)

## II.2.1 Biosintesis Flavonoid

Flavonoid disintesis melalui jalur metabolisme fenilpropanoid, dimana asam amino fenilalanin digunakan untuk menghasilkan 4-kumarol-CoA. Senyawa ini dapat dikombinasi oleh molonil-CoA sehingga menghasilkan kerangka dasar flavonoid, yaitu suatu kelompok komponen yang disebut khalkon yang mengandung dua cincin fenolik. Konjugasi dua cincin khalkon menghasilkan struktur yang identik dengan flavonoid, tiga cincin khalkon membentuk struktur flavon. Jalur metabolisme ini berlanjut melewati serangkaian reaksi modifikasi enzim sehingga menghasilkan flavonon  $\longrightarrow$  dihidroflavonol  $\longrightarrow$  antosianin. Sepanjang alur ini banyak produk lain yang terbentuk termasuk diantaranya flavonol, flavan-3-ols, proantosianidin (tanin) dan juga senyawa fenolik lainnya (9).

Pola biosintesa pertama kali disarankan oleh Birch, yaitu pada tahap – tahap pertama biosintesa flavonoid suatu ini  $C_6 - C_3$  berkombinasi dengan tiga unit  $C_2$  menghasilkan unit  $C_6-C_6-(C_2+C_2+C_2)$ . Kerangka  $C_{15}$  yang dihasilkan dari kombinasi ini telah mengandung gugus – gugus fungsi oksigen posisi- posisi yang diperlukan (11).

Cincin A dari struktur flavonoid berasal dari jalur poliketida, yaitu kondensasi dari tiga unit asetat atau malonat, sedangkan cincin B dan tiga atom karbon dari rantai propana berasal dari jalur fenilpropanoida (jalur shikimat). Sehingga kerangka dasar karbon dari flavonoid dihasilkan dari kombinasi antara dua jenis biosintesa utama untuk cincin aromatik yaitu jalur shikimat dan jalur asetat malonat. Sehingga dari berbagai perubahan



## II.2.1 Biosintesis Flavonoid

Flavonoid disintesis melalui jalur metabolisme fenilpropanoid, dimana asam amino fenilalanin digunakan untuk menghasilkan 4-kumarol-CoA. Senyawa ini dapat dikombinasi oleh molonil-CoA sehingga menghasilkan kerangka dasar flavonoid, yaitu suatu kelompok komponen yang disebut khalkon yang mengandung dua cincin fenolik. Konjugasi dua cincin khalkon menghasilkan struktur yang identik dengan flavonoid, tiga cincin khalkon membentuk struktur flavon. Jalur metabolisme ini berlanjut melewati serangkaian reaksi modifikasi enzim sehingga menghasilkan flavonon  $\longrightarrow$  dihidroflavonol  $\longrightarrow$  antosianin. Sepanjang alur ini banyak produk lain yang terbentuk termasuk diantaranya flavonol, flavan-3-ols, proantosianidin (tanin) dan juga senyawa fenolik lainnya (9).

Pola biosintesa pertama kali disarankan oleh Birch, yaitu pada tahap – tahap pertama biosintesa flavonoid suatu ini  $C_6 - C_3$  berkombinasi dengan tiga unit  $C_2$  menghasilkan unit  $C_6-C_6-(C_2+C_2+C_2)$ . Kerangka  $C_{15}$  yang dihasilkan dari kombinasi ini telah mengandung gugus – gugus fungsi oksigen posisi- posisi yang diperlukan (11).

Cincin A dari struktur flavonoid berasal dari jalur poliketida, yaitu kondensasi dari tiga unit asetat atau malonat, sedangkan cincin B dan tiga atom karbon dari rantai propana berasal dari jalur fenilpropanoida (jalur shikimat). Sehingga kerangka dasar karbon dari flavonoid dihasilkan dari kombinasi antara dua jenis biosintesa utama untuk cincin aromatik yaitu jalur shikimat dan jalur asetat malonat. Sehingga dari berbagai perubahan





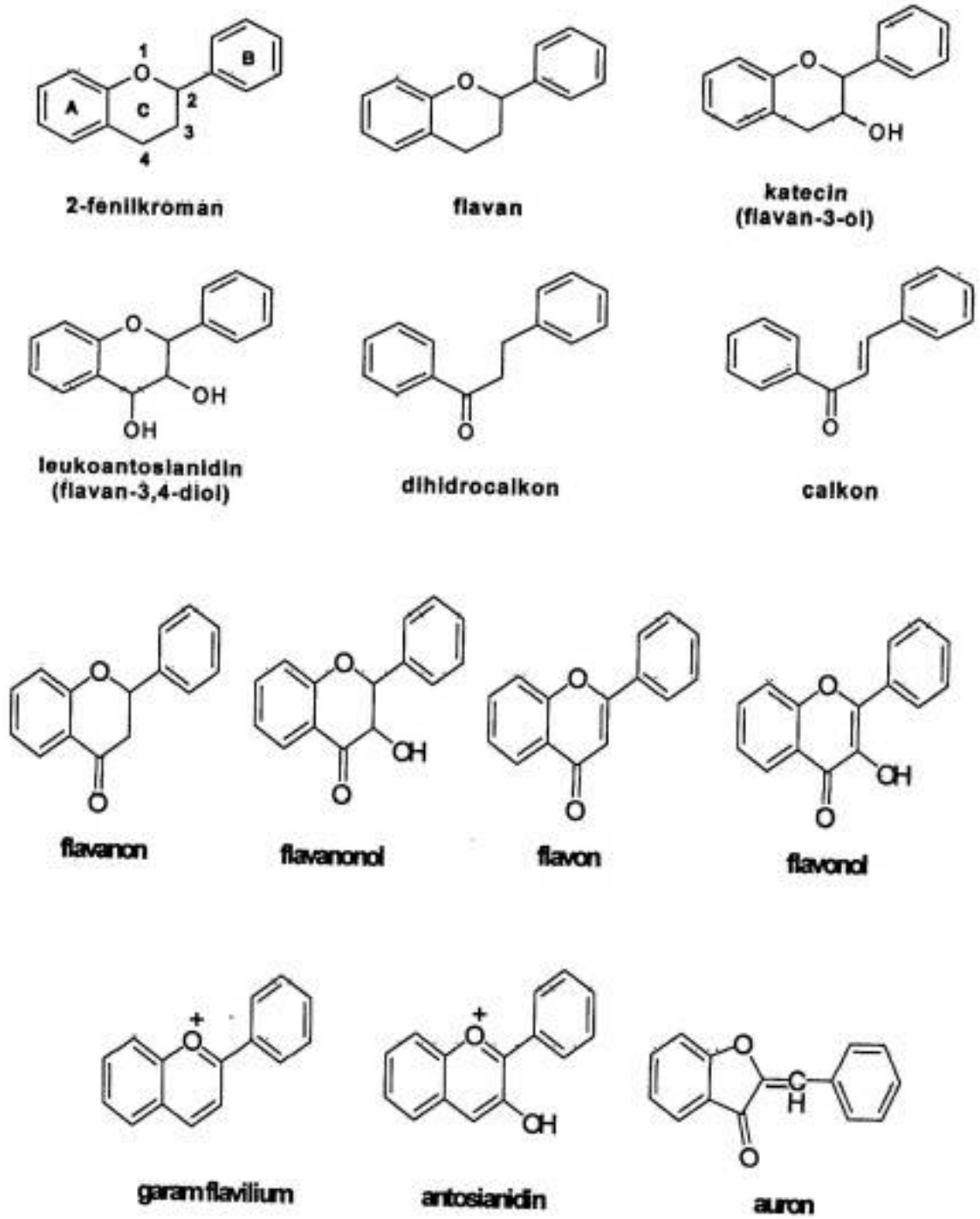
## II.2.2 Klasifikasi flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (11).

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene terikat pada suatu rantai propane sehingga membentuk suatu susunan  $C_6 - C_3 - C_6$ . Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (11).

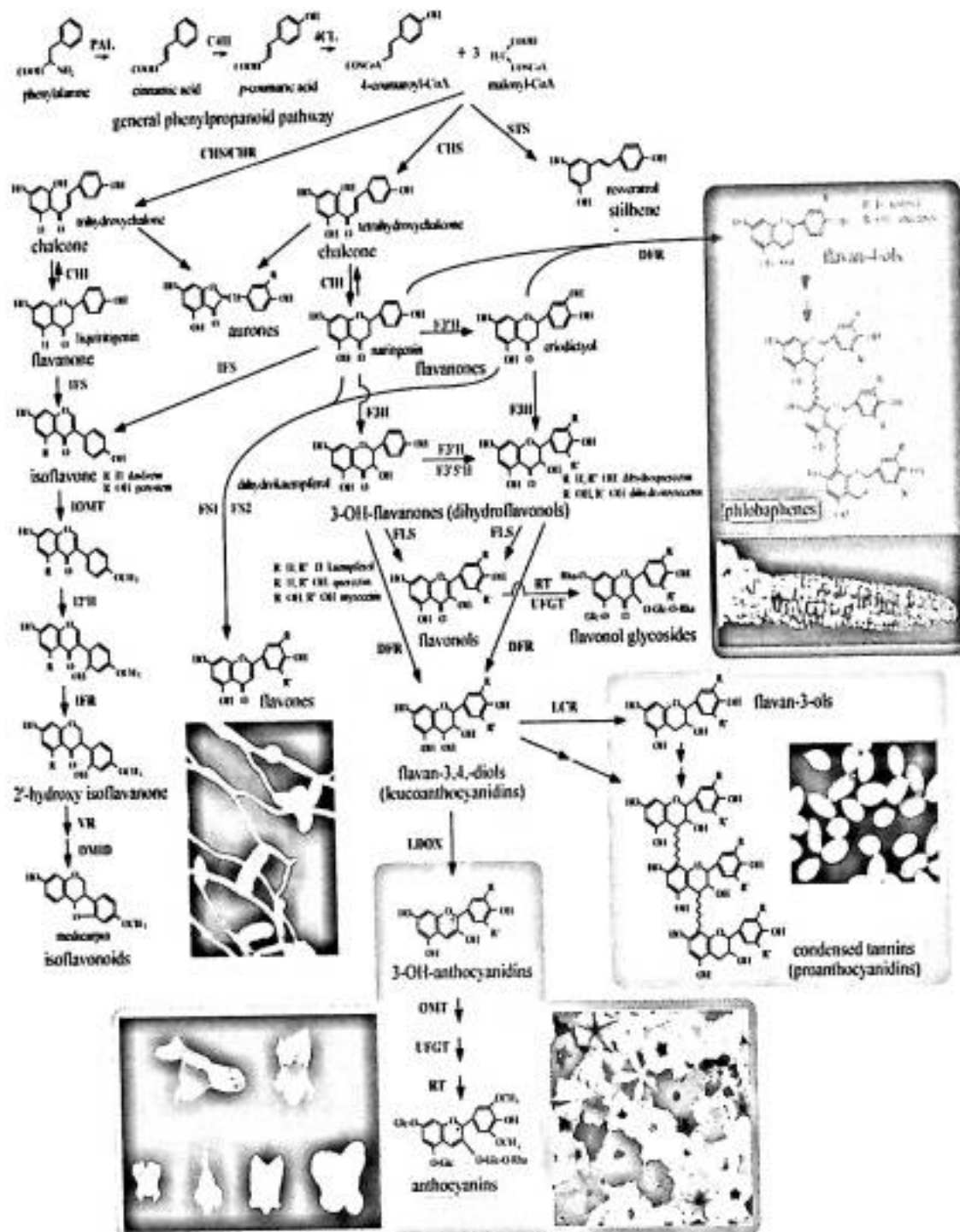
Senyawa-senyawa flavonoid terdiri atas beberapa jenis, tergantung pada tingkat oksidasi dari rantai propan dari system 1,3-diarilpropan. Dalam hal ini, flavon mempunyai tingkat oksidasi yang terendah sehingga senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tatanama senyawa-senyawa turunan flavon (11).

Penggolongan heterosiklik yang mengandung oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil. Perbedaan oksigen pada atom  $C_3$  menentukan sifat, khasiat, dan golongan atau tipe flavonoid. Perbedaan pola distribusi dan hirosilasi pada atom  $C_3$  juga menentukan klasifikasi dari senyawa flavonoid yaitu flavon, flavanon, flavanol, flavanonol, isoflavon, auron, khalkon(11).



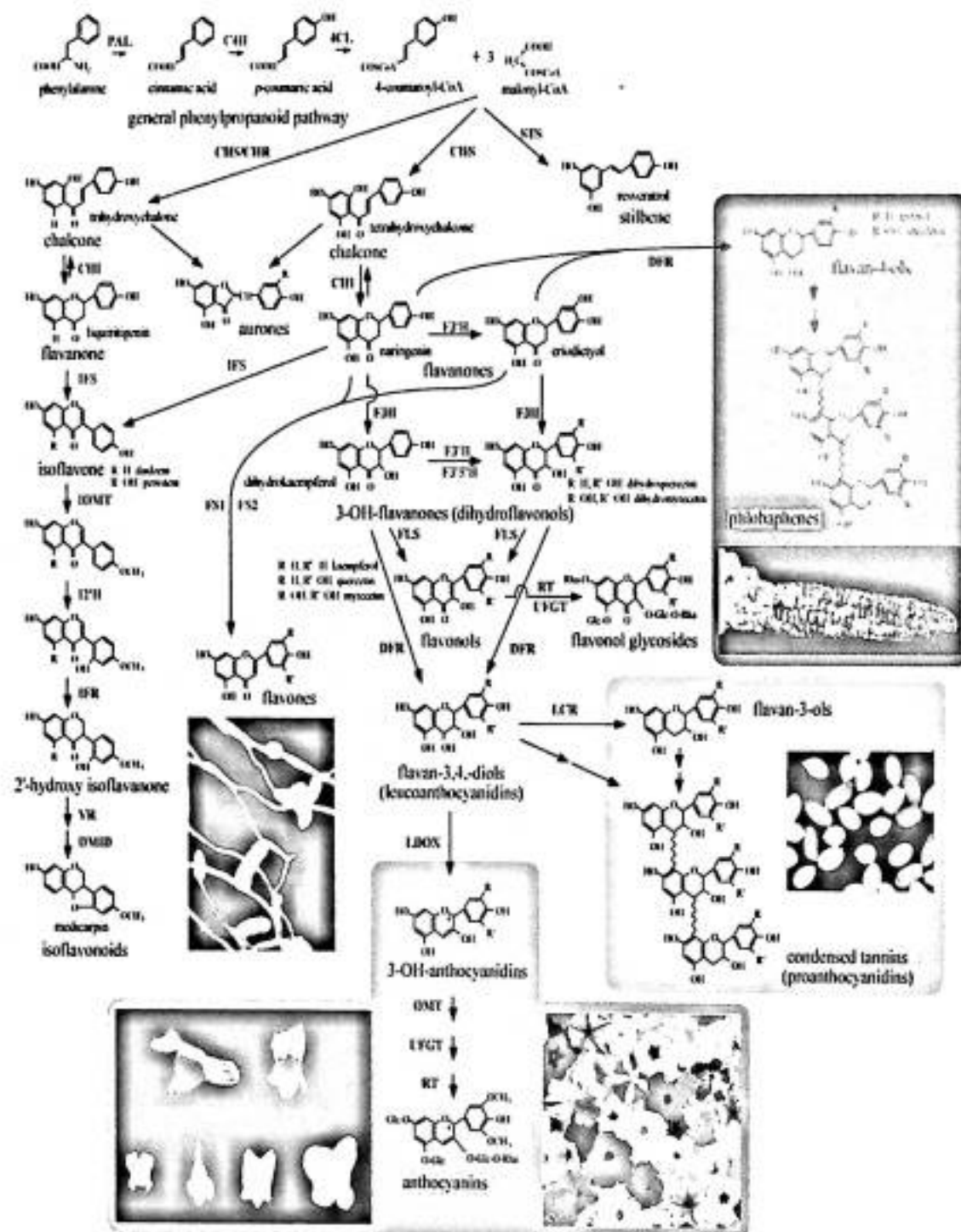
Gambar.3 Struktur Flavonoid (11)

yang disebabkan oleh enzim, ketiga atom karbon dari rantai propana dapat menghasilkan berbagai gugus fungsi seperti ikatan rangkap, gugus hidroksil, karbonil dan sebagainya.



Gambar.2 Biosintesis Flavonoid (23)

yang disebabkan oleh enzim, ketiga atom karbon dari rantai propana dapat menghasilkan berbagai gugus fungsi seperti ikatan rangkap, gugus hidroksil, karbonil dan sebagainya.



Gambar.2 Biosintesis Flavonoid (23)

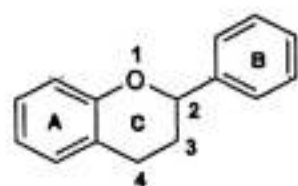
## II.2.2 Klasifikasi flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (11).

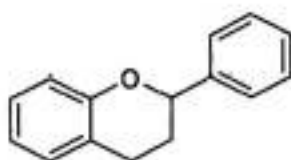
Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene terikat pada suatu rantai propane sehingga membentuk suatu susunan  $C_6 - C_3 - C_6$ . Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (11).

Senyawa-senyawa flavonoid terdiri atas beberapa jenis, tergantung pada tingkat oksidasi dari rantai propan dari system 1,3-diarilpropan. Dalam hal ini, flavon mempunyai tingkat oksidasi yang terendah sehingga senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tatanama senyawa-senyawa turunan flavon (11).

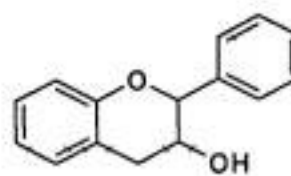
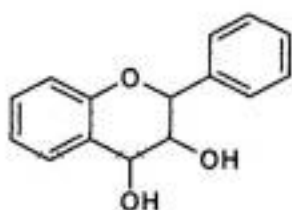
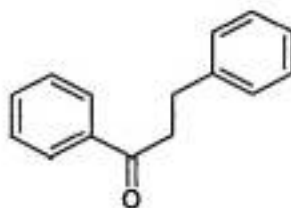
Penggolongan heterosiklik yang mengandung oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil. Perbedaan oksigen pada atom  $C_3$  menentukan sifat, khasiat, dan golongan atau tipe flavonoid. Perbedaan pola distribusi dan hirosilasi pada atom  $C_3$  juga menentukan klasifikasi dari senyawa flavonoid yaitu flavon, flavanon, flavanol, flavanonol, isoflavon, auron, khalkon(11).



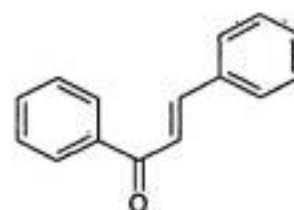
2-fenilkroman



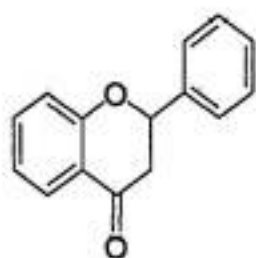
flavan

catecin  
(flavan-3-ol)leukoantosianidin  
(flavan-3,4-diol)

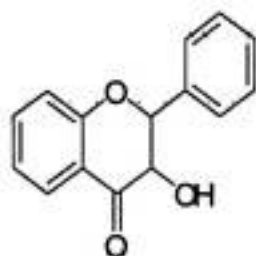
dihidrocalkon



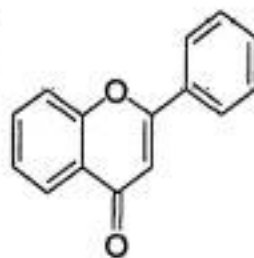
kalkon



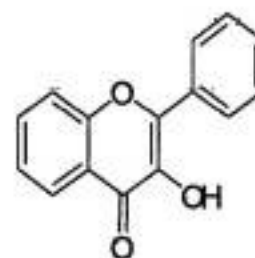
flavanon



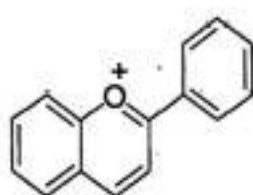
flavanonol



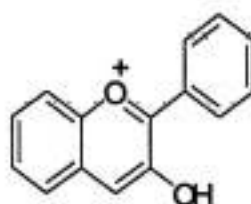
flavon



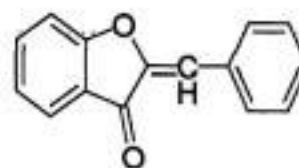
flavonol



garmflavilium



antosianidin



auron

Gambar.3 Struktur Flavonoid (11)

Flavonoid dalam jaringan tumbuhan digolongkan berdasarkan sifat kelarutan dan reaksi warnanya. Selanjutnya pada pemeriksaan kromatografi lapis tipis satu atau dua dimensi sebelum dan sesudah hidrolisis senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan cara membandingkan kromatogram dan spektrum dari senyawa lain yang telah diketahui.

### **II.2.3 Peranan flavonoid**

Peranan flavonoid untuk tumbuhan adalah sebagai pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus dan kerja terhadap serangga. Efek flavonoid terhadap manusia sangat banyak antara lain flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan, menghambat fosfodiesterase, aldoreduktase, monoamina oksidase, protein kinase, lipooksigenase, flavonoid bertindak sebagai penampung terbaik bagi radikal hidroksi dan superoksida, dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktifitas antioksidannya dapat digunakan untuk mengobati gangguan fungsi hati dan menghambat system prostaglandin, mengurangi pembekuan darah, antiskorbut dan antihipertensi (12).

### **II.2.4 Identifikasi Flavonoid**

Senyawa-senyawa flavonoid terdapat dalam semua bagian tumbuhan tingkat tinggi seperti bunga, daun bunga, akar, kayu, dan kulit kayu. Sebagian besar dari flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula, jika dihidrolisis

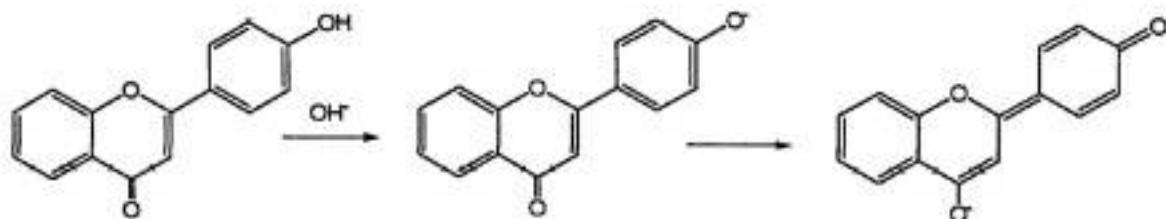


dengan asam, maka suatu glikosida terurai kembali atau komponen-komponennya menghasilkan gula.

Dilihat dari segi struktur, senyawa-senyawa flavon dapat dianggap sebagai 2-arilkromon, oleh karena itu, sebagaimana kromon dan kumarin, flavonoid dapat dideteksi berdasarkan warnanya dibawah sinar tampak atau sinar ultraviolet.

Flavonoid mempunyai sistem karbonil yang berkonyugasi dengan cincin aromatik sehingga karakterisasi flavonoid dapat dilakukan dengan pengukuran spektrofotometri selain dengan identifikasi reaksi warna, yang mana dengan pereaksi  $AlCl_3$  1% dalam etanol menghasilkan warna kuning, pereaksi Benedict menghasilkan warna biru, dan pereaksi Wilstater menghasilkan warna merah (13).

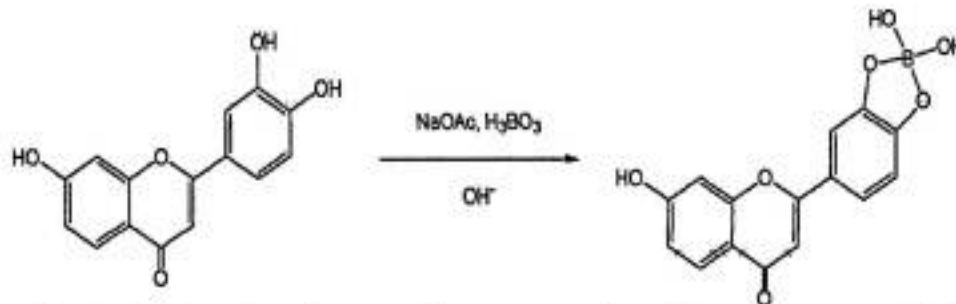
Flavonoid menjadi kuning terang jingga dalam larutan basa dapat dideteksi jika bagian tumbuhan diuapi ammonia, timbulnya warna ini disebabkan oleh pembentukan garam dan terbentuknya struktur kuinoid pada cincin B seperti berikut :



Gambar 4. Pembentukan struktur kuinoid dari flavonoid (Robinson, 1995)

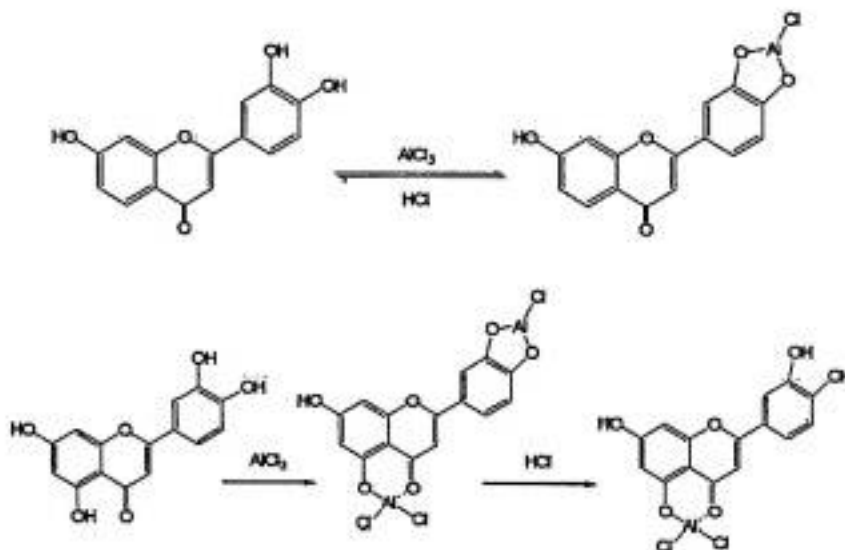


Flavonoid memberikan warna kuning intensif jika bereaksi dengan asam borat dan larutan natrium asetat pada kedudukan orto hidroksi, seperti terlihat pada gambar (4)



Gambar 5. kompleks flavonoid dengan asam borat dan natrium asetat (Robinson, 1995)

Aluminium klorida juga dapat membentuk kompleks dengan flavonoid menimbulkan warna kuning dengan reaksi seperti berikut :



Gambar 6. Reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dengan aluminium klorida (Robinson, 1995)

#### II.2.4 Kelarutan Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa, karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar dan umumnya flavonoid

larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (11).

### **II.3. Metode Ekstraksi Bahan Alam**

#### **II.3.1 Defenisi Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (14).

#### **II.3.2 Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak**

Faktor biologi yang mempengaruhi mutu ekstrak meliputi beberapa hal yaitu :

1. Identitas jenis (spesies): jenis tumbuhan dari sudut keragaman hayati dapat dikonfirmasi sampai informasi genetik sebagai faktor internal untuk validasi jenis (spesies).
2. Lokasi tumbuhan asal: lokasi berarti faktor eksternal yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi berupa energi (cuaca, temperatur, cahaya), dan materi (air, senyawa organik, dan anorganik).
3. Periode pemanenan hasil tumbuhan
4. Penyimpanan bahan tumbuhan
5. Umur tumbuhan dan bagian yang digunakan

Selain kelima faktor tersebut untuk bahan tumbuhan budidaya ada lagi faktor GAP (Good Agriculture Practice) sedang bahan dari tumbuhan liar (wild crop) ada faktor kondisi pengeringan yang umumnya dilakukan di lapangan(15).

Sedangkan faktor kimia baik untuk bahan dari tumbuhan maupun dari tumbuhan obat hasil budidaya meliputi beberapa hal, yaitu:

1. Faktor internal meliputi jenis senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, komposisi kualitatif senyawa aktif dan kadar total rata – rata senyawa aktif.
2. Faktor eksternal meliputi metode ekstraksi perbandingan ukuran alat ekstraksi, ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan, kandungan logam berat, kandungan pestisida.(15).

### **II.3.3 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan sel hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.

Jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi cara dingin seperti maserasi, perkolasi, ekstraksi secara panas seperti refluks, sokletasi dan destilasi uap air (16).

#### **II.3.4 Tujuan ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Pelarut organik yang paling umum digunakan untuk mengekstraksikan komponen kimia dari sel tanaman adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat. Proses ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel secara osmosis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (15, 17).

#### **II.3.5 Ekstraksi secara maserasi**

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang pekat akan mengalir ke luar sel yang mempunyai

#### **II.3.4 Tujuan ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Pelarut organik yang paling umum digunakan untuk mengekstraksikan komponen kimia dari sel tanaman adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat. Proses ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel secara osmosis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (15, 17).

#### **II.3.5 Ekstraksi secara maserasi**

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang pekat akan mengalir ke luar sel yang mempunyai

konsentrasi rendah. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel.

Metode maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, methanol atau pelarut lain.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna.

Ada beberapa modifikasi metode maserasi, antara lain (16) :

1. Modifikasi digesti, yaitu maserasi yang dilakukan dengan menggunakan pemanasan lemah, pada suhu antara 40 – 50°C terutama untuk sampel yang mengandung komponen kimia yang tahan pemanasan.
2. Modifikasi dengan menggunakan mesin pengaduk yang ditujukan untuk mempercepat penyarian.
3. Remaserasi adalah penyarian yang dilakukan setelah penyarian yang pertama selesai, diperas dan ditambahkan lagi larutan penyari.
4. Maserasi melingkar adalah penyarian yang dilakukan dengan cairan penyari yang selalu bergerak dan menyebar sehingga kejenuhan cairan penyari dapat merata.



## **II.4 Metode Isolasi dan Pemurnian**

Isolasi adalah proses pemisahan komponen kimia yang terdapat dalam suatu ekstrak. Pemisahan ini didasarkan pada adsorpsi dan partisi senyawa terhadap penyerap dan cairan pengelusi. Isolasi pada umumnya dilakukan dengan cara kromatografi, yaitu cara pemisahan komponen kimia dalam suatu sediaan dengan metode penyarian berfraksi, penyerapan pada zat berpori, penukar ion atau dengan menggunakan cairan atau gas mengalir. Pemisahan terjadi karena komponen cuplikan bergerak dalam jarak yang berbeda yang disebabkan oleh perbedaan partisi dari komponen cuplikan yang dipisahkan. Pemisahan dan pemurnian komponen terjadi karena adanya perbedaan distribusi diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Teknik kromatografi yang sering digunakan adalah kromatografi kertas, kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis. Sebagai penyerap berpori digunakan aluminium oksida, silika gel, kiselgur, selulosa dan harse sintetik. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis pada umumnya digunakan untuk identifikasi karena cara ini khas dan mudah dilakukan untuk memisahkan komponen dalam jumlah yang sedikit, sedangkan kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan komponen kimia dalam jumlah yang lebih banyak (18).

### **II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik analisa sederhana. Waktu pengerjaan untuk menyelesaikan analisa relatif singkat (15-60

menit) dan memiliki daya pisah yang cukup baik. Kromatografi ini menggunakan plat gelas, logam atau lapisan yang cocok sebagai penyangga dengan zat penyerap berupa bubuk halus yang dilapiskan serta rata dengan ketebalan 0,1-0,3 mm, umumnya 0,2 mm diatas permukaan penyangga tersebut.

Perpindahan komponen suatu senyawa yang dipisahkan pada kromatografi ini tergantung pada jenis pelarut, zat penyerap dan sifat daya serapnya terhadap masing-masing komponen yang terlarut akan terbawa oleh fase bergerak (pelarut) melalui fase diam penyerap dengan kecepatan perpindahan berbeda. Perbandingan kecepatan bergerak pelarut pada permukaan zat penyerap merupakan dasar untuk identifikasi komponen yang akan dipisahkan. Perbandingan kecepatan ini digunakan dengan Rf ( rate of flow).

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Harga Rf dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni ukuran partikel, derajat keaktifan penyerap, kenuhian pelarut, kejenuhan ruang elusi dan lain-lain (19).

## **II.5 Analisis Spektroskopi Sinar Tampak dan Sinar Ultraviolet**

Spektrokopi adalah studi tentang interaksi cahaya dengan atom molekul. Untuk melukiskan bagaimana radiasi elektromagnetik berinteraksi dengan benda, maka dibayangkan bahwa berkas sinar adalah



suatu foton (partikel yang bertenaga). Tenaga setiap foton berbanding langsung dengan frekuensi radiasi dan dinyatakan dengan persamaan (20).

$$E = h.v = h.c / \lambda$$

Dimana, E = tenaga foton

V = frekuensi radiasi elektromagnetik

h = tetapan Plank

$\lambda$  = panjang gelombang

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet tergantung pada struktur elektronik dari molekul tersebut. Spektrum ultraviolet dari senyawa organik berkaitan erat dengan transisi diantara tingkatan-tingkatan energi elektronik. Transisi dan spektrum serapan elektronik ini dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif, karena untuk molekul yang berbeda transisi elektroniknya juga berbeda, demikian pula jumlah radiasi elektromagnetik yang diserap erat hubungannya dengan jumlah molekul penyerap.

Interaksi antara molekul yang mempunyai gugus kromofor dengan radiasi elektromagnetik pada daerah ultraviolet dan tampak akan menyebabkan transisi elektronik dan menghasilkan spektra absorpsi elektronik. Transisi elektronik yang terjadi pada struktur berlainan maka spektra absorpsi dapat digunakan untuk analisis kualitatif. Demikian juga karena jumlah radiasi elektromagnetik yang diabsorpsi ada hubungannya

dengan jumlah molekul yang mengabsorpsi, maka spektra absorpsi dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

Spektrum absorpsi merupakan hasil suatu atom atau molekul yang dieksitasikan ke tingkat energi yang lebih tinggi dengan mengabsorpsi suatu kuantum energi. Setiap jenis atom atau molekul memberikan spektrum absorpsi yang khas.

Spektrum ultraviolet dalam prakteknya digunakan terutama pada system-sistem konyugasi. Meskipun demikian terdapat keuntungan yang selektif dari serapan ultraviolet yaitu gugus-gugus karakteristik cepat dikenal dalam molekul-molekul yang sangat kompleks.

Beberapa istilah yang digunakan dalam spektroskopi ultraviolet adalah (16)

- a. Gugus kromofor : gugus kovalen tidak jenuh yang dapat menyerap sinar tampak dan ultraviolet (200-800 nm) yang disebabkan transisi elektronik ( C=C, C=O, NO<sub>2</sub>).
- b. Gugus auksokrom : gugus jenuh yang tidak menyerap sinar diatas 200 nm, akan tetapi jika terikat pada suatu gugus kromofor tersebut ke panjang gelombang yang lebih panjang dan mempertinggi intensitasnya (OH, NH<sub>2</sub>,Cl)
- c. Pergeseran hipsokromik : pergeseran serapan dari panjang gelombang yang lebih panjang ke panjang gelombang yang lebih pendek karena substitusi atau pengaruh pelarut (pergeseran biru).

- d. Pergeseran batokromik : pergeseran serapan dari panjang gelombang yang lebih pendek ke panjang gelombang yang lebih panjang karena substitusi atau pengaruh pelarut (pergeseran merah).
- e. Efek hiperkromik : Kenaikan dalam intensitas serapan.
- f. Efek hipokromik : penurunan dalam intensitas serapan.
- g. Intensitas serapan : intensitas serapan biasanya dinyatakan dalam absorptivitas molar.

## **II.6 Interpretasi struktur dari data Spektroskopi**

Adapun langkah pertama cara menafsirkan spektrum senyawa flavonoid adalah dengan memperhatikan (11) :

- a. bentuk umum spektrum senyawa dalam pelarut metanol
- b. panjang gelombang pita serapan
- c. data KK/KLT

Langkah kedua ialah mempertimbangkan arti perubahan spektrum yang disebabkan oleh berbagai pereaksi geser. Penafsiran ini dibahas dibawah dan kunci berupa tabel yang didasarkan pada jenis flavonoid disertakan untuk setiap pereaksi.

Flavonoid mempunyai sistem aromatik terkonyugasi, oleh karena itu mempunyai pita serapan di daerah ultraviolet dan tampak. Spektra flavon dan flavonol dalam metanol memperlihatkan dua puncak utama pada daerah 240-400 nm. Dua puncak utama ini biasanya memperlihatkan pita I (300-380 nm) dan pita II (240-280 nm). Pita I

menunjukkan absorpsi yang sesuai untuk cincin B sinamoil, sedang pita II berhubungan dengan absorpsi cincin A benzoil.

Isoflavon, flavanon dan dihidroflavonol memberikan spektra ultraviolet yang mirip satu sama lain, karena masing-masing senyawa ini tidak mempunyai sistem konyugasi sinamoil dengan cincin B. Larutan isoflavon dalam metanol memberikan spektra ultraviolet dengan puncak II pada daerah 250-270 nm dan puncak I yang memberikan infeksi pada daerah 300-330 nm. Untuk flavanon dan dihidroflavanon keduanya memberikan puncak II pada daerah 270-290 nm dan puncak I pada daerah 320-330 nm.

Peran gugus OH pada cincin A pada flavon dan flavonol menghasilkan pergeseran batokromik yang nyata pada pita II dan sedikit pada pita I. Metilasi dan glikosilasi juga berefek pada absorpsi pada flavon dan flavonol. Jika gugus 3, 5 dan 4-OH pada flavon dan flavonol termetilasi dan terglukosilasi terjadi pergeseran hipsokromik terutama pita I. Pergeseran yang terjadi sebesar 12-17 nm, bisa juga mencapai 22-25 nm pada flavon yang tidak mempunyai gugus 5-OH (11).

Khalkon menunjukkan puncak yang lebar pada pita I antara 340 nm dan 390 nm di daerah spektrum tampak, pada pita II antara 230-275 nm dengan kekuatan rendah, ini berbeda dengan auron spektrum tampak pada panjang gelombang maksimum 390 - 430 nm. Spektrum tersebut mengaami geser batokrom yang besar bila ada basa dan garam logam. Senyawa khalkon berisomerisasi menjadi flavon oleh suasana

asam;larutan beberapa khalkon juga teroksidasi di udara secara perlahan-lahan menjadai auron yang bersesuaian (17). Larutan khalkon/auron dalam natrium hidroksida, pergeseran yang tampak pada pita I sebesar 80-95 nm dengan penunjuk penafsiran 4'OH.Pada penambahan  $AlCl_3/HCl$  pergeseran yang tampak pada pita I penambahan panjang gelombangnya lebih kecil yang memungkinkan terdapatnya ortodihidroksi pada cincin A(11).

## **BAB III**

### **PELAKSANAAN PENELITIAN**

#### **III.1 Alat dan Bahan Yang Digunakan**

Alat dan bahan yang digunakan adalah bejana maserasi, chamber, corong pisah 250 ml, freeze dryer, Erlenmeyer (pyrex), eksikator, gelas piala (pyrex), gelas ukur 100 ml (pyrex), kromatografi kolom vacum, lampu UV panjang gelombang 254 dan 366 nm, magnetik stirer, pipet skala, pipet volum, spektrofotometer ultraviolet-visible, tabung reaksi, timbangan analitik (Sartorius), timbangan kasar.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, aluminium foil, aluminium klorida, ammonia, asam asetat, asam borat, asam klorida, asam sitrat, daun andong, etanol, etil asetat, heksan, kloroform, lempeng kromatografi lapis tipis, metanol, natrium asetat, natrium hidroksida, n-Butanol, silika gel PF<sub>254</sub>.

#### **III.2 Metode Kerja**

##### **III.2.1 Pengambilan Sampel**

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun andong yang diperoleh di Malino Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan

##### **III.2.2 Penyiapan Sampel**

Sampel daun andong diambil pada pagi hari yaitu daun kelima dari pucuk hingga ke bawah. Sampel tersebut dipetik dengan menggunakan tangan, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir dan dikering

anginkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung hingga kering, lalu dipotong – potong kemudian diserbukkan.

### **III.3 Ekstraksi Sampel**

#### **III.3.1 Ekstraksi dengan Etanol**

Serbuk simplisia ditimbang 500 gram kemudian dimasukkan dalam wadah maserasi. Cairan pengestraksi etanol 70% sebanyak  $\pm$  3000 ml dimasukkan ke dalam wadah hingga seluruh serbuk sampel terendam, lalu ditutup rapat. Wadah maserasi disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung selama 3 hari sambil dilakukan pengadukan beberapa kali. Campuran kemudian disaring dan ampasnya ditambah lagi dengan pelarut. Proses penyarian selanjutnya dilakukan sebanyak 2 kali dengan etanol 70% setiap kali sebanyak 3000 ml. Ekstrak cair dikumpulkan kemudian diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental, selanjutnya ditimbang sebanyak 35,5 gram.

#### **III.3.2 Partisi Ekstrak Etanol**

Ekstrak etanol 70% yang diperoleh dilarutkan dengan menggunakan pelarut etil asetat. Selanjutnya dipartisi cair padat dengan menggunakan magnetik stirer dan sentrifuge, sehingga didapat ekstrak larut etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat. Kemudian ekstrak yang diperoleh diuapkan hingga kental, kemudian dilakukan identifikasi secara kromatografi lapis tipis dengan menggunakan eluen etil asetat : asam



asetat glasial (2 ml : 1 tetes), kemudian diamati pada sinar UV 254 dan 366 nm.

### **III. 4 Fraksinasi dan Isolasi**

#### **III.4.1 Penyiapan kolom Kromatografi cair vacum**

Kolom kromatografi cair vacum terlebih dahulu dibilas dengan kloroform – metanol (1:1), selanjutnya dipasang tegak lurus pada statif dan dimasukkan silika gel 60 PF<sub>254</sub> kedalam kolom dan dihubungkan dengan pompa vakum, kemudian pompa vakum dinyalakan hingga silika gel mampat.

#### **III.4.2 Penyiapan sampel kolom kromatografi cair vakum**

Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol larut etil asetat dan ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian ditambahkan silika gel PF<sub>254</sub> sedikit demi sedikit sambil diaduk merata hingga terbentuk serbuk. Selanjutnya sampel dimasukkan dalam kolom dan kertas saring diletakkan dibagian atas sampel dalam kolom.

#### **III.4.3 Fraksinasi Komponen kimia**

Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol larut etil asetat daun andong di kromatografi lapis tipis untuk menentukan fase gerak yang akan digunakan pada kromatografi cair vakum. Ekstrak etanol larut etil asetat difraksinasi lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom cair vakum dengan fase diam silika gel dan fase gerak heksan: etil asetat (3:1).. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuapkan kemudian di kromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak heksan: etil asetat : asam asetat glasial (3:1: 2



tetes). Kemudian diamati pada dibawah sinar UV 254 dan 366 nm, sitroborat, dan uap amonia untuk melihat profil KLT. Fraksi yang memiliki kesamaan profil digabung.

### **III.5 Karakterisasi Senyawa**

#### **III.5.1 Karakterisasi dengan Reagen Semprot**

Fraksi gabungan yang diperoleh ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis , setelah kering lempeng dielusi dalam chamber yang berisi fase gerak etil asetat : metanol : asam asetat (20ml:1ml:10 tetes), kemudian diklasifikasi golongannya dengan menggunakan reagent yaitu  $\text{AlCl}_3$  5 %, asam sitoborat dan uap amoniak. Selanjutnya diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Spot noda yang tampak diduga flavanoid, selanjutnya di kromatografi lapis tipis preparatif, pita-pita yang terbentuk kemudian dikeruk kemudian di larutkan dengan kloroform:metanol (1:1) dan di uapkan. Isolat yang di peroleh di multi eluen.

#### **III.5.2 karakterisasi dengan spektrofotometer**

Senyawa murni yang telah diperoleh selanjutnya dikarakterisasi secara spektrofotometer UV-VIS dengan menggunakan peraksi geser Aluminium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) dan Natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ )

Adapun tahapan kerja penggunaan pereaksi geser (11):

- a. Setelah mengukur spektrum cuplikan dalam metanol (spektrum metanol), tambahkan tiga tetes  $\text{NaOH}$  2M ke dalam kuvet, campur, lalu rekamlah spektrum  $\text{NaOH}$  2M. Untuk memeriksa apakah adanya

penguraian, spektrum NaOH 2M direkam lagi setelah kira-kira lima menit. Kemudian cuplikan di buang dan sel (kuvet) yang telah dicuci diisi lagi dengan larutan flavonoid persediaan.

- b. Enam tetes pereaksi  $\text{AlCl}_3$  ditambahkan dalam larutan flavonoid, campur, lalu ukur spectrum  $\text{AlCl}_3$ . Selanjutnya tiga tetes HCl, campur dan ukur spektrum  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ . Akhirnya, cuplikan dibuang dan sel dicuci

### **III.6 Pembahasan Hasil**

Pembahasan hasil berdasarkan pada hasil kromatografi dan spektrofotometri UV-VIS

### **III.7 Pengambilan Kesimpulan**

Kesimpulan diambil berdasarkan analisis data dan hasil pembahasan.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Pada pemeriksaan golongan senyawa yang terdapat dalam daun andong menunjukkan adanya senyawa flavonoid, hal ini terbukti setelah dilakukan analisis kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase gerak eluen etil asetat : metanol : asam asetat (20ml:1ml:10 tetes) yang merupakan uji identifikasi flavonoid.

Tabel 1. Hasil Analisis Kualitatif dari Ekstrak daun *Cordyline terminalis* Kunth. dengan Kromatografi lapis tipis

Ekstrak	Eluen	Nilai Rf	Uap amonia	AlCl <sub>3</sub>	Sitroborat	ket
Etanol larut etil asetat	Etil asetat:metanol: asam asetat (20 ml:1ml:10 tetes)	0.5	Warna lebih terang	kuning	Kuning terang	+

Tabel 2. Perubahan panjang gelombang pita dengan penambahan pereaksi geser

Pereaksi	Puncak I	Puncak II	Pergeseran puncak I	Pergeseran puncak II	Interpretasi
Cuplikan	310	272	-	-	-
NaOH 2M	391	282	81	10	4'-OH
AlCl <sub>3</sub>	344	273	34	1(Kekuatan menurun)	o-diOH pada cincin A
AlCl <sub>3</sub> + HCL	344	-	-	-	-

## IV.2 Pembahasan

Isolasi adalah salah satu cara untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam tanaman dan mengetahui efek yang diberikan oleh senyawa tersebut. Salah satu komponen utama yang terdapat pada tanaman adalah Flavonoid, Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa flavonoid pada ekstrak etanol larut etil asetat daun andong dengan menggunakan penampak bercak dan analisa spektroskopi.

Pembuatan ekstrak etanol daun andong dilakukan dengan metode maserasi. Dari hasil maserasi diperoleh ekstrak sebanyak 35,5 gram. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian diekstraksi cair padat dengan menggunakan etil asetat. Bagian larut dengan etil asetat diidentifikasi. Ekstrak etanol larut etil asetat diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan etil asetat : metanol : asam asetat (20ml:1ml:10 tetes) dan diamati di UV 254 nm dan 366 nm dan penyemprotan sitroborat, dan uap ammonia. Dari hasil pengamatan tersebut didapatkan hasil bahwa daun andong mengandung flavonoid.

Ekstrak etanol larut etil asetat difraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum dengan menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak heksan:etil asetat (3:1) dengan perbandingan eluen heksan:etil asetat (20:1),heksan:etil asetat (15:1), heksan:etil asetat (10:1), heksan:etil asetat (10:1), heksan:etil asetat (10:1), heksan:etil asetat (5:1), heksan:etil asetat (5:1),dan etil asetat:metanol(1:1). Fraksi-fraksi yang memiliki kesamaan profil digabung.Fraksi gabungan yang

diperoleh ada lima fraksi yaitu fraksi 1 merupakan hasil gabungan dari fraksi heksan:etil asetat (20:1 dan 15:1), fraksi 2 yaitu hasil gabungan dari fraksi heksan:etil asetat (10:1 pertama dan 10:1 kedua), fraksi 3 yaitu hasil gabungan dari fraksi heksan:etil asetat (10:1 ketiga heksan 5:1 pertama), fraksi 4 yaitu hasil fraksi heksan:etil asetat (5:1) dan fraksi 5 yaitu hasil fraksi etil asetat : metanol (1:1).

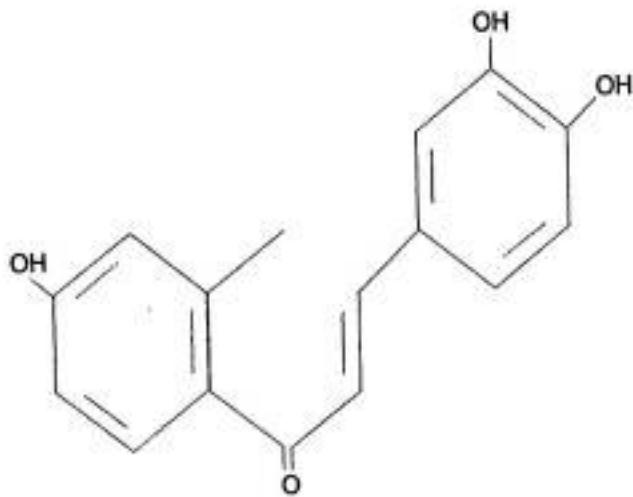
Fraksi yang memiliki warna yang spesifik kemudian diisolasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif. Dari fraksi ini didapatkan pita, kemudian pita ini diekstraksi dengan menggunakan kloroform:metanol (1:1). Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer.

Dari hasil spektrofotometer, pita yang diduga mengandung flavonoid dengan panjang gelombang maksimum ultraviolet yaitu puncak I 310 nm dan puncak II 272 nm. Serapan yang terjadi pada daerah ultraviolet ini menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonyugasi.

Penggunaan pereaksi geser bertujuan untuk menentukan kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dan menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol. Pereaksi geser ini terdiri atas Natrium hidroksida 2M, aluminium klorida dan asam klorida.

Dari hasil pereaksi geser menggunakan NaOH serapan maksimum pita I dan pita II sebesar 391 nm dan 282 nm terjadi pergeseran batokromik sebesar 81 nm dan 10 nm tanpa disertai penurunan

intensitasnya. Hal ini menunjukkan adanya substituen gugus -OH pada C-4'. Pada penambahan pereaksi  $AlCl_3/HCl$  terjadi pergeseran batokromik sebesar 34 nm yang menunjukkan terdapat substituen orto-dihidroksi pada cincin A. Jadi flavonoid ini diduga merupakan golongan khalkon.



Gambar 7. Tentatif struktur golongan khalkon

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **V.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, analisa, dan pembahasan , maka dapat disimpulkan bahwa jenis flavonoid dari daun andong yang terdapat pada ekstrak etanol diduga golongan khalkon.

#### **V.2 Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa tunggal flavonoid dengan menggunakan analisis IR, NMR, dan MS sehingga dapat ditetapkan suatu struktur kimia senyawa flavonoid dari daun andong.



## DAFTAR PUSTAKA

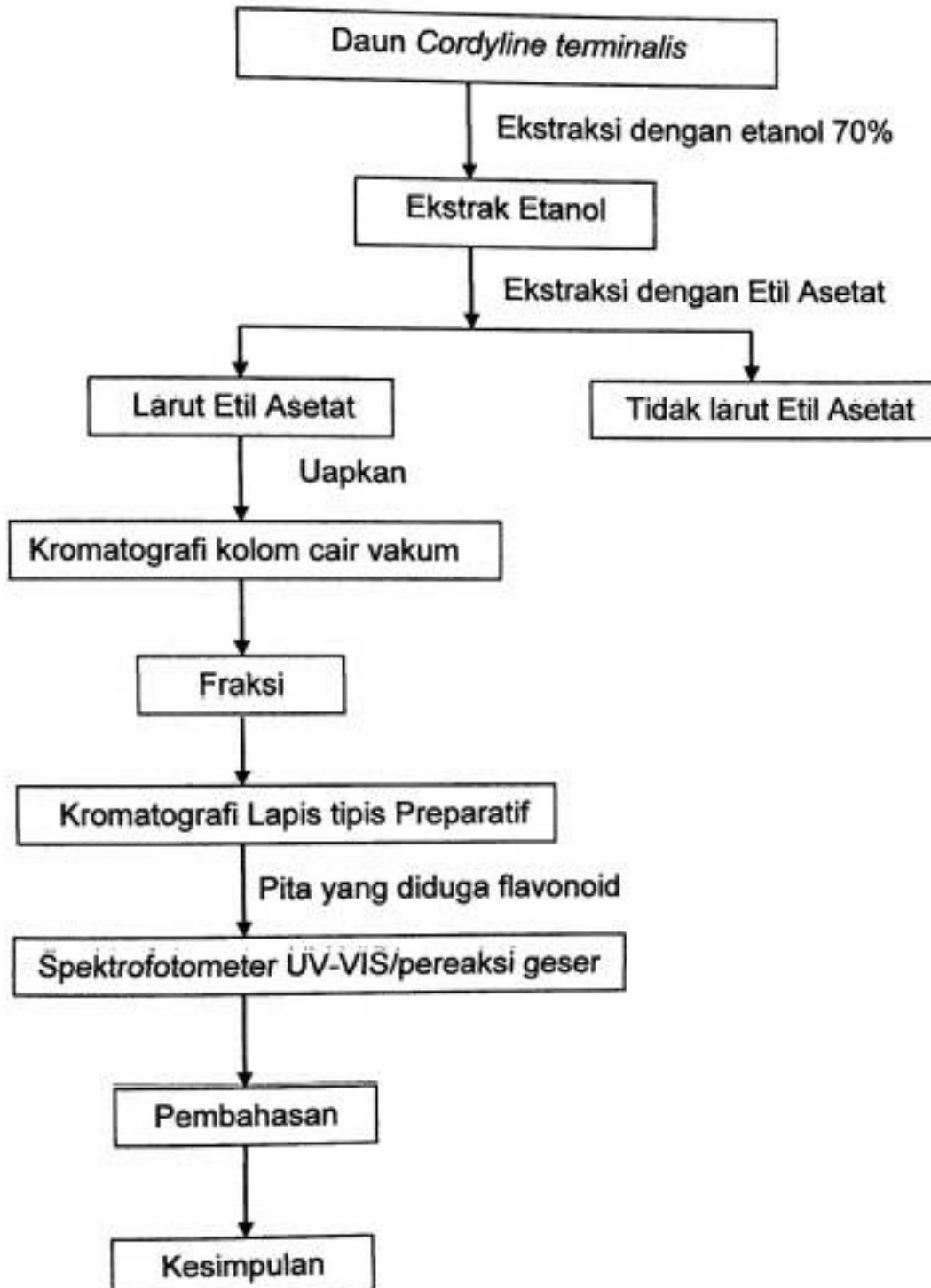
1. Heyne, K. *Tumbuhan Berguna Indonesia III*. Departemen Kehutanan Badan penelitian Dan Pengembangan Kehutanan. yayasan Sarana Wanajaya. Jakarta. 1988
2. Martawijaya, M. *Atlas Kayu Indonesia. Jilid 3*. Departemen Kehutanan. Badan Penelitian Dan Pengembangan Kehutanan. Bogor. 1989
3. Ismawan B., *Herbal Indonesia Berkhasiat Bukti Ilmiah dan cara racik*. PT Trubus Swadaya. Jakarta. hal 170
4. Farnsworth, N.R. Biological and phytochemical screening of plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 (3). 1966. hal 257-260.
5. Bogoriani, N. W., Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth), *Review Kimia*, 4, (3). 2001. hal 92-97
6. Dalimartha S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Puspa Suara. Jakarta. 2006.
7. Bogoriani NW, Santi SR, & Asih IARA. Isolasi Senyawa Sitotoksik dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth.). *Jurnal Kimia*. 2007. 1(1); hal. 1-6.
8. Firoj A, Prabir K, Amirul I, Rahman, Selim. Antibacterial Activity of *Cordyline terminalis* Kunth. Leaves. *Journal of Medical Sciences*. Vol.3. 2003. hal. 418-422.
9. Sovia L. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida. Karya Ilmiah*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. Medan. 2006
10. Bogoriani NW. Isolasi dan Identifikasi Glikosida Steroid dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth). *Jurnal Kimia*. 2008. 2(1); hal. 40-4.
11. Markham, K. R.. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB. Bandung. 1988.
12. Robinson, T. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB. Bandung. 1995. hal. 191



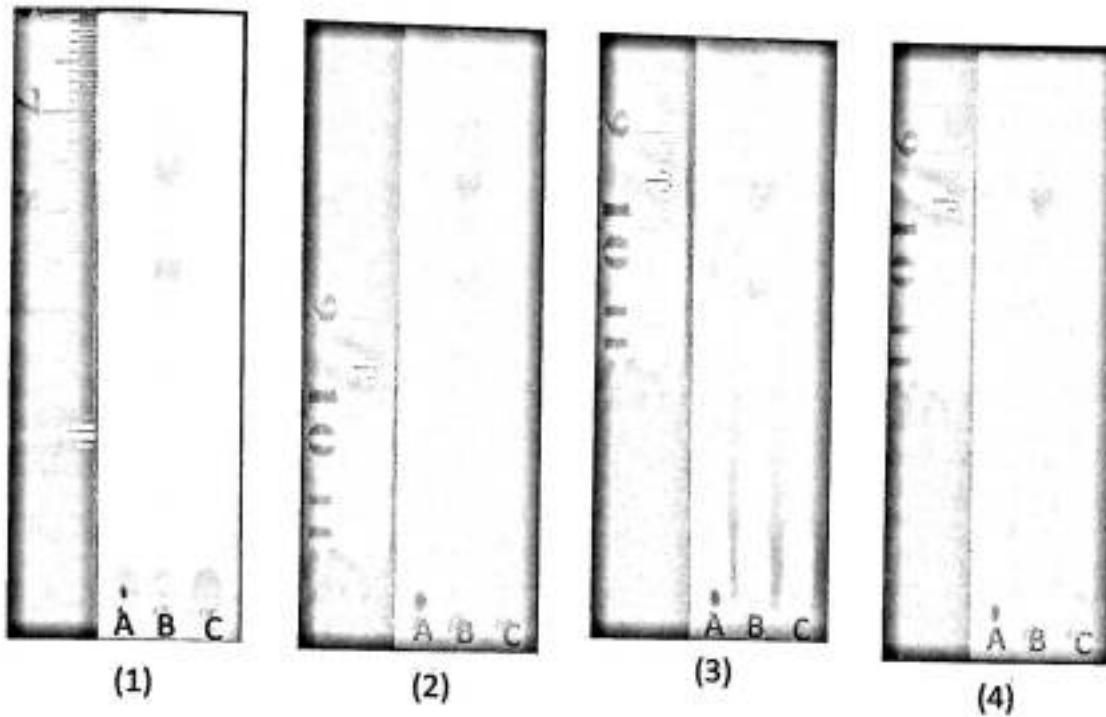
13. Wildah, Dj.,. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Pada Daun Kemuning. Skripsi.* Jurusan Farmasi Fakultas MIPA. Universitas Hasanuddin. Makassar. 2001.16,17
14. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1979. Hal 9
15. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 2000.
16. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. *Sediaan Galenik.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.1986.
17. Harbone, J.B. Metode Fitokimia, *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Edisi kedua. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. & Iwang Soediro. 1987. Penerbit ITB Bandung. 1973.
18. Sastrohamidjojo, H. *Kromatografi.* Liberty. Yogyakarta.1985. hal 5
19. Stahl, E., *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi.* Terjemahan oleh Kokasih Padmawinata & Iwang sudiro. Penerbit ITB. Bandung.1985 hal 3-4
20. Sastromidjojo, H., *Spektrokopi,* Liberty. Yogyakarta. 1985 hal 5,39-42
21. Erich.G,editors.*The Science of Flavonoid.* The Ohio State University Columbus:Springer;2006.P.47.Available as PDF File
22. Creswell CJ,Olaf A,Runquist & Malcolm.*Analisis spektrum senyawa organik.*Edisi ketiga. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro.Penerbit ITB Bandung.2005
23. Winkle,S.*Flavonoid Biosynthesis.*NSF [serial on the internet]. 2000 (dikutip 19 maret 2001) Vol.126(8 screen).Available from:<http://www.Plantphysiol.org/cgi/content/full/126/2/485>

## Lampiran 1

### Skema kerja



## Lampiran 2



Gambar 8. Profil KLT ekstrak etanol dengan menggunakan etil asetat dari daun andong (*Cordyline terminalis*)

keterangan gambar :

(A) Ekstrak etanol

(B) Ekstrak etanol larut etil asetat

(C) Ekstrak etanol tidak larut etil asetat

fase diam : Lempeng KLT 60 GF 254

fase gerak : etil asetat:asam asetat glasial (2ml:1 tetes)

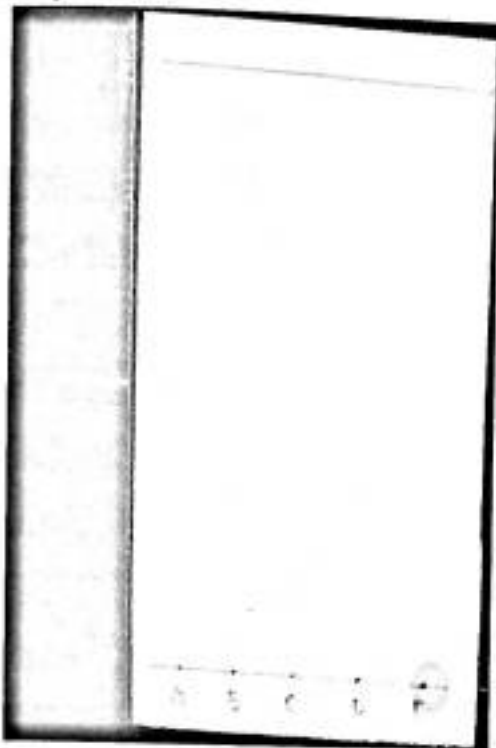
penampak noda : (1) UV 254 nm

(2) UV 366 nm

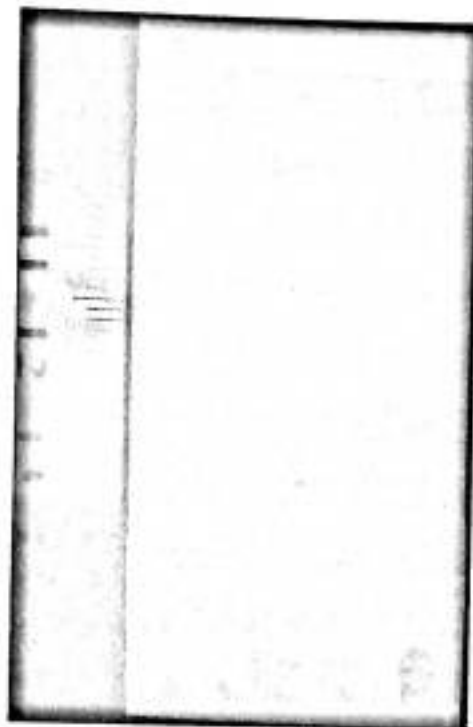
(3) UV 366 nm + sitroborat

(4) UV 366 nm + uap amonia

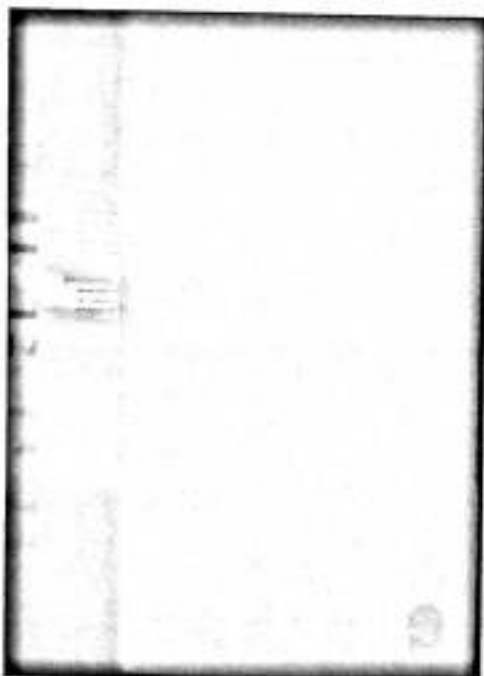
Lampiran 3



(1)



(2)



(3)



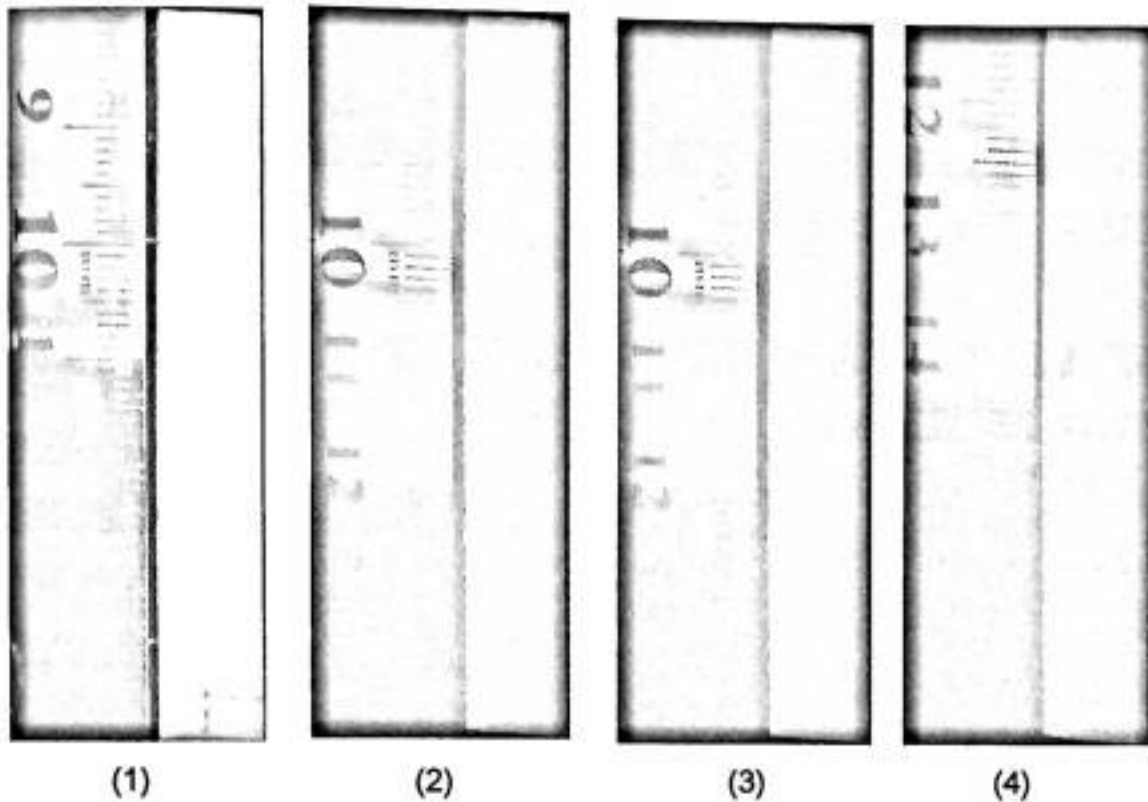
(4)

Gambar 9. Profil KLT hasil fraksinasi VLC ekstrak etanol larut etil asetat dari daun andong (*Cordyline terminalis*)

keterangan gambar :

I – V : Fraksi I – Fraksi 5  
fase diam : Lempeng KLT 60 GF 254  
fase gerak : heksan:etil asetat:asam asetat (3:1:2tetes)  
penampak noda : (1) UV 254 nm  
(2) UV 366 nm  
(3) UV 366 nm + uap ammonia  
(4) UV 366 nm + sitroborat

## Lampiran 4



Gambar 10. Profil KLT hasil isolasi fraksi V

keterangan gambar :

fase diam : Lempeng KLT 60 GF 254

fase gerak : etil asetat:metanol:asam asetat(20ml:1ml:10tetes)

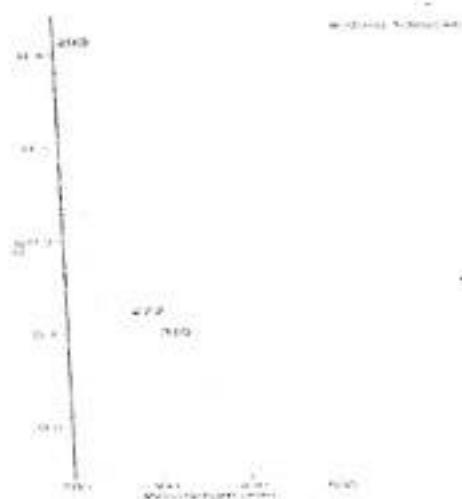
penampak noda : (1) UV 254 nm

(2) UV 366 nm

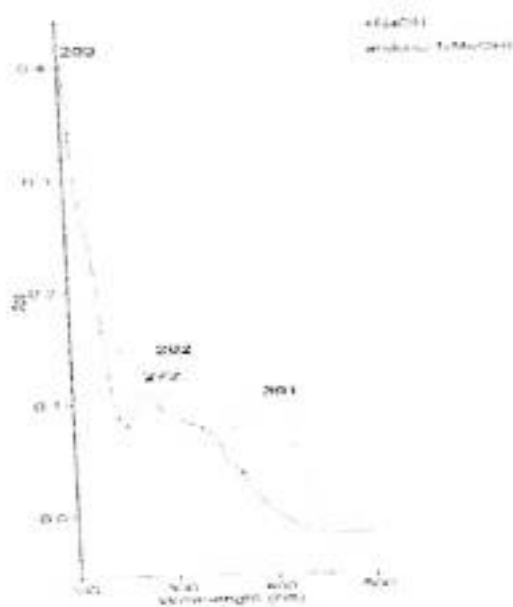
(3) UV 366 nm + uapp ammonia

(4) UV 366 nm + sitröborat

## Lampiran 5

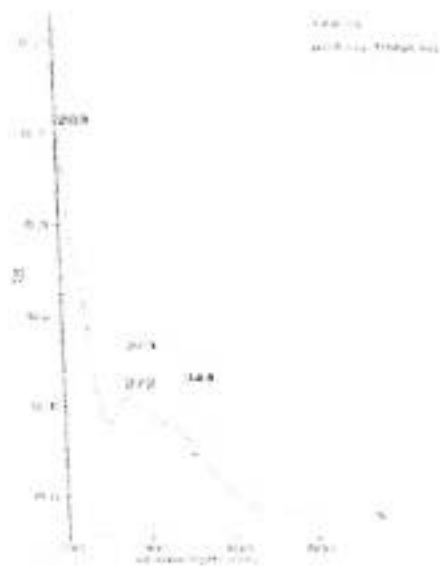


Gambar 11. Kurva serapan isolat flavonoid dalam MeOH



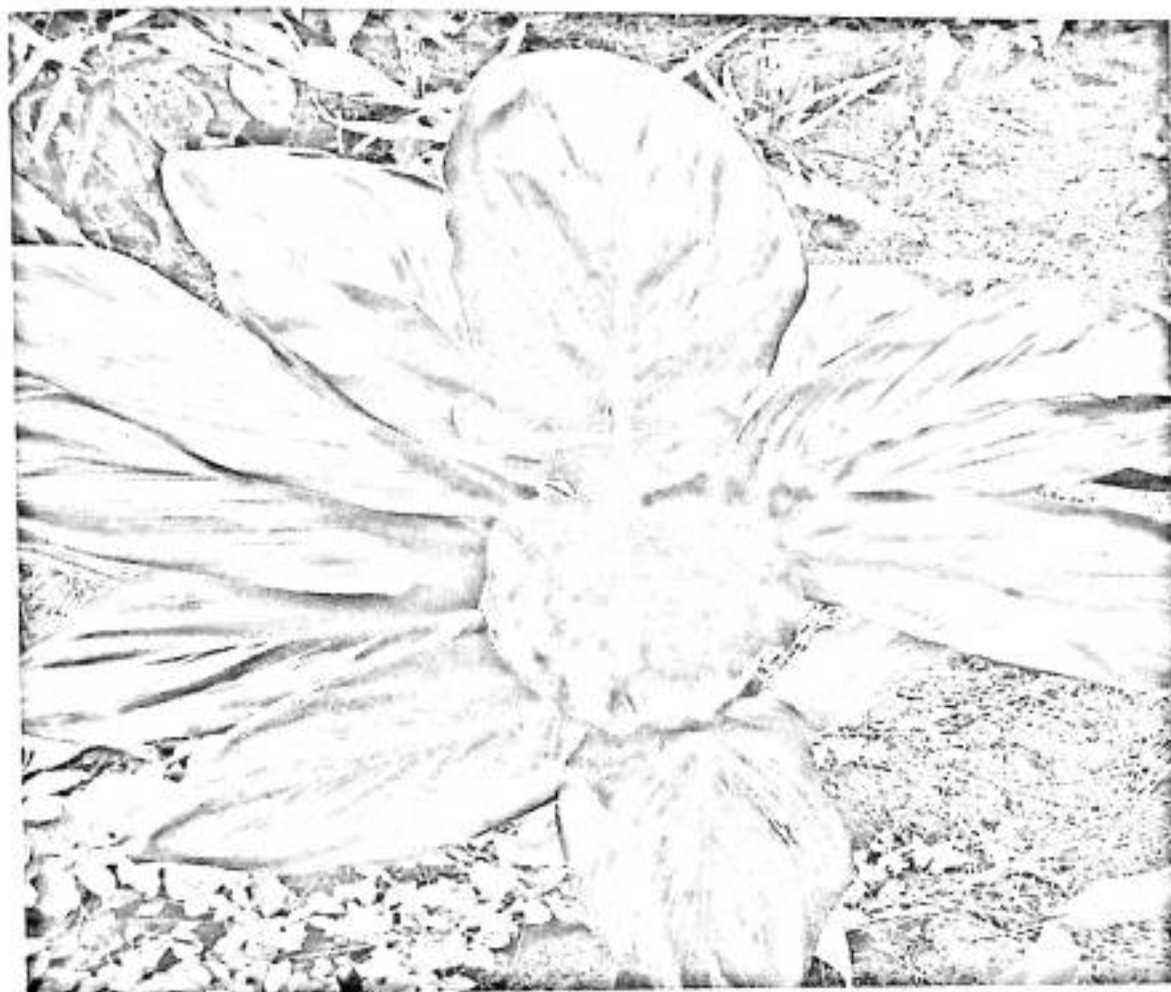
Gambar 12. Kurva serapan larutan isolat flavonoid dengan penambahan pereaksi geser larutan NaOH 2M





**Gambar 13. Kurva serapan larutan isolat flavonoid dengan penambahan pereaksi geser larutan AlCl<sub>3</sub>**

Lampiran 6



Gambar 14. Tanaman *Cordyline terminalis* Kunth.



## YAYASAN KERAGAMAN HAYATI SULAWESI (KHAS)

Sekretariat Jalan Sunu Blok G No. 13 A Makassar 90214  
Telp. (0411) 434663



Klasifikasi dari tanaman Hanjuang adalah sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Monocotyledoneae
Ordo	: Liliales
Familia	: Liliaceae
Genus	: <i>Cordyline</i>
Species	: <i>Cordyline terminalis</i> Kunth.
Nama Indonesia	: Tanaman Hanjuang

Deskripsi : Habitus perdu, berakar serabut, batang bercabang ( perkecualian Classis Monocotyledoneae karena mempunyai kambium ). Duduk daun berbentuk roset ( berjejal pada batang) tersusun seperti spiral, pada batang ada bekas tangkai daun berbentuk seperti cincin. Bentuk daun bulat memanjang. Berbunga majemuk bentuk malai.

Makassar, 12 Maret 2010

Dikerjakan oleh :

Drs. Elis Tambaru, M.Si.



Hj. Sri Suhadiyah, M.Agr.