

# LAPORAN PENELITIAN

## ISOLASI DAN KARAKTERISASI FLAVONOID DARI TUMBUHAN SIPANGGIE-PANGGIE (*Clerodendron squamatum* Vahl)



Oleh

Dra. Hj. Irma Mon, M.Si

(Ketua Peneliti)

MILIK PERPUSTAKAAN UNIV. NEGERI PADANG
DITERIMA TGL. : 26-4-2001
SUMBER/MARGA: <i>Hodiah</i>
KOLEKSI : <i>K1</i>
NO. INVENTARIS : <i>333/K/2001-i2/21</i>
NO. STAMPA : <i>574 19205 17612</i>

Penelitian ini dibiayai oleh :

Dana SPP/DPP FMIPA Universitas Negeri Padang

Tahun Anggaran 2001

UNIVERSITAS NEGERI PADANG

2001

# LAPORAN PENELITIAN

## ISOLASI DAN KARAKTERISASI FLAVONOID DARI TUMBUHAN SIPANGGIE-PANGGIE (*Clerodendron squamatum Vahl*)

Oleh

Dra. Hj. Irma Mon, M.SI

Dra. Isuiyetti, M.SI

## ABSTRAK

Tumbuhan *Clerodendron squamatum* Vahl dikenal di Sumatera Barat dengan nama Sipanggie-panggie. Secara tradisional digunakan untuk obat demam panas. Ekstrak daunnya digunakan untuk pengobatan demam malaria dan radang selaput lendir pada hidung dan tenggorokan. Adanya penggunaan obat tradisional ini terkait dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut, yaitu senyawa metabolit sekunder yang bersifat aktif biologis seperti alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid dan lain-lain.

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap tumbuhan ini memberikan indikasi adanya flavonoid, steroid dan fenolik. Penelitian ini bertujuan mengisolasi kandungan flavonoid serta mengkarakterisasi flavonoid murni hasil isolasi. Sampel penelitian ini diambil di daerah Siteba Kecamatan Nanggalo Kodya Padang.

Metoda yang dipakai untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder di atas merujuk pada metoda yang biasa digunakan untuk mengisolasi metabolit sekunder yang mengandung flavonoid. Dua kilogram sampel daun segar yang telah dirajang halus dimaserosi dengan metanol (3 x 2L x 5 hari). Ekstrak metanol diuapkan *invacuo* sampai diperoleh ekstrak kental 400 ml. Kemudian ditambah dengan 300 ml air panas, diamkan semalam dan didekantasi. Fraksi air difraksinasi berturut-turut dengan n-hekson dan etil asetat. Fraksi etil asetat diuapkan diperoleh ekstrak kental etil asetat sebanyak 23,73 gr. Dari 9,11 g fraksi etil asetat dikromatografi kolom dengan fasa diam silika gel 60 (70-230 mesh) dengan pengelusi campuran n-hekson-etil asetat yang kepolarannya ditingkatkan secara bertahap (SGP) diperoleh senyawa murni berbentuk zat padat amorof berwarna kuning pucat sebanyak 45 mg (0,0025% dari sampel segar), dengan titik leleh 337,8 – 338,3 °C.

Berdasarkan karakterisasi dengan pereaksi warna, KKt-2A, spektrum UV dan IR disimpulkan bahwa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan Sipanggie-panggie (*Chlorodendron squamatum* Vahl) adalah 5,7,4' trihidroksi flavon (apigenin).

## PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah dipanjatkan ke hadirat Alla SWT, yang telah berkenan memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penelitian yang berjudul “Isolasi Dan Karakterisasi Flavonoid Dari Tumbuhan Sipanggie - panggie (*Clerodendron squamatum Vahl*)” dapat diselesaikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang terkandung pada daun tumbuhan Sipanggie-panggie dan mengkarakterisasi senyawa hasil isolasi. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang senyawa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan *Clerodendron squamatum Vahl* serta pemanfaatan tumbuhan ini dalam pengobatan.

Peneliti menyadari bahwa penelitian ini tidak mungkin dapat dilakukan tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih secara khusus kepada :

1. Bapak Dekan FMIPA dan Ketua Jurusan Kimia Universitas Negeri Padang yang telah membiayai penelitian ini melalui dana SPP/ DPP FMIPA UNP, tahun anggaran 2001.
2. Bapak Kepala Laboratorium Kimia FMIPA UNP yang telah memberikan izin dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.
3. Semua pihak yang telah membantu dan memperlancar kegiatan penelitian ini mulai dari pengusulan proposal sampai dengan penyusunan laporan ini.

Akhirnya, mudah-mudahan laporan penelitian ini dapat bermamfaat bagi kita semua.

Padang, April 2001

Penyusun

## DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
<b>BAB I</b> <b>PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Pembatasan Masalah.....	3
D. Pertanyaan Penelitian.....	4
E. Tujuan Penelitian.....	4
F. Mamfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II</b> <b>TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Tinjauan Botani Tumbuhan Saripati.....	5
1. Morfologi Tumbuhan.....	5
2. Klasifikasi Tumbuhan.....	5
B. Flavonoid.....	6
1. Tinjauan Umum Flavonoid.....	6
2. Klasifikasi Flavonoid.....	7
3. Sifat-Sifat Flavonoid.....	10
4. Fungsi Flavonoid.....	11
5. Pemeriksaan Flavonoid.....	11
C. Isolasi.....	12
1. Ekstraksi.....	12
2. Metoda Kromatografi.....	13
3. Spektroskopi ultraviolet dan inframerah.....	16

<b>BAB III</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	18
	A. Jenis Penelitian.....	18
	B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
	C. Sampel Penelitian.....	18
	D. Alat dan Bahan.....	18
	E. Prosedur Penelitian.....	19
	1. Pengambilan dan Persiapan Sampel.....	19
	2. Pemeriksaan Kandungan Kimia.....	19
	3. Isolasi.....	21
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	25
	A. Hasil.....	25
	B. Pembahasan.....	27
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	30
	A. Kesimpulan.....	30
	B. Saran.....	30

## DAFTAR PUSTAKA

## LAMPIRAN

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tiga jenis struktur flavonoid berdasarkan susunan kerangka dasar atom karbon .....	7
2. Jenis utama dan struktur dasar flavonoid alam .....	8
3. Contoh suatu glikosida flavonoid .....	10
4. Distribusi flavonoid pada kromatogram kertas dua arah dengan pengembang TBA / HOAc 15%.....	14
5. Senyawa kompleks yang terbentuk dengan penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ dan $AlCl_3 / HCl$ .....	17



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Reaksi warna flavonoid dengan larutan NaOH, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> dan Mg-HCl .....	12
2. Hasil pemeriksaan kandungan kimia daun tumbuhan saripati ( <i>Clerodendron infortunatum</i> , Linn) .....	25

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Sumatera Barat merupakan daerah yang subur dan kaya dengan berbagai jenis tumbuhan. Sebagian tumbuhan tersebut telah digunakan oleh penduduk sebagai obat tradisional. Penggunaan tumbuhan sebagai tradisional masih didasarkan pada dugaan-dugaan dan pengalaman perorangan yang belum dicatat dengan baik dan belum didukung oleh penelitian ilmiah.

Dalam kaitan dengan riset penemuan senyawa obat, sumber daya alam hayati merupakan suatu perpustakaan kimia yang dapat dimanfaatkan melalui proses ekstraksi dan aktifitas skrining. Walaupun tidak semuanya, penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional pasti terkait dengan kandungan kimia yang ada dalam tumbuhan tersebut terutama senyawa metabolit sekunder yang aktif biologis. Sebab tanpa adanya kandungan senyawa aktif biologis ini secara umum tumbuhan tersebut tidak akan bisa digunakan sebagai obat (Arbain, 1995).

Sebagai kelanjutan dari penelitian-penelitian kandungan kimia tumbuhan obat terdahulu (Mon, Irma, 1998), dirasakan perlu untuk meneliti kandungan kimia tumbuhan "Sipanggie-panggie" dalam rangka validasi penggunaan obat tradisional.

*Clorodendron squamatum* Vahl di Sumatera Barat dikenal dengan tumbuhan "Sipanggie-Panggie" secara tradisional digunakan untuk obat demam panas. Ekstrak

dari daun tumbuhan ini digunakan untuk pengobatan demam malaria dan radang selaput lendir pada hidung dan tenggorokan. (Bor & Raizoda, 1954).

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap metabolit sekunder tumbuhan ini memperlihatkan reaksi positif dengan Liebermann – Burchard, Cianidin test, dan besi (III) klorida yang merupakan indikasi adanya steroid, flavonoid dan fenolik.

Dari penelusuran literatur melalui Napralet (2000) dan Agricola (2000) belum ditemukan laporan tentang kandungan kimia ataupun bioaktifitas dari tumbuhan tersebut. Dari genus yang sama *Clerodendron inerme* telah dilaporkan mengandung senyawa diterpen neo klerodane dengan struktur 15-metoksi-14, 15 dihidro-3-epikarioptin (Achari, *et al* 1992). Senyawa ini dapat menghambat perkembangan serangga dan antifidan (Rao, *et al* 1993). Ekstrak dari tumbuhan *Clerodendron celebrikianum* telah dilaporkan mengandung senyawa glikosida kalkon yaitu 2'-hidroksi-6'-metoksi kalkon-4,4'-D-diglikosida (Roy, Pandey, 1994).

*Clerodendron siphonanthus* R.Br telah dilaporkan mengandung senyawa flavon yaitu skutelarein dan metil dengan aktifitas farmakologis masing-masing vasokonstriksi, simpatomimetik dan penekanan SSP. (Mon, dkk, 2000).

Berdasarkan hal tersebut di atas perlulah dilakukan penelitian tentang obat tradisional ini, yaitu meengisolasi senyawa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan *Clerodendron squamatum* Vahl dan mengkarakterisasi senyawa hasil isolasi.

## **B. Perumusan Masalah**

Bertitik tolak dari latar belakang masalah di atas, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah senyawa apakah yang dikandung oleh tumbuhan *Clerodendron squamatum* Vahl dan karakterisasi senyawa hasil isolasinya.

## **C. Pembatasan Masalah**

Karena keterbatasan waktu dan dana penelitian, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Isolasi flavonoid dari daun tumbuhan *Clerodendron squamatum* Vahl
2. Penentuan struktur flavonoid dilakukan hanya berdasarkan KKt-2A, Spektrum UV dan IR

## **D. Pertanyaan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah dengan yang dikemukakan maka yang menjadi pertanyaan dalam penelitian ini adalah senyawa flavonoid apakah yang terkandung dalam tumbuhan *Clerodendron squamatum* Vahl dan bagaimana struktur kimia dari senyawa hasil isolasi.

## **E. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang terkandung pada daun tumbuhan Sipanggie-panggie (*Clerodendron squamatum* Vahl) dan mengkarakterisasi senyawa hasil isolasi.

## **F. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang senyawa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan *Clerodendron squamatum* Vahl, serta kemungkinan pemanfaatan tumbuhan ini dalam pengobatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tinjauan Botani Tumbuhan Sipanggie-panggie

##### 1. Morfologi Tumbuhan

*Clerodendron squamatum* Vahl termasuk tumbuhan herba yang tingginya  $\pm$  6 fit. Bunganya berwarna merah tua muncul pada bulan Maret-April. Merupakan tanaman yang indah, tumbuh disemak-semak dan mempunyai tandan bunga yang besar. Berdaun lebar, ujung tangkai daun pendek, tangkai bunga merah, kadang-kadang putih atau pink. Bunga bersusun berbentuk piramid, benang sari berjumlah 5 buah.

Tumbuhan ini berasal dari Cina, Pegunungan Himalaya, Jepang, Sumatera (Bor, Raizoda, 1954).

##### 2. Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tumbuhan ini menurut E.D, Merrill (1974) adalah sebagai berikut:

Devisio : Spermatophyta  
SubDevisio : Angiospermae  
Kelas : Dikotyledone  
Sub Kelas : Sympetale

Ordo	: Tubiflorae
Famili	: Verbenacea
Genus	: <i>Clerodendron</i>
Species	: <i>Clerodendron squamatum</i> Vahl

## B. Flavonoid.

### 1. Tinjauan Umum Flavonoid.

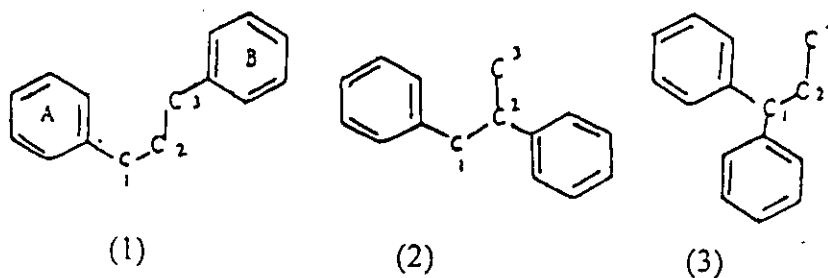
Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbanyak ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian lagi zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Istilah "flavonoid" berasal dari kata flavon yaitu nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan lazim ditemukan (Achmad, 1986: 2).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbanyak pada semua bagian tumbuhan (daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji), dan hanya sedikit pada hewan, itupun dengan anggapan berasal dari tumbuhan yang dimakan dan tidak dibiosintesis di dalam tubuh hewan tersebut (Markham, 1988:10).

Menurut Markham (1988: 1) flavonoid adalah golongan fenol alam yang tersebar luas dalam tumbuhan. Menurut perkiraan, kira-kira 2 % dari seluruh karbon yang difotosintesa oleh tumbuhan ( kira-kira  $1 \times 10^9$  ton per tahun ) diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan dengannya. Sebagian besar tanin pun berasal dari flavonoid. Senyawa ini umumnya terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, tetapi beberapa golongan dijumpai lebih tersebar merata daripada

yang lain. Flavon dan flavonol tersebar merata, sedangkan isoflavon, biflavonoid hanya dijumpai pada beberapa famili tumbuhan.

Senyawa flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom C, dimana dua cincin benzena ( $C_6$ ) terikat pada suatu rantai propana ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan  $C_6-C_3-C_6$ . Susunan ini dapat menghasilkan 3 jenis struktur, yaitu 1,3-diarilpropana atau flavonoid (1), 1,2-diarilpropana atau isoflavonoid (2), dan 1,1-diarilpropana atau neoflavonoid (3) (Achmad, 1986: 2).

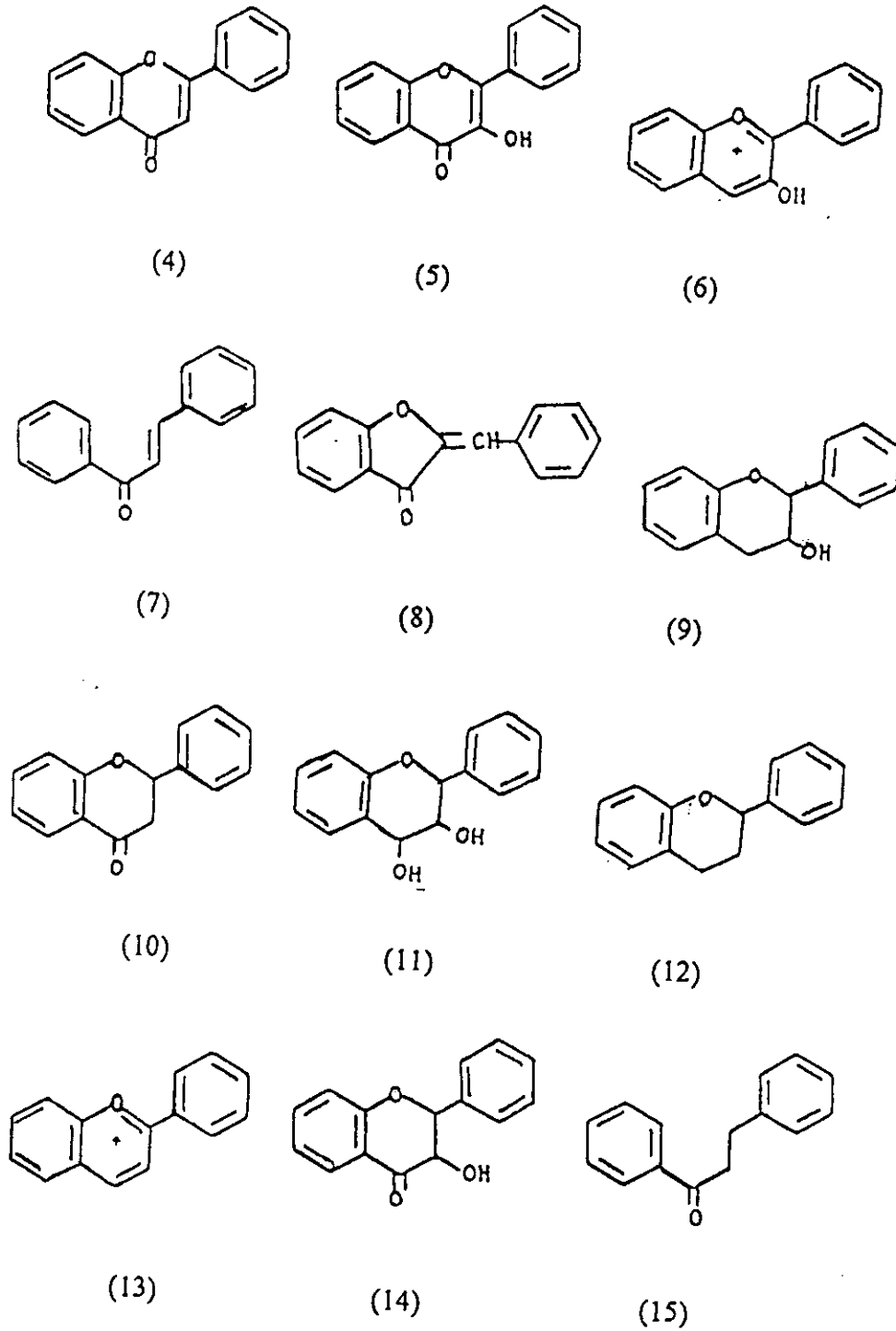


Gambar .1. Tiga Jenis Struktur Flavonoid Berdasarkan Susunan Kerangka Dasar Atom Karbon (Achmad, 1986: 2)

## 2. Klasifikasi Flavonoid

Senyawa-senyawa flavonoid berdasarkan pada tingkat oksidasi dari rantai propana pada sistem 1,3-diarilpropana, terdiri dari beberapa jenis yakni flavon (4), flavonol (5), antosianidin (6), khalkon (7), auron (8), katekin (9), flavanon (10), leukoantosianidin (11), flavan (12), flavanonol (13), garam flavilium (14) dan dihidrokhalkon (15).





Gambar 2. Jenis Utama dan Struktur Dasar Flavonoid Alam (Achmad, 1986: 3-4)

Dari jenis-jenis di atas (4) sampai (6) adalah jenis yang banyak ditemukan di alam sehingga dikatakan sebagai flavonoid utama (mayor) dan (7) sampai (11) terdapat dalam jumlah yang terbatas sehingga dikatakan sebagai flavonoid minor (Achmad, 1986: 3-4).

Banyaknya jenis flavonoid ini disebabkan karena modifikasi struktur yang terjadi pada proses biosintesis menghasilkan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi gugus hidroksil terhadap inti flavonoid, metilasi gugus orto-dihidroksil, dimerisasi untuk pembentukan biflavonoid, pembentukan bisulfat, dan gugus hidroksil untuk pembentukan flavonoid O-glikosida atau glikosilasi inti flavonoid untuk pembentukan flavonoid C-glikosida (Markham, 1988: 1-3). Berdasarkan ada tidaknya gula yang terikat, flavonoid dibedakan atas:

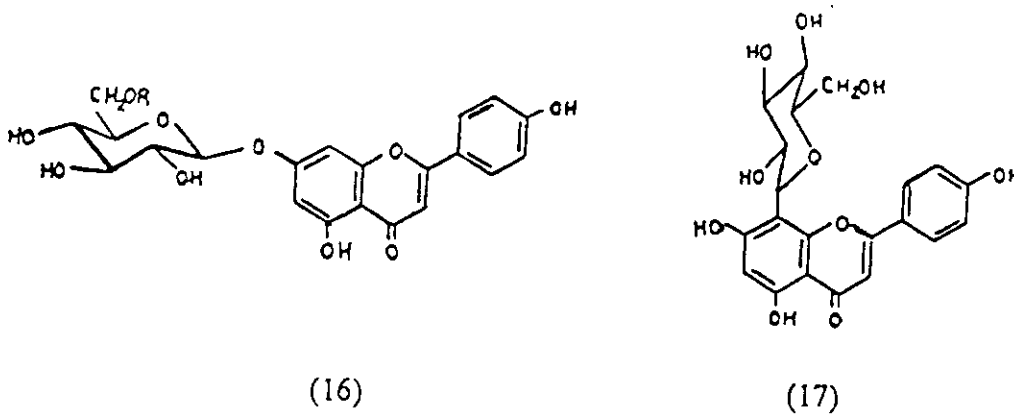
a). Aglikon flavonoid .

Aglikon adalah pigmen flavonoid yang bebas gula, dengan kerangka dasar yang terdapat di alam antara lain flavon (4), flavonol (5), antosianidin (6), khalkon (7), auron (8), flavanon (10), dan flavanonol (12).

b). Glikosida flavonoid.

Glikosilasi gugus hidroksil dari aglikon menghasilkan flavonoid O-glikosida dengan ikatan C-O seperti apigenin-7-O glukosida (16) dan glikosilasi inti flavonoid menghasilkan flavonoid C-glikosida dengan ikatan C-C (17). Sebagian besar flavonoid terdapat sebagai flavonoid O-glikosida, dimana satu atau lebih gugus hidroksil terikat pada satu atau lebih molekul gula dengan ikatan hemiasetal yang tak tahan asam. Walaupun gugus hidroksil pada setiap posisi dalam inti flavonoid dapat diglikosilasi, kenyataannya bahwa gugus hidroksil

pada tempat tertentu mempunyai peluang yang lebih besar untuk terglukosilasi ketimbang tempat lainnya. Sebagai contoh untuk flavon, gugus hidroksil pada posisi tujuh yang lebih mudah terglukosilasi (16) (Markham, 1988: 5-8).



Gambar 3. Contoh Suatu Glikosida Flavonoid

(Markham, 1988 :5 - 7)

### 3. Sifat – Sifat Flavonoid .

Sifat – sifat flavonoid antara lain adalah berupa senyawa yang larut dalam air, warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, sehingga mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan, dan mengandung sistem aromatik yang terkonyugasi (Harbone, 1987: 70-71) .

Aglikon flavonoid mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam, sehingga dapat larut dalam basa membentuk garam . Flavonoid merupakan senyawa polar, karena itu dapat larut dalam pelarut polar, seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air, dan lain-lain. Sebaliknya aglikon yang

kurang polar, seperti isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1986: 15)

#### 4. Fungsi Flavonoid.

Flavonoid dalam tumbuhan berfungsi sebagai pigmen (zat warna), pengatur tumbuh, penangkal serangan penyakit dan sebagai senyawa penanda (markers) dalam mengklasifikasi tumbuhan. Disamping itu flavonoid mempunyai bioaktivitas yang beragam, seperti antihipertensi, antialergi, antitumor, antiinflamasi dan lain-lain. Flavonoid yang paling banyak digunakan adalah rutin, digunakan untuk menguatkan susunan kapiler, menurunkan permeabilitas dan fragilitas pembuluh darah serta mencegah terjadinya shock. Golongan flavonoid lain yang aktif adalah golongan isoflavon, mempunyai aktivitas estrogenik, flavodilol sebagai obat antihipertensi, baikalein sebagai antiinflamasi dan anti alergi, flavonoid C – glikosida juga bekerja sebagai antiinflamasi dan obat diabetes (Bakhtiar, 1992: 89-98)

#### 5. Pemeriksaan Flavonoid.

Untuk mengenal adanya golongan flavonoid test yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut : sampel segar kira-kira 5 gram disari dengan 10 ml etanol 95% di dalam tabung reaksi dengan jalan memanaskannya lebih kurang 30 menit, kemudian disaring. Hasil ekstraksi dipindahkan ke dalam tiga buah tabung reaksi lain, kemudian di test dengan larutan NaOH 10 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan Mg + HCl pekat. Timbulnya perubahan warna menunjukkan adanya flavonoid (Syafri, 1993: 4).

Menurut Finar (1968 : 677) bahwa mereaksikan senyawa flavonoid dengan pereaksi - pereaksi tertentu menjadi senyawa berwarna merupakan suatu cara untuk menentukan jenis flavonoid apakah termasuk flavon, flavonol atau antosianidin. Pereaksi tersebut adalah larutan NaOH 10%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan Mg-HCl. Perubahan warna yang terjadi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Reaksi Warna Flavonoid dengan Larutan NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan Mg-HCl.

Jenis	Larutan NaOH	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Mg-HCl
Antosianidin	Biru sampai violet	Orange kekuningan	Merah (pudar - pink)
Flavon	Kuning	Kuning sampai orange	Kuning sampai merah
Flavonol	Kuning sampai orange	Kuning sampai orange	Merah sampai magenta

(Finar, 1968: 677).

### C. Isolasi

#### 1. Ekstraksi

Ekstraksi dapat dilakukan secara maserasi dan perkolasi. Untuk bahan kering lebih baik digunakan metanol 70 %, sedangkan untuk bahan segar dengan metanol 95 % karena bahan segar sudah mengandung air dalam jumlah besar. Ekstrak kemudian diuapkan sampai semua metanol menguap ( Bakhtiar, 1992: 41). Ekstraksi secara maserasi lebih banyak digunakan karena dapat menggunakan pelarut yang dapat bercampur dengan air. Maserasi digunakan pertama jika senyawa organik yang ada dalam bahan tersebut cukup tinggi kadarnya. Kedua

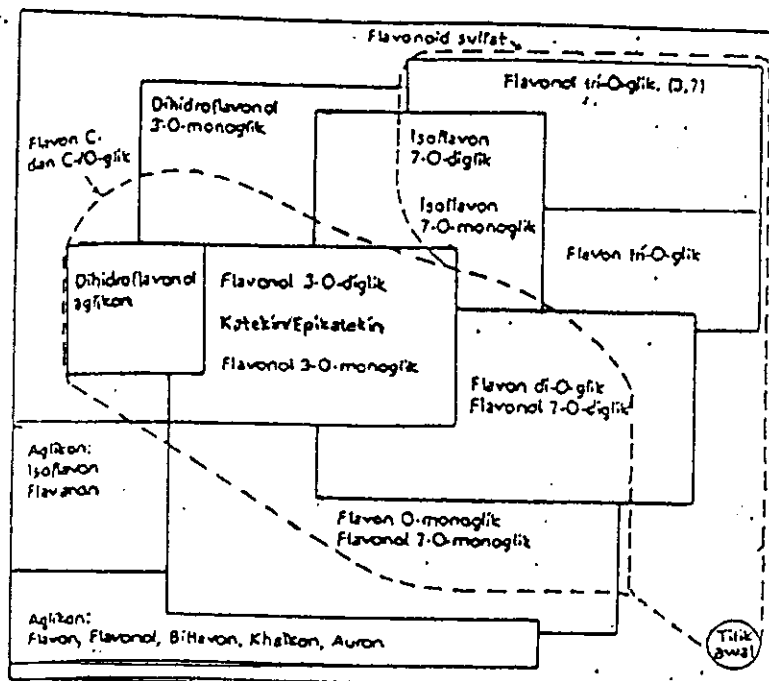
jika ditemukan suatu pelarut yang dapat melarutkan senyawa organik tersebut tanpa dilakukan pemanasan (Manjang, 1985: 3-5).

## 2. Kromatografi

Harbone (1987: 8-9) menjelaskan kromatografi merupakan cara umum yang dilakukan untuk pemisahan dan pemurnian kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan. Kromatografi banyak macamnya, diantaranya kromatografi kertas (KKt), kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom, dan lain-lain.

Kromatografi kertas merupakan cara yang paling umum digunakan untuk menganalisa senyawa flavonoid. Pemisahan biasanya dilakukan dengan kromatografi kertas dua arah (KKt 2A), prinsipnya adalah mengelusi campuran komponen dengan dua macam pelarut yang kepolarannya berbeda. Pelarut untuk pengembang biasanya digunakan pelarut beralkohol, seperti campuran n-butanol: asam asetat: air atau BAA (4:1:5), campuran t-butanol: asam asetat: air atau TBA (3:1:1) sebagai pengembang pertama dan asam asetat 15% (HOAc 15%) sebagai pengembang kedua. Kertas yang disarankan untuk kromatografi kertas dua arah (KKt 2A) ini ialah kertas Whatman 3MM (46x57 cm) atau yang setara (Markham, 1988: 17-19). Mendeteksi bercak, diperiksa dengan sinar UV (366 nm) dan pereaksi flavonoid seperti aluminium klorida 5%, kompleks difenil asam borat - etanolamin dan sebagainya. Dari warna yang dihasilkan dan letak bercak dapat membantu dalam menentukan struktur senyawa (Bakhtiar, 1992: 42). Untuk kelincihan suatu senyawa dalam pengembang tertentu disebut bilangan Rf.

Bilangan Rf didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dibagi dengan jarak yang ditempuh garis depan pengembang (diukur dari garis awal), karena itu bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0 (Markham, 1988: 17). Menurut Markham (1988: 19-25) kebanyakan flavonoid tidak terlihat pada kromatogram kertas. Karena alasan tersebut untuk mendeteksi bercak diperiksa dengan sinar UV. Untuk penampakan noda, kromatogram yang sudah betul-betul kering diberi uap  $\text{NH}_3$ . Menurut Markham (1988: 22) dan Bakhtiar (1992: 55) adanya bercak pada kromatogram dapat memberikan informasi terhadap jumlah komponen dan jenis flavonoid yang terdapat pada sampel. Distribusi flavonoid pada kromatografi kertas dua arah (KKt 2A) dengan pengembang TBA/ HOAc 15% dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Distribusi flavonoid pada kromatografi kertas dua arah dengan pengembang TBA / HOAc 15% (Markham, 1988:22).

Kromatografi lapis tipis (KLT) dan KLT preparatif merupakan suatu metoda yang penting untuk mendeteksi dan memisahkan flavonoid dari ekstrak tanaman. Pada kromatografi lapis tipis, sebagai fasa diam silika gel dan sebagai fasa gerak adalah pelarut yang disebut eluen. Pelarut atau eluen ini ditempatkan dalam suatu bejana yang disebut chamber (Khopkar, 1990: 155). Zat yang telah dilarutkan dalam pelarut yang mudah menguap, ditotolkan pada bagian bawah plat yang sudah ditandai. Kemudian plat dimasukkan ke dalam chamber yang telah berisi eluen. Pelarut akan naik membasahi plat sambil membawa komponen yang akan dipisahkan. Tiap komponen akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda. Kecepatan gerak suatu komponen ini ditentukan oleh jenis senyawa dalam suatu komponen yang akan dipisahkan. Untuk memeriksa pemisahan senyawa yang terjadi pada plat dapat dilihat dengan menggunakan lampu UV, dan dengan menggunakan pereaksi penampak noda.

Kolom kromatografi tetap merupakan suatu teknik yang sangat berguna untuk pemisahan pendahuluan ataupun pemurnian flavonoid dalam jumlah besar yang berasal dari ekstrak tanaman (Bakhtiar, 1992: 45). Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita pada bagian atas kolom penyerap. Pelarut (fasa gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom. Senyawa yang akan dipisahkan (linarut) bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah dan berbentuk seperti pita-pita yang dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari dasar kolom ( Grittetr, 1991: 102). Sebagai fasa penyerap digunakan silika gel dengan pengelusi heksana dan etilasetat melalui proses adsorpsi dengan meningkatkan kepolaran (Step Gradien Polarity, SGP).



### 3. Spektroskopi ultraviolet ( UV ) dan inframerah ( IR )

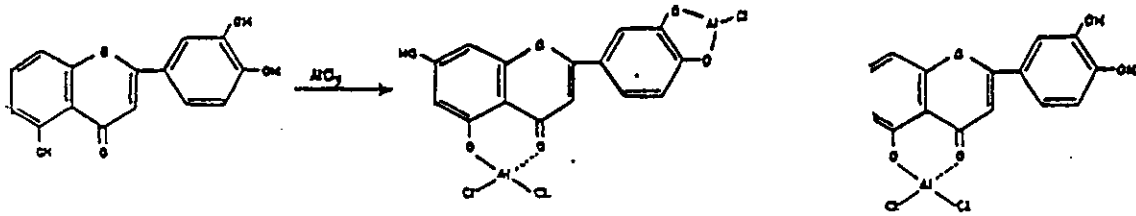
Spektroskopi serapan ultraviolet merupakan suatu cara yang paling berguna untuk menganalisis struktur flavonoid karena dapat mengidentifikasi jenis flavonid dan menentukan pola oksigenasinya. Spektrum flavonoid biasanya diambil dengan menggunakan pelarut metanol. Spektrum metanol dari flavon terdiri dari dua puncak absorpsi utama dalam daerah 240 - 350 nm. Kedua puncak ini umumnya dirujuk sebagai pita I (biasanya 300 - 350 nm) dan pita II (240-280 nm) (Markham, 1988: 38 - 39 nm). Pita I berhubungan dengan absorpsi yang disebabkan oleh sistim sinamol cincin B dan pita II dengan absorpsi sistim benzoil cincin A. Disamping itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi-pereaksi geser larutan natrium metoksida (NaOMe), larutan aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) dalam metanol, larutan asam klorida (HCl), serbuk natrium asetat (NaOAc) dan serbuk asam borat ( $H_3BO_3$ ) kedalam larutan cuplikan dalam metanol dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi.

Spektrum "NaOMe" merupakan spektrum flavonoid yang gugus hidroksil fenolnya sampai batas tertentu terionisasi, oleh sebab itu merupakan petunjuk yang berarti dalam pola hidroksilasi, mendeteksi gugus hidroksil yang lebih asam dan tidak tersubstitusi. Spektrum "NaOAc" hanya menyebabkan pengionan yang berarti pada gugus hidroksil yang paling asam sehingga digunakan untuk mendeteksi adanya gugus 7-OH bebas dan spektrum "NaOAc/ $H_3BO_3$ " digunakan untuk mendeteksi keberadaan gugus hidroksil pada gugus orto-dihidroksi sebab  $H_3BO_3$  menjembatani kedua gugus orto-dihidroksi. Spektrum " $AlCl_3$ " digunakan

524 42 35  
MUN  
13

333/k/2001-i2/2

untuk mendeteksi keberadaan gugus hidroksil pada C<sub>5</sub> dan gugus orto-dihidroksi pada cincin B. Penambahan AlCl<sub>3</sub> akan membentuk kompleks yang tahan asam antara gugus hidroksil C<sub>5</sub> dengan gugus keton pada C<sub>4</sub> dan kompleks yang tak tahan asam dengan gugus orto-dihidroksi pada cincin B.



Gambar 5. Senyawa kompleks yang terbentuk dengan penambahan pereaksi geser AlCl<sub>3</sub> dan AlCl<sub>3</sub> / HCl (Markham, 1988 : 39).

Dengan demikian spektrofotometer ultraviolet secara tidak langsung berguna untuk menentukan kedudukan molekul gula atau gugus metil yang terikat pada satu gugus hidroksil fenol. Dengan adanya berbagai jenis spektrum rujukan yang lengkap, akan membantu dalam penafsiran spektrum serapan ultraviolet dari senyawa flavonoid (Markham, 1988: 43 - 47).

Spektrum serapan inframerah berguna untuk menentukan gugus-gugus fungsi yang terdapat pada senyawa flavonoid, dimana setiap gugus fungsi akan memberikan puncak serapan yang khas pada frekwensi 4000 cm<sup>-1</sup> - 400 cm<sup>-1</sup>. Gugus C=O karbonil menyerap dalam daerah 1820 cm<sup>-1</sup>- 1660 cm<sup>-1</sup>, OH 3600 cm<sup>-1</sup> - 3300cm<sup>-1</sup>, C=C aromatik 1650 cm<sup>-1</sup>- 1450 cm<sup>-1</sup>, C-O eter 1300 cm<sup>-1</sup> - 1000 cm<sup>-1</sup>, C-H aromatik dikiri 3000 cm<sup>-1</sup> dan sp<sup>3</sup> 3000 cm<sup>-1</sup> - 2800 cm<sup>-1</sup> (Pavia, Lampman dan Kritz 1988 dalam Irma Mon, 1998 : 12).

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian.**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang dilakukan di laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

#### **B. Waktu Dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan dari bulan Agustus sampai bulan Oktober 2000 di laboratorium penelitian Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.

#### **C. Sampel Penelitian**

Sampel penelitian adalah daun dari tumbuhan Sipanggie-panggie (*Clerodendron squamatum* Vahl). Sampel diambil di daerah Siteba Kelurahan Surau Gadang Kecamatan Nanggalo Kodya Padang sebanyak 2 kg.

#### **D. Alat dan Bahan.**

Alat yang digunakan adalah satu set rotary evaporator, beberapa peralatan gelas, lumpang, plat tetes, timbangan analitik, kaca arloji, corong pisah, kulkas, chamber, pipa kapiler, kertas saring melting point, kolom kromatografi, lampu UV (256 nm).

Bahan yang digunakan adalah 2 kg daun segar dari tumbuhan Sipanggie-panggie (*Clerodendron squamatum* Vahl), anhidrida asetat, kloroform, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) pekat, pereaksi Mayer, serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, natrium hidroksida (NaOH) padat, kapas, aquades, metanol (MeOH), n-heksana, etil asetat (EtOAc), besi (III) klorida ( $FeCl_3$ ), butanol, aluminium klorida ( $AlCl_3$ ), natrium asetat (NaOAc), asam borat ( $H_3BO_3$ ), plat KLT, silika gel 60 (70 –230 mesh), amoniak pekat ( $NH_3$ ).

### E. Prosedur Penelitian.

#### 1. Pengambilan dan Persiapan Sampel.

Sampel penelitian adalah daun tumbuhan Sipanggie-panggie (*Clerodendron squamatum* Vahl) diambil di daerah Siteba Kelurahan Surau Gadang Kecamatan Nanggalo Kodya Padang pada bulan Agustus 2000. Bahagian yang diambil adalah daun sebanyak 2 kg. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Biologi Universitas Andalas Padang.

#### 2. Pemeriksaan Kandungan Kimia

Dilakukan dengan menggunakan cara sebagai berikut :

##### a. Pemeriksaan Alkaloid

Sampel segar sebanyak 5 gr digerus dalam lumpung porselen, tambahkan 10 ml kloroform dan penggerusan dilanjutkan lagi. Selanjutnya ditambahkan 10 ml amoniak dalam kloroform (1:20), saring ke dalam tabung reaksi dan tambahkan asam sulfat 2 N sebanyak 10 tetes. Campuran ini dikocok dan

didiamkan selama beberapa menit sampai memisah menjadi dua lapisan. Lapisan atas diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian di tes dengan reagen mayer. Tidak terbentuknya endapan putih atau kekeruhan menunjukkan tes negatif terhadap adanya kandungan alkaloid.

b. Pemeriksaan Flavonoid.

Sebanyak 5 g sampel digerus halus, lalu ditambahkan 15 ml metanol dan dipanaskan di atas penangas selama 5 menit, kemudian saring. Filtrat yang didapatkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diuji dengan pereaksi Mg + HCl. Terbentuknya perubahan warna menjadi kuning menunjukkan tes yang positif terhadap adanya flavonoid.

c. Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid

Pemeriksaan steroid dapat dilakukan dengan metoda Lieberman-Burchard. Sebanyak 5 g sampel digerus dalam lumpang dengan kloroform. Kemudian pada plat tetes sari kloroform diuapkan lalu diberi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru violet dan warna merah menunjukkan tes positif mengandung senyawa steroid dan terpenoid.

d. Pemeriksaan Saponin

Sampel segar sebanyak 5 g digerus dalam lumpang sampai halus, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan air suling sampai semua bahan terendam dan panaskan sampai mendidih selama 2-3 menit. Kemudian didinginkan dan setelah itu kocok dengan kuat. Terbentuknya busa yang stabil selama 15-20 menit menunjukkan tes yang positif terhadap adanya saponin.

### 3. Isolasi

#### a. Ekstraksi dan Fraksinasi

Daun segar yang telah dirajang halus sebanyak 2 kg dimaserasi dengan metanol 3 x 2 L masing-masing selama lebih kurang 5 hari. Ekstrak metanol dipisahkan dengan cara penyaringan, kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator sampai didapatkan ekstrak kental 400 ml. Ekstrak kental ini ditambahkan air panas 300 ml, lalu diaduk dan didiamkan semalam kemudian didekantasi sehingga diperoleh fraksi air sebanyak 400 ml.

Fraksi air dimasukkan kedalam corong pisah dan difraksinasi dengan n-heksana (5X300 ml). Fraksi heksana dipisahkan. Selanjutnya fraksi air difraksinasi lagi dengan etil asetat (5X300 ml) sampai fraksi air memberikan hasil negatif dengan tes Mg-HCl. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan rotari evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental fraksi etil asetat sebanyak 23,73 g.

#### b. Pemisahan dan Pemurnian Fraksi Etil asetat

Sebelum melakukan pemisahan, fraksi etil asetat dimonitor dengan KLT dengan penampak noda lampu UV dan pereaksi penampak noda besi (III) klorida. Temyata menunjukkan satu noda utama disamping beberapa noda minor lainnya. Kemudian baru dilakukan pemisahan fraksi etil asetat.

Fraksi etil asetat sebanyak 9,11 g dikromatografi kolom dengan menggunakan silika gel 60 (70 -230 mesh). Silika gel terlebih dahulu disuspensikan dengan heksan kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang bagian ujungnya telah dilapisi dengan kapas sambil diketok-ketok untuk mengeluarkan gelembung udara. Sampel disiapkan secara preadsorpsi

dengan cara melarutkan dengan metanol lalu ditambahkan silika gel lebih kurang 5 g dan uapkan sampai kering dengan rotary evaporator, kemudian digerus halus. Masukkan sampel yang telah disiapkan ini ke dalam kolom kromatografi dan dielusi dengan eluen: heksan, heksan-etil asetat (7:3, 1:1, 3:7, 1:9), etil asetat, etil asetat-metanol (1:9) dan metanol masing-masing lebih kurang 100 ml.

Fraksi yang keluar (eluat) ditampung dengan beberapa vial lebih kurang 10 ml diperoleh 80 vial. Setiap vial dimonitor dengan KLT dengan penampak noda lampu UV dan pereaksi penampak noda besi (III) klorida ternyata vial 5 sampai 12 memberikan reaksi positif dengan pereaksi besi (III) klorida dan masing-masing menunjukkan satu noda utama.

Masing-masing vial dibiarkan pelarutnya menguap, setelah 3 hari terbentuk endapan kuning pucat pada vial 5-12. Endapan digabung dan dipisahkan dengan pelarutnya. Selanjutnya endapan tersebut direkristalisasi untuk memurnikannya dari pengotor dengan cara melarutkan sedikit endapan dalam sedikit metanol. Kemudian ditambahkan beberapa tetes etil asetat sampai menjadi keruh. Selanjutnya ditambahkan beberapa tetes metanol, dan disaring. Biarkan campuran tersebut sampai terbentuk hablur dan lakukan hal yang sama sebanyak tiga kali sehingga didapatkan senyawa murni. Senyawa tersebut berbentuk zat padat amorf berwarna kuning pucat sebanyak 70 mg. Skema kerja isolasi dapat dilihat pada lampiran 2 halaman 33 .

### c. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pemeriksaan titik leleh, reaksi warna, pemeriksaan kromatografi, pemeriksaan spektrum ultraviolet dan spektrum inframerah.

#### 1. Pemeriksaan titik leleh

Pengukuran titik leleh dilakukan dengan menggunakan alat melting point, dimana sedikit kristal dimasukkan ke dalam pipa kapiler kemudian dimasukkan ke dalam alat melting point. Suhu dinaikkan dengan kecepatan 5 derajat per menit. Suhu pelelehan diamati saat kristal mulai meleleh sampai meleleh secara keseluruhan diperoleh titik leleh  $337^{\circ}\text{C} - 338^{\circ}\text{C}$ .

#### 2. Reaksi Warna

Pereaksi yang digunakan adalah larutan NaOH,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan Mg - HCl yang akan menghasilkan warna spesifik tergantung jenis flavonoidnya. Sedikit senyawa flavonoid hasil isolasi dilarutkan dalam metanol secukupnya. Ambil kira-kira 1 ml larutan, kemudian dimasukkan ke dalam tiga buah tabung reaksi yang masing-masingnya ditambahkan beberapa tetes pereaksi NaOH (terbentuk warna kuning), pereaksi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat (terbentuk warna kuning) dan pereaksi Mg-HCl (memberikan warna merah bata).

#### 3. Pemeriksaan Kromatografi

a. Kromatografi lapis tipis dengan eluen heksan: etiasetat (1:1). Bercak memperlihatkan satu noda utama dengan menggunakan pereaksi penampak noda besi (III) klorida dan penampak noda lampu UV.



b. Kromatografi kertas dua arah (KKt 2A) dengan pengembang butanol-asam asetat-air (BAA) (4:1:5) dan asam asetat (HOAc) 15% . Sebagai penampak noda digunakan uap amonia yang memperlihatkan warna noda kuning.

#### 4. Pemeriksaan spektrum ultra violet (UV) dan spektrum infra merah (IR).

Spektrum UV untuk flavonoid hasil isolasi dibuat dengan spektrofotometer UV -VIS Secoman 2000 (pengukuran dilakukan di laboratorium kimia dasar Universitas Andalas Padang). Terlebih dahulu alat distandarisasi dengan blanko (metanol p.a.). Sedikit senyawa dilarutkan dalam metanol, larutan diencerkan hingga diperoleh serapan yang cukup baik. Spektrum mula - mula direkam dalam pelarut metanol, kemudian secara berturut - turut spektrum direkam untuk penambahan larutan natrium hidroksida (NaOH), aluminium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ),  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ , natrium asetat (NaOAc), NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$ .

Spektrum infra merah direkam dengan spektrofotometer IR Perkin Elmer 735B dalam bentuk pelet KBr (pengukuran dilakukan di laboratorium kimia dasar Universitas Andalas Padang). Data pemeriksaan spektrum ini dapat dilihat pada lampiran 4 dan lampiran 5 halaman 36 dan 38.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

Hasil pemeriksaan pendahuluan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan sampel menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid, steroid, terpenoid dan saponin (tabel 2).

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Kandungan Kimia Daun Tumbuhan Saripati (*Clerodendron infortunatum*, Linn).

No	Kandungan Senyawa	Pereaksi	Hasil
1.	Alkaloid	Mayer	-
2	Flavonoid	Mg-HCl	+
3.	Steroid / Terpenoid	Lieberman - Burchard	+
4	Saponin	H <sub>2</sub> O	+

Keterangan : - = tidak terdeteksi

+ = ada (terdeteksi)

Dari 2 kg ekstrak daun segar metanol didapatkan fraksi etilasetat sebanyak 23,73 gr (1,186%).

Pemeriksaan kandungan kimia fraksi etil asetat memberikan hasil positif terhadap senyawa fenol dan flavonoid. Dari 9,11 gr fraksi etil asetat yang telah dipisahkan dengan kromatografi kolom dan dilanjutkan pemurniannya secara

rekristalisasi berhasil diisolasi senyawa flavonoid murni berbentuk zat padat amorf berwarna kuning pucat sebanyak 70 mg dengan titik leleh  $337,8-338,3^{\circ}\text{C}$ . Senyawa ini dengan larutan NaOH memberikan warna kuning, dengan asam sulfat pekat berwarna kuning, dan dengan pereaksi Mg-HCl berwarna merah bata.

Kromatogram dari KLT senyawa hasil isolasi ini dengan eluen heksan: etil asetat (1:1) menunjukkan satu noda dengan Rf 0,5. Flavonoid ini dengan kromatografi kertas dua arah (KKT 2A) memberikan warna bercak ungu dengan sinar lampu UV, kuning dengan uap amonia. Hasil kromatogram KLT dan kromatografi kertas dua arah dari flavonoid hasil isolasi dapat dilihat pada lampiran 3 halaman 35.

Pemeriksaan spektrum ultraviolet flavonoid ini dalam metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 268,9 nm (pita II) dan 333,9 nm (pita I). Dengan pereaksi geser NaOH 2N terjadi pergeseran batokromik 52,4 nm pada pita I dan intensitas menaik dan terbentuk pita baru pada panjang gelombang 320,4 nm. Penambahan  $\text{AlCl}_3$ , menyebabkan pergeseran batokromik 47,3 nm pada pita I, dan dengan penambahan HCl tidak terjadi pergeseran (lampiran 4 halaman 36). Penambahan NaOAc menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik sebesar 5,8 nm pada pita II dan intensitas menaik, sedangkan setelah penambahan  $\text{H}_3\text{BO}_3$  terjadi pergeseran terhadap MeOH(pita I) sebesar 3,6 nm dan pada pita II sebesar 0,9 nm (lampiran 4 / lanjutan).

Spektrum inframerah memperlihatkan puncak serapan pada  $3250\text{ cm}^{-1}$ ,  $1600\text{ cm}^{-1}$ ,  $1500\text{ cm}^{-1}$ ,  $1370\text{ cm}^{-1}$ ,  $1250\text{ cm}^{-1}$ ,  $1030\text{ cm}^{-1}$ ,  $810\text{ cm}^{-1}$  (lampiran 5 halaman 38).

## B. Pembahasan

Hasil pemeriksaan pendahuluan kandungan flavonoid dalam daun tumbuhan ini relatif tinggi, sesuai dengan intensitas warna kuning yang dihasilkan dari pemeriksaan flavonoid. Diperkirakan keberadaan kandungan metabolit sekunder ini akan menyebabkan adanya penggunaan tradisional dari tumbuhan tersebut.

Pengujian awal ekstrak kasar fraksi etilasetat dengan KLT bertujuan untuk memonitor jumlah noda yang terdapat dalam flavonoid kasar dan mengidentifikasi adanya senyawa fenol. Terdapatnya satu noda utama pada KLT yang dikembangkan dengan eluen n-heksan: etilasetat (1:1) menunjukkan bahwa pada fraksi ini ini mengandung satu komponen utama senyawa flavonoid. Untuk mengidentifikasi adanya senyawa fenol digunakan pereaksi besi (III) klorida dan penampak noda lampu UV. Fenol menyerap di daerah UV pendek dan dapat dideteksi pada plat silika gel yang mengandung indikator fluoresensi gelombang 253 nm, terlihat sebagai bercak gelap dengan latar belakang berfluoresensi dibawah sinar UV. Setelah dilakukan pemisahan terhadap fraksi etilasetat dengan kromatografi kolom dan dilanjutkan pemurniannya secara rekristalisasi berhasil diisolasi senyawa flavonoid dengan flavonoid dengan  $R_f = 0,5$  sebanyak 45 mg (0,0025% dari sampel segar).

Identifikasi jenis flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna larutan NaOH,  $H_2SO_4$  pekat Mg-HCl. Suatu flavonoid golongan flavon akan memberikan warna kuning dengan pereaksi NaOH, warna kuning sampai oranye dengan  $H_2SO_4$  pekat dan kuning sampai merah dengan pereaksi Mg-HCl (lihat tabel

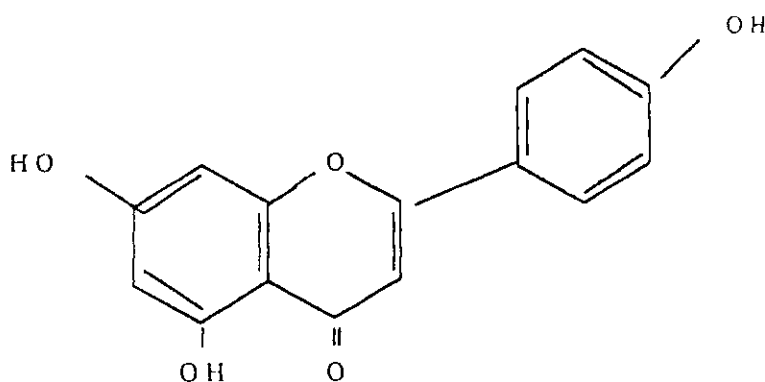
1 halaman 12). Kromatografi kertas dua arahj (KKt-2A) berguna untuk menentukan apakah flavonoid hasil isolasi termasuk jenis aglikon (flavonoid tanpa gula) atau jenis glikosida (flavonoid yang mengikat molekul gula). Sebagai pengembang pertama digunakan BAA (4:15) dan pengembang kedua HOAc 15%. Flavonoid jenis aglikon akan memberikan harga Rf yang relatif lebih kecil dengan pengembang HOAc 15% dibandingkan dengan pengembang BAA harga Rf besar (HOAc 15% lebih polar dari pada BAA). Dibawah sinar UV akan dapat dilihat warna bercak. Flavon berwarna gelap dibawah sinar lampu UV dan berwarna kuning bila diuapi dengan amonia.

Semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga senyawa menunjukkan serapan kuat didaerah spektrum UV. Data spektrum ultra violet flavonoid hasil isolasi dengan pelarut metanol memperlihatkan adanya serapan pada 268,9 nm dan 333,8 nm. Data ini mirip dengan serapan flavon (apigenin). Flavon memberikan puncak serapan pada pita II (250 nm – 300 nm) dan pita I (300 nm – 350 nm) dalam pelarut metanol. Dalam apigenin, memberikan puncak serapan pada 267 nm dan 336 nm dalam pelarut metanol (Markham, 1988:39-40). Penambahan NaOH menyebabkan pergeseran batokromik 52,4 nm pada pita I dengan intensitas menaik, ini menunjukkan karakteristik adanya OH pada C<sub>4</sub>', adanya terbentuk puncak baru pada panjang gelombang 320,4 nm ada OH pada C<sub>7</sub>. Penambahan AlCl<sub>3</sub> menyebabkan pergeseran batokromik 47,3 nm pada pita I menunjukkan adanya OH pada C<sub>5</sub>, dengan HCl tidak terjadi pergeseran menunjukkan tidak ada orto- di OH pada cincin A maupun B. Dengan penambahan NaOAc terjadi pergeseran batokromik sebesar 5,8 nm dan intensitas menaik menunjukkan adanya OH pada C<sub>7</sub>.

Namun untuk menjelaskan secara pasti penafsiran ini, tentu harus ditunjang oleh spektrum  $^{13}\text{C}$ -RMI dan  $^1\text{H}$ -RMI.

Untuk menentukan ada tidaknya gugus fungsi yang terdapat pada senyawa flavonoid dilakukan dengan pengukuran spektrum inframerah, dimana setiap gugus fungsi akan memberikan puncak serapan yang khas pada daerah  $4000\text{ cm}^{-1} - 400\text{ cm}^{-1}$ . Flavonoid ini menunjukkan senyawa mempunyai gugus fungsi OH pada daerah  $3250\text{ cm}^{-1}$ , gugus fungsi karbonil ( $\text{C}=\text{O}$ ) pada daerah  $1600\text{ cm}^{-1}$ , regang  $\text{C}=\text{C}$  aromatis pada daerah  $1500\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan puncak  $1370\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya ulur  $\text{C}-\text{O}$ , tekuk OH pada  $1250$ , adanya puncak  $1030$  menunjukkan adanya  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  dan  $820$  adanya tekuk CH luar bidang.

Dari karakterisasi di atas dapat disimpulkan bahwa struktur dari flavonoid ini adalah 5,7,4' trihidroksi flavon. (Apigenin) dengan struktur



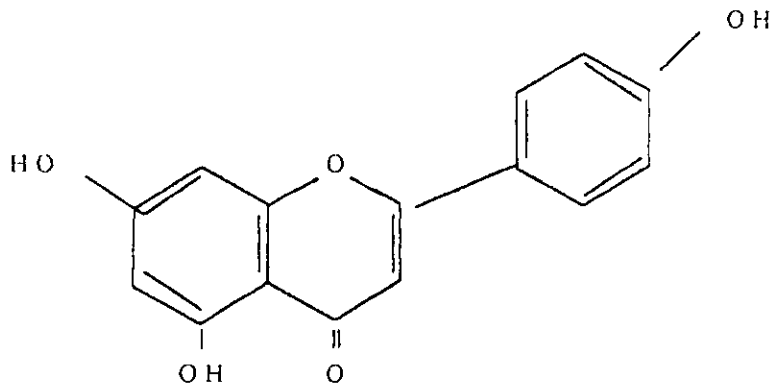
Data spektrum UV dalam MeOH, maupun dengan pereaksi geser  $\text{NaOH}$ ,  $\text{AlCl}_3$  /  $\text{AlCl}_3\text{-HCl}$  dan  $\text{NaOAc/NaOAc-H}_3\text{BO}_3$  sangat mirip dengan spektrum UV dari apigenin (Mabry dan Markham;1970,20)

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Dari 2 kg daun segar tumbuhan saripati (*Clerodendron Infortunatum*, Linn) didapatkan flavonoid kasar dari fraksi etil asetat sebanyak 23,73 gr (1,186%).
2. Pemisahan 9,11 gr flavonoid kasar secara kromatografi kolom menghasilkan flavonoid murni sebanyak 45 mg (0,009% dari sampel segar ) berbentuk padatan amorf berwarna kuning pucat dan meleleh pada suhu 337,8-338,3°C.
3. Dari pemeriksaan reaksi warna, kromatografi kertas dua arah , spektrum UV dan IR disimpulkan bahwa flavonoid hasil isolasi ini adalah 5,7,4' trihidroksi flavon (apigenin), dengan struktur :



#### B. Saran

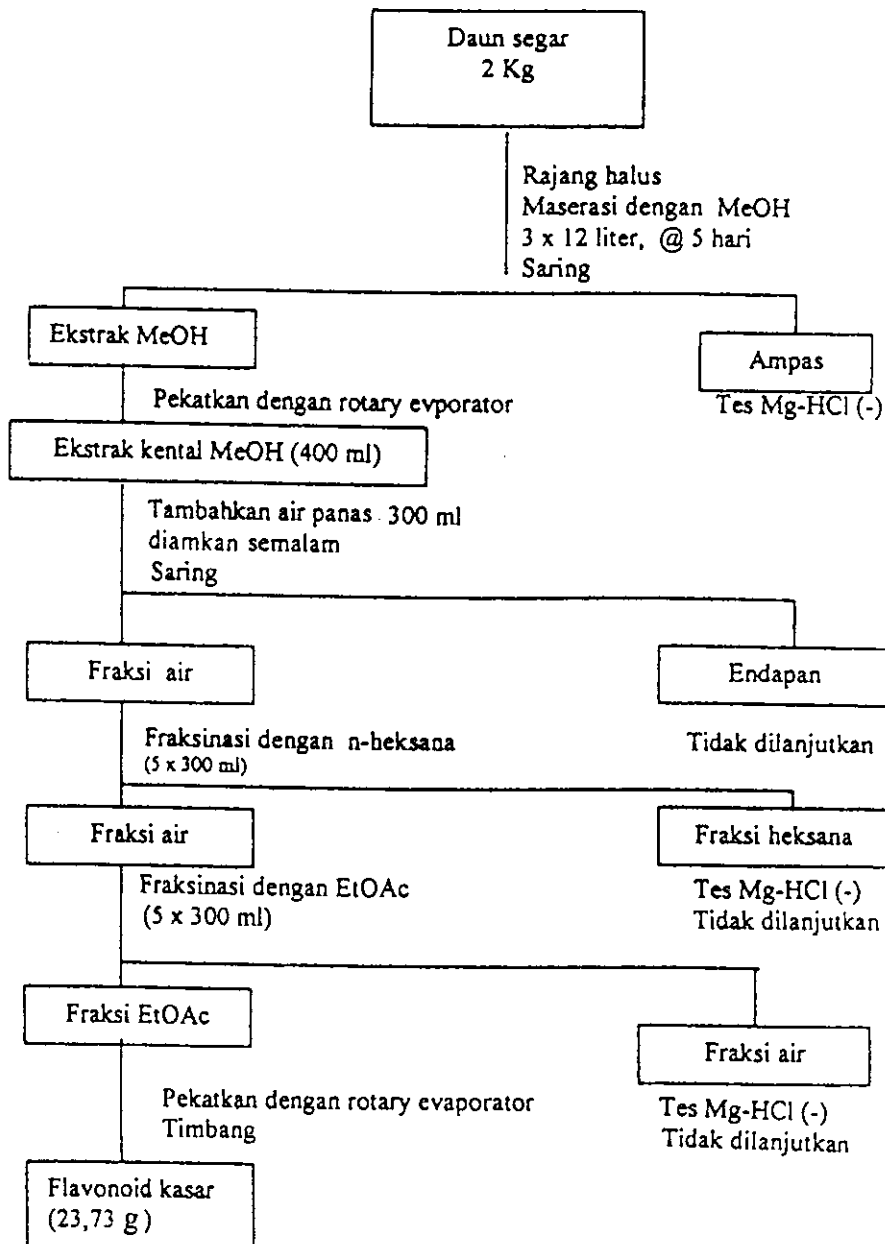
Disarankan kepada peneliti selanjutnya agar melanjutkan penelitian ini dengan karakterisasi secara spektroskopi resonansi magnetik inti dan massa serta melakukan uji bioaktivitasnya.

## DAFTAR PUSTAKA

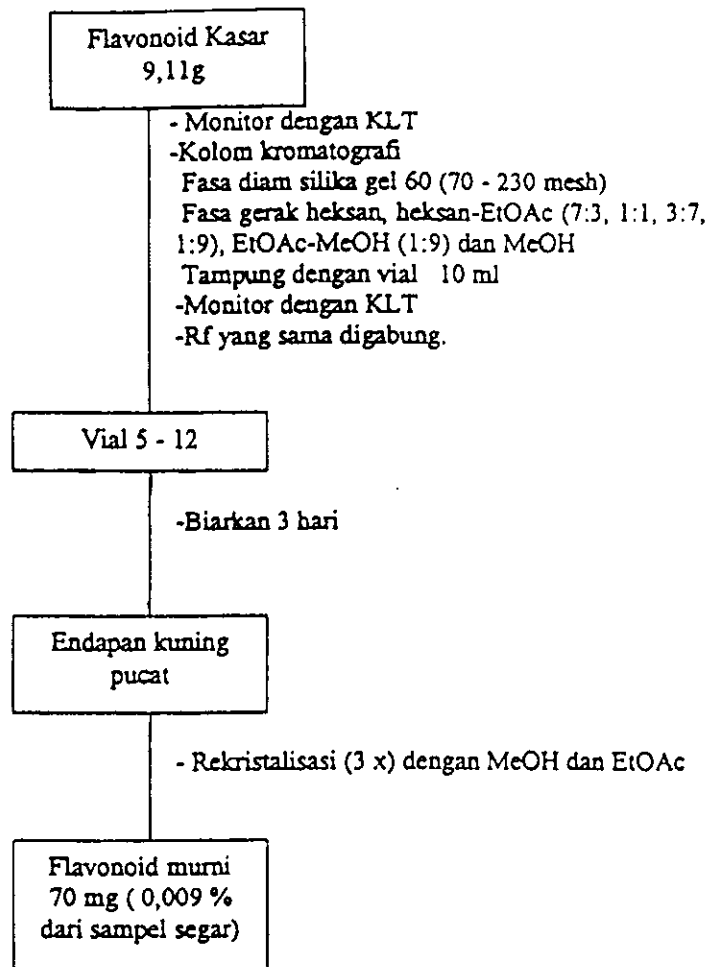
- Achmad, S.A.(1986). Kimia Organik Bahan Alam. Universitas Terbuka : Jakarta.
- Achari,B.,C. Giri, C.R. Saha,P.K. Dutta, S.C. Pakraski, 1992, A New Clerodane Diterpen from *Clerodendron Inerme*, *J, Phytochermistry*,31,(1), 338-340
- Arbain,D., 1995, Penelitian Kimia Tumbuhan Rubiaceae Sumatera, Unand Padang.
- Bakhtiar,A.(1992). Diktat Kuliah Flavonoid. Universitas Andalas : Padang.
- Bor,N.L.,Raizoda , M.B.(1954). Some Beautiful Indian Climbers And Shrubs. The Bombay Natural History Society, Apollo Street 114 : Bombay.
- Finar, I.L. (1968). Organic Chemistry. Four Edition. Vol 2. The English Language Book Society and Longman Green and Co,LTD : London.
- Goswani,P.,J.Kotoky. Z.N. Chen, Y.Lu, 1996, A Sterol Glicosida from Leaves of *Clerodendron celebroomianum*, *Phytochemuistry*, 41 (1), 279-281.
- Harbone,J.B. (1987). (Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan). *Edisi II*. ITB : Bandung.
- Mabry, T.J., Markham, K. R and Thomas, M.B.,1970, The Systematic Identification of Flavonoids, Heidenlberg, New York.
- Mon, I. (1998). Isolasi Komponen Utama Fraksi Aktif Farmakologis Dari Tumbuhan Pitalo (*Clerodendron Siphonanthus R.Br*). Tesis Pasca Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Andalas : Padang
- Manjang,Y.(1985). *Kimia Analisa Organik*. Proyek Peningkatan Pengembangan Perguruan Tinggi. Universitas Andalas : Padang.
- Markham, K.R. (1988).(Cara Mengidentifikasi Flavonoid). ITB : Bandung.
- Rao, L.J., J. Pereira, K.N. Grudult, 1993, Neo Clerodane Diterpen from *Clerodane inerme*, *Phytochemistry*, Oxford,34,(2) ,572-574.
- Roy,R,V.B, Pandery, 1994, A Chalcone glicosida from *Clerodandron Phlomidis*, *Phytochemistry*, Oxford, 37 (6), 1775-1776.
- Syafril,D. (1993). Metode Identifikasi Tumbuh-Tumbuhan Dalam Survey Fitokimia. Universitas Riau : Pekan Baru.



Lampiran 2. Diagram Kerja Isolasi Flavonoid Dari Daun Tumbuhan Saripati (*Clerodendron infortunatum*, Linn)



## Lampiran 2. (Lanjutan)

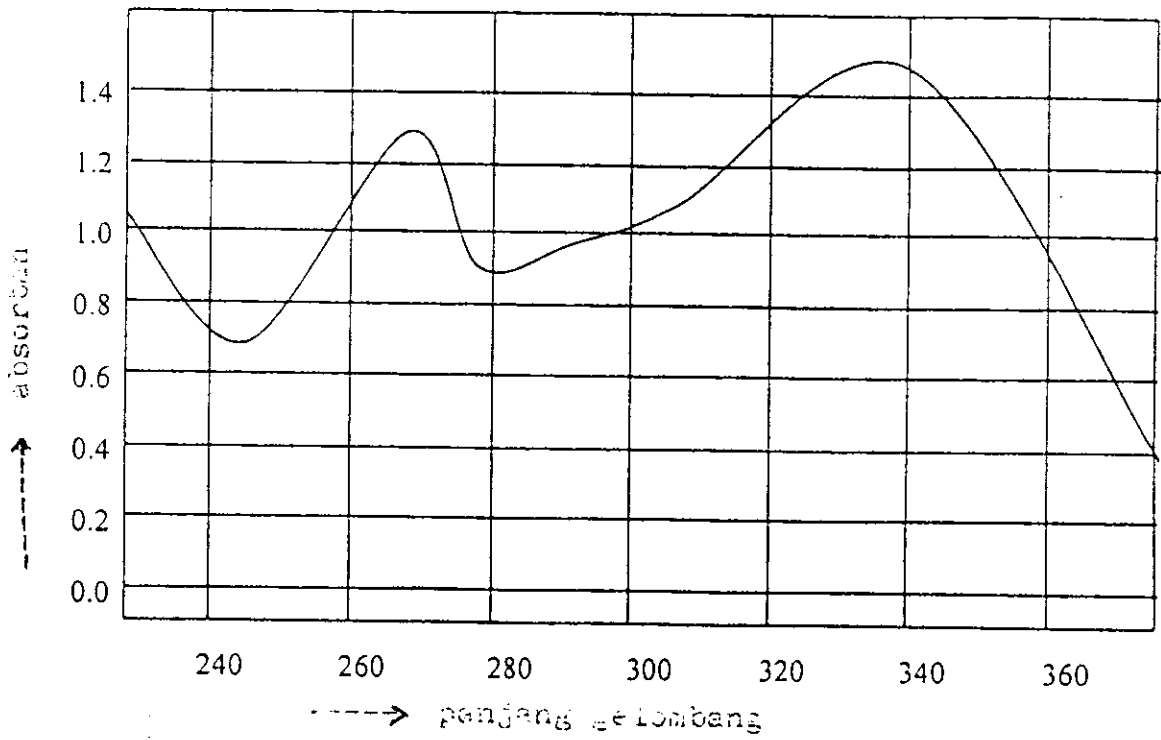


## Karakterisasi

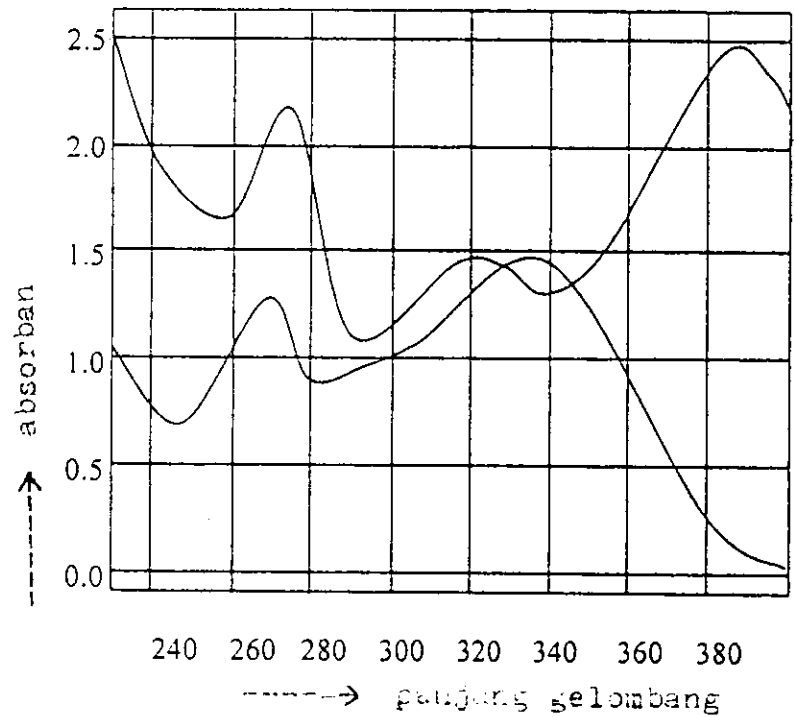
- Pemeriksaan titik leleh
- Reaksi warna
- Pemeriksaan kromatografi
- Spektrum UV dan IR

KURVA SERAPAN ULTRAVIOLET FLAVONOID

DAUN *Clerodendrum squamantum*. Valh dalam metanol



Spektrum UV Flavonoid dengan pereaksi geser NaOH



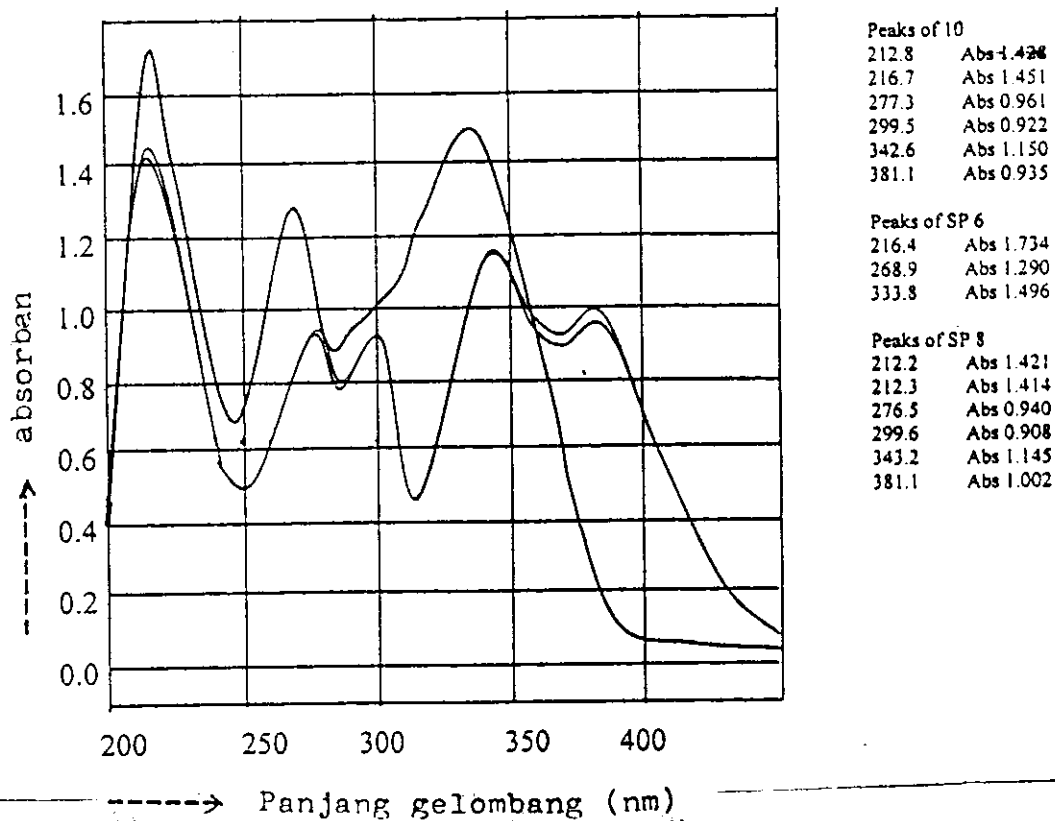
Peaks of SP 6	
268.9	Abs 1.290
333.9	Abs 1.496

Peaks of SP 7	
231.6	Abs 2.493
275.6	Abs 2.174
320.4	Abs 1.471
386.3	Abs 2.482

Lampiran 4

Spektrum UV Flavonoid dengan pereaksi geser  $AlCl_3$  dan  $HCl$



Spektrum UV Flavonoid B dengan pereaksi geser  $NaOAc$  dan  $H_3BO_3$

