Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)

SKRIPSI

untuk memenuhi sebagian persyaratan guna memperoleh gelar

sarjana sains

Oleh :

MAULIDI AQSHA
2009-12871

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI PADANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

Dinyatakan Lulus setelah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Judul	**: Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)**
Nama	: Maulidi Aqsha
Nim/BP	: 12871/2009
Jurusan	: Kimia
Program Studi	: Kimia
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 5 Juli 2013

Tim Penguji

Nama		Tanda Tangan
1. Ketua	: Drs. H. Nazulis Z, M.Si	1. .....
2. Sekretaris	: Dra. Hj. Erda Sofjeni, M.Si	2. .....
3. Anggota	: Dra. Hj. Yustini Ma'aruf, M.Si	3. .....
4. Anggota	: Drs. H. Zul Afkar, M.S	4. .....
5. Anggota	: Hary Sanjaya, M.Si	5. .....

KEMENTRIAN PENDIDIKAN NASIONAL RI
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN KIMIA
Jl. Prof. Dr.Hamka, Kampus Air Tawar Padang 25131 Telp. (0751) 7057420

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Maulidi Aqsha
NIM/TM	: 12871/2009
Program Studi	: Kimia
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)** adalah benar merupakan hasil karya saya. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan ilmiah yang lazim. Apabila suatu saat nanti saya terbukti melakukan plagiat maka saya bersedia diproses dan menerima sanksi akademis maupun hukum sesuai dengan hukum negara yang berlaku, baik di Universitas Negeri Padang maupun di masyarakat dan negara.
Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 30 Agustus 2013

Yang menyatakan,

Maulidi Aqsha

ABSTRAK

Maulidi Aqsha, 2009: Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)

Telah dilakukan isolasi flavonoid dari umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) di Laboratorium Penelitian Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui karakteristik senyawa flavonoid dari umbi bawang merah. Metode isolasi yang digunakan adalah maserasi dengan metanol, dilanjutkan dengan fraksinasi dengan n-heksana dan etil asetat. Pemisahan fraksi etil asetat dengan kromatografi kolom menggunakan silika, eluen yang digunakan etil asetat : metanol secara SGP. Uji kemurnian hasil isolasi dilakukan dengan KLT dan titik leleh. Flavonoid murni yang diperoleh berupa serbuk berwarna kuning sebanyak 45,4 mg dengan range titik leleh 285,6 – 286,9 ˚C. Hasil uji dengan pereaksi warna NaOH 10%, H_2SO_4 pekat, dan Mg-HCl menunjukan adanya senyawa flavon. Hasil uji KKt-2A memperlihatkan noda berada pada daerah aglikon : flavonol. Dari hasil analisa data spektra IR menunjukan adanya gugus -OH, C-O-C eter, C=C aromatis, dan C=O karbonil. Sedangkan dari spektra UV-Vis menunjukan adanya ikatan rangkap terkonjugasi. Dari data diatas diduga flavonoid hasil isolasi adalah suatu flavonol (3-OH bebas) dengan gugus -OH pada C-3, C-5, C-3’ dan C-4’.

Kata kunci: Flavonoid, bawang merah, kromatografi kolom, KLT, UV-Vis, IR

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagaimana mestinya dengan judul "**Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)"**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi untuk mendapatkan gelar sarjana sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Penyusunan dan penulisan skripsi ini, banyak mendapatkan bimbingan dan arahan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Drs. H. Nazulis Z, M.Si sebagai dosen pembimbing I sekaligus penasehat akademik.
2. Ibu Dra. Hj. Erda Sofjeni, M.Si sebagai dosen pembimbing II.
3. Ibu Dra. Hj. Yustini Ma'aruf, M.Si, Bapak Drs. H. Zul Afkar, M.S, Bapak Hari Sanjaya, M.Si sebagai penguji.
4. Ibu Dra. Andromeda, M.Si dan Drs. Bahrizal, M.Si sebagai Ketua dan Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA UNP.
5. Bapak Budhi Oktavias, M.Si, Ph.D sebagai Ketua Prodi Jurusan Kimia Universitas Negeri Padang.
6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.
7. Bapak dan Ibu Laboran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.
8. Rekan-rekan mahasiswa Universitas Negeri Padang, terutama Jurusan Kimia.

Semoga bantuan dan bimbingan yang Bapak, Ibu dan teman-teman berikan menjadi amal kebaikan dan mendapat balasan yang sesuai dari Allah SWT.

Penulis menyadari keterbatasan ilmu yang dimiliki, karena itu demi kesempurnaan skripsi ini, penulis mengharapkan saran dan masukan dari pembaca. Atas saran dan masukan yang diberikan penulis ucapkan terima kasih.

Padang, Juli 2013

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK ..... **i**

KATA PENGANTAR ..... **ii**

DAFTAR ISI ..... **iv**

DAFTAR TABEL ..... **vi**

DAFTAR GAMBAR ..... **vii**

DAFTAR LAMPIRAN ..... **viii**

BAB I PENDAHULUAN **1**

A. Latar Belakang 1

B. Perumusan Masalah 2

C. Pembatasan Masalah 2

D. Tujuan Penelitian 3

E. Manfaat Penelitian 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA **4**

A. Tinjauan Botani 4

B. Flavonoid 5

C. Metode Ekstraksi 10

D. Pemisahan Komponen Kimia 11

E. Uji Kemurnian 14

F. Karakterisasi 15

BAB III METODOLOGI PENELITIAN **21**

A. Tempat dan Waktu Penelitian 21

B. Sampel Penelitian..... 21

C. Alat dan bahan 21

D. Prosedur Penelitian 22

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 30

A. Hasil 30

B. Pembahasan 32

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 36

A. Kesimpulan 36

B. Saran 36

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Warna Flavonoid dengan Beberapa Pereaksi 15

2. Rentangan Serapan Spektrum UV-Vis Flavonoid..... 18

3. Daftar Frekuensi Serapan Inframerah Beberapa Gugus Fungsi 20

4. Hasil Uji Kandungan Metabolit Sekunder pada Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)..... 30

5. Nilai R_f Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid dengan Beberapa Eluen 31

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Tiga Jenis Flavonoid Berdasarkan Susunan Kerangka Dasar Atom Karbon . 6

2. Jenis Utama dan Struktur Dasar Flavonoid Alam 7

3. Petunjuk Penyebaran Jenis Flavonoid pada Kromatogram yang Dikembangkan dengan TBA/HOAc 15% 17

4. Dugaan Struktur Flavonoid Hasil Isolasi 35

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Gambar Bawang Merah..... 37

2. Skema Kerja Isolasi dan KarakterisasiFlavonoid..... 38

3. Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid dengan Beberapa Eluen..... 40

4. Kromatogram Kromatografi Kertas 2 arah (KKt-2A) Flavonoid Hasil Isolasi 41

5. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser NaOH. 42

6. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser $AlCl_3$ + HCl 43

7. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser NaOAc + H_3BO_3 44

8. Spektroskopi Inframerah Flavonoid Hasil Isolasi 45

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman sumber daya hayati sebagai gudang senyawa kimia yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku industri dan bahan dasar obat-obatan terutama dari tumbuh-tumbuhan. Penggunaan tumbuh-tumbuhan tertentu sebagai obat merupakan warisan telah temurun dari generasi terdahulu kepada generasi berikutnya termasuk generasi sekarang (Manjang, 1985).

Penggunaan tumbuhan sebagai obat berkaitan dengan kandungan kimia tumbuhan tersebut terutama zat bioaktif. Senyawa bioaktif dapat ditemukan pada bunga, daun, akar, dan batang. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan merupakan senyawa metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan saponin (Kusuma, 1988).

Flavonoid adalah salah satu senyawa kimia yang berasal dari tumbuhan dan merupakan kelompok metabolit sekunder. Flavonoid tersebar luas pada tumbuhan angiospermae, gymnospermae, dan pteridopita. Pada tumbuhan, flavonoid berfungsi sebagai zat warna, pengatur tumbuh, penangkal serangan penyakit dan sebagai penanda (markers) dalam mengklasifikasi tumbuhan (Bakhtiar, 1992).

Umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung flavonoid. Bahan aktif ini dikenal sebagai bahan anti radang. Jadi, bawang merah bisa digunakan untuk menyembuhkan radang hati (hepatitis), radang sendi (artritis), radang tonsil (tonsilitis), radang pada cabang tenggorokan

(bronkhitis), serta radang anak telinga (otitis media). Flavonoid juga berguna sebagai bahan antioksidan, dan dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Jaelani, 2009). Bawang merah juga bermanfaat untuk menyembuhkan sakit kepala, melancarkan buang air besar, mengobati batuk, rambut rontok, demam pada anak, dan perut kembung pada anak (Maulana, 2011).

Mohamed (2012), menemukan adanya senyawa flavonoid baru yang terdapat pada daun bawang merah yang diberi nama Alliuocide A. Hasil uji pendahuluan yang telah penulis lakukan terhadap kandungan kimia umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) juga menunjukkan positif mengandung flavonoid. Oleh karena itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)".

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang di atas, maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah apakah senyawa flavonoid dalam umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) dapat diisolasi dan bagaimana karakteristiknya?

C. Pembatasan Masalah

Sesuai dengan permasalahan di atas, maka dilakukan pembatasan masalah sebagai berikut:

1. Sampel yang digunakan adalah umbi bawang merah (*Allium cepa* L.), yang diperoleh dari Nagari Salimpat Kecamatan Lembah Gumanti,Alahan Panjang.

2. Isolasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara maserasi, fraksinasi dan kromatografi kolom. Sedangkan uji kemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dan penentuan titik leleh.
3. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan pereaksi warna, kromatografi kertas dua arah, dan spektroskopi Inframerah dan UV-Vis.

D. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa flavonoid dari umbi bawang merah (*Allium cepa* L.).

E. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian dapat memberikan mamfaat :

1. Memberikan informasi tentang tanaman yang mengandung senyawa flavonoid.
2. Memberikan informasi tentang karakteristik senyawa flavonoid yang terdapat dalam umbi bawang merah.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Botani

1. Taksonomi Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)

Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), maka diperoleh klasifikasi umbi bawang merah, yaitu :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Sub Kingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Sub Kelas	: Liliidae
Ordo	: Liliaces
Famili	: Liliaceae
Genus	: Allium
Spesies	: *Allium cepa* L.

2. Morfologi Umbi Bawang Merah

Bunga bawang merah merupakan bunga majemuk berbentuk tandan yang bertangkai dengan 50-200 kuntum bunga. Pada ujung dan pangkal tangkai mengecil dan dibagian tengah menggembung, bentuknya seperti pipa yang berlubang didalamnya. Tangkai tandan bunga ini sangat panjang, lebih tinggi dari daunnya sendiri dan mencapai 30-50 cm. Bunga bawang merah termasuk bunga sempurna yang tiap bunga terdapat benang sari dan kepala putik. Bakal buah sebenarnya terbentuk dari 3 daun buah yang disebut carpel, yang membentuk tiga

buah ruang dan dalam tiap ruang tersebut terdapat 2 calon biji. Buah berbentuk bulat dengan ujung tumpul. Bentuk biji agak pipih. Biji bawang merah dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan tanaman secara generatif (Jaelani, 2007).

3. Khasiat Umbi Bawang Merah

Flavonoid yang terkandung didalam umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) ini dikenal sebagai bahan anti radang. Jadi, bawang merah bisa digunakan untuk menyembuhkan radang hati (hepatitis), radang sendi (artritis), radang tonsil (tonsilitis), radang pada cabag tenggorokan (bronkhitis), serta radang anak telinga (otitis media). Flavonoid juga berguna sebagai bahan antioksidan, dan dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Jaelani, 2007). Bawang merah juga bermanfaat untuk menyembuhkan sakit kepala, melancarkan buang air besar, mengobati batuk, rambut rontok, demam pada anak, dan perut kembung pada anak (Maulana, 2011).

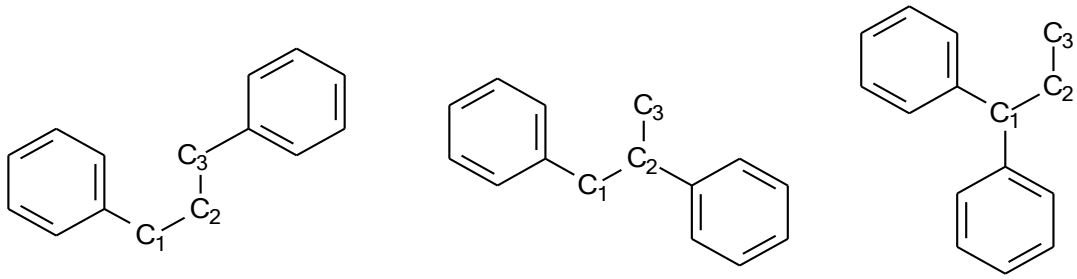
B. Flavonoid

1. Tinjauan Umum Flavonoida

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagai zat warna kuning ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Achmad, 1986). Kemungkinan keberadaan flavonoid dalam daun (tumbuh-tumbuhan) dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Markham, 1988).

2. Klasifikasi Flavonoid

Dari kerangka dasar flavonoid dapat menghasilkan tiga jenis struktur yang dapat dilihat pada gambar 1



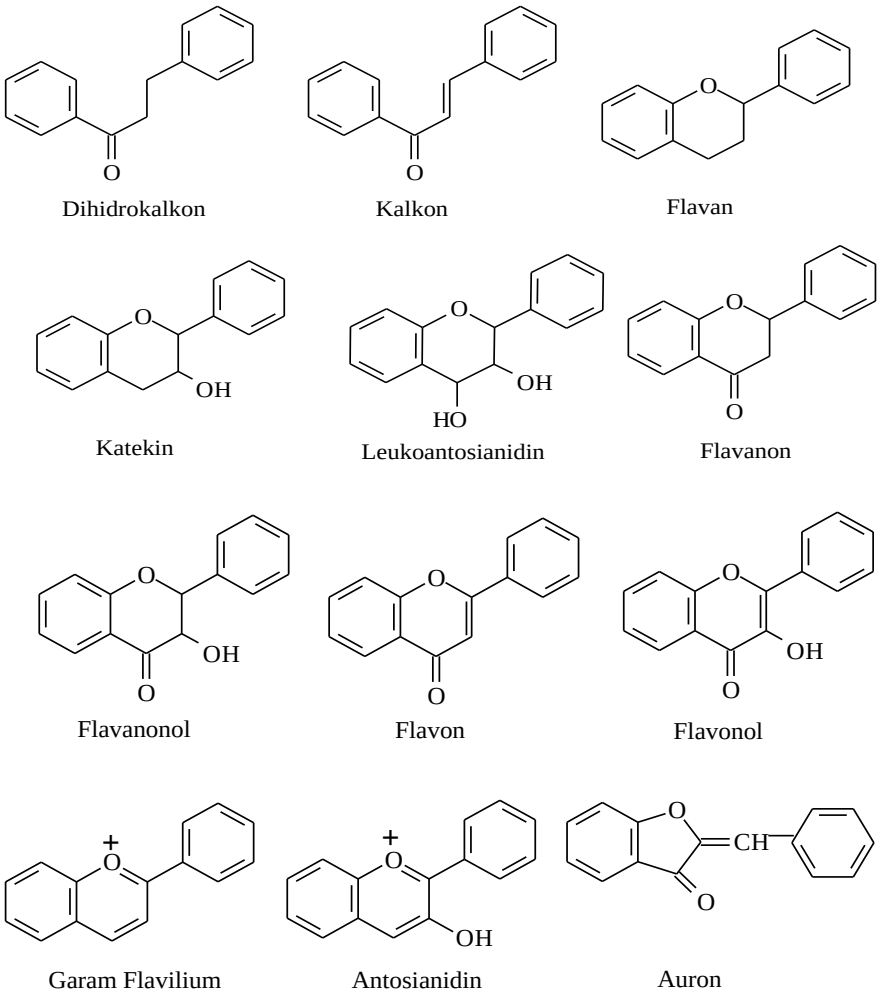
Flavonoid isoflavonoid Neoflavonoid

Gambar 1. Tiga jenis Flavonoid Berdasarkan Susunan Kerangka Dasar Atom Karbon (Achmad, 1986)

Dari berbagai jenis flavonoid tersebut, flavon, flavonol dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan di alam sehingga disebut sebagai flavonoid utama. Sedangkan jenis-jenis flavonoid yang tersebar di alam dalam jumlah terbatas adalah kalkon, auron, katekin, flavanon, dan leukoantosianidin. Banyaknya senyawa flavonoid ini disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi dari struktur tersebut (Achmad, 1986). Beberapa jenis flavonoid serta struktur dasar masing-masing jenis tercantum pada gambar 2 halaman 7.

Menurut Markham (1988) flavonoid terdiri atas dua tipe, yaitu:

a. Aglikon flavonoid adalah flavonoid yang tidak mengandung molekul gula dalam senyawanya dengan kerangka dasar yang terdapat di alam seperti flavon, flavonol, antosianidin, kalkon dan auron.



Gambar 2. Jenis Utama dan Struktur Dasar FlavonoidAlam (Achmad, 1986)

b. Glikosida flavonid, yaitu flavonoid yang mengandung molekul gula dalam senyawanya. Berdasarkan dimana terikatnya molekul gula dalam kerangka karbon flavonoid, maka glikosida flavonoid dibedakan atas:

- Flavonoid O-glikosida: pada senyawa tersebut satu atau lebih gugus hidroksil flavonoid terikat pada satu molekul gula atau lebih dengan ikatan C-O yang tak tahan asam (akan terurai menjadi aglikon dan molekul gula oleh hidrolisis).

- Flavonoid C-glikosida: molekul gula terikat langsung pada inti benzena dengan suatu ikatan C-C yang tahan asam (tak terurai oleh hidrolisis).

3. Kegunaan Flavonoid

Flavonoid mencakup banyak pigmen yang umum terdapat pada dunia tumbuhan mulai dari fungus sampai angiospermae. Flavonoid sebagai pigmen bunga berperan dalam menarik burung dan serangga penyerbuk bunga. Flavonoid yang bersifat menyerap sinar UV berperan penting dalam mengarahkan serangga (Robinson, 1995).

Bagi tumbuhan yang mengandung flavonoid, flavonoid berfungsi dalam pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus, dan kerja terhadap serangga. Bagi organisme lain flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Aktifitas antioksidannya dapat menjelaskan mengapa flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995).

4. Sifat-sifat Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau gula, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cendrung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang

kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cendrung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

5. Identifikasi Flavonoid

Sebagian besar senyawa flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Glikosida dihidrolisa dengan asam akan terurai menjadi komponen-komponennya, yaitu gula dan alkohol. Residu gula dari glikosida flavonoid alam adalah glukosa, ramnosa, galaktosa dan gentiobiosa sehingga glikosida tersebut masing-masing disebut glukosida, ramnosida, galaktosida, dan gentiobiosida (Achmad, 1986).

Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono-, di-, atau triglikosida dimana satu, dua atau tiga gugus hidroksil dalam molekul flavonoid terikat oleh gula. Poliglikosida larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik seperti: eter, benzene, kloroform, dan aseton (Achmad, 1986).

C. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen/zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar. Secara umum ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksana) lalu pelarut yang kepolarannya menengah (diklorometan atau etilasetat) kemudian pelarut yang bersifat polar (metanol atau etanol) (Harborne, 1987).

Secara umum ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari seluruh bagian tumbuhan seperti bunga, buah, daun, kulit, dan akar menggunakan sistem maserasi yang menggunakan pelarut organik polar, seperti metanol.

Beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan antara lain:

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Darwis. D, 2000).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewatkan pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Teknik ini menggunakan pelarut yang tidak mudah menguap dan tidak mempunyai bau yang merangsang tetapi dapat melarutkan senyawa organik dengan lebih baik.

Teknik ini digunakan pada sampel yang mengandung senyawa organik dalam jumlah besar (Manjang, 1985).

3. Sokletasi

Proses sokletasi menggunakan soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat, karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruhi oleh panas (Darwis. D, 2000).

D. Pemisahan Komponen Kimia

1. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fasa diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok (Stahl, 1985). Sebagai fasa diam digunakan senyawa yang tak bereaksi seperti silika gel atau alumina. Silika gel biasa diberi pengikat yang dimaksudkan untuk memberikan kekuatan pada lapisan dan menambah adhesi pada gelas penyokong. Pengikat yang biasa digunakan adalah kalsium sulfat (Sastrohamidjojo, 1991). Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fasa gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk:

a. Mencari pelarut untuk kromatografi kolom
b. Analisa fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom

c. Menyigi arah atau perkembangan reaksi seperti hidrólisis atau metilasi
d. Identifikasi flavonoid secara ko-kromatografi
e. Isolasi flavonoid murni skala kecil.

(Markham, 1988)

Keuntungan kromatografi lapis tipis adalah :

a. Dapat memisahkan senyawa yang sangat berbeda, seperti senyawa organik alam dan senyawa organik sintesis, kompleks organik dan anorganik serta ion anorganik.
b. Waktu yang digunakan singkat.
c. Alat yang digunakan tidak terlalu mahal.
d. Kepekaannya cukup tinggi dengan jumlah cuplikan beberapa mikrogram.
e. Dapat menggunakan pereaksi asam sulfat pekat yang bersifat korosif (Harborne, 1987).

Nilai R_f merupakan perbandingan jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh pelarut dan dinyatakan dengan suatu angka desimal :

$$R_f = \frac{jarak\ yang\ ditempuh\ zat}{jarak\ yang\ ditempuh\ pelarut}$$

Jika noda pada plat KLT tidak berwarna maka dapat ditampakkan dengan menyemprotnya memakai pereaksi penampak noda yang sesuai atau dengan menyinari plat KLT memakai sinar ultra violet (Gritter, 1991).

2. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan senyawa hasil isolasi dalam jumlah yang cukup banyak. Kromatografi kolom mempunyai dua fasa, yaitu fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak merupakan pelarut yang digunakan untuk mengelusi campuran, dan fasa diam yang biasanya digunakan adalah silika gel, alumina, dan selulosa.

Campuran yang akan dipisahkan diletakkan di bagian atas kolom penyerap yang berada dalam tabung kaca. Pelarut (fasa gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom. Senyawa bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, dengan konsentrasi yang berbeda, kemudian dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Di ukur $R_f$nya, R_f yang sama di gabung (Gritter, 1991).

3. Rekristalisasi

Metode rekristalisasi dilakukan jika senyawa hasil isolasi sudah diperoleh dalam keadaan padat. Pada proses ini suatu padatan dilarutkan dalam suatu pelarut dan kemudian dapat dibuat kembali menjadi padatan kristal dengan cara pengendapan. Pemurnian secara rekristalisasi didasarkan pada perbedaan kelarutan antar senyawa dengan pengotor dalam pelarut. Pelarut yang baik adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan maksimum dalam keadaan panas dan dalam keadaan minimum, dapat memisahkan kotoran dan kembali menghasilkan kristal, mudah dipisahkan dari kristal yang terbentuk, dan tidak bereaksi secara kimia dengan zat yang dimurnikan (Manjang, 1985).

E. Uji Kemurniaan

Setelah dilakukan pemurnian, hasil isolasi dari pengotor perlu dilakukan pengujian kembali apakah hasil isolasi tersebut sudah murni. Cara yang digunakan untuk menentukan kemurnian hasil isolasi adalah dengan kromatografi lapis tipis dan penentuan titik leleh (Manjang, 1985).

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kemurnian hasil isolasi diketahui melalui noda yang dihasilkan pada plat. Jika noda yang dihasilkan tunggal, setelah diganti beberapa pelarut dengan berbagai perbedaan maka kemungkinan hasil isolasi tersebut sudah murni. (Manjang, 1985).

2. Penentuan Titik Leleh

Pada penentuan titik leleh dilakukan pemanasan dua kali, pertama dengan api besar temperatur dinaikkan secara cepat sehingga dapat diketahui kira-kira titik lelehnya. Pada saat berikutnya dilakukan secara lambat temperatur dinaikkan secara pelan sehingga didapat titik leleh yang lebih teliti. Suatu zat dikatakan murni, kalau range titik leleh tersebut lebih kecil dari 2 ^{o}C, yang diamati saat mulai meleleh sampai semua zat mencair (Manjang, 1985).

F. Karakterisasi

1. Reaksi Warna

Mereaksikan senyawa flavonoid dengan pelarut tertentu menjadi senyawa berwarna merupakan cara untuk menentukan senyawa flavonoid apakah termasuk flavon, flavonol atau antosianin. Pereaksi yang digunakan adalah larutan NaOH, H_2SO_4 pekat dan Mg-HCl. Dari warna yang dihasilkan dapat diketahui jenis senyawa flavonoid hasil isolasi tersebut seperti yang terlihat pada tabel 1.

Tabel 1 . Warna Flavonoid dengan Beberapa Pereaksi

Jenis flavonoid	NaOH	H_2SO_4 pekat	Mg-HCl
Antosianin	Biru sampai violet	Kekuningan sampai orange	Merah (pink)
Flavon	Kuning	Kuning sampai orange	Kuning sampai merah
Flavonol	Kuning sampai orange	Kuning sampai orange	Merah sampai magenta

Sumber: (Finar, 1976)

2. Kromatografi Kertas Dua Arah (KKt-2A)

Cara yang paling umum digunakan untuk analisa flavonoid dalam jaringan tumbuhan adalah kromatografi kertas dua arah, dimana prinsipnya adalah mengelusi campuran komponen dengan dua macam pelarut yang kepolarannya berbeda. Pelarut pengelusi yang digunakan adalah BAA (n-BuOH:HOAc:H_2O = 4:1:5) sebagai pengembang pertama dan asam asetat 15 % sebagai pengembang kedua. Kertas yang digunakan adalah kertas Whatman 3MM (46x57 cm). Ekstrak tumbuhan ditotolkan pada kertas disuatu titik kira-kira 8 cm dari tepi kertas dan 3 cm dari lipatan akhir. Kertas dicelupkan kedalam larutan pengembang pertama (BAA) dengan digantung tegak lurus didalam bejana sehingga larutan pengembang bergerak keatas. Setelah larutan pengembang sampai pada garis batas, kertas diangkat dari bejana kromatografi dan dikeringkan dalam lemari asam. Kertas kromatogram yang telah kering dideteksi dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm. Kemudian posisi kertas diputar 90^o dari posisi awal dan dicelupkan ke bejana lain yang berisi larutan pengembang asam asetat 15 %. Elusi larutan pengembang sampai pada garis batas, kertas diangkat dari bejana kromatografi dan dikeringkan dalam lemari asam. Kertas

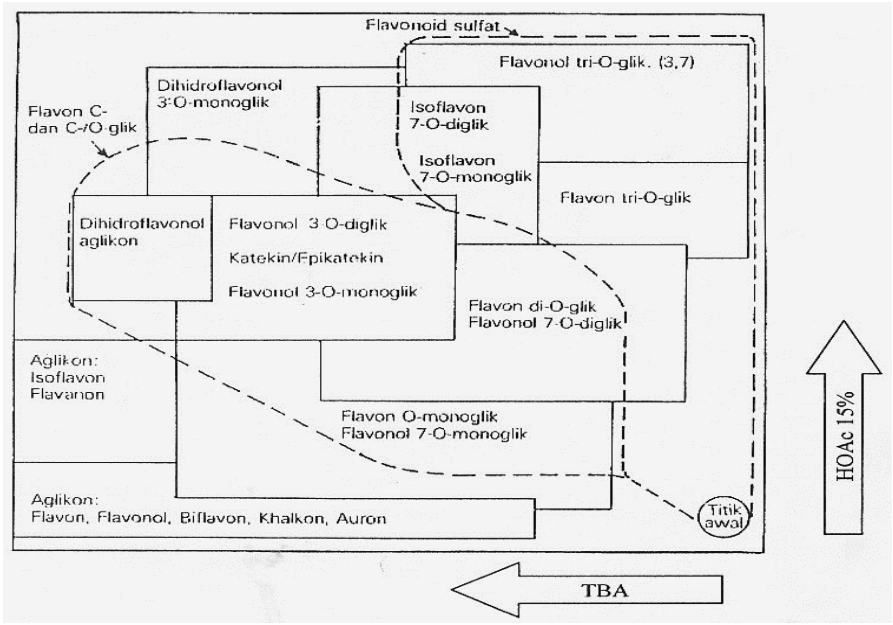
kromatogram yang telah kering dideteksi dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm dan noda diberi tanda dengan pensil (Markham, 1988).

Kebanyakan flavonoid tidak terlihat pada kromatogram kertas, kecuali antosianin (bercak jingga sampai lembayung yang menjadi biru bila diuapi NH_3) dan khalkon, auron dan 6-hidroksi flavonol (kuning). Karena alasan tersebut untuk mendeteksi bercak, kromatogram diperiksa dengan sinar UV (366 nm). Untuk meningkatkan kepekaan deteksi dan menghasilkan perubahan warna pada kertas kromatogram maka kertas kromatogram yang sudah kering diuapi dengan NH_3 (Markham, 1988).

Petunjuk untuk menentukan jenis flavonoid tertentu dengan menggunakan kondisi kromatografi baku dapat dilihat pada gambar 3 halaman 17.

3. Spektrofotometri Ultraviolet

Spektrofotometri ultraviolet adalah pengukuran absorpsi radiasi elektromagnetik suatu senyawa di daerah ultraviolet (200-350 nm). Gugusan atom mengabsorpsi sinar ultraviolet adalah gugus kromofor yang mempunyai ikatan kovalen tak jenuh. Absorpsi radiasi dipengaruhi oleh organ gugus fungsi lain dalam molekul gugus tersebut adalah gugus auksokrom. Bila gugus auksokrom diikat oleh gugus kromofor maka intensitas absorpsi radiasi akan meningkat.



Gambar 3. Petunjuk Penyebaran Jenis Flavonoid pada Kromatogram Yang Dikembangkan Dengan TBA/HOAc 15% (Markham, 1988).

Alat spektrofotometer ultraviolet terdiri atas sumber radiasi, monokromator, wadah sampel, detektor dan rekorder. Sumber radiasi untuk pengukuran di daerah ultraviolet adalah lampu deuterium. Monokromator berfungsi untuk memperoleh radiasi monokromatis dari sumber radiasi polikromatis. Sampel yang akan dianalisis ditempatkan dalam suatu kuvet berbentuk kotak persegi panjang atau silinder kemudian kuvet ini ditempatkan dalam wadah sampel yang terdapat pada alat spektrofotometer. Detektor berfungsi sebagai petunjuk adanya radiasi yang ditransmisikan oleh sampel dan mengukur intensitas radiasi tersebut. Rekorder dapat menggambarkan secara otomatis kurva serapan pada kertas rekorder.

Pelarut yang biasa digunakan dalam spektrofotometer ultraviolet adalah etanol 95% karena kebanyakan senyawa larut dalam pelarut ini. Pelarut lain yang

dapat dipakai adalah air, metanol, n-heksan, eter minyak bumi dan eter (Harborne, 1987).

Spektroskopi serapan ultraviolet dan serapan tampak merupakan cara yang paling berguna untuk menganalisis flavonoid. Cara ini digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan memecahkan pola oksigenasi. Disamping itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan diamati pergeseran puncak serapan yang terjadi sehingga secara tidak langsung cara ini berguna untuk memecahkan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksi fenol. Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam pelarut metanol atau etanol, meskipun perlu diingat bahwa spektrum yang dihasilkan dalam etanol kurang memuaskan (Markham, 1988).

Petunjuk mengenai rentang serapan maksimum utama yang diperkirakan untuk setiap jenis flavonoid dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rentangan Serapan Spektrum UV-Vis Flavonoid

Pita II (nm)	Pita I (nm)	Jenis flavonoid
250-280	310-350	Flavon
250-280	330-360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250-280	350-385	Flavonol (3-OH bebas)
245-275	310-330 bahu Kira-kira 320 puncak	Isoflavon Isoflavon(5-deoksi-6,7-dioksigenasi)
275-295	300-330 bahu	Flavonon dan dihidroflavonol
230-270 (Kekuatan rendah)	340-390	Khalkon
230-270 (kekuatan rendah)	380-430	Auron
270-280	465-560	Antosianidin dan antosianin

Sumber: (Markham, 1988)

4. Spektrofotometri Infra merah

Spektroskopi inframerah adalah studi yang mempelajari interaksi antara sinar inframerah dengan materi yang akan menghasilkan suatu spektrum, dimana sinar inframerah menyebabkan kenaikan energi vibrasi suatu molekul. Spektroskopi inframerah berguna untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa organik. Penggunaan spektroskopi inframerah pada bidang kimia organik menggunakan daerah dari 650-4000 cm^{-1} (15,4-2,5 μm). Bila sinar inframerah dilewatkan melalui senyawa organik, maka sejumlah frekuensi diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan (Sastrohamidjojo, 1991).

Proses penyerapan inframerah terjadi bila frekuensi vibrasi sama dengan frekuensi sinar inframerah atau energi sinar inframerah sama dengan energi vibrasi molekul. Spektrum inframerah merupakan gambaran yang menyatakan hubungan antara intensitas serapan (transmitan atau absorban) lawan bilangan gelombang atau panjang gelombang (Sastrohamidjojo, 1991).

Radiasi inframerah merupakan radiasi yang berenergi relatif rendah. Absorbsi radiasi inframerah oleh suatu molekul mengakibatkan naiknya vibrasi ikatan-ikatan kovalen, dimana inti-inti atom yang terikat oleh ikatan kovalen mengalami getaran (vibrasi) atau osilasi. Bila molekul menyerap radiasi inframerah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom-atom yang terikat, molekul ini dikatakan berada dalam keadaan vibrasi tereksitasi. Keadaan vibrasi dari ikatan terjadi pada keadaan tetap atau terkuantitas, tingkat-tingkat energi. Panjang gelombang dari absorpsi oleh suatu ikatan tertentu, bergantung pada macam getaran dari ikatan tersebut. Oleh karena itu, tipe ikatan yang berlainan (C-H, C-C, O-H dan sebagainya) menyerap radiasi

inframerah pada panjang gelombang karakteristik yang berlainan. Banyak energi yang diadsorpsi oleh suatu ikatan bergantung pada perubahan dalam momen ikatan, jika perubahan momen ikatan besar maka energinya juga besar. Ikatan non polar tidak mengabsorbsi radiasi inframerah karena tidak ada perubahan momen ikatan apabila atom berosilasi. Ikatan non polar (ikatan C-C dan C-H dalam molekul organik) relatif menyebabkan absorbsi yang lemah. Pada ikatan polar (seperti C=O) menunjukkan absorbsi yang kuat (Fessenden, 1986).

Daftar frekuensi serapan inframerah beberapa gugus fungsi dapat dilihat pada tabel 3:

Tabel 3. Daftar Frekuensi Serapan Inframerah Beberapa Gugus Fungsi

Gugus fungsi		Frekuensi cm^{-1}
C=C	- Alkena	1680-1600
	- Aromatik	1600-1475
C≡C	- Alkuna	2250-2100
C=O	- Aldehid	1740-1720
	- Keton	1725-1705
	- Asam karboksilat	1725-1700
	- Ester	1750-1730
	- Anhidrida	1810-1760
C-O	- Eter	1300-1000
O-H	- Alkohol	3000-3700

Sumber :Sastrohamidjojo, 1991

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Dari 7 kg umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) diperoleh flavonoid murni dari faksi etil asetat berbentuk serbuk kuning sebanyak 45,4 mg dengan range titik leleh 285,6 - 286,9 ˚C.
2. Ditinjau dari kelarutannya, sampel umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) mengandung senyawa flavonoid semi polar.
3. Dari pemeriksaan reaksi warna, data KKt-2A, spektrum IR dan UV-Vis maka flavonoid hasil isolasi termasuk golongan flavonol yang memiliki gugus -OH pada C-3, C-5, C-3’ dan C-4’.

B. Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan struktur lengkap senyawa flavonoid dari umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) ini dengan spektrum ^{1}H-RMI, spektrum ^{13}C-RMI dan spektroskopi massa, serta melakukan uji bioaktifitas.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A, (1986). *Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka. Jakarta

Bakhtiar, A. (1992*). Diktat Kuliah Flavonoid*. Universitas Andalas. Padang.

Brian, Smith. (1998). *Infrared Spectral Interpretation, A Systematic Approach.* CRC Press LLC. USA.

Darwis, D. (2000). *Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Organik Bahan Alam, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*. Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas, Padang.

Fessenden. R.J. & Fessenden. J.s. (1986). *Kimia organik*. Edisi Ketiga jilid I. Terjemahan Aloysius Hadyana Padjaatmaka. Erlangga. Jakarta.

Finar. I.L. (1976). *Organic Chemistry stereochemistry and Natural Product. Volume Two*. Fifth Edition. Longmon. England.

Gritter, R.J. (1991). *Pengantar Kromatografi*. Edisi II. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia*. Edisi kedua. Pustaka kartini. Jakarta.

Jaelani.(2007). *Khasiat Bawang Merah.* Yogyakarta : Kanisius.

Kusuma, T.S. (1998). *Kimia dan Lingkungan*. Pusat Penelitian Universitas andalas. Padang.

Manjang, Y., (1985). *Kimia Analisis Organik*. Proyek Peningkatan Perguruan Tinggi. Universitas andalas. Padang.

Markham, K.R., (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Mohamed, Gamal A. (2012). *Alliuocide A : a new antioxidant flavonoid from Allium cepa L.* Phytopharmacology. Inforesights Publishing UK. Vol 4(2), 220-227.

Maulana, daniel.(2011). *Inilah 10 Manfaat Bawang Merah bagi Kesehatan Tubuh.* Tersedia Online pada http://daniel-maulana.blogspot.com/2011/12/inilah-10-manfaat-bwang-merah-bagi.html. Tanggal 10 Oktober 2012.