

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FLAVONOID DARI DAUN TUMBUHAN
CINCAU KEPALA (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.)**

TUGAS AKHIR

*Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh
Gelar Sarjana Sains*



Oleh :

**ZURI FITRIA
2009 - 12874**

**PROGRAM STUDI KIMIA
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 Daun
Tumbuhan Cincau Kepala (*Stephania Capitata*
(Blume.) Spreng.)

Nama : Zuri Fitria

Nim/BP : 12874/2009

Jurusan : Kimia

Program Studi : Kimia

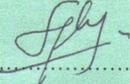
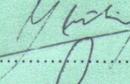
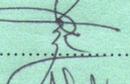
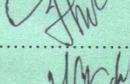
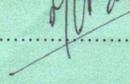
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 27 September 2013

Tim Penguji

Nama

TandaTangan

1. Ketua	: Dra. Sri Benti Etika, M.Si	1. 
2. Sekretaris	: Dra. Hj. Yustini Ma'aruf, M.Si	2. 
3. Anggota	: Drs. H. Nazulis Z, M.Si	3. 
4. Anggota	: Hary Sanjaya, M.Si	4. 
5. Anggota	: Dr. Hardeli, M.Si	5. 



KEMENTERIAN 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

SURATPERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zuri Fitria
NIM/TM : 12874/2009
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Tumbuhan Cincau Kepala (*Stephania Capitata* (Blume.) Spreng.)** 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, 27 September 2013

Yang menyatakan,

Zuri Fitria

ABSTRAK

Zuri fitria, 2009: Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Tumbuhan Cincau Kepala (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.)

Telah dilakukan isolasi flavonoid dari daun tumbuhan Cincau Kepala (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.) di laboratorium Penelitian Kimia Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun tumbuhan Cincau Kepala (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.). Metode isolasi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut MeOH, fraksinasi dengan n-heksana, etil asetat, dan fraksi butanol. Pemisahan fraksi butanol sebanyak 8,1g dengan kromatografi kolom dan sebagai adsorben silika gel dan eluen EtOAc : MeOH secara SGP. Uji kemurnian hasil isolasi dilakukan dengan KLT dan titik leleh. Flavonoid murni yang diperoleh berupa serbuk berwarna putih kekuningan dengan range titik leleh 179,8–180,4°C. Hasil uji dengan pereaksi warna NaOH 10%, H₂SO₄ pekat, dan Mg-HCl menunjukkan adanya senyawa flavon. Hasil uji Kkt-2A memperlihatkan nodaberadapada daerah glikon : flavon. Dari hasil analisa data spektra IR menunjukkan adanya gugus -OH, C-O-C eter, C=C aromatis, dan C=O karbonil. Sedangkan dari spektra UV-Vis menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi. Dari data di atas diduga flavonoid hasil isolasi adalah suatu flavonol dengan gugus -OH pada C-3.

Kata Kunci: Flavonoid, Daun Cincau Kepala, UV-Vis, dan IR

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga Tugas Akhir ini dapat diselesaikan sebagaimana mestinya. Tugas Akhir ini berjudul “**Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Tumbuhan Cincau Kepala** (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.)

Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat guna memperoleh Gelar Sarjana Sains. Penyusunan dan penulisan Tugas Akhir ini, banyak mendapatkan bimbingan dan arahan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Sri Benti Etika, M.Si sebagai dosen pembimbing I
2. Ibu Dra. Hj. Yustini Ma'aruf, M.Si sebagai dosen pembimbing II
3. Bapak Drs. H. Nazulis Z, M.Si, Bapak Hari Sanjaya, M.Si , sebagai pembahas Tugas Akhir ini.
4. Bapak dan Ibu staf pengajar Jurusan Kimia FMIPA UNP.
5. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan informasi baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan Tugas Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Tugas Akhir ini telah sesuai dengan aturan buku panduan penulisan tugas akhir Universitas Negeri Padang. Untuk menyempurnakan Tugas Akhir ini, saran serta kritiknya yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga Tugas Akhir ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Padang, Agustus 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
1. Klasifikasi tumbuhan cincau kepala	4
2. Morfologi tumbuhan cincau kepala	4
3. Manfaat tumbuhan cincau kepala	5
B. Flavonoid	6
1. Tinjauan umum flavonoid	6
2. Klasifikasi flavonoid	6
3. Kegunaan flavonoid	9
4. Sifat-sifat flavonoid	10
5. Identifikasi flavonoid	11
C. Metode Ekstraksi	11
1. Maserasi	12
2. Perkolasi	13

3. Sokletasi	13
D. Pemisahan Komponen Kimia	13
1. Kromatografi lapis tipis	13
2. Kromatografi kolom	15
3. Rekristalisasi	16
E. Uji Kemurnian	16
1. Kromatografi lapis tipis	17
2. Penentuan titik leleh	17
F. Karakterisasi	17
1. Reaksi warna	17
2. Kromatografi kertas dua arah	18
3. Spetrofotometri ultraviolet	20
4. Spektrofotometri inframerah	23
BAB II METODOLOGI PENELITIAN	26
A. Tempat dan waktu penelitian	26
B. Sampel penelitian.....	26
C. Alat dan bahan	26
D. Prosedur penelitian	27
1. Pengolahan sampel	27
2. Pembuatan pereaksi	27
3. Uji pendahuluan kandungan kimia	28
4. Isolasi flavonoid	30
5. Uji kemurnian	32
6. Karakterisasi senyawa hasil isolasi	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Warna Flavonoid dengan Beberapa Pereaksi.....	18
2. Rentangan Serapan Spektrum UV-Vis Flavonoid.....	22
3. Daftar Frekuensi Serapan Inframerah Beberapa Gugus Fungsi.....	25
4. Hasil Uji pendahuluan kandungan metabolit sekunder pada daun Cincau Kepala (<i>Stephania capitata</i> (Blume.) Spreng.).....	36
5. Nilai R_f Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid dengan Beberapa Eluen.....	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tiga jenis Flavonoid Berdasarkan Susunan Kerangka Dasar AtomKarbon.....	6
2. Jenis Utama dan Struktur Dasar FlavonoidAlam.....	8
3. Petunjuk Penyebaran Jenis Flavonoid pada Kromatogram Yang Dikembangkan Dengan TBA/HOAc15%.....	20
4. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser NaOH.....	38
5. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser AlCl ₃ + HCl.....	38
6. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser NaOAc + H ₃ BO ₃	39
7. Spektroskopi Inframerah Flavonoid Hasil Isolasi.....	39
8. Dugaan struktur flavonoid hasil isolasi.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Tanaman cincau kepala (<i>Stephania capitata</i> (Blume.) Spreng.).....	48
2. Skema Kerja Isolasi dan identifikasi Flavonoid dari Daun Cincau Kepala (<i>Stephania capitata</i> (Blume.) Spreng.).....	49
3. Kromatografi Lapis tipis Flavonoid dengan Beberapa Komposisi Eluen.....	52
4. Kromatogram Kromatografi Kertas 2 Arah (Kkt-2a) Flavonoid Hasil Isolasi.....	53

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia sebagai negara tropis memiliki kekayaan alam berbagai jenis tumbuhan yang mempunyai kandungan bahan aktif tertentu yang bermanfaat untuk kesehatan. Terdapat kurang lebih dari 7000 spesies tumbuhan (90% dari spesies tumbuhan Asia) diketahui berkhasiat sebagai obat (BPOM, 2001). Tanaman cincau merupakan asli Asia Tenggara yang hidup merambat atau melilit. Di Indonesia tanaman cincau banyak ditemukan di semak belukaran pinggiran hutan daerah Jawa, Sumatera, dan Sulawesi.

Berdasarkan penelitian Heyne (1987), tanaman cincau hijau mengandung senyawa kimia seperti : alkaloid, saponin, flavonoid, klorofil dan karotenoid, dimana senyawa ini merupakan senyawa organik metabolit sekunder. Mengingat pentingnya senyawa-senyawa kimia aktif biologis yang berasal dari tumbuhan dalam bidang pengobatan, maka salah satu langkah penting untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder itu adalah melalui pendekatan survey fitokimia (Kusuma, 1988)

Hampir semua flavonoid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan fisiologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan dan mempunyai efek fisiologis dan psikologis. Telah dilakukan uji pendahuluan terhadap cincau kepala (*Stephania capitata*

(*Blume.*)*Spreng.*) ternyata positif mengandung alkaloid dan flavonoid sedangkan untuk senyawa metabolit sekunder lainnya memberikan hasil negatif.

Berdasarkan penelusuran pustaka dan internet, belum ditemukan laporan tentang isolasi flavonoid dari daun cincau kepala (*Stephania capitata* (*Blume.*)*Spreng.*). Berdasarkan hal tersebut diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Tumbuhan Cincau Kepala (*Stephania capitata* (*Blume.*)*Spreng.*)

B. Perumusan Masalah

Bertitik tolak dari latar belakang di atas, maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah apakah senyawa flavonoid dapat diisolasi dari daun cincau kepala (*Stephania capitata* (*Blume.*)*Spreng.*) dan bagaimana karakteristiknya.

C. Pembatasan Masalah

Agar penelitian yang dilakukan ini terfokus, maka dilakukan pembatasan masalah yaitu :

1. Sampel yang digunakan adalah daun cincau kepala (*Stephania capitata* (*Blume.*)*Spreng.*) yang diperoleh dari Nagari Padang sibusuk, Kec. Kupitan, Kab. Sijunjung.
2. Isolasi senyawa flavonoid dari daun cincau kepala (*Stephania capitata* (*Blume.*)*Spreng.*) dilakukan dengan metoda maserasi, fraksinasi dan

kromatografi kolom. Sedangkan uji kemurnian dilakukan dengan KLT dan uji titik leleh.

3. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan pereaksi warna, Kkt-2A, spektrofotometer UV-VIS dan IR.

D. Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid dari daun cincau kepala (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.) dan mengetahui karakteristiknya.

E. Manfaat penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat :

1. Memberikan sumbangan bagi ilmu kimia bahan alam tentang tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid
2. Memberikan informasi tentang karakteristik senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun cincau kepala (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan botani

1. Klasifikasi Tumbuhan Cincau Kepala

Berikut ini adalah klasifikasi daun cincau kepala (*Stephania capitata* (Blume.)Spreng.) (Herbarium ANDA):

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Super divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Menispermaceae
Genus	: <i>Stephania</i>
Spesies	: <i>Stephania capitata</i> (Blume.)Spreng.

2. Morfologi Tumbuhan Cincau Kepala

Stephania terdiri atas 50 jenis yang berasal dari Asia Timur, Asia Tenggara, Asia Selatan, dan Australia. Secara umum, jenis tumbuhan

Stephania merupakan liana merambat. Salah satu jenis Stephania yaitu cincau kepala (*Stephania capitata* (Blume.) Spreng.), digunakan sebagai bahan minuman cincau. Disebut juga cincau minyak, mungkin karena jenis ini memiliki bagian permukaan daun yang mengkilap seperti berminyak. Liana berkayu ini pun diperkirakan berasal dari Indonesia. Di Indonesia, cincau kepala dapat ditemukan tumbuh mulai dataran rendah hingga ketinggian 1600 meter di atas permukaan laut. (Tim LIPI, 2010)

Cincau kepala berupa liana berkayu, mirip dengan perdu besar. Batang berukuran besar, membelit, memanjat. Dari batang keluar akar lekat. Batang cincau kepala dapat mencapai panjang 20 meter. (Tim LIPI, 2010)

Daun berbentuk lonjong, berwarna hijau, dengan ujung yang runcing. Permukaan daun mengkilap dan tidak berambut. Daun berukuran 6,5 X 13,5 cm, lembaran daun tidak tebal. Tangkai daun panjang dan terdapat pada pangkal daun. Bunga berukuran kecil, berwarna hijau atau hijau kekuningan, buah kecil, berukuran 10-17 mm. Buah umumnya jarang ditemukan. Perbanyakan tanaman dilakukan dengan stek batang dan cangkok batang didekat batang yang berakar. (Tim LIPI, 2010)

3. Manfaat Tumbuhan Cincau Kepala

Daun cincau kepala juga bermanfaat sebagai bahan pembuat minuman cincau, selain cincau jenggol (*Cyclea Barbata*). Perasan daun yang dicampur

dengan air hangat akan mengental dan menjadi cincau, namun proses pengentalannya berlangsung lebih lama dibandingkan daun cincau jenggot. Manfaat yang dihasilkan cincau kepala juga hampir sama dengan cincau jenggot yaitu dapat mengobati sakit perut, menurunkan demam, menghindari sembelit dan terhindar dari kekurangan serat. (Tim LIPI, 2010)

B. Flavonoid

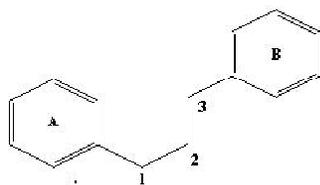
1. Tinjauan Umum Flavonoid

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).

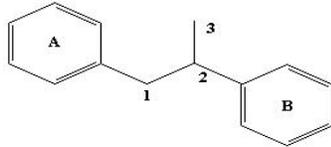
2. Klasifikasi Flavonoid

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

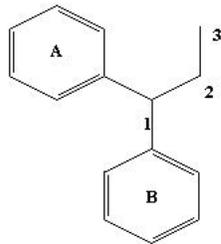
- a. Flavonoid atau 1,3-diarilpropana



b. Isoflavonoid atau 1,2- diaril propana



c. Neoflavonoid atau 1,1- diaril propana

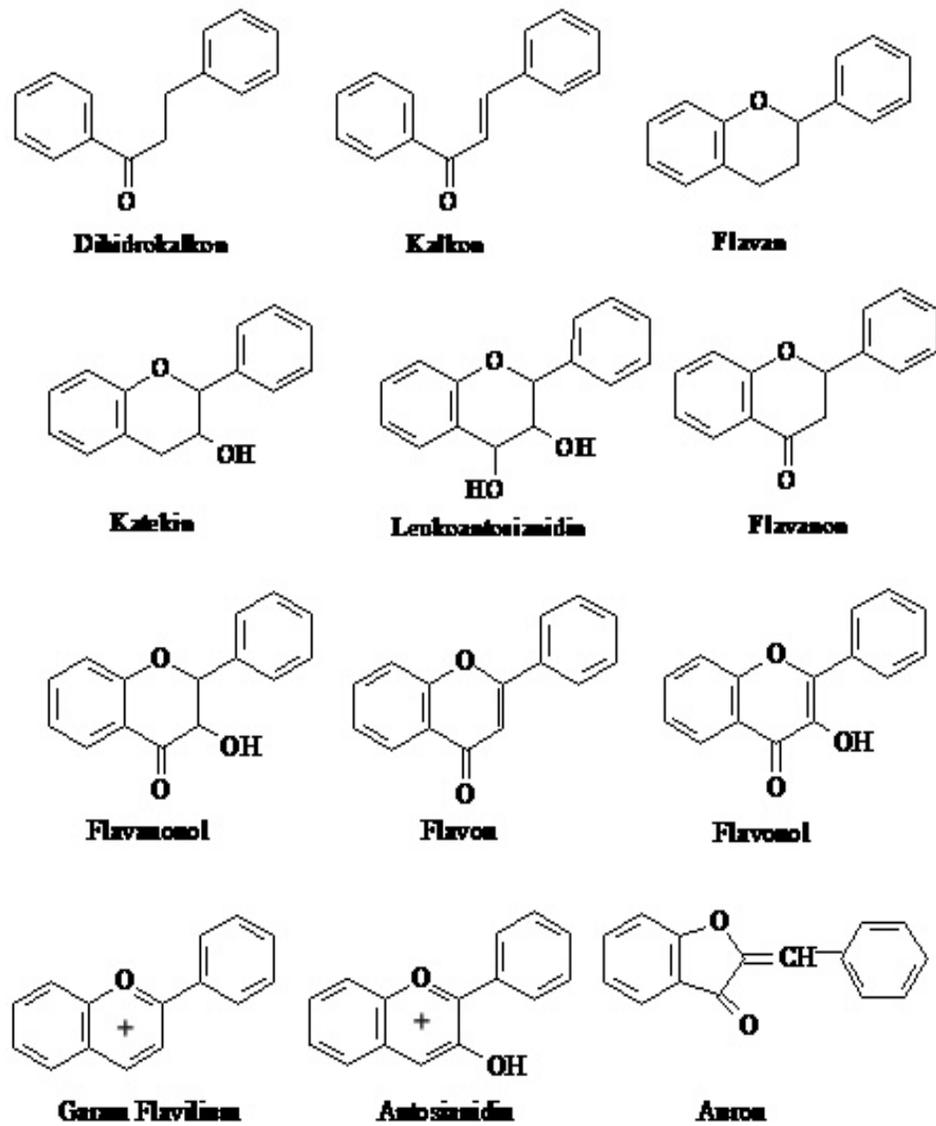


Gambar 1: Tiga jenis Flavonoid Berdasarkan Susunan Kerangka Dasar Atom Karbon (Achmad, 1986)

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).

Senyawa-senyawa isoflavonoid dan neoflavonoid hanya ditemukan dalam beberapa jenis tumbuhan, terutama suku Leguminosae. Jenis-jenis yang termasuk isoflavonoid adalah isoflavon, rotenoid, pterokarpan dan kumestan. Sedangkan, neoflavonoid meliputi jenis-jenis 4-arilkumarin dan berbagai dalbergion (Achmad, 1986)

Beberapa jenis flavonoid serta struktur dasar masing-masing jenis tercantum pada gambar 2 berikut ini:



Gambar 2: Jenis Utama dan Struktur Dasar Flavonoid Alam (Achmad, 1986)

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.
- 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 benzene 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. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida, dengan demikian melindungi lipid membrane terhadap reaksi yang merusak. 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 suatu gula, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung 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 isoflavan, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung 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 di hidrolisa 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, benzena, kloroform.dan aseton (Achmad, 1986)

C. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen atau 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 (dikloro metan 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 (Darwis. D, 2000) :

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 membrane 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.

2. Perkolasi

Merupakan proses melewatkan pelarut organik pada sampel, sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Tetapi efektifitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan.

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.

D. Pemisahan Komponen Kimia

1. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis ialah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. 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 (fase gerak), pemisahan terjadi

selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon. Sebagai fase 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).

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).

Kelemahan kromatografi lapis tipis adalah harga R_f yang tidak tetap. Nilai R_f merupakan perbandingan jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh pelarut dan dinyatakan dengan suatu angka desimal :

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

Jika noda pada plat KLT tidak berwarna maka dapat ditampakan 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. Diukur R_f -nya, R_f yang sama digabung (Gritter, 1991).

3. Rekrystalisasi

Metode rekrystalisasi 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 rekrystalisasi 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°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, H₂SO₄ pekat dan Mg-HCl.

Dari warna yang dihasilkan dapat diketahui jenis senyawa flavonoid hasil isolasi tersebut seperti yang terlihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1 . Warna Flavonoid dengan Beberapa Pereaksi

Jenis flavonoid	NaOH	H ₂ SO 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)

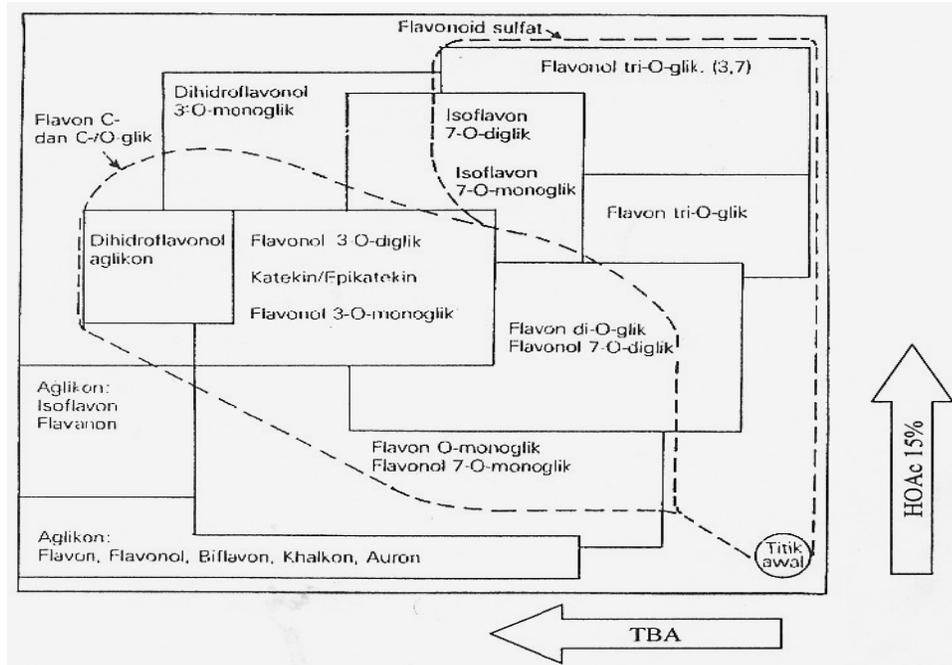
Cara yang paling umum digunakan untuk analisa flavonoid dalam jaringan tumbuhan adalah kromatografi kertas dua arah, dimana prinsipnya adalah mengelusi campuran komponen dengan dua macam pelarut yang kepolarannya berbeda. Pelarut pengelusi yang digunakan adalah BAA (n-BuOH:HOAc:H₂O = 4:1:5) sebagai pengembang pertama dan asam asetat 15 % sebagai pengembang kedua. Kertas yang digunakan adalah kertas Whatman

3MM .Ekstrak tumbuhan ditotolkan pada kertas disuatu titik kira-kira 8cm dari tepi kertas dan 3cm 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° 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:



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

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 (Harborne, 1987).

Alat spektrofotometri ultraviolet terdiri atas sumber radiasi, monokromator, wadah sampel, detektor dan rekorder. Sumber radiasi untuk pengukuran di daerah ultraviolet adalah lampu deuterium(Harborne, 1987).

Monokromator berfungsi untuk memperoleh radiasi monokromatis dari sumber radiasi polikromatis. Sampel yang akan dianalisis ditempatkan dalam suatu selatan kuvet berbentuk kotak persegi panjang atau silinder kemudian kuvet ini ditempatkan dalam wadah sampel yang terdapat pada alat spektrofotometer(Harborne, 1987).

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.(Harborne, 1987).

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-heksana, 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 berikat pada salah satu gugus hidroksi fenol (Markham, 1988).

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- dioksidasi)
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, 1988:39

4. Spektrofotometri Infra merah

Radiasi inframerah merupakan radiasi yang berenergi relatif rendah. Absorpsi 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 (Fessenden, 1982).

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 (Fessenden, 1982).

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 mengabsorpsi 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 absorpsi yang lemah. Pada ikatan polar (seperti C=O) menunjukkan absorpsi yang kuat (Fessenden, 1982).

Yang harus diperhatikan dalam menginterpretasikan spektrum inframerah yaitu:

- Intensitas : *weak* (w/lemah), *medium* (m/sedang), *strong* (s/kuat), *variable* (v/berubah-ubah).
- Bentuk/*shape* : *Broad* (lebar) dan *sharp* (tajam)
- Pita lemah yang bertumpang tindih dengan pita kuat : bahu (*sh/shoulder*)
- Posisi (cm^{-1}) dalam spektrum.(Fessenden, 1982).

Daftar frekuensi serapan inframerah beberapa gugus fungsi dapat dilihat pada

Tabel3:

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 dan pembahasan yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Dari 6 kg daun Cincau Kepala (*Stephania capitata* (Blume.)Spreng.) diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi butanol. Namun pada fraksi butanol yang membentuk kristal berupa serbukputih kekuningan dengan range titik leleh 179,8°C-180,4°C sebanyak 8,7 mg.
2. Hasil karakterisasi dengan pereaksi warna, Kkt-2A, spektrum IR dan UV-Vis maka flavonoid hasil isolasi termasuk golongan flavonpl yang memiliki gugus -OH pada C-3.

B. Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan struktur lengkap senyawa flavonoid dari Cincau Kepala (*Stephania capitata* (Blume.)Spreng.) ini dengan spektrum ¹H-RMI, spektrum ¹³C-RMI dan spektroskopi massa, serta melakukan uji bioaktifitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A.1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka. Jakarta
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan.2001.*Kebijakan Pengembangan Obat Alam/Herbal Medicine Indonesia*. BadanPOM, Jakarta.
- 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. 1982.*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: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerjemah: Dr. Kosasih Padmawinata dan Dr. Iwang Soediro. Penyunting: Dra. Sofia Niksolihin. Bandung: ITB.
- Heyne,K.1987.Tumbuhan Berguna Indonesia II. Badan Litbang Dep. Kehutanan.
- Kusuma, T.S.1988. *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.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Utama Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung.