

**Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Kapuk
(*Ceiba pentandra* L.)**

SKRIPSI

*untuk memenuhi sebagai persyaratan guna memperoleh gelar
sarjana sains*



Oleh :

**PUTRI DIANA
2009-12891**

**PROGRAM STUDI KIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2013**

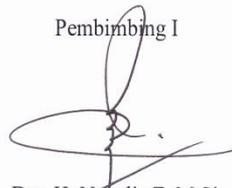
PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul : Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Kapuk
(*Ceiba pentandra* L.)
Nama : Putri Diana
NIM/BP : 12891/2009
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 26 Juli 2013

Disetujui Oleh

Pembimbing I



Drs. H. Nazulis Z. M.Si
NIP. 19491125 197803 1 001

Pembimbing II



Dra. Sri Benti Etika, M.Si
NIP. 19620913 198803 2 002

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 Kapuk
(*Ceiba pentandra* L.)

Nama : Putri Diana

Nim/BP : 12891/2009

Jurusan : Kimia

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 26 Juli 2013

Tim Penguji

Nama

Tanda Tangan

1. Ketua : Drs. H. Nazulis Z, M.Si

1.

2. Sekretaris : Dra. Sri Benti Etika, M.Si

2.

3. Anggota : Dra. Hj. Yustini Ma'aruf, M.Si

3.

4. Anggota : Yerimadesi, S.Pd, M.Si

4.

5. Anggota : Dr. Hardeli, M.Si

5.

SURAT PERNYATAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Padang, 26 Juli 2013
Yang menyatakan,

Putri Diana

ABSTRAK

Putri Diana, 2009: Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Kapuk (*Ceiba pentandra L.*)

Telah dilakukan isolasi flavonoid dari daun kapuk (*Ceiba pentandra L.*) di Laboratorium Penelitian Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui karakteristik senyawa favonoid dari daun kapuk. 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 silica gel, 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 putih kecoklatan dengan range titik leleh 263,3 -263,8 °C. Hasil uji dengan pereaksi warna NaOH 10%, H₂SO₄ pekat, dan Mg-HCl menunjukkan adanya senyawa flavon. Hasil uji Kkt-2A memperlihatkan noda berada pada daerah aglikon flavon. Dari hasil analisis data spektra IR menunjukkan adanya gugus -OH, C-O eter, C=C aromatis, dan C=O karbonil. Sedangkan dari spektra UV-Vis adanya gugus -OH pada C-3. Dari data diatas diduga flavonoid hasil isolasi adalah suatu flavon dengan gugus -OH pada C-3 yaitu 3-hidroksiflavon.

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 Daun Kapuk (*Ceiba pentandra 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. Sri Benti Etika, M.Si sebagai dosen pembimbing II.
3. Ibu Dra.Hj.Yustini Ma’aruf, M.Si, Yerimadesi, S.Pd, M.Si, dan Dr.Hardeli, 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 Dr.Budhi Oktavia, M.Si 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.....	3
D. Tujuan Penelitian.....	3
E. Manfaat Penelitian.....	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tinjauan Botani.....	4
B. Flavonoid.....	6
C. Metode Ekstraksi.....	10
D. Pemisahan Komponen Kimia.....	12
E. Uji Kemurnian.....	15
F. Karakterisasi.....	16

BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	23
A. Tempat dan Waktu Penelitian	23
B. Sampel Penelitian	23
C. Alat dan bahan.....	23
D. Prosedur Penelitian	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
A. Hasil	34
B. Pembahasan	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
A. Kesimpulan	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Warna Flavonoid dengan Beberapa Pereaksi	16
2. Rentangan Serapan Spektrum UV-Vis Flavonoid.....	20
3. Daftar Frekuensi Serapan Inframerah Beberapa Gugus Fungsi.....	22
4. Hasil Uji Kandungan Metabolit Sekunder pada Daun Kapuk (<i>Ceiba pentandra</i> L.).....	34
5. Nilai R_f Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid dengan Beberapa Eluen.....	35
6. Data Reaksi Warna Flavonoid dari Hasil Isolasi dengan NaOH 10% , H ₂ SO ₄ Pekat, dan Mg/HCl.....	36
7. Data Pengukuran Spektrum Uv-vis Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi dengan Beberapa Pereaksi Geser.....	36

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 BAA/HOAc 15%	18
4. Dugaan Struktur Flavonoid Hasil Isolasi	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Gambar Daun Kapuk.....	42
2. Skema Kerja Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid.....	43
3. Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid dengan Beberapa Eluen	45
4. Kromatogram Kromatografi Kertas 2 arah (KKt-2A) Flavonoid Hasil Isolasi	46
5. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser NaOH.	47
6. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser $AlCl_3 + HCl$	48
7. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser $NaOAc + H_3BO_3$	49
8. Spektroskopi Inframerah Flavonoid Hasil Isolasi	50

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan alam yang melimpah pada sumber daya alam hayati. Kekayaan ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan, antara lain bahan baku industri, pangan dan sebagai obat. Banyak jenis tumbuhan yang sudah dimanfaatkan sejak lama sebagai obat-obatan tradisional tapi belum diketahui senyawa kimia yang terkandung di dalamnya (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 yang merupakan kelompok metabolit sekunder. Flavonoid tersebar luas pada tumbuhan angiospermae, gymnospermae, dan pteridopita. Flavonoid ini memberikan efek fisiologis dan farmakologis terhadap makhluk hidup. Pada tumbuhan, flavonoid berfungsi sebagai zat warna, pengatur tumbuh, penangkal serangan penyakit, dan sebagai penanda (markers) dalam mengklasifikasi tumbuhan (Bakhtiar, 1992).

Daun Kapuk digunakan untuk pengobatan radang usus, demam, dan batuk berdahak. Selain itu, akar atau kulit akar berkhasiat untuk lambung, limpa, antitusif, antiasmatik, merangsang kontraksi rahim, mempercepat kelahiran bayi, abortivum, mengurangi keluarnya darah haid, mempermudah pembekuan darah, dan merangsang keluarnya air susu ibu (ASI) (Departemen Kesehatan RI, 2007).

Hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan terhadap kandungan kimia daun Kapuk (*Ceiba pentandra* L.) menunjukkan bahwa positif mengandung flavonoid. Sementara itu, dari penelusuran literatur daun Kapuk juga mengandung saponin dan polifenol (Wardiyono, 2007). Daun Kapuk (*Ceiba pentandra* L.) termasuk familia Bombaceae yang banyak terdapat di Indonesia. Kebanyakan orang tidak mengerti khasiat daun ini dan hanya memperhatikan buahnya saja (Lanting dan Palaypayon, 2002). Oleh karena itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Kapuk (*Ceiba pentandra* L.).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang di atas, maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah apakah senyawa flavonoid dalam daun Kapuk (*Ceiba pentandra* L.) dapat diisolasi dan bagaimana karakteristik senyawa tersebut?

C. Pembatasan Masalah

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

1. Sampel yang digunakan adalah daun Kapuk (*Ceiba pentandra* L.), yang diperoleh dari Nagari Kacang Kecamatan Singkarak, Kabupaten Solok.
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, spektroskopi Inframerah, dan UV-Vis.

D. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa flavonoid dari daun Kapuk (*Ceiba pentandra* L.).

E. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini memberikan manfaat:

1. Memberikan sumbangan informasi tentang tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid.
2. Memberikan informasi tentang karakteristik senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun Kapuk.

BAB II **TINJAUAN PUSTAKA**

A. Tinjauan Botani

1. Taksonomi Daun Kapuk (*Ceiba pentandra* L.)

Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), maka diperoleh klasifikasi daun Kapuk, yaitu :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Sub Kingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Roside
Ordo	: Malvales
Famili	: Bombaceae
Genus	: <i>Ceiba</i>
Spesies	: <i>Ceiba pentandra</i> L.

2. Morfologi Tumbuhan Daun Kapas

Daun kapuk (*Ceiba pentandra* L.) merupakan pohon tropis yang banyak ditanam di Asia. Kapuk merupakan pohon yang menggugurkan bunga dengan tinggi pohon 8-30 m dan dapat memiliki batang pohon yang cukup besar hingga mencapai diameter 3 m. Pada batangnya terdapat duri-duri besar yang berbentuk kerucut. Daunnya bertangkai

panjang dan berbilang 5-9. Bunga terkumpul di ketiak daun (dekat ujung ranting). Kelopak berbentuk lonceng, berlekuk pendek dengan tinggi 1-2 cm. Daun mahkota bulat telur terbalik dan memanjang dengan panjang 2,5-4 cm. Benang sari jumlahnya 5, bersatu menjadi bentuk tabung pendek, serta memiliki kepala sari berbelok-belok. Bakal buah beruang 5 dengan bakal biji yang cukup banyak. Pohon kapuk memiliki buah yang bentuknya memanjang dengan panjang 7,5-15 cm, menggantung, berkulit keras dan berwarna hijau jika masih muda serta berwarna coklat jika telah tua. Dalam buahnya terdapat biji yang dikelilingi bulu-bulu halus, serat kekuning-kuningan yang merupakan campuran dari lignin dan selulosa. Bentuk bijinya bulat, kecil-kecil dan berwarna hitam (Setiadi, 1983).

Nama lain dari daun Kapuk yaitu: Kapuk Randu (Indonesia), cotton silk tree (England), kapokier (Francis), kapokbaum (German), dan ceiba (Spanyol) (Lanting dan Palaypayon, 2002).

3. Khasiat Daun Kapuk

Daun Kapuk digunakan untuk pengobatan radang usus, demam, dan batuk berdahak. Selain itu, akar atau kulit akar berkhasiat untuk lambung, limpa, antitusif, antiasmatik, merangsang kontraksi rahim, mempercepat kelahiran bayi, abortivum, mengurangi keluarnya darah haid, mempermudah pembekuan darah, dan merangsang keluarnya air susu ibu (ASI) (Departemen Kesehatan RI, 2007).

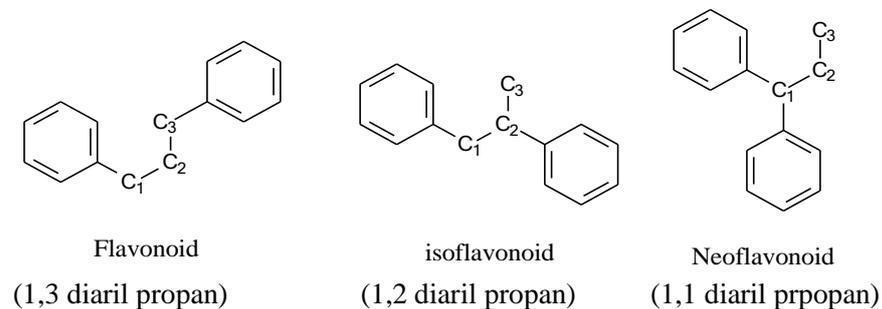
B. Flavonoid

1. Tinjauan umum Flavonoid

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan kuning ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid ditemukan hampir pada semua bagian tumbuhan seperti daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar bunga, buah, dan biji (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 berikut ini :

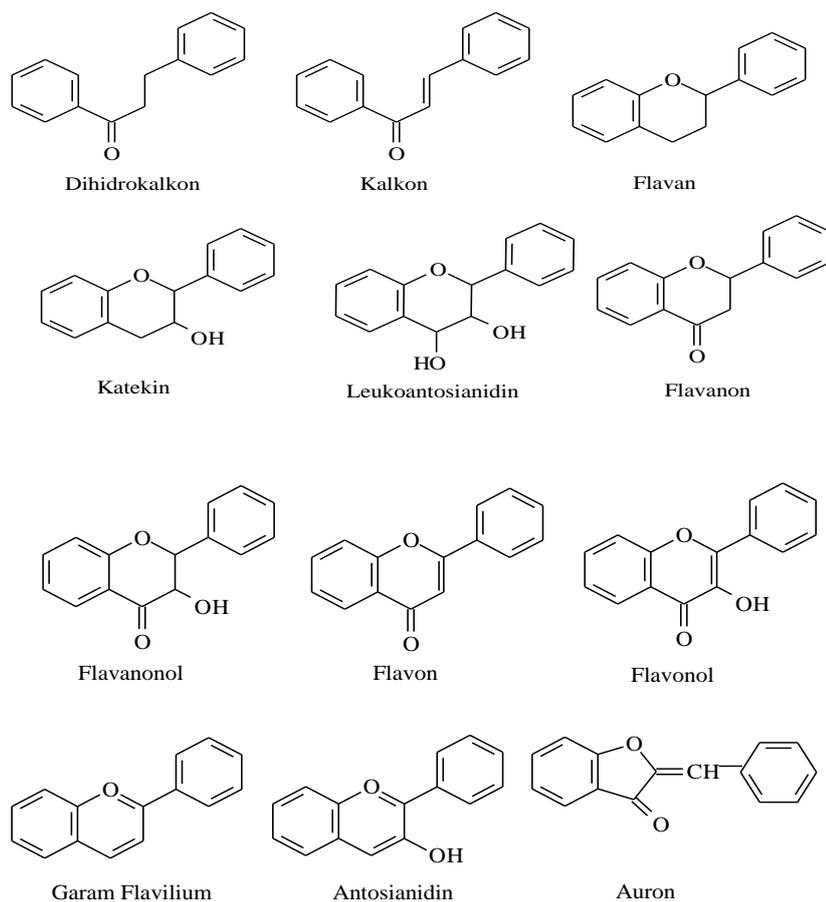


Gambar 1. Tiga jenis Flavonoid Berdasarkan Susunan Kerangka Dasar Atom Karbon (Achmad, 1986)

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 berikut ini:



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

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

- 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:

- 1) 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).
- 2) 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 membran 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 sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, air dan lain-lainnya. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosida. Sebaliknya aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, 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, 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 senyawa non polar. Secara umum ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan) lalu pelarut yang kepolarannya menengah (diklor 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, akar, 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 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.

2. Perkolasi

Merupakan proses melewati 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).

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 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. 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 Kemurnian

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)

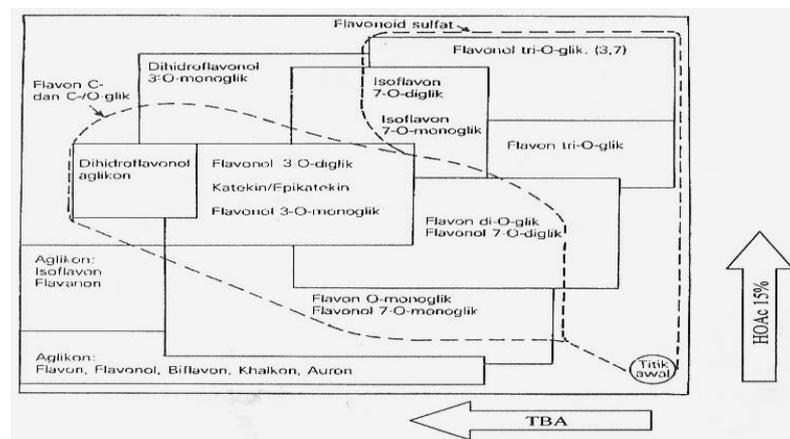
Cara yang paling umum digunakan untuk analisa flavonoid dalam jaringan tumbuhan adalah kromatografi kertas dua arah, dimana prinsipnya adalah mengelusi campuran komponen dengan dua macam pelarut yang kepolarannya berbeda. Pelarut pengelusi yang digunakan adalah BAA (n-BuOH:HOAc:H₂O = 4:1:5) sebagai pengembang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

yang digunakan adalah kertas Whatman 3MM (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 365 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 365 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 NH₃) dan khalkon, auron dan 6-hidroksi flavonol (kuning). Karena alasan tersebut untuk mendeteksi bercak, kromatogram diperiksa dengan sinar UV (365 nm). Untuk meningkatkan kepekaan deteksi dan menghasilkan perubahan warna pada kertas kromatogram maka kertas kromatogram yang sudah kering diuapi dengan NH₃ (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 BAA/ 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.

Alat spektrofotometer ultraviolet terdiri atas sumber radiasi, monokromotor, wadah sampel, detektor dan rekorder. Sumber radiasi untuk pengukuran di daerah ultraviolet adalah lampu deuterium. Monokromotor 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. 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 berikat 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 $650-4000\text{ cm}^{-1}$ ($15,4-2,5\ \mu\text{ m}$). Bila sinar inframerah dilewatkan melalui senyawa organik, maka sejumlah frekuensi diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan (Hardjono, 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 (Hardjono, 1991).

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. 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 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, 1997).

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

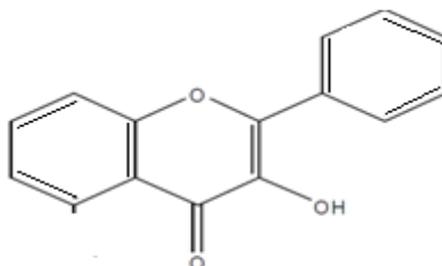
Sumber: Sastrohamidjojo, 1999.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil isolasi diperoleh flavonoid berbentuk serbuk putih kecoklatan sebanyak 10,4 gram.
2. Dari pemeriksaan reaksi warna, data KKt-2A, spektrum IR dan UV-Vis maka flavonoid hasil isolasi termasuk golongan flavon yang memiliki gugus -OH pada C-3.



3-hidroksiflavin

B. Saran

Disarankan melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan struktur lengkap senyawa flavonoid dari daun kapuk (*Ceiba pentandra* L.) ini dengan spektrum ^1H -RMI, spektrum ^{13}C -RMI. Serta melakukan penelitian mengekstrak flavonoid dengan menggunakan fraksi air dengan menggunakan pelarut yang cocok.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A.1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka: Jakarta
- Bakhtiar, A. (1992). *Diktat Kuliah Flavonoid*. UniversitasAndalas: 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.1982. *Kimia organik*. Edisi Ketiga jilid I. Terjemahan Aloysius Hadyana Padjaatmaka. Erlangga: Jakarta
- 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. ITB: Bandung
- Kusuma, T.S.1988. *Kimia dan Lingkungan*. Pusat Penelitian Universitas andalas: Padang
- Lanting, JR and Palaypayon, M.2002. *Forest Tree Species with Medianal uses. Dendr Recommend. Vol.11.* ((Online) <http://edrb.dendr.90v.ph/publications/dendr/dendr-v11.pdt>). Akses 03 Januari 2013. Pukul 10.30 WIB.
- 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.
- Sastrohadmijojo, H.1991. *Spektroskopi*. Liberty: Yogyakarta.
- Setiadi.1983. *Bertanam Kapuk Randu*. Penebar Swadaya: Anggota IKAPI