

**Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Tanaman  
Seledri (*Apium graveolens* L.)**

**SKRIPSI**

*Diajukan Kepada Tim Penguji Skripsi Jurusan Kimia Sebagai Salah Satu  
Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains*



**Oleh :**

**RAHMI RAMADHANI**

**2009-12862**

**JURUSAN KIMIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS NEGERI PADANG**

**2014**

## PERSETUJUAN SKRIPSI

### Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.)

Nama : Rahmi Ramadhani  
NIM/BP : 12862/2009  
Program Studi : Kimia  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 20 Januari 2014

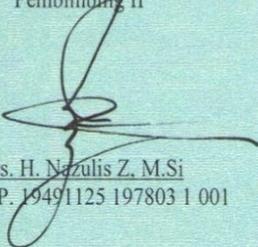
Disetujui Oleh

Pembimbing I

Dra.Hj. Erda Sofjeni, M.Si  
NIP. 19490816 197803 2 001

Pembimbing II

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



**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 Tanaman  
Seledri (*Apium graveolens* L.)**

Nama : Rahmi Ramadhani

Nim/BP : 12862/2009

Jurusan : Kimia

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 20 Januari 2014

**Tim Penguji**

	Nama	TandaTangan
1. Ketua	: Dra. Hj. Erda Sofjeni, M.Si	1. ....
2. Sekretaris	: Drs. H. Nazulis Z, M.Si	2. ....
3. Anggota	: Dra. Hj. Yustini Ma'aruf, M.Si	3. ....
4. Anggota	: Dra. Sri benti Etika, M.Si	4. ....
5. Anggota	: Fitri Amelia, M.Si	5. ....

## **SURAT PERNYATAAN**

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

**Padang, 20 Januari 2014**

**Yang menyatakan**

**Rahmi Ramadhani**

## ABSTRAK

**Rahmi Ramadhani, 2014: Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Tanaman**

**Seledri (*Apium graveolens L.*)**

Telah dilakukan isolasi flavonoid dari daun tanaman seledri (*Apium graveolens L.*) 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 tanaman seledri (*Apium graveolens L.*). Metode isolasi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut MeOH, fraksinasi dengan n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Pemisahan fraksi butanol sebanyak 7,8 g 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 kuning kecoklatan dengan range titik leleh 177,3–178,7°C. Hasil uji dengan pereaksi warna NaOH 10%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, dan Mg-HCl menunjukkan adanya senyawa flavon. Hasil uji Kkt-2A memperlihatkan noda berada pada daerah aglikon: isoflavon. Dari hasil analisa data spektra IR menunjukkan adanya gugus -OH, C-O-C eter, C=C aromatis dan C=C alkena. Sedangkan dari spektra UV-Vis menunjukkan adanya -OH pada cincin A dan adanya gugus yang peka terhadap basa. Dari data di atas diduga flavonoid hasil isolasi adalah suatu isoflavon.

**Kata Kunci: Flavonoid, Tanaman Seledri, UV-Vis, dan IR**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagaimana mestinya. Skripsi ini berjudul “**Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.)**”.

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

1. Ibu Dra. Hj. Erda Sofjeni, M.Si sebagai dosen pembimbing I sekaligus penasehat akademik.
2. Bapak Drs.H. Nazulis.Z, M.Si sebagai dosen pembimbing II.
3. Ibu Dra. Hj. Yustini Ma'aruf, M.Si, Ibu Dra. Sri Benti Etika, M.Si, Ibu Fitri Amelia, M.Si sebagai pembahas skripsi ini.
4. Ibu Dra. Andromeda, M.Si selaku ketua Jurusan Kimia Universitas Negeri Padang.
5. Bapak Budhi Oktavia, M.Si, Ph.D selaku ketua Program Studi Kimia Universitas Negeri Padang.
6. Bapak dan Ibu Staf Pengajar jurusan Kimia FMIPA UNP.
7. Bapak/Ibu Staf Laboratorium jurusan Kimia FMIPA UNP.
8. Mahasiswa Jurusan Kimia angkatan 2009 Universitas Negeri Padang.

9. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan informasi baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penulisan skripsi ini.

Skripsi ini telah sesuai dengan aturan buku panduan penulisan skripsi Universitas Negeri Padang. Untuk menyempurnakan skripsi ini, saran serta kritiknya yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca pada umumnya.

Padang, 20 Januari 2014

Rahmi Ramadhani  
12862

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar belakang .....	1
B. Perumusan masalah .....	3
C. Pembatasan masalah .....	3
D. Tujuan penelitian .....	3
E. Manfaat penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Tinjauan botani .....	5
1. Klasifikasi tanaman seledri .....	5
2. Morfologi tanaman seledri.....	5
3. Kandungan dan khasiat tanaman seledri.....	6
B. Flavonoid .....	7
1. Tinjauan umum flavonoid .....	7
2. Klasifikasi flavonoid .....	8
3. Kegunaan flavonoid .....	9
4. Sifat-sifat flavonoid .....	10
5. Identifikasi flavonoid .....	10
C. Metode Ekstraksi .....	11
1. Maserasi .....	11
2. Perkolasi .....	12
3. Sokletasi .....	12
D. Pemisahan Komponen Kimia .....	13
1. Kromatografi lapis tipis .....	13

2. Kromatografi kolom .....	14
3. Rekristalisasi .....	15
E. Uji Kemurnian .....	16
1. Kromatografi lapis tipis .....	16
2. Penentuan titik leleh .....	16
F. Karakterisasi .....	16
1. Reaksi warna .....	16
2. Kromatografi kertas dua arah .....	17
3. Spektrofotometri ultraviolet .....	19
4. Spektrofotometri inframerah .....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
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 .....	33
6. Karakterisasi senyawa hasil isolasi .....	34
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>38</b>
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>48</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Warna Flavonoid dengan Beberapa Pereaksi.....	17
2. Rentangan Serapan Spektrum UV-Vis Flavonoid .....	22
3. Daftar Frekuensi Serapan Inframerah Beberapa Gugus Fungsi..	25
4. Hasil Uji Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Seledri.....	38
5. Nilai $R_f$ Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid dengan Beberapa Eluen.....	39

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tiga Jenis Flavonoid Berdasarkan Susunan Kerangka Dasar Atom Karbon.....	8
2. Jenis Utama dan Struktur Dasar Flavonoid Alam.....	9
3. Petunjuk Penyebaran Jenis Flavonoid Pada Kromatogram Yang Dikembangkan Dengan TBA/HOAc .....	19
4. Sistem Benzoil dan Sistem Sinamoil Dalam Cincin Flavonoid..	20
5. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser NaOH .....	40
6. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser AlCl <sub>3</sub> + HCl.....	41
7. Spektrum UV-Vis Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH dan Penambahan Pereaksi Geser NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	41
8. Spektroskopi Inframerah Flavonoid Hasil Isolasi .....	42
9. Dugaan Struktur Flavonoid 6,7-dihidroksiisoflavon atau 7,8-dihidroksiisoflavon .....	47

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Gambar Tanaman Seledri.....	51
2. Skema Kerja Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid .	52
3. Kromatografi Lapis tipis Flavonoid dengan Beberapa Komposisi Eluen .....	55
4. Kromatogram Kromatografi Kertas 2 Arah (Kkt-2a) Flavonoid Hasil Isolasi.....	56

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia mengenal dan memakai tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan. Penggunaan ini jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern menyentuh masyarakat. Pengetahuan tentang tanaman obat, merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman turun-temurun yang telah diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya (Wijayakusuma 1992).

Indonesia termasuk salah satu negara yang kaya akan flora dan fauna yang merupakan sumber daya alam hayati. Oleh karena setiap spesies tumbuhan, hewan dan mikroorganisme yang terdapat di darat maupun di laut mempunyai nilai-nilai kimiawi dalam arti menghasilkan bahan-bahan kimia yang banyak jumlahnya, maka keanekaragaman hayati yang tersedia di Indonesia dapat diartikan sebagai sumber bagi beraneka ragam bahan kimia (Blunden and Griffin 1981).

Senyawa kimia dalam tumbuhan merupakan hasil metabolisme dari tumbuhan itu sendiri yang diantaranya berperan dalam mempertahankan eksistensi tumbuhan itu terhadap pengaruh lingkungan. Senyawa kimia dari beberapa jenis tumbuhan telah banyak diteliti dan seringkali memberikan efek fisiologi dan farmakologi, sehingga senyawa

ini dikenal dengan senyawa bioaktif, diantaranya yaitu alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid (Kusuma 1998).

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).

Tanaman seledri (*Apium graveolens* L.) termasuk salah satu jenis sayuran daerah subtropis yang beriklim dingin. Perkecambahan benih seledri menghendaki keadaan temperatur minimum 9<sup>0</sup>C dan maksimum 20<sup>0</sup> C. Sementara untuk pertumbuhan dan menghasilkan produksi yang tinggi menghendaki temperatur sekitar 15<sup>0</sup>-18<sup>0</sup> C serta maksimum 24<sup>0</sup>C. Tanaman ini cocok dikembangkan di daerah yang memiliki ketinggian tempat antara 1000-1200 m dpl, udara sejuk dengan kelembaban antara 80 %-90 % serta cukup mendapat sinar matahari. Seledri kurang tahan terhadap air hujan yang tinggi. Oleh karena itu, penanaman seledri sebaiknya pada akhir musim hujan atau periode bulan-bulan tertentu yang keadaan curah hujannya berkisar antara 60-100 mm per bulan. Sebelumnya telah dilakukan penelitian terhadap seledri oleh Genia Kemala (2006), dimana didapatkan senyawa triterpenoid yang diisolasi dari tanaman seledri.

Hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan terhadap kandungan kimia tanaman seledri menunjukkan bahwa positif mengandung flavonoid, terpenoid dan saponin.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana senyawa flavonoid hasil isolasi dari tanaman seledri (*Apium graveolens* L.)
2. Bagaimana karakterisasi dari senyawa flavonoid yang diisolasi dari tanaman seledri (*Apium graveolens* L.)

## **C. Pembatasan Masalah**

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

1. Sampel yang digunakan adalah tanaman seledri (*Apium graveolens* L.), yang diperoleh dari Nagari Ladang Laweh, kab. Agam.
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 tanaman seledri (*Apium graveolens* L.).

## **E. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberikan sumbangan informasi tentang tanaman yang mengandung senyawa flavonoid.
2. Memberikan informasi tentang karakteristik senyawa flavonoid yang terdapat dalam tanaman seledri (*Apium graveolens* L.).
3. Menambah wawasan penulis dalam melakukan penelitian serta terampil dalam menggunakan alat laboratorium.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Botani**

##### **1. Taksonomi Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.)**

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

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Umbelliferales
Famili	: Umbelliferae
Genus	: <i>Apium</i>
Spesies	: <i>Apium graveolens</i> L.

##### **2. Morfologi Tanaman Seledri**

Berasal dari daerah subtropik Eropa dan Asia. Menurut ahli sejarah botani, daun seledri telah dimanfaatkan sebagai sayuran sejak tahun 1640, dan diakui sebagai tumbuhan berkhasiat obat secara ilmiah pada tahun 1942. Tanaman ini berupa tanaman herba yang dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi. Seledri merupakan tanaman semak dengan tinggi sekitar 15 cm. Batangnya pendek tidak berkayu, bersegi, beralur, beruas, bercabang tegak dan berwarna hijau pucat.

Daunnya menjari tidak teratur serta berlekuk-lekuk dan majemuk menyirip ganjil dengan anak daun terdiri dari 3-7 helai serta mempunyai tangkai daun yang panjang. Pangkal dan ujung daun runcing, tepi daun beringgit dan panjang daun 2-7,5 cm dengan lebar 2-5 cm. Bunga berupa bunga majemuk berbentuk payung dan berwarna hijau. Panjang tangkainya sekitar 2 cm. Buahnya berbentuk kotak atau kerucut dengan warna hijau kekuningan. Akar seledri berupa akar tunggang dengan warna putih kotor (Smith 2002) .

### **3. Kandungan Kimia dan Khasiat Tanaman Seledri**

Kandungan herba seledri tiap 100 g berisi 93 ml air, 0.9 g protein, 0.1 g lemak, 4 g karbohidrat, 0.9 g serat, 1.7 g abu, 130 IU vitamin A, 0.08 mg vitamin B1, 0.12 mg vitamin B2, 0,6 mg niacin, 15 mg vitamin C, 50 mg Ca, 40 mg P, 1 mg Fe, 151 mg Na, 85 g Mg, dan 400 mg K. Nilai energinya adalah 113 kJ/100 g (Dalimartha 2000). Seledri juga mengandung glukosida apiin, flavonoid, saponin, tanin, apigenin, minyak atsiri, kolin, lipase, asparaginase, tirosin, glutamin, serta diosmin (Siesonsma 1994; Nurhidayah 2005).

Pada awalnya seledri dikenal sebagai sayuran untuk campuran salad, sup, dan penambah aroma pada masakan. Namun, berdasarkan hasil analisis secara farmakologis ditemukan bahwa hampir semua bagian dari tumbuhan tersebut memiliki khasiat sebagai obat. Akar seledri berkhasiat sebagai peluruh kencing (diuretik) dan memacu enzim pencernaan (stomakik). Biji dan buahnya berkhasiat sebagai

peredas kejang (antispasmodik), menurunkan kadar asam urat darah, antirematik, peluruh kencing (karminatif), perangsang (afrodisiak), dan penenang (sedatif). Sedangkan herba seledri yang memiliki rasa manis, berbau aromatik, sedikit pedas, dan sifatnya sejuk, berkhasiat sebagai tonik, stomakik, hipotensif, penghenti pendarahan (hemostatis), diuretik, peluruh haid, mengeluarkan asam urat darah yang tinggi, pembersih darah, memperbaiki fungsi hormon yang terganggu (Dalimartha 2000).

## **B. Flavonoid**

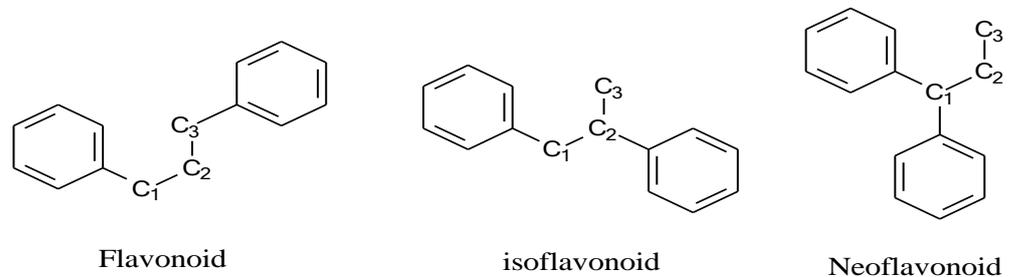
### **1. Tinjauan umum Flavonoid**

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam, kandungan khas tumbuhan hijau dengan pengecualian alga dan hornwort. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru. Dan sebagai zat warna kuning ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini ditemukan hampir pada semua bagian tumbuhan seperti daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar bunga, buah dan biji (Achmad 1986).

Pada tumbuhan flavonoid memberikan pigmen warna yang menarik dan ini sangat berguna dalam pewarnaan peralatan dari kulit, fermentasi teh, pembuatan coklat dan pemberi aroma pada industri makanan. 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

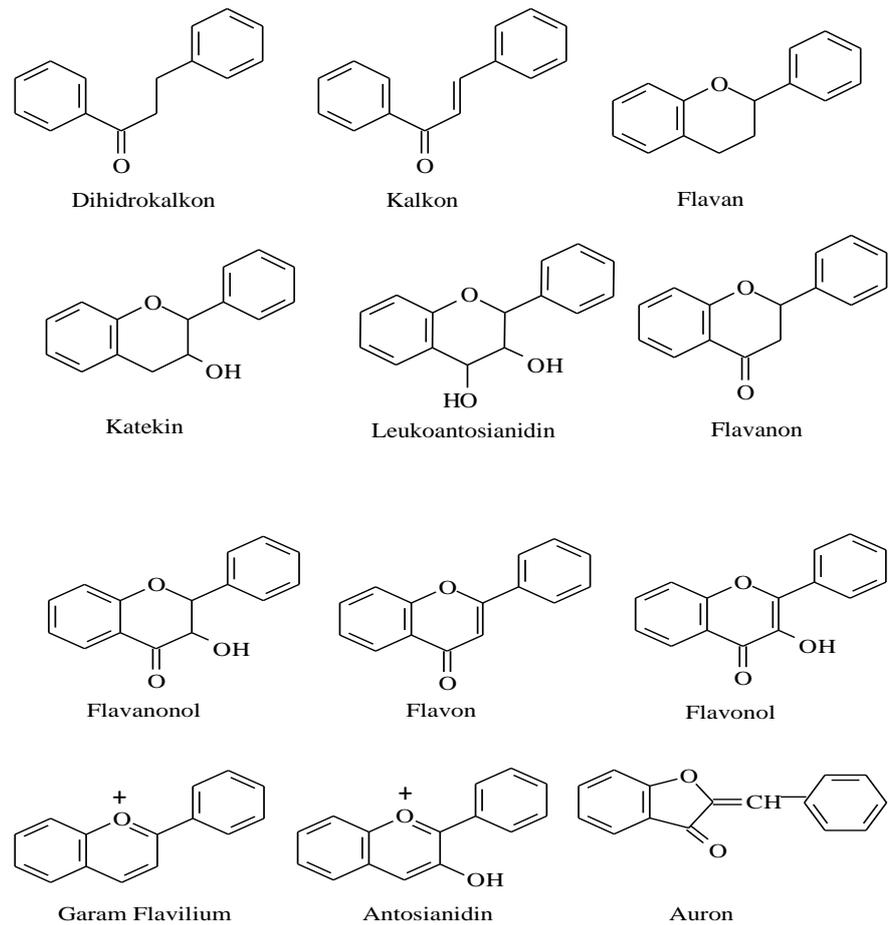
Dari kerangka dasar flavonoid dapat menghasilkan tiga jenis struktur yang dapat dilihat pada Gambar 1



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 hidrosilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi dari struktur tersebut (Achmad 1986).

Beberapa jenis flavonoid serta struktur dasar masing-masing jenis tercantum pada Gambar 2



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

### 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 isoflavan, 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, benzen, 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-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, 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 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 dengan 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 1995).

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 silica gel atau alumina. Silica 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. 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. 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 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  $2^{\circ}\text{C}$ , 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 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)

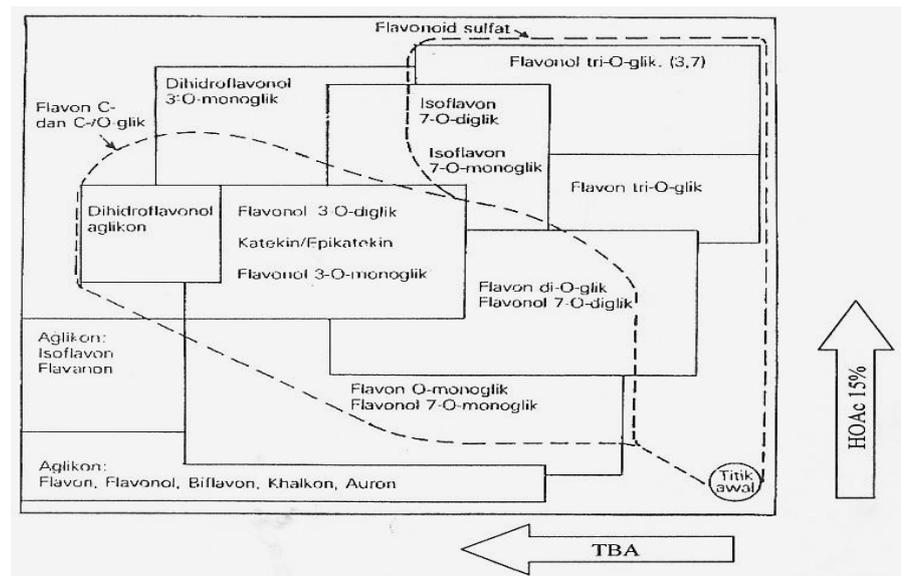
Cara yang paling umum digunakan untuk analisa flavonoid dalam jaringan tumbuhan adalah kromatografi kertas dua arah, dimana prinsipnya adalah mengelusi campuran komponen dengan dua macam pelarut yang kepolarannya berbeda. Pelarut pengelusi yang digunakan adalah BAA (n-BuOH:HOAc:H<sub>2</sub>O = 4:1:5) sebagai pengembang pertama dan asam asetat 15 % sebagai pengembang kedua. Kertas yang digunakan adalah kertas Whatman 3MM (20 x 20 cm). Ekstrak tumbuhan ditotolkan pada kertas disuatu titik kira-kira 2 cm dari tepi kertas dan 1,5 cm dari lipatan akhir. Kertas dicelupkan ke dalam

larutan pengembang pertama (BAA) dengan digantung tegak lurus di dalam bejana sehingga larutan pengembang bergerak ke atas.

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 356 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 356 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  $\text{NH}_3$ ) dan khalkon, auron dan 6-hidroksi flavonol (kuning). Karena alasan tersebut untuk mendeteksi bercak, kromatogram diperiksa dengan sinar UV (356 nm). Untuk meningkatkan kepekaan deteksi dan menghasilkan perubahan warna pada kertas kromatogram maka kertas kromatogram yang sudah kering diuapi dengan  $\text{NH}_3$  (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

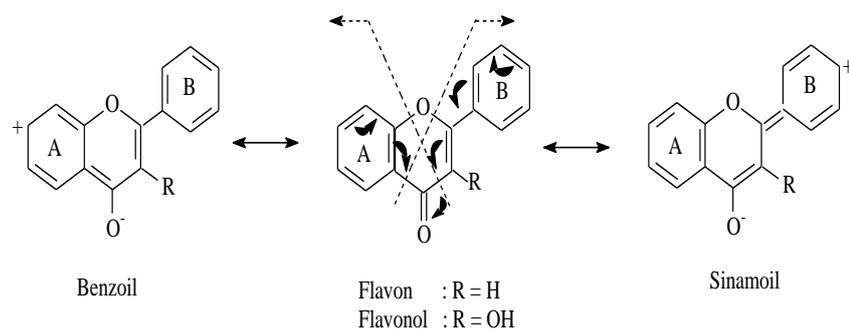
Spektroskopi ultraviolet merupakan salah satu metode untuk mengetahui adanya ikatan rangkap atau ikatan rangkap konjugasi yang terdapat dalam suatu senyawa. Absorpsi cahaya ultraviolet mengakibatkan transisi elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi tinggi. Dimana transisi ini memerlukan energi 40-300 kkal/mol. Disini molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi elektron akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek, sedangkan molekul yang memerlukan energi lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Daerah yang paling berguna dari spektrum ultraviolet adalah daerah dengan panjang gelombang 200-400 nm yaitu transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  untuk senyawa dengan

ikatan rangkap berkonjugasi serta beberapa transisi  $n \rightarrow \sigma^*$  dan  $n \rightarrow \pi^*$  (Fessenden 1986).

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).

Flavonoid mempunyai sistem karbonil yang berkonjugasi dengan cincin aromatik, sehingga senyawa-senyawa ini menyerap sinar dari panjang gelombang tertentu di daerah ultraviolet maupun inframerah.

Misalnya flavon dan flavonol, mempunyai serapan maksimum di daerah ultraviolet pada dua panjang gelombang, yakni sekitar 330-550 nm (Pita I) dan sekitar 240-285 nm (Pita II).



Gambar 4. Sistem Benzoil dan Sistem Sinamoil Dalam Cincin Flavonoid (Achmad 1986).

Kedua pita serapan ini, masing-masing berhubungan dengan resonansi gugus sinamoil yang melibatkan cincin B dan gugus benzoil yang melibatkan cincin A dari molekul flavonoid, seperti yang terlihat

pada Gambar 4 di halaman 20. Oleh karena itu, penambahan gugus fungsi yang dapat menyumbangkan elektron (donor elektron) seperti gugus hidroksil (O-H) atau gugus metoksil (-OCH<sub>3</sub>) pada cincin B akan meningkatkan peranan sinamoil terhadap resonansi molekul. Hal ini akan mengakibatkan perpindahan batokromik atas pita I. Di lain pihak, penambahan gugus hidroksil atau metoksil pada cincin A akan menaikkan panjang gelombang dari serapan maksimum serta intensitas dari serapan pita II (Achmad 1986).

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 Inframerah

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 .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 (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. 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 1986).

Yang harus diperhatikan dalam menginterpretasikan spektrum inframerah yaitu:

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

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

Tabel 3. Daftar Frekuensi Serapan Inframerah Beberapa Gugus Fungsi

Gugus fungsi	Frekuensi $\text{cm}^{-1}$
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. Hasil isolasi tanaman seledri (*Apium graveolens* L.) diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi butanol. Fraksi butanol yang membentuk kristal berupa serbuk kuning kecoklatan sebanyak 35,4 mg dengan range titik leleh 177,3°C-178,7°C.
2. Hasil karakterisasi dengan pereaksi warna, KKt-2A, spektrum IR dan UV-Vis flavonoid hasil isolasi diperkirakan adalah 6,7-dihidroksiisoflavon atau 7,8-dihidroksiisoflavon.

#### B. Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa flavonoid pada tanaman seledri (*Apium graveolens* L.) ini dengan spektrum <sup>1</sup>H-RMI, spektrum <sup>13</sup>C-RMI dan spektroskopi massa serta uji bioaktivitas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. (1986). *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta, Universitas Terbuka.
- Bakhtiar, A. (1992). *Diktat Kuliah Flavonoid*. Padang, Universitas Andalas.
- Blunden, G., Jaffer, J. A., Jewers, K., and W. J. Griffin (1981). "Steroidal sapogenins from leaves of *Cordyline* species, *J. Nat. Prod.*" 44 (4): 441-447.
- Dalimartha (2000). *Atlas Tumbuhan Obat Jilid Kedua*, . Dalam Bina Listyari Putri (2006) *Analisis Diosmin dan Protein Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.) dari Daerah Cipanas dan Ciwidey*. Jakarta, Trubus Agriwidya.
- Darwis, D. (2000). *Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Organik Bahan Alam, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam*. Padang, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas.
- Fessenden, R. J. J. S., Fessenden (1986). *Kimia Organik*. Jakarta, Erlangga.
- Finar, I. L. (1976). *Organic Chemistry Stereochemistry and Natural Product*. England, Longmon. **Volume two**.
- Gritter, R. J. (1991). *Pengantar Kromatografi*. Edisi II. Bandung, Institut Teknologi Bandung.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia*. Edisi Kedua. Jakarta, Pustaka Kartini.
- Kemala, Genia. (2006). *Isolasi Triterpenoid pada Fraksi Aktif Penarik Serangga dari Seledri*. Padang, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
- Kusuma, T. S. (1998). *Kimia dan Lingkungan*. Padang, Pusat Penelitian Universitas Andalas.