

**IDENTIFIKASI FLAVONOID DARI EKSTRAK METANOL
BIJI MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.)
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
gelar Sarjana Sains (S.Si.) Program Studi Ilmu Kimia
pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Jogjakarta



Diajukan oleh

NUR UTAMI

No Mhs : 99612046

**JURUSAN ILMU KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA**

2003

**IDENTIFIKASI FLAVONOID DARI EKSTRAK METANOL
BIJI MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa* (Shcheff.) Boerl.)
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis**

Oleh :

**NUR UTAMI
No Mhs : 99612046**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 30 Desember 2003

Dewan Penguji

Tanda Tangan

1. Rudy Syahputra, M.Si.

.....

2. Is Fatimah, M.Si.

.....

3. Dr. H. Chairil Anwar

.....

4. Tatang Shabur J, S.Si.

.....

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Jaka Nugraha, M.Si.

"Mulailah segala sesuatu dengan Bismillahirrahmanirrahim"

"Sesungguhnya manusia itu betul - betul berada dalam kerugian, kecuali orang - orang yang beriman, berbuat baik dan saling menasihati dengan kebenaran dan kesabaran"

(Qs. Al-Asr : 2-3)

"Sesungguhnya Allah beserta orang - orang yang sabar"

(Qs. Al-Baqarah : 53)

*Dari Abu Hurairah ra. Bahwasanya Rasulullah SAW bersabda :
"Barang siapa menempuh jalan untuk menuntut ilmu, maka Allah memudahkan bagi orang itu karena ilmu tersebut jalan menuju surga"*

(HR. Muslim)

"Telah kusadari bahwa seorang sahabat adalah karunia tersuci dari Tuhan karena kasih sayang adalah cinta tanpa pamrih"

(Khalil Gibran)

"Jika seorang ahli kimia dapat menyarikan dalam bagian-bagian hatinya rasa kasih, hormat, damba, sabar, sesal, kejut, maaf, dan menjadikannya satu kesatuan, maka dia telah menciptakan suatu atom yang disebut CINTA..."

(Khalil Gibran)

"Akhiri segala sesuatu dengan Alhamdulillah"

PERSEMBAHAN

Bakti bagi mabbli saya
yang telah membantukan saya mengenal
dan menapaki dunia ini
dengan segala nikmat dan karunia-Nya

Sebuah karya kecil
sebagai ungkapan cinta, hormat, dan baktiku
untuk orang-orang tercinta

Dengan segala kerendahan hati kupersembahkan

Kepada MAMA tersayang

Terima kasih atas segala doa, cinta, kasih sayang,
dukungan, dan semua pengorbanan

Kepada NYAIRANDA tercinta

Terima kasih atas segala bimbingan, petuah, dan
semua pengorbanan

Semoga tetesan keringat, tetesan air mata, curahan kasih sayang dan semua pengorbanan
kita berdua diridloi Allah SWT dan
semoga ananda dapat membalasnya AMIN...

Tuk my sister Mb TATIK dan Mb WAHYU

Terima kasih atas semua cinta, kasih sayang, dan dukungan
yang telah kau curahkan untukku

Tuk Mas HENRI dan Mas HENRI

Semoga tali persaudaraan kita diridloi Allah SWT

Tuk generasi penerus keluarga si BILIN dan si kecil SI KAKAK

Semoga kalian kelak bisa menjadi kebanggaan keluarga

Kepada Pa dan Ibu, Tante, Ona dan my big family

Terima kasih tuk semuanya

Tuk MAMU, SEPTI, U kelak

Semoga kita dipertemukan dalam cinta dan ridlo-Nya AMIN...

Tuk saudaraku "Mas KOKO" (Saeful Koko)

TengQ Mas Ko2 buat smuanya

Kita telah menjalin hubungan manis dalam persaudaraan,
smoga hubungan kita dapat terjaga slalu dan akan lebih baik lagi

Tetaplah menjadi masku yang baik

hadirmu memberi makna dalam hidupku

semoga kita berdua menjadi orang yang selalu "JUJUR dan NYIMO"

Jazakumullah Khairan Katsira

"Jazakumullah Khairan Karira. Uhh maafkan untuk saudara-saudariku,
atas semua doa, cinta kasih sayang, dorongan, semangat, maaf,
kehangatan keluarga dan segala yang diberikan
sehingga Uhh dapat menjadi seperti ini
kalian adalah orang-orang terindah"

Saudariku sepupunya yang telah mengenalkanku pada dunia baru
Yanto-Boim, Derry-Crud, Thorik, Harry-Lucang, Mas Jamal, Bang Yoss, Reno, Upu, Adoy,
Mas Widi, Hadi, Aldi

Saudariku sepupunya yang telah memberiku warna dan keceriaan
Pipit-charyank, Erika Maniez, Melati Inoet, Iteez, Mb Fat, Mb Yully, Rully-Nurul, Rem, Oni,
Rifa-Gulis, Rendi, Renni, Ety, Dyah, Pujia

Terima kasih atas doa, cinta kasih sayang, dorongan, semangat, maaf,
kehangatan keluarga dan segala yang telah tercurah untukku
kalian semua adalah saudara-saudara terbaik, anugerah terindah untukku
semoga tali persahabatan kita diridloi-Nya AMIN...

Saudara-saudara "SEMANGSA BLA 99"
Najah, Anah, Sinta, Alik, Rieren, Tisna,
Taufik, Roni, WaOne, Intan, Sembayun, Habib, Si Be, Sigit,
IMAS D Jaja...

Ahh... ahik... hehehe

Dik Nuning, Dik Ika-Civil, Dik Nona, Dik Irda, Dik Nanda, Dik Fika...

Mb Risa, Mas Nanang

Semoga kalian menjadi pasangan yang diridloi-Nya AMEN...

Temen-temen Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) periode 2007-2010
Temen-temen Lembaga Eksekutif Mahasiswa (LEM) periode 2007-2010
HMK Crew 99, Goobook Jp Big Family, Komunitas teater "KAWAN"
Cab2 Q-mia 99, Yasser W-99, keluarga besar Q-mia
Almanator dan segenap civitas akademika UIN
Ayo besar bersama kalian, Ayo bangga telah menjadi bagian dari kalian

Temen-temen "KEM 98" - 101 angkatan 26
Si Boss- Lemens, Mas Koko, Bung Jon, Nani, Dima, Dik Dima, Mas
Kalian semua kenangan maniez tak terlupakan

Mas Bayan '98 '98

Selama ini kita telah menjalin hubungan manis dalam persahabatan
semoga hubungan kita tetap terjaga abadi dan akan lebih baik lagi
Sorry Uhh dalam hal ini Mas... kapan menyusul nech ???

Mas Koko (Widiarmoko), Wahyu, Mas Yadie, Mas Ajun, Mas Koro, Mas Dony, Mas
Thanks tak lupa semua teman-teman kalian aku menjadi kuat
Kalian adalah bagian dari cerita hidupku

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Wa Syukurillah, segala puji dan keagungan hanya milik Allah, Rabb yang menguasai alam semesta. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan atas junjungan kita Nabi Muhammad SAW sebagai pimpinan umat terdahulu dan terakhir, juga kepada keluarga, para sahabat, tabi'im tabi'it yang senangtiasa berjuang dan bersatu meninggikan Islam. Atas berkat rahmat dan hidayah-Nya penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid biji mahkota dewa dapat dilaksanakan dan penyusunan skripsi dapat berjalan dengan lancar.

Skripsi dengan judul Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) Menggunakan Metode Spektrometer UV-Vis ini merupakan salah satu syarat yang harus ditempuh oleh mahasiswa untuk menyelesaikan pendidikan Sarjana Strata satu (S1) pada Jurusan Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

Dengan selesainya skripsi ini, penyusun ingin menghaturkan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

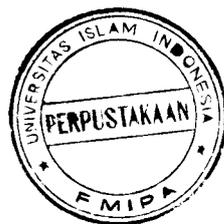
1. Bapak Jaka Nugraha, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak Riyanto, M.Si. selaku Ketua Jurusan Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

3. Bapak Dr. Chairil Anwar selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta dengan sabar membimbing dan memberikan dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Bapak Tatang Shabur Julianto, S.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta dengan sabar membimbing dan memberikan dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
5. Ibu Is Fatimah, M.Si. selaku Koordinator Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, beserta staf, Bapak Dwiarso Rubiyanto, S.Si, Pak Dwi, Pak Irmansyah yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian
6. Bapak Rudy Syahputra, M.Si., yang telah banyak memberi motivasi.
7. Rekan-rekan mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya jurusan Ilmu Kimia dan semua pihak yang telah memberi bantuan sampai skripsi ini selesai.

Akhir kata penyusun menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penyusun sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Harapan penyusun semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kehidupan umat. AMIN

Jogjakarta, Desember 2003

Penyusun



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATAPENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
BAB III DASAR TEORI.....	9
3.1 Morfologi Mahkota Dewa.....	9
3.2 Flavonoid.....	11

3.3 Ekstraksi.....	17
3.3.1 Pengertian ekstraksi.....	17
3.3.2 Ekstraksi sokhletasi.....	19
3.3.3 Ekstraksi flavonoid.....	20
3.4 Kromatografi.....	21
3.4.1 Kromatografi lapis tipis (KLT).....	22
3.5 Metode Identifikasi Senyawa Flavonoid.....	23
3.5.1 Identifikasi flavonoid dengan menggunakan kromatografi lapis tipis.....	23
3.5.2 Identifikasi flavonoid dengan menggunakan pereaksi semprot.....	25
3.6 Spektroskopi UV-Vis.....	27
3.6.1 Prinsip dasar spektrofotometri.....	27
3.6.2 Identifikasi flavonoid.....	28
3.7 Hipotesis.....	33
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....	34
4.1 Alat dan Bahan.....	34
4.1.1 Alat.....	34
4.1.2 Bahan.....	34
4.2 Sampel.....	35
4.3 Cara Kerja.....	35
4.3.1 Preparasi sampel.....	35

4.3.2	Ekstraksi sokhlet.....	36
4.3.3	Penentuan eluen melalui kromatografi lapis tipis.....	36
4.3.4	Pembuktian kemurnian isolat flavonoid.....	36
4.3.5	Pemisahan flavonoid dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatife.....	37
4.3.6	Identifikasi senyawa flavonoid dengan menggunakan spektrometer UV-Vis.....	37
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....		39
5.1	Preparasi biji mahkota dewa.....	39
5.2	Identifikasi flavonoid dengan metode sokhletasi.....	40
5.2.1	Ekstraksi sokhlet.....	40
5.2.2	Penentuan eluen menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).....	42
5.2.3	Pemeriksaan kemurnian flavonoid dari hasil isolasi.....	48
5.2.4	Pemisahan flavonoid dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif.....	48
5.2.5	Identifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV –Vis.....	49
5.3	Identifikasi flavovoid dengan metode maserasi.....	54
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		62
6.1	Kesimpulan.....	62

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

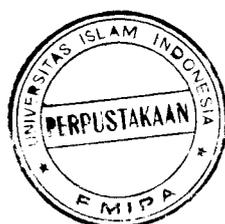


DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penyebaran flavonoid pada dunia tumbuhan.....	12
Tabel 2. Penafsiran warna bercak dengan UV 336 nm dan uap NH ₃	24
Tabel 3. Uji warna flavonoid dengan AlCl ₃	27
Tabel 4. Rentang serapan spektrum UV-Vis flavonoid.....	29
Tabel 5. Penafsiran spektrum natrium metoksida.....	30
Tabel 6. Penafsiran spektrum AlCl ₃ dan AlCl ₃ /HCl.....	31
Tabel 7. Penafsiran spektrum natrium asetat.....	32
Tabel 8. Penafsiran spektrum natrium asetat/asam borat.....	32
Tabel 9. Hasil pengembangan menggunakan berbagai eluen.....	46
Tabel 10. Hasil deteksi bercak hasil pengembangan dengan BAA (9:3:6 v/v).....	47
Tabel 11. Penafsiran spektrum.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur dasar flavonoid.....	14
Gambar 2. Struktur aglikon flavonoid.....	15
Gambar 3. Spektrum MeOH fraksi 1.....	50
Gambar 4. Spektrum MeOH fraksi 2.....	50
Gambar 5. Spektrum MeOH fraksi 3.....	51
Gambar 6. Spektrum MeOH fraksi 4.....	51
Gambar 7. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 1.....	52
Gambar 8. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 2.....	53
Gambar 9. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 3.....	53
Gambar 10. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 4.....	54
Gambar 11. Spektrum MeOH hasil metode maserasi.....	55
Gambar 12. Spektrum serapan UV-tampak jenis flavonoid.....	56
Gambar 13. Struktur dasar khalkon.....	57
Gambar 14. Spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOH.....	58
Gambar 15. Spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + AlCl ₃ dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + AlCl ₃ + HCl.....	59



Gambar 16. Spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOAc
dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOAc + HBO₃.....60

Gambar 17. Struktur 2, 4, 4' -trihidroksikhalkon.....61



**IDENTIFIKASI FLAVONOID DARI EKSTRAK METANOL
BIJI MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.)
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis**

**Oleh :
Nur Utami**

INTISARI

Tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) merupakan tanaman obat yang secara turun-temurun berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit. Di dalam mahkota dewa terkandung senyawa aktif dari golongan flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan polifenol, namun senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak methanol belum teridentifikasi.

Identifikasi flavonoid dari biji buah mahkota dewa telah dilakukan. Pengambilan dan pemisahan dilakukan dengan metode ekstraksi dan kromatografi lapis tipis. Identifikasi pendahuluan dilakukan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-heksana, etil asetat, metanol, n-butanol, asam asetat, dan air. Pembuktian kemurnian flavonoid dilakukan dengan kromatografi lapis tipis preparatif. Fraksi yang diperoleh dilarutkan dalam metanol dan diukur spektrumnya dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan pereaksi geser NaOH, AlCl₃, HCL, NaOAc, dan H₃BO₃.

Identifikasi pendahuluan menggunakan kromatografi lapis tipis dapat ditunjukkan 4 fraksi dengan R_f = 93,75; 80,00 ; 60,00 ; dan 50,00. Eluen terbaik adalah n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan perbandingan 9:3:6 (v/v). Hasil penafsiran spektrumnya, senyawa flavonoid yang dapat diusulkan adalah khalkon dengan gugus -OH pada posisi 2,4 dan 4' (2,4,4' -trihidroksikhalkon).

kata kunci : *flavonoid, mahkota dewa, spektrofotometer UV-Vis*

**IDENTIFICATION OF FLAVONOIDS FROM METHANOL EXTRACT OF
MAHKOTA DEWA SEED
(*Phaleria macrocarpa* (Scheff.)Boerl.)
USING UV-Vis SPECTROFOTOMETRY METHOD**

**By :
Nur Utami**

ABSTRACT

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.)Boerl.) is one of the plants of drug which has been found special quality to treats various diseases. Mahkota dewa contains active compounds from flavonoids, terpenoids, alkaloids, and polyphenols groups, however the structure of active compounds in methanol extract have not identified yet.

Identification of flavonoids from the flesh of mahkota dewa has been conducted. Isolation and separation has been done by extraction method and thin layer chromatography. Preface identification has been made by thin layer chromatography using eluen of n-hexane, ethyl acetate, methanol, n-buthanol, acetic acid, and water. Authentication purity of flavonoids is made by two dimensional thin layer chromatography. Separation of flavonoids using preparative thin layer chromatography. Fraction has been obtained were dissolved in methanol and were measured its spectrum at wave-length 200-400nm by UV-Vis spectrophotometer using shift reagents, NaOH, AlCl₃, HCL, NaOAc, and H₃BO₃.

Preface identification using thin layer chromatography be able to showed 4 fraction with Rf = 93,75; 80,00; 60,00; and 50,00. The best eluen in development using thin layer chromatography is n-butanol : acetic acid : water, 9:3:6 (v/v). The result of its spectrum interpretation, Flavonoids which be able to suggested is Khalkon with 2,4, and 4' -OH groups (2,4,4' trihydroxy khalkon).

key word: *flavonoids, mahkota dewa, UV-Vis spectrophotometer*

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia adalah negara yang subur dan merupakan negara tropis yang kaya akan keaneragaman tumbuh-tumbuhan. Berbagai macam jenis tumbuhan baik tingkat tinggi maupun tingkat rendah dapat hidup di Indonesia, termasuk tumbuhan obat. Tumbuhan merupakan gudang senyawa kimia yang sangat penting untuk menunjang kesejahteraan manusia. Senyawa aktif yang terkandung dalam bagian-bagian tumbuhan merupakan senyawa yang berperan penting dalam menyembuhkan suatu penyakit sehingga digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat.

Saat ini banyak masyarakat yang beralih pada pengobatan alternatif dengan memanfaatkan produk alam. Oleh karena itu pengadaan tanaman obat keluarga (TOGA) menjadi salah satu alternatif upaya perlindungan dan peningkatan kesehatan masyarakat. Salah satu jenis tanaman yang mempunyai khasiat menyembuhkan berbagai penyakit adalah tanaman mahkota dewa.

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) merupakan tanaman obat yang belum lama dikenal. Tanaman ini berasal dari Papua, merupakan famili *Thymelaeaceae*. Pada mulanya tanaman ini ditanam sebagai tanaman peneduh atau tanaman hias. Sebagian orang mengidentikkan sebagai daun dewa, sambung

nyawa dan dapat mengeluarkan aura untuk meningkatkan derajat bagi yang menanam di halaman rumahnya. Menurut beberapa literatur, tanaman ini sudah sejak dahulu menjadi tanaman obat di Keraton Mangkunegaran Solo dan Keraton Jogjakarta. Tanaman mahkota dewa mempunyai manfaat yang banyak karena hampir semua bagian tumbuhan ini dapat digunakan sebagai obat. Secara turun temurun, khasiatnya dikenal untuk mengobati luka, diabetes, lever, dan flu. Berdasarkan beberapa penelitian ilmiah menyatakan bahwa tanaman ini sangat berkhasiat untuk mengatasi bermacam-macam penyakit. Menurut Harmanto (2001), mahkota dewa berkhasiat untuk mengatasi alergi, sesak nafas, desentri, penyakit kulit, diabetes, jantung, dan asam urat.

Daging buah mahkota dewa juga mempunyai efek hipoglikemik (dapat menurunkan kadar gula dalam darah). Berdasarkan hasil penelitian dapat ditunjukkan bahwa daging buah mahkota dewa menghasilkan efek antihipoglikemik pada tikus putih jantan. Dosis terbaik yang digunakan untuk menghasilkan efek tersebut adalah 241,35 mg/kg berat badan (Primsa, 2002).

Hasil uji toksisitas terhadap hasil fraksinasi ekstrak kloroform biji mahkota dewa pada *Artemia salina* Leach dapat ditunjukkan bahwa senyawa antikanker yang ditemukan adalah senyawa alkaloid dan terpenoid (Mursiti, 2002). Sedangkan hasil uji toksisitas terhadap daun mahkota dewa pada ekstrak kloroform, metanol, dan air dapat ditunjukkan bahwa semua ekstrak mengandung senyawa aktif. Uji senyawa aktif yang dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dapat diketahui senyawa paling toksik terdapat dalam ekstrak kloroform. Hasil

penelitian menunjukkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa terpenoid (Pratiwi, 2002).

Oleh karena itu penelitian mengenai identifikasi senyawa flavonoid dalam biji buah mahkota dewa yang telah diketahui khasiat obatnya sangat penting. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan obat. Selain itu, pengetahuan mengenai potensi tumbuhan Indonesia sangat penting karena kita dapat menjadikannya sebagai produk ekspor. Dengan demikian nantinya tumbuhan obat Indonesia tidak hanya bermanfaat dalam meningkatkan kesehatan masyarakat, tetapi juga dapat meningkatkan perekonomian masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan permasalahan yaitu senyawa Flavonoid apakah yang terkandung dalam ekstrak metanol biji buah mahkota dewa melalui identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol biji buah mahkota dewa menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Memberikan informasi tentang senyawa flavonoid yang terdapat dalam mahkota dewa untuk dimanfaatkan sebagai senyawa aktif (senyawa aktif).
- 2) Memberikan informasi tentang potensi mahkota dewa sebagai bahan baku pembuatan obat.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) merupakan salah satu tanaman tingkat tinggi (*Angiospermae*) termasuk famili *Thymelaeceae*. Secara turun-temurun tanaman berkhasiat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Berdasarkan bukti-bukti empiris mahkota dewa dapat menyembuhkan penyakit berat seperti liver, kanker payudara, kanker rahim, penyakit jantung, kencing manis, asam urat, reumatik, ginjal, tekanan darah tinggi, dan ketagihan narkoba. Penyakit ringan seperti enzim, jerawat, dan luka gigitan serangga juga dapat disembuhkan dengan ramuan mahkota dewa (Siswono, 2001). Daun mahkota dewa dapat menyembuhkan penyakit disentri, alergi, dan tumor. Selain itu menurut Ning Harmanto yang menekuni pengobatan dengan mahkota dewa menyatakan bahwa 26 orang berhasil sembuh dari penyakitnya berkat mahkota dewa (Yudana, 2002).

Menurut Sudiby, daun dan kulit buah mahkota dewa mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Sumastuti berhasil membuktikan bahwa khasiat mahkota dewa tidak lepas dari kandungan senyawa kimia, antara lain saponin, flavonoid, dan senyawa lain yang mempunyai efek antihistamin. Secara *invitro* dengan metode *magmus* dimodifikasi pada berbagai ekstrak daun dan buah dengan konsentrasi 6,25 %, 12,5 %, 25 %, 50 %, dan

100 % memberikan efek antihistamin (Siswono, 2001). Dengan demikian mahkota dewa dapat menyembuhkan penyakit alergi yang disebabkan histamin seperti biduran, gatal-gatal, salesma, dan sesak nafas. Penelitian Sumastuti juga membuktikan bahwa mahkota dewa mampu berperan seperti *oxytosin* atau *sintosinon* yang dapat memacu kerja otot rahim sehingga persalinan berjalan lebih lancar.

Penelitian Primsa (2002) membuktikan bahwa ekstrak air daging buah mahkota dewa menghasilkan efek hipoglikemik sehingga dapat digunakan untuk mengobati penyakit diabetes melitus. Sedangkan berdasarkan penelitian Mursiti (2002), ekstrak kloroform biji buah mahkota dewa mengandung alkaloid dan terpenoid. Selain itu penelitian ini membuktikan bahwa fraksinasi ekstrak kloroform biji buah mahkota dewa mempunyai aktifitas antikanker. Berdasarkan penelitian Pratiwi, ekstrak kloroform, metanol, dan air daun mahkota dewa juga mempunyai aktifitas antikanker dan ekstrak yang paling aktif adalah ekstrak kloroform. Identifikasi senyawa kimia dalam ekstrak kloroform ini menunjukkan hasil positif untuk terpenoid dan negatif untuk flavonoid dan alkaloid.

Menurut Wahyono, dalam buah mahkota dewa telah ditemukan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak metanol (Sant, 2002). Sehingga untuk mengidentifikasi senyawa aktif, khususnya senyawa flavonoid difokuskan pada ekstrak metanol. Menurut Markham (1988) untuk mendapatkan ekstrak flavonoid sebaiknya dilakukan ekstraksi sokhletasi menggunakan pelarut metanol. Ekstraksi



dilakukan dua tahap, tahap pertama menggunakan MeOH : air (9 : 1) dan tahap kedua menggunakan MeOH : air (1 : 1).

Identifikasi pendahuluan pada ekstrak bahan alam dapat dilakukan dengan kromatografi kertas atau kromatografi lapis tipis. Analisis flavonoid dapat dilakukan lebih cepat, kepekaan tinggi dan hanya memerlukan bahan yang sedikit dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis juga berguna untuk mencari pelarut yang sesuai untuk kromatografi kolom dan untuk menganalisis fraksi hasil isolasi dari kromatografi kolom (Markham, 1988). Kromatogram dapat berguna dalam mengenali senyawa flavonoid (Markham, 1988). Uji pendahuluan ekstrak metanol 80 % kulit buah manggis dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (Astuti, 2002). Eluen terbaik yang digunakan pada pengembangan senyawa flavonoid dalam ekstrak tersebut adalah kloroform : etil asetat (10:1 v/v). Identifikasi pendahuluan senyawa flavonoid dengan kromatografi lapis tipis juga dilakukan pada ekstrak kloroform biji pinang (Handayani,1998) dan tempe kedelai (Edfiyenti, 1996). Pengembangan ekstrak kloroform daun kecombrang dengan kromatografi lapis tipis diperoleh terbaik dilakukan dengan menggunakan eluen benzena : etil asetat (8:2 v/v) (Eni, 1998). Sedangkan pengujian kandungan flavonoid dari daun kacang panjang dilakukan dengan kromatografi kertas menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5 v/v) (Purwaningsih, 2001).

Identifikasi struktur flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode spektroskopi UV-Vis, IR, MS, dan NMR. Dengan menggunakan metode ini

dapat dilakukan analisis kualitatif maupun kuantitatif (Harborne, 1987). Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Harborne, 1987). Jumlah senyawa dalam bercak kromatogram atau eluat kolom cukup untuk pengukuran spektrum, bahkan dapat dilakukan tanpa mengelusi puncak (Robinson, 1995). Metode ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis flavonoid, menentukan pola oksigenasi, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dengan pereaksi geser, dan menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol (Markham, 1988).

Identifikasi juga dilakukan berdasarkan pergeseran spektrum menggunakan pereaksi geser. Penambahan basa, seperti natrium asetat atau natrium etilat menyebabkan pergeseran spektra yang khas pada kebanyakan flavonoid (Robinson, 1995). Pereaksi ini untuk menetapkan pola gugus hidroksil, terutama adanya gugus 7-hidroksil bebas atau yang setara (Markham, 1988). Flavonoid yang mengandung gugus hidroksil bebas pada posisi 3 dan 4' terurai oleh basa pereaksi tersebut (Robinson, 1995).

BAB III

DASAR TEORI

3.1 Morfologi Mahkota Dewa

Tanaman mahkota dewa banyak mempunyai nama sinonim. Sebagian ahli botani memberikan nama mahkota dewa berdasarkan asalnya, yaitu *Phaleria papuana* Warb. Var. *Wichannii* (Val.) Back. Ahli botani lainnya memberikan nama sesuai dengan ukuran buahnya yang besar (makro), *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Sebutan lain untuk mahkota dewa adalah pusaka dewa, derajat, mahkota ratu, mahkota raja, dan trimahkota. Di Jawa Tengah dikenal dengan nama *mahkuto dewo*, *mahkuto rojo*, atau *mahkuto ratu*. Sedangkan orang Cina menyebutnya *pau* yang berarti obat pusaka. Dan beberapa orang menjulukinya dengan nama *The Crown of God*.

Klasifikasi tanaman ini adalah sebagai berikut:

- Divisi : *Spermathophyta*
- Sub-divisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dicotylodoneae*
- Bangsa : *Thymelacales*
- Suku : *Thymelaeaceae*
- Marga : *Phaleria*
- Spesies : *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl

Tanaman mahkota dewa termasuk tanaman jenis perdu dengan tajuk yang bercabang banyak. Ketinggiannya sekitar 1500 cm - 2500cm, bahkan jika dibiarkan dapat mencapai 5000 cm. Mahkota dewa dapat hidup sampai puluhan tahun dengan tingkat produktifitas 10 – 20 tahun. Tanaman mahkota dewa terdiri dari akar, batang, daun, bunga, dan buah. Akarnya berupa akar tunggang dengan panjang mencapai 100 cm. Batangnya terdiri dari kulit yang berwarna coklat kehijauan dan kayunya berwarna putih. Batang tanaman berdiameter sekitar 15 cm, bercabang banyak, dan mengandung getah.

Daun mahkota dewa merupakan daun tunggal, berbentuk lonjong, langsing, memanjang, dan berujung lancip. Warna daun hijau dengan tekstur sangat liat dan pemukaannya licin serta tidak berbulu. Pertumbuhannya sangat lebat, Panjangnya sekitar 7 –10 cm, dan lebarnya 3 –5 cm.

Bunga mahkota dewa berupa bunga majemuk yang tersusun dalam kelompok 2 – 4 bunga. Pertumbuhannya menyebar pada batang dan ketiak daun. Berbentuk terompet dengan ukuran sebesar bunga cengkeh, berwarna putih, dan berbau harum. Tanaman dapat berbunga sepanjang musim, tetapi lebih banyak berbunga pada musim hujan.

Buah mahkota dewa berbentuk bulat, dengan ukuran bervariasi dan dapat berukuran sampai sebesar buah apel. Bagian buah terdiri dari kulit yang berwarna hijau dan jika telah masak akan berwarna merah mengkilap. Ketebalannya sekitar 0,5 – 1 mm. Daging, kulit, cangkang, dan bijinya berwarna putih. Cangkang

buah mempunyai ketebalan sekitar 2 mm. Biji mahkota dewa berbentuk bulat dengan diameter mencapai 2 cm.

Tanaman mahkota dewa dapat tumbuh pada berbagai kondisi, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi dengan ketinggian 10 – 1200 meter dari permukaan air laut. Namun pertumbuhan yang paling baik adalah di daerah dengan ketinggian 10 – 1000 meter dari permukaan air laut. Perkembangbiakannya dapat melalui cara vegetatif dengan mencangkok atau dengan cara generatif dengan memperbanyak melalui biji.

3.2 Flavonoid

Pada umumnya, flavonoid yang terdapat di dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk beberapa kombinasi glikosida. (Harbone, 1984). Semua flavonoid, menurut strukturnya, merupakan turunan senyawa induk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan *Primula*, dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama. Aglikon flavonoid yaitu flavonoid tanpa gula terikat dalam berbagai bentuk struktur. Aglikon flavonoid merupakan polifenol, karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid merupakan senyawa polar, karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil. Flavonoid dapat larut dalam senyawa polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, dimetil formamida air dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan

flavonoid lebih mudah larut dalam air. Aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon dan flavonol yang termetilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform.

Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonyugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Flavonoid mencakup banyak pigmen dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan dari fungus sampai angiospermae (Robinson, 1995). Penyebaran flavonoid pada dunia tumbuhan ditunjukkan pada tabel 1

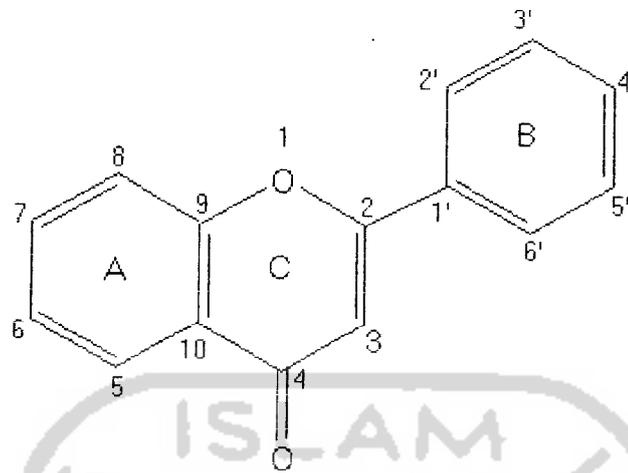
Tabel 1. Penyebaran Flavonoid pada dunia tumbuhan

Divisi	Nama Umum	Flavonoid yang ditemukan
Prokariotik		
Sizofita	Bakteri	Tidak ada
Sianofita	Alga hijau-biru	Tidak ada
Eukariotik		
Klorofita	Alga hijau Lumut batu(Charophyceae)	Tidak ada C-glikosida flavon (jarang, <i>Nitella</i>)
Feofita	Alga coklat	Tidak ada
Rodofita	Alga merah	Tidak ada
Fungus	Fungus	Dihidrikhalkon (jarang, <i>Phallus</i>); flavon tak lazim (jarang, <i>Aspergillus</i>)
Brifita	Lumut kerak Lumut hati	Tidak ada ^a C-dan O-glikosida flavon O-gliokosida flavonol (jarang) O-glikosida flavanon (jarang, <i>Riccia</i>) O-glikosida auron (jarang) C-glikosida dihidrokhalkon (jarang? <i>Hymenophyton</i>)
	Lumut	(O-glikosida flavonol?) Biflavin (jarang, <i>Dicranum</i>) Auron (jarang, <i>Funaria</i>) ^a C-dan O-glikosida flavon 3-deoksiantosianin
Trakeofita	Psilofita	^a Biflavin, O-glikosida Flavon, O-glikosida (sesepora) C-glikosida flavon (sesepora)
	Lycopodium	^a Flavon, O-glikosida Flavon, C-glikosida (Langka, <i>L. cernuum</i>) Biflavin (hanya <i>Selaginella</i>) ^a O-gliokosida flavonol

Angiospermae	Ekor kuda	<i>O</i> -gliokosida flavon Proantosianidin <i>C</i> -glikosida flavon (sesepora?) Flavanon, dihidroflavonol
	Paku	^a <i>O</i> -gliokosida flavonol <i>C</i> -dan <i>O</i> -glikosida flavon (langka) 3-deoksiantosianidin Flavanon Khalkon, dihidrokhalkon Biflavan (langka, hanya <i>Osmunda</i>) Proantosianidin, antosianidin
	Gimnospermae	Flavanon, Biflavanoid, Flavanon <i>C</i> -glikosida flavon Isoflavan (langka, mis. <i>Juniperus</i>) Proantosianidin, antosianin
	Angiospermae	Flavanon, dihidroflavonol ^a Flavan dan Flavanol, <i>C</i> -dan <i>O</i> -glikosida dan bisulfat Isoflavan, <i>C</i> -dan <i>O</i> -glikosida (<i>Leguminosae</i>) <i>C</i> -dan <i>O</i> -glikosida Khalkon, dihidrokhalkon Proantosianidin, antosianin Auron, <i>O</i> -glikosida Biflavan (langka) Dihidroflavonol, <i>O</i> -glikosida

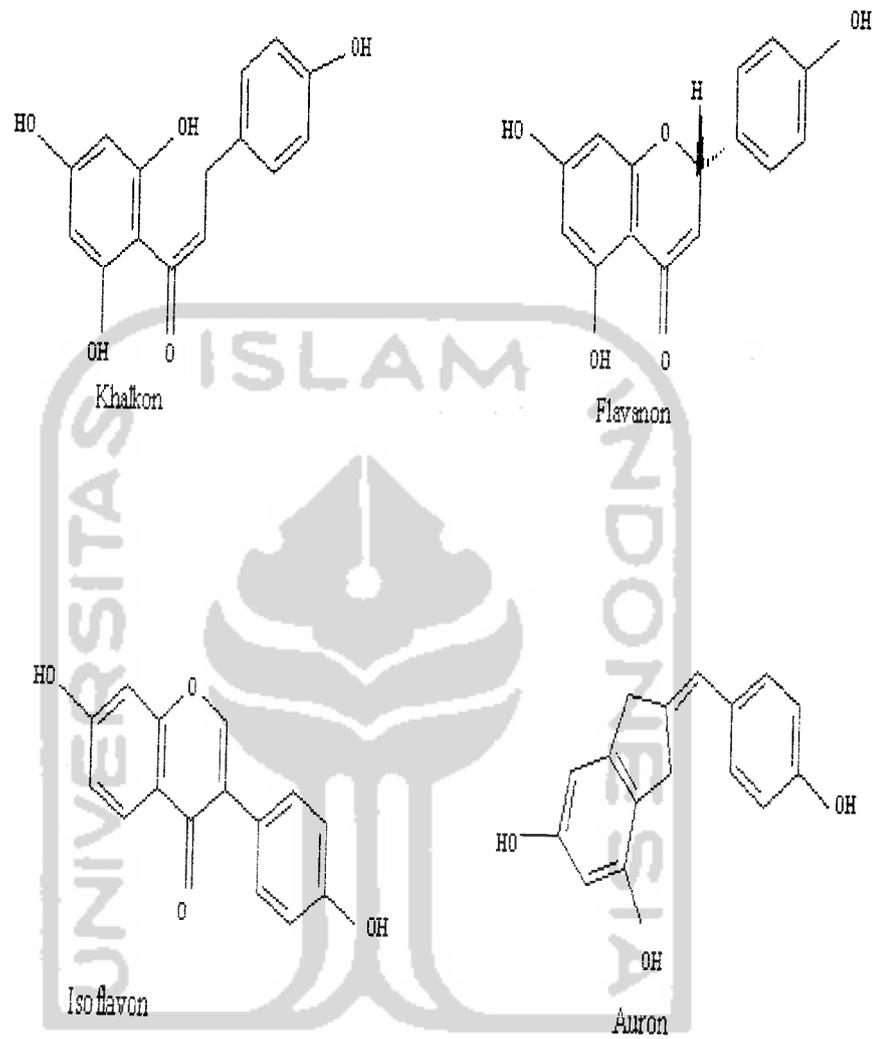
^a Yang lazim dijumpai
sumber : Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, 11-12, Penerbit ITB, Bandung

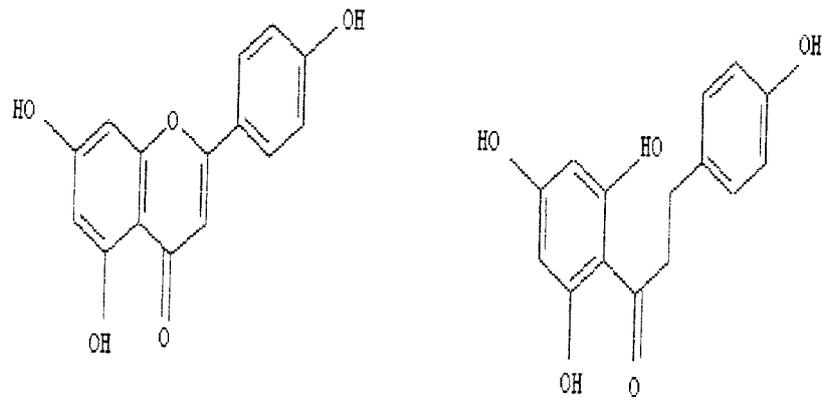
Flavonoid terdapat dalam berbagai bentuk struktur yang berbeda, tetapi inti dasarnya mengandung 15 atom C dengan susunan C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Struktur dasar dan sistem penomorannya ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur flavonoid

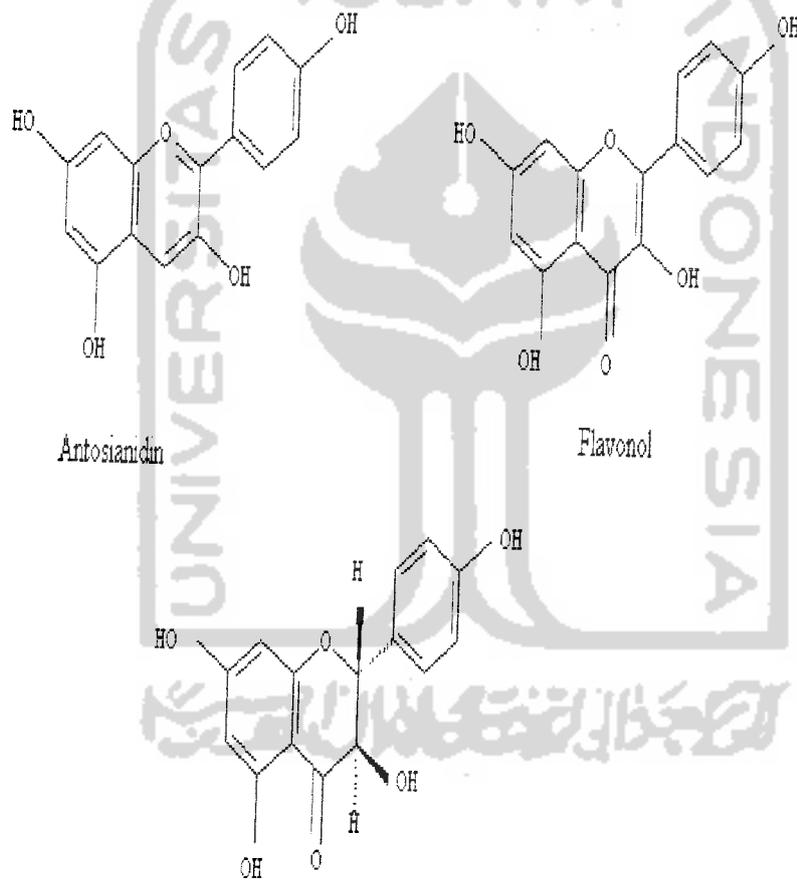
Penggolongan flavonoid dalam jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan pada sifat kelarutan dan reaksi warna, diikuti dengan pemeriksaan ekstrak tumbuhan sebelum dan sesudah dihidrolisis dengan kromatografi satu atau dua arah. Penggolongan flavonoid pada umumnya berdasarkan substituen cincin heterosiklik yang mengandung oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil. Selain itu, perbedaan oksigen di bagian C₃ akan menentukan sifat, khasiat, golongan atau tipe flavonoid (Robinson, 1995; Markham, 1998). Kelas-kelas flavonoid tersebut adalah flavon, flavonol, antosianin, isoflavon, dihidroflavonol, flavonon, khalkon, dan auron. Kelas-kelas flavonoid ditunjukkan pada gambar 2.





Flavan

Dihidrochalkon



Antosianidin

Flavonol

Dihidroflavonon

Gambar 2. Struktur agalikon flavonoid

Beberapa fungsi flavonoid untuk tumbuhan yang mengandungnya ialah pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan anti virus dan kerja terhadap serangga. Efek Flavonoid terhadap organisme sangat banyak dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavonoid mempunyai aktivitas kardiotonik, antiinflamatori, anti neoplastik, antimikrobia, dan antioksidan (Narayana, 2001). Aktivitas antioksidan flavonoid disebabkan karena flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik dan menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid dapat mengikat radikal bebas dan menghasilkan radikal fenoksil. Radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai penyakit. Flavonoid yang termasuk dalam kelas flavonol seperti kuersetin, kamferol, morin, mirisetin, dan rutin menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu antiinflamatori, antialergi, antivirus, antikanker. Senyawa-senyawa ini dapat melindungi tubuh dari penyakit liver, katarak dan penyakit kardiovaskuler (Narayana, 2001).

3.3 Ekstraksi

3.3.1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan yang populer karena pemisahan dapat dilakukan pada tingkat mikro maupun makro. Ekstraksi banyak digunakan dalam pemisahan suatu zat. Peristiwa pemisahan ini melibatkan perpindahan zat terlarut dari suatu pelarut ke pelarut yang lain. Apabila dua pelarut merupakan dua cairan yang tidak bercampur, maka dikenal dengan ekstraksi cair-cair. Secara



umum ekstraksi dibedakan menjadi dua, yaitu ekstraksi zat padat (*solid extraction*) dan ekstraksi zat cair (*liquid extraction*). Ekstraksi zat padat merupakan metode pemisahan zat padat atau zat cair dari suatu zat padat. Metode ini sering dikenal dengan metode pengurasan (*leaching*). Sedangkan pemisahan zat padat atau zat cair dari suatu zat cair disebut dengan ekstraksi cair atau lebih dikenal dengan ekstraksi pelarut (Meloan, 1999).

Pada ekstraksi, solut terdistribusi diantara dua cairan yang tidak saling bercampur. Dalam ekstraksi pelarut, berlaku hukum distribusi. Hukum ini menyatakan bahwa jika pada suatu sistem terdiri dari dua lapisan cairan yang tidak bercampur sesamanya, ditambahkan senyawa ketiga maka senyawa ketiga ini akan terdistribusi dalam dua lapisan cairan tersebut. Tetapan distribusi, K dirumuskan sebagai berikut :

$$K = \frac{C_A}{C_B}$$

C_A = konsentrasi zat terlarut dalam pelarut A

C_B = konsentrasi zat terlarut dalam pelarut B

Pada proses pelarutan suatu zat dalam suatu pelarut, prinsip *like dissolve like* mendasari pemilihan pelarut yang selektif. Artinya komponen yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar dan komponen yang bersifat non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar. Analisis terhadap zat yang terkandung dalam suatu bahan alam dapat dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut yang bervariasi polaritasnya. Ekstraksi dapat dimulai dengan menggunakan pelarut yang non polar kemudian dilanjutkan dengan yang lebih

polar dan terakhir yang paling polar. Dengan langkah ini, diharapkan semua senyawa penyusun dapat diisolasi.

3.3.2. Ekstraksi sokhletasi

Ekstraksi sokhlet merupakan ekstraksi yang berlangsung secara berulang-ulang dan teratur sehingga dapat diharapkan hasil yang maksimal. Alat yang digunakan berupa seperangkat sokhlet yang terdiri dari pemanas, labu alas bulat, sokhlet, dan pendingin bola (Meloan, 1999).

Cuplikan yang akan diekstrak biasanya berupa padatan yang sudah dihaluskan. Padatan ini kemudian dibungkus dengan kertas saring, lalu dimasukkan ke dalam alat sokhlet. Pada bagian atas alat ini dihubungkan dengan pendingin. Pelarut yang digunakan di labu alas bulat (bagian bawah dari alat ekstraksi sokhlet). Setelah dipanaskan, uapnya kemudian naik dan terkondensasi. Pelarut yang telah terkondensasi jatuh ke ruangan sokhlet sampai batas tertentu, maka secara otomatis senyawa yang membawa zat yang diekstrak jatuh ke labu pemanas. Proses ini berulang sampai diperoleh ekstrak yang sempurna. Pelarut-pelarut yang digunakan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

1. Pelarut harus mudah dipisahkan dari komponen yang dipisahkan.
2. Pelarut harus mempunyai titik didih yang relatif rendah, sehingga mudah dipisahkan.
3. Pelarut harus mampu melarutkan semua komponen yang dipisahkan dan tidak dapat melarutkan bahan yang diekstrak.

3.3.3 Ekstraksi Flavonoid

Ekstraksi flavonoid dari tumbuhan dapat dilakukan dengan menggunakan alat yang disebut sokhletasi. Pelarut yang dapat digunakan dalam ekstraksi flavonoid adalah pelarut polar, pelarut semi polar maupun non polar sesuai dengan kelarutan flavonoid yang diekstraksi. Pelarut yang kurang polar digunakan untuk glikosida flavonoid (antosianin), karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tersulih atau suatu gula.

Flavonoid merupakan senyawa polar maka umumnya flavonoid larut cukupan dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, dimetil formamid, air dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut diatas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sedangkan senyawa aglikon flavonoid bersifat kurang polar seperti isoflavin, flavon, dan flavonol yang termetoksilasi cenderung larut dalam pelarut eter dan kloroform (Markham, 1988).

Glikosida flavonoid dan aglikon seperti flavon terhidroksilasi, flavonol, auron dan khalkon biasanya diisolasi dengan aseton, alkohol, air atau kombinasi bahan-bahan tersebut. Ekstraksi yang paling baik dilakukan 2 tahap. Tahap pertama dilakukan dengan pelarut methanol : air (9:1) dan tahap kedua menggunakan pelarut metanol : air (1:1). Pelarut metanol merupakan pelarut yang umum digunakan.

3.4 Kromatografi

Kromatografi merupakan salah satu metode pemisahan dua komponen atau lebih dalam campuran berdasarkan distribusi komponen-komponen tersebut diantara dua fase yaitu fase tetap dan fase gerak. Transfer massa antara fase diam dan fase gerak terjadi bila molekul-molekul campuran terserap pada permukaan partikel atau di dalam pori-pori partikel atau terpartisi ke dalam sejumlah cairan yang terikat pada permukaan pori.

Di dalam kromatografi, gaya gerak diperoleh dari fase gerak yang berupa aliran cairan atau gas. Berdasarkan pada fase geraknya, kromatografi dibagi menjadi dua macam yaitu kromatografi cair (LC) dan kromatografi gas (GC).

Fasa diam dapat berupa cairan atau padatan. Berdasarkan pada fasa diamnya kromatografi dapat digolongkan menjadi dua macam yaitu kromatografi serapan dan kromatografi partisi jika fasa diam. Ada empat macam pembagian kromatografi yang didasarkan pada fasa diam dan fasa gerak, keempat macam kromatografi tersebut adalah (Hardjono, 1991):

1. Fasa gerak cair-fasa diam padat.

Contoh : - Kromatografi lapis tipis

- Kromatografi kolom

2. Fasa gerak gas-fasa diam padat.

Contoh : - Kromatografi gas-padat

3. Fasa gerak cair-fasa diam cair.

Contoh : - kromatografi kertas

4. Fasa gerak gas-fasa diam cair.

Contoh : -Kromatografi gas-cair

3.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu jenis kromatografi serapan (padat-cair), dimana fasa diamnya dilapiskan pada plat pendukung. Plat pendukung ini dapat berupa kaca, plastik, atau kertas aluminium. Sebagai pengikat pada plat pendukung biasanya digunakan kalsium sulfat atau senyawa polimer organik. Penyerap yang paling sering digunakan dalam KLT adalah silika gel, selulosa, aluminium oksida, dan magnesium silikat. Fase gerak yang digunakan dalam KLT harus mempunyai kemurnian yang tinggi.

Analisis hasil pemisahan komponen-komponen dalam campuran biasa menggunakan harga R_f , yang didefinisikan sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh zat pelarut (fasa gerak)}}$$

Kromatografi lapis tipis sering digunakan untuk identifikasi senyawa-senyawa organik juga untuk memonitor reaksi senyawa organik. Walaupun metode KLT tidak memberi informasi struktur untuk senyawa organik, tetapi harga R_f suatu senyawa dapat diketahui dengan membandingkannya terhadap harga R_f senyawa standar. Untuk membandingkan harga R_f suatu senyawa yang tidak diketahui dengan senyawa yang diketahui, dibuat noda untuk setiap senyawa pada plat KLT. Noda yang telah kering dikembangkan pada pelarut yang sesuai

untuk memisahkan komponen campuran. Identitas senyawa yang tidak diketahui dapat disimpulkan dengan melihat harga Rf.

KLT mempunyai beberapa keuntungan jika dibandingkan dengan metode kromatografi yang lain yaitu:

1. Pelarut yang digunakan hanya sedikit.
2. Polaritas pelarut dapat diubah dengan mudah.
3. Proses pemisahan hanya memerlukan waktu yang singkat.

3.5 Metode Identifikasi Senyawa Flavonoid

3.5.1 Identifikasi flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis

Identifikasi senyawa flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna melalui analisa KLT. Keuntungan dari pemakaian pereaksi warna adalah dapat meningkatkan kepekaan dalam mendeteksi flavonoid, terutama pada kromatogram yang ditotoli cuplikan dalam jumlah sedikit dan dapat juga untuk mendeteksi senyawa yang tidak berwarna (Markham, 1998).

Kebanyakan flavonoid tidak terlihat dengan mata biasa. Oleh karena itu untuk mendeteksi bercak, kromatogram diperiksa dengan menggunakan sinar UV 254nm atau 366nm. Bercak yang dihasilkan dilingkari dengan pensil. Selain diperoleh harga Rf, juga akan diperoleh warna bercak. Warna bercak yang dihasilkan dapat digunakan sebagai petunjuk penafsiran struktur flavonoid. Kepekaan deteksi dapat ditingkatkan dengan menguapi kromatogram yang sudah

benar-benar kering dengan uap NH_3 . Penafsiran warna bercak dengan sinar UV dan uap NH_3 ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Penafsiran warna bercak dengan UV 336 nm dan uap NH_3

Warna bercak dengan Sinar UV		Jenis flavonoid yang mungkin
Tanpa NH_3	Dengan NH_3	
Lembayung gelap	Kuning, hijau-kuning atau hijau	a. Biasanya 5-OH flavon atau flavonol (tersulih pada 3-O dan 4-OH) b. Kadang-kadang 5-OH flavonon dan 4-OH khalkon tanpa OH pada cincin B
	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan warna	a. Biasanya flavon atau flavonol tersulih pada 3-O mempunyai 5-OH tetapi tanpa 4-OH bebas b. Beberapa 6- atau 8-OH Flavon dan flavonol tersulih pada 3-O serta mengandung 5-OH c. Isoflavon, dihidroflavonol, biflavonil dan beberapa flavonon yang mengandung 5-OH d. Khalkon yang mengandung 2- atau 4-OH bebas
	Biru muda	Beberapa 5-OH flavonon
	Merah atau jingga	Khalkon yang mengandung 2- dan atau 4-OH bebas
Fluoresensi biru muda	Fluoresensi Hijau-kuning atau Hijau-biru	a. Flavon dan Flavonon yang tidak mengandung 5-OH, misalnya 5-OH-glikosida b. Flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersulih pada 3-OH
	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	Isoflavon yang tidak mengandung 5-OH bebas
	Fluoresensi biru muda	Isoflavon yang tidak mengandung 5-OH bebas
Tak tampak	Fluoresensi biru muda	Isoflavon tanpa 5-OH bebas
Kuning redup dan kuning atau fluoresensi jingga	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tidak mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang berasal dari hidroflavonol)
Fluoresensi kuning	Jingga atau merah	Auron yang mengandung 4-OH bebas dan beberapa 2-atau 4-OH khalkon
Hijau-kuning, Hijau-biru, atau Hijau	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	a. Auron yang mengandung 4-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas b. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan disertai atau tanpa 5-OH bebas
Merah jingga redup atau merah	Biru	Antosianidin 3-glikosida
Merah jambu atau fluoresensi kuning	Biru	Sebagian besar antosianidin 3,5-diglikosida

(Sumber : Markham, 1988)

3.5.2 Identifikasi flavonoid dengan menggunakan pereaksi semprot

Selain dengan sinar UV, bercak dapat dideteksi dengan menyemprot kromatogram dengan pereaksi yang dapat menimbulkan warna. Penggunaan pereaksi semprot dapat meningkatkan kepekaan deteksi bercak flavonoid terutama untuk sampel yang jumlahnya sedikit. Uji yang dilakukan menggunakan pereaksi semprot, menurut Markham (1998), ada 4 macam penyemprot yang dapat digunakan dalam mendeteksi Flavonoid, yaitu larutan AlCl_3 5% ; larutan vanili-HCL ; asam sulfanilat yang berdiazotasi; dan kompleks difenil-asam borat-etanolamin

1. AlCl_3

Pereaksi ini dapat menunjukkan 5-hidroksi flavonoid sebagai bercak berfluoresensi kuning bila di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm. Selain itu bercak mula-mula tidak tampak akan terlihat jelas. Penafsiran warna bercak dengan pereaksi warna AlCl_3 dapat dilihat pada tabel 3.

2. Kompleks difenil-asam-borat-etanolamin (*Naturstoffeagenz A*)

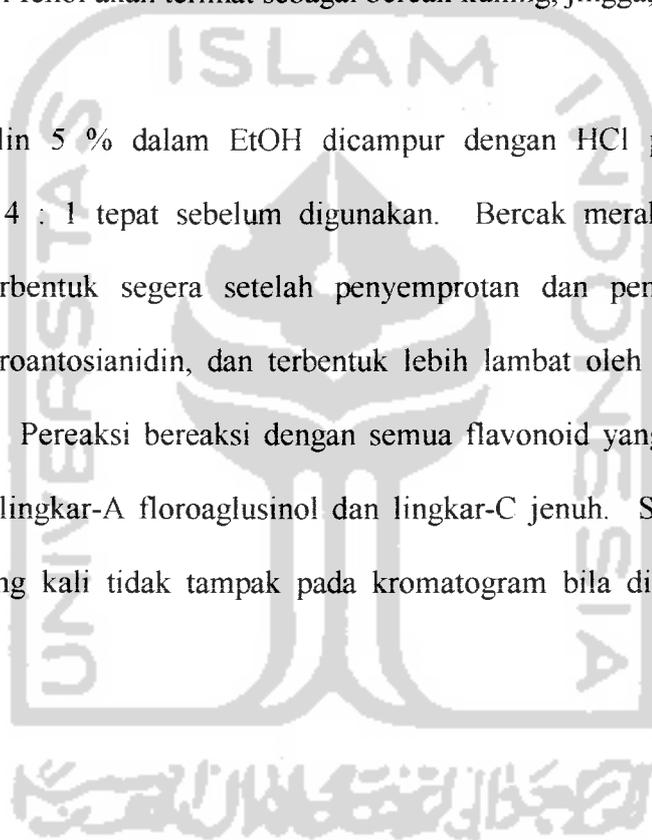
Pemakaian 1 % dalam methanol pada kromatografi lapis tipis menunjukkan semua 3, 4 - hidroksi flavon dan 3, 4 - hidroksi flavonol sebagai bercak jingga (menggunakan sinar UV atau tampak). Bercak hijau kuning menunjukkan 4 - hidroksi flavon dan 4 - hidroksi flavonol.

3. Asam sulfanilat yang terdiazotasi

Pereaksi ini dibuat dari larutan asam sulfanilat 0,3 % dalam HCl 8 % (25 mL) dicampur dengan larutan natrium nitrit 5 % (1,5 mL) tepat sebelum digunakan. Plat disemprot dengan pereaksi ini kemudian disemprot dengan larutan natrium 20 % sebelum dikeringkan. Kebanyakan senyawa yang mempunyai gugus hidroksil fenol akan terlihat sebagai bercak kuning, jingga, atau merah.

4. Vanilin-HCL

Larutan vanillin 5 % dalam EtOH dicampur dengan HCl pekat dengan perbandingan 4 : 1 tepat sebelum digunakan. Bercak merah atau merah lembayung terbentuk segera setelah penyemprotan dan pemanasan oleh katekin dan proantosianidin, dan terbentuk lebih lambat oleh flavonon dan hidroflavonol. Pereaksi bereaksi dengan semua flavonoid yang mempunyai pola oksidasi lingkaran-A floroglusinol dan lingkaran-C jenuh. Senyawa yang demikian sering kali tidak tampak pada kromatogram bila disinari dengan sinar UV.



Tabel 3. Uji warna flavonoid dengan AlCl_3

Golongan	Warna dengan UV	Warna dengan AlCl_3 (tampak)	Warna dengan AlCl_3 (UV)
Flavon	Coklat muda, Merah-coklat, Kuning-coklat	Kuning pucat	Hijau fluorosen, kuning pucat
Flavonol	Kuning terang, hijau Kuning, coklat	Kuning	Hijau, kuning Fluorosen
Isoflavin	Ungu redup, kuning Pucat		Kuning fluorosen
Katekin			Biru pucat, kuning-putih, hijau-kuning, biru-putih
Antosianin- Din	Merah redup, ungu, merah jambu, coklat		
Auron	Kuning terang, Hijau-kuning	Kuning pucat, Oranye	Hijau fluoronsen, Hijau-kuning
Khalkon	Coklat, hitam, kuning-coklat	Kuning, oranye	coklat pucat, oranye fluorosen, coklat, merah jambu

sumber : Geissman, T.A., 1962, The Chemistry of Flavonoid Compounds, The Mac Millan Company, New York

3.6 Spektroskopi UV-Vis

3.6.1 Prinsip dasar spektrofotometri

Spektroskopi adalah suatu metode analisis berdasarkan interaksi antara radiasi gelombang elektromagnetik dikelompokkan berdasarkan pada sifat dan panjang gelombangnya. Serapan senyawa pada daerah spektrum ultraviolet-tampak tergantung dari struktur elektronik molekul. Spektra dari senyawa-senyawa organik berkaitan dengan transisi di antara tingkatan-tingkatan tenaga

elektronik. Transisi ini terjadi antara orbital ikatan (orbital pasangan bebas) dan orbital anti ikatan (orbital non ikatan tak jenuh) (Hardjono, 1991).

Menurut Sastrohamidjojo (1985), istilah yang sering digunakan dalam spektrum elektronik adalah kromofor. Kromofor digunakan untuk menyatakan gugus jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-Vis. Beberapa istilah penting lainnya adalah:

1. Auksokrom adalah gugus jenuh yang jika terikat pada kromofor dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum. Auksokrom merupakan heteroatom yang langsung terikat pada kromofor, misalnya $-\text{OCH}_3$, $-\text{Cl}$, $-\text{OH}$, dan $-\text{NH}_2$.
2. Pergeseran batokromik adalah pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih panjang, disebabkan substitusi atau pengaruh pelarut. Pergeseran ini sering disebut pergeseran merah.
3. Pergeseran hipsokromik adalah pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih pendek, disebabkan oleh substitusi atau pengaruh pelarut. Pergeseran ini sering juga disebut pergeseran biru.
4. Efek hiperkromik adalah kenaikan dalam intensitas serapan.
5. Efek hipsokromik adalah penurunan dalam intensitas serapan.

3.6.2 Identifikasi flavonoid

Spektra serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi jenis flavonoid, menentukan pola

oksigenasi, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dengan pereaksi geser, dan menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol (Markham, 1998).

Senyawa flavonoid merupakan sistem aromatis yang terkonjugasi sehingga memberi serapan pada pita spektrum ultraviolet-tampak. Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dalam pelarut etanol atau metanol, tetapi spektrum yang dihasilkan dalam pelarut etanol kurang memuaskan. Ciri khas spektrum senyawa flavonoid adalah terdapat dua pita serapan maksimum. Pita I dipengaruhi oleh keadaan struktur cincin B (rantai C₆ sebelah kanan) dan C (rantai C₃). Sedangkan pita II dipengaruhi oleh struktur cincin A (rantai C₆ sebelah kiri). Rentang serapan spektrum UV-VIS ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Rentang 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 dan dihidroflavonol
230-270 (kekuatan rendah)	340-390	Khalkon
230-270 (kekuatan rendah)	380-430	Auron
270-280	465-560	Antosianodin dan antosianin

Sumber : Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, 39, Penerbit ITB, Bandung

Penafsiran spektrum flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi geser. Pereaksi geser yang digunakan adalah natrium metoksida, natrium

asetat, aluminium klorida, asam klorida, dan asam borat. Penafsiran senyawa flavonoid berdasarkan spectrum NaOMe, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃, AlCl₃, dan AlCl₃/HCl dapat ditunjukkan pada tabel 5, tabel 6, tabel 7, dan tabel 8.

Tabel 5. Penafsiran spektrum natrium metoksida

Jenis Flavonoid	Pergeseran yang tampak		Petunjuk penafsiran
	Pita I	Pita II	
Flavon Flavonol	Kekuatan menurun terus		3,4 -OH, <i>o</i> -diOH pada cincin A; pada cincin B; 3-OH berdampingan
	+45 - 65 nm		4 -OH
	+45 - 65 nm kekuatan menurun		3-OH, tidak ada 4'-OH bebas
	Pita baru, 320-335 nm		7-OH
Isoflavon		Tidak ada pergeseran	Tidak ada OH pada cincin A
Flavonon Dihidro- flavonol		Kekuatan menurun sebanding dengan waktu	<i>o</i> -diOH pada cincin A (penurunan lambat: <i>o</i> -diOH pada cincin B isoflavon)
		Bergeser dari ± 280 nm ke ± 325 nm kekuatan naik ke 330-340 nm	Flavanon dan Dihidroflavanol Dengan 5,7-OH 7-OH, tanpa 5-OH bebas
Khalkon Auron	+80 - 95 nm (kekuatan naik)		4 -OH (auron)
	+60 - 70 nm (kekuatan naik) Pergeseran lebih Kecil		6-OH tanpa OR pada 4 (auron) 6-OH dengan oksigenasi pada 4 (auron)
	+60 sampai 100 nm (kekuatan naik) (kekuatan tidak naik) +40 - 50 nm		4-OH (khalkon) 2-OH/4 -OH dan tanpa 4-OH 4 -OH (2'-OH/4-OR)
Antosianidin Antosianin	Semuanya terurai Kecuali 3-deoksi antosianidin		Nihil

(Sumber : Markham, 1988)



Tabel 6. Penafsiran spektrum $AlCl_3$ dan $AlCl_3/HCl$

Jenis Flavonoid	Pergeseran yang tampak		Petunjuk penafsiran
	Pita I	Pita II	
Flavon dan Flavonol $AlCl_3/HCl$	+35 - 55 nm +17 - 20 nm Tidak berubah +50 - 60 nm		5-OH 5-OH, OR pada 6 Mungkin 5-OH dengan Gugus prenil pada 6 Mungkin 3-OH (dengan/tanpa 5-OH)
$AlCl_3$	Pergeseran ($AlCl_3/HCl$) +30 - 40 nm Pergeseran ($AlCl_3/HCl$) +20-25 nm		<i>o</i> -diOH pada cincin B <i>o</i> -diOH pada cincin A (tambahan pergeseran <i>o</i> -diOH pada cincin B)
Isoflavon Flavanon Dihidro- Flavon $AlCl_3/HCl$ $AlCl_3$		+10 - 14 nm +20 - 26 nm Pergeseran ($AlCl_3/HCl$) +11 - 30 nm Pergeseran ($AlCl_3/HCl$) +30 - 38 nm (peka terhadap NaOAc)	5-OH (isoflavon) 5-OH (flavanon, dihidroflavonol) <i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 dan 7,8) Dihidroflavonol tanpa 5-OH (tambahan pada sembarang pergeseran <i>o</i> -diOH)
Auron Khalkon $AlCl_3/HCl$ $AlCl_3$	+48-64 nm +40 nm +60-70 nm Pergeseran $AlCl_3/HCl$ +40-70 nm Penambahan lebih Kecil		2'-OH (khalkon) 2'-OH, OR pada 3' 4-OH (auron) <i>o</i> -diOH pada cincin B Mungkin <i>o</i> -diOH pada Cincin A
Antosianidin Antosianin $AlCl_3$	+25-35 nm (pada pH 2-4) Pergeseran lebih besar		<i>o</i> -diOH Banyak <i>o</i> -diOH atau <i>o</i> -diOH (3-deoksi antosianidin)

(Sumber : Markham, 1988)

Tabel 7. Penafsiran spektrum natrium asetat

Jenis flavonoid	Pergeseran yang tampak		Petunjuk pergeseran
	Pita I	Pita II	
Flavon Flavonol Isoflavon		+5-20 nm (berkurang bila ada OR pada 6 atau 8)	7-OH
	Kekuatan berkurang dengan bertambahnya waktu		Gugus yang peka terhadap basa, missal 6,7/7,8 atau 3,4'-diOH
Flavanon Dihidro-Flavanol		+35 nm +60 nm	7-OH (dengan 5-OH bebas) 7-OH (tanpa 5-OH bebas)
	Kekuatan berkurang dengan bertambahnya waktu		Gugus yang peka terhadap basa, misal 6,7/7,8-diOH
Khalkon Auron	Pergeseran batokrom/bahu pada λ lebih panjang		4' dan atau 4-OH (khalkon) 4' dan atau 6'-OH (auron)

(Sumber : Markham, 1988)

Tabel 8. Penafsiran spektrum natrium asetat/asam borat

Jenis flavonoid	Pergeseran yang tampak		Petunjuk penafsiran
	Pita I	Pita II	
Flavon Flavonol Auron Khalkon	12-36 nm (nisbi terhadap spectrum methanol) Pergeseran lebih kecil		<i>o</i> -diOH pada cincin B <i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8)
Isoflavon Flavanon Dihidro-Flavon		+10 sampai 15 nm (nisbi terhadap spectrum methanol)	<i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8)

(Sumber : Markham, 1988)

3.7 Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas dapat dibuat hipotesis bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff). Boerl) yang diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis merupakan jenis flavon, flavonol, flavanon, dihidrflavonol, khalkon, dan atau auron.



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

1. Alat penggiling
2. Seperangkat Sokhlet
3. Neraca
4. Oven
5. Peralatan gelas
6. Plat KLT kresgel 60 F 254
7. Lampu UV 254 nm dan 366 nm
8. Spektrofotometer UV-Vis merk Hitachi Varian U 2010

4.1.2 Bahan

1. Serbuk biji mahkota dewa
2. n-heksana p.a buatan E.Merck
3. Akuades buatan laboratorium kimia F MIPA UII
4. n-Butanol p.a butan E. Merck
5. Etil asetat p.a buatan E. Merck
6. Metanol p.a buatan E. Merck

7. Asam sulfat pekat p.a buatan E. Merck
8. Asam asetat p.a buatan E. Merck
9. Natrium hidroksida
10. Aluminium klorida
11. Kertas saring
12. Serbuk natrium asetat
13. Asam borat
14. Amoniak

4.2 Sampel

Sampel yang digunakan adalah biji buah mahkota dewa yang diperoleh dari Pasar Beringharjo Jogjakarta.

4.3 Cara Kerja

4.3.1 Preparasi sampel

Biji buah mahkota dewa dibersihkan dan dikeringkan dibawah sinar matahari sampai kering. Setelah kering digiling dan diayak. Diperoleh serbuk mahkota dewa.

4.3.2 Ekstraksi Sokhlet

30 gram serbuk biji mahkota dewa dibungkus dengan menggunakan kertas saring. Bagian atas dan bawah diberi kapas dan kemudian dimasukkan ke dalam

alat sokhlet kemudian diekstraksi kurang lebih selama 5-7 jam dengan menggunakan 150 ml n-heksana untuk menghilangkan lemak. Selanjutnya sampel diekstrak lagi dengan methanol 80 % selama 5-7 jam. Ekstrak metanol yang didapat kemudian dipekatkan dengan Evaporator Buchii.

4.3.3 Penentuan eluen melalui kromatografi lapis tipis

Ekstrak metanol ditotolkan pada plat KLT 3 x 10 cm. Eluen dipilih secara coba-coba. Eluen yang dicoba terlebih dahulu adalah tunggal, yaitu n-heksana, etil asetat, metanol, dan dicoba menggunakan fase atas n-butanol : asam asetat : air, 4:1:5 (v/v) atau BAA. Jika pemisahan belum baik, dicoba dengan perbandingan yang bervariasi atau dengan menggunakan jenis eluen yang bervariasi. Elusi dilakukan setelah bejana penuh dengan uap eluen, didiamkan sekitar 5 - 10 menit. Untuk mendeteksi bercak dilakukan dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Bercak dilakukan dengan uap amoniak.

4.3.4 Pembuktian kemurnian isolat flavonoid

Pembuktian kemurnian isolat flavonoid dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi. Elusi dilakukan pada plat KLT 6 x 6 cm. Ekstrak metanol ditotolkan 1 cm dari tepi bawah kanan. Eluen yang digunakan pada pengembangan pertama adalah eluen terbaik yang telah diperoleh dari hasil

identifikasi pendahuluan. Pengembangan kedua menggunakan pelarut asat asetat 15 %. Posisi plat yang dielusi adalah posisi 90 % dari kondisi mula-mula.

4.3.5 Pemisahan flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif

Pemisahan flavonoid menggunakan beberapa lembar plat KLT 5 x 10 cm. Eluen yang digunakan adalah eluen yang paling baik yang telah ditentukan pada deteksi pendahuluan. Deteksi dilakukan dengan menggunakan lampu UV 366nm. Bercak yang berupa pita dilingkari dengan pensil. Setiap bercak yang diperoleh dikerok dan dilarutkan dalam metanol.

4.3.6 Identifikasi senyawa flavonoid dengan spektrometer UV-Vis

Eluat yang diperoleh dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif. Bercak yang memiliki harga R_f sama dikumpulkan dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Diambil 2-3 mL ekstrak, dimasukkan dalam kuvet dan diukur spektrumnya. Blangko yang digunakan adalah metanol. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan pereaksi geser. Pereaksi yang digunakan adalah pereaksi natrium metoksida, serbuk natrium asetat anhidrat, $AlCl_3$, HCl, dan serbuk H_3BO_3 . Pembuatan pereaksi tersebut dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Natrium metoksida

Sebanyak 2,5 gram logam natrium dipotong dengan hati-hati dan dimasukkan dengan hati-hati ke dalam 100 mL methanol. Pereaksi ini disimpan dalam botol kaca tertutup plastik. Pereaksi pengganti yang cocok adalah NaOH 2 M.

2. Aluminium klorida

Sebanyak 5 gram AlCl_3 dilarutkan dalam 100 mL methanol. Pereaksi disimpan dalam botol plastik.

3. Asam klorida

Sebanyak 50 mL HCl pekat dilarutkan dalam 100 mL akuades.

Tahapan penggunaan pereaksi geser adalah sebagai berikut:

1. Ditambahkan 3 tetes pereaksi natrium metoksida ke dalam kuvet yang berisi ekstrak metanol kemudian diukur spektranya. Setelah 5 menit spektrum diukur kembali untuk mengetahui kemungkinan terjadi dekomposisi flavonoid.
2. Ekstrak metanol dimasukkan dalam kuvet, ditambahkan 6 tetes AlCl_3 dan diukur spektranya. Ditambah 3 tetes HCl dan diukur spektranya.
3. Ekstrak metanol dimasukkan dalam kuvet, ditambah serbuk natrium asetat sampai kira-kira terdapat 2 mm pada dasr kuvet, kemudian diukur spektranya. Ditambah serbuk asam borat setengah dari penambahan natrium asetat dan diukur spektrumnya.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Preparasi biji mahkota dewa

Biji mahkota dewa diperoleh dengan cara membeli di pasar Beringharjo, Jogjakarta. Kemudian biji mahkota dewa dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan menggunakan oven 40°C, selama 24 jam. Pengeringan dilakukan secara perlahan-lahan pada temperatur yang tidak terlalu tinggi atau dijemur di bawah terik matahari. Pengeringan itu sendiri bertujuan untuk untuk mendapatkan bahan yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lama, karena dengan mengurangi kadar air pada biji akan menghentikan reaksi enzimatik, hidrolisis dan tumbuhnya kapang.

Bahan kering yang didapat dihaluskan dengan menggunakan blender. Tujuan dari pemblenderan adalah untuk memperkecil ukuran partikel. Ukuran bahan yang akan diekstrak dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Ukuran bahan yang terlalu besar dapat mengakibatkan kontak antara komponen yang akan dipisahkan lebih kecil. Dengan ukuran bahan yang lebih kecil, maka pelarut lebih mudah berinteraksi dengan komponen yang akan dipisahkan.

5.2 Identifikasi flavonoid dengan metode sokhletasi

5.2.1 Ekstraksi sokhlet

Ekstraksi sokhlet merupakan suatu proses ekstraksi yang berlangsung secara berulang-ulang dan teratur. Pemisahan senyawa flavonoid dalam biji mahkota dewa dapat dilakukan dengan metode ekstraksi sokhlet, karena dengan metode ekstraksi sokhlet mampu mengekstraksi secara sinambung dengan volume pengeksrak yang tidak terlalu banyak. Alat yang digunakan berupa seperangkat sokhlet yang terdiri dari pemanas, labu alas bulat, sokhlet, dan pendingin bola (Meloan, 1999).

Dalam ekstraksi sokhlet ini bahan yang akan diekstrak berupa padatan yang dibuat serbuk. Padatan yang telah dibuat serbuk ini dibungkus dengan menggunakan kertas saring dan dimasukkan di bagian dalam alat sokhlet. Pelarut dimasukkan ke dalam labu alas bulat melalui bagian atas sokhlet agar terjadi kontak antara bahan yang akan diekstrak. Sebelum pelarut dimasukkan, terlebih dahulu dimasukkan 3 butir batu didih ke dalam labu alas bulat. Batu didih tersebut berfungsi untuk mencegah terjadinya bumping, selain itu batu didih juga berfungsi untuk meratakan panas.

Pada bagian atas alat ini dihubungkan dengan kondensor atau pendingin. Pelarut dipanaskan sehingga terjadi kesetimbangan antara fasa uap dengan fasa cair. Fasa uapnya naik dan terjadi kondensasi pada kondensor. Pelarut yang sudah terkondensasi jatuh ke dalam ruangan sokhlet tempat bahan yang diekstrak.

Pelarut ditampung dalam sokhlet untuk sementara waktu sampai tingginya mencapai tinggi pipa kapiler. Apabila pelarut sudah memenuhi tingginya pipa kapiler, maka secara otomatis pelarut yang membawa zat terekstrak jatuh ke dalam labu pemanas. Pelarut akan mendidih kembali dan menguap menuju kondensor. Peristiwa ini berlangsung terus-menerus sampai di dapatkan ekstrak yang sempurna.

Ekstraksi dilakukan dua langkah, yang pertama menggunakan pelarut n-heksana dan yang kedua menggunakan pelarut metanol. Pada ekstraksi yang pertama digunakan pelarut n-heksana, tujuan menggunakan pelarut n-heksana adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa non polar yang terdapat dalam biji mahkota dewa. Pelarut n-heksana merupakan pelarut non polar, sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa non polar yang terdapat di dalamnya. Oleh karena itu n-heksana juga berfungsi untuk menghilangkan kandungan lemak dalam biji mahkota dewa, karena lemak merupakan senyawa non polar juga.

Pada ekstraksi yang pertama digunakan pelarut non polar yaitu n-heksana sebanyak 200 mL. Ekstraksi ini berlangsung selama 6 jam. Pada putaran yang pertama fraksi n-heksana berwarna kecoklatan, pada putaran selanjutnya warna fraksi n-heksana semakin pudar. Ekstraksi berlangsung secara terus-menerus hingga fraksi n-heksana menjadi tidak berwarna. Agar pemisahan lebih optimal, ekstrak didiamkan selama satu malam. Fraksi n-heksana yang diperoleh berwarna coklat muda. Hasil dari ekstraksi pertama ini berupa residu yang telah terbebas dari senyawa non polar.



Ekstraksi yang kedua digunakan pelarut metanol, pelarut metanol itu sendiri berfungsi untuk memisahkan senyawa flavonoid. Residu yang telah bebas dari lemak diekstrak kembali dengan menggunakan 200 mL metanol. Ekstraksi berlangsung secara terus-menerus hingga metanol dalam sokhlet tidak berwarna lagi. Ekstraksi ini berlangsung selama 6 jam. Fraksi metanol yang diperoleh berwarna kuning. Agar pemisahan flavonoid lebih optimal, ekstrak didiamkan selama satu malam.

5.2.2 Penentuan eluen menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT)

Cara yang paling sederhana untuk identifikasi pendahuluan senyawa flavonoid adalah dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Data yang diperoleh berupa harga R_f dan warna bercak kromatogram yang diperoleh dari pengembangan bercak pada plat kromatografi lapis tipis. Metode ini juga bermanfaat pada pemisahan flavonoid, baik menggunakan KLT preparatif maupun menggunakan kromatografi kolom.

Keberhasilan pemisahan pada penentuan eluen ini dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain ketepatan pemilihan eluen, kondisi plat KLT, serta kejenuhan uap eluen dalam bejana.

Ketepatan pemilihan eluen yang digunakan perlu diperhatikan. Kemurnian eluen yang digunakan dalam pemisahan diutamakan, meskipun eluen campuran juga tidak jarang digunakan. Keuntungan penggunaan eluen campuran dalam hal kemudahan pengaturan tingkat kepolaran eluen sesuai dengan yang diinginkan.

Sedang kerugiannya adalah eluen yang berupa campuran bersifat tidak stabil dimana eluen yang lebih bersifat volatil akan lebih cepat menguap sehingga komposisi eluen dalam bejana menjadi berubah.

Kondisi plat KLT mempengaruhi proses pemisahan. Plat sebaiknya berada dalam kondisi kering (tidak mengikat air), karena dengan adanya air akan mempengaruhi proses pemisahan. Kemiringan plat KLT dalam bejana juga harus diatur, karena jika plat berada dalam kondisi terlalu miring maka aliran eluen akan semakin cepat dan pemisahan menjadi kurang baik, karena akan terbentuk noda berekor sehingga akan sulit menentukan harga Rfnya. Sementara jika jumlah sampel yang ditotolkan terlalu sedikit, maka noda akan tampak sangat tipis dan kurang jelas dapat dilihat.

Pada penelitian ini pengembangan dilakukan pada plat KLT dengan ukuran 3 x 10 cm. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel yang dilekatkan pada plat aluminium. Penotolan dilakukan 1 cm dari batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipet mikro. Noda kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan atau diletakkan di bawah kipas angin agar pelarut yang masih terkandung menguap. Setelah itu eluen dimasukkan dalam bejana pengembang setinggi 0,5 cm. Bejana yang digunakan harus tertutup rapat dan didiamkan selama 10 menit agar terjadi kesetimbangan uap eluen. Pengembangan dilakukan dalam bejana penuh uap eluen dan tertutup rapat agar pemisahan berlangsung lebih sempurna. Kondisi kejenuhan eluen dalam proses pengembangan sangat berpengaruh. Apabila uap eluen dalam bejana kurang jenuh, maka akan

didapatkan noda yang tidak teratur. Oleh karena itu untuk mendapatkan uap eluen yang jenuh, maka setelah eluen dimasukkan ke dalam bejana, bejana ditutup rapat terlebih dahulu selama kurang lebih 10 menit. Bercak yang diperoleh dikeringkan dengan cara diangin-anginkan atau dikeringkan di bawah kipas angin. Deteksi bercak dilakukan dengan lampu UV 366 nm. Bercak yang diperoleh ditandai dengan pensil.

Eluen yang pertama kali dicoba adalah eluen tunggal dan n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan perbandingan 4:1:5 v/v. Eluen tunggal dipilih dari eluen yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Eluen non polar yang digunakan adalah n-heksana. Hasil pengembangan dengan eluen n-heksana menunjukkan bahwa noda sama sekali tidak terdistribusi dalam fasa gerak. Hal ini ditunjukkan dengan letak dan bentuk noda sama dengan posisi dan bentuk noda pada saat penotolan. Noda sama sekali tidak terdistribusi dalam fasa gerak karena pada proses pelarutan suatu zat dalam suatu pelarut, prinsip *like dissolve like* mendasari pemilihan pelarut yang selektif. Artinya komponen yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar dan komponen yang bersifat non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar. Noda yang dihasilkan berdasarkan deteksi dengan lampu UV 366 nm berwarna lembayung. Karena kromatogram yang dihasilkan pada pengembangan dengan eluen non polar tidak menghasilkan pemisahan maka senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol kemungkinan besar merupakan senyawa yang bersifat semi polar atau bersifat polar.

Pengembangan kedua menggunakan eluen semi polar, dalam hal ini eluen semi polar yang digunakan adalah etil asetat. Hasil pengembangan dengan menggunakan eluen etil asetat juga menunjukkan bahwa noda sama sekali tidak terdistribusi dalam fasa gerak. Hal ini ditunjukkan dengan letak dan bentuk noda sama dengan posisi dan bentuk noda pada saat penotolan noda. Noda yang dihasilkan berdasarkan deteksi dengan lampu UV 366 nm juga berwarna lembayung.

Pengembangan selanjutnya menggunakan eluen methanol menunjukkan bahwa ekstrak metanol dapat terdistribusi dalam eluen metanol, tetapi senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol tidak dapat memisah. Noda yang dihasilkan berdasarkan deteksi dengan lampu UV 366 nm berupa bercak yang memanjang dan berwarna lembayung. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki kelarutan relatif yang hampir sama dalam pelarut metanol.

Setelah menggunakan eluen metanol, pengembangan berikutnya dicoba dengan menggunakan eluen campuran etil asetat dan metanol dengan perbandingan 3:1, 5:1, dan 7:1 (v/v). Bercak kromatogram yang dihasilkan pada pengembangan ini menunjukkan pemisahan yang kurang baik.

Karena pemisahan dengan eluen tunggal dan eluen ganda belum menghasilkan pemisahan yang baik, maka dicoba lagi dengan menggunakan eluen fase atas BAA. Hasil pemisahan menggunakan eluen BAA (4:1:5 v/v) menghasilkan pemisahan yang kurang baik. Hasil deteksi menggunakan lampu UV, terdapat 4 bercak yang semuanya berwarna lembayung. 1 bercak dapat

terpisah dengan baik, dan 3 bercak tidak terpisah. Keempat bercak tersebut masih menyatu, sehingga pemisahan tersebut termasuk pemisahan yang kurang baik.

Pengembangan dengan menggunakan eluen BAA (4:1:5 v/v) belum menghasilkan pemisahan yang baik. Oleh karena itu dilakukan pengembangan dengan menggunakan perbandingan eluen yang bervariasi. Hasil pengembangan menggunakan berbagai eluen pada berbagai perbandingan dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil pengembangan menggunakan berbagai eluen

Eluen (v/v)	Jumlah bercak	Pemisahan	Kesimpulan
n-heksana	1	Tidak terpisah	Tidak baik
Etil asetat	1	Tidak terpisah	Tidak baik
Metanol	1	Tidak terpisah	Tidak baik
EtOAc : MeOH, 3:1	2	Cukup terpisah	Kurang baik
EtOAc : MeOH, 5:1	3	Cukup terpisah	Kurang baik
EtOAc : MeOH, 7:1	3	Cukup terpisah	Kurang baik
BAA, 4 : 1 : 5	4	Cukup terpisah	Kurang baik
BAA, 7 : 1 : 5	1	Cukup terpisah	Kurang baik
BAA, 7 : 2 : 5	4	Terpisah	Cukup terpisah
BAA, 7 : 2 : 6	3	Terpisah	Cukup terpisah
BAA, 9 : 1 : 5	2	Cukup terpisah	Kurang baik
BAA, 9 : 1 : 6	2	Cukup terpisah	Kurang baik
BAA, 9 : 2 : 6	2	Cukup terpisah	Kurang baik
BAA, 9 : 3 : 6	4	Terpisah	Baik
BAA, 9 : 4 : 6	3	Terpisah	Cukup terpisah
BAA, 10 : 1 : 7	4	Cukup terpisah	Kurang terpisah
BAA, 11 : 1 : 8	4	Cukup terpisah	Kurang terpisah

Hasil pemisahan yang paling baik sesuai dengan tabel diatas adalah hasil pengembangan dengan menggunakan eluen BAA, 9:3:6 (v/v). Eluen yang paling baik ditentukan oleh hasil pemisahannya dan jumlah bercak hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm. Hasil pengembangan dengan menggunakan eluen

BAA, 9:3:6 (v/v) menghasilkan 4 bercak yang terpisah dengan baik. Keempat bercak tersebut semuanya berwarna lembayung. Deteksi bercak juga dilakukan dengan menggunakan uap amoniak. Hasil deteksi bercak dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil deteksi bercak hasil pengembangan dengan BAA (9:3:6 v/v)

No	Rf x 100	Warna	
		UV 366 nm tanpa NH ₃	UV 366 nm dengan NH ₃
1	93,75	Lembayung	Lembayung
2	80,00	Lembayung	Lembayung
3	60,00	Lembayung	Lembayung
4	50,00	Lembayung	Lembayung

Data pada table 10 dapat berguna dalam penafsiran senyawa flavonoid. Bercak pertama, kedua, ketiga, dan keempat sebelum diuapi dengan amoniak berwarna lembayung dan setelah diuapi dengan amoniak tidak mengalami perubahan warna. Menurut Markham (1988) dan Marby, Markham, dan Thomas (1970), bercak ini menunjukkan kemungkinan adanya senyawa flavon atau flavonol dengan 5-OH tanpa 4'-OH bebas, 6- atau 8-OH flavon dan flavonol tersulih pada 3-O dan mengandung 5-OH, isoflavon, dihidroflavanol, biflavonil, dan flavanon yang mengandung 5-OH, dan khalkon yang mengandung 2'- atau 6'-OH dan tidak mengandung 2- atau 4-OH bebas.

Dugaan ini merupakan dugaan sementara sebelum melakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data diatas dapat digunakan sebagai data pendukung dalam menafsirkan jenis dan struktur flavonoid dalam biji mahkota dewa.

5.2.3 Pemeriksaan kemurnian flavonoid dari hasil isolasi

Pemeriksaan kemurnian dapat dilakukan menggunakan cara yang sama seperti pemeriksaan dengan kromatografi. Kemurnian isolat dapat diketahui dari kromatografi lapis tipis dua dimensi. Pengembangan dilakukan pada plat KLT 6 x 6 cm. Isolat hasil pemisahan pada kromatogram masing-masing ditotolkan pada kertas kromatografi dan kemudian dikembangkan dengan fase gerak I yaitu BAA (9:3:6 v/v) fase atas. Selanjutnya bercak yang terjadi dikembangkan dengan fase gerak II yaitu asam asetat 15 % dengan arah pengembangan 90° dari arah pengembangan pertama. Murni tidaknya isolat tersebut dapat diketahui dari bercak yang tampak setelah pengembangan dengan kedua macam fase gerak. Apabila murni maka akan terlihat satu bercak saja dan apabila tidak murni tampak lebih dari satu bercak.

Hasil pengembangan dengan kedua fase gerak didapatkan satu bercak, sehingga dapat dikatakan bahwa isolat adalah senyawa murni secara kromatografi kertas dan merupakan senyawa tunggal.

5.2.4 Pemisahan flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif

Sebelum dilakukan pemisahan flavonoid menggunakan KLT preparatif, dilakukan identifikasi pendahuluan flavonoid dengan KLT. Identifikasi pendahuluan flavonoid dengan KLT berguna untuk mencari eluen terbaik, kemudian eluen terbaik pada identifikasi pendahuluan digunakan untuk

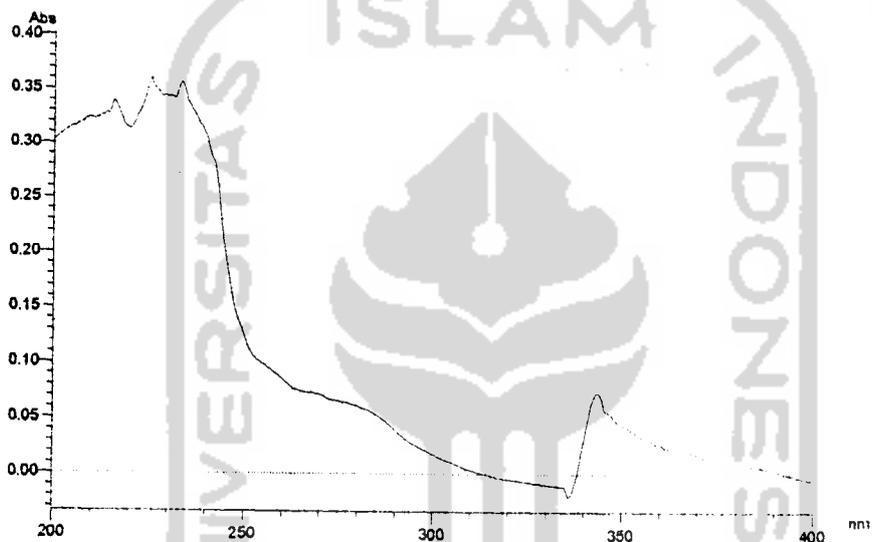
pemisahan flavonoid dari fraksi methanol biji mahkota dewa. Prinsip pemisahan pada KLT preparative tidak berbeda dengan pemisahan pada KLT. Ukuran plat yang ideal 20 x 20 cm, tetapi ukuran ini dapat disesuaikan dengan kebutuhan.

Pemisahan flavonoid dilakukan pada 4 buah plat KLT dengan ukuran 5 x 10 cm dan 1 buah plat KLT dengan ukuran 10 x 20 cm. Penotolan dilakukan dengan bentuk pita yang lebarnya sekitar 5 mm. Eluen yang digunakan adalah fasa atas BAA (9:3:6 v/v). Pengembangan dilakukan pada bejana penuh uap eluen agar pemisahan lebih sempurna. Kemudian bercak yang dihasilkan dideteksi dengan menggunakan lampu UV 366 nm dan diberi tanda dengan pensil. Bercak yang dihasilkan ini berupa pita dan mempunyai warna dan harga Rf yang sama dengan bercak hasil identifikasi pendahuluan. Bercak pertama berwarna lembayung dengan harga Rf 93,75 disebut dengan fraksi 1, bercak kedua berwarna lembayung dengan harga Rf 80,00 disebut fraksi 2, bercak ketiga berwarna lembayung dengan Rf 60,00 disebut fraksi 3, bercak keempat berwarna lembayung juga dengan harga Rf 50,00 disebut fraksi 4. Keempat fraksi tersebut dikerok dan dilarutkan dalam metanol. Kemudian dipisahkan dengan disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh fraksi metanol yang jernih. Fraksi metanol yang diperoleh pada keempat fraksi tersebut tidak berwarna.

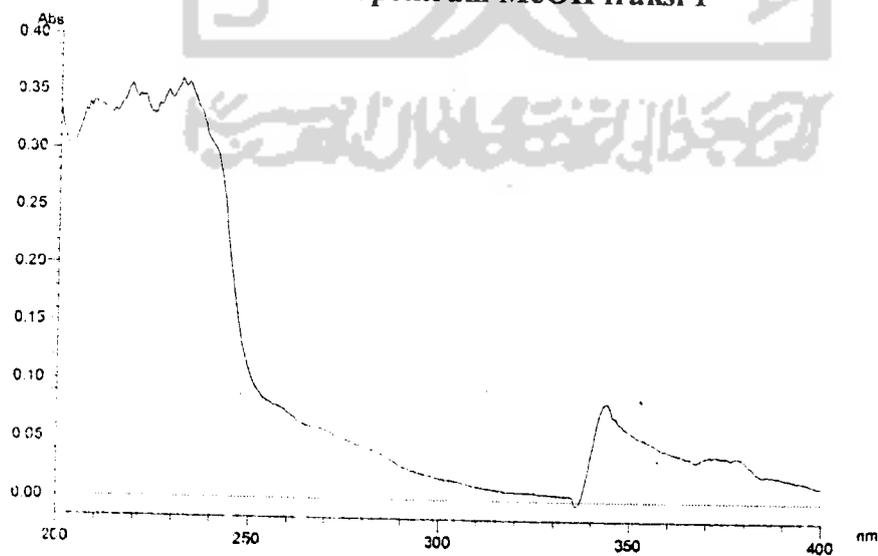
5.2.5 Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Fraksi tunggal senyawa flavonoid diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini bermanfaat untuk menentukan jenis flavonoid, pola

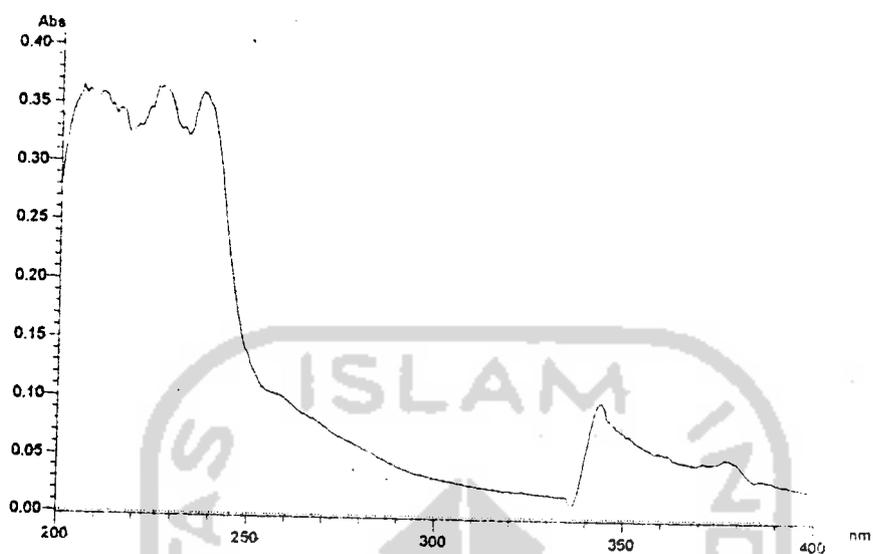
oksigenasi, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid, kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol. Keempat fraksi tunggal flavonoid diukur serapannya pada daerah panjang gelombang 200 sampai 400 nm. Hasil pengukuran spektrum MeOH fraksi 1, 2, 3, dan 4 dapat dilihat pada gambar 3, 4, 5, dan 6



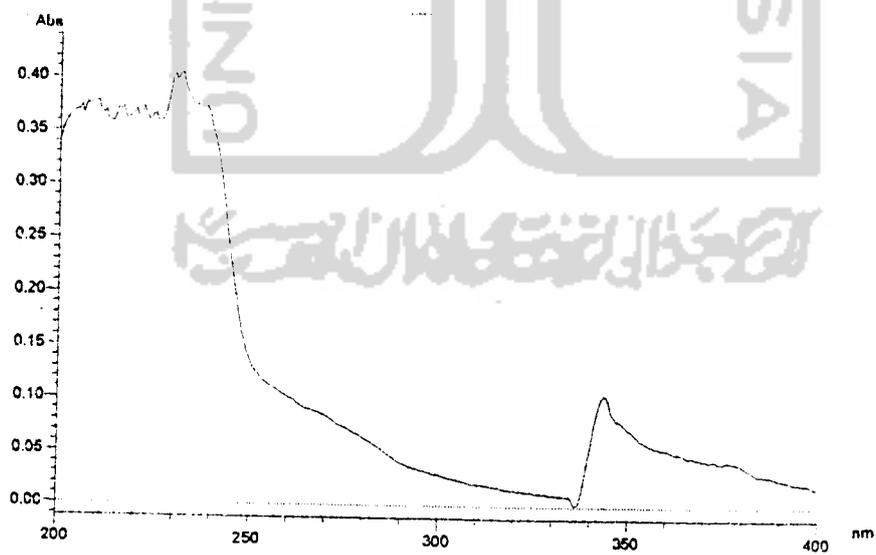
Gambar 3. Spektrum MeOH fraksi 1



Gambar 4. Spektrum MeOH fraksi 2

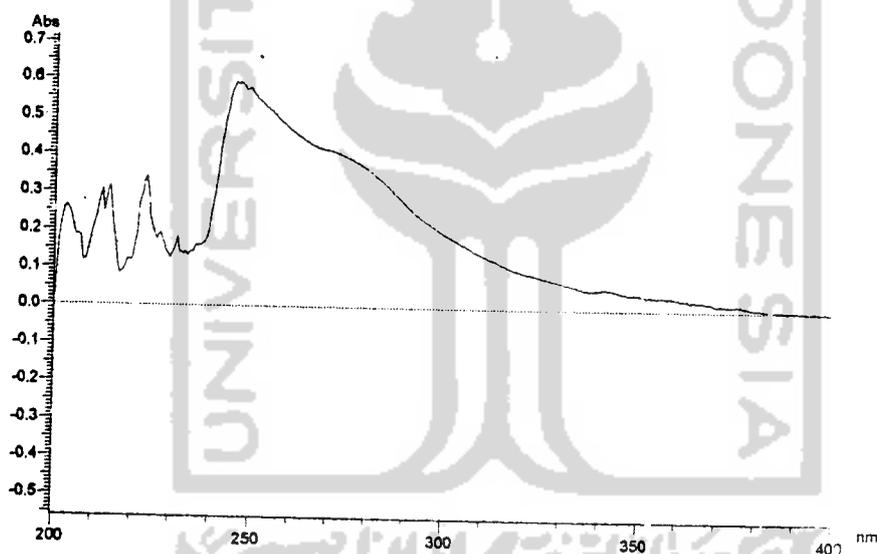


Gambar 5. Spektrum MeOH fraksi 3

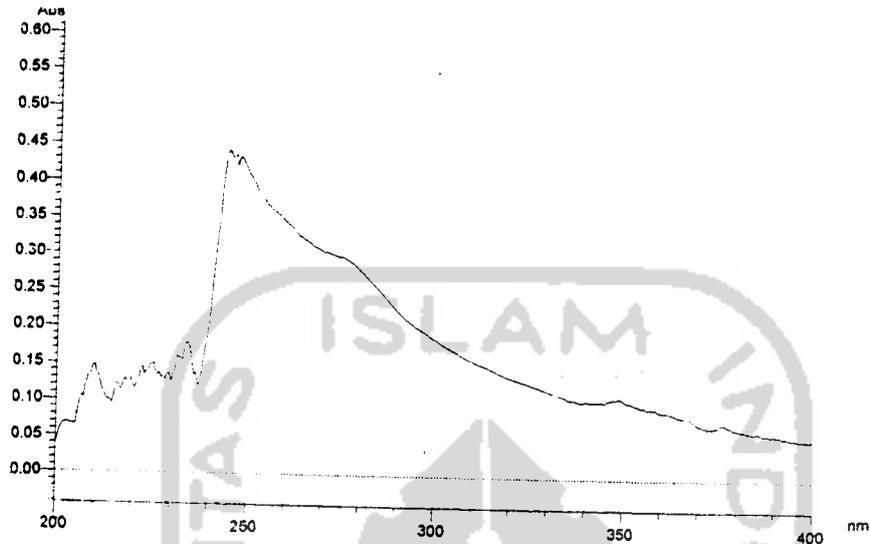


Gambar 6. Spektrum MeOH fraksi 4

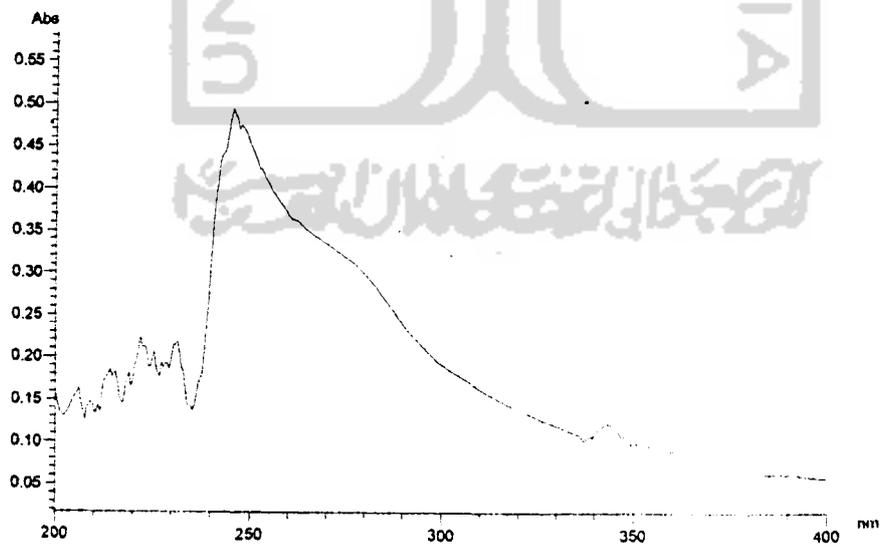
Hasil pengukuran spektrum MeOH diatas belum menunjukkan hasil yang baik. Hal ini mungkin dikarenakan ekstrak metanol masih kurang pekat. Untuk memperoleh hasil yang lebih baik, maka ekstrak metanol dipekatkan lagi. Ekstrak metanol yang sudah dipekatkan kemudian diukur serapannya pada daerah panjang gelombang 200 nm sampai 400nm. Hasil pengukuran spektrum MeOH yang telah dipekatkan dapat dilihat pada gambar 7, 8, 9, 10



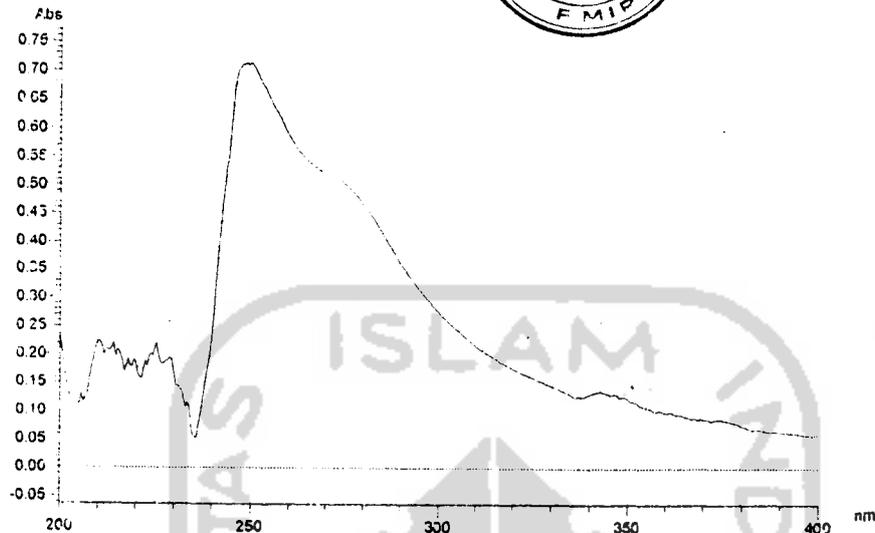
Gambar 7. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 1



Gambar 8. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 2



Gambar 9. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 3



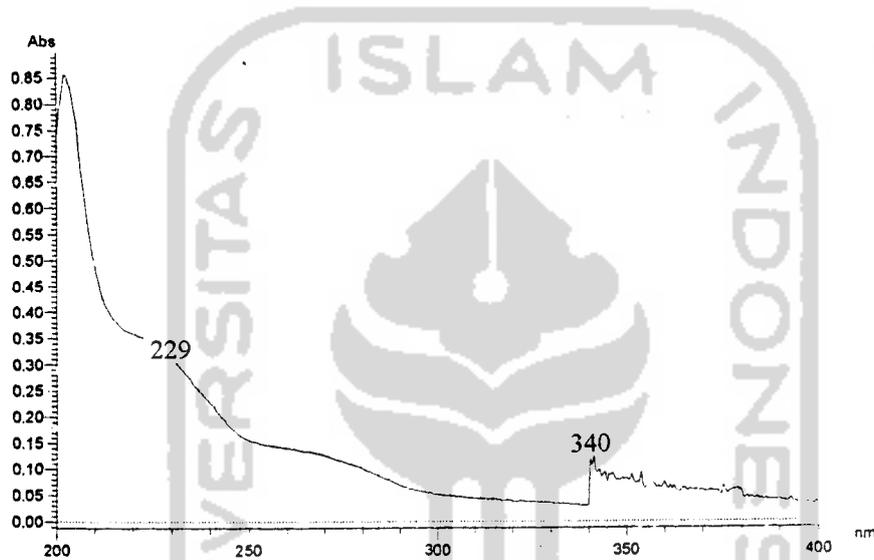
Gambar 10. Spektrum MeOH (lebih pekat) fraksi 4

Hasil pengukuran spektrum MeOH yang telah dipekatkan belum juga menunjukkan hasil yang baik, maka dilakukan metode ekstraksi lain untuk mengidentifikasi flavonoid. Metode yang dilakukan adalah metode maserasi.

5.3 Identifikasi flavonoid dengan metode maserasi

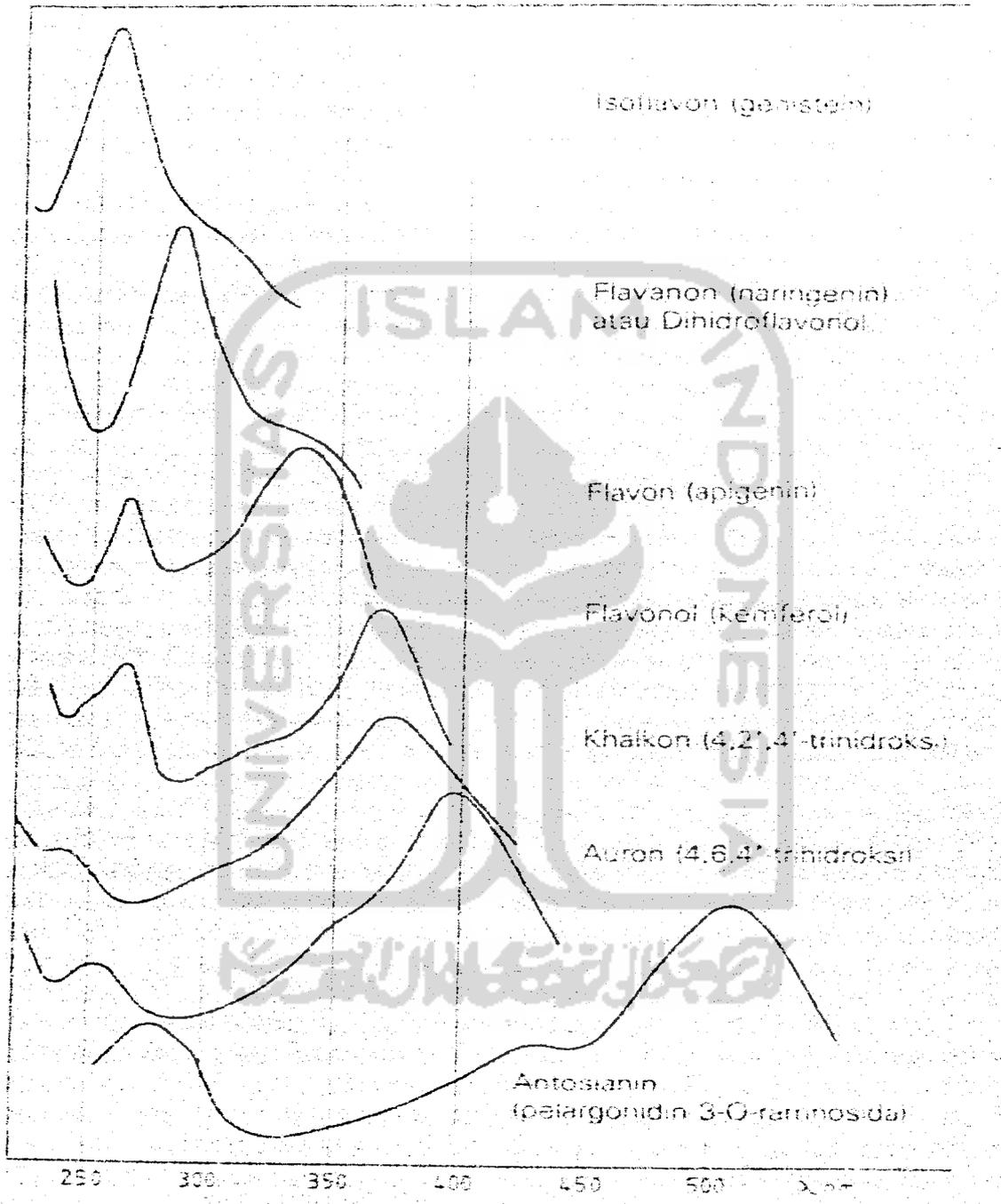
Pemisahan senyawa flavonoid dalam biji mahkota dewa dilakukan dengan metode maserasi, pertama diambil 4 gr serbuk biji mahkota dewa kemudian dimasukkan kedalam 20 mL metanol dan diaduk. Kemudian larutan disaring dan didapat ekstrak metanol berwarna bening. Ekstrak tersebut kemudian ditambah H_2O , penambahan H_2O dimaksudkan untuk menambah kepolaran, sehingga senyawa-senyawa yang kurang polar akan mengendap. Kemudian larutan dipisahkan dari endapan dan diukur serapannya pada daerah panjang gelombang

200 sampai 400 nm. Hasil pengukuran spektrum MeOH kali ini dapat dilihat pada gambar 11

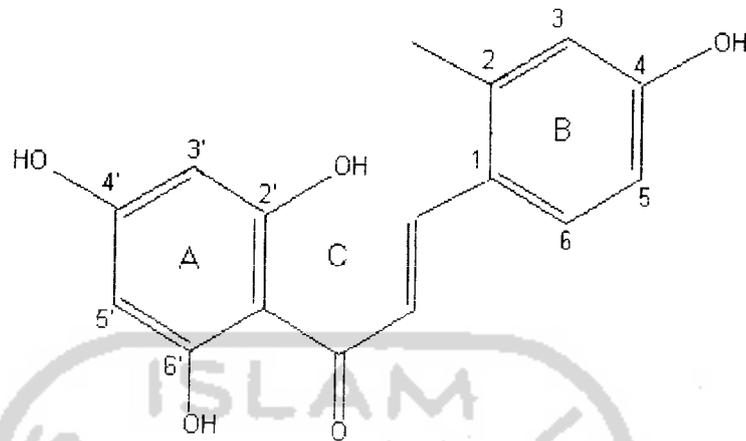


Gambar 11. Spektrum MeOH

Spektrum metanol menunjukkan serapan maksimum pita I pada panjang gelombang 340 nm dan pita II pada panjang gelombang 229 nm. Panjang gelombang pita I dan pita II mendukung penafsiran bentuk spektrum senyawa khalkhon. Berdasarkan perbandingan dengan spektrum flavonoid golongan khalkhon maka dapat ditafsirkan bahwa spektrum yang dihasilkan adalah senyawa khalkhon seperti yang ditunjukkan pada gambar 12.



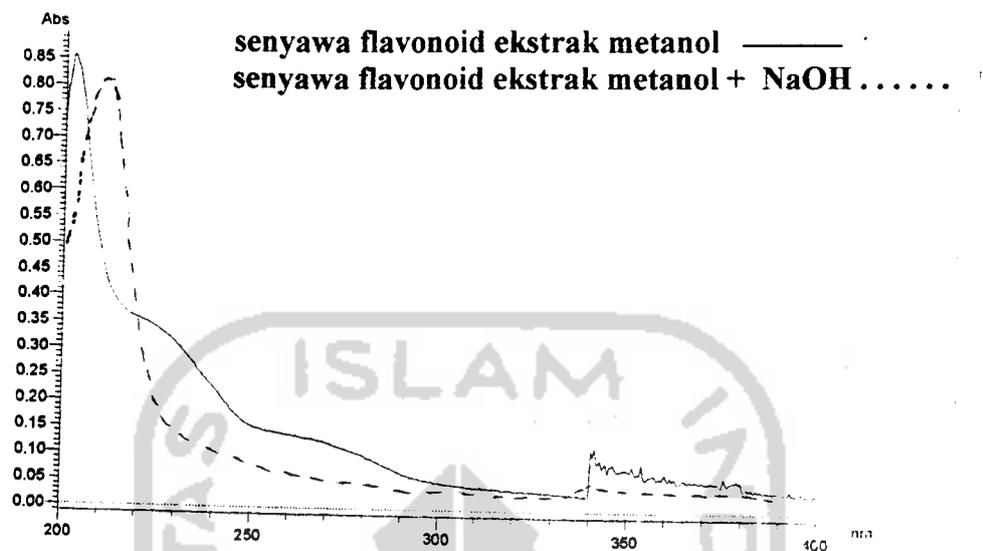
Gambar 12. Spektrum serapan UV-tampak jenis flavonoid



Gambar 13. Struktur dasar khalkon

Selanjutnya untuk menentukan posisi OH dilakukan pengukuran dengan menggunakan pereaksi geser. Pereaksi geser yang digunakan adalah 2 M NaOH sebagai pengganti NaOMe, larutan AlCl_3 5 %, larutan HCl, serbuk NaOAc, serbuk H_3BO_3 .

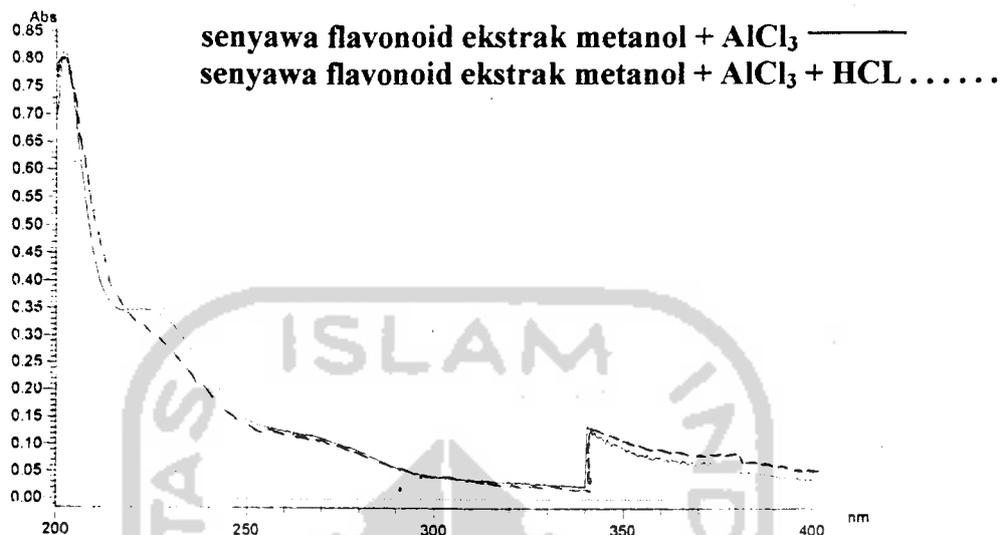
Hasil pengukuran spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol dan senyawa flavonoid ekstrak metanol yang ditambah NaOH dapat dilihat pada gambar 14.



Gambar 14. Spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOH

Pada spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOH terjadi pegeseran yang relatif kecil, indikasi ini merupakan petunjuk adanya 2 -OH atau 4' OH dan tanpa 4 -OH.

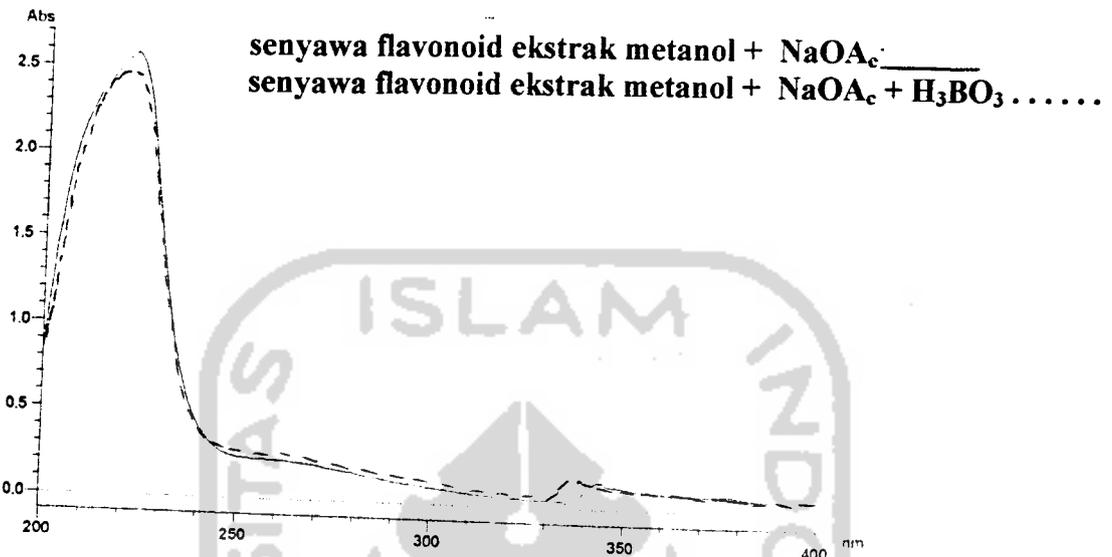
Hasil pengukuran spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + AlCl_3 dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + AlCl_3 + HCl dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 15. Spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + AlCl_3 dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + AlCl_3 + HCl

Hasil spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + AlCl_3 + HCl tidak menunjukkan pergeseran pada pita I dan pita II., hal ini menunjukkan bahwa tidak ada 2' -OH. Dan penambahan HCl menyebabkan penurunan panjang gelombang.

Hasil pengukuran spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOAc dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOAc + HBO_3 dapat dilihat pada gambar 16.



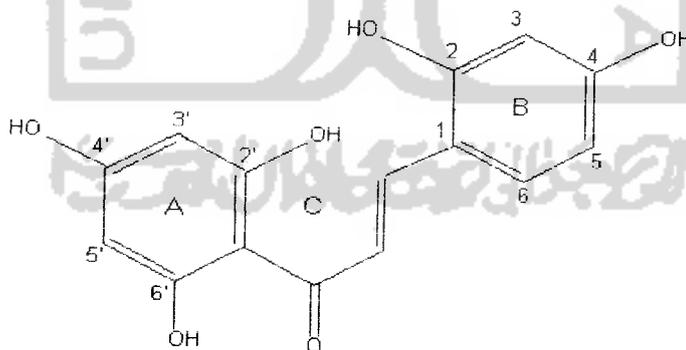
Gambar 16. Spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOAc dan senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOAc + H₃BO₃

Penafsiran spektrum senyawa flavonoid ekstrak metanol + NaOAc, menunjukkan adanya hidroksilasi pada 4' dan/atau 4. Adanya hidroksilasi dapat ditunjukkan dengan terjadinya pergeseran batokrom atau bahu pada panjang gelombang yang lebih panjang. Hasil penafsiran spektrum dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Penafsiran spektrum

Spektrum	λ_{maks} (nm)		Pergeseran		Penafsiran
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
MeOH	340	229			Khalkon
MeOH+NaOH	343	242	+3	+13	2-OH atau 4'-OH dan tanpa 4-OH
MeOH+NaOH T=5'	341	241	+1	+12	2-OH atau 4'-OH dan tanpa 4-OH
MeOH+AlCl ₃	340	229			Tidak mengandung 2'-OH
MeOH+AlCl ₃ + HCl	340	225		-4	Tidak mengandung 2'-OH
MeOH+NaOAc	343	262	+3	+33	4' dan / atau 4-OH
MeOH+NaOAc+ H ₃ NO ₃	343	262	+3	+33	Tidak ada penafsiran

Berdasarkan hasil penafsiran spektrum MeOH dapat diusulkan bahwa senyawa tersebut adalah termasuk senyawa khalkon yang mengandung gugus hidroksi pada posisi 2 dan 4 pada cincin B, serta mempunyai gugus hidroksi pada posisi 4' pada cincin A. Struktur senyawa tersebut dapat dilihat pada gambar 17.



Gambar 17. Struktur 2, 4, 4' -trihidroksikhalkon

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) positif mengandung flavonoid. Senyawa flavonoid yang dapat diusulkan adalah khalkon yang mengandung gugus hidroksi pada posisi 2, 4, dan 4' (2, 4, 4' -trihidroksikhalkon).

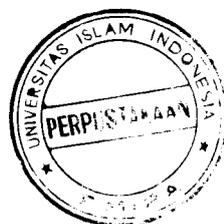
6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa flavonoid dari biji mahkota dewa sehingga dapat diketahui kadar senyawa aktifnya.
2. Untuk mendukung ketepatan identifikasi struktur flavonoid, perlu juga dilakukan identifikasi menggunakan instrumen lain seperti : GC-MS, IR, NMR.

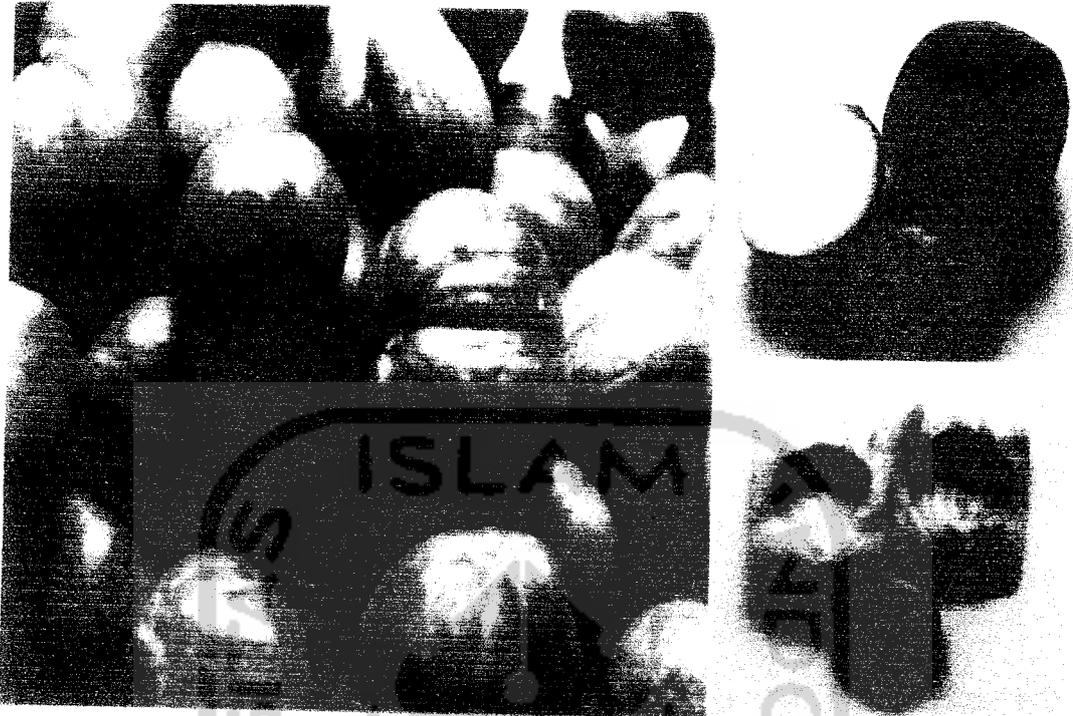
DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, Y.D., 2002, *Identifikasi Flavonoid Ekstrak Metanol 80 % Kulit Buah Manggis (Gaccinia mangostana L.) Menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (GC-MS)*, Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada , Jogjakarta
- Day, Jr.,R.A. and Underwood, A.L., 1986, *Quantitative Analysis*, Diterjemahkan oleh Aloysius Pudjaatmaka, Edisi ke Lima, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Edfiyenti, 1996, *Isolasi Isoflavon Aglikon dan Asam Lemak dari Tempe Kedelai*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Eni, M.I., 1998, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Kloroform Daun Kecombrang (Nicolia ssp. speciosa Horan)*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Fessenden, R.J. and Fessenden J.S., 1989, *Kimia Organik*, Diterjemahkan oleh A.H. Pudjaatmaka, Edisi Ketiga, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Geissman, T.A., 1962, *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, The Mac Millan Company, New York
- Handayani, S.N., 1998, *Isolasi Isoflavon dan Arekolin dalam Ekstrak Kloroform Biji Pinang (Areca catethu L.) dengan Metode Kromatografi Kolom*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penerbit ITB, Bandung
- Harmanto, N., 2001, *Mahkota Dewa Obat Pusaka Para Dewa*, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Istiningrum, R.B., 2003, *Identifikasi Flavonoid Dalam Ekstrak Metanol Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) Menggunakan Spektrometer UV-Vis*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, Jogjakarta
- Markham, K.R., 1988, *Cara mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung

- Mursiti, H., 2002, *Uji Toksisitas Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Biji Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl. Terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatogram Hasil Lapis Tipisnya*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Narayana, K.R., et al., 2001, *Bioflavonoid Classification, Pharmacological, Biochemical Effect and Therapeutical petential*, *Indian Journal of Pharmacology*, 33, 2-16
- Pratiwi, R.W., 2002, *Uji Toksisitas Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Scheff. Boerl) terhadap Artemia salina serta Profil Kromatogram Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Aktif*, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada Indonesia, Jogjakarta
- Primsa, E., 2002, *Efek Hipoglikemik Infusasi Simpliasia Daging Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Scheff Boerl) pada Tikus Jantan Putih*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Purwaningsih, D., 2001, *Isolasi dan identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kacang Panjang (Vigna sinensis L. savi ex Hessk)*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, 191-216, Penerbit ITB, Bandung
- Rohyami, Y., 2003, *Identifikasi Flavonoid Dari Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) Menggunakan Spektrometer UV-Vis*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, Jogjakarta
- Sant, J.B., 2002, *Mahkotodewo dan Oleander Dijagokan Melawan Kanker*, Minggu Pagi, Minggu V September 2002
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Kromatografi*, Penerbit Liberty, Jogjakarta
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Spektroskopi*, Penerbit Liberty, Jogjakarta
- Siswono, 2001, *Mahkota Dewa "Racun" Irian yang Berkhasiat*, Republika, 2 Oktober 2002
- Yudana, I.G.A., 2001, *Mahkotadewa Musuh Baru Aneka Penyakit*, Intisari, Januari, 58-138



Lampiran 1. Gambar tanaman mahkota dewa



BUAH DAN BIJI MAHKOTA DEWA

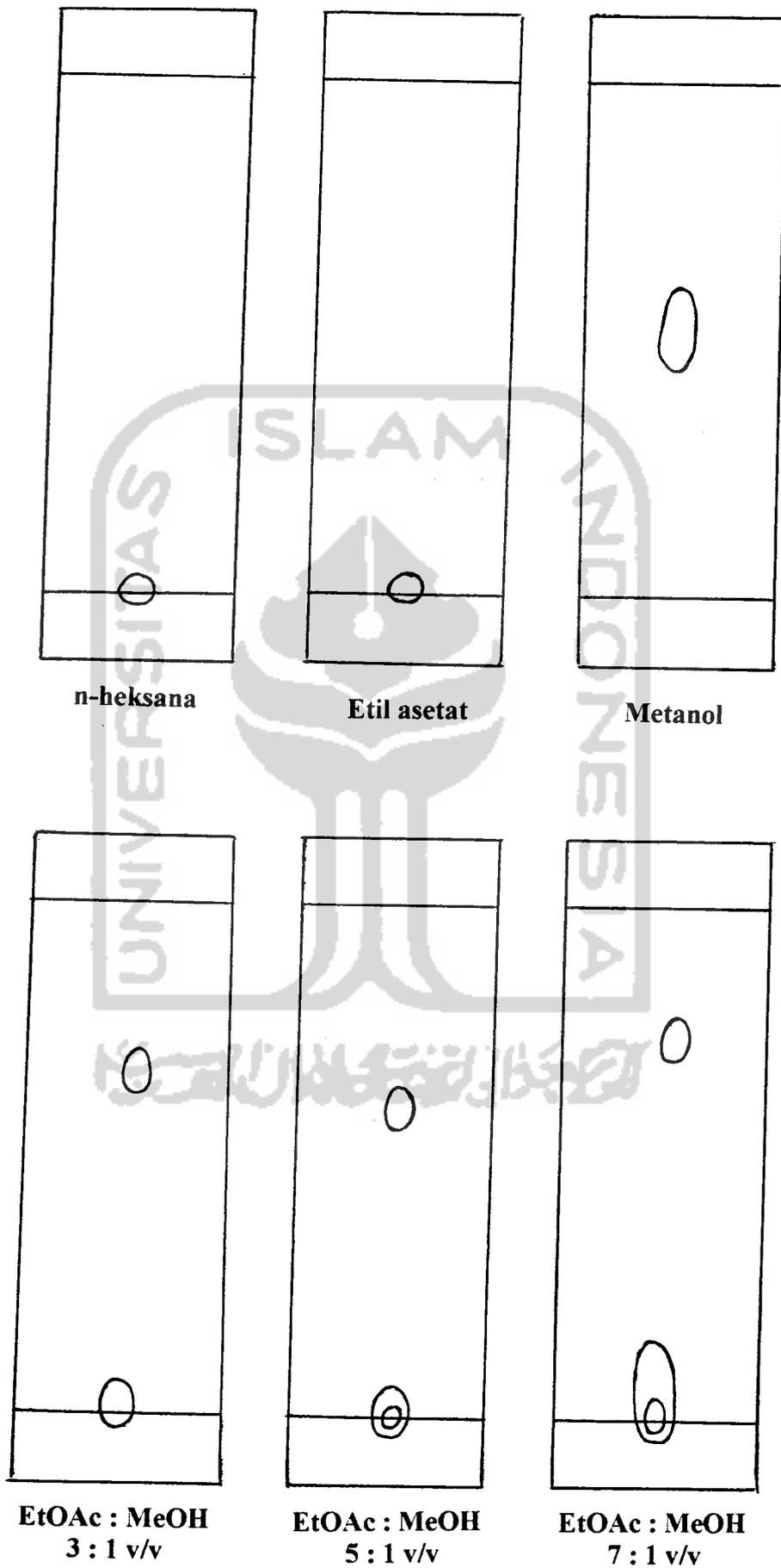


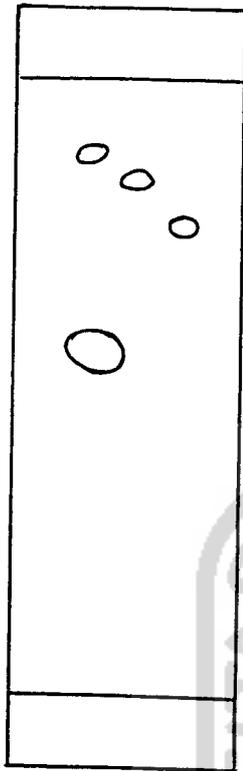
DAUN MAHKOTA DEWA



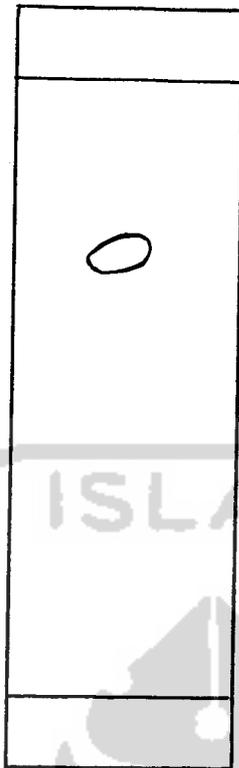
POHON MAHKOTA DEWA

Lampiran 2. Hasil Pengembangan dengan Kromatografi Lapis Tipis

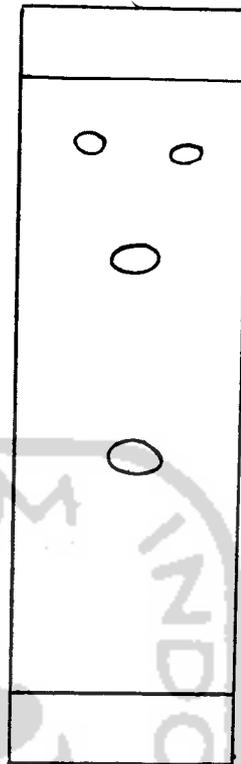




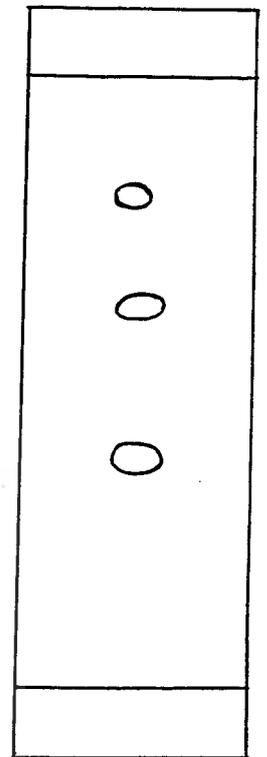
BAA 4 : 1 : 5 v/v



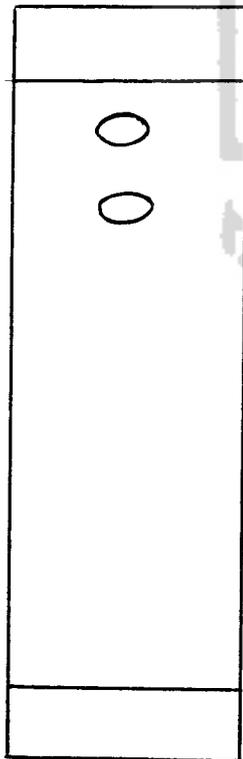
BAA 7 : 1 : 5 v/v



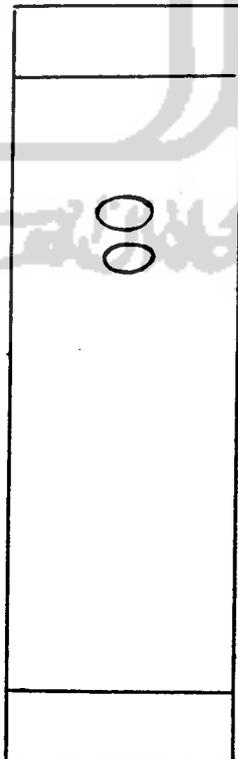
BAA 7 : 2 : 5 v/v



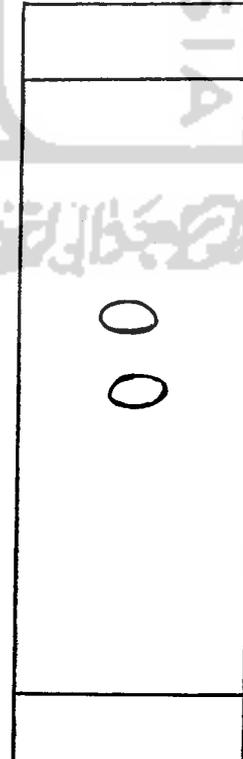
BAA 7 : 2 : 6 v/v



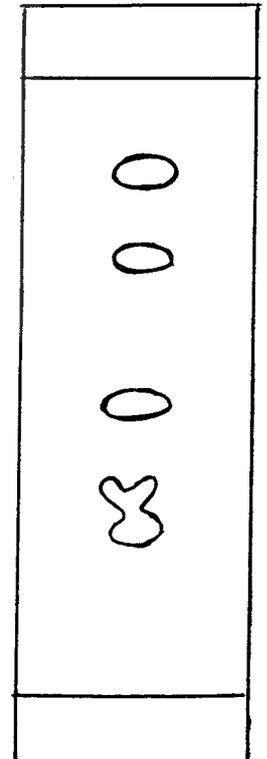
BAA 9 : 1 : 5 v/v



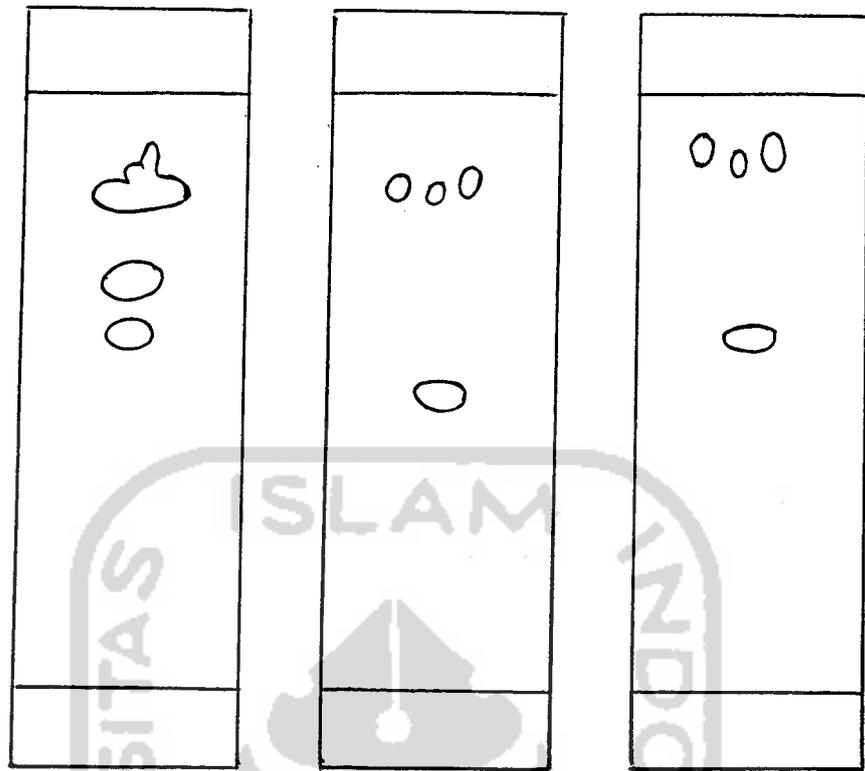
BAA 9 : 1 : 6 v/v



BAA 9 : 2 : 6 v/v



BAA 9 : 3 : 6 v/v



BAA 9 : 4 : 6 v/v

BAA 10 : 1 : 7 v/v

BAA 11 : 1 : 8 v/v



Pembuktian kemurnian isolat flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis dua dimensi