

Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Tumbuhan Lamun *Cymodocea Rotundata* Ehrenberg & Hemprich Ex Ascherson

¹Rian Trilaksana Putra, ²Yani Lukmayani, ³Reza Abdul Kodir
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116
e-mail: ¹riantrilaksanaputra@gmail.com, ²lukmayani@gmail.com,
³reza.abdul.kodir@gmail.com

Abstrak: Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari tumbuhan lamun (*Cymodocea rotundata* Ehrenberg & Hemprich ex Ascherson). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi (etanol 95%) dengan rendemen ekstrak sebesar 17,29% menghasilkan ekstrak kental sebanyak 121 gram. Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Terhadap fraksi etil asetat dilakukan subfraksinasi dengan kromatografi cair vakum dengan sistem elusi landaian. Dilanjutkan dengan pemurnian menggunakan KLT preparatif dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat (6:4) hingga diperoleh isolat. Isolat dilakukan karakterisasi dengan spektrofotometri ultra ungu - sinar tampak yang menunjukkan 2 puncak serapan pada panjang gelombang 275 nm dan 327 nm. Karakterisasi dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi geser NaOH. Berdasarkan karakterisasi isolat, maka dapat disimpulkan bahwa isolat adalah senyawa flavonoid golongan isoflavon.

Kata kunci : Lamun, *Cymodocea rotundata*, isolasi, flavonoid.

A. Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang memiliki wilayah kelautan yang sangat luas sehingga Indonesia disebut sebagai negara maritim. Indonesia memiliki lebih dari 17.000 pulau dan lebih dari 6 juta km² luas laut yang ada dikelilinginya (Kusumoprojo, 2009: 1-7). Biota laut Indonesia memiliki potensi yang besar untuk dilakukan eksplorasi dan sebagai objek dalam suatu penelitian ilmiah (Wibisono, 2005: 1-3). Salah satu biota laut yang dapat dimanfaatkan dalam penelitian adalah lamun. Lamun biasa hidup di perairan tropik dan penyebarannya cukup luas. *Cymodocea rotundata* merupakan spesies lamun yang dominan dan mudah dijumpai hampir diseluruh perairan Indonesia (Dahuri, 2003). Substrat lamun ini diantaranya daerah berpasir, pasir berlumpur, lumpur berpasir, lumpur (Rohanipah, 2009). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Santoso, dkk (2012) menyebutkan bahwa dalam beberapa jenis lamun, diantaranya *Thalassia hempricii*, *Syringodium isoetifolium*, *Cymodocea rotundata* dan *enhalus acoroides* banyak mengandung senyawa-senyawa fenolat. Salah satu senyawa metabolit sekunder terbesar yang termasuk kedalam gugus fenol adalah flavonoid (Markham, 1998:1). Dalam tumbuhan, flavonoid umumnya terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Harborne, 1996:71).

Flavonoid memiliki berbagai fungsi diantaranya adalah untuk pengaturan tumbuh dan fotosintesis, sebagai antimikroba, antivirus, memiliki efek anti tumor, imunostimulan, antiinflamasi, analgesik, anti diare, antihepatotoksis, antihiperlikemia dan sebagai insektisida (Robinson, 1995:191).

Dari uraian diatas maka dapat dibuat rumusan masalah yaitu bagaimana cara untuk melakukan isolasi dan identifikasi golongan flavonoid yang terkandung dalam lamun. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid dari tumbuhan lamun.

B. Landasan Teori

Cymodocea rotundata memiliki bentuk hidup berupa herba dengan habitat akuatik/hidrofit. *C.rotundata* berbau khas dan memiliki rhizoma. Panjang rhizoma di setiap internodus adalah 1-6 cm. Daun *C. rotundata* berwarna hijau, memiliki susunan urat daun yang sejajar, bentuk dasar daun pada ujung dan pangkalnya berbentuk trunkatus, dan tepi daun yang rata. Daun memiliki lebar 3-4 mm, dan panjang daun 3-5 cm (Philips and Menez. 1988: 56). Lamun tumbuh di perairan tropik dan penyebarannya cukup luas (Thomascik *et. al*, 1997). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Putri (2011:30-44) menyatakan, dalam lamun mengandung 4 komponen bioaktif yaitu steroid, triterpenoid, flavonoid, dan fenol hidrokuinon.

Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari, dan akar (Sirait, 2007:129). Flavonoid didalam tumbuhan biasanya terikat dengan gugus gula sebagai glikosida dan aglikon dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Sirait, 2007:129; Harborne, 1996:71).

Flavonoid juga mengandung sistem aromatik terkonjugasi sehingga akan menunjukkan serapan kuat pada daerah spektrum sinar UV dan spektrum sinar tampak (Harborne, 1996:71). Aglikon flavonoid merupakan polifenol yang mempunyai sifat kimia yang sama seperti senyawa fenol yaitu memiliki sifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa (Markham, 1988:15). Flavonoid yang telah diisolasi dari tumbuhan mempunyai berbagai keaktifan biologis antara lain mempunyai keaktifan sebagai obat, insektisida, antimikroba, anti virus, anti jamur, obat infeksi pada luka, mengurangi pembekuan darah di dalam tubuh, mempercepat pembekuan darah di luar tubuh, merangsang pembentukan estrogen pada mamalia, antihipertensi, antioksidan anti tumor dan kanker (Robinson, 1995:191).

Pemisahan merupakan aspek yang paling penting dalam bidang kimia karena kebanyakan materi yang terdapat di alam berupa campuran, sehingga untuk mendapatkan materi yang murni (isolat) dari suatu campuran maka dilakukan proses pemisahan (Hendayana, 2006:1).

C. Hasil Penelitian

Cymodocea rotundata merupakan salah satu lamun dari suku cymodocea, bahan diperoleh langsung dari pantai Ujung Genteng, Jawa Barat. Determinasi bahan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Pusat Penelitian Oseanografi, Jakarta.

Simplisia segar tumbuhan lamun segar diperoleh sebesar 3 Kg, dan simplisia kering diperoleh 700 gram.

Dilakukan penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak. Penetapan parameter standar simplisia dilakukan untuk menjamin kualitas bahan yang digunakan dalam penelitian. Hasil penetapan parameter standar dapat dilihat pada tabel C.1

Tabel C.1. Penetapan Parameter Standar Simplisia

| No | Parameter | Hasil (Rata-rata) |
|----|----------------------------|--|
| 1 | Kadar Abu Total | 4,570% |
| 2 | Kadar Abu Tidak Larut Asam | 0,598% |
| 3 | Kadar Sari Larut Air | 15,180% |
| 4 | Kadar Sari Larut Etanol | 13,920% |
| 5 | Kadar Air | 7,740% |
| 6 | Susut Pengerinan | 8,100% |
| 7 | Organoleptis | Berwarna hijau kehitamar bau khas seperti teh, dan rasa pahit dan asin |

Penapisan fitokimia merupakan tahapan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan, baik dalam bentuk simplisia maupun ekstrak. Penapisan fitokimia ini dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol 95% dari tumbuhan lamun hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada tabel D.2

Tabel C. 2. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak

| No | Golongan Senyawa | Simplisia | Ekstrak etanol 95% |
|----|-------------------------|-----------|--------------------|
| 1 | Alkaloid | + | + |
| 2 | Tannin | + | + |
| 3 | Flavonoid | + | + |
| 4 | Kuinon | + | + |
| 5 | Saponin | - | - |
| 6 | Monoterpen/ Seskuitrpen | + | + |
| 7 | Steroid/Triterpenoid | + | + |
| 8 | Senyawa Polifenol | + | + |

Keterangan:

- (+) = teridentifikasi
(-) = tidak teridentifikasi

Dari tabel diatas juga dapat diketahui bahwa pada simplisia dan ekstrak etanol 95% lamun terkandung senyawa golongan alkaloid, tannin, flavonoid, kuinon, monoterpen, steroid dan senyawa polifenolat.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Proses ekstraksi menggunakan serbuk simplisia sebanyak 700 gram dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95% dengan perbandingan 1:10. Pemekatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C. Kemudian untuk memaksimalkan pemekatan dilakukan dengan menggunakan *waterbath*. Hasil pemekatan diperoleh ekstrak kental sebanyak 121 gram. Dari hasil pemekatan tersebut dapat diperoleh rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak yang diperoleh adalah 17,29 %.

Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi cair vakum. Dari 110 gram ekstrak etanol digunakan untuk fraksinasi. Hasil fraksinasi diperoleh fraksi n-heksan sebanyak 0,20112 gram dan fraksi etil asetat sebanyak 0,66867 gram.

Proses selanjutnya dilakukan pemantauan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis untuk menentukan fraksi mana yang dipilih untuk dilakukan isolasi. Fase diam yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis ini adalah silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yaitu etil asetat : n-heksan (6:4).

Hasil pemantauan KLT menunjukkan bahwa fraksi terpilih adalah fraksi etil asetat karena menunjukkan pemisahan yang baik, sejajar dengan pembanding kuersetin, memiliki warna bercak yang sama dan memiliki nilai R_f 0,6.

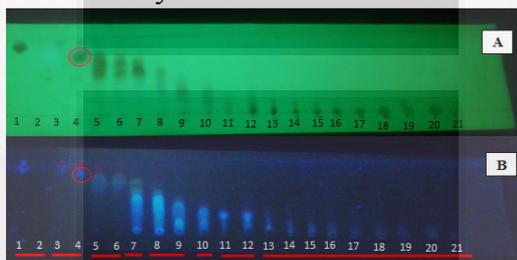


Gambar C.1 Kromatogram hasil pemantauan KLT fase gerak etil asetat : n-heksan (6:4)

Keterangan:

1:Ekstrak etanol 95%, 2: Fraksi n-heksana,
3: Fraksi Etil asetat, 4:Pembanding :kuersetin

Terhadap fraksi etil asetat dilakukan pemurnian lagi dengan menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dengan fase diam yaitu silika gel 60 H dan fase gerak yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Sistem elusi yang digunakan adalah elusi gradien dengan volume eluen sebanyak 25 mL.



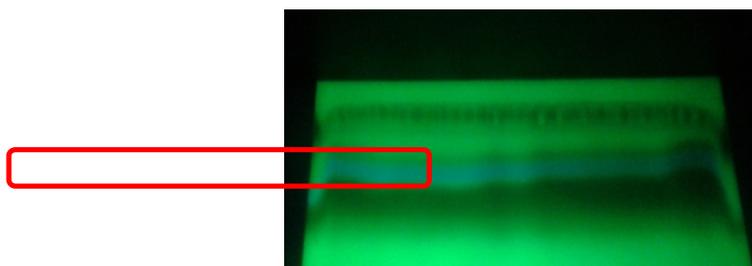
Gambar C.2.Kromatogram fraksi hasil KCV yang diduga senyawa flavonoid dan fase gerak yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol dengan elusi gradien

Keterangan :

A: Pemantauan dengan Sinar UV 254 nm
B: Pemantauan dengan sinar 365 nm

Dari kromatogram diatas dihasilkan ada 8 fraksi gabungan yang memiliki bercak yang sejajar. Dari 8 fraksi gabungan dipilih lagi pemisahan yang terbaik, dari kromatogram dilihat bahwa pada fraksi no.4 terlihat bercak yang diduga senyawa flavonoid dengan pemisahan terbaik, terhadap fraksi terpilih kemudian dilakukan isolasi.

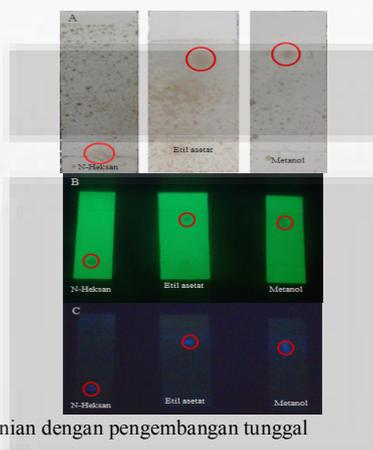
Teknik isolasi dengan menggunakan metode KLT preparatif ini merupakan tahapan lanjutan yang digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoid dengan senyawa lain yang terdapat dalam fraksi untuk memperoleh isolat murni. Fraksi yang digunakan adalah fraksi nomor 4, terhadap fraksi dilakukan pemantauan dengan KLT analitik untuk menentukan fase gerak yang tepat. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat : n-heksan (4:6). Setelah mendapatkan fase gerak yang tepat, dilakukan isolasi atau dimurnikan dengan menggunakan metode KLT preparatif, digunakan fase diam silika gel GF254. Terhadap plat KLT preparatif dilakukan aktivasi terlebih dahulu untuk menghilangkan pengotor dan air yang masih terdapat dalam plat KLT (Kusmardiyani dan Nawawi, 1992). Hasil KLT preparatif dapat dilihat pada gambar C.3 dibawah ini:



Gambar C.3. Kromatogram fraksi KLT preparatif yang diduga senyawa flavonoid dengan fase gerak etil asetat : n-heksan (4:6)

Dari hasil pengamatan terhadap KLT preparatif terdapat 1 pita yang terbentuk, berwarna biru dan coklat. Kedua pita tersebut kemudian dikerok dan dimasukkan kedalam vial. Kemudian dilarutkan dengan menggunakan metanol setelah itu disaring. Terhadap isolat dilakukan uji kemurnian.

Isolat yang didapatkan diuji kemurnian dengan metode KLT pengembangan tunggal dan KLT dua dimensi. Pada KLT pengembangan tunggal digunakan tiga jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu nonpolar (n-heksan), semipolar (etilasetat), dan polar (metanol). Hasil KLT pengembang tunggal dapat dilihat pada gambar C.4 dibawah ini :



Gambar C.4. Kromatogram hasil uji kemurnian dengan pengembangan tunggal

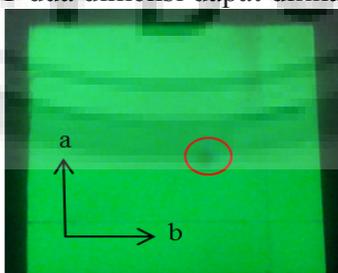
Keterangan :

A. Dengan penampang bercak H₂SO₄ 10%

B. Dibawah sinar UV 254

C. Dibawah sinar UV 366

Hasil KLT pengembang tunggal menunjukkan hanya ada satu bercak, hal ini menandakan bahwa isolat telah murni. Pada uji kemurnian dengan KLT dua dimensi menggunakan dua jenis campuran eluen, yaitu yang bersifat kurang polar dan lebih polar. Hasil Uji kemurnian KLT dua dimensi dapat dilihat pada gambar C.5 berikut :



Gambar C.5 Hasil pengujian KLT dua dimensi dengan fase gerak:

a. Etil asetat : n-heksan (4:6)

b. etil asetat: n-heksan (6:4)

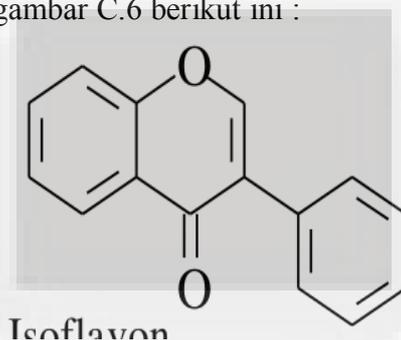
Dari hasil KLT dua dimensi dapat dilihat, hanya menghasilkan satu bercak setelah dilakukan KLT dua dimensi. Hal ini menunjukkan bahwa isolat telah murni.

Terhadap isolat yang didapat dilakukan karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible dengan menggunakan pereaksi geser NaOH. Pereaksi geser berfungsi untuk menentukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid (Markham, 1988: 38). Hasil pemantauan dengan spektrofotometer ultra ungu-sinar tampak dapat dilihat pada tabel C.3 berikut ini:

Tabel C.3. Penafsiran Spektrum ultra ungu-sinar tampak dengan Pereaksi Geser

| | Pita II | Pita I | Pergeseran Pita II | Pergeseran Pita I | Keterangan |
|---------|---------|----------|----------------------|----------------------|--------------------------|
| Metanol | 275 | 327 Bahu | - | - | Isoflavon |
| NaOMe | 274 | 327 | Tidak ada pergeseran | Tidak ada pergeseran | Tidak ada OH di cincin A |

Dari data tabel IV.3 menunjukkan bahwa spektrum dengan pelarut metanol menghasilkan pita II 275 nm dan pita I 327 nm, dimghhana data tersebut berada pada rentang 245-275 nm pada pita II dan 310-330 nm pada pita I yang menunjukkan kelompok flavonoid isoflavon. Setelah itu dilakukan penambahan pereaksi geser NaOH. Hasil penambahan pereaksi geser NaOH, pita I dan pita II tidak mengalami pergeseran. Hal ini menunjukkan bahwa pada isoflavon tidak ada OH pada cincin A. Struktur isoflavon dapat dilihat pada gambar C.6 berikut ini :



Gambar C.6. Struktur Isoflavon

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa dari tumbuhan lamun berhasil diisolasi senyawa flavonoid yang termasuk kedalam golongan isoflavon.

Daftar Pustaka

- Dahuri, Rokhmin. (2003). *Keanekaragaman Hayati Laut: Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia*, PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Harborne, J.B. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan kedua*. Penerbit ITB, Bandung.
- Hendayana, S.(2006). *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan elektroforesis Modern*, PT Remaja Rosda Karya, Bandung.

- Kusumoprojo, W.S. (2009). *Indonesia Negara Maritim, Cetakan kedua.*, Penerbit: Teraju., Jakarta.
- Markham, K.R. (1998). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung.
- Philips, C.R. and E.G. Menez. 1988. *Seagrass. Smith Sonian*. Institutions Press.Washington DC
- Putri, A.P. (2011). *Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun Dugong (Thalassia hemprichii) [Sripsi]*, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB, Bogor.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Santoso, dkk., 2012. *Phenol Content, Antioxidant Activity And Fibers Profile Of Four Tropical Seagrasses From Indonesia [Jurnal]*. Fakultas Perikanan dan Kelautan IPB, Bogor.
- Sirait, M. (2007). *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Tomascik, T., Mah, A.J., Nontji, A., dan Moosa, M.K., (1997). *The Ecologi Of Indonesian Seas*. Part two. The Ecologi of Indonesia Series. Volume VII.
- Wibisono, M.S. (2005). *Pengantar Ilmu Kelautan*, Penerbit PT Grasindo. Jakarta.