

Kode>Nama Rumpun Ilmu: /Kimia

## LAPORAN PENELITIAN



## UJI KUALITATIF EKSTRAK ORGANIK OKTANOL PADA BUAH LABU SIAM

### TIM PENGUSUL Peneliti

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.  
NIDN : 0522028503

**POLITEKNIK KESEHATAN TNI AU ADISUTJIPTO  
YOGYAKARTA  
FEBRUARI 2024**

## HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Uji Kualitatif Ekstrak Organik Oktanol pada Buah Labu Siam
2. Bidang ilmu penelitian : Kimia
3. Ketua Peneliti :
  - a. Nama Lengkap : Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.
  - b. Jenis Kelamin : Pria
  - c. NIDN : 0522028503
  - d. Pangkat/Golongan :
  - e. Jabatan Fungsional :
  - f. Fakultas/Jurusan : Farmasi
  - g. Perguruan Tinggi : POLTEKKES TNI AU ADISUTJIPTO
4. Jumlah TIM Peneliti : 1 orang
5. Lokasi Penelitian : Laboratorium (eksperimental)
6. Waktu Penelitian : 6 Bulan
7. Biaya : Rp. 3.000.000,-

Ketua Prodi Farmasi  
Poltekkes TNI AU Adisutjipto

apt. Unsa Izzati, M.Farm



Yogyakarta, Februari 2024  
Peneliti,

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.

NIDN : 0522028503

Menyetujui,  
Kepala UPT Penelitian dan Pengabdian  
Masyarakat

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc.

NIDN : 0522028503

## HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Uji Kualitatif Ekstrak Organik Oktanol pada Buah Labu Siam
2. Bidang ilmu penelitian : Kimia
3. Ketua Peneliti :
  - a. Nama Lengkap : Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.
  - b. Jenis Kelamin : Pria
  - c. NIDN : 0522028503
  - d. Pangkat/Golongan :
  - e. Jabatan Fungsional :
  - f. Fakultas/Jurusan : Farmasi
  - g. Perguruan Tinggi : POLTEKKES TNI AU ADISUTJIPTO
4. Jumlah TIM Peneliti : 1 orang
5. Lokasi Penelitian : Laboratorium (eksperimental)
6. Waktu Penelitian : 6 Bulan
7. Biaya : Rp. 3.000.000,-

Ketua Prodi Farmasi  
Poltekkes TNI AU Adisutjipto

apt. Unsa Izzati, M.Farm



Yogyakarta, Februari 2024  
Peneliti,

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.

NIDN : 0522028503

Menyetujui,  
Kepala UPT Penelitian dan Pengabdian  
Masyarakat

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc.

NIDN : 0522028503

## INTISARI

Telah dilakukan penelitian mengenai kandungan flavonoid pada labu siam. Metode yang digunakan adalah menggunakan Kromatografi lapis tipis 2 dimensi dengan bahan silika.

Eluen yang digunakan berupa BAA (n-butanol-asam asetat-air) dan diklorometana : etil asetat (97,5 : 2,5) (Mahmiah, 2006). Pereaksi semprot yang digunakan adalah  $AlCl_3$  dan asam sulfanilat terdiazotasi sebagai penanda bercak agar Nampak pada sinar UV. Larutan HCL 1% dan NaOH 20% digunakan sebagai uji pendahuluan.

Dari hasil intepretasi dapat diketahui bahwa dalam buah labu siam terdapat beberapa senyawa yaitu :Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai 5-OH bebas yang teridentifikasi timbul dari dihidroflavonol, Teridentifikasi 6 atau 8-OH flavon dan flavonol 3-O dan mempunyai 5-OH, Khalkon Isoflavon. Antosianidin-3,5-diglikosida

## ABSTRACT

Research has been conducted on the flavonoid content of chayote. The method used is 2-dimensional thin layer chromatography with silica material.

The eluent used is BAA (n-butanol-acetic acid-water) and dichloromethane: ethyl acetate (97.5 : 2.5) (Mahmiah, 2006). The spray reagent used is AlCl<sub>3</sub> and diazotized sulfanilic acid as a spot marker that is visible in UV light. 1% HCL and 20% NaOH solutions were used as a preliminary test.

From the results of the interpretation it can be seen that in chayote fruit there are several compounds, namely: Flavonols which contain free 3-OH and have free 5-OH identified as arising from dihydroflavonol, Identified 6 or 8-OH flavones and 3-O flavonols and have 5- OH, Chalcone Isoflavone. Anthocyanidin-3,5-diglycoside

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Labu siam (*Sechium edule*) merupakan buah-buahan yang dapat dijadikan sayuran dan dikenal sebagai sayuran yang dapat mengobati (obat herbal) yang biasa digunakan untuk radang tenggorokan dan pereda nyeri. Labu siam ini terkenal tergolong famili *Cucurbitaceae* telah cukup diketahui mempunyai potensi sebagai obat pada beberapa penyakit. Kandungan Labu Siam diantaranya alkaloid, saponin, bufadienol dan flavonoid telah diteliti oleh Marliana dkk. (2005) dengan melakukan berbagai uji kualitatif namun tidak sampai pada penentuan jenis flavonoid yang ada. Hal tersebut membuktikan bahwa didalam buah labu siam ini memang terkandung berbagai senyawa tersebut yang dapat berfungsi sebagai obat. Ragasa dkk. (2014) telah meneliti kandungan gizi yang terdapat pada buah labu siam. Selain mengandung alkaloid, saponin, bufadienol dan flavonoid, ternyata buah siam memiliki kandungan gizi berupa asam trans-sinamat, asam fenil asetat, asam oktadekanoat, trilinolenin dan asam  $\alpha$ -linolenat. Kandungan daun labu siam juga memiliki kandungan yang dibutuhkan tubuh yaitu asam sinamat dan asam  $\alpha$ -linolenat yang pernah dilaporkan sebagai antimikroba dan juga penyembuh hipoglikemia, anti-maag dan antioksidan. Firdous dkk. (2012) juga telah mengkaji mengenai khasiat dari ekstrak etanol dari buah siam ini yang diduga dapat digunakan sebagai obat anti-epilepsi dan obat gangguan saraf pusat. Ekstrak etanol buah siam ini kemudian diujikan pada tikus dan menunjukkan hasil yang signifikan dengan dosis 200 mg/kg berat badan.

Flavonoida atau flavonoid merupakan suatu golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung merata dalam tumbuh-tumbuhan, sehingga tumbuhan berkayu mempunyai kandungan ini yang secara umum bervariasi, dan juga termasuk salah satu senyawa golongan fenol alam dengan kelimpahan terbesar. Kandungannya dalam tumbuhan terdapat sebagai campuran dan jarang ditemukan sebagai flavonoid murni. Terimobilisasi pada gula sebagai suatu senyawa glikosida dan aglikon flavonoid dalam bentuk aglikosida. Senyawa-senyawa

flavonoid ini bertanggung jawab terhadap respon zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning dalam tumbuhan. Semua flavonoid menurut strukturnya merupakan derivatif senyawa induk “ flavon “ yaitu sejenis flavonoid yang kelimpahannya terbesar dan juga sering ditemukan. Flavonoid dalam tumbuhan mempunyai empat fungsi diantaranya sebagai pigmen warna, fungsi fisiologi dan patologi, aktivitas farmakologi dan Flavonoid sebagai zat esensial dalam makanan

Flavonoid merupakan pigmen atau senyawa yang disintesis dari fenilananin (Harbone dan Turner dalam Yao dkk., 2004). Flavonoid juga banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran yang dikonsumsi manusia secara umum, merupakan unsur yang penting untuk tubuh dan memiliki sifat aktivitas farmakologi. Banyak usulan mengenai mekanisme flavonoid yang berinteraksi dengan molekul dalam tubuh ataupun terhadap makanan yang kita makan. Dalam perkembangannya usulan tersebut merupakan suatu pencapaian dalam penelitian yang masih bersifat membandingkan sehingga diperlukan suatu referensi yang dapat dijadikan suatu pedoman dalam kajian flavonoid dan bahan makanan serta interaksinya.

Penyerapan suatu molekul esensial maupun non-esensial dalam tubuh manusia melalui sistem membran. Membran dalam tubuh manusia berupa sistem lipida bilayer yang mempunyai sifat meneruskan suatu senyawa yang bersifat kepolaran sama dengan tubuh. Sifat kepolaran ini sangat berhubungan erat dengan molekul organik. Tubuh manusia apabila digambarkan seperti halnya sebuah 3 kompartmen yaitu lingkungan luar, membran dan lingkungan dalam. Membran dianalogikan sebagai fase organik atau suatu hal yang menyerupai. Fase organik dapat diasumsikan sebagai suatu fase atau lapisan dalam tubuh manusia yang sama kepolarannya dengan zat-zat kimia organik esensial.

Pemaparan labu siam (*Sechium edule*) sebagai salah satu obat herbal yang telah dikaji oleh beberapa negara, telah membuka suatu alasan penelitian tentang kandungan secara instrinsik yang ada di dalamnya, namun mengenai suatu penelitian secara teknik separasi (pemisahan yang mudah, ekonomis serta

menghemat waktu) dan identifikasi kualitatif belum banyak dilakukan. Hal ini menjadi alasan peneliti untuk mengkaji secara teknik separasi dan identifikasi kualitatif mengenai kandungan (jenis) flavonoida ada dalam ekstrak organik berupa pelarut polar yaitu n-butanol. Metode ekstraksi yang digunakan adalah dengan maserasi yang kemudian hasil ekstrak diembankan pada KLT (Kromatografi Lapis Tipis terembankan plat aluminium) 2 arah dengan bahan pengembang yang digunakan berupa BAA dan diklorometana : etil asetat (97,5 : 2,5). Titik-titik distribusi kemudian dikarakterisasi menurut warna yang ditimbulkan sesudah dikenai uap NH<sub>3</sub> pekat dan disinari lampu UV 366 nm (Markham, 1988).

### **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid aktif yang terdapat dalam fase organik dari labu siam (*Sechium edule*).

### **C. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diketahui bahwa labu siam (*Sechium edule*) mempunyai aktivitas farmakologi yang telah dibuktikan dalam berbagai penelitian namun dalam pencapaian penelitian tersebut kurang mendapat perhatian pada identifikasi senyawa flavonoid aktif yang terdapat dalam fase organik dalam biji mahoni. Dalam penelitian ini dibuat suatu perumusan masalah yaitu apakah terdapat kandungan flavonoid aktif dalam fase organik n-butanol dari labu siam (*Sechium edule*) atau tidak.

### **D. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis penelitian ini adalah :

Terdapat kandungan flavonoid aktif dalam fase organik n-butanol dari labu siam (*Sechium edule*)



### **E. Target Luaran**

Diharapkan dengan dilakukannya penelitian ini pihak kesehatan, pendidikan dan masyarakat dapat mengetahui jenis kandungan esensial dalam labu siam (*Sechium edule*) sehingga dapat digunakan dalam pertimbangan dalam pemilihan obat herbal. Bagi peneliti sendiri target luaran berupa :

1. Publikasi dalam bentuk jurnal medisinal dan presentasi seminar hasil penelitian
2. Referensi untuk buku-buku obat herbal

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. FLAVONOIDA**

Semua senyawa derivatif flavonoid/ flavonoida saling berkaitan karena melalui jalur biosintesis yang sama, baik melalui jalur reaksi asetat-malonat maupun jalur reaksi sikimat. Flavonoid mempunyai struktur yang khas dan karakteristik yang terdapat pada hampir semua tumbuhan terutama sebagai pigmen pada bunga maupun pada buah-buahan. Karakteristik yang dipunyai oleh flavonoid diantaranya adalah :

1. Kelimpahan terbesar bentuk flavonoid maupun turunannya berbentuk glikosida, dan sisanya ada dalam bentuk aglikon, sulfat dan biflavonoid
2. Ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, tidak terdapat pada mikroorganisme seperti bakteri, alga, jamur.
3. Flavonoida merupakan salah satu kelas yang tergolong sebagai senyawa fenolat alami
4. Sebagai pigmen
5. Mempunyai sifat menyembuhkan

Flavonoid glikosida mempunyai 2 bentukan diantaranya flavonoid O-glikosida dan C-glikosida. Pada flavonoid O-glikosida terdapat satu gugus hidroksil atau lebih yang terikat pada satu molekul glukosa atau lebih dengan ikatan yang mudah terhidrolisis berupa hemiasetal yang tidak stabil dalam suasana asam. Pengaruh yang nampak dari adanya glikosida ini yaitu flavonoid menjadi kurang reaktif dan lebih suka larut dalam anorganik (air/polar). Pada flavonoid C-glikosid, inti benzena dari flavonoid berikatan dengan atom C pada glukosa. Ikatan yang terjadi adalah kovalen non polar yang tahan dalam suasana asam. Jenis glukosa yang digunakan untuk berikatan atau imobilisasi menjadi lebih sedikit (Markham, 1988).

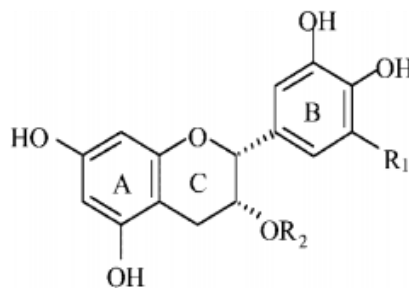
Jenis atau rumpun flavonoid lain yang dapat larut dalam air yaitu flavonoid sulfat. Flavonoid ini hanya mengandung satu ion sulfat atau lebih yang

terikat pada gugus fenol. Jenis flavonoid ini hanya terdapat pada tumbuhan *angiospermae* yang mempunyai ekologi dengan habitat air.

Biflavonoid merupakan flavonoid dimer yaitu bentuk 2 flavonoid yang saling berikatan. Flavonoid jenis ini berupa flavon dan flavanon yang berikatan secara biosintesis ataupun berjenis sama atau beda. Sifat kimia dan fisika biflavonoid menyerupai monoflavonoidnya dan terkadang bioflavonoid sulit dibedakan dengan bentuk monomernya. Kekhasan biflavonoid ini tersebar pada tumbuhan *gymnospermae*.

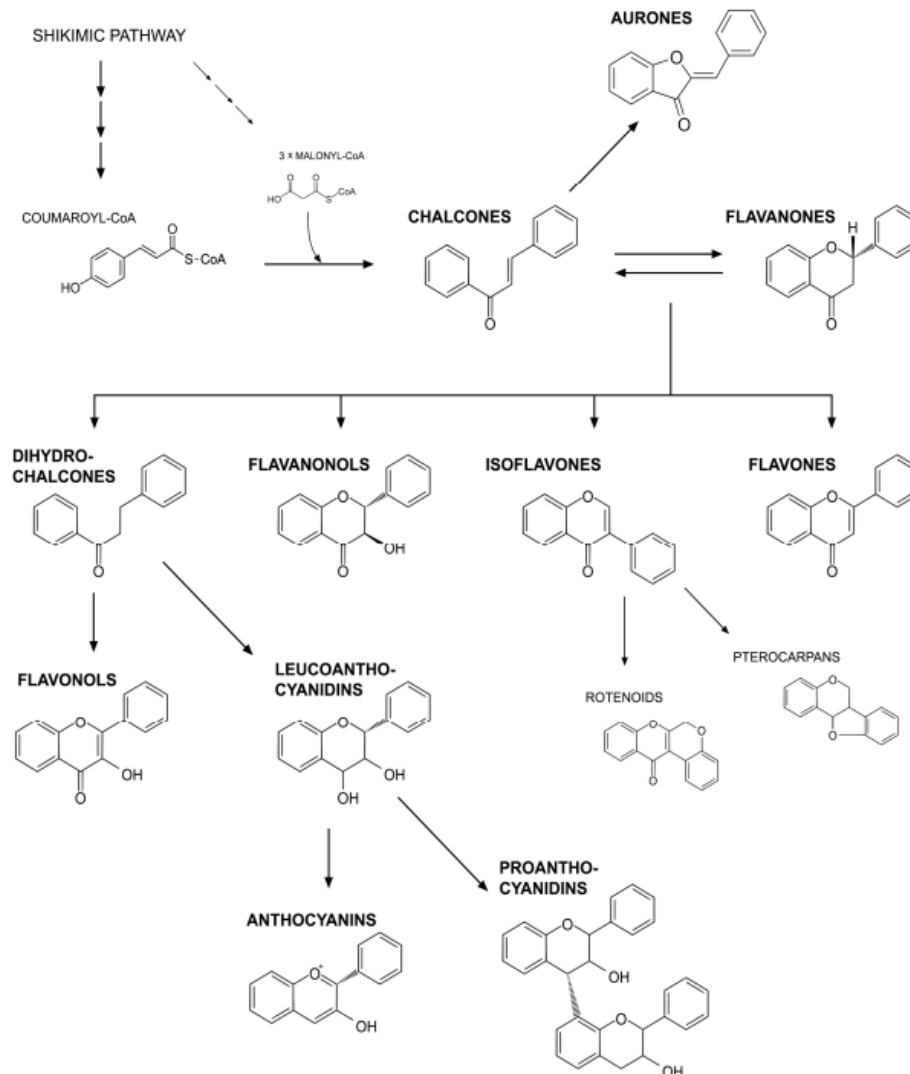
Pengenalan senyawa flavonoid dapat dilakukan dalam pelarut metanol. Spektrum metanol untuk flavon dan flavonol memberikan 2 daerah maksimum serapan maksimal yaitu 240-400 nm (Matsjeh, 1997). Kedua serapan ini muncul sebagai daerah 240-280 nm karena serapan sistem cincin benzoil dan daerah 300-380 nm sebagai serapan oleh gugus sistem C-sinamoiil

Struktur dasar dari flavonoid ditunjukkan pada Gambar 1. Terdapat 3 sistem cincin yaitu cincin A, B dan C. Sistem cincin A disebut sebagai cincin Benzoil A sedangkan cincin B dan C disebut sebagai gugus C-sinamoiil.



**Gambar 1 Struktur Dasar Flavonoid (Yao dkk, 2004)**

Turunan derivatif dari flavonoid dapat ditunjukkan pada jalur Gambar 2. Melalui jalur sikimat inilah yang kemudian melalui jalur asetat malonat yang menjadi senyawa khalkon. Tautomeri terjadi pada senyawa khalkon yang kemudian berubah menjadi Flavanon.



**Gambar 2 Hubungan Antar Monomer Flavonoid (Mierziak dkk., 2014)**

Senyawa flavonoid secara kualitatif dapat dikenali melalui berbagai cara. Pengenalan atau identifikasi ini dilakukan dengan cara (Matsjeh, 2011) :

1. Menggunakan tes warna pada kromatografi lapis tipis (KLT) ataupun dengan kromatografi kertas 1 arah maupun 2 arah dengan menggunakan pengembang yang berbeda
2. Bereaksi Gas  $\text{NH}_3$  berwarna kuning
3.  $\text{FeCl}_3$  sebesar 1% dalam air atau menggunakan etanol menghasilkan warna hijau merah, ungu, biru, hitam atau coklat tua
4. Bereaksi  $\text{FeCl}_3\text{-K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (1:1) berwarna biru

5. Bereaksi dengan logam Mg dalam larutan HCl berwarna merah
6. Bereaksi dengan vanilin dalam larutan HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> menghasilkan warna merah muda untuk resorsinol dan floroglusinol
7. Bereaksi dengan AlCl<sub>3</sub> 5% dalam etanol
8. Bereaksi dengan Folin-Ciocalteu dan uap NH<sub>3</sub> berwarna biru untuk katekol dalam hidrokuinon

B. Labu siam (*Sechium edule*)

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental karena melakukan identifikasi kualitatif kadar flavonoid aktif pada Labu siam (*Sechium edule*).

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan secara eksperimental di dalam laboratorium POLTEKKES TNI AU ADISUTJIPTO untuk menguji secara kualitatif mengenai kandungan senyawa flavonoid dalam Labu siam (*Sechium edule*).

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### 1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Labu siam (*Sechium edule*) yang tumbuh di Kabupaten Magelang, Jawa Tengah

##### 2. Sampel

Sampel yang digunakan yaitu Labu siam (*Sechium edule*) yang setengah matang dan besar, tumbuh di Kabupaten Magelang, Jawa Tengah.

#### **D. Bahan dan Alat**

##### 1. Bahan yang diperlukan

Uji kualitatif yang dilakukan memerlukan bahan berupa Kertas Whatman 3MM sebagai bahan pengemban Kromatografi Kertas dengan eluen berupa BAA (n-butanol-asam asetat-air) dan diklorometana : etil asetat (97,5 : 2,5) (Mahmiah, 2006). Pereaksi semprot yang digunakan adalah  $AlCl_3$  dan asam sulfanilat terdiazotasi sebagai penanda bercak agar Nampak pada sinar UV. Larutan HCL 1% dan NaOH 20% digunakan sebagai uji pendahuluan

##### 2. Alat yang diperlukan

Kapiler penotol, gelas ukur, *Chamber*, corong pisah, spray, gelas beaker, pengaduk gelas, mortar porselin, pipet tetes

#### **D. Instrumen Penelitian**

##### 1. Timbangan Analitik

Digunakan untuk menimbang bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini

##### 2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Digunakan untuk memisahkan komponen target yang akan diteliti. Disertai dengan detector berupa sinar UV.

### **E. Cara Kerja**

#### 1. Pembuatan ekstrak Labu siam (*Sechium edule*)

Ditimbang bersih, kering dan telah dicuci kemudian ditimbang sebanyak 50 gram dan dihancurkan dengan mortar porselin. Labu siam (*Sechium edule*) yang telah dihancurkan kemudian dimasukkan dalam gelas beaker 1 L dan dituangkan 100 mL n-butanol dan etil asetat (2:1) serta didiamkan selama 4x24 jam dan ditutup. Hasil perendaman kemudian didekantir untuk selanjutnya digunakan kertas saring setelah itu sampel dipekatkan dengan pengurangan tekanan uap.

#### 2. Preparasi Kromatografi Kertas

Kertas Whatman 3MM dipotong berbentuk bujur sangkar yaitu 20 cm x 20 cm, bagian yang ditotolkan sampel sejauh 1 cm dari batas bawah, bagian atas diberi garis pensil sejauh 3 cm dari atas yang sudah ditekuk 1cm untuk menggantungkan kromatografi kertas.

#### 3. Uji Pendahuluan

Sebanyak ekstrak Labu siam (*Sechium edule*) 2 mL ditempatkan pada tabung reaksi kemudian diasamkan dengan 1% HCl dan dilarutkan dalam 20% NaOH. Endapan warna kuning membuktikan terdapatnya flavonoid

#### 4. Pembuatan Eluen BAA

Pembuatan campuran larutan n-butanol : Asam Asetat : Air = 4 : 1 : 5 (perbandingan volume) kemudian dicampur dengan homogen di dalam corong pisah, dipakai fase atas dengan waktu penggunaan tidak lebih dari 17 jam.

#### 5. Pembuatan Eluen diklorometana : etil asetat

Pembuatan campuran larutan diklorometana : etil asetat = 97,5 : 2,5 (perbandingan volume) kemudian dicampur dengan homogen di dalam corong pisah

#### 6. Pereaksi Semprot $AlCl_3$

Pembuatan larutan  $AlCl_3$  5% dengan pelarut air. Pereaksi  $AlCl_3$  ini menunjukkan hasil positif terhadap semua 5-hidroksi-flavonoid sebagai bercak berfluorensensi kuning bila dilihat menggunakan lampu UV 366 nm.

#### 7. Pereaksi Vanilin-HCl

Pembuatan vanillin 5% dengan pelarut etanol kemudian dicampurkan dengan HCl pekat dengan perbandingan 4 : 1 tepat sebelum digunakan

#### 8. Pereaksi asam sulfanilat terdiazotasi

Larutan asam sulfanilat 0,3% dalam HCl 8% (25 mL) dicampur dengan larutan natrium nitrit 5% (1,5 mL) tepat sebelum digunakan kemudian dikeringkan, setelah kering lalu disemprot dengan natrium karbonat 20%. Bercak akan terlihat berwarna kuning, jingga, atau merah menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai gugus fenol.

#### 9. Penotolan sampel pada kromatografi kertas

Penotolan sampel pada kertas kromatografi hendaknya jangan terlalu encer dengan menjaga garis tengah tidak lebih dari diameter 1 cm. Penotolan digunakan pipa kapier yang sudah dibuat runcing ujungnya, dilakukan penotolan berulang kali sambil dijeda supaya kering dahulu sebelum penotolan selanjutnya. Penotolan dilakukan sebanyak 3 kali sampai hasil totolan nampak. Penotolan dilakukan dibagian kiri bawah sejajar dengan serat kertas. Kertas dipreparasi dengan pelipatan tempat penotolan noda sejauh 1 cm dan bagian atas diberi garis pensil sejauh 3 cm kemudian ditekuk 1 cm dari jarak yang sama dengan penarikan garis (berfungsi untuk menggantungkan).

Setelah penotolan sampel berupa noda dilakukan kemudian dikeringkan dan jangan sampai senyawa kontaminan sampai dimasukkan dalam *chamber*. Chamber disiapkan dengan penjenjuran menggunakan BAA sebagai eluen pertama. Penjenjuran ini menggunakan kertas saring yang dipotong seperti pita tipis memanjang. Tanda sudah jenuh yaitu kertas saring berupa pita sudah basah dengan cara dicelup sebagian kecil kemudian digantungkan. Kertas kromatografi yang sudah siap dimasukkan dengan mencelupkan bagian bawah dengan catatan noda totolan tidak terbenam, kemudian ditunggu sampai eluen naik ke atas dan sampai tanda batas. Setelah mencapai tanda batas diangkat dan dikeringkan, lalu chamber dibersihkan dan diisi dengan eluen yang kedua dengan teknik yang sama.

#### 10. Identifikasi awal penentuan flavonoid glikosida atau aglikon

Setelah dilakukan kromatografi kertas 2 arah maka hal selanjutnya yang dilakukan adalah identifikasi awal apakah senyawa tersebut glikosida atau aglikon. Dengan menggunakan bantuan sinar UV dan uap  $\text{NH}_3$  maka dapat ditafsirkan struktur flavonoid dari warna bercak.

### **F. Cara Pengumpulan Data**

Data primer yang pertama berupa kromatogram kertas 2 arah yang menampilkan beberapa bercak-bercak atau noda pemisahan. Dari data primer ini diperoleh prakiraan banyaknya hasil pemisahan senyawa flavonoid yang terjadi baik yang bersifat glikosida ataupun aglikon. Arah pertama saat terelusi dengan BAA adalah identifikasi banyaknya flavonoid yang bertipe glikosida sedangkan arah kedua saat elusi diklorometana : etil asetat adalah identifikasi flavonoid berupa aglikon. Setelah mendapatkan banyaknya hasil pada kromatogram KKt (Kromatografi Kertas) maka peningkatan kinerja Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)



dilakukan. Hasil KCKT minimal banyaknya sama dengan hasil pada KKt. Dalam KCKT ini hasil yang diperoleh dideteksi dengan sinar UV 366 nm dan pita yang dihasilkan dapat ditampung menggunakan tabung ependorf yang selanjutnya dikarakterisasi menggunakan Spektroskopi Massa.

#### **G. Analisis Data**

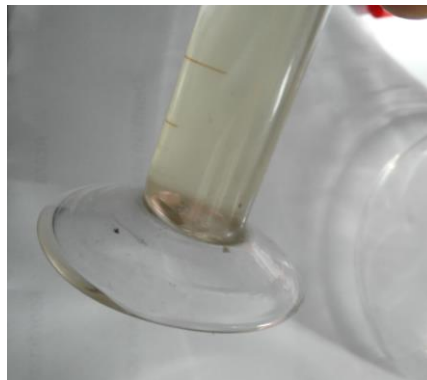
Analisis data dari hasil KKt merujuk pada Markham (1988). Identifikasi yang dilakukan merujuk pada perbedaan flavonoid berjenis glikosida dan aglikon. Identifikasi ini bersifat penafsiran banyaknya gugus -OH dan lokasi gugus -OH atau bahkan flavonoid bebas. Sementara itu, hasil dari KCKT yang terhubung dengan Spektroskopi Massa dilakukan berdasar pada penataulangan karbon-karbon / *Carbons Rearrangement* sehingga didapatkan senyawa flavonoid yang pasti dan bukan merupakan prakiraan.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Uji Kualitatif**

Dalam pengujian kualitatif yang dilakukan, didapatkan bahwa dalam ekstrak labu siam yang dibuat positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan endapan berwarna kuning. Endapan warna kuning tersebut timbul dari reaksi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan NaOH. Dalam kasus ini senyawa flavonoid direaksikan dengan HCl 1% bertujuan untuk memotong ikatan hemiasetal yang terbentuk antara flavonoid dengan molekul glukosa yaitu untuk senyawa flavonoid-O-glukosa. Lepasnya flavonoid dari glukosa oleh karena HCl 1% dapat terendapkan oleh NaOH 20% sehingga terbentuk garam dari senyawa flavonoid. Bukti adanya endapan kuning ditunjukkan oleh Gambar 1.



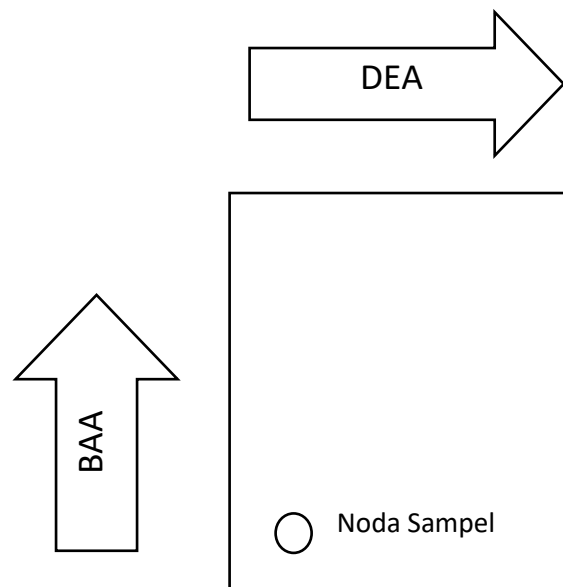
Gambar 1 Endapan Kuning (endapan garam flavonoid)

#### **B. Identifikasi Kualitatif Menggunakan KLT 2 Dimensi**

Dalam pengujian kualitatif menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) berbahan fase diam berupa silika gel yang terembankan pada plat aluminium,

didapatkan beberapa noda yang berbeda warna yang terlihat di bawah sinar UV. Fase gerak yang digunakan yaitu BAA (n-butanol-Asam Asetat- Air) dan DEA (Diklorometana-Etil Asetat). Alasan pemakaian BAA yaitu untuk memisahkan beberapa glikosida , aglikon dan beberapa glukosa dan galaktosa yang diimobilisasi flavonoid tipe O walaupun tipe C dan sulfat juga terpisahkan dari flavonoid yang bersifat tak polar. Untuk pemakaian DEA ditujukan untuk memisahkan flavonoid yang bersifat tak polar seperti halnya molekul antosianin atau yang bersifat kepolaran yang rendah.

Pola kromatografi yang dilakukan adalah 2 arah atau 2 dimensi. Dalam hal ini dilakukan pemisahan sebanyak 2 kali dengan fase gerak yang berbeda dan arah yang berbeda pula. Tujuan dari pola 2 arah ini adalah meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa-senyawa. Rancangan KLT 2 dimensi ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2 Skema Pemisahan KLT 2 Dimensi

Fasa gerak adalah larutan pengembang yang merambat naik pada fasa gerak, membawa sampel bersamanya. Komponen sampel akan terpisah bergantung pada kekuatan adsorbsinya pada fasa diam versus kelarutannya pada fasa gerak.

Pada saat sampel bahan ditotolkan pada kromatografi lapis tipis (KLT), pemisahan senyawa-senyawa dari sampel akan terjadi pada saat ujung KLT dicelupkan ke dalam pelarut yang sesuai. Pelarut berdifusi dan mendistribusikan berbagai senyawa sesuai tingkat kepolarannya. Jika sampel mengandung lebih dari satu senyawa, dalam arti terdapat lebih dari satu macam senyawa di dalamnya maka perbedaan sifat fisika untuk masing-masing molekul, probabilitas perbedaan polaritas sekecil apapun pasti terjadi dan akhirnya menghasilkan perbedaan kelarutan dalam pelarut yang bergerak melewati fase diam (silika gel). Perbedaan kelarutan senyawa-senyawa dalam pelarut dan afinitas adsorpsi terhadap fasa diam menghasilkan perbedaan letak distribusi noda masing-masing senyawa. Semakin jauh jarak  $R_f$  molekulnya, semakin dekat sifat kepolarannya dengan pelarut. Suatu senyawa akan bersatu (melarut) dengan pelarut yang sesuai sifat kepolarannya (*like dissolve like*). Menggunakan pelarut berbasis air akan memperlama waktu jarak tempuh  $R_f$ nya. Hal ini disebabkan karena ada kesamaan polaritas dengan silika gel pada fase diamnya. Hal ini dibuktikan dengan pelarut BAA yang mengandung air dan menunjukkan waktu pemisahan yang sama disamping itu pula juga dapat memisahkan senyawa-senyawa yang larut dalam air.

Dalam hasil penelitian yang sudah dilakukan terlihat untuk KLT jika dilihat dengan posisi seperti pada pola Gambar 2 maka terdapat 4 bercak berderet dipojok kanan atas yang berwarna kuning jika dilihat dengan sinar UV maka berwarna coklat dan lembayung gelap yang menandakan terdapatnya flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai 5-OH bebas yang teridentifikasi timbul dari dihidroflavonol (untuk warna coklat) sedangkan yang lainnya yaitu teridentifikasi sebagai 6 atau 8-OH flavon dan flavonol 3-O dan mempunyai 5-OH, selain itu terdapat jenis khalkon dan isoflavon . Untuk bercak lain yang timbul karena dibawah penyiranan sinar UV yaitu timbul noda tunggal yang berada di kanan bawah yaitu warna merah jambu yang menandakan bahwa senyawa yang dominan pada deret DEA adalah antosianidin-3,5-diglikosida. Data intepretasi diatas berdasarkan (Markham, 1988) pada penyinaran sinar UV tanpa diberikan reagen pembantu yang lain.

Untuk analisis menggunakan reagen  $AlCl_3$  dan asam sulfanilat terdiazotasi juga terdeteksi 5-hidroksi-flavonoid sebagai bercak kuning lembayung. Hal ini semakin menguatkan bahwa yang terkandung terbanyak adalah 5-OH-flavonoid.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Dari hasil interpretasi dapat diketahui bahwa dalam buah labu siam terdapat beberapa senyawa yaitu :

1. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai 5-OH bebas yang teridentifikasi timbul dari dihidroflavonol
2. Teridentifikasi 6 atau 8-OH flavon dan flavonol 3-O dan mempunyai 5-OH
3. Khalkon
4. Isoflavon
5. Antosianidin-3,5-diglikosida

#### **B. Saran**

Untuk hasil yang lebih detail untuk disarankan selain menggunakan KLT sebaga identifikasi kualitatifnya lebih baik juga menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (DR-UV), Spektrofotometri IR dan HPLC untuk lebih banyak mendapatkan senyawa yang terkandung dalam labu siam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Firdous, S.,M., Sravanti, K., Debnath, R., Neeraja, K., Protective Effect Of Ethanolic Extract And Its Ethylacetate And n-Butanol Fractions Of Sechium Edule Fruits Against Paracetamol Induced Hepatic Injury In Mice, **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, Vol 5, Suppl 2, 2012
- Gaol, R., I.,L., Bodhi, W., Abidjulu, J., Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Labu Siam (Sechium Edule (Jacq.) Swartz ) Sebagai Diuretik Pada Tikus Jantan Galur Wistar (Rattus Novergicus), **PHARMACON** Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 3 No. 2
- Mahmiah, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tumbuhan Saccopetalum horsfieldii Benn, **Indo. J. Chem**, 6(3), 312-315
- Markham, K.R., **Cara Mengidentifikasi Flavonoid**, ITB Press, Bandung, 1988
- Marliana, S.,D., Suryanti, V., Suyono, Skrining Fitokimia dan AnalisisKromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia BuahLabu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz. )dalam Ekstrak Etanol, **Biofarmasi** 3 (1):26-31, Februari 2005
- Matsjeh, S., **Kimia Hasil Alam**, UGM Press, Yogyakarta, 2011
- Matsjeh, S., **Kimia Hasil Alam**, UGM Press, Yogyakarta, 1997
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A., Flavonoids as Important Molecules of Plant Interaction with the Environment, **Journal of Molecules**, Vol 19, 16240-16265
- Nadila, F., Antihypertensive Potential Of Chayote Fruit Extract For Hypertension Treatment, **J MAJORITY** Volume 3 Nomor 7 Desember 2014, 34
- Ragasa, C., Y., Chemical constituents of Sechium edule (Jacq.) Swartz, **Der Pharma Chemica**, 2014, 6(5):251-255
- Sibi, G., Kaushik, K.,Dhananjaya, K., Ravikumar, K., R., Mallesha, H., Antibacterial Activity Of Sechium Edule (Jacq.) Swartz Against Gram Negative Food Borne Bacteria, **Pelagia Research Library**, Advances in Applied Science Research, 2013, 4(2):259-261
- Yao, L. H., Jiang, Y.M., Shi, J., Barberan, F.A.T., Datta, N., Singnusong, R., Chen, S.S., Flavonoids in Food and Their Health Benefits, **Journal of Plant Foods for Human Nutrition**, Volume 59, 113-122, 2004