

## IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA PADA SIMPLISIA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn.)

Mamay Maslahat<sup>1</sup>, Amry Syaawal<sup>2</sup> dan Rahayu Restianingsih<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup> Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Nusa Bangsa Bogor  
Jl. Sholch Iskandar KM 4 Cimanggu Tanah Sareal Bogor, 16166

<sup>3</sup> Laboratorium Kimia Forensik MABES POLRI

<sup>1</sup>Email : [maykulsum@yahoo.co.id](mailto:maykulsum@yahoo.co.id)

### ABSTRACT

#### *Identification of chemical compound in Sirsak Leaves (*Annona muricata* Linn)*

*Sirsak leaves (*Annona muricata*) contain cytotoxic components against various diseases. Cytotoxic compounds are known as annonaceous acetogenins. Annonaceous acetogenins is a collection of bioactive compounds in the leaves of sirsak are useful as anticancer, antitumor, antiviral, anti-inflammatory, antidepressant, antidiabetic, anticonvulsant, antibacterial and lowering blood pressure. The purpose of this study was to identify the chemical compounds contained of sirsak leaf. Research activities included the preparation of crude drug powder sirsak leaves, the determination of the water content of crude drugs, extraction of crude drugs with ethanol solvents, separation of flavonoids using the technique of thin layer chromatography (TLC), Phytochemical tests on the crude drugs and extracts of ethanol and identification of chemical compounds separation results using UV spectrophotometer instruments and FTIR spectrophotometer. The results showed that the ethanol extract and crude drug powder of sirsak leaves were positive contain alkaloids, flavonoids, steroids/triterpenoids, tannins and saponins. TLC separation of the ethanol extract were observed using UV light at  $\lambda$  254 nm produces 1 spot with a value of retardation factor (Rf) of 0.7 dark violet color, indicating the presence of flavonoid compounds. The results of identification by UV spectrophotometer, absorption occurred at the maximum  $\lambda$  205 nm, 260 nm and 380 nm, which indicated that the compounds flavonols (3-OH-free). FTIR spectrophotometer analysis showed the presence of functional groups -OH, C=C and C-O in the benzene ring.*

*Keywords: Phytochemistry, crude drug powder, *Annona muricata* Linn, UV spectrophotometer, FTIR spectrophotometer*

### ABSTRAK

Daun sirsak mengandung komponen sitotoksik (zat racun) terhadap berbagai penyakit. Senyawa sitotoksik dikenal dengan istilah annonaceous acetogenins. Annonaceous acetogenins merupakan kumpulan senyawa bioaktif di dalam daun sirsak yang bermanfaat sebagai antikanker, antitumor, antivirus, anti-inflamasi, antidepressi, antidiabetes, antikejang, antibakteri dan penurun tekanan darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia daun sirsak (*Annona muricata* Linn.). Kegiatan penelitian meliputi pembuatan serbuk simplisia daun sirsak, penetapan kadar air simplisia, ekstraksi simplisia dengan etanol serta pemisahan senyawa flavonoid menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT), uji fitokimia pada simplisia dan ekstrak etanol, serta identifikasi senyawa kimia hasil pemisahan menggunakan instrumen spektrofotometer UV dan spektrofotometer FTIR. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin dan saponin. Hasil pemisahan KLT terhadap ekstrak etanol daun sirsak yang diamati menggunakan sinar UV pada  $\lambda$  254 nm menghasilkan 1 spot dengan nilai retardasi faktor (Rf) sebesar 0,7 berwarna lembayung gelap, menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Hasil identifikasi dengan spektrofotometer UV, terjadi serapan pada  $\lambda$  maksimal 205 nm, 260 nm dan 380 nm, yang menunjukkan senyawa flavonol (3-OH bebas). Analisis spektrofotometer FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi -OH, C=C dan C-O pada cincin benzena.

Kata kunci : fitokimia, simplisia, *Annona muricata* Linn., spektrum UV, spektrum Infra Red.

## PENDAHULUAN

Metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman dapat berupa senyawa kimia alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Metabolit sekunder pada tanaman diduga merupakan senyawa bioaktif yang menyebabkan tanaman ini berkhasiat sebagai obat (Harborne, 1987).

Senyawa bermanfaat pada tanaman sirsak bukan hanya terletak pada buahnya. Hampir seluruh bagian pohon sirsak memiliki khasiat yang luar biasa. Bagian yang paling bermanfaat ada di dalam daunnya. Daun sirsak mengandung komponen sitotoksik (zat racun) terhadap berbagai penyakit. Senyawa sitotoksik tersebut akrab disebut *annonaceous acetogenins*. *Annonaceous acetogenins* merupakan kumpulan senyawa bioaktif di dalam daun sirsak yang bermanfaat sebagai antikanker, antitumor, antivirus, anti-inflamasi, antidepresi, antidiabetes, antikejang, antibakteri dan penurun tekanan darah (Zuhud, 2011).

Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa daun sirsak juga mengandung senyawa flavonoid. Isolasi flavonoid dilakukan dengan metode Charaux-Paris yaitu ekstraksi bertahap dengan menggunakan beberapa pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu n-heksana, kloroform, etil asetat dan n-butanol. Dari fase – fase ekstraksi yang diperoleh, hanya fase etil asetat dan fase n-butanol yang mengandung senyawa flavonoid (Asih, 1992). Senyawa – senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenolat dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan polifenolat bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik dan anti-inflamasi, sedangkan senyawa alkaloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga ampuh menghambat pertumbuhan sel – sel kanker (Sadewo, 2005).

Spektrofotometer UV dapat digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Di samping itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan

dengan menambahkan pereaksi diagnostik ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Dengan demikian, secara tidak langsung cara ini berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metal yang terikat pada salah satu gugus hidroksi fenol (Markham, 1988). Selain spektrofotometer UV, spektrofotometer infra Red (IR) dapat digunakan pula untuk mengidentifikasi senyawa organik. Spektrum infra merah dari senyawa organik mempunyai sifat fisik yang karakteristik artinya kemungkinan dua senyawa mempunyai spektrum yang sama adalah kecil sekali. Spektrum peresapan IR merupakan perubahan simultan dari energi vibrasi dan energi rotasi dari suatu molekul. Kebanyakan molekul organik cukup besar sehingga spektrum peresapannya kompleks.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia daun sirsak (*Annona muricata* Linn.)

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang berasal dari kebun budidaya Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor (IPB), etanol 95%, heksana, HCL p.a., KOH flake, kloroform, metanol, n-butanol, n-propanol, asam asetat, etil asetat, piridin, ammonia 25%, HCl 37%, pereaksi Dragendorf, pereaksi Liebermann-Buchard, serbuk magnesium, amil alkohol, FeCl<sub>3</sub> 1 %, dietil eter, lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel GF254 dan akuades.

Peralatan yang digunakan adalah oven, blender, ayakan mesh 60, timbangan analitik (Mettler Toledo XS205 DU), rotary evaporator, corong pisah, peralatan gelas, peralatan KLT, lampu UV, Spektrofotometer UV 8453 merk Agilent, Spektrofotometer FTIR portable merk Thermo Fisher.

## Prosedur Kerja

### Preparasi Simplisia

Daun sirsak yang digunakan berasal dari pohon sirsak yang pernah berbuah agar kandungan zat kimianya lebih lengkap. Daun sirsak yang diambil tidak terlalu muda atau tidak terlalu tua, yaitu daun ke - 4 dan ke - 5 dari satu ranting (Zuhud, 2011).

Daun sirsak segar dibersihkan dari kotoran - kotoran yang menempel, dicuci dengan air hingga bersih, kemudian ditiriskan untuk membebaskan daun dari sisa air cucian. Daun dikeringkan dengan bantuan sinar matahari tetapi tidak secara langsung, cukup dengan cara diangin - anginkan. Selanjutnya daun sirsak kering digiling sehingga menjadi simplisia serbuk, lalu diayak dengan mesh 60. Simplisia disimpan dalam wadah bersih dan ditutup (Depkes, 1985).

### Penetapan Kadar Air Simplisia

Cawan porselin kosong dikeringkan pada suhu 105°C selama 1 jam. Kemudian didinginkan dalam eksikator lalu ditimbang. Sampel sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam cawan dan ditimbang dan dicatat, kemudian cawan berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C hingga mencapai bobot yang konstan. Kemudian didinginkan, dimasukkan dalam eksikator selama 15 menit dan ditimbang dengan teliti dan dicatat. Kadar air dihitung. Kadar air dilakukan triplo.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Kehilangan Bobot (g)}}{\text{Bobot Contoh (g)}} \times 100\%$$

### Ekstraksi Simplisia

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia serbuk

sebanyak 400 gram dimaserasi dengan etanol 95%. Campuran simplisia dan pelarut direndam selama 6 jam dengan sesekali diaduk, kemudian dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah proses maserasi selesai campuran disaring dengan kertas saring Whatman 42, lalu filtrat disimpan pada wadah tertutup, sedangkan ampas dimaserasi kembali dengan etanol 95% dengan prosedur yang sama. Kemudian filtrat diuapkan sampai volumenya sisa 1/3 volume awal.

### Uji Fitokimia

Sampel serbuk simplisia yang digunakan pada uji fitokimia sebanyak 2 gram dan sampel ekstrak etanol sebanyak 0,2 gram.

#### A. Identifikasi Golongan Alkaloid

Sampel ditambahkan 5 ml ammonia 25% lalu digerus dengan lumpang. Ditambahkan 20 ml kloroform, digerus kembali, lalu disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan HCl 10%, lalu dikocok. Diambil larutan bagian atas (fasa kloroform), lalu ditambahkan pereaksi Dragendorf. Apabila terbentuk endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorf menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid.

#### B. Identifikasi Golongan Flavonoid

Sampel sebanyak 0,2 gram ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit, lalu disaring dengan kertas saring (larutan A). Sebanyak 5 ml larutan A dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,1 gram, 1 ml HCl pekat dan 5 ml amil alkohol, lalu dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol

menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.

### C. Identifikasi Golongan Saponin

Larutan A sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok dengan kuat selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin, bila ditambahkan 1 tetes HCl 1%, busa tetap stabil.

### D. Identifikasi Golongan Tanin

Larutan A sebanyak 50 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml, lalu ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1%. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa golongan tanin.

### E. Identifikasi Golongan Steroid dan Triterpenoid

Sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer tertutup asah, ditambahkan 20 ml dietileter, dimaserasi selama 2 jam lalu disaring. Sebanyak 5 ml filtrat diuapkan dalam cawan hingga diperoleh residu, lalu ditambahkan pereaksi Liebermann-Buchard. Terbentuknya warna merah atau hijau menunjukkan adanya senyawa golongan steroid atau triterpenoid.

### F. Identifikasi Senyawa kimia Flavonoid

Filtrat etanol 95% ditambahkan heksana dengan perbandingan 1 : 2. Kemudian larutan tersebut diekstraksi dengan HCl 0,1 N sebanyak 3 kali menggunakan corong pisah. Lapisan HCl dan lapisan heksana dipisahkan. Lapisan heksana diekstrak dengan KOH 0,1 N sebanyak 3 kali. Lapisan KOH dan lapisan heksana dipisahkan. Lapisan KOH lalu

dinetralkan dengan HCl 0,1 N. Larutan ini kemudian diekstrak dengan kloroform sebanyak 3 kali lalu dipisahkan. Lapisan kloroform air diuji fitokimia. Lapisan kloroform ini yang diduga mengandung senyawa flavonoid. Lapisan kloroform lalu ditotolkan pada plat kromatografi lapis tipis silika gel. Fase gerak yang optimal dicari dengan menggunakan campuran beberapa pelarut. Fase gerak yang digunakan yaitu n-heksana : n-propanol (100 : 1); n-heksana : metanol (100 : 1); n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dan etil asetat : piridin : air : metanol (80 : 20 : 10 : 5). Fase gerak yang optimal yaitu n-butanol : asam asetat:air (4 : 1 : 5) dicampur dalam corong pemisah, yang dipakai fase atasnya dengan waktu penjuanan 17 jam. Noda pemisahan dideteksi di bawah lampu UV 254 nm dan diuapi dengan uap ammonia lalu dideteksi lagi di bawah lampu UV 254 nm. Noda dengan Rf yang sama dikumpulkan kemudian dilarutkan dengan metanol. Masing – masing fraksi diidentifikasi dengan Spektrofotometer UV dan FTIR.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penetapan Kadar Air Simplisia

Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan bahan yang berasal dari tumbuh – tumbuhan, sehingga sampel mengandung air dalam jumlah relatif tinggi. Oleh karena itu, penentuan kadar air harus dilakukan, karena akan mempengaruhi daya tahan bahan pangan terhadap aktivitas atau serangan mikroorganisme. Kadar air ditetapkan dengan cara gravimetri, yaitu diperoleh dengan cara menghitung bobot bahan sebelum dan sesudah dikeringkan pada temperatur di atas titik didih air, sehingga diharapkan semua air akan menguap pada suhu tersebut dan pada periode tertentu. Air yang terkandung dalam serbuk daun sirsak dihilangkan dengan pemanasan pada suhu 105°C. Menurut Harjadi (1993), air yang terikat secara fisik dapat dihilangkan dengan pemanasan pada suhu 100 – 105°C. Standar kadar air untuk

simplisia adalah kurang dari 10 % (Depkes RI, 1985). Kadar air rata-rata sampel serbuk daun sirsak yang diperoleh pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4 yaitu sebesar 4,43 %.

#### Ekstraksi Simplisia

Simplisia daun sirsak dimaserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Proses maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana dan peralatan yang digunakan sederhana. Jika menggunakan metode ekstraksi dengan suhu yang terlalu tinggi, dikhawatirkan potensi senyawa aktif akan rusak.

Pelarut etanol digunakan karena etanol merupakan pelarut yang baik, memiliki sifat kepolaran yang moderat dengan nilai indeks polaritas 24,30. Setelah proses maserasi, filtrat etanol dipisahkan sampai volumenya tersisa 1/3 volume awal dengan menggunakan alat

*rotary evaporator*. Ekstrak etanol yang dihasilkan sebanyak 350 ml.

#### Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kimia kualitatif yang dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terdapat pada suatu sampel, dalam hal ini pada serbuk simplisia dan filtrat etanol 95%. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan pereaksi spesifik untuk setiap golongan senyawa yang akan diuji. Uji fitokimia ini didasarkan pada identifikasi warna dan/atau endapan yang terbentuk. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi, identifikasi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, serta steroid dan triterpenoid. Uji fitokimia dilakukan terhadap sampel serbuk daun sirsak dan ekstrak etanol. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Kadar Air Sampel Serbuk Daun Sirsak

Ulangan	Bobot cawan kosong (Pg)	Bobot cawan +sampel (g)	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Kadar Air (%)
1	37,5587	39,5619	2,0032	1,9124	4,53
2	38,4634	40,4646	2,0012	1,9148	4,32
Rata - rata					4,43

Tabel 2. Uji Fitokimia terhadap Serbuk Daun Sirsak dan Ekstrak Etanol

Golongan Senyawa Metabolit Sekunder	Serbuk Daun Sirsak	Ekstrak Etanol
Alkaloid	-	+
Flavonoid	+	+
Steroid/ Triterpenoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+

Keterangan : + = hasil uji positif

Tabel 2 menunjukkan bahwa seluruh senyawa metabolit sekunder yang ada dalam serbuk daun sirsak dan ekstrak etanol, semuanya teridentifikasi positif. Hasil uji dapat dilihat pada Gambar 1. Pada uji flavonoid simplisia dan ekstrak etanol menunjukkan hasil yang positif, yaitu terbentuknya warna kuning atau merah pada lapisan amil alkohol. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid (Harborne,1987). Pada uji flavonoid dilakukan penambahan serbuk Mg, HCl pekat dan amil alkohol. Magnesium mudah larut dalam suasana asam dan menghasilkan kation bivalen  $Mg^{2+}$  serta gas hidrogen. Adanya gas hidrogen dapat dibuktikan ketika penambahan asam klorida pekat ke dalam larutan dan serbuk magnesium, muncul busa atau gelembung pada campuran. Hal

ini dapat dilihat dari persamaan reaksi berikut :



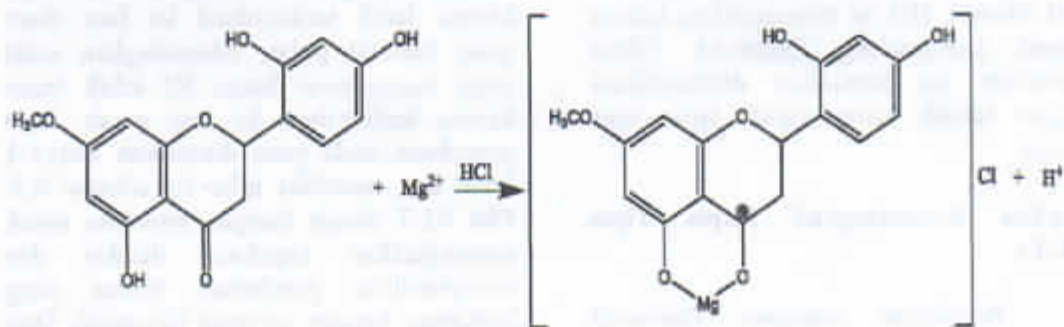
Ion magnesium ini akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol sehingga muncul larutan yang berwarna. Persamaan reaksi dari uji flavonoid tersebut ditunjukkan pada Gambar 2.

Suatu flavonoid akan menghasilkan garam benzopirilium yang berwarna bila direaksikan dengan asam mineral dalam alkohol. Sebagai contoh flavon atau flavonol direaksikan dengan asam mineral akan menghasilkan garam flavilium atau antosianidin yang berwarna. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 1. Hasil Uji Fitokimia pada Serbuk Daun Sirsak

Keterangan : (a) uji alkaloid  
 (b) uji flavonoid  
 (c) uji steroid/triterpenoid  
 (d) uji saponin  
 (e) uji tanin



Gambar 2. Reaksi Identifikasi Flavonoid (Achmad, 1986)

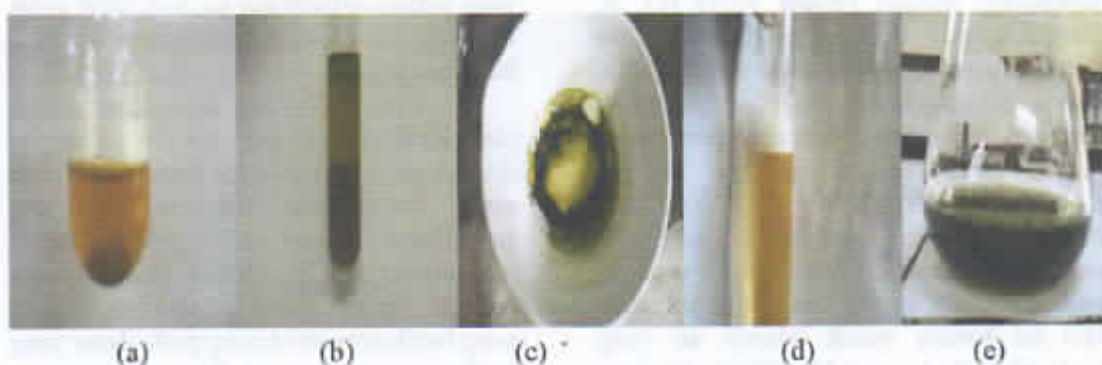
Tabel 2 menunjukkan bahwa seluruh senyawa metabolit sekunder yang ada dalam serbuk daun sirsak dan ekstrak etanol, semuanya teridentifikasi positif. Hasil uji dapat dilihat pada Gambar 1. Pada uji flavonoid simplisia dan ekstrak etanol menunjukkan hasil yang positif, yaitu terbentuknya warna kuning atau merah pada lapisan amil alkohol. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid (Harborne,1987). Pada uji flavonoid dilakukan penambahan serbuk Mg, HCl pekat dan amil alkohol. Magnesium mudah larut dalam suasana asam dan menghasilkan kation bivalen  $Mg^{2+}$  serta gas hidrogen. Adanya gas hidrogen dapat dibuktikan ketika penambahan asam klorida pekat ke dalam larutan dan serbuk magnesium, muncul busa atau gelembung pada campuran. Hal

ini dapat dilihat dari persamaan reaksi berikut :



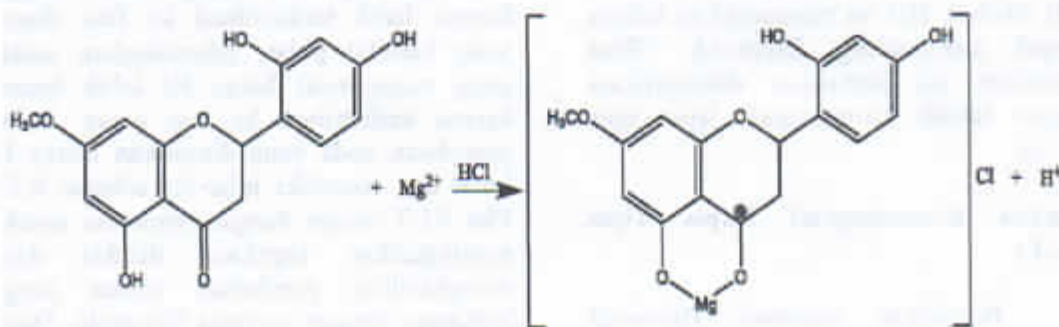
Ion magnesium ini akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol sehingga muncul larutan yang berwarna. Persamaan reaksi dari uji flavonoid tersebut ditunjukkan pada Gambar 2.

Suatu flavonoid akan menghasilkan garam benzopirilium yang berwarna bila direaksikan dengan asam mineral dalam alkohol. Sebagai contoh flavon atau flavonol direaksikan dengan asam mineral akan menghasilkan garam flavilium atau antosianidin yang berwarna. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 3.

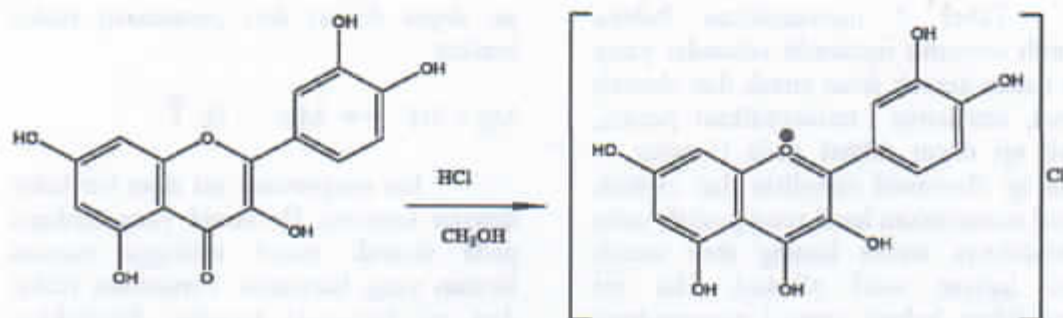


Gambar 1. Hasil Uji Fitokimia pada Serbuk Daun Sirsak

- Keterangan : (a) uji alkaloid  
 (b) uji flavonoid  
 (c) uji steroid/triterpenoid  
 (d) uji saponin  
 (e) uji tanin



Gambar 2. Reaksi Identifikasi Flavonoid (Achmad, 1986)



Gambar 3. Reaksi Pembentukan Garam Flavilium (Achmad, 1986)

### Identifikasi Senyawa Flavonoid

Filtrat etanol ditambahkan heksana lalu diekstrak dengan larutan HCl 0,1 N. Pengekstrakan dengan HCl ini bertujuan untuk memisahkan senyawa bersifat basa misalnya alkaloid. Lapisan heksana diekstraksi dengan larutan KOH 0,1 N. Pengekstrakan dengan KOH bertujuan untuk memisahkan senyawa yang bersifat asam, yang dalam hal ini senyawa flavonoid. Senyawa netral seperti lipid berada pada lapisan heksana. Lapisan KOH dinetralkan dengan HCl lalu diekstrak dengan kloroform. Pada saat pemisahan lapisan kloroform, terdapat endapan putih kental yang sulit disaring. Hal ini karena masih adanya air yang terdapat pada lapisan kloroform. Natrium sulfat anhidrat ditambahkan ke dalamnya selama 24 jam agar dapat menarik atau mengikat air yang ada pada lapisan kloroform. Sampel filtrat kloroform tersebut diuji flavonoid dengan penambahan serbuk Mg, HCl pekat dan amil alkohol. Hasil yang diperoleh yaitu terbentuknya warna kuning pada lapisan amil alkohol. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid. Filtrat kloroform ini kemudian diidentifikasi dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT).

### Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa flavonoid dengan teknik KLT menggunakan beberapa eluen campuran diantaranya n-

heksana : n-propanol (100:1), n-heksana : metanol (100 : 1), n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dan etil asetat : piridin : air : metanol (80 : 20 : 10 : 5) (Markham,1988). Variasi eluen tersebut cukup mewakili kepolaran dari setiap senyawa yang akan dipisahkan, yaitu ada campuran variasi yang berkecenderungan ke arah lebih polar dan ada yang berkecenderungan ke arah lebih nonpolar.

Plat KLT yang digunakan adalah plat KLT silika gel GF254. Plat ini dilengkapi oleh indikator fluoresensi pada sinar UV yang dipasang panjang gelombang emisi 254 nm untuk menampakkan komponen senyawanya sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam. Eluen campuran n butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) mampu memberikan pemisahan yang baik daripada campuran eluen yang lain. Hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah cukup baik. Noda terpisah berdasarkan kepolarannya. Noda yang mempunyai Rf lebih rendah cenderung memiliki kepolaran yang lebih tinggi karena lebih terdistribusi ke fase diam yang bersifat polar, dibandingkan noda yang mempunyai harga Rf lebih besar karena terdistribusi ke fase gerak. Pada percobaan noda yang dihasilkan hanya 1 buah dan memiliki nilai Rf sebesar 0,7. Plat KLT diuapi dengan ammonia untuk meningkatkan kepekaan deteksi dan menghasilkan perubahan warna yang berkaitan dengan senyawa flavonoid. Data penampakan noda dari lapisan kloroform hasil pemisahan dengan KLT disajikan



pada Tabel 3. Adapun hasil KLT eluen n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dan jenis flavonoid yang mungkin disajikan dalam Gambar 4 dan Tabel 4. Pada Gambar 4 banyaknya noda tersebut adalah ulangan sebanyak 6 kali untuk mendapatkan jumlah ekstrak hasil pemisahan yang cukup untuk analisis berikutnya.

#### Identifikasi dengan Spektrofotometer UV

Noda atau spot hasil KLT yang dideteksi menggunakan sinar UV 254 nm dan penambahan uap ammonia menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Noda-noda tersebut dikerok dan dilarutkan dalam pelarut metanol, kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV, FTIR. Hasil spektrum UV dari hasil KLT dengan pelarut metanol didapatkan 3 buah puncak pada panjang gelombang 205 nm, 255 nm dan 370 nm. Spektrum UV tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan Tabel 4 rentang spektrum UV, pita II panjang gelombang 250 – 280nm dan pita I panjang gelombang 350 – 385 nm, jenis flavonoidnya adalah flavonol (3 – OH bebas) (Markham, 1988). Senyawa – senyawa yang mempunyai sistem konjugasi dapat menyerap sinar pada daerah UV, semakin panjang sistem konjugasinya maka makin besar panjang gelombang absorpsinya (Harborne, 1987). Panjang gelombang 205 nm berasal dari

benzena. Benzena menyerap dengan kuat pada panjang gelombang 184 nm, 202 nm dan mempunyai sederet panjang gelombang absorpsi antara 230 – 270 nm (Fessenden, 1982).

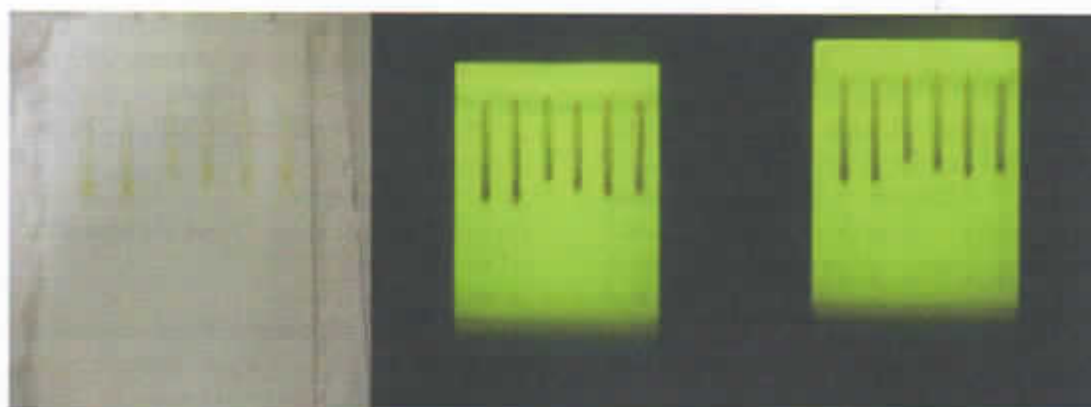
#### Identifikasi dengan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer FTIR digunakan untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa, terutama senyawa organik. Hasil identifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR didapatkan spektrum yang disajikan pada Gambar 16. Setiap serapan pada panjang gelombang tertentu menggambarkan adanya suatu gugus fungsi spesifik. Spektrum terdiri dari pita – pita inframerah yang dapat dikelompokkan menurut intensitasnya yaitu kuat, medium dan lemah.

Pada Gambar 6 terlihat bahwa pita lebar kuat pada puncak 3300  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus O – H pada alkohol ikatan hidrogen dan fenol. Pada pita 2850 – 2970  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya regang C–H alifatik. Pada pita 1500–1600  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya C = C cincin aromatik. Adanya ulur C–O ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 1050  $\text{cm}^{-1}$  (Khopkar, 1985). Analisis spektrofotometer FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi –OH, C = C dan C–O pada cincin benzena. Struktur flavonol juga mempunyai gugus fungsi yang sama dengan hasil yang didapat dari spektrum FTIR.

Tabel 3. Data Penampakan Noda dari Lapisan Kloroform Hasil Pemisahan KLT Menggunakan Lampu UV 254 nm

No.	Variasi Komposisi Eluen	Jumlah Noda	Keterangan
1	n-heksana : n-propanol (100 : 1)	-	Tidak terpisah dengan baik
2	n-heksana : metanol (100 : 1)	-	Tidak terpisah dengan baik
3	n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)	1	Terpisah cukup baik
4	etil asetat : piridin : air : metanol (80 : 20 : 10 : 5)	-	Tidak terpisah dengan baik, spot panjang



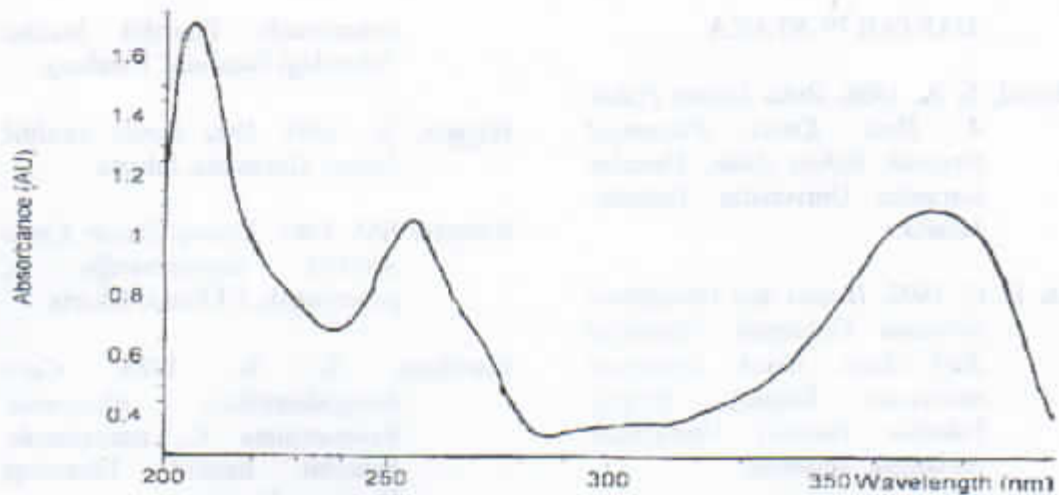
(a) (b) (c)

Gambar 4. Foto Plat Hasil KLT dengan Eluen n-Butanol : Asam asetat : Air (4 : 1 : 5)

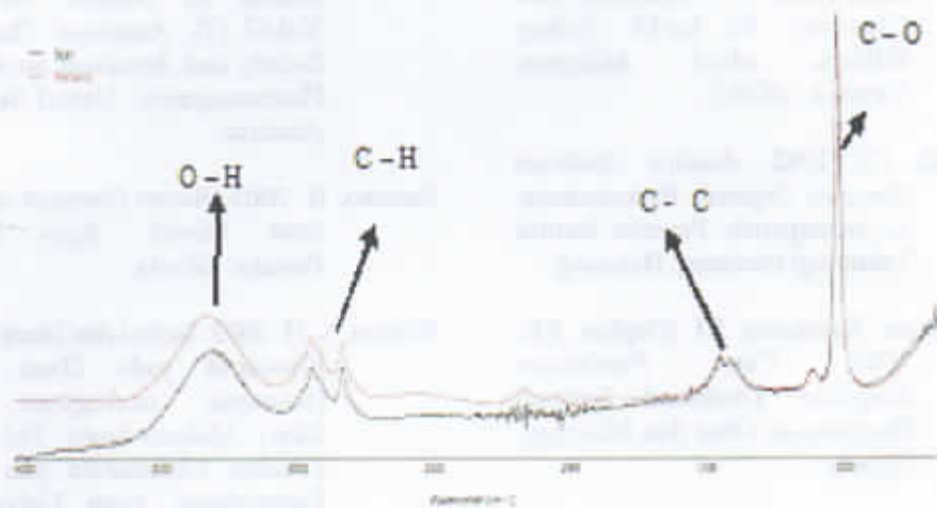
Keterangan : (a) Hasil elusi sebelum diuapi dengan uap ammonia  
 (b) Hasil pengamatan di bawah sinar UV  $\lambda$  254 nm sebelum di uapi dengan uap ammonia  
 (c) Hasil pengamatan di bawah sinar UV  $\lambda$  254 nm setelah diuapi dengan uap ammonia

Tabel 4. Hasil KLT dengan Eluen n-Butanol : Asam asetat : Air (4 : 1 : 5) di bawah Sinar UV  $\lambda$  254 nm dan Jenis Flavonoid yang Mungkin (Markham, 1988)

Rf	Warna noda tanpa sinar UV pada $\lambda$ 254 nm	Warna noda di bawah sinar UV $\lambda$ 254 nm		Jenis flavonoid yang mungkin
		Tanpa $\text{NH}_3$	Dengan $\text{NH}_3$	
0.7	Kuning kecoklatan	Lembayung gelap	Lembayung gelap	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, dihidro flavonol, biflavonil, dan beberapa flavanon yang mengandung 5-OH. d. Khalkon yang mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak mengandung 2- atau 4-OH bebas.



Gambar 5. Pola Spektrum UV Sampel



Gambar 6. Pola Spektrum Infra Red Sampel

Keterangan : garis hitam = spektrum sampel  
 garis merah = spektrum hasil pencarian dari library

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin dan saponin. Hasil pemisahan KLT terhadap ekstrak etanol daun sirsak yang diamati menggunakan sinar UV pada  $\lambda$  254 nm menghasilkan 1 spot dengan nilai retardasi

faktor ( $R_f$ ) sebesar 0,7 berwarna lembayung gelap, menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Hasil identifikasi dengan spektrofotometer UV, terjadi serapan pada  $\lambda$  maksimal 205 nm, 260 nm dan 380 nm, yang menunjukkan senyawa flavonol (3-OH bebas). Analisis spektrofotometer FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi -OH, C=C dan C-O pada cincin benzena.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 1986. *Buku Materi Pokok 4: Ilmu Kimia Flavonoid Organik Bahan Alam*. Penerbit Karunika Universitas Terbuka. Jakarta.
- Asih, E. C. 1992. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dari daun sirsak (Annonae muricatae folium)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). 2000. *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry*. Ed ke-17. Sydney William, editor. Arlington, Virginia : AOAC.
- Creswell, CJ. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Padmawinata, K., penerjemah. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Departemen Kesehatan RI (Depkes RI). 1985. *Cara Pembuatan Siplista*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Fessenden & Fessenden. 1982. *Kimia Organik*. Pudjaatmaka, A.H., penerjemah. Erlangga. Jakarta.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Cara Modern dan Analisis Tumbuhan*. Padmawinata, K., penerjemah. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Harjadi, W. 1993. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Gramedia. Jakarta.
- Khopkar SM. 1985. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Saptorahardjo A, penerjemah. UI Press, Jakarta.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Padmawinata, K., penerjemah. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Pietta, P., dan Giorgio Pietta. 2000. *Flavonoids as Antioxidants*. Journal of Natural Products. Vol.63 (7). American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy. United State of America.
- Sadewo, B. 2005. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Wijono, S. H. 2003. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid pada Daun Katu (Sauropus androgynus (L.) Merr)*. Makara Sains. Vol.7 (2). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok.
- Zuhud, A. M. 2011. *Bukti Kedahsyatan Sirsak Memumpus Kanker*. Agro Media Pustaka. Jakarta.