

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tumbuhan Niko



Gambar II.1 a. Pohon Niko

b. Daun Niko

(Sumber : Data primer)

Tumbuhan Niko (*Grewia koordersiana* Burret) merupakan tumbuhan yang hanya tumbuh di bagian Timur Indonesia. Tumbuhan Niko merupakan tumbuhan pepohonan tinggi, berbatang besar yang dapat dijadikan sebagai bahan bangunan. Dan ciri morfologi lainnya adalah daunnya berbentuk lonjong, akar serabut. Tumbuhan Niko ekstrak kulitnya berkhasiat obat, yang biasa digunakan sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit lever (Ensiklopedia Indonesia, 1982). Tumbuhan Niko (*Grewia koordersiana* Burret) adalah termasuk suku “**Tiliaceae**”, sehingga berdasarkan taksonomi tumbuhan dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Flora of Java, 1963) :

Divisio	: Spermatophyto
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Malvales
Familia	: Tiliaceae
Genus	: Grewia
Species	: <i>Grewia koordersiana</i> Burret

Berdasarkan database kew (<http://powo.science.kew.org/taxon/urn:Isid:ipni.org:names:834215-1>), tumbuhan ini dikenal dengan 12 nama sinonim yakni *Grewia araria* Wall. Ex Burret, *Grewia boehmeriifolia* Kaneh. & Sasaki, *Grewia celtidifolia* Var. *Eriocarpa* (Juss.) Y.C.Hsu & Zhuge, *Grewia elastica* Royle, *Grewia elatostemoides* Collett & Hemsl, *Grewia inaequalis* Blume, *Grewia inaequalia* var. *Leptopetala* (T.Cooke) M.R.Almeida, *Grewia koordersiana* Burret, *Grewia lantsangensis* Hu, *Grewia mesopoda* Burret, *Grewia negrosensis* Elmer.

II.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

II.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi berasal dari bahasa latin “extractio” atau “extrahere” yang berarti menarik keluar. Ekstraksi artinya mengambil atau menarik suatu senyawa yang terdapat dalam suatu bahan dengan pelarut yang sesuai. Proses yang terjadi dalam ekstraksi adalah terlarutnya senyawa yang dapat larut dari sel melalui difusi, tergantung dari letak senyawa dalam sel dan juga permeabilitas dinding sel dari bahan yang akan di ekstraksi.

Ekstraksi adalah suatu proses atau metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang hanya dapat melarutkan salah satu komponennya saja. Dalam prosedur ekstraksi, larutan berair biasanya dikocok dengan pelarut organik yang tak dapat larut dalam sebuah corong pemisah. Zat-zat yang dapat larut akan terdistribusi diantara lapisan air dan lapisan organik sesuai dengan (perbedaan) kelarutannya. Pada ekstraksi senyawa-senyawa organik dari larutan berair, selain air atau eter, biasanya digunakan pula etil asetat, benzena, kloroform dan sebagainya. Ekstraksi lebih efisien bila dilakukan berulang kali dengan jumlah pelarut yang lebih kecil dari pada bila jumlah pelarutnya banyak tapi ekstraknya hanya sekali (Markham, 1988).

Metode ekstraksi terdiri atas dua jenis yakni ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Ekstraksi panas menggunakan cara refluks dan destilasi uap sedangkan ekstraksi secara dingin menggunakan cara maserasi, perkolasi dan sokletasi.

Maserasi merupakan proses penyarian sederhana yaitu dengan merendam sampel dalam pelarut yang sesuai beberapa kali selama 3-5 hari. Pelarut akan menembus ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang-ulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Keuntungan dari metoda maserasi yaitu teknik pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana serta dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil.

Perkolasi merupakan teknik penyarian dengan pelarut organik menggunakan alat perkolator. Pada cara ini pelarut dialirkan melewati sampel sehingga penyarian lebih sempurna. Namun metoda ini membutuhkan pelarut yang relatif banyak. Suatu cara penyarian dengan memakai alat yang disebut perkolator, dimana simplisia terendam dalam cairan penyari sehingga zat-zatnya terlarut dan larutan tersebut akan menetes secara beraturan keluar sampai memenuhi syarat-syarat yang telah ditetapkan. Ekstraksi secara perkolasi merupakan cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk sampel yang telah dibasahi.

Sokletasi merupakan teknik penyarian dengan pelarut organik menggunakan alat soklet. Pada cara ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsip kerjanya adalah penyarian yang dilakukan berulang-ulang sehingga penyarian lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Akan tetapi, metoda sokletasi ini tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang termolabil.

II.2.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi ini menggunakan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula.

Senyawa bersifat polar akan tertarik ke pelarut polar, senyawa bersifat semi polar akan tertarik ke pelarut semi polar dan senyawa bersifat non polar akan tertarik ke pelarut non polar. Pelarut yang umum dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-heksana, etil asetat, dan *n*-butanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan *n*-heksana, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan butanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Tiap-tiap fraksi diuapkan secara *in vacuo* sampai kental dengan *rotary evaporator* (Akhsanita, 2012).

II.3 Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi (Ncube dkk, 2008). Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari dkk, 2011).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dan potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari dkk, 2011). Berbagai pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi antara lain:

a. Air

Air adalah pelarut *universal*, biasanya digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Meskipun pengobatan secara tradisional menggunakan air sebagai pelarut, tetapi ekstrak tumbuhan dari

pelarut organik telah ditemukan untuk memberikan aktivitas antimikroba lebih konsisten dengan ekstrak air.

b. Aseton

Aseton melarutkan beberapa komponen senyawa hidrofilik dan lipofilik dari tumbuhan. Keuntungan pelarut aseton yaitu dapat bercampur dengan air, mudah menguap dan memiliki toksisitas rendah. Aseton digunakan terutama untuk studi antimikroba.

c. Alkohol

Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak air dapat dikaitkan dengan adanya jumlah polifenol yang lebih tinggi pada ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak air. Konsentrasi yang lebih tinggi dari senyawa flavonoid terdeteksi dengan etanol 70% karena polaritas yang lebih tinggi daripada etanol murni.

d. Kloroform

Terpenoid lakton telah diperoleh dengan ekstraksi berturut-turut menggunakan heksan, kloroform dan metanol dengan konsentrasi aktivitas tertinggi terdapat dalam fraksi kloroform. Kadang-kadang tanin dan terpenoid ditemukan dalam fase air, tetapi lebih sering diperoleh dengan pelarut semipolar.

e. Eter

Eter umumnya digunakan secara selektif untuk ekstraksi kumarin dan asam lemak (Tiwari dkk, 2011).

f. N-heksana

N-heksana mempunyai karakteristik sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas yang dapat menyebabkan pingsan. Berat molekul heksana adalah 86,2 gram/mol dengan titik leleh -94,3 °C sampai -95,3 °C. Titik didih heksana pada tekanan 760 mmHg adalah 66 °C sampai 71 °C (Daintith, 1994). *N*-heksana biasanya digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi minyak nabati.

g. Etil asetat

Etil asetat merupakan pelarut dengan karakteristik semipolar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid (Pranoto dkk, 2012).

II.4 Metode Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk teknik pemisahan tertentu. Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fase yaitu fase diam (*stationary*) dan fase gerak (*mobile*), pemisahan tergantung pada gerakan relatif dari dua fase tersebut.

Cara-cara kromatografi dapat digolongkan sesuai dengan sifat-sifat dari fase tetap, yang dapat berupa zat padat atau zat cair. Jika fase tetap berupa zat padat maka cara tersebut dikenal sebagai kromatografi serapan, jika zat cair dikenal sebagai kromatografi partisi. Karena fase bergerak dapat berupa zat cair atau gas maka semua ada empat macam sistem kromatografi yaitu kromatografi serapan yang terdiri dari kromatografi lapis tipis dan kromatografi penukar ion, kromatografi padat, kromatografi partisi dan kromatografi gas-cair serta kromatografi kolom kapiler.

Kromatografi digunakan untuk memisahkan substansi campuran menjadi komponen-komponennya. Seluruh bentuk kromatografi berkerja berdasarkan prinsip ini. Semua kromatografi memiliki fase diam (dapat berupa padatan, atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas). Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda (Harborne, 1987).

Kromatografi secara garis besar dapat dibedakan menjadi kromatografi kolom dan kromatografi planar. Kromatografi kolom terdiri atas kromatografi gas dan kromatografi cair, sedangkan kromatografi planar terdiri atas kromatografi lapis tipis dan kromatografi kertas (Anwar, 1994).

II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan yang menggunakan plat atau lempeng kaca yang sudah dilapiskan adsorben yang bertindak sebagai fase diam. Fase bergerak ke atas sepanjang fase diam dan terbentuklah kromatogram. Metode ini sederhana, cepat dalam pemisahan dan sensitif (Khopkar, 1990).

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal), kemudian pelat dimasukkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan) dan selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Stahl, 1985).

Pada prinsipnya KLT dilakukan berdasarkan pada penggunaan fasa diam untuk menghasilkan pemisahan yang lebih baik. Fasa diam yang biasa digunakan dalam KLT adalah serbuk silika gel, alumina, tanah diatomeda selulosa. Menurut Anwar (1994), adapun cara kerja dari KLT yakni larutan cuplikan sekitar 1% diteteskan dengan pipet mikro pada jarak 1-2 cm dari batas plat. Setelah eluen atau pelarut dari noda cuplikan menguap, plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak (eluen) yang sesuai hingga jarak eluen dari batas plat mencapai 10-15 cm. Mengeringkan sisa eluen dalam plat dengan didiamkan pada suhu kamar. Noda pada plat dapat diamati langsung dengan menggunakan lampu UV atau dengan menggunakan pereaksi semprot penampak warna. Setelah noda dikembangkan dan divisualisasikan, identitas noda dinyatakan dengan harga R_f (retardation factor) (Harborne (1987).

Tujuan mendapatkan identitas noda dengan harga R_f untuk mencari pelarut untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, menyigi arah atau perkembangan reaksi seperti hidrolisis atau metilasi, identifikasi flavonoid secara kromatografi kolom dan isolasi flavonoid murni skala kecil (Markham, 1988).

Fasa diam pada KLT mempunyai beberapa penyerap yang digunakan, diantaranya yaitu:

a. Silika gel

Merupakan penyerap yang paling banyak dipakai dan bersifat agak sedikit asam, maka asam agak sedikit mudah dipisahkan dengan meminimalkan reaksi asam-basa antara penyerap dan senyawa yang dipisahkan.

b. Alumina

Bersifat sedikit basa dan sering digunakan untuk memisahkan basa dengan meminimumkan reaksi asam-basa.

c. Selulosa

Merupakan bahan penyangga lapisan zat cair yang dipakai dalam Kromatografi Cair-Cair (KCC), digunakan untuk memisahkan senyawa polar seperti asam amino, karbohidrat, nukleotida dan berbagai senyawa hidrofil lainnya. Untuk pendeteksian senyawa yang dipisahkan dapat digunakan berbagai macam cara. Deteksi yang paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan di daerah UV gelombang pendek (254 nm) atau jika senyawa dapat dieksitasi ke fluoresensi radial UV gelombang panjang (365 nm). Jika senyawa tidak dapat menyerap sinar UV maka pendeteksian dapat dilakukan dengan menggunakan reaksi kimia baik dengan pemanasan atau tanpa pemanasan (Akhsanita, 2012).

Keuntungan kromatografi lapis tipis adalah dapat memisahkan senyawa yang sangat berbeda seperti senyawa organik alam dan senyawa organik sintesis, kompleks organik dan anorganik serta ion anorganik dalam waktu singkat menggunakan alat yang tidak terlalu mahal. Metode ini kepekaannya cukup tinggi dengan jumlah cuplikan beberapa mikrogram. Kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan kromatografi kertas adalah dapat digunakan pereaksi asam sulfat pekat yang bersifat korosif, kelemahannya adalah harga RF yang tidak tetap (Gritten dkk, 1991).

II.4.2 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang berdasarkan daya adsorpsi dari suatu adsorben, baik terhadap hasil isolasi maupun terhadap pengotornya. Prinsip kromatografi kolom adalah perbedaan daya serap masing-masing komponen.

Metoda kromatografi kolom diperkenalkan oleh Michael Tswett seorang ahli botani dari Rusia. Pada kromatografi kolom terlebih dahulu dilakukan

kromatografi lapis tipis untuk menentukan adsorben yang cocok dan pelarut yang sesuai agar memberikan hasil yang baik. Adsorben yang paling umum digunakan adalah silika gel, alumina, dan sephadex.

Ada dua metoda penggunaan fasa gerak pada kromatografi kolom. Pertama metoda SGP (*Step Gradien Polarity*) di mana fasa gerak yang digunakan dimulai dari pelarut non polar kemudian kepolaran pelarut ditingkatkan secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal atau kombinasi dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai dengan tingkat kepolaran yang dibutuhkan. Sedangkan yang kedua adalah metoda isokratik, di mana fasa gerak yang digunakan tetap, baik berupa pelarut tunggal maupun campuran pelarut yang berbeda kepolarannya dengan kombinasi yang sesuai. Metoda isokratik digunakan apabila komponen-komponen kimia dalam suatu fraksi dapat memisah dengan baik yang diketahui dari pola noda pada kromatografi lapis tipis (Lubis, 2011).

Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase stasioner dan cairan (pereaksi) sebagai fase mobil untuk mengetahui banyaknya komponen contoh yang keluar melalui kolom. Pengisian kolom dilakukan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (slurry), dan partikelnya dibiarkan mengendap. Pemisahan komponen secara kromatografi kolom bertujuan untuk mengetahui komponen-komponen senyawa kimia yang dapat terpisah dan kandungan senyawa aktifnya (Hayani, 2007).

II.5 Karakterisasi Senyawa Secara Spektroskopi

Spektroskopi merupakan suatu metode untuk penentuan rumus struktur dari suatu senyawa. Menurut Anwar (1994), bahwa spektroskopi bila dibandingkan dengan metode kimia konvensional (metode basah), spektroskopi memiliki beberapa keuntungan, diantaranya: Jumlah zat yang diperlukan untuk analisis relatif kecil dan zat tersebut sering kali dapat diperoleh kembali dan waktu pengerjaannya relatif cepat.

Dasar metode spektroskopi adalah molekul pada suatu level energi tertentu, misalnya E1, disinari dengan sinar tertentu. Sinar ini akan melewati

molekul itu dan seterusnya melewati suatu detektor. Selama molekul itu tidak menyerap sinar itu maka sinar yang terdeteksi akan sama intensitasnya dengan sinar yang berasal dari sumber. Pada frekuensi yang memungkinkan terjadinya pemindahan level energi molekul misalnya dari E1 ke E2, maka sinar akan diserap oleh frekuensi yang memungkinkan terjadinya pemindahan energi level molekul misalnya dari E1 ke E2, maka sinar akan diserap oleh molekul dan tidak akan tampak dalam detektor (Siregar, 2011).

II.5.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV adalah suatu alat yang menggambarkan antara panjang gelombang atau frekuensi lawan intensitas serapan (absorbansi). Spektrofotometri UV ini menghasilkan radiasi (cahaya) dengan panjang gelombang 200-400 nm (Anwar, 1994). Pada umumnya spektrofotometri UV umumnya hanya menunjukkan jumlah peak (puncak) yang kecil jumlahnya. Puncak-puncak dilaporkan sebagai panjang gelombang.

Spektrofotometri ini biasanya juga digunakan untuk mendeteksi konjugasi. Molekul-molekul yang tidak mempunyai ikatan rangkap atau hanya mempunyai satu ikatan tidak menyerap sinar 200-800 nm. Lain halnya dengan senyawa-senyawa yang mempunyai sistem konjugasi yang dapat menyerap sinar pada daerah ini, semakin panjang sistem konjugasinya maka makin besar panjang gelombang absorpsi (Siregar, 2011).

II.5.2 Spektrofotometri IR

Saat ini telah dikenal berbagai macam gelombang elektromagnetik dengan rentang panjang gelombang tertentu. Spektrum elektromagnetik merupakan kumpulan spektrum dari berbagai panjang gelombang. Berdasarkan pembagian daerah panjang gelombang, sinar infra merah dibagi atas tiga daerah, yaitu :

1. Daerah infra merah dekat (0,75-2,5 μm)
2. Daerah infra merah menengah (2,5-50 μm)
3. Daerah infra merah jauh (50-1.000 μm)

Dari pembagian daerah spektrum elektromagnetik tersebut diatas, daerah panjang gelombang yang digunakan pada alat spektrofotometer infra merah adalah pada daerah infra merah pertengahan, yaitu pada panjang gelombang 2,5-50 μm atau pada bilangan gelombang 4.000-200 cm^{-1} . Satuan yang sering digunakan dalam spektrofotometri infra merah adalah Bilangan Gelombang atau disebut juga sebagai kaiser.

Radiasi *infrared* (IR) atau inframerah merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik antara daerah gelombang cahaya tampak dan gelombang mikrowafe. Penggunaan terbesar terhadap kimia organik adalah pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Frekuensi radiasi IR kurang dari 100 cm^{-1} diabsorpsi dan diubah oleh molekul organik menjadi energi rotasi molekul. Serapan ini diukur. Radiasi IR dalam daerah panjang gelombang 10000-100 cm^{-1} diabsorpsi dan diubah oleh sebuah molekul organik ke dalam energi vibrasi molekul. Serapan ini juga dihitung. Tetapi, spektrum vibrasi muncul sebagai tanda lebih baik karena sebuah perubahan energi vibra tunggal diikuti oleh sejumlah perubahan energi rotasi. Absorpsi frekuensi atau panjang gelombang tergantung pada massa relatif atom, gaya konstan ikatan dan geometri atom.

Posisi tanda dalam spektrum IR disajikan dalam jumlah gelombang yang memiliki satuan cm^{-1} . Jenis ikatan yang dapat ditunjukkan pada daerah serapan 1300-800 cm^{-1} (C-C, C-O, C-N), 1900-1500 cm^{-1} (C=O, C=N, N=O), 2300-2000 cm^{-1} (C≡C, C≡N), dan 3000-2200 (C-H, O-H, N-H) (Mukhriani, 2014).

Spektroskopi Inframerah dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik, tapi penggunaannya dalam penentuan senyawa organik masih terbatas. Dasar Spektroskopi Infra Merah dikemukakan oleh Hooke dan didasarkan atas senyawa yang terdiri atas dua atom atau diatom yang digambarkan dengan dua buah bola yang saling terikat oleh pegas. Jika pegas direntangkan atau ditekan pada jarak keseimbangan tersebut maka energi potensial dari sistim tersebut akan naik. Setiap senyawa pada keadaan tertentu telah mempunyai tiga macam gerak, yaitu :

- a). Gerak Translasi, yaitu perpindahan dari satu titik ke titik lain.
- b). Gerak Rotasi, yaitu berputar pada porosnya, dan
- c). Gerak Vibrasi, yaitu bergetar pada tempatnya.

Jenis Vibrasi

Terdapat dua jenis vibrasi molekul yaitu vibrasi ulur (*stretching*) dan tekuk (*bending*). Vibrasi ulur adalah pergerakan atom yang teratur sepanjang sumbu ikatan antara dua atom sehingga jarak antara atom dapat bertambah atau berkurang. Contoh vibrasi ulur, yaitu uluran simetri dan asimetri.

Vibrasi tekuk adalah pergerakan atom yang menyebabkan perubahan sudut ikatan antara dua ikatan atau pergerakan dari sekelompok atom terhadap atom lainnya. Contoh dari vibrasi tekuk adalah *scissoring*, *wagging*, *twisting*, dan *rocking*. Dari keempat vibrasi tekuk, vibrasi *scissoring* dan *rocking* terletak pada satu bidang sedangkan vibrasi *wagging* dan *twisting* terletak di luar bidang. Tanda (+) dan (-) pada vibrasi *twisting* menunjukkan arah tegak lurus dengan bidang, (+) arahnya ke muka, dan (-) arahnya ke belakang (Suarsa, 2016).

Frekuensi vibrasi ulur dapat didekati atau dihitung dengan menggunakan rumus Hooke. Dalam hal ini dua buah atom beserta ikatan kimia dianggap sebagai suatu isolator harmonik sederhana yang terdiri dari dua massa yang dihubungkan dengan suatu per (*spring*). Hukum Hooke menyatakan bahwa hubungan antar frekuensi isolasi, masa atom dan konstanta gaya ikatan adalah sebagai berikut:

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

di mana : = frekuensi vibrasi (cm⁻¹)

c = kecepatan radiasi (3x10¹⁰ cm//detik)

k = konstanta gaya ikatan

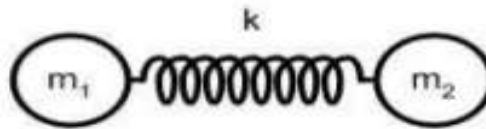
= $m_1 m_2 / m_1 + m_2$ (m, massa atom)

Nilai k untuk ikatan tunggal kira-kira 5x10⁵ dyne/cm dan bagi ikatan rangkap dua dan tiga adalah berturut-turut 1x10⁶ dyne/cm dan 15x10⁵ dyne/cm (Suarsa, 2016).

Spektra Vibrasi

Vibrasi molekul dapat terjadi dengan dua mekanisme yang berbeda:

- Kuantitas radiasi inframerah secara langsung mengeksitasi atom: absorpsi radiasi inframerah oleh atom menghasilkan spektrum inframerah.
- Kuantitas radiasi tampak secara tidak langsung juga dapat menghasilkan vibrasi molekul, disebut dengan efek Raman. Untuk memahami konsep dasar tentang spectra vibrasi akan ditinjau ikatan kovalen sederhana dari dua atom sebagai suatu pegas/per yang menghubungkan 2 atom dengan massa m_1 dan m_2 . Kekuatan tarik pegas dinyatakan sebagai konstanta gaya, k (Suarsa, 2016).



Gambar II.2 Model Ikatan Kimia

Menurut Suarsa (2016), jika sistem tersebut digetarkan (dengan ditarik searah ikatan kemudian dilepas), maka frekuensi () vibrasi yang terjadi dapat diterangkan dengan Hukum Hooke tentang getaran harmonik sederhana:

$$= \frac{1}{2\pi} (k/m)^{1/2} \quad (1)$$

dimana m adalah massa tereduksi kedua atom yang didefinisikan dengan persamaan berikut:

$$1/m = 1/m_1 + 1/m_2 \quad (2)$$

atau,

$$m = (m_1 m_2) / (m_1 + m_2) \quad (3)$$

menurut teori kuantum vibrasi molekul tidak boleh terjadi dengan frekuensi yang sembarang dan energinya harus tertentu sesuai dengan bilangan kuantumnya ():

$$E = (n + \frac{1}{2}) \quad (4)$$

Di mana $n = 0, 1, 2, 3, \dots$, dst dan h adalah konstanta Planck.

Sebagai contoh jika suatu molekul mengalami transisi energi vibrasi dari level terendah ground state ($n = 0$) ke transisi tingkat pertama ($n = 1$) dengan cara menyerap radiasi IR, maka frekuensi radiasi untuk transisi tersebut menurut prinsip Bohr adalah:

$$h \nu = E_1 - E_0 \quad (5)$$

dari persamaan (4) diperoleh $E_0 = \frac{1}{2} h \nu$ dan $E_1 = \frac{3}{2} h \nu$, dengan demikian,

$$(E_1 - E_0)/h = \nu \quad (6)$$

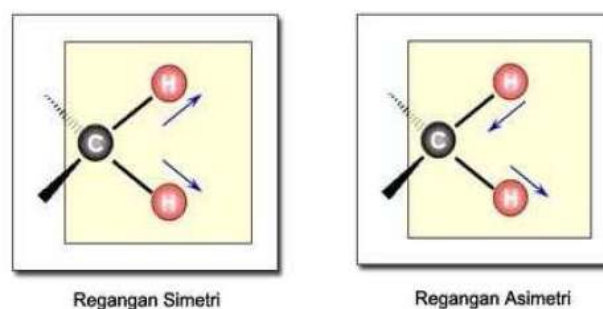
Beberapa hal penting (Prinsip dasar):

1. Spektrofotometri IR didasarkan pada interaksi antara vibrasi atom2 yang berikatan atau gugus fungsi dalam molekul dengan mengadsorbsi radiasi gelombang elektromagnetik IR
2. Absorpsi terhadap radiasi inframerah dapat menyebabkan eksitasi energi vibrasi molekul ke tingkat energi vibrasi yang lebih tinggi dan besarnya absorpsi adalah terkuantitasi dan spesifik. Vibrasi yang normal mempunyai frekuensi sama dengan frekuensi radiasi elektromagnetik yang diserap sehingga bersifat spesifik terhadap atom-atom yang berikatan atau gugus fungsi tertentu.
3. Proses absorpsi (spektra IR) hanya dapat terjadi apabila terdapat perubahan baik nilai maupun arah dari momen dwikutub ikatan.
4. Dengan cara yang sama transisi energi vibrasi juga dapat terjadi dari tingkat energi terendah ($n = 0$) ke tingkat energi kedua ($n = 2$) dengan frekuensi sebesar 2 (lihat persamaan 6). Sebagai perbandingan dalam bahasa musik dikenal istilah:

ν = frekuensi vibrasi dasar, sedangkan

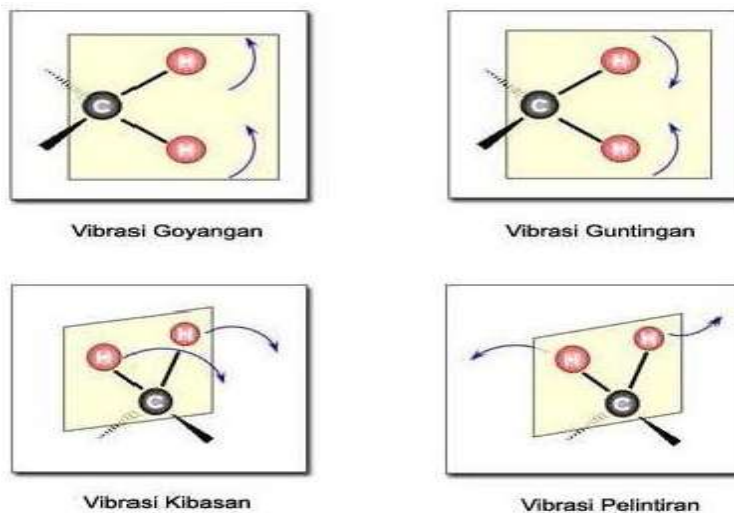
2ν = frekuensi overtone

Prinsip dari spektrofotometer IR adalah ketika suatu molekul dari suatu senyawa diberikan energi radiasi inframerah, maka molekul tersebut akan mengalami vibrasi dengan syarat energi yang diberikan terhadap molekul cukup untuk mengalami vibrasi. Ada dua macam vibrasi yaitu vibrasi regangan atau stretching dan vibrasi tekuk atau bending. Vibrasi regangan adalah pergerakan atom yang teratur sepanjang sumbu ikatan antara dua atom sehingga jarak antara atom dapat bertambah atau berkurang. Vibrasi stretching ada dua tipe yaitu stretching asimetris dan stretching simetris. Stretching simetris merupakan unit struktur bergerak bersamaan dan searah dalam satu bidang datar. Stretching asimetri merupakan unit struktur bergerak bersamaan dan tidak searah tetapi dalam satu bidang datar (Sadaruddin, 2014).



Gambar II.3 Bentuk Vibrasi Streching

Vibrasi tekuk (bending) adalah pergerakan atom yang menyebabkan perubahan sudut ikatan antara dua ikatan atau pergerakan dari sekelompok atom terhadap atom lainnya. Ada 4 tipe vibrasi bending yaitu vibrasi goyangan (rocking), vibrasi guntingan (scissoring), vibrasi pelintiran (twisting), dan vibrasi kibasan (wagging).



Gambar II.4 Bentuk vibrasi bending

Sadaruddin (2014) menyatakan suatu ikatan dapat mengalami lebih dari satu macam vibrasi. Oleh karena itu suatu ikatan tertentu dapat menyerap energi lebih dari satu panjang gelombang. Misanya, suatu ikatan O-H menyerap energi pada kira-kira 3330 cm^{-1} (vibrasi ulur/regangan). Selain itu ikatan O-H juga menyerap pada kira-kira 1250 cm^{-1} (vibrasi tekuk).

Tabel II.1 Serapan Khas Beberapa Gugus Fungsi

Gugus fungsi	Jenis senyawa	Daerah serapan (cm^{-1})
C-H	Alkana	2850-2960, 1350-1470
C-H	Alkena	3020-3080, 675-870
C-H	Aromatik	3000-3100, 675-870
C-H	Alkuna	3300
C=C	Alkena	1640-1680
C=C	Aromatik (cincin)	1500-1600
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1080-1300
C=O	Aldehid, keton, asam karboksilat, ester	1690-1760
O-H	Alkohol, fenol (monomer)	3610-3640
O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	2000-3600 (lebar)
O-H	Asam karboksilat	3000-3600 (lebar)

Sumber : Sadaruddin, 2014

II.6 Skrinning Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga umbi dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional (Agustina dkk, 2016).

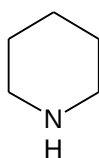
II.6.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik.

Hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna

dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin dan stiknin adalah alkaloid yang terkenal dan mempunyai efek fisiologis (efek yang timbul dalam perubahan fisik seperti kulit, mata, dll) dan psikologis (efek yang timbul dalam perubahan sikap, mental dan jiwa manusia). Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang. Alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan.

Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Dapat juga berbentuk amorf dan beberapa seperti nikotin dan coniin berupa cairan. Kebanyakan alkaloid tidak berwarna, tetapi beberapa senyawa kompleks spesies aromatik berwarna. Pada umumnya basa bebas alkaloid hanya larut dalam pelarut organik meskipun beberapa pseudo alkaloid (alkaloid sesungguhnya tetapi tidak diturunkan dari asam amino) dan protoalkaloid (diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa) larut dalam air. Garam alkaloid dan alkaloid quaterner sangat larut dalam air (Lenny, 2006)

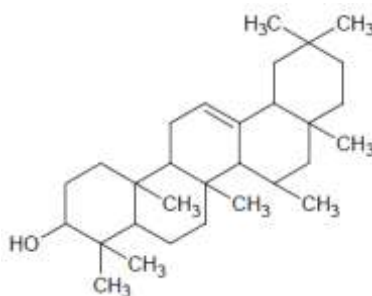


Gambar II.4 Struktur Dasar Senyawa Alkaloid

II.6.2 Terpenoid

Terpenoid merupakan komponen yang biasa ditemukan dalam minyak atsiri. Sebagian besar terpenoid mengandung atom karbon yang jumlahnya merupakan kelipatan lima. Terpenoid mempunyai kerangka karbon yang terdiri dari dua atau lebih unit C_5 yang disebut unit isopren (Achmad, 1986). Berdasarkan jumlah atom C yang terdapat pada kerangkanya, terpenoid dapat dibagi menjadi hemiterpen dengan 5 atom C, monoterpen dengan 10 atom C, seskuiterpen dengan 15 atom C, diterpen dengan 20 atom C, triterpen dengan 30 atom C, dan seterusnya sampai dengan politerpen dengan atom C lebih dari 40 (Nagegowda, 2010; Dewick, 2009).

Linn dkk (2005) telah berhasil mengisolasi senyawa pada Fabaceae yaitu senyawa diterpen berupa senyawa furanoditerpen tipe *cassane*. Senyawa jenis ini atau furanoditerpen merupakan senyawa yang telah diselidiki memiliki kemampuan sebagai antimalaria, senyawa furanoditerpen ini banyak ditemukan pada genus *Caesalpinia*. Tidak hanya furanoditerpen yang telah diisolasi dari famili Fabaceae, contoh lain senyawa yang telah diisolasi yaitu norcaesalpinin E (1), caesalpinin C (2), caesalpinin D (3) yang ketiganya telah diselidiki memiliki kemampuan sebagai antimalaria. Struktur-struktur dari ketiga senyawa ditunjukkan pada Gambar :

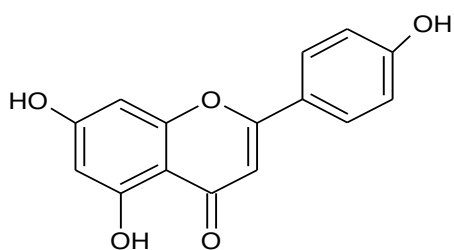


Gambar II.5 Struktur dasar triterpenoid

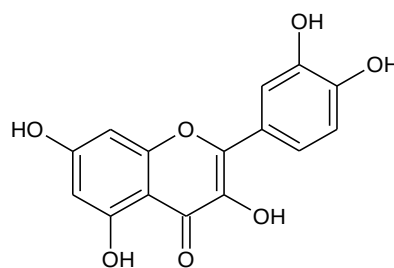
II.6.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa bahan alam yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid pada umumnya mempunyai kerangka flavon C₆-C₃-C₆, dengan tiga atom karbon sebagai jembatan antara gugus fenil yang biasanya juga terdapat atom oksigen. Senyawa ini biasanya terdapat sebagai pigmen tumbuhan untuk menarik pollinators atau sebagai bahan pertahanan bagi tumbuhan untuk melawan serangan dan mikroorganisme (Rosa dkk, 2010). Senyawa fenolik juga ditemukan dan telah diisolasi dari famili ini. Senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada Fabaceae adalah flavonoid. Misalnya dari *Guibourtia coleosperma*, senyawa flavonoid yang dihasilkan adalah flavonoid yang terikat dengan glikosida misalnya epikatecin- (4b - 8)- 7-O-β-D-xyloppiranosil-epikatecin yang berupa dimer dan 7-O-β-D-xyloppiranosil-epikatecin yang berupa monomer (Bekker dkk, 2006).

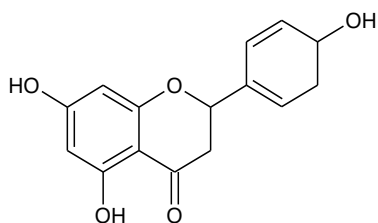
Berbeda dengan genus *Caesalpinia*, flavonoid yang dihasilkan berupa homoisoflavonoid misalnya bonducellin yang diisolasi dari *Caesalpinia Pulcherima* (Zhao dkk, 2004). Genus *Milletia* menghasilkan senyawa flavonoid yang berbeda dengan dua spesies sebelumnya, genus *Milletia* ini menghasilkan senyawa flavonoid berupa isoflavon yang terprenilasi. *Milletia papchycarpa* diketahui mengandung millewanins G, millewanins H, dan furowanin B (Ito dkk, 2006). Senyawa lain yang pernah diisolasi adalah bauhiniastatin ($C_6 H_{12}O_5$) yang diisolasi pada *Bauhinia purpurea*. Bauhinisantin juga diketahui memiliki aktivitas sitotoksik yang tinggi terhadap sel murin leukemia (Pettit, 2006).



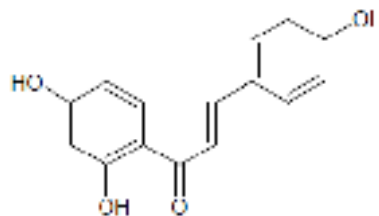
Gambar II.6 Struktur flavon



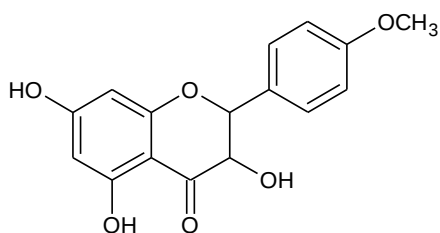
Gambar II.7 Struktur flavonol



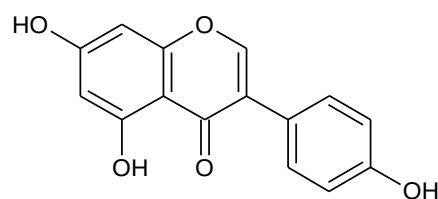
Gambar II.8 Struktur flavanon



Gambar II.9 Struktur kalkon



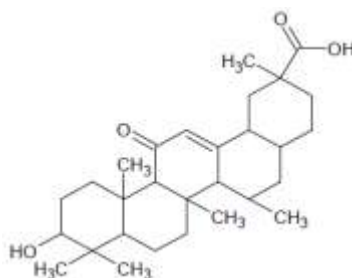
Gambar II.10 Struktur Flavanonol



Gambar II.11 Struktur Isoflavon

II.6.4 Saponin

Saponin terdistribusi luas dalam tanaman dan merupakan salah satu bentuk khusus glikosida. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang jika dikocok kuat akan terbentuk busa. Saponin memiliki efek hemolitik dan sangat toksik jika diinjeksikan ke dalam aliran darah. Berdasarkan struktur aglikon atau sapogenin, ditemukan dua jenis saponin, yaitu tipe steroid dan triterpenoid (Yunita, 2012).

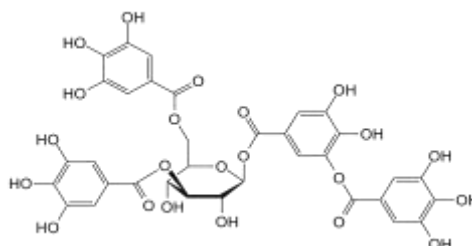


Gambar II.12 Struktur saponin

II.6.5 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai antigen, anti diare, anti bakteri, dan anti oksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty dkk, 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang

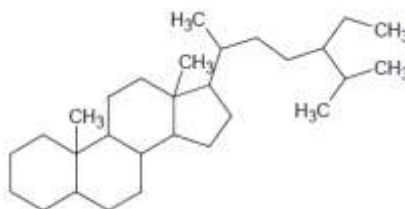
kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam (Hagerman, 2002 dalam Malangngi, 2012).



Gambar II.13 Struktur tanin

II.6.6 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada cincin sikloheksana tersebut. Steroid tersusun dari isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non-polar. Beberapa senyawa steroid mengandung gugus $-OH$ yang sering disebut sterol yang memiliki sifatnya cenderung lebih polar (Robinson, 1995). Struktur umum steroid adalah sebagai berikut :



Gambar II.14 Struktur dasar steroid

Steroid termasuk diantara hasil alam yang penting. Senyawa steroid tersebar luas di jaringan hewan dan tumbuhan, beberapa yang penting diantara senyawa aktif dari segi biologis adalah steroid (sterol), asam empedu, hormon kelamin, hormon korteks adrenal dan aglikon jantung (Stanly, 1988).