

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Ekstraksi Daun Niko

Ekstraksi terhadap 200 g sampel daun Niko (*Grewia koordersiana* Burret) asal Desa Camplong Kabupaten Kupang menggunakan pelarut metanol, dengan volume pelarut setiap kali ekstraksi sebanyak 1 L. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik selama 7 x 24 pada suhu ruang, sambil sesekali dikocok, sehingga membantu percepatan difusi zat dari sampel ke dalam pelarut. Hasil dari proses maserasi menghasilkan ekstrak metanol berwarna hijau. Maserasi dilakukan berulang-ulang hingga hasil filtrat yang diperoleh tidak berwarna lagi atau bening. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45°C. Ekstrak kental yang dihasilkan berwarna hijau pekat, bertekstur lengket dan larut dalam air. Ekstrak kental metanol yang dihasilkan dari ekstraksi daun tumbuhan Niko sebanyak 36,52 g dengan rendemennya sebesar 18,26 %. Data perhitungan hasil rendemen ekstrak daun tumbuhan niko dapat dilihat pada lampiran 2.

IV.2 Hasil Analisa Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Niko

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang merupakan golongan senyawa aktif, yang terkandung dalam ekstrak metanol daun Niko asal Desa Camplong, Kab. Kupang. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun Niko (*Grewia koordersiana* Burret) asal Desa Camplong, Kab. Kupang dilihat pada tabel IV.1

Tabel IV.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Niko

Senyawa	Pereaksi	Warna teoritis	Hasil uji	Ket
Alkaloid	Mayer	endapan putih	tidak terjadi	-
	Wagner	endapan coklat	perubahan	-
	Dragendorff	endapan jingga	tidak terjadi	-
			perubahan	-
Flavanoid	+ Metanol, H ₂ SO ₄	Hijau	tidak terjadi perubahan Hijau	+
Steroid	Lieberman bauchard	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	+
Terpenoid	Lieberman buchard	Merah atau ungu	Tidak terjadi perubahan	-
Saponin	Aquades	Busa	Terbentuk busa	+
Tannin	+ FeCl ₃	Hijau kehitaman atau biru kehitaman	Tidak terjadi perubahan	-

Keterangan: (+) = mengandung senyawa metabolit sekunder,

(-) = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada tabel IV.1 menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun tumbuhan Niko asal Camplong Kabupaten Kupang mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa flavonoid, steroid dan saponin.

Uji Senyawa Flavonoid

Berdasarkan analisis yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun tumbuhan Niko yang diuji positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil ini ditunjukkan adanya perubahan warna saat ditambahkan pereaksi H₂SO₄ pekat. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (OH) yang tidak tersubstitusi sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen (Agutina dkk, 2016). Pada proses ekstraksi, senyawa aktif dalam suatu tanaman

akan mudah terlarut atau terikat oleh pelarut sesuai dengan sifat kepolarannya. Menurut Marliana dkk (2005) analisis senyawa flavonoid menggunakan uji *Wilstater*. Identifikasi senyawa flavonoid dapat didasarkan pada reaksi warna dan kelarutannya. Misalnya larutan NaOH untuk uji senyawa flavonoid golongan flavonol akan menghasilkan warna kuning/jingga, HCl pekat untuk uji flavonol akan menghasilkan warna kuning/merah, Mg-HCl untuk uji flavonol akan menghasilkan warna merah/violet dan Natrium amalgam untuk uji flavonol akan menghasilkan warna merah/kuning (Nugragani dkk, 2016).

Uji Senyawa Saponin

Berdasarkan analisis yang dilakukan terhadap ekstrak daun tumbuhan Niko yang diuji positif mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuk busa setelah pengocokan. Terbentuknya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Saponin adalah glikosida dalam tanaman dan terdiri atas gugus sapogenin, heksona, pentosa, dan unsur asam uronat (Khotimah, 2016). Menurut Robinson (1995) senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat saponin dikocok dengan air dapat membentuk misel.

Uji steroid

Berdasarkan analisis yang dilakukan terhadap ekstrak daun tumbuhan Niko yang diuji positif mengandung senyawa steroid yang ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kebiruan. Uji ini didasarkan pada kemampuan senyawa steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat.

IV.3 Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Niko

IV.3.1 Identifikasi eluen campuran

Identifikasi eluen bertujuan untuk mengetahui jenis pelarut organik yang dapat memisahkan komponen-komponen senyawa dalam sebuah sampel organik. Digunakan 3 jenis eluen organik yakni metanol, etil asetat dan kloroform. Diperoleh hasil yakni eluen campuran metanol, etil asetat dan kloroform yang menghasilkan pemisahan komponen zat (gambar IV.3)



Gambar IV.1 Hasil uji eluen campuran (metanol : etil asetat : kloroform)

Pelarut methanol, etil asetat, dan kloroform selanjutnya digunakan sebagai eluen untuk fraksinasi ekstrak sampel daun Niko (*Grewia koordersiana* Burret) melalui kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silica G60. Pelarut methanol, etil asetat, dan kloroform yang dikombinasikan untuk menjadi eluen, diperoleh kombinasi yang dapat memisahkan spot secara jelas yakni pada perbandingan volume 1 : 2 : 3 (v/v). Identifikasi kombinasi eluen ini dilakukan melalui KLT.

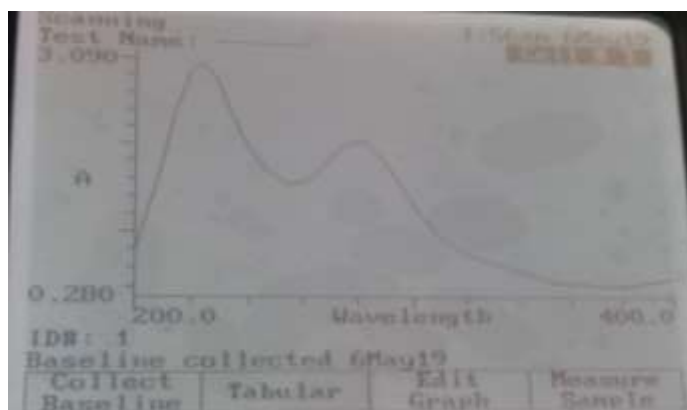
Dari fraksinasi secara kromatografi kolom yang dilakukan, diperoleh sebanyak 25 fraksi. Setelah dilakukan KLT, fraksi yang memiliki spot yang sama digabungkan dan diperoleh 4 fraksi gabungan yaitu fraksi 3 memiliki 2 spot, fraksi 8 memiliki 8-9 spot, fraksi 10 memiliki 2 spot, fraksi 11 memiliki 4 spot dan fraksi 12 memiliki 2 spot. Fraksi gabungan tersebut kemudian difraksinasi kembali dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silica gel 60 dan fasa gerak metanol : etil asetat : kloroform (0.5 : 1.5 : 3). Eluat ditampung dalam botol penampung fraksi dan diperoleh 20 fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom dipantau dengan KLT untuk mengetahui jumlah spot dari masing-masing fraksi.

Berdasarkan hasil analisis KLT dengan campuran metanol : etil asetat : kloroform (0.5 : 1.5 : 3) tampaknya tidak terjadi pemisahan, oleh karena itu dilakukan analisis KLT lagi dengan eluen campuran metanol : kloroform (1 : 3). Dari hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa pelarut campuran metanol : kloroform (1 : 3) lebih memberi spot-spot yang terpisah sangat signifikan. Fraksi

yang menunjukkan pola noda tunggal digabungkan lalu dipekatkan dan ditimbang beratnya sebesar 6,856 g. Setelah itu dilakukan identifikasi senyawa hasil isolasi dari fraksi yang menunjukkan pola noda tunggal. Profil hasil KLT, fasa gerak Kloroform : Eti Asetat (3 : 1) dapat dilihat pada lampiran 3.

IV.4 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

- a. Identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun Niko dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis dan IR. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun Niko yang sudah dipekatkan dilarutkan kembali dengan metanol untuk diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran spektrum UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm.
- a. Pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis

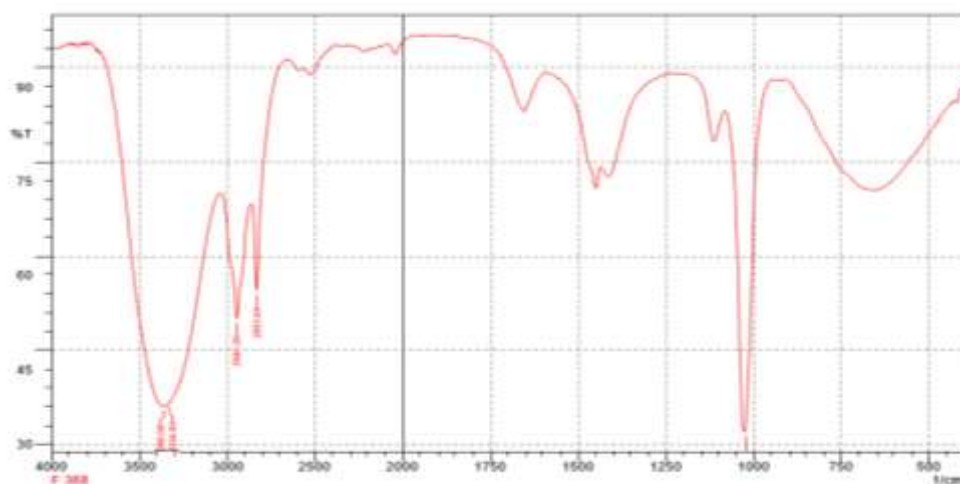


Gambar IV.2 Spektrum UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm

Berdasarkan gambar IV.3, spektrum UV-Vis dari isolat yang didapat menunjukkan dua puncak pita serapan yaitu pita I pada panjang gelombang 280 nm dimana terjadi transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ dan pada pita II pada panjang gelombang 225 nm dimana terjadi transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ karna energi yang dibutuhkan untuk melakukan eksitasi lebih kecil dibandingkan transisi sebelumnya. Sastrohamidjojo (2007) mengemukakan bahwa serapan khas senyawa flavonoid pada pita II mempunyai panjang gelombang antara 210-285

nm, maka dapat diperkirakan adanya ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$, seperti C=C terkonjugasi serta ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$, berupa kromofor tunggal seperti ikatan C=O.

b. Pengukuran menggunakan spektrofotometri IR



Gambar IV.3 Spektrum Inframerah ekstrak metanol daun Niko

Berdasarkan gambar IV.4 hasil spektrum inframerah pada isolat daun Niko menunjukkan adanya gugus -OH fenol pada bilangan gelombang 3360 cm^{-1} dan 3334,92 cm^{-1} , gugus C-H alifatik pada bilangan gelombang 2945,3 cm^{-1} , gugus C-H aromatik pada bilangan gelombang 2833,43 cm^{-1} , gugus C=O karbonil pada bilangan gelombang 1600 cm^{-1} dan gugus C-O alkohol pada panjang gelombang 1026,13 cm^{-1} . Data spektrum inframerah dari hasil isolat dapat dilihat pada tabel IV.2

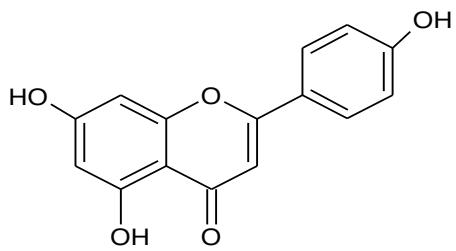
Tabel IV.2 hasil analisis spektrum FTIR

No.	Bilangan gelombang(cm^{-1})	Pada pustaka	Bentuk pita	Kemungkinan gugus fungsi
1.	3360	3500-3000	Melebar	Uluran -OH Fenol
2.	3334,92	3500-3000	Melebar	Uluran -OH Fenol
3.	2945,3	2950-2800	Tajam	Uluran C-H Alifatik
4.	2833,43	2950-2800	Tajam	Uluran C-H Aromatik
5.	1026,13	1300-1000	Tajam	C-O Eter
6.	1600	1600-1650	Melebar	C=O Karbonil terkonjugasi

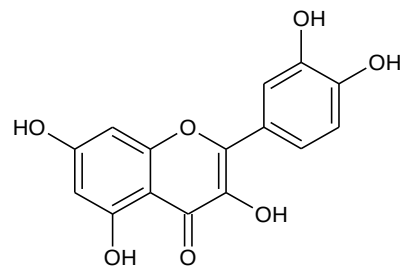
Sumber : Sadaruddin (2014)

Berdasarkan data spektrum inframerah diatas, menunjukkan bahwa adanya vibrasi uluran -OH fenol pada bilangan gelombang 3360 cm^{-1} dan $3334,92 \text{ cm}^{-1}$. Diduga adanya gugus C-H alifatik pada bilangan gelombang $2945,3 \text{ cm}^{-1}$ dengan bentuk pita tajam. Adanya gugus C-H aromatik pada bilangan gelombang $2833,43 \text{ cm}^{-1}$ dengan bentuk pita tajam. Diduga adanya C=O karbonil pada bilangan gelombang 1600 cm^{-1} . Adanya bentuk pita tajam dan intensitas kuat pada bilangan gelombang $1026,13 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi bending C-O alkohol.

Adanya gugus fungsi C=O karbonil terkonjugasi yang muncul di kirasan panjang 1600 cm^{-1} pada hasil spektrum FTIR menunjukkan bahwa isolat daun Niko kemungkinan mengandung senyawa flavonoid golongan flavon atau flavonol. Hal ini juga didukung pada hasil spektrofotometri UV-Vis yang menunjukkan adanya gugus C=O pada panjang gelombang 280 nm.



Gambar IV.4 Struktur flavon



Gambar IV.5 Struktur flavonol